



Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) par Ablation Laser ICP-MS: une archive journalière de la biogéochimie des environnements côtiers tempérés

Aurélie Barats

► To cite this version:

Aurélie Barats. Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) par Ablation Laser ICP-MS: une archive journalière de la biogéochimie des environnements côtiers tempérés. Autre. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2006. Français. NNT: . tel-00125075

HAL Id: tel-00125075

<https://theses.hal.science/tel-00125075>

Submitted on 17 Jan 2007

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.

N°

THESE

présentée à

l'Université de Pau et des Pays de l'Adour
Ecole Doctorale des Sciences Exactes et de leurs Applications

par

Aurélié BARATS

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité :
Environnement et Matériaux

**Micro analyse quantitative des éléments traces dans la
calcite de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) par
Ablation Laser ICP-MS: une archive journalière de la
biogéochimie des environnements côtiers tempérés**

Soutenue le 28 Novembre 2006

Devant la commission d'examen formée de :

C. Jeandel	Directrice de recherche (CNRS, Toulouse, France)
C. McLeod	Professeur (Université de Sheffield, Sheffield, Royaume Uni)

Rapporteurs

T.M. Church	Professeur (Université du Delaware, Newark, USA)
L. Chauvaud	Chargé de Recherche (CNRS, Plouzané, France)
O. F. X Donard	Directeur de Recherche (CNRS, Pau, France)
D. Amouroux	Chargé de recherche (CNRS, Pau, France)
C. Pécheyran	Ingénieur de Recherche (CNRS, Pau, France)

Examineurs

-2006-

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide de nombreuses personnes. Je tiens ainsi à remercier toutes les personnes qui m'ont permis d'amener mon projet de thèse à terme et qui ont contribué de près ou de loin à sa réussite.

J'adresse des remerciements sincères aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail : Madame Catherine Jeandel, Monsieur Cameron Mc Leod, Monsieur Thomas Church, Monsieur Laurent Chauvaud, Monsieur Olivier F. X. Donard, Monsieur Christophe Pécheyran et Monsieur David Amouroux

Merci à Madame Catherine Jeandel et à Monsieur Cameron Mc Leod d'avoir accepté la lourde tâche d'examiner mon manuscrit. La complémentarité de l'œil de la biogéochimiste marine et du chimiste analyticien ont conduit à des remarques très pertinentes sur mon travail.

Merci à Tom Church d'avoir accepté de présider ma soutenance de thèse. Ses précieux conseils scientifiques et linguistiques ont apporté un regard extérieur critique, nécessaire pour le bon déroulement de mes recherches. Je lui adresse aussi mes sincères reconnaissances pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et montré les joies de la culture américaine.

Merci à Laurent Chauvaud pour avoir toujours suivi avec beaucoup d'enthousiasme l'avancée de mes recherches, de m'avoir inculqué les secrets de la coquille Saint Jacques et surtout d'avoir initié ce projet pluridisciplinaire si novateur. La mise en place de ce réseau scientifique a eu pour réussite la rencontre de collaborateurs de compétences diverses, n'ayant à priori, pas le même « langage ».

Je tiens également à remercier Olivier Donard pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et pour avoir accepté la direction de cette thèse. Merci de m'avoir donné la liberté de mener mon projet à terme et l'occasion de représenter, à travers mes travaux, le laboratoire dans des conférences internationales ou des séminaires.

Chapeau à Christophe Pécheyran et David Amouroux, responsables scientifiques de ce travail, qui ont grandement contribué, par leur complémentarité, à l'aboutissement de cette thèse. Merci à Christophe pour sa formation sur l'ablation laser, sa grande présence lors du développement analytique, mais aussi lors des moments de crise des appareils. Les avancées analytiques n'auraient pu voir le jour sans son acharnement et sa rigueur scientifique. J'espère qu'une ère nouvelle viendra avec l'utilisation du laser femtosecondes! Merci à David pour son

bouillonnement intellectuel, sa créativité et ses idées quelquefois « farfelues » mais toujours probantes, qui ont permis de mieux comprendre les secrets de ces coquilles. Sa curiosité et son intrigue sont des qualités vitales qui ont conduit au bon avancement de ce projet.

Je tiens également à remercier Monsieur Alain Castetbon, encyclopédie vivante du laboratoire, pour ses conseils sur la préparation des étalons de CaCO_3 . Merci à Stéphane Dubascoux, Anne Lorrain et Thibault Dubois pour avoir effectué avec Christophe Pécheyran les expérimentations préliminaires.

J'adresse aussi des remerciements sincères aux personnes qui m'ont initiée à la recherche en DEA (Martine Potin-Gauthier, Florence Pannier, Stéphane Simon) et ainsi permis d'avoir l'opportunité de commencer cette thèse. Merci à tous mes collègues de labos (David P., Mathilde M., Sophie V., Manu T., Hervé P., Gilles B.) et collègues enseignants (Maité B., Brice B., Flo P., ...) qui m'ont aidée à mener de front recherche et enseignement, et aux personnels UT2A (Fabby S., Hervé G., Damien P.) pour leur formation sur les différents appareillages et leur aide.

Je tiens également à remercier tous mes camarades doctorants ou docteurs, chimistes ou non, pour leur aide morale, les sorties montagnes/mer, les soirées, les longues discussions philosophiques sur notre avenir... Bon courage pour leur insertion professionnelle !! Je laisse le flambeau à mes collègues doctorants en fin de thèse (allez Guillaume, Sylvain, Stéph. et Cédric !!!), à votre tour maintenant!!

Merci à mes collègues de bureau (nouveaux et anciens) qui ont dû me supporter et qui doivent me supporter une année de plus: Fanny, Hélène, Sylvain, Estelle, Béatriz, Séb, Damien, Christelle, Suzanne, Esther, Mariella, Marie-Pierre... Merci à mes collègues moniteurs (Stéphane, Julien) qui n'ont pas hésité à me remplacer lors de mes déplacements. Merci à Pauline et Jérôme pour avoir partager avec moi cette dernière ligne droite avec ces hauts et ces bas.

Lors de ma thèse, j'ai aussi eu la chance de découvrir de nouveaux horizons. Ces déplacements n'auraient pas pu se dérouler si bien sans le chaleureux accueil de nombreuses personnes.

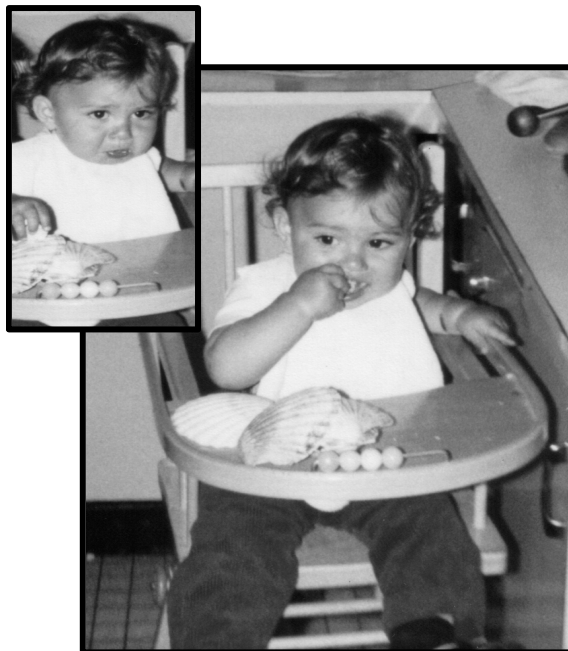
Merci à Pierre, Zorcha, Joëlle qui m'ont acceptée comme colloc' durant une mission brestoise d'une quinzaine de jours et montrée les joies de la pêche à l'araignée de mer et surtout leur dégustation. Merci à Julien pour m'avoir accueillie dans le « pays bretons » et aidée à la fois d'un point de vue logistique et pratique lors

de mon séjour. Merci aux membres du LEMAR qui ont participé aux missions de prélèvements et octroyé un peu de place en laboratoire pour les manipulations.

Je tiens également à remercier Patrick Ollivier et sa femme, Sandra, de m'avoir gentiment accueillie chez eux lors de mon séjour américain de deux mois. J'espère que le petit Maxime se souviendra le plus longtemps de sa première nounou!!

C'est, enfin, avec beaucoup d'émotion que je remercie très affectueusement ma famille et tout particulièrement mes parents pour avoir soutenu mes choix tout au long de mon parcours. Que de chemin parcouru depuis mes trois ans où je tenais déjà en main des coquilles Saint Jacques!! Merci à ma p'tite Lélé, ma petite sœur de 12 ans, pour m'avoir montré les vrais problèmes de la vie, et à mon frère, Guillaume, d'avoir toujours cru en sa grande sœur. Merci aussi à ma mamie de ne pas avoir eu peur des km pour assister à un « récit coquillier » d'un autre monde, elle en a presque perdu sa valise!!!

Je finis par adresser ma tendre reconnaissance à Cédric. Ce manuscrit n'aurait pas pu voir le jour sans son soutien, ses encouragements et son amour. Merci d'avoir supporté mon « bon » caractère au quotidien et de m'avoir réconfortée lors de mes moments de doutes!!!



Sommaire

Chapitre I Problématique scientifique: Utilisation des éléments traces dans des matrices calcifiées comme proxis de changements environnementaux __ 1

I.1. Contexte de l'étude	3
I.1.1. Projet de recherche ACI PECTEN	4
I.1.2. Objectifs de la thèse	6
I.2. Généralités sur la biogéochimie des éléments traces dans les environnements côtiers et à l'interface eau/sédiment	8
I.2.1. Transports et échanges des éléments traces dans les environnements marins côtiers	10
I.2.1.1. Apports continentaux	10
I.2.1.2. Apports atmosphériques	11
I.2.1.3. Transport au sein de la colonne d'eau	13
I.2.1.4. Transferts et échanges dans la colonne d'eau liés à des organismes biologiques	15
I.2.2. Transports et échanges des éléments traces à l'interface eau/sédiment	18
I.2.2.1. Spéciation des éléments traces dans la colonne d'eau	18
I.2.2.2. Source et flux benthiques	22
I.2.2.3. Transformations biotiques et bioconcentration	23
I.3. Les carbonates et les éléments traces	26
I.3.1. Le carbonate de calcium	26
I.3.2. Les biominéraux formés de carbonate de calcium	29
I.3.3. Traceurs et proxis dans les biominéraux carbonatés marins	31
I.3.3.1. Les coraux	32
I.3.3.2. Les foraminifères	34
I.3.3.3. Les otolithes de poissons	35
I.3.3.4. Les coquilles des mollusques	36
I.3.3.5. Spécificité des coquilles Saint Jacques	41
I.4. Micro analyse des éléments traces dans les solides par Ablation Laser et Spectrométrie de Masse à Plasma Inductif Couplé (LA-ICP-MS)	47
I.4.1. Méthode d'analyse par LA-ICP-MS	47
I.4.1.1. Principes et performances	47
I.4.1.2. Domaines d'applications	50
I.4.2. Détermination des éléments traces dans des coquilles de bivalves	55
I.4.2.1. Analyse indirecte	56
I.4.2.2. Analyse directe	58
I.4.2.3. Comparaison des deux méthodes	60
I.5. Présentation du travail	62

Chapitre II Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite des coquilles Saint Jacques et implication pour leur partition et archivage _____ 67

II.1. Analyse quantitative des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium biogène par ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma inductif: application à la détermination de profils d'éléments traces dans les coquilles St Jacques (*Pecten maximus*) à une échelle journalière _____ 69

II.1.1. Abstract _____	73
II.1.2. Introduction _____	74
II.1.3. Experimental _____	76
II.1.3.1. Scallop shell samples _____	76
II.1.3.2. LA-ICP-MS coupling _____	77
II.1.3.3. Time scale identification _____	79
II.1.3.4. Standardisation _____	80
II.1.4. Results and discussion _____	81
II.1.4.1. Validation of the enriched calcium carbonate standards _____	81
II.1.4.1.1. Element recovery _____	81
II.1.4.1.2. Homogeneity of the pellets _____	83
II.1.4.1.3. Linearity _____	85
II.1.4.1.4. Analysis of calcium based reference materials _____	85
II.1.4.1.5. Limits of detection _____	85
II.1.4.2. Trace element profiles in Scallop shells _____	86
II.1.4.2.1. Homogeneity of the trace elements along the stria _____	86
II.1.4.2.2. Ablation of the shell vs enriched CaCO ₃ pellets _____	87

II.2. Définition du bruit de fond des profils de concentration des éléments traces le long des stries de croissances de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*): implication de la partition et de l'archivage chronique _____ 91

II.2.1. Abstract _____	94
II.2.2. Introduction _____	95
II.2.3. Materials and methods _____	98
II.2.3.1. Sampling sites and sample preparation _____	98
II.2.3.2. Trace element analyses in shells _____	99
II.2.3.3. Seawater composition and environmental database _____	100
II.2.3.4. Shell profiles and comparison with environmental data _____	100
II.2.4. Results and discussion _____	101
II.2.4.1. Significance of trace element profiling on scallop shells _____	101
II.2.4.1.1. TE profile variability among a scallop community _____	101
II.2.4.1.2. TE profile typology and background concentrations _____	104
II.2.4.2. Potential background shell enrichment of trace elements from the seawater _____	106
II.2.4.2.1. Relationship between TE shell composition and seawater composition _____	106
II.2.4.2.2. Relationship between TE shell enrichment and substituent ion solubility within the calcite shell matrix _____	110
II.2.4.3. Evaluation of annually integrated background shell concentrations over a 7-year period _____	113
II.2.4.4. Biosensing and chronicles of trace elements at the coastal sediment-water interface _____	118

Chapitre III Enrichissements épisodiques du Mo, Ba et Mn dans la calcite des coquilles Saint Jacques comme témoin de processus biogéochimiques des environnements côtiers _____ **125**

III.1. Variations journalières des concentrations en molybdène dans la coquille de *Pecten maximus* (L.): un proxy des efflorescences printanières des diatomées dans les environnements côtiers tempérés? _____ **127**

III.1.1. Abstract	130
III.1.2. Introduction	131
III.1.3. Materials and methods	134
III.1.3.1. Scallop shell sampling and sampling sites	134
III.1.3.2. Determination of Mo and trace element concentrations in calcite shell by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometer (LA-ICP-MS)	135
III.1.3.3. Environmental monitoring	136
III.1.4. Results	137
III.1.4.1. Significance of the Mo concentration profiles along the scallop shells	137
III.1.4.1.1. Ubiquitous occurrence of a Mo shell concentration peak in scallop communities among different coastal environments (Brittany)	137
III.1.4.1.2. Recurrence of the Mo shell concentration peaks in a Scallop community among a 6-year period in the of Bay of Brest (Brittany)	140
III.1.4.2. Comparisons of Mo shell concentration profiles with shell growth rate and phytoplankton characteristics	142
III.1.4.2.1. Shell growth rate	143
III.1.4.2.2. Phytoplankton biomass	143
III.1.4.2.3. Diatom species	144
III.1.4.3. Principal component analyses	146
III.1.5. Discussion	150
III.1.5.1. Mo shell concentration peaks and intensity as function of specific biogeochemical variables	150
III.1.5.2. Potential processes related to Mo uptake into Scallop shell during peak events	151
III.1.5.2.1. Influence of hydroclimatic conditions on Mo shell uptake	151
III.1.5.2.2. Mo pelagic biogenic source	152
III.1.6. Conclusion	157

III.2. Enrichissement épisodique du baryum dans la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) associé à des efflorescences phytoplanctoniques estivales dans les environnements côtiers tempérés _____ **159**

III.2.1. Abstract	162
III.2.2. Introduction	163
III.2.3. Materials and methods	167
III.2.3.1. Scallop shell sampling sites and sampling	167
III.2.3.2. Determination of Ba concentrations in calcite shell by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometer (LA-ICP-MS)	167
III.2.3.3. Environmental monitoring database	168
III.2.3.4. Dating, time resolution, data comparability	169
III.2.4. Results and discussion	170
III.2.4.1. Significance of the Ba concentration profiles along the scallop shells	170

III.2.4.1.1. Background concentration and episodic enrichment reproducibility among a scallop community _____	170
III.2.4.1.2. Ba background content as a relative indicator of Ba aqueous concentration _____	173
III.2.4.1.3. Occurrence of Ba concentration peak among various coastal sites (Brittany) and several years (1998-2004 in the Bay of Brest) _____	174
III.2.4.1.4. Comparison of the archived Ba signal with other bivalve shells _____	176
III.2.4.2. Episodic Ba shell enrichment in relation to hydrological parameters and phytoplankton dynamics _____	177
III.2.4.2.1. Relationship between Ba shell peaks (concentrations and dates) with hydrological conditions, shell growth rate, and phytoplankton bulk abundance _____	177
III.2.4.2.2. Influence of species specific phytoplankton summer blooms (Chaetoceros spp. and Gymnodinium spp.) on Ba shell peaks _____	178
III.2.4.2.3. Potential pelagic processes leading to Ba enrichment into the scallop shell _____	185
III.2.5. Conclusion _____	188
III.3. Archives haute fréquence des apports en manganèse dans la baie de Seine par la micro analyse des stries de croissance calcifiées de la coquille Saint Jacques (Pecten maximus) _____	195
III.3.1. Abstract _____	198
III.3.2. Introduction _____	199
III.3.3. Materials and methods _____	202
III.3.3.1. Studied site and sample preparation _____	202
III.3.3.2. Analyses _____	203
III.3.3.3. Environmental data _____	204
III.3.4. Results and discussion _____	205
III.3.4.1. High resolution profiles of Mn shell concentrations _____	205
III.3.4.2. Variations of Mn shell concentration in relation to estuarine and coastal cycling of Mn _____	207
III.3.4.2.1. Influence of upstream inputs from the Seine river on Mn shell enrichment _____	207
III.3.4.2.2. Influence of the biogeochemical processes in the Seine estuary and bay on Mn shell enrichment _____	211
III.3.5. Conclusion _____	216
Chapitre IV Synthèse _____	219
IV.1. Etude méthodologique _____	221
IV.1.1. Résultats _____	221
IV.1.2. Perspectives _____	222
IV.2. Etudes environnementales _____	223
IV.2.1. Résultats _____	223
IV.2.2. Perspectives _____	226
Chapitre V Références bibliographiques _____	229

Chapitre VI Annexes	259
VI.1. Etudes complémentaires	261
VI.1.1. Impact de la marée noire due au naufrage de l'Erika (Décembre 1999) sur la coquille Saint Jacques sur les côtes atlantiques du Sud de la Bretagne (France)	261
VI.1.2. La composition en éléments traces dans la coquille Saint Jacques peut elle être un traceur de phénomènes « d'upwelling »?	273
VI.1.2.1. Introduction	273
VI.1.2.2. Matériels et méthodes	275
VI.1.2.3. Résultats	276
VI.1.2.3.1. Mise en évidence des phénomènes d'upwelling grâce à la croissance coquillière	276
VI.1.2.3.2. Variations des éléments traces lors d'années ponctuées par des upwelling	278
VI.1.2.4. Discussion	283
VI.1.2.5. Conclusion	287
VI.2. Résultats complémentaires	291
VI.2.1. Comparison between calibration with NIST glass standards and matrix-matched calibration with enriched calcium carbonate standards	291
VI.2.2. Analyses des éléments traces dissous dans l'eau de mer par préconcentration-élimination de matrices et ICP-MS	295
VI.2.3. Concentrations des éléments traces dans différents compartiments de la baie de Brest (zone Roscanvel): tissus mous de la coquille Saint Jacques, sédiments et eaux (dissous et particuliers)	299

Liste des Tables

Chapitre I: Problématique scientifique: Utilisation des éléments traces dans des matrices calcifiées comme proxys de changements environnementaux

Table I.2-1 Apports anthropiques mondiaux dans les écosystèmes aquatiques (Point 2004), d'après (Nriagu and Pacyna 1988)). *Il est supposé que 70% de chaque métal émis à l'atmosphère (Nriagu and Pacyna 1988) est redéposé ensuite et seulement 30% atteint le compartiment aquatique (Chilvers and Peterson 1987).	12
Table I.2-2 Rapports élémentaires par rapport au phosphore et concentrations cellulaires de différentes espèces marines du phytoplancton (Ho et al. 2003)...	16
Table I.2-3 Facteurs d'enrichissement des éléments traces ou autres A/ dans le plancton et les algues ((Libes 1992), d'après (Craig 1980)), B/ dans le phytoplancton.....	17
Table I.2-4 Espèces inorganiques prédominantes présentes à l'interface eau/sédiment dans des écosystèmes aquatiques ainsi que le type de distribution de l'élément, leur abondance, et leur taux de complexation avec la matière organique (adapté de Point D., comm. pers., (Brown et al. 1989 ; Millero 2006)). %M-L représente le pourcentage de l'élément M qui va se complexer avec les ligands organiques L dans un écosystème estuarien ou océanique.	21
Table I.2-5 Facteurs d'enrichissement pour la composition en éléments traces de fruits de mer (coquille Saint Jacques, moules, huîtres).	25
Table I.3-1 Constantes de solubilité de différents éléments métalliques mesurées à T=25°C et pour une force ionique nulle (adapté de (Morel and Hering 1993)). ...	28
Table I.3-2 Croissance des biominéraux et la résolution temporelle de leur archivage comparée à des échantillons environnementaux.....	30
Table I.3-3 Présentation des éléments traces utilisés dans les biominéraux (coraux, foraminifères, otolithes et coquilles) comme des traceurs des changements environnementaux ou de la biologie du biominéral. Le symbole ××× souligne que ces traceurs sont utilisés dans tous les biominéraux considérés et dans des environnements géographiquement variés. Le symbole ×× est employé pour des éléments corrélés à des processus dans la plupart des biominéraux et × pour des éléments corrélés à des processus spécifiques à certains sites ou types de biominéraux considérés.....	32
Table I.3-4 Ordre de grandeur des concentrations coquillières déterminées dans la littérature en fonction des éléments et des espèces considérées. <LD représente des concentrations inférieures aux limites de détection.....	39
Table I.4-1 Avantages et inconvénients des deux méthodes de détermination des concentrations des éléments traces dans des coquilles de carbonate de calcium. Généralement, la méthode directe utilise le couplage LA-ICP-MS, tandis qu'une analyse conventionnelle par ICP-MS est choisie pour la méthode indirecte.....	60

Chapitre II: Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite des coquilles Saint Jacques et implication pour leur partition et archivage

Table II.1-1 LA-ICP-MS operating conditions.	78
Table II.1-2 Recovery on enriched calcium carbonate standards. Nominal and measured concentrations are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ for each element. Uncertainty is expressed as 2 times the standard deviation on 3 replicates.	82
Table II.1-3 Homogeneity of the enriched calcium carbonate pellets and analytical performances of the coupling.	84
Table II.1-4 LA-ICP-MS analysis of calcium based certified reference materials. All elemental concentrations are expressed as $\mu\text{g.g}^{-1}$ and were obtained after calibration with our enriched calcium carbonate pellets. Uncertainty is expressed as 2 times the standard deviation on 5 replicates.	86
Table II.1-5 Distribution of trace elements normalized against ^{43}Ca along a stria (n=5).	87
Table II.2-1 Elemental average or background shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$), their relative standard deviations (%), the minimum and maximum concentrations measured along Roscanvel shells according to the different year. Ba background concentrations were defined eliminating all the significant increases of shell concentrations. Mg shell profile being steady increasing concentrations, slopes of Mg profiles were considered. "<" represents the concentrations below the limits of detection.	105
Table II.2-2 Correlation matrix between average minor and trace element average shell concentrations, the shell growth rate and hydrological or biological parameters (average seawater temperature, salinity and chlorophyll a concentrations during the shell growth period) from the Bay of Brest (Roscanvel) over a 7-year period (1998 - 2004, n = 7). The correlation coefficients in bold present a probability $p < 0,05$. Mg profiles exhibiting steady state increasing concentrations, the slopes of the shell profiles were considered instead of the average shell concentrations. For Ba, only the background shell concentrations were examined.	114

Chapitre III: Enrichissements épisodiques du Mo, Ba et Mn dans la calcite des coquilles Saint Jacques comme témoin de processus biogéochimiques des environnements côtiers

Table III.1-1 Molybdenum background and peak concentrations in the three study sites.	139
Table III.1-2 Molybdenum background (bkg) and peak concentrations (listed in the time order of the peak) over a 6-year period in Roscanvel (* average of the 2 standard deviations obtained respectively for the 2 shell average concentrations).	140
Table III.1-3 Principal component (PC) analysis of Mo peak (date and intensity), during Mo peak period, shell growth rate average, maximum of Chlorophyll a, <i>Chaetoceros spp.</i> , and <i>Rhizosolenia spp.</i>	146

Table III.1-4 Correlation matrix for Mo peaks and during Mo peak period, shell growth rate average, maxima of Chlorophyll <i>a</i> , <i>Chaetoceros spp.</i> , and <i>Rhizosolenia spp.</i>	147
Table III.2-1 Definition of barium shell profiles with their background (bkg) and peak concentrations (named by the time order of the peak) over a 7-year period in shells from Roscanvel (* deviation to the mean average concentrations) according to the total biomass expressed by chlorophyll <i>a</i> concentrations and the phytoplankton speciation during the different Ba shell enrichments.	171
Table III.2-2 Ba archived in different bivalve shells according to different ecosystems. Both Ba background and maximum concentrations are examined. The period of Ba shell enrichment are also exhibited. * represent analyses performed with matrix-matched standards.....	172
Table III.2-3 Pearson tests (in bold, the correlation coefficients with $p < 0.05$) for Ba shell peaks ($n=20$) occurring before the 4 th of August, according to their date of occurrence (julian date), averages of shell growth rate ($\mu\text{m/d}$), of seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$), of salinity (PSU), the maximum concentrations of chlorophyll <i>a</i> ($\mu\text{g.l}^{-1}$), of <i>Chaetoceros spp.</i> (cell.l^{-1}) over the period from 15 days before to 7 days after the maximum concentrations of Ba shell enrichment.	181
Table III.2-4 Pearson tests (in bold, the correlation coefficients with $p < 0.05$) for Ba shell peaks ($n=16$) occurring after the 4 th of August, according to their date of occurrence (julian date), averages of shell growth rate ($\mu\text{m/d}$), of seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$), of salinity (PSU), the maximum concentrations of chlorophyll <i>a</i> ($\mu\text{g.l}^{-1}$), of <i>Chaetoceros spp.</i> and <i>Gymnodinium spp.</i> (cell.l^{-1}) over the period from 15 days before to 7 days after the maximum concentrations of Ba shell enrichment.	181

Chapitre VI: Annexes

Table VI.2-1 Concentrations moyennes dans chaque type d'organes de coquilles Saint Jacques prélevées au mois de janvier 2003 dans la zone de Roscanvel (Baie de Brest, France).	300
Table VI.2-2 Concentrations moyennes dans le sédiment de Roscanvel (Baie de Brest, France) en mai 2004 (3 carottes $\times$ 2 jours de prélèvements: 3 et 10 mai 2004).....	300
Table VI.2-3 Concentrations moyennes dans les particules en suspension de Roscanvel (Baie de Brest, France; prélèvement en surface et au fond $\times$ 2 jours: 3 et 10 mai 2004).....	301
Table VI.2-4 Concentrations moyennes dans les eaux filtrées de Roscanvel (Baie de Brest, France; prélèvement en surface et au fond $\times$ 2 jours: 3 et 10 mai 2004).	301

Liste des figures

Chapitre I: Problématique scientifique: Utilisation des éléments traces dans des matrices calcifiées comme proxys de changements environnementaux

Figure I.1-1 Schéma récapitulatif des différentes approches menées par l'ACI PECTEN et leurs objectifs.....	5
Figure I.2-1 Classification périodique des éléments dans des eaux marines ((Millero 2006), adaptée de (Bruland 1983)).	8
Figure I.2-2 Sources et différents processus des éléments traces dans des environnements marins et pouvant influencer l'enrichissement ou l'appauvrissement des éléments traces dans la coquille.....	9
Figure I.2-3 Distributions horizontales de trois profils caractéristiques: A/ conservatifs (Mo, océan Pacifique), B/ enrichis en surface (Mn, Nord Pacifique), et C/ type nutriment (Ba, Sud Atlantique)(Millero 2006).....	14
Figure I.2-4 Représentation schématique de la spéciation des éléments traces dans les environnements aquatiques et des processus régulant les échanges à l'interface eau/sédiment (Santschi et al. 1997).....	19
Figure I.2-5 Représentation schématique du cycle biogéochimique des éléments traces (la notation Me représentant l'élément ou métal) dans des environnements marins (adapté de (Butcher et al. 1992)).	22
Figure I.3-1 Représentation d'une structure cristalline aragonite et calcite.	27
Figure I.3-2 Présentation des résultats obtenus entre les variations des éléments traces dans les coraux (B, Mg, Sr, U, Ba) et les profils de température de l'eau de mer en surface (Sinclair et al. 1998). Seul le baryum ne montre pas de saisonnalité liée à la température.	33
Figure I.3-3 Photographie MEB A/ de trois types de foraminifère: 1 et 2 <i>Ammonia tepida</i> , 3 et 4 <i>Criboelphidium excavatum</i> , 5 et 6 <i>Haynesina germanica</i> . La barre d'échelle représente 100 µm (Armynot Du Châtelet et al. 2004); B/ d'un test fossile de foraminifère (<i>Neoglobobulimina dutertrei</i>) analysé par LA-ICP-MS (Eggins et al. 2003a).....	34
Figure I.3-4 Influence des rapports molaires Sr/Ca et Ba/Ca dans l'eau sur l'incorporation de ces deux éléments dans les otolithes. Les symboles pleins représentent des expériences menées à 25°C, les symboles vides à 20°C (Bath et al. 2000).....	35
Figure I.3-5 Schéma conceptuel d'une coquille à l'interface eau/sédiment et des différents mécanismes potentiels mis en jeu pour l'assimilation des éléments traces dans la coquille (adapté de (Lorrain 2002)).	37
Figure I.3-6 Exemple de profils élémentaires du Sr et du Ba (en µmol.mol ⁻¹) obtenus dans des coquilles du bivalve <i>Mercenaria mercenaria</i> (Stecher et al. 1996).	40
Figure I.3-7 <i>Pecten maximus</i> . A. Valve gauche d'un spécimen collecté en février 2002 dans la zone de Roscanvel (rade de Brest, France). La marque post-hivernale d'arrêt de croissance (W) permet une estimation précise de l'âge de l'individu. B. Photographie (microscope photonique) des lamelles externes (stries) avant décapage à l'acide acétique. C. Photographie (MEB) des stries après décapage. Ce traitement permet ensuite de mesurer les distances inter-stries (Chauvaud 1998).	43

Figure I.3-8 Mise en évidence de la relation croissance coquillière/température de l'eau de mer pour les coquilles Saint Jacques <i>Pecten maximus</i> sur la période 1987-1997. Les accidents de croissances sont identifiés et reliés à des efflorescences phytoplanctoniques (Chauvaud et al. 2004).....	43
Figure I.4-1 Schéma du couplage ablation laser – spectrométrie de masse à plasma inductif couplé (LA-ICP-MS).	48
Figure I.4-2 Détermination par LA-ICP-MS de rapports isotopiques Pb/U dans des zircons. La zone d'intérêt est situé entre 65 et 95 s et permet une datation précise du matériau géologique (Jackson et al. 2004).....	51
Figure I.4-3 Représentation des concentrations en Cr et en Ce dans les peintures noires utilisées pour la décoration des poteries : mise en évidence de plusieurs groupes sociaux Les ellipses représentent une probabilité de 90% d'appartenir au groupe (Cecil and Neff 2006).	51
Figure I.4-4 Analyse élémentaire en profondeur par ablation laser femtoseconde et ICP-MS d'un matériau multicouches certifié Cr/Ni (NIST 2135c). L'épaisseur des couches est de 57 nm et 56 nm respectivement pour le chrome et le nickel (Péchevran et al. 2005).	52
Figure I.4-5 Identification de protéines sélénées séparées sur gel 1-D SDS-PAGE par LA-ICP-MS (Ballihaut et al. 2005).....	53
Figure I.4-6 Analyse élémentaire quantitative (As, Cu, Zn, Al, S, Fe, Si) par LA-ICP-MS de deux carottes de sédiment : A (années 1900) et B (années 1850): mise en évidence de la contamination métallique (Rauch et al. 2006).....	55
Figure I.4-7 Photographie des stries journalières des coquilles Saint Jacques <i>Pecten maximus</i> et des prélèvements effectués avec une micro perceuse (Lorrain 2002).....	56
Figure I.4-8 Photographie (MEB) des stries journalières des coquilles Saint Jacques <i>Pecten maximus</i> et des cratères d'ablations obtenues par LA-ICP-MS (Péchevran, comm. perso. ; (Lorrain 2002)).	58
Figure I.5-1 Situation de la baie de Brest, de la zone d'échantillonnage, et des stations de suivi hydrologiques, biologiques et chimiques.	62
Figure I.5-2 Photographie d'une coquille et du fragment analysé. Zooms (Photographie MEB) sur les stries journalières de la coquille Saint Jacques et les traits d'ablation (pré ablation et analyse).	64

Chapitre II: Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite des coquilles Saint Jacques et implication pour leur partition et archivage

Figure II.1-1 (A) MEB picture of a scallop shell sample highlighting the daily striae and the ablated zones (scans); (B) ^{138}Ba profile obtained for one scan and the signal integration procedure.	79
Figure II.1-2 Variations of barium concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) in 3 shells originating from Belle Ile for the year 1999.	88
Figure II.1-3 Inter-annual variations of barium and molybdenum concentrations (in $\mu\text{g.g}^{-1}$) in shells originating from Belle Ile.....	89
Figure II.2-1 Maps of the studied sites: A) presents the sampling zone in Brittany (France); B) is focussed on the Bay of Brest showing the investigated sites (Roscanvel for the sampling, and the others for regular measurements of environmental parameters).	99

Figure II.2-2 Concentration profiles of Sr, Mg, Mn, Pb, Ba, Mo, Co, Cu, Sn in $\mu\text{g.g}^{-1}$ obtained for 3 shells collected at Roscanvel for the time frame period investigated: April-November 2003.	102
Figure II.2-3 A) Average of shell growth rate ($\mu\text{m.d}^{-1}$) for 3 shells collected at Roscanvel for the time frame period investigated: April-November 2003 and the seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$) measured at the Lanvéoc station, nearby the sampling zone. B) Seawater salinity (PSU) and chlorophyll a concentrations ($\mu\text{g/l}$) for the same period and the same station.....	103
Figure II.2-4 Enrichment factors between the biogenic calcite (average shell concentrations obtained in shells from Roscanvel, $n=20$) and seawater according to seawater concentrations for minor and trace element normalized to calcium. Figure 5A is obtained for a literature seawater composition, whereas Figure 5B is for measured concentrations in bottom seawater at Roscanvel (May 2004). Elements presented with filled symbol are not included in the linear regression because their incorporations in the calcium carbonate lattice are not favoured: i. e. for Sr, Pb, Ba, $r_i > r_i(\text{Ca})$ and Sn is not supposed to substitute for Ca^{2+} in calcite.	108
Figure II.2-5 Enrichment factors between the biogenic calcite and seawater (normalisation to Ca), according to solubility constant and ionic radii of the element. A) for elements with $r_i < r_i(\text{Ca})$ versus B) for those with $r_i > r_i(\text{Ca})$. Solid lines are obtained in this study and dashed lines by Rimstidt et al. (Rimstidt et al. 1998).....	111
Figure II.2-6 Annual average concentrations of minor and trace elements (background average concentrations for Ba) in calcite shells collected in the Bay of Brest (Roscanvel) over the 7-year period (1998 to 2004), according to average shell concentrations (dashed line) and their standard deviations (dotted line) over this period. For Ba, only the background shell concentrations were examined. Variations of average seawater concentrations are also considered during the shell growth period (from mid-April to the end of November).....	115
Figure II.2-7 Relationship obtained over the 7-year period (1998-2004) ($n = 7$) between: A) Pb versus Mn shell concentrations; B) Co versus Ba shell concentrations.....	117
Figure II.2-8 Utilisation du couplage de l'ablation laser ICP-MS pour l'analyse des éléments traces dans les stries journalières de calcite des coquilles Saint Jacques.....	123
Figure II.2-9 Représentation schématique des principaux facteurs influençant les concentrations coquillières de fond des éléments traces dans la coquille Saint Jacques.....	124

Chapitre III: Enrichissements épisodiques du Mo, Ba et Mn dans la calcite des coquilles Saint Jacques comme témoin de processus biogéochimiques des environnements côtiers

Figure III.1-1 Map of the investigated area (Brittany Coast, Bay of Biscay) showing the three sampling zones in Brittany, France: Belle Ile ($47^{\circ}2\text{N}$, $3^{\circ}1\text{W}$), Quiberon ($47^{\circ}3\text{N}$, $3^{\circ}0\text{W}$), Roscanvel in the Bay of Brest ($48^{\circ}2\text{N}$, $4^{\circ}3\text{W}$). Scallop shells were collected by scuba diving in Roscanvel and by dredging for the other ecosystems.....	135

Figure III.1-2 Comparison of Mo concentration profiles of three scallop shells, from Belle Ile, during the year 2000, to evaluate the inter shell reproducibility of Mo variations. Mo shell profile exhibits a maximum of concentration of $1.65 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$ occurring the 14 th May ± 3 days.	138
Figure III.1-3 Comparison of Mo concentration profiles in 2000 from the investigated locations to examine Mo concentration peak ubiquity. The maxima of Mo shell concentration occurs the 14 th May, the 15 th May and the 16 th May with an uncertainty of 3 days, respectively in Belle Ile, Quiberon, Roscanvel. Intensities of these Mo maxima are respectively about 1.65 ± 0.06 , 1.81 ± 0.17 , $1.04 \pm 0.35 \mu\text{g.g}^{-1}$	138
Figure III.1-4 Mo concentration profiles in shells from Roscanvel over a 6-year period (1998-2003) (a) compared to: (b) shell growth rate and its average on 8 days; (c) chlorophyll a concentration in seawater; and phytoplankton diatom species of: (d) <i>Pseudonitzschia spp.</i> , (e) <i>Rhizosolenia spp.</i> , (f) <i>Chaetoceros spp.</i> . For each year, only results obtained for one shell on Mo profile and growth rate are represented. Chlorophyll a and phytoplankton speciation data (respectively weekly and 15-day temporal resolution) are originating from a reference station in the Bay of Brest at Lanvéoc (48°18N, 4°27W) and the SOMLIT station (48°21N, 4°33W), nearby Roscanvel sampling zone.	141
Figure III.1-5 Principal component analysis for Roscanvel shells for the 6-year period (1998-2003). This statistical representation retains 72% of the total variance with 57% for the first PC and 15% for the second PC. The first PC is mainly explained by climatic conditions whereas the second by Mo peak intensity (contribution of 39%). A specific axis related to maximum of Mo shell concentration and diatom species is represented, expressing the statistical variability of Mo maximum intensity according to diatom species. (a) Four main clusters of variables are highlighted: a first expressed seasonal characteristics; the second, variables associated to Mo concentration peak intensity; the third, the variability of maximum concentration of <i>Chaetoceros spp.</i> ; the last, the variability of the maximum concentration of chlorophyll a. (b) Four clusters of the Mo shell concentration peaks: first, the 2001 intense Mo spring; second, the 1998 weak Mo maxima; third, the 2003 later Mo shell maxima; and the last, Mo maxima of intermediate concentrations.....	148
Figure III.2-1 Reproducibility of the profiles of Ba concentrations in 3 shells originating from a same community: collected in Roscanvel area (Bay of Brest, France) and analysed for the year 2003.	170
Figure III.2-2 Variations of Ba concentrations over 6-year period (1998-2004) in shells from Roscanvel station (Bay of Brest, France) according to shell growth rate (moving average on 8 days), chlorophyll a concentration in seawater.....	175
Figure III.2-3 Variations of Ba concentrations over 6-year period (1998-2004) in shells from Roscanvel station (Bay of Brest, France) according to concentrations of two phytoplankton species: <i>Chaetoceros spp.</i> and <i>Gymnodinium spp.</i>	180
Figure III.2-4 Relationship between maximum concentrations of Ba shell enrichments occurring after the 4 th August and the maximum concentrations of <i>Chaetoceros spp.</i> (cell.l^{-1}).	182
Figure III.2-5 Relationship between maximum concentrations of Ba shell enrichments occurring after the 4 th August and (A) the average of seawater salinity; (B) Maximum concentrations of Chl a ($\mu\text{g.l}^{-1}$).	184

Figure III.2-6 Représentation schématique des principaux facteurs influençant les enrichissements des concentrations coquillières du Mo et du Ba dans la coquille Saint Jacques.....	193
Figure III.3-1 Map of the investigated area: A/ exhibits the Seine river with the upstream stations “Poses” and the downstream station “Honfleur” in the estuary and the high turbid zone; B/ presents the sampling zone of the shells and the station “La Carosse” located in the plume of the river and in the bay.....	202
Figure III.3-2 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the average shell growth rate ($\mu\text{m.d}^{-1}$, $n=3$) from April to mid October 2004.	206
Figure III.3-3 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the flow rate ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) and the particulate flux (kg.s^{-1}) of the Seine river (measured at Poses), from April to mid October 2004. The dark grey arrows represent the maxima of Mn shell concentrations which are mainly influenced by the particulate upstream inputs from the Seine river. The black arrows exhibit others maxima of Mn shell concentrations.....	208
Figure III.3-4 Average Mn shell concentrations ($n=3$) as a function of the river particulate flux from April to July (full triangle) and the representation of the others points obtained from August to mid October (empty square) in 2004. For the Mn flux, the standart deviations were determined by the product of the standard deviation on the average Mn particulate concentration over a 10-year period (1993-2003), by the flow rate and by the suspended particulate matter (SPM) concentrations at Poses.....	210
Figure III.3-5 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the seawater turbidity (NTU) and the chlorophyll concentrations ($\mu\text{g.l}^{-1}$) measured in surface seawater; and saliniy (PSU) and ammonium concentrations ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) measured in deep seawater at Luc buoy (Seine bay), from April to mid October 2004. Black and light grey arrows reveal maxima and minima of Mn shell concentrations related to potential changes of redox conditions in the bay.	212
Figure III.3-6 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$) and the saturation percentage of oxygen (%) in surface seawater at Honfleur station (Seine estuary, hight turbid zone) and in deep water at Luc buoy (Seine bay), from April to mid October 2004. Black and light grey arrows reveal maxima and minima of Mn shell concentrations related to potential changes of redox conditions in the HTZ.	214

Chapitre IV: Synthèse

Figure IV.2-1 Sources et processus étant suggérés influencer l'enrichissement ou l'appauvrissement des éléments traces dans la coquille Saint Jacques dans les environnements côtiers tempérés.....	224

Chapitre VI: Annexes

Figure VI.1-1 Variation de la croissance coquillière ($\mu\text{m.j}^{-1}$) en fonction de la température de l'eau de mer ($^{\circ}\text{C}$) pour le site d'Aus tevoll (Norvège) et de Vigo	

(Espagne). En Norvège, un phénomène de <i>upwelling</i> impactant la croissance coquillière dû à l'apport d'eaux profondes froides est identifié sur 10 jours par la partie grise.	277
Figure VI.1-2 Variation de la croissance coquillière ($\mu\text{m}.\text{j}^{-1}$) comparée avec l'indice de <i>upwelling</i> ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) de Vigo (Espagne). Les parties grises identifient des phénomènes de <i>upwelling</i> apparaissant sur une longue période (15 jours).	278
Figure VI.1-3 Variations des concentrations du strontium, manganèse et baryum dans les coquilles de Vigo (Espagne) en fonction de la croissance coquillière moyenne ($n=3$). Les parties grises identifient des phénomènes de <i>upwelling</i> ..	280
Figure VI.1-4 Variations des concentrations du strontium, manganèse et baryum dans les coquilles d'Austevoll (Norvège) en fonction de la croissance coquillière moyenne ($n=3$). La partie grise identifie un phénomène de <i>upwelling</i>	282
Figure VI.1-5 Variations des rapports molaires Ba/Mn dans les coquilles d'Austevoll (Norvège) et de Vigo en fonction, respectivement, de la croissance coquillière moyenne ($n=3$, $\mu\text{m}.\text{s}^{-1}$) et des indices de <i>upwelling</i> ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$). Les parties grises identifient les <i>upwelling</i>	286
Figure VI.2-1 Representative calibration graphs obtain by LA-ICP-MS on the synthesized enriched calcium carbonate pellets and on the NIST 600 series glass standards. Signal intensity are normalised against the slope of calcium in both matrices.	292
Figure VI.2-2 Protocole de préparation et d'analyse des différents types d'échantillons.	299

**Chapitre I Problématique scientifique: Utilisation des
éléments traces dans des matrices calcifiées comme
proxys de changements environnementaux**

I.1. Contexte de l'étude

La compréhension des signaux climatiques et anthropiques dans le changement climatique global et dans les bouleversements du fonctionnement des écosystèmes côtiers reste une priorité de la communauté scientifique internationale. Les études de processus, menées seules, s'avèrent insuffisantes dans la perspective d'une gestion rationnelle des écosystèmes marins. Les séries temporelles les plus remarquables de surveillance des écosystèmes ne permettent pas de remonter à la période précédant l'influence anthropique. Seules les archives historiques, archéologiques et paléo écologiques permettent de replacer ces écosystèmes dans le contexte de variations naturelles, le plus souvent liées au climat.

La surface de la planète contient des archives uniques de la variabilité du climat et de l'environnement. Jusqu'à présent, les recherches en paléoclimatologie ont largement mis l'accent sur ces grands changements climatiques, plutôt que sur les variations récentes longtemps considérées comme négligeables. Des fluctuations climatiques séculaires ont, cependant, eu un impact important sur les activités humaines en Europe. L'étude de ces fluctuations récentes nécessite des archives climatiques ou environnementales bien datées, une haute résolution temporelle, et des méthodologies permettant de reconstruire quantitativement des paramètres climatiques dont les variations sont de faibles amplitudes. La recherche internationale s'est focalisée sur différents types de matériaux qui semblent offrir ces avantages: pour le domaine continental, les cernes de croissance des arbres (dendrochronologie) et les carottes glacières (archivage des dépôts atmosphériques); pour le milieu marin, les coraux et les sédiments marins (archivage des dépôts sédimentaires). Or, la complexité spatiale des fluctuations climatiques récentes justifie une couverture géographique la plus large possible et une résolution temporelle des plus fines, difficile à obtenir avec les dépôts sédimentaires et les coraux influencés par de nombreux paramètres limitant (taux de sédimentation, bioturbation, variabilité géographique, faible taux de croissance...). Il est donc indispensable de trouver d'autres enregistrements notamment en milieu marin.

Les études de sclérochronologie, science qui permet de mesurer le temps à partir de marques naturelles enregistrées périodiquement par les tissus durs des animaux en croissance, se sont multipliées. Les traits d'histoire de vie impliquant la dimension temporelle (âge individuel, âge à maturité sexuelle, longévité, vitesse de

croissance) peuvent ainsi être directement estimés, tant chez les formes actuelles que chez les fossiles, avec les meilleures précisions connues à ce jour. C'est dans cette optique que les coquilles des mollusques ont été considérées comme des archives des changements environnementaux grâce à leurs couches successives de carbonate de calcium déposées lors de leur croissance (Toland et al. 2000). De plus, les coquilles des mollusques peuvent être trouvées dans des environnements marins et côtiers très variés (tropicaux, tempérés et polaires). Elles couvrent donc des zones géographiques très vastes et complémentaires aux archives déjà utilisées dans les environnements marins. Associée à des techniques analytiques telles que l'ablation laser, cette approche permet une description fine de la variabilité haute fréquence du climat et de la production primaire (Vander Putten et al. 2000).

La composition élémentaire (Giusti et al. 1999; Puente et al. 1996; Richardson et al. 2001; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000) ou isotopique (Klein et al. 1996b) de la coquille des mollusques a pu être reliée à des paramètres environnementaux. Dans toutes ces études, une imperfection demeure. L'analyse de ces bivalves, comme les pétoncles blancs ou les moules, révèle un enregistrement mais avec une datation peu précise, seuls des changements saisonniers peuvent être étudiés. L'objectif ultime de ces études est de mettre en valeur des traceurs quantitatifs de ces changements, appelés proxis. Avec une datation imprécise, les calibrations des proxis deviennent donc délicates à mettre en œuvre et les variations saisonnières observées ne peuvent être interprétés que de façon subjective à cause du manque de repérage temporel à haute fréquence. Trouver de nouvelles archives à hautes résolutions spatiale et temporelle des changements climatiques et des phénomènes d'eutrophisation est donc devenu nécessaire.

I.1.1. Projet de recherche ACI PECTEN

Dans cette optique, un projet de recherche pluridisciplinaire dans le cadre d'une Actions Concertées Initiatives Jeunes Chercheurs (ACI-JC PECTEN) a donc débuté en 2001. Basé sur des connaissances déjà acquise sur la biologie du bivalve et de sa croissance (Chauvaud 1998), l'objectif était d'utiliser la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (L.) comme un capteur et un enregistreur des variations de l'environnement côtier. Dans ce contexte, une approche pluri proxis a été menée. Une telle approche était nécessaire car au cours des dernières décennies, la

confrontation des différents "proxis" développés révèle parfois des désaccords importants.

Un schéma récapitulatif du projet de l'ACI PECTEN, présenté dans la Figure I.1-1, récapitule les différents objectifs fixés. Un des principaux objectifs du projet était d'évaluer si la calcite des coquilles Saint Jacques archive des informations sur la variabilité haute fréquence des caractéristiques chimiques des masses d'eau environnant le bivalve. La volonté était de mieux calibrer l'outil « *Pecten* » et de découvrir de nouveaux traceurs. Le projet s'est intéressé aux nombreuses données accumulées en rade de Brest sur la croissance de cette espèce pour comprendre les réponses de cet organisme vis à vis des variations climatiques et des apports anthropiques. Les coquilles Saint Jacques étant largement distribuées le long des côtes atlantiques (Maroc à la Norvège), plusieurs de ces populations ont aussi été examinées pour constituer une base de données à larges variabilités spatiale et temporelle. Le dernier objectif était l'utilisation de cet outil pour obtenir des enregistrements haute fréquence des variations de la température de l'eau de mer depuis plusieurs centaines d'années.

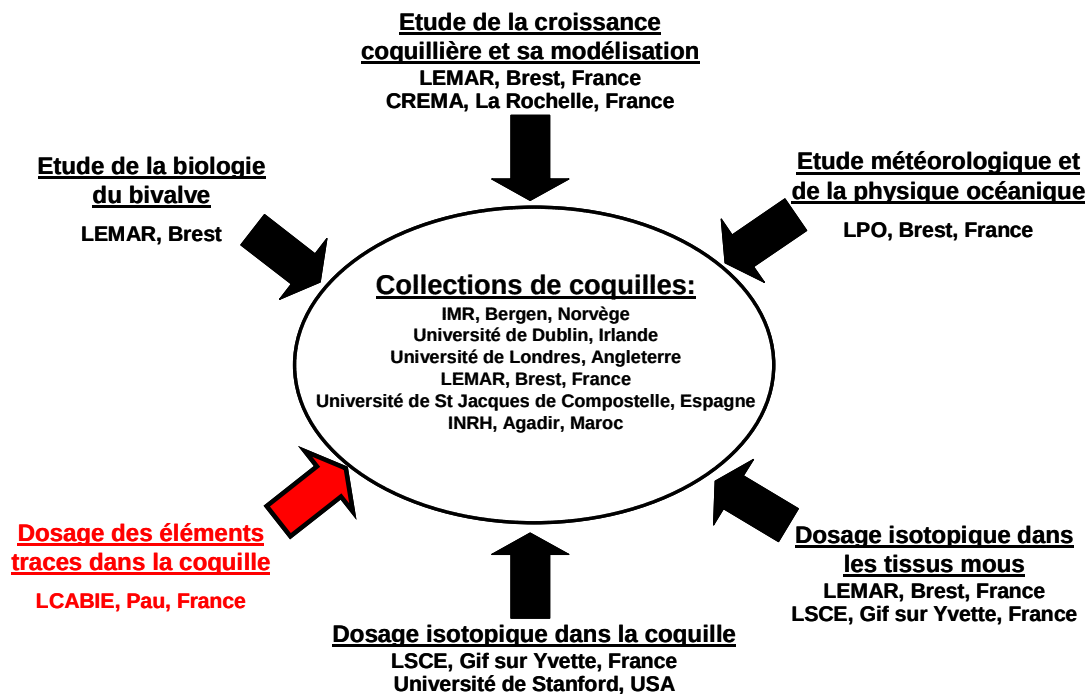


Figure I.1-1 Schéma récapitulatif des différentes approches menées par l'ACI PECTEN et leurs objectifs.

I.1.2. Objectifs de la thèse

Les compétences de notre laboratoire ont été impliquées dans le premier objectif du projet de recherche de l'ACI PECTEN, i. e. l'évaluation des informations chimiques contenues dans la calcite des coquilles Saint Jacques comme reflet des conditions environnementales.

Au sein du laboratoire, le couplage ablation laser et spectrométrie de masse à source d'ionisation plasma (LA-ICP-MS) avait déjà été développé pour l'analyse élémentaire de matériaux solides et pour la caractérisation des métaux traces dans l'environnement ((Motelica-Heino 1999), Université de Pau et des Pays de l'Adour, UPPA). Le laboratoire possédait aussi un certain recul sur la spéciation et la biogéochimie des éléments traces métalliques dans les écosystèmes estuariens ((Point 2004), UPPA).

Le projet de la thèse s'inscrit aussi dans le projet ORQUE (Observatoire de ressources de la qualité de l'environnement) mené dans le laboratoire. Le cadre de la thèse s'implique, parmi les principaux objectifs, c'est à dire la surveillance de l'évolution de la qualité des environnements, et la création d'une banque d'archives d'échantillons dont leur composition physico-chimique est préalablement caractérisée (sols, sédiments, eaux, matériaux biologiques).

Le projet de la thèse s'est ainsi focalisé sur l'évaluation des informations chimiques contenues dans la calcite des coquilles Saint Jacques comme reflet des conditions environnementales. L'intérêt premier a été de regarder l'incorporation de potentiels indicateurs de la température (Sr, Mg), de la productivité primaire (Ba) et de contaminants (Cu, Zn, Cd, Pb, Hg) dans la calcite de la coquille. Les concentrations coquillères des éléments traces mesurées pouvaient ensuite être comparées avec des suivis environnementaux de la colonne d'eau et des sédiments. Des analyses préliminaires ont été menées par notre équipe lors de la thèse d'Anne Lorrain ((Lorrain 2002), Université de Bretagne Occidentale, UBO). Ces premiers résultats se sont focalisés sur les éléments suivants: le strontium, le magnésium, le manganèse, le baryum et le plomb. Ces premières analyses menées sur cinq coquilles de la rade de Brest (France) ont cependant été qualitatives. Elles ont permis de révéler des variations saisonnières potentiellement influencées par plusieurs facteurs environnementaux ou métaboliques. Cependant, les effets de ces facteurs n'ont jusqu'à présent pas été déconvolués. Des analyses ont aussi été

révélés menées par notre équipe dans le cadre de la thèse de Julien Thébaut pour une autre espèce de bivalves (*Comptopallium radula*) provenant d'environnements tropicaux ((Thébaut 2005), UBO). Les résultats ont aussi soulignés le potentiel considérable de la coquille de *Comptopallium radula* comme archive eulérienne haute-fréquence de la variabilité climatique et environnementale dans le lagon sud-ouest de Nouvelle Calédonie.

Le premier objectif de ma thèse a été la mise en œuvre du couplage entre l'ablation laser et la spectrométrie de masse à plasma induit couplé (LA-ICP-MS) pour l'analyse quantitative des éléments traces dans les coquilles Saint Jacques. Le second objectif était de comprendre les informations chimiques élémentaires contenues dans la calcite des coquilles en fonction des conditions environnementales. Enfin, le dernier objectif était de vérifier si certains éléments traces pouvaient amener une information suffisamment claire afin de permettre la calibration de nouveaux proxis à haute fréquence spatiale et temporelle pour l'étude des changements écologiques des écosystèmes côtiers.

I.2. Généralités sur la biogéochimie des éléments traces dans les environnements côtiers et à l'interface eau/sédiment

Les cycles biogéochimiques des éléments traces étudient le transport et les transformations des éléments présents à des concentrations inférieures à $0.05 \mu\text{mol.l}^{-1}$ dans des environnements naturels. Une classification périodique des éléments dans les environnements marins, présentée dans la Figure I.2-1, permet de souligner l'importance des éléments traces. Elle permet aussi de mettre en évidence que la plupart des éléments traces sont des métaux.

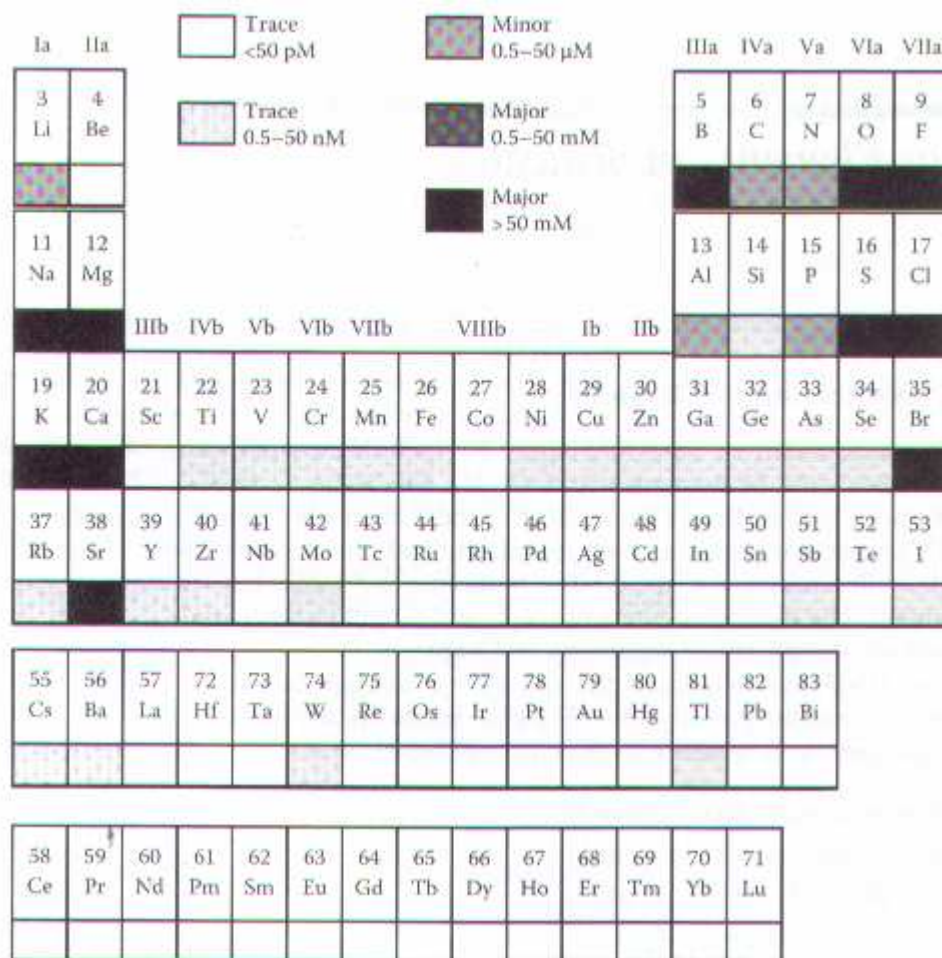


Figure I.2-1 Classification périodique des éléments dans des eaux marines ((Millero 2006), adaptée de (Bruland 1983)).

Les environnements côtiers contribuent de façon non négligeable aux cycles biogéochimiques des éléments traces dans l'océan. 25 % de la productivité primaire a lieu dans ces environnements côtiers qui représente 10 % de la surface globale

des océans (Smith and Hollibaugh 1993). Depuis le siècle dernier, l'eutrophisation des environnements côtiers a conduit à des perturbations des cycles biogéochimiques. Les réponses des écosystèmes côtiers à ces perturbations sont variables (Cloern 2001). Dans ce contexte, la réponse des écosystèmes vis à vis de cette pression anthropique (contaminants) doit aussi être considérée pour évaluer les cycles biogéochimiques des éléments traces. Cependant, les études sur le cycle biogéochimique des éléments traces dans les environnements côtiers ont été jusqu'à présent limitées à cause de la complexité des processus mis en jeu et des difficultés analytiques pour mesurer les concentrations en éléments traces dans ces écosystèmes « dilués ».

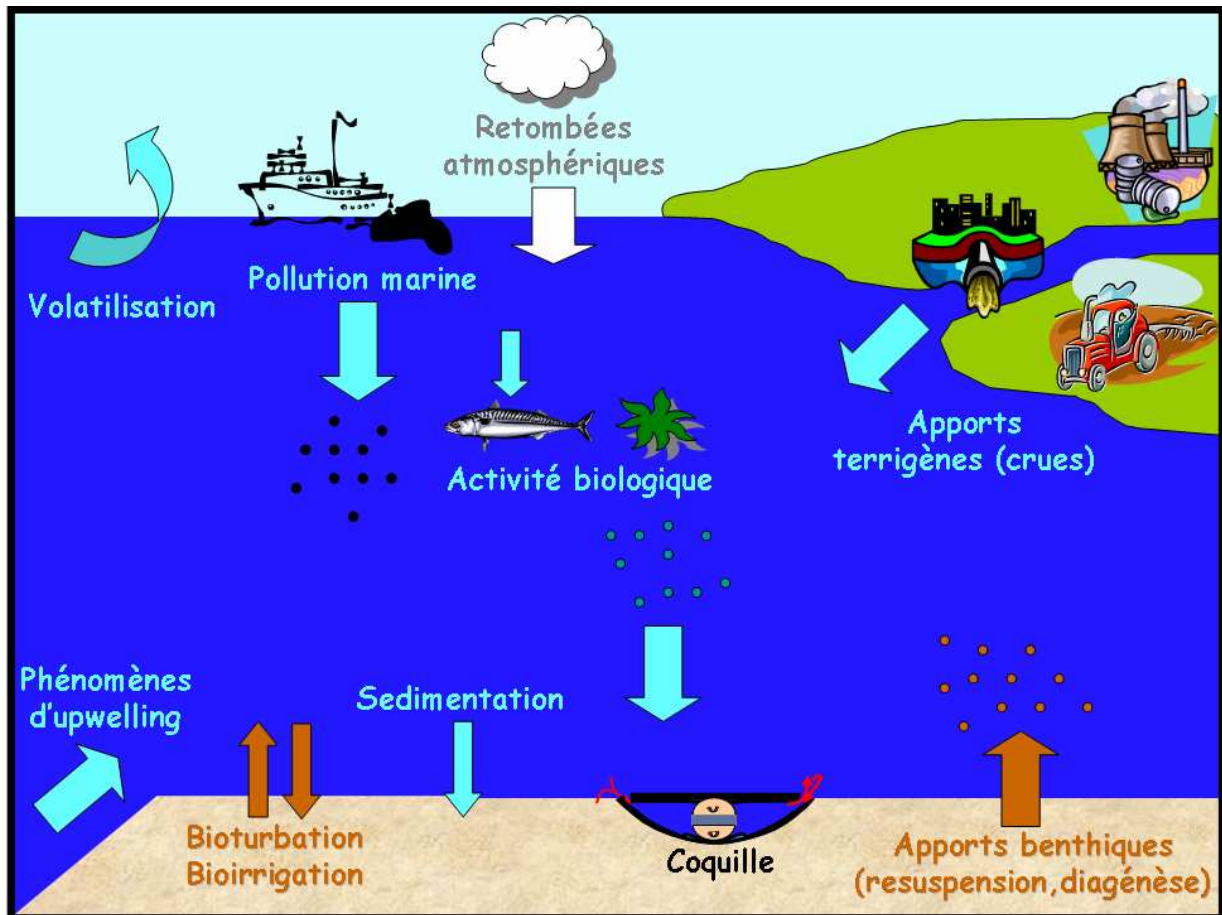


Figure I.2-2 Sources et différents processus des éléments traces dans des environnements marins et pouvant influencer l'enrichissement ou l'appauvrissement des éléments traces dans la coquille.

Les cycles biogéochimiques des éléments traces dépendent de différentes sources et des nombreux processus et réactions régissant les échanges et les

transports dans l'environnement. La Figure I.2-2 récapitule ces différents réservoirs ou sources, mais aussi ces différents processus d'échange et de transport. Les transports et échanges des éléments traces entre les différents réservoirs (eau, atmosphère...) et au sein de ces réservoirs seront tout d'abord étudiés. Les coquilles Saint Jacques vivant à l'interface eau/sédiment, nous nous intéresserons ensuite particulièrement à la dynamique des éléments traces à cette interface.

I.2.1. Transports et échanges des éléments traces dans les environnements marins côtiers

I.2.1.1. Apports continentaux

Le transport des éléments traces dans la colonne d'eau, dissous ou en suspension, est le mécanisme majeur des mouvements des continents vers l'océan. La forme dissoute d'un élément se présente sous la forme d'ions libres, de complexes inorganiques et organiques. Les éléments originaires des roches sont apportés dans la colonne d'eau principalement lors de fortes précipitations. Lors de ces événements, de faibles quantités de roches sont dissoutes (processus d'érosion, lessivage des sols). Une partie des éléments dissous est alors adsorbée sur des particules en suspension dans les rivières et est apportée dans la mer via le flux particulaire. Les plus importants absorbants solides qui permettent ce transport sont des oxydes de fer, de silicium, d'aluminium et de manganèse. Le manganèse particulaires issus des rivières est, en général, désorbé lors du mélange eaux de mer/eaux douces (Ouddane et al. 1997; Statham et al. 1998).

Les activités humaines ayant augmentée au cours des siècles, elles induisent une contamination et des perturbations des écosystèmes. De nos jours, les apports anthropiques dépassent même les apports naturels dans l'environnement. Ce phénomène s'exerce principalement à travers des rejets liquides et des retombées atmosphériques qui peuvent transporter les contaminants sur de grandes échelles ou à des échelles locales.

Les apports continentaux conduisent à de fortes contaminations métalliques (Co, Sn, Cd, Cr et As) dans les estuaires (Church and Scudlark 1998). Ils sont liés aux décharges directes des déchets ou des boues dans l'océan, aux décharges des déchets domestiques ou industriels dans les rivières qui atteignent éventuellement

plus tard l'océan. Les apports anthropiques dans les écosystèmes aquatiques sont récapitulés, dans la Table I.2-1, en fonction des différents types de rejet et des éléments traces. Une des sources des apports continentaux sont les rejets domestiques qui combinés au lessivage des surfaces urbaines et aux apports d'exutoire de rejets d'orages, représentent, à l'heure actuelle, une part non négligeable de pollution dans les environnements aquatiques (Chambers et al. 1997; Gagnon and Saulnier 2003; Karvelas et al. 2003). Les rejets industriels et miniers sont aussi reconnus comme des sources non négligeables de pollution métallique. Ces importantes sources de contaminations continues, spécialement dans le cas d'estuaires urbains, peuvent ainsi favoriser le transport de polluants vers l'océan.

I.2.1.2. Apports atmosphériques

L'amplitude des échanges atmosphère/eau dépend de facteurs tels que la vitesse du vent, la houle, l'aération de l'eau de surface ou le transfert de chaleur. Ces échanges entre la phase aqueuse et la phase gazeuse, influence le cycle global d'un élément trace. Pour la plupart des éléments traces, le transport sous forme d'espèces gazeuses est de faible importance sauf pour des environnements ayant des températures élevées. Même si l'atmosphère n'est pas une source majeure des éléments traces, il existe des formes volatiles. Par exemple, le mercure gazeux est présent à des concentrations telles que le cycle du mercure est dominé par le transport atmosphérique (Butcher et al. 1992). D'autres éléments traces peuvent former des composés organométalliques gazeux qui peuvent dominer localement le transport de l'élément dans un environnement.

Le transport de particules atmosphériques est aussi un facteur important pour la distribution des éléments traces vers des régions lointaines de leur source. Ces flux particulaire sont déposés dans l'océan de façon intermittente par la pluie (dépôts humides) et de façon continue par l'atmosphère (dépôts secs). La vitesse de déposition de ces particules dépend de la taille de ces particules, de leur composition chimique, de la fréquence et l'intensité des précipitations, du vent à l'interface atmosphère/eau.

Table I.2-1 Apports anthropiques mondiaux dans les écosystèmes aquatiques (Point 2004), d'après (Nriagu and Pacyna 1988)). *Il est supposé que 70% de chaque métal émis à l'atmosphère (Nriagu and Pacyna 1988) est redéposé ensuite et seulement 30% atteint le compartiment aquatique (Chilvers and Peterson 1987).

Type de rejet		Volume liquide rejeté (10^9 m^3)	As	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	Ni
						(10^6 Kg.an^{-1})			
Rejets domestiques	Traités	90	1.8-8.1	0.18-1.8	8.1-36	4.5-18	0.9-7.2	9-45	9-54
	Non-traités	60	1.2-7.2	0.3-1.2	6-42	4.2-30	0.6-4.8	6-35	12-48
Production d'électricité		6	2.4-14	0.01-0.24	3-8.4	3.6-23	0.24-1.2	6-30	3-18
Activités minières		0.5	0-0.75	0-0.3	0-0.7	0.1-9	0.25-2.5	0.02-6	0.01-0.5
Activités de fonderie	Fer et acier	7	-	-	-	-	1.4-2.8	5.6-24	-
	Métaux non-ferreux	2	1-13	0.01-3.6	3-20	2.4-17	1-6	2-20	2-24
	Métaux	25	0.25-1.5	0.5-1.8	15-58	10-38	2.5-22	25-138	0.2-7.5
Procédés de fabrication	Chimie	5	0.6-7	0.1-1.8	15-58	10-38	2.5-22	15-138	1-6
	Papeterie	3	0.36-4.2	-	0.01-1.5	0.03-0.39	0.01-0.9	0.09-1.5	0-0.12
	Produit pétroliers	0.3	0-0.06	-	0-0.21	0-0.06	0-0.12	0-0.24	0-0.06
Apports atmosphériques*			3.6-7.7	0.9-3.6	2.2-16	6-15	87-113	21-58	4.6-16
Boues résiduelles d'épandage		$6 \cdot 10^9 \text{ Kg}$	0.4-6.7	0.08-1.3	5.8-32	2.9-22	2.9-16	2.6-31	1.3-20
Apport totaux			12-70	2.1-17	45-239	35-90	97-180	77-375	33-194
Moyenne			41	9.4	142	112	138	226	113

Ce transport atmosphérique contribue aussi à la propagation des apports anthropiques métalliques. Par exemple, la ventilation des régions où les sols sont enrichis en fer peut ainsi conduire à la remise en suspension du fer dans l'atmosphère et de son transport à grande échelle. Ce phénomène conduit ainsi au transport de ce nutriment dans des environnements marins pouvant être très éloignés de la source initiale (Butcher et al. 1992). Le plomb et le cadmium issus d'activités industrielles sont aussi transportés à grande échelle et leur contamination peut être retrouvée dans des carottes de glace, des sédiments et même dans les dents de mammifères marins (Outridge et al. 1997; Stewart et al. 2003). Le cuivre est aussi transporté dans l'atmosphère sous forme particulaire. Ces particules sont issues à 90% des activités anthropiques, des fonderies et la combustion du fuel domestique (Butcher et al. 1992).

I.2.1.3. Transport au sein de la colonne d'eau

La distribution horizontale et verticale des éléments traces dissous dans la colonne d'eau est déterminée par l'équilibre entre précipitation et resolubilisation. Leur distribution peut être classée selon plusieurs comportements (profils) (Figure I.2-3):

- conservatif (Mo);
- enrichis dans les eaux de surface (Mn);
- type nutriments (Ba.);
- avec un minimum pour des profondeurs moyennes;
- avec un maximum pour des profondeurs moyennes;
- avec un maximum ou un minimum à mi-profondeur dans une zone suboxique;
- avec un maximum ou un minimum à mi-profondeur dans une zone anoxique.

Cependant, les profils des éléments traces en profondeur révèlent généralement des comportements similaires à ceux des nutriments.

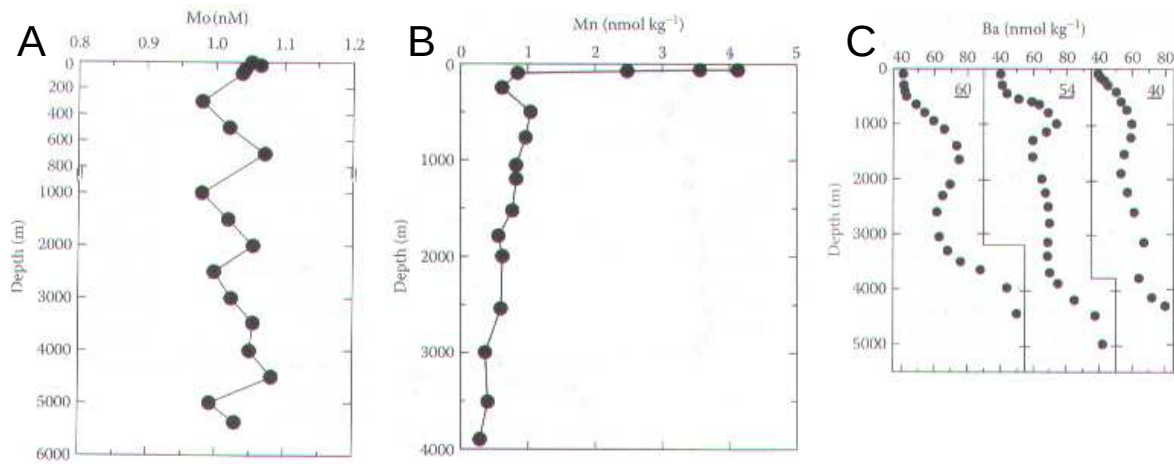


Figure 1.2-3 Distributions horizontales de trois profils caractéristiques: A/ conservatifs (Mo, océan Pacifique), B/ enrichis en surface (Mn, Nord Pacifique), et C/ type nutriment (Ba, Sud Atlantique)(Millero 2006).

Le transport des éléments traces dans la colonne d'eau est régulé par la sédimentation de la matière particulaire. En surface, les éléments traces dissous peuvent être adsorbés sur des particules minérales, piégés par des particules organiques (vivante ou squelette), ou précipités sous forme d'oxyde. Les particules enrichies sédimentent ensuite le long de la colonne d'eau et jusqu'à l'interface eau/sédiment. Ce processus dépend de la nature de l'élément, l'abondance de la matière particulaire, des concentrations des autres solutés et de la profondeur. Dans les zones où ce processus est important, la composition en éléments traces dissous peut être considérablement affectée. Le taux de déposition du sédiment varie de quelques millimètres pour 1000 ans dans l'océan à plus de quelques centimètres par an dans les environnements côtiers. Le flux de particules à l'interface eau/sédiment est généralement de l'ordre de 0.006 à 6 kg.m⁻² par an.

La distribution des éléments traces dans la colonne d'eau est néanmoins modifiée dans les zones «d'upwelling». En effet, ces « upwelling » conduisent à des transports d'éléments traces au sein de la colonne d'eau car ils conduisent à la remontée d'eaux froides plus salines et enrichies en nutriments. Ce phénomène, en réapprovisionnant les eaux de surface en nutriments, favorise la productivité biologique. Les régions côtières où les « upwelling » sont fréquents, sont ainsi les régions les plus riches du monde pour l'activité biologique et sont caractérisées économiquement par des pêches intenses (Chavez and Toogweiler 1995).

La composition des éléments traces dans l'eau de mer est sensible à ces changements induits par des « upwelling ». Par exemple, les concentrations du baryum dans l'eau de mer, reportées comme fortement variables, présentent un profil en profondeur similaire aux nutriments, c'est à dire des concentrations croissantes des eaux de surface aux eaux profondes (Bruland 1983). Ceci permet d'expliquer des concentrations en baryum plus importantes dans l'eau de mer d'un environnement côtier lors d'upwelling. De la même façon que le baryum, la distribution du manganèse et du fer est aussi influencée par les « upwelling » (Chase et al. 2005). La distribution du cadmium, du mercure, du zinc, du manganèse et de l'aluminium dans l'eau de mer a été examinée lors d' « upwelling » et a montré que seul le cadmium est fortement influencé par ces phénomènes (Lares et al. 2002).

I.2.1.4. Transferts et échanges dans la colonne d'eau liés à des organismes biologiques

Les échanges des éléments traces aux interfaces eau/sédiment et eau/atmosphère peuvent aussi être régulé par l'activité d'organismes biologiques. Certaines transformations biotiques peuvent ainsi avoir lieu et induire une solubilisation dans la colonne d'eau ou une volatilisation dans l'atmosphère de certains éléments traces. Dans le cas du mercure, du sélénium, de l'iode et de l'étain, il a été démontré que ces biotransformations agissent sur leurs solubilisations et leurs volatilisations (Amouroux et al. 2001 ; Amouroux et al. 2000; Point et al. in press; Tessier et al. 2002).

Au sein de la colonne d'eau, l'abondance des éléments traces peut être modifiée due à leur assimilation dans des organismes biologiques (bioassimilation). Certains éléments traces sont des micronutriments et jouent un rôle non négligeable dans des systèmes biologiques tel que le phytoplancton à travers des enzymes (Mo, Mn, Co, Cu) ou des protéines (Fe). Les concentrations élémentaires dans les cellules de plusieurs espèces de phytoplancton sont reportées dans la Table I.2-2.

Table I.2-2 Rapports élémentaires par rapport au phosphore et concentrations cellulaires de différentes espèces marines du phytoplancton (Ho et al. 2003).

Species	mol/mol P±1 S.E. mmol/L (<i>bold and italics</i>)															
	C ^a	N	P	S	K	Mg	Ca	Sr ^a	Fe	Mn	Zn	Cu	Co	Cd	Mo	
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	222±32 <i>11000</i>	38±5.6 <i>1900</i>	1 <i>49</i>	0.28±0.03 <i>14</i>	0.36±0.08 <i>18</i>	0.37±0.03 <i>18</i>	0.019±0.002 <i>0.94</i>	0.081±0.02 <i>4.0</i>	11.3±0.48 <i>560</i>	1.9±0.07 <i>93</i>	1.49±0.08 <i>74</i>	0.67±0.034 <i>33</i>	0.010±0.0004 <i>0.51</i>	0.10±0.006 <i>5.1</i>	0.011±0.003 <i>0.52</i>	
<i>Pyramimonas parkeae</i>	475/(209±43) <i>15454/(6800)</i>	17.6±4.6 <i>570</i>	1 <i>32</i>	1.44±0.28 <i>47</i>	0.85±0.12 <i>27</i>	N.A. <i>N.A.</i>	1.69±0.30 <i>55</i>	12±0.81 <i>390</i>	15.4±2.18 <i>500</i>	7.7±1.03 <i>250</i>	1.47±0.12 <i>48</i>	0.62±0.039 <i>20</i>	0.24±0.028 <i>7.6</i>	0.65±0.057 <i>21</i>	0.035±0.003 <i>1.1</i>	
<i>Nannochloris atomus</i>	173±8 <i>14000</i>	25±1.4 <i>2000</i>	1 <i>81</i>	0.36±0.02 <i>29</i>	0.97±0.02 <i>78</i>	0.24±0.01 <i>19</i>	0.028±0.002 <i>2.3</i>	0.046±0.01 <i>3.7</i>	13.6±0.42 <i>1100</i>	1.2±0.05 <i>93</i>	1.68±0.14 <i>140</i>	0.23±0.006 <i>19</i>	0.081±0.002 <i>6.5</i>	0.007±0.0008 <i>0.60</i>	0.009±0.001 <i>0.76</i>	
<i>Pycnococcus provasoli</i>	191±34 <i>14000</i>	27±5.0 <i>1900</i>	1 <i>72</i>	1.07±0.03 <i>77</i>	1.23±0.09 <i>89</i>	0.27±0.01 <i>19</i>	0.055±0.006 <i>3.9</i>	0.11±0.01 <i>7.9</i>	12.6±0.85 <i>910</i>	2.1±0.04 <i>150</i>	0.92±0.062 <i>66</i>	0.53±0.039 <i>38</i>	0.090±0.002 <i>6.5</i>	0.029±0.0016 <i>2.1</i>	0.017±0.001 <i>1.2</i>	
<i>Tetraselmis sp.</i>	199±43 <i>N.A.</i>	26±5.3 <i>N.A.</i>	1 <i>N.A.</i>	1.33±0.01 <i>N.A.</i>	1.47±0.04 <i>N.A.</i>	0.23±0.01 <i>N.A.</i>	0.86±0.019 <i>N.A.</i>	25±1.01 <i>N.A.</i>	3.9±0.42 <i>N.A.</i>	4.0±0.25 <i>N.A.</i>	0.44±0.075 <i>N.A.</i>	0.51±0.009 <i>N.A.</i>	0.112±0.018 <i>N.A.</i>	0.15±0.007 <i>N.A.</i>	0.028±0.006 <i>N.A.</i>	
<i>Gymnodinium chlorophorum</i>	137±40 <i>18000</i>	16.6±3.4 <i>2000</i>	1 <i>120</i>	N.A. <i>N.A.</i>	N.A. <i>N.A.</i>	N.A. <i>N.A.</i>	N.A. <i>N.A.</i>	N.A. <i>N.A.</i>	14.4±0.90 <i>1700</i>	1.9±0.08 <i>220</i>	0.87±0.070 <i>110</i>	1.36±0.18 <i>160</i>	0.24±0.02 <i>29</i>	0.097±0.010 <i>12</i>	0.11±0.02 <i>13</i>	
<i>Prorocentrum minimum</i>	135±21 <i>22000</i>	11±1.9 <i>1800</i>	1 <i>16</i>	2.18±0.05 <i>350</i>	1.29±0.01 <i>210</i>	0.99±0.16 <i>160</i>	0.38±0.070 <i>61</i>	2.9±0.5 <i>470</i>	6.8±1.72 <i>1100</i>	6.1±0.18 <i>980</i>	0.89±0.063 <i>140</i>	0.28±0.012 <i>440</i>	0.46±0.0053 <i>73</i>	0.12±0.005 <i>19</i>	0.025±0.01 <i>4.0</i>	
<i>Amphidinium carterae</i>	126±24 <i>1200</i>	18±3.8 <i>160</i>	1 <i>9.1</i>	1.34±0.09 <i>12</i>	0.15±0.05 <i>1.4</i>	0.57±0.04 <i>5.3</i>	0.27±0.027 <i>2.5</i>	1.2±0.08 <i>11</i>	13.3±0.37 <i>120</i>	5.1±0.16 <i>47</i>	1.26±0.310 <i>12</i>	0.54±0.059 <i>5.0</i>	0.35±0.010 <i>3.2</i>	0.73±0.037 <i>6.7</i>	0.11±0.010 <i>0.98</i>	
<i>Thoracosphaera heimii</i> ^a	112/(81±20) <i>5100/(5100)</i>	6.4±1.4 <i>400</i>	1 <i>63</i>	1.31±0.04 <i>82</i>	1.01±0.01 <i>63</i>	0.48±0.01 <i>30</i>	45±1.1 <i>2800</i>	79±1.7 <i>5000</i>	1.8±0.2 <i>110</i>	1.3±0.09 <i>79</i>	0.11±0.07 <i>7.0</i>	0.06±0.014 <i>3.5</i>	0.095±0.013 <i>5.9</i>	0.11±0.0057 <i>6.8</i>	0.039±0.026 <i>2.5</i>	
<i>Emiliania huxleyi</i> ^a	237/(76±23) <i>31000/(10000)</i>	8.8±2.9 <i>1200</i>	1 <i>130</i>	0.77±0.02 <i>100</i>	0.84±0.02 <i>110</i>	0.13±0.004 <i>18</i>	142±7.0 <i>19000</i>	336±10 <i>44000</i>	3.5±0.07 <i>460</i>	7.1±0.36 <i>940</i>	0.38±0.002 <i>50</i>	0.07±0.013 <i>8.9</i>	0.29±0.020 <i>39</i>	0.36±0.0097 <i>48</i>	0.022±0.0003 <i>2.9</i>	
<i>Gephyrocapsa oceanica</i> ^a	224/(64±12) <i>31150/(8900)</i>	7.3±1.3 <i>1000</i>	1 <i>140</i>	1.00±0.07 <i>140</i>	0.95±0.02 <i>130</i>	0.13±0.01 <i>18</i>	127±3.1 <i>18000</i>	278±3.3 <i>39000</i>	4.0±0.87 <i>560</i>	7.1±0.13 <i>990</i>	0.41±0.088 <i>57</i>	0.11±0.007 <i>16</i>	0.360±0.010 <i>50</i>	0.31±0.011 <i>43</i>	0.023±0.005 <i>3.2</i>	
<i>Ditylum brightwellii</i>	45±18 <i>5700</i>	5.4±1.0 <i>690</i>	1 <i>130</i>	2.82±0.13 <i>360</i>	3.31±0.11 <i>420</i>	N.A. <i>N.A.</i>	1.05±0.11 <i>130</i>	6.8±0.8 <i>870</i>	0.3±(N.A) <i>43</i>	1.9±0.08 <i>250</i>	0.07±0.023 <i>9.2</i>	0.06±0.004 <i>8.0</i>	0.17±0.005 <i>22</i>	0.18±0.008 <i>23</i>	0.014±0.002 <i>1.8</i>	
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	86±7 <i>12000</i>	13.6±1.1 <i>1800</i>	1 <i>140</i>	1.34±0.18 <i>180</i>	5.30±0.26 <i>720</i>	N.A. <i>N.A.</i>	0.40±0.11 <i>54</i>	2.2±0.74 <i>300</i>	1.7±0.18 <i>230</i>	5.3±0.08 <i>720</i>	0.75±0.027 <i>100</i>	0.17±0.005 <i>23</i>	0.108±0.0014 <i>15</i>	0.066±0.0008 <i>8.9</i>	0.020±0.002 <i>2.7</i>	
<i>Nitzschia brevisrostris</i>	42±11 <i>11000</i>	6.8±2.1 <i>1700</i>	1 <i>250</i>	1.15±0.12 <i>290</i>	2.43±0.18 <i>610</i>	0.60±0.1 <i>150</i>	0.27±0.062 <i>67</i>	1.3±0.48 <i>330</i>	3.1±2.0 <i>790</i>	2.3±0.04 <i>590</i>	0.27±0.041 <i>69</i>	0.18±0.007 <i>46</i>	0.056±0.0014 <i>14</i>	0.019±0.0028 <i>4.8</i>	0.014±0.002 <i>3.6</i>	
<i>Thalassiosira eccentrica</i>	75±10 <i>18000</i>	7.8±1.0 <i>1900</i>	1 <i>240</i>	1.94±0.12 <i>470</i>	3.25±0.22 <i>790</i>	2.14±0.32 <i>520</i>	0.65±0.035 <i>160</i>	3.9±0.45 <i>950</i>	6.7±0.18 <i>1600</i>	2.1±0.06 <i>500</i>	1.00±0.41 <i>240</i>	0.28±0.069 <i>68</i>	0.240±0.039 <i>59</i>	0.15±0.006 <i>36</i>	0.020±0.002 <i>4.8</i>	
Average	147(124)a <i>11000</i>	16 <i>1400</i>	1 <i>120</i>	1.3 <i>170</i>	1.7 <i>250</i>	0.56 <i>100</i>	23a <i>3100</i>	54a <i>7000</i>	7.5 <i>700</i>	3.8 <i>420</i>	0.80 <i>80</i>	0.38 <i>35</i>	0.19 <i>24</i>	0.21 <i>17</i>	0.033 <i>3.1</i>	
Relative SE (n = 11–16)	13% <i>13%</i>	16% <i>13%</i>		14% <i>26%</i>	23% <i>31%</i>	31% <i>53%</i>	57% <i>61%</i>	55% <i>61%</i>	18% <i>20%</i>	16% <i>23%</i>	17% <i>21%</i>	24% <i>31%</i>	17% <i>26%</i>	28% <i>25%</i>	25% <i>28%</i>	

Ils peuvent ainsi agir sur les organismes biologiques. Ils peuvent stimuler ou inhiber l'activité biologique. Ces effets sont généralement liés aux espèces dissoutes des éléments. Pour la plupart, les ions libres et les complexes inorganiques simples ont une plus grande influence sur les organismes que les larges complexes organiques ou ions adsorbés sur des particules. La Table I.2-3 résume les facteurs d'enrichissement des éléments traces dans le plancton ou les algues. Ces facteurs soulignent une importante bioassimilation des éléments traces (Co, Cu, Fe, Mn, Pb).

Table I.2-3 Facteurs d'enrichissement des éléments traces ou autres A/ dans le plancton et les algues ((Libes 1992), d'après (Craig 1980)), B/ dans le phytoplankton.

<i>Element</i>	<i>Plankton</i>	<i>Brown Algae</i>
Al	25,000	1550
Cd	910	890
Co	4600	650
Cr	17,000	6500
Cu	17,000	920
Fe	87,000	17,000
I	1200	6200
Mg	0.59	0.96
Mn	9400	6500
Mo	25	11
N	19,000	7500
Na	0.14	0.78
Ni	1700	140
P	15,000	10,000
Pb	41,000	70,000
S	1.7	3.4
Si	17,000	120
Sn	2900	92
V	620	250
Zn	65,000	3400

Certains éléments traces présentent une grande affinité avec la matière particulaire organique. Le cuivre, le zinc et le plomb sont ainsi fortement complexés avec des ligands organiques dans des environnements estuariens ou océaniques. Cette complexation avec la matière organique induit une diminution des concentrations de la forme dissoute de l'élément. La distribution d'un élément dans un environnement aquatique n'est donc pas contrôlée seulement par les conditions rédox, le pH et les particules minérales, mais aussi par la présence et l'abondance de matière organique.

Les particules organiques en suspension peuvent ainsi être d'importants absorbants, transportant avec eux les éléments à travers la colonne d'eau jusqu'à l'interface eau/sédiment ou d'un système aquatique à un autre. Le phytoplancton et sa dégénérescence est ainsi impliqué dans le transport des éléments traces. Le baryum est, par exemple, accumulé dans le phytoplancton (Fisher et al. 1991). Des cristaux de barytine peuvent aussi être formés comme résultat d'une précipitation passive au sein d'environnements riches en sulfate et/ou en baryum créés par la décomposition du phytoplancton (Bishop 1988; Dehairs et al. 2000; Ganeshram, 2003 #197; Jeandel et al. 2000; Stecher and Kogut 1999). Le phytoplancton est ainsi reconnu comme un vecteur important pour le transport vertical du baryum dans les océans lors de sa sédimentation et de sa décomposition (Sternberg et al. 2005).

L'assimilation du molybdène par les cyanobactéries et le phytoplancton a aussi été reconnue comme un facteur catalytique essentiel pour la majorité des organismes fixateurs d'azote et d'autres systèmes impliquant les enzymes nitrate réductase (Collier 1985; Hille 2002). La disponibilité du molybdène, influençant la fixation d'azote dans les écosystèmes marins, pourrait, en conséquence, limiter la productivité primaire (Cole et al. 1993; Marino et al. 1990; Paulsen et al. 1991). La biodisponibilité du fer est aussi un facteur limitant pour la croissance phytoplanctonique (Brand 1991; Evans and Prepas 1997).

I.2.2. Transports et échanges des éléments traces à l'interface eau/sédiment

I.2.2.1. Spéciation des éléments traces dans la colonne d'eau

La distribution des éléments entre la phase solide et dissoute à l'interface eau/sédiment est gouvernée par la compétition entre la précipitation ou l'adsorption dans des particules organiques, et la dissolution ou la formation de complexes solubles. Certains processus biogéochimiques conduisent aussi à la conversion entre différentes formes dissoutes de l'élément: par des complexations, des oxydations ou des réductions.

Dans la plupart des cas, la connaissance des équilibres thermodynamiques et de l'état d'oxydation/réduction du milieu permet de prédire ces réactions et la spéciation des éléments à cette interface. Les réactions rédox peuvent induire des

changements significatifs (jusqu'à plusieurs ordres de grandeur) des concentrations élémentaires dans les différentes phases, de leur bio disponibilité et donc de leur mode et taux de transport. Les cycles biogéochimiques des éléments traces sont généralement contrôlés par ces conditions rédox dans le milieu. Le manganèse en est un bon exemple. Dans un milieu oxydant, le manganèse est sous une forme particulière $\text{MnO}_2(\text{s})$ alors que dans un environnement réducteur, il est sous forme dissoute Mn^{2+} (Overnell et al. 2002; Roitz et al. 2002; Rue et al. 1997).

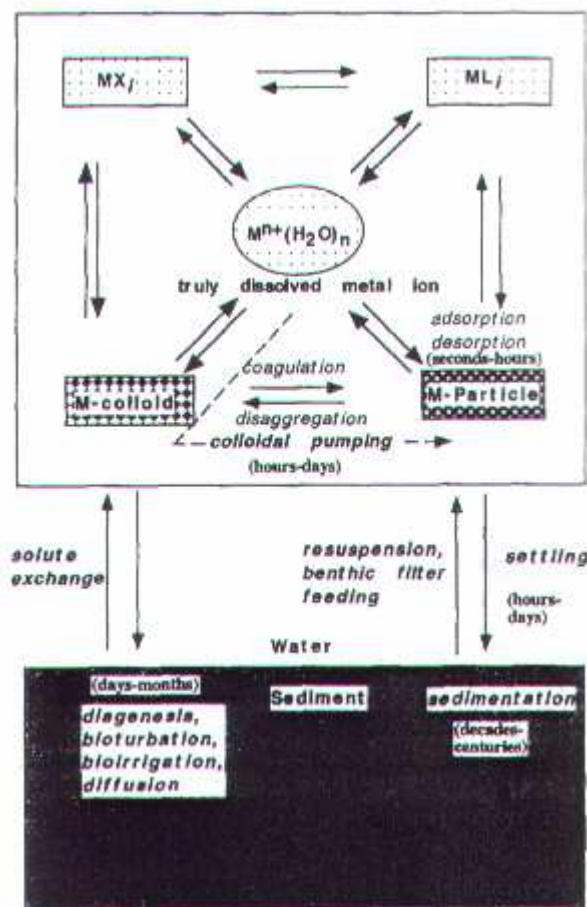


Figure I.2-4 Représentation schématique de la spéciation des éléments traces dans les environnements aquatiques et des processus régulant les échanges à l'interface eau/sédiment (Santschi et al. 1997).

Pour connaître la réactivité d'un élément, le plus important est de considérer la spéciation de l'élément, i. e. sa forme physicochimique dans l'environnement étudié. Les éléments se retrouvent sous différentes formes dans l'environnement: phases solides, aqueux, gazeuses, associés avec des milliers de composés différents. La connaissance des concentrations des éléments traces n'est ainsi pas suffisante pour

expliquer leur bio disponibilité. Le comportement chimique d'un élément dépend des différentes formes chimiques de l'élément (la spéciation) et de la composition de l'eau (interaction entre éléments). La Figure I.2-4 présente un schéma conceptuel de la spéciation des éléments traces à l'interface eau/sédiment et des différents processus liés à la spéciation de l'élément.

Les effets physiologiques, écologiques et toxicologiques d'un élément sont ainsi fortement spécifiques aux espèces prédominantes de l'élément (Santschi et al. 1997). La combinaison chimique ou complexation des éléments traces et des ligands conduisent à des propriétés de toxicité différentes (Stumm and Morgan 1996). Généralement, les ions métalliques libres sont plus toxiques que les ions complexes, en particulier ceux formés avec plusieurs ligands (Butcher et al. 1992). Les espèces inorganiques prédominantes dans les écosystèmes aquatiques, leur complexation avec la matière organique, leur abondance et le type de profil de l'élément sont résumés dans la Table I.2-4. Ceci révèle différents types d'espèces, du plus au moins disponibles:

- les cations libres (Me^{2+}), tels que le Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} : des formes très réactives dues à leur petites tailles et donc bio disponibles;
- les oxydes tels que le MoO_4^{2-} , CrO_4^{2-} ;
- les complexes inorganiques: hydroxydes (Al, Fe, Zn), chlorures (Hg, Cd, Ag), carbonates (Ni, Pb, Co).
- les complexes formés avec la matière organiques (Pb, Cd, Co, Cu, Ni, Zn).

Table I.2-4 Espèces inorganiques prédominantes présentes à l'interface eau/ sédiment dans des écosystèmes aquatiques ainsi que le type de distribution de l'élément, leur abondance, et leur taux de complexation avec la matière organique (adapté de Point D., comm. pers., (Brown et al. 1989 ; Millero 2006)). %M-L représente le pourcentage de l'élément M qui va se complexer avec les ligands organiques L dans un écosystème estuarien ou océanique.

	Type de distribution	Espèces inorganiques prédominantes dans des écosystèmes aquatiques (en gras, les espèces prédominantes)	Concentration moyenne dans l'océan	Complexation avec des ligands organiques		
Mg	Conservatif	Mg^{2+} , MgOH^+ $\text{MgCO}_3(\text{s})$, $\text{Mg}(\text{OH})_2$	53,2 mM			
Ca	Conservatif	Ca^{2+} , CaOH^+ $\text{CaCO}_3(\text{s})$, $\text{CaSO}_4(\text{s})$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$	10,3 mM			
Sr	Conservatif	Sr^{2+} $\text{SrCO}_3(\text{s})$, $\text{SrSO}_4(\text{s})$	90 μM			
Ba	Type nutriment	Ba^{2+} $\text{BaSO}_4(\text{s})$, BaCO_3	100 nM (32-150 nM)			
Cr	Type nutriment	$\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, $\text{Cr}(\text{OH})_3$, $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$, HCrO_4^- , CrO_4^{2-} $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$	4 nM (2-5 nM)			
Al	Minimum à mi-profondeur	$\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Al}(\text{OH})_4^-$, AlF_2^+ , AlF_2^+ $\text{Al}(\text{OH})_3(\text{s})$, $\text{Al}_2\text{O}_3(\text{s})$, $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4(\text{s})$, Al-silicates	20 nM (2-40 nM)			
Fe	Appauvri en surface et au fond	Fe^{2+} $\text{FeS}(\text{s})$, $\text{FeS}_2(\text{s})$, $\text{FeCO}_3(\text{s})$, $\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{s})$, $\text{Fe}_2\text{O}_3(\text{s})$, $\text{Fe}_3\text{O}_4(\text{s})$, $\text{FePO}_4(\text{s})$, $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2(\text{s})$, Fe-silicates	1 nM (0,1-2,5 nM)		estuaire	océan
Mn	Enrichi en surface	Mn^{2+} , MnCl^+ $\text{MnS}(\text{s})$, $\text{MnCO}_3(\text{s})$, $\text{Mn}(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{MnO}_2(\text{s})$	0,5 nM (0,2-3 nM)	%M-L	-	0
Co	Appauvri en surface et au fond	Co^{2+} , CoCl^+ , CoSO_4 $\text{CoS}(\text{s})$, $\text{Co}(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{CoCO}_3(\text{s})$, $\text{Co}(\text{OH})_3(\text{s})$	0,02 nM (0,01-0,1 nM)	%M-L	45-100	-
Ni	Type nutriment	Ni^{2+} , NiCl^+ , NiSO_4 $\text{NiS}(\text{s})$, $\text{Ni}(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{NiCO}_3(\text{s})$	8 nM (2-12 nM)	%M-L	15-60	10-50
Mo	Conservatif	MoO_4^-	0,11 μM			
Cu	Type nutriment	Cu^{2+} , CuOH^+ $\text{CuS}(\text{s})$, $\text{CuFeS}_2(\text{s})$, $\text{CuCO}_3(\text{s})$, $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{Cu}(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{CuO}(\text{s})$	4 nM (0,5-6 nM)	%M-L	76-99	80-100
Zn	Type nutriment	Zn^{2+} , ZnCl^+ , ZnSO_4 , ZnOH^+ , ZnCO_3 , ZnS $\text{ZnS}(\text{s})$, $\text{ZnCO}_3(\text{s})$, $\text{ZnSiO}_3(\text{s})$	6 nM (0,5-9 nM)	%M-L	-	44-98
Pb	Enrichi en surface, appauvri au fond	Pb^{2+} , PbCl^+ , PbCl_2 , PbCl_3^- , PbOH^+ , PbCO_3 $\text{PbS}(\text{s})$, $\text{PbCO}_3(\text{s})$, $\text{Pb}(\text{OH})_2(\text{s})$, $\text{PbO}_2(\text{s})$	10 pM (5-175 pM)	%M-L	-	67-95
Hg		Hg^{2+} , HgCl^+ , HgCl_2 , HgCl_3^- , HgCl_4^{2-} , HgOHCl , $\text{Hg}(\text{OH})_2$, HgS_2^{2-} , HgOHS^- $\text{HgS}(\text{s})$, $\text{Hg}(\text{liq})$, $\text{Hg}(\text{OH})_2(\text{s})$	5 pM (2-10 pM)			
Cd	Type nutriment	Cd^{2+} , CdCl^+ , CdCl_2 , CdCl_3^- , CdOH^+ , CdS , CdHS^+ , $\text{Cd}(\text{HS})_2$, $\text{Cd}(\text{HS})_3^-$, $\text{Cd}(\text{HS})_4^{2-}$ $\text{Cd}(\text{s})$, $\text{CdCO}_3(\text{s})$, $\text{Cd}(\text{OH})_2(\text{s})$	0,7 nM (0,001-1,1 nM)	%M-L	-	11-83
Ag	Type nutriment	Ag^+ , AgCl , AgCl_2^- , AgS^+ , AgHS , AgHS_2^{2-} , $\text{Ag}(\text{HS})_2^-$ $\text{Ag}_2\text{S}(\text{s})$, $\text{AgCl}(\text{s})$, $\text{AgBr}(\text{s})$	25 pM (0,5-35 pM)			

I.2.2.2. Source et flux benthiques

Les éléments traces contenus dans les sédiments sont sous la forme de détritits organiques, de minéraux argileux, ou de précipités. Les sédiments constituent des stocks importants d'éléments traces et sont donc des sources potentielles de contamination. Les échanges avec le sédiment sont donc un moyen de transfert important pour les éléments traces et ainsi des polluants métalliques. Les principaux processus conduisant à des transformations physicochimiques ont été illustrés dans la Figure I.2-5 et tout particulièrement à l'interface eau/sédiment (schéma adapté de (Butcher et al. 1992)).

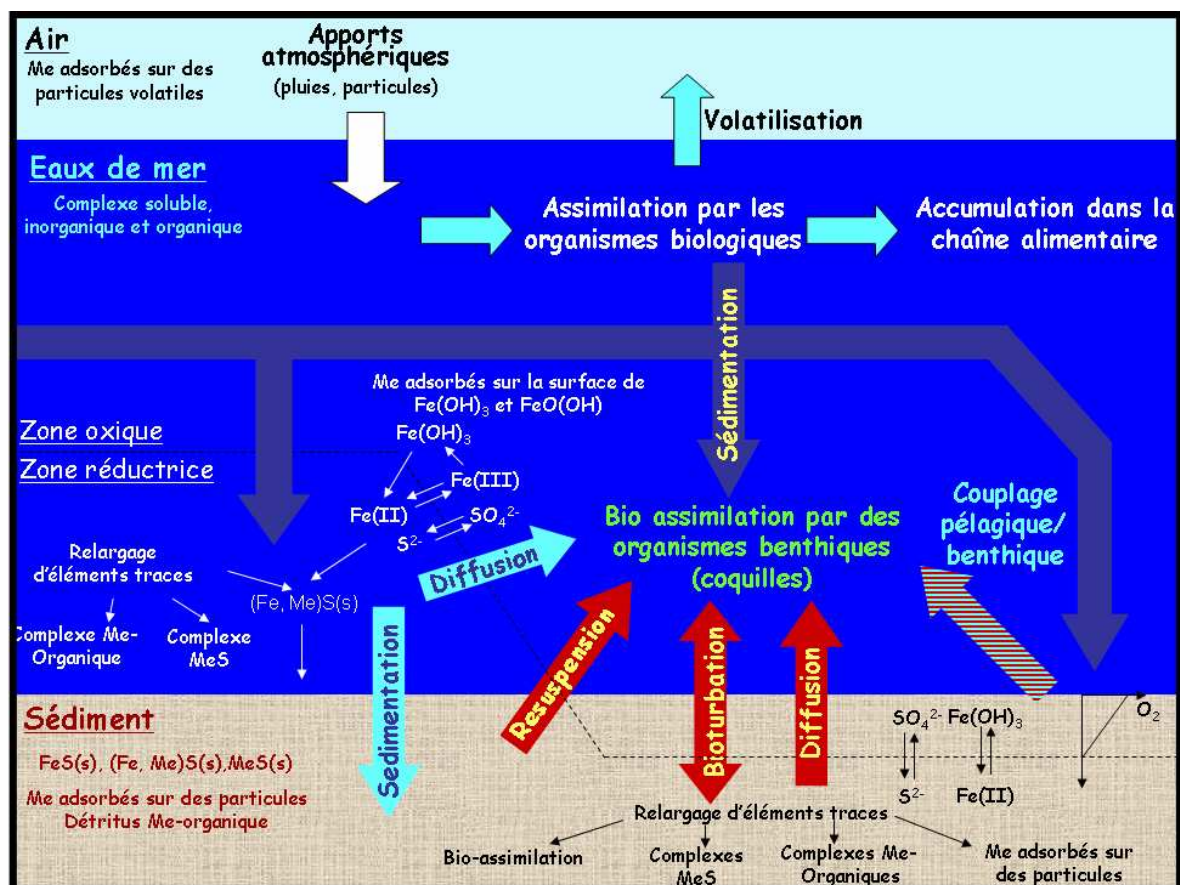


Figure I.2-5 Représentation schématique du cycle biogéochimique des éléments traces (la notation Me représentant l'élément ou métal) dans des environnements marins (adapté de (Butcher et al. 1992)).

Dans les environnements côtiers, de violentes tempêtes ou certaines activités anthropiques telles que les dragages, utilisés pour la pêche d'organismes benthiques

(coquilles Saint Jacques) ou pour l'excavation de sédiments, peuvent induire certaines turbulences à l'interface eau/sédiment et ainsi une remise en suspension d'éléments traces polluants ou toxiques. La remobilisation de certains métaux lourds n'est pas anodine : elle impacte sévèrement l'environnement, en particulier les organismes biologiques.

Certains éléments traces peuvent aussi retourner dans la colonne d'eau par remobilisation diagénétique des sédiments. Ces flux benthiques sont généralement liés aux conditions rédox à l'interface eau/sédiment. D'importants flux de matières organiques particulières causent des changements rédox à l'interface eau/sédiment et conduisent à des conditions plus réductrices. Des conditions météorologiques estivales propices et une stratification de la colonne d'eau peuvent aussi induire ce type de changements dans des environnements côtiers. Ces conditions plus réductrices permettent la remobilisation d'éléments traces contenus dans le sédiment. Les concentrations des éléments traces dissous dans les eaux interstitielles du sédiment sont ainsi plus importantes. Les flux advectifs et diffusifs de ces eaux enrichies conduisent ensuite à un enrichissement des éléments traces à l'interface eau/sédiment.

La remobilisation diagénétique de ces éléments sous des conditions anoxiques conduit, par exemple, à la précipitation de sulfures, barytines, phosphorites... Tous ces précipités contiennent des petites quantités d'éléments traces. Lors de ces processus diagénétiques, le manganèse, le molybdène et le fer contenus dans la phase particulaire du sédiment peuvent être diffusés sous forme dissoute du sédiment vers la colonne d'eau (Adelson et al. 2001; Crusius et al. 1996; Crusius and Thomson 2000; Elbaz-Poulichet et al. 2005; Overnell 2002; Overnell et al. 2002; Slomp et al. 1997).

I.2.2.3. Transformations biotiques et bioconcentration

Les organismes biologiques présents à l'interface eau/sédiment induisent certaines réactions (bio irrigation ou bioturbation) qui peuvent modifier les flux élémentaires. Ces organismes affectent de façon importante la bio disponibilité des éléments et donc l'environnement chimique à l'interface eau/sédiment. Ces organismes biologiques peuvent favoriser la dissolution, la complexation ou la précipitation des éléments. Par exemple, il a été démontré que l'activité de la

macrofaune et du bio film présent à cette interface contribue significativement à la régulation des flux benthiques pour les métaux et les composés organométalliques (Point et al. in press).

Les organismes biologiques marins (poissons, mollusques...) accumulent les éléments traces dans leurs tissus et leur squelette. Ceci affecte l'abondance de l'élément trace dans l'environnement de ces organismes. Après la mort de ces organismes, les éléments sont généralement resolubilisés, mais ils peuvent aussi être conservés dans le squelette de l'animal (foraminifère, coquilles...). Les éléments traces peuvent aussi être accumulés le long de la chaîne trophique (bioaccumulation). Dans le cas d'estuaires urbains, les apports anthropiques continentaux sont d'importantes sources de contaminations continues et peuvent ainsi favoriser le transport de polluants dans différents maillons de la chaîne trophique (Moffett et al. 1997; Saiz-Salinas 1997; Sunda et al. 1990).

Même si un élément est présent à de très faibles quantités dans l'environnement, il peut aussi être bio accumulé le long de la chaîne trophique: c'est le cas du mercure. Le mercure et ses différentes espèces sont reconnus toxiques. La catastrophe de Minamata (Japon) dans les années 1960 en est l'exemple. Après la consommation de poissons contaminés au monométhylmercure, plus de 1000 personnes se sont retrouvées handicapées à vie et plus de 150 sont décédées. Pour l'étain, l'usage du tributylétain dans les peintures anti-salissures depuis les années 1970, a aussi causé de graves dommages sur les organismes marins en anéantissant leurs systèmes de reproduction.

Pour les organismes biologiques vivant à l'interface eau/sédiment, la bioaccumulation des éléments traces dépend de la bio disponibilité des éléments. Par exemple, les bivalves, organismes macro benthiques filtreurs vivent à cette interface. Ces organismes ingèrent non spécifiquement des éléments traces de la phase dissoute et particulaire (minéral ou organique). Certains éléments seront préférentiellement dans la phase dissoute comme par exemple, Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , MoO_4^{2-} , CrO_4^{2-} alors que d'autres seraient plutôt sous forme de particules comme le cuivre, le zinc et le plomb. Comme pour le phytoplancton, les facteurs d'enrichissement permettent d'évaluer la bioaccumulation des éléments dans les tissus mous des organismes biologiques. La Table I.2-5 présente les facteurs d'enrichissement obtenus pour différents mollusques.

Table I.2-5 Facteurs d'enrichissement pour la composition en éléments traces de fruits de mer (coquille Saint Jacques, moules, huîtres).

Element	Scallop	Enrichment factors Oyster	Mussel
Ag	2300	18700	330
Cd	2260000	318700	100000
Cr	200000	60000	320000
Cu	3000	13700	3000
Fe	291500	68200	196000
Mn	55500	4000	13500
Mo	90	30	60
Ni	12000	4000	14000
Pb	5300	3300	4000
V	4500	1500	2500
Zn	28000	110300	9100

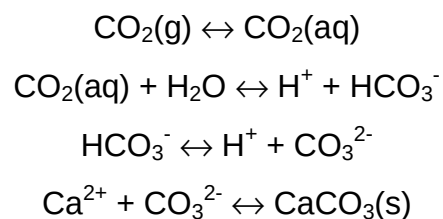
La bio accumulation des métaux lourds dans les tissus mous des moules et des huîtres a, par exemple, été examinée dans le cadre du projet international nommé « Mussel Watch programs ». Le principal objectif était d'évaluer l'état de contamination des environnements côtiers (Beliaeff et al. 1997; O'connor 1998). Dans les coquilles Saint Jacques (*Pecten maximus*), la bioaccumulation métallique a aussi été étudiée dans les tissus mous et les organes. Ces études ont révélé la présence de concentrations plus élevées dans la glande digestive pour le Cd et le Cu, et dans le rein pour le Zn (Bustamante and Miramand 2004). Cependant, les concentrations dans les tissus mous reflètent seulement les conditions environnementales au moment du prélèvement et ne permettent en aucun cas un enregistrement temporel de ces conditions.

Les éléments traces liés à des apports anthropiques (Pb, Zn, Cd, Cu, U, Ag) peuvent aussi être piégés dans la structure solide ou coquille des bivalves (Fallon et al. 2002; Gillikin et al. 2005b; Giusti et al. 1999; Lazareth et al. 2000; Pearce and Mann 2006; Price and Pearce 1997; Puente et al. 1996; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Rosenheim et al. 2005). De la même façon, les autres éléments traces peuvent aussi être accumulés dans la coquille des bivalves. Tous les éléments traces peuvent donc être accumulés dans des biominéraux ou squelettes d'organismes aquatiques. Cependant, leur incorporation dans ces structures solides dépend non seulement de la bio-disponibilité des éléments traces dans le milieu environnant l'organisme, mais aussi de leur précipitation ou formation.

I.3. Les carbonates et les éléments traces

Connaissant les différentes sources et processus des éléments traces dans les environnements côtiers, la communauté scientifique s'est intéressée spécifiquement à l'incorporation des éléments traces dans les matrices carbonatées afin de comprendre la géochimie de la sédimentation des minéraux carbonatés et de leur diagenèse.

Le système carbonate a été largement étudié car il intervient en majeure partie dans le cycle biogéochimique du carbone (Butcher et al. 1992; Libes 1992; Millero 2006; Morel and Hering 1993). Ce système est très important parce qu'il régule le pH de l'eau de mer et contrôle la circulation du dioxyde de carbone entre la biosphère, la lithosphère, l'atmosphère et les océans. Les équilibres suivants sont impliqués:



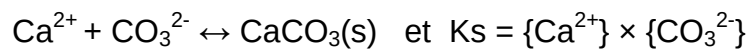
La précipitation et la dissolution du carbonate de calcium sont gouvernées par ces réactions qui stabilisent aussi le pH de l'eau de mer depuis plusieurs millions d'années. Ces équilibres sont aussi responsables de la solubilité du dioxyde de carbone atmosphérique dans l'océan. Il est maintenant reconnu que la teneur en dioxyde de carbone a augmenté de façon considérable dans l'atmosphère depuis le 20^{ième} siècle, impliquant une augmentation des températures sur la Terre (effet de serre). Etudier ce système carbonate est donc d'un grand intérêt afin de prédire la réponse de l'océan vis-à-vis de l'augmentation des gaz à effets de serre produits, de manière croissante, par l'homme (CO_2) et comment ces échanges peuvent affecter le climat.

I.3.1. Le carbonate de calcium

Les carbonates sédimentaires sont le réservoir majeur du carbone contenu dans la croûte océanique. Ces dépôts sont composés de tests calcaires créés auparavant par les coccolithophores, les foraminifères et les ptéropodes. Après leurs morts, leurs squelettes sédimentent le long de la colonne d'eau jusqu'à arriver à

l'interface eau/sédiment. La plupart d'entre eux sont reminéralisés dans les zones profondes et seulement une petite fraction de ces tests est enfouie dans le sédiment. Les sédiments contenant les plus fortes teneurs en carbonate ne sont pas issus de régions de forte productivité primaire, mais plutôt dans des zones où le taux de sédimentation est faible et pour des profondeurs moyennes de la colonne d'eau.

La distribution géographique résulte des contrôles thermodynamique et cinétique qui déterminent comment le carbonate de calcium est préservé. La quantité de carbonate de calcium qui peut être dissous dans l'eau si l'équilibre thermodynamique est atteint dépend de la réaction suivante et de sa constante d'équilibre ou constante de solubilité (K_s):



où $\{\text{Ca}^{2+}\}$ et $\{\text{CO}_3^{2-}\}$ sont les activités des ions Ca^{2+} et CO_3^{2-} à l'équilibre.

Les concentrations ioniques sont généralement mesurées à la place des activités. Le produit de solubilité est ainsi souvent défini comme:

$$K_s^* = [\text{Ca}^{2+}] \times [\text{CO}_3^{2-}]$$

avec K_s^* la constante de solubilité apparente, $[\text{Ca}^{2+}]$ et $[\text{CO}_3^{2-}]$ sont les concentrations des ions Ca^{2+} et CO_3^{2-} à l'équilibre.

La stabilité des systèmes de carbonate de calcium ou les constantes de solubilité sont influencées par le pH, la salinité, la température et la pression du milieu. Les constantes de solubilité augmentent quand la salinité (i. e. lors d'upwelling) et la pression (station profonde) augmentent, et quand la température et le pH diminuent. Les carbonates sont en général des phases solides plus stables que les oxydes ou les hydroxydes.

Le carbonate de calcium peut précipiter selon les deux structures: l'aragonite (symétrie orthorhombique) et la calcite (symétrie trigonale) (Figure I.3-1).

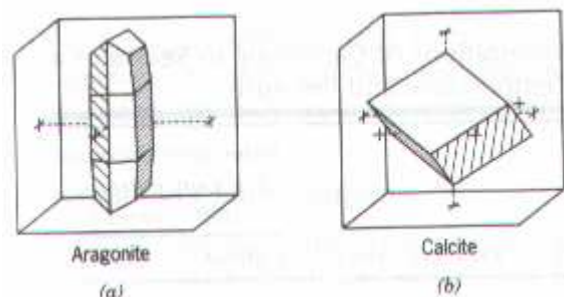


Figure I.3-1 Représentation d'une structure cristalline aragonite et calcite.

Chaque structure a sa propre Ks et son énergie libre de formation. A des températures et des pressions normales d'eaux de mer de surface, la formation de calcite sera privilégiée par rapport à la structure aragonite à cause de sa plus faible enthalpie libre de formation et sa meilleure stabilité ($\Delta G^\circ_f \text{ (aragonite)} > \Delta G^\circ_f \text{ (calcite)}$ et $Ks_{\text{(calcite)}} < Ks_{\text{(aragonite)}}$). L'aragonite est toutefois stable à de fortes pressions, mais pas pour de fortes températures, excepté si les deux augmentent simultanément.

La composition en éléments traces dans des minéraux de carbonate de calcium a été étudiée dans de nombreuses recherches paléo océanographiques afin de comprendre la géochimie de la sédimentation des minéraux carbonatés et de leur diagenèse. En effet, les éléments traces, disponibles dans l'eau de mer, peuvent être piégés dans la matrice carbonatée. Leur incorporation est généralement liée à la substitution du Ca^{2+} par des éléments généralement métalliques Me^{2+} selon la réaction suivante:

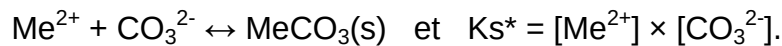


Table I.3-1 Constantes de solubilité de différents éléments métalliques mesurées à T=25°C et pour une force ionique nulle (adapté de (Morel and Hering 1993)).

	CO_3^{2-}	$-\log Ks$
Ca^{2+}	$\text{CaCO}_3(\text{s})$ aragonite	8,22
	$\text{CaCO}_3(\text{s})$ calcite	8,35
Mg^{2+}	$\text{MgCO}_3(\text{s})$	7,45
Sr^{2+}	$\text{SrCO}_3(\text{s})$	9
Ba^{2+}	$\text{BaCO}_3(\text{s})$	8,3
Mn^{2+}	$\text{MnCO}_3(\text{s})$	9,3
Fe^{2+}	$\text{FeCO}_3(\text{s})$	10,7
Co^{2+}	$\text{CoCO}_3(\text{s})$	10
Ni^{2+}	$\text{NiCO}_3(\text{s})$	6,9
Cu^{2+}	$\text{CuCO}_3(\text{s})$	9,6
Zn^{2+}	$\text{ZnCO}_3(\text{s})$	10
Pb^{2+}	$\text{PbCO}_3(\text{s})$	13,1
Hg^{2+}	$\text{HgCO}_3(\text{s})$	16,1
Cd^{2+}	$\text{CdCO}_3(\text{s})$	13,7
Ag^+	$\text{Ag}_2\text{CO}_3(\text{s})$	11,1

Les constantes de solubilité des principaux carbonates sont résumées dans la Table I.3-1. Le plomb, le mercure et le cadmium présentent des constantes de

solubilité très faibles ce qui démontre ainsi une grande affinité de ces métaux pour les carbonates. Cependant, leur concentration dans l'eau de mer sont faibles: respectivement, $0,1 \mu\text{g.l}^{-1}$; $0,03 \mu\text{g.l}^{-1}$; $0,0005 \mu\text{g.l}^{-1}$ pour le cadmium, le mercure ou le plomb (Brown et al. 1989). Comme déjà vu précédemment, ces faibles concentrations peuvent être liées aux fortes complexations de ces métaux avec la matière organique. Ces faibles concentrations pourraient potentiellement expliquer de faibles concentrations de ces éléments dans une matrice de carbonate de calcium.

Comme pour la carbonate de calcium, les constantes de solubilité de ces éléments sont influencées par la composition, le pH, la température, la salinité, la pression de l'eau de mer et la quantité de matière particulaire (Morse and Bender 1990; Rimstidt et al. 1998).

Les différents éléments considérés cristallisent préférentiellement selon les deux mêmes structures que le carbonate de calcium:

- la structure « calcite » pour le nickel, le cadmium, le manganèse, le fer, le zinc, le cobalt, et le magnésium ;
- et la structure « aragonite » pour le strontium, le plomb et le baryum.

La précipitation de ces éléments dans ces deux structures, tout particulièrement le magnésium et le strontium, a été largement étudié dans des matrices minérales de calcite ou d'aragonite (Dietzel et al. 2004; Morse and Bender 1990; Rimstidt et al. 1998; Tesoriero and Pankow 1996).

Les éléments traces, disponibles dans l'eau de mer sous forme anionique, peuvent aussi être piégés dans la matrice carbonatée. Les éléments anioniques tels que SnO_3^{2-} , MoO_4^{2-} , CrO_4^{2-} , SO_4^{2-} , pourraient substituer les carbonates et précipiter avec les cations Ca^{2+} . Les constantes de ces réactions sont, par exemple, respectivement de $10^{-7.84}$ et $10^{-4.62}$ pour le molybdène et le soufre. La grande disparité entre ces deux valeurs souligne que la précipitation d'un anion dans la matrice de carbonate de calcium dépend fortement de l'élément considéré.

I.3.2. Les biominéraux formés de carbonate de calcium

Ces dernières années, de croissantes investigations ont été menées sur les enregistrements temporels des variations climatiques ou de la pollution métalliques dans des carbonates formés par des organismes biologiques et marins. Les

biominéraux ont été largement utilisés comme des archives de leur environnement parce qu'ils déposent, régulièrement et tout au long de leur vie, des couches successives de carbonate de calcium. Ce carbonate de calcium biogénique précipite aussi sous les deux formes cristallines: « aragonite » et « calcite ». Similairement aux cernes dans les arbres, les structures aragonites formées par les coraux, les otolithes (os de l'oreille interne de poissons) ou les structures calciques formées par certaines coquilles des mollusques possèdent une caractéristique physique perceptible: des laminaires de croissance ou des anneaux de croissance concentriques qui sont déposés saisonnièrement ou à une période plus fréquente. Les différents rythmes de croissance de ces biominéraux sont présentés dans la Table I.3-2. La résolution temporelle de l'archivage de ces biominéraux est aussi comparée avec celle obtenus avec d'autres échantillons environnementaux.

Table I.3-2 Croissance des biominéraux et la résolution temporelle de leur archivage comparée à des échantillons environnementaux.

	Résolution de l'archivage	Croissance
<u>Biominéraux carbonatés</u>		
Foraminifères	Saisonnière	1-3 mois, 1 an maximum
Coraux	Annuelle à saisonnière	Annuelle
Otolithes	Annuelle	Annuelle
Coquilles de mollusques	Saisonnière à journalière	Stries journalières pour certains bivalves
<u>Echantillons environnementaux</u>		
Carottes de glace	Annuelle	Quelques mm à quelques cm par an selon les dépôts atmosphériques
Carottes de sédiments	Annuelle	Quelques mm à quelques cm par an selon les écosystèmes aquatiques
Cernes des arbres	Annuelle	Une cerne visible par an

Les éléments traces, disponibles dans le milieu environnant les organismes, peuvent être piégés dans le squelette carbonaté lors du processus de calcification. Leurs concentrations dans ces biominéraux couplées à la spécificité de leur croissance peuvent ainsi être utilisées comme des traceurs biologiques des conditions ambiantes de l'eau de mer comme la température, la salinité, ou l'état de contamination de leur environnement. L'incorporation d'éléments traces dans des biominéraux carbonatés a fait l'objet de nombreuses études, en particulier sur le magnésium et le strontium. Généralement, il a été reporté que les cations Me^{2+} tels que le Sr^{2+} , le Mg^{2+} et le Ba^{2+} , substituent le calcium (Lazareth et al. 2003; Lazareth et al. 2000; Lorrain et al. 2005; Raith et al. 1996; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999). Comme pour le carbonate de calcium minéral, l'enrichissement ou l'appauvrissement d'un élément dans la matrice dépend directement des constantes

de solubilité, de la biodisponibilité des éléments et des caractéristiques physiques du milieu environnant le biominéraux (pH, température, pression). La plupart des études ont défini l'affinité d'un élément pour ce carbonate de calcium biogénique grâce aux calculs de facteurs d'enrichissement (D_{Me}):

$$D_{Me} = ([Me]/[Ca])_{calc} / ([Me]/[Ca])_{sw} \quad (3)$$

Ces facteurs reflètent la distribution de l'élément entre le solide (carbonate de calcium) et la solution (milieu où se fait la calcification). Ils ont été déterminés dans différents biominéraux tels que les foraminifères (Havach et al. 2001; Hintz et al. 2006a; Hintz et al. 2006b), les otolithes (Bath et al. 2000) et les coquilles (Gillikin et al. 2006; Gillikin et al. 2005c).

Ces dernières années, de nombreuses investigations ont démontré que la composition isotopique ou chimique du carbonate de calcium biogénique serait un proxy des changements environnementaux passés ou de processus biogéochimiques dans les environnements marins. La composition isotopique de l'oxygène $\delta^{18}O$ dans les coquilles des bivalves est, par exemple, contrôlée par la température de l'eau de mer et son propre $\delta^{18}O$ (Carré et al. 2005; Chauvaud et al. 2005). Cependant, la calibration de ce proxy est difficile (Gillikin et al. 2005a).

I.3.3. Traceurs et proxis dans les biominéraux carbonatés marins

Les marqueurs ou proxis sont des sources d'information provenant d'archives naturelles comme les cernes de croissance des arbres, les carottes de glaces, les coraux, les sédiments lacustres et océaniques, ou les pollens. Contrairement aux traceurs qui révèlent des informations qualitatives, les proxis sont calibrés de façon à fournir une reconstruction quantitative.

Pour les environnements marins, plusieurs éléments traces contenus dans des biominéraux de carbonate de calcium ont déjà été soulignés ou démontrés comme des traceurs ou proxis. Henderson a souligné les principaux éléments traces utilisés comme proxis de changements océaniques majeurs (Henderson 2002). Généralement, les rapports molaires élément traces sur calcium (Me/Ca) sont utilisés. Les différents éléments traces couramment utilisés comme traceurs sont présentés dans la Table I.3-3 et récapitulés dans les parties suivantes selon différents biominéraux considérés.

Table I.3-3 Présentation des éléments traces utilisés dans les biominéraux (coraux, foraminifères, otolithes et coquilles) comme des traceurs des changements environnementaux ou de la biologie du biominéral. Le symbole xxx souligne que ces traceurs sont utilisés dans tous les biominéraux considérés et dans des environnements géographiquement variés. Le symbole xx est employé pour des éléments corrélés à des processus dans la plupart des biominéraux et x pour des éléments corrélés à des processus spécifiques à certains sites ou types de biominéraux considérés.

Traceurs	Mg	Sr	Mn	Ba	B	Cd	Pb	Zn	Cu	Ag	Cr	Ni	U
<u>Paramètres environnementaux</u>													
Température	xxx	xxx	x		x								x
Salinité	xx	xx		x									
Productivité primaire			x	x									
Upwelling				x		x							
Apports des rivières				x									
Apports anthropiques						xx	xxx	xxx	xxx	x	x	x	x
Resuspension du sédiment			x										
<u>Facteurs des biominéraux</u>													
Croissance, effets cinétiques	x	x											
Age	x	x											
Activité métabolique	x	x											

I.3.3.1. Les coraux

Dans les coraux, des traceurs géochimiques sont couramment employés (Cardinal et al. 2001; Sinclair and Mc Culloch 2004; Wyndham et al. 2004). La plupart des études se sont focalisées sur les rapports Mg/Ca et Sr/Ca comme des paléo thermomètres de l'eau de mer de surface (Cardinal et al. 2001; Richardson et al. 2004; Rosenheim et al. 2005; Schrag 1999; Sinclair et al. 1998; Smith et al. 1979; Vander Putten et al. 2000). Les assimilations du bore et de l'uranium dans les coraux ont aussi été quantitativement liées aux températures de l'eau de mer de surface (Sinclair et al. 1998). Les résultats obtenus dans cette dernière étude sont illustrés dans la Figure I.3-2. Les changements saisonniers de la salinité et de la température de l'eau de mer de surface pourraient être déduits à la fois de la composition en $\delta^{18}\text{O}$ et du rapport Mg/Ca (Watanabe et al. 2001). Le ratio Mn/Ca a été suggéré comme un traceur des températures de l'eau de mer de surface, mais avec une grande variabilité estivale qui pourrait être liée à l'activité biologique (Alibert et al. 2003).

Les compositions coralliennes en baryum et en cadmium ont été définies comme des traceurs potentiels d'upwelling océaniques (remontée d'eau froide plus saline et enrichie en nutriments) (Fallon et al. 1999; Lea et al. 1989; Reuer et al. 2003). Les apports des rivières sont aussi supposés changer la composition

corallienne en baryum (Alibert et al. 2003 ; Sinclair and Mc Culloch 2004), mais pas systématiquement (Sinclair 2005). Le plomb, le zinc ou le cuivre archivés dans les coraux seraient plutôt des indicateurs des apports anthropiques (Esslemont et al. 2004; Fallon et al. 1999; Fallon et al. 2002).

Les principaux inconvénients d'utiliser les coraux pour des études paléo océanographiques sont leur faible taux de croissance et la visualisation difficile de ses marques de croissance qui conduisent à la seule observation de changements de l'ordre de la dizaine d'années voire de l'année ou au mieux de la saison.

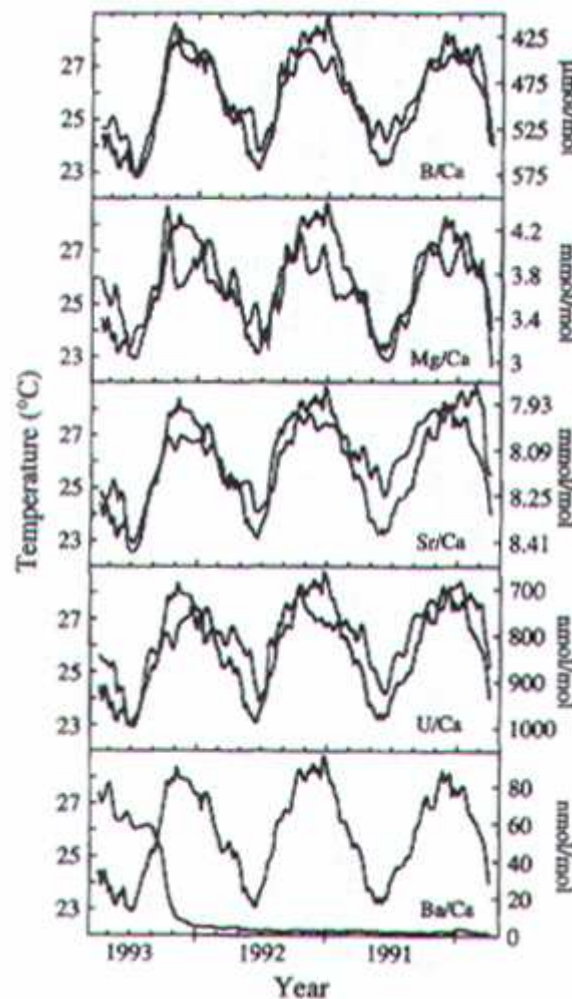


Figure I.3-2 Présentation des résultats obtenus entre les variations des éléments traces dans les coraux (B, Mg, Sr, U, Ba) et les profils de température de l'eau de mer en surface (Sinclair et al. 1998). Seul le baryum ne montre pas de saisonnalité liée à la température.

I.3.3.2. Les foraminifères

Les foraminifères, en particulier benthiques, sont reconnus comme de bons bio indicateurs de la qualité de l'environnement ou proxy des changements environnementaux grâce à leur cycle de vie court (1 à 3 mois en moyenne, 1 an maximum) et leur ubiquité dans le milieu marin (des marais maritimes aux plaines abyssales), associés à une grande richesse dans le sédiment. Une photographie au microscope électronique à balayage (MEB) de ces foraminifères est présentée dans la Figure I.3-3. Comme pour les coraux, le magnésium et le strontium dans les foraminifères sont couramment utilisé comme proxy de la température de l'eau de mer de surface (Eggins et al. 2003a; Henderiks and Bollmann 2003; Hintz et al. 2006a). La plupart des études se focalisent sur ces deux éléments seulement. Cependant, les métaux tels que le plomb, le cadmium, le zinc, le cuivre, le nickel et le chrome ont aussi été déterminés comme de bon traceur de pollutions (Armynot Du Châtelet et al. 2004).

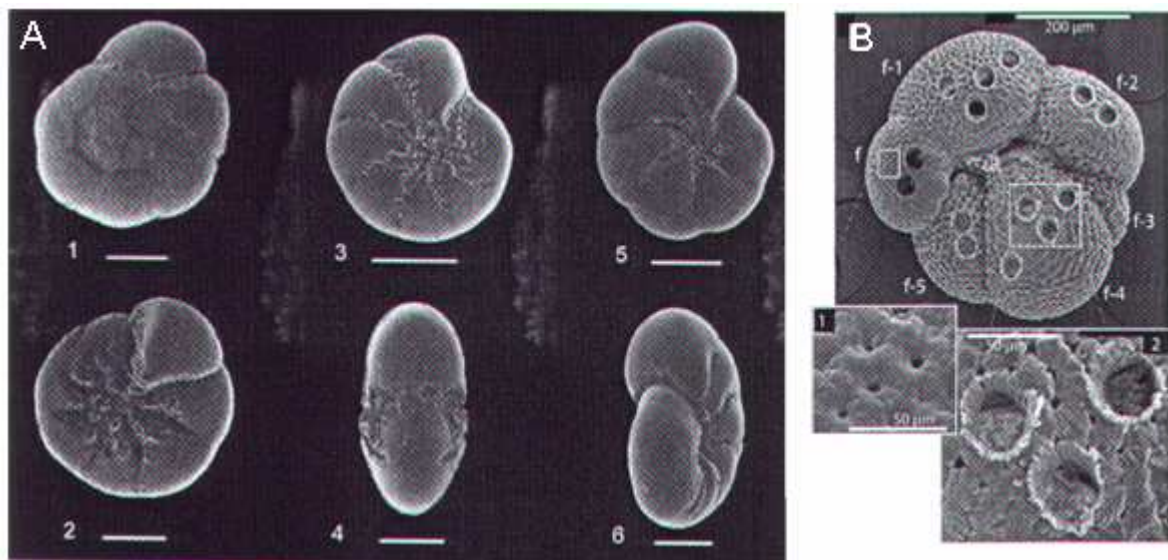


Figure I.3-3 Photographie MEB A/ de trois types de foraminifère: 1 et 2 *Ammonia tepida*, 3 et 4 *Cribroelphidium excavatum*, 5 et 6 *Haynesina germanica*. La barre d'échelle représente 100 µm (Armynot Du Châtelet et al. 2004); B/ d'un test fossile de foraminifère (*Neogloboquadrina dutertrei*) analysé par LA-ICP-MS (Eggins et al. 2003a).

I.3.3.3. Les otolithes de poissons

Les otolithes sont des concrétions calcaires situées dans l'oreille interne des poissons téléostéen. Ils interviennent dans l'équilibre des poissons. Ils sont présents dès la fin du stade embryonnaire (en fin d'incubation pour les oeufs de salmonidés) et s'accroissent ensuite avec le développement de l'organisme. Les otolithes de poisson sont formés de cristaux de carbonate de calcium (aragonite) disposés de manière concentrique autour des nucléi (partie centrale de l'otolithe). L'otolithe croît par apposition d'un nouveau matériel à sa périphérie. Les variations structurales et chimiques des zones concentriques sont contrôlées par des changements dans la physiologie du poisson et des fluctuations de l'environnement. Ce phénomène conduit à la formation d'une alternance de zones (macro et micro structures) plus ou moins larges et espacées (apparaissant noires) alternant avec des zones opaques (apparaissant blanches) qui sont visibles sur des otolithes polis observés en microscopie optique.

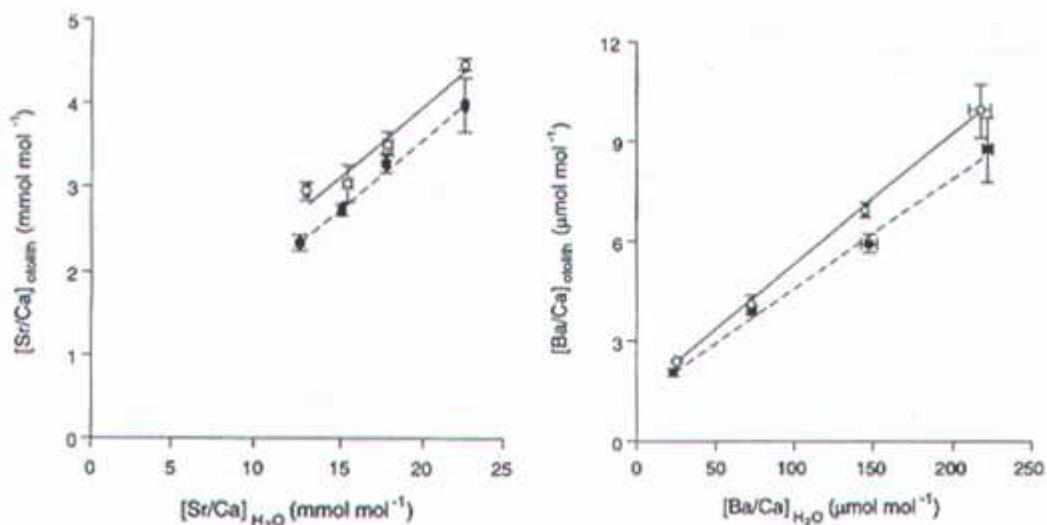


Figure I.3-4 Influence des rapports molaires Sr/Ca et Ba/Ca dans l'eau sur l'incorporation de ces deux éléments dans les otolithes. Les symboles pleins représentent des expériences menées à 25°C, les symboles vides à 20°C (Bath et al. 2000).

Comme pour les précédents biominéraux, les études des éléments traces piégés dans ces otolithes sont donc d'un grand intérêt, mais malheureusement trop peu nombreuses. La plupart d'entre elles ont mis en évidence que la composition des otolithes en éléments traces refléterait les conditions environnementales

rencontrées lors de la vie de l'animal, soit ces migrations, son habitat (Arslan and Secor 2005; Elsdon and Gillanders 2006; Gemperline et al. 2002; Hamer et al. 2006). La composition des otolithes a d'abord été démontré reflétée le milieu environnant le poisson. La Figure I.3-4 montre cette interdépendance entre les concentrations dans les otolithes et celles dans l'eau pour le Sr et le Ba. L'utilisation du rapport Sr/Ca des otolithes de poissons a aussi été démontrée comme un thermomètre pertinent, cependant la validation de la dépendance température - Sr/Ca est nécessaire (Bath et al. 2000). En ce qui concerne les autres éléments traces, leurs concentrations dans les otolithes sont très faibles, de quelques ppt à quelques ppb.

I.3.3.4. Les coquilles des mollusques

Les bivalves sont des mollusques dont la coquille est constituée de deux parties distinctes et attachées, plus ou moins symétriques, pouvant s'ouvrir ou se refermer. Cette classe comprend environ 30 000 espèces, notamment les moules, les huîtres et les palourdes. Les bivalves sont tous exclusivement aquatiques, et on les trouve aussi bien dans l'eau douce que dans l'eau salée. Les coquilles des bivalves croissent régulièrement en déposant successivement des couches de carbonate de calcium capables de préserver un enregistrement temporel de l'environnement chimique et de l'état physiologique que le bivalve a connu le long de sa vie. Certains bivalves ont la particularité de montrer des marques temporelles qui permettent l'usage de sa coquille comme un enregistrement chronologique précis. En tenant compte de cette spécificité, plusieurs études ont utilisé la composition élémentaire dans ces coquilles comme des archives de processus biogéochimiques dans des environnements côtiers.

La précipitation d'éléments traces, tels que le strontium, le magnésium, le baryum, le cadmium, le manganèse, le cobalt, le cuivre, le fer ou le zinc, dans la coquille de calcite ou d'aragonite est, généralement, thermodynamiquement possible (enthalpies libres de formation négatives). La plupart des éléments sont supposés être sous la forme de cations doublement chargés dans l'eau de mer et peuvent ainsi précipiter dans la structure de carbonate de calcium à la place du calcium. L'efficacité de la précipitation de ces éléments dépend directement de leur disponibilité dans le milieu environnant la coquille, c'est-à-dire l'interface

eau/sédiment. Les différentes sources et processus liés à l'enrichissement ou l'appauvrissement d'un élément dans la coquille sont reflétés dans la Figure I.3-5.

Les différents processus dépendent de l'origine des éléments dans l'environnement externe de la coquille, de leurs formes physicochimiques ou leur bio disponibilité et des différentes voies d'assimilation. La calcification a lieu dans le fluide extra palléal, c'est-à-dire entre le manteau (membrane) et la partie interne de la coquille (Figure I.11). Les éléments peuvent être apportés dans ce fluide de deux façons: par diffusion de l'eau de mer à travers la membrane (apport direct) ou par un flux interne introduit par une contribution métabolique du bivalve. Dans le second cas, l'eau de mer a été préalablement digérée par l'organisme et un fluide physiologique peut ensuite être amené dans le fluide extra palléal pour la calcification. Les éléments peuvent aussi être assimilés sous différentes formes physiques: sous une phase dissoute ou particulaire. Leurs concentrations et leur biodisponibilité à l'interface eau/sédiment dépendent donc directement de la dynamique pélagique, benthique ou du couplage des deux.

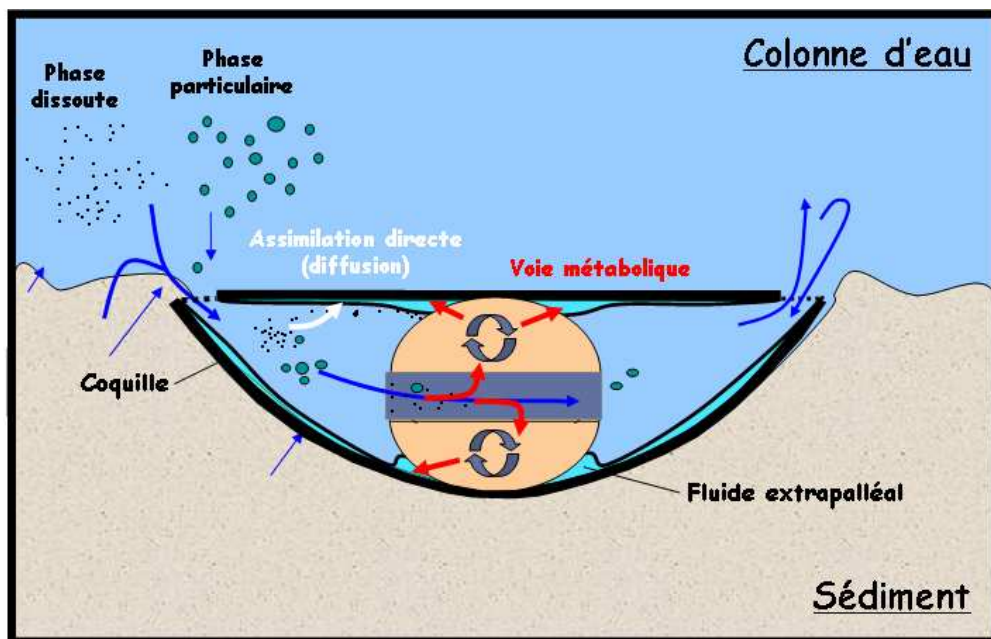


Figure I.3-5 Schéma conceptuel d'une coquille à l'interface eau/sédiment et des différents mécanismes potentiels mis en jeu pour l'assimilation des éléments traces dans la coquille (adapté de (Lorrain 2002)).

Les flux pélagiques en éléments traces sont contrôlés par différents paramètres: les pollutions marines (marées noires, déchets industriels, urbains ou agricoles); les phénomènes d'upwelling (des remontées d'eaux froides plus salines

et enrichies en nutriments); les changements hydro climatiques (les orages peuvent induire des apports terrigènes importants dus à un lessivage des sols ou des crues). Les flux benthiques sont plutôt influencés par d'autres facteurs: les remobilisations du sédiment (lors de fortes tempêtes, vents, crues ou dragages); la diagenèse sédimentaire (changements des conditions rédox à l'interface eau/sédiment qui conduit à un relargage de métaux dissous, comme, par exemple, le plomb ou le manganèse); la bioturbation (certains organismes vivant à cet interface peuvent privilégier ou non la remise en suspension de certains éléments).

La biodisponibilité des éléments à l'interface eau/sédiment est le reflet des apports élémentaires à l'interface, soit de la dynamique pélagique, benthique ou du couplage des deux flux. Par exemple, la sédimentation d'efflorescences phytoplanctoniques de la colonne d'eau conduit à un appauvrissement en oxygène à l'interface eau/sédiment et favorise ainsi la diagenèse et le relargage d'éléments traces (Mn, Pb). Les éléments traces piégés dans la coquille pourraient donc se comporter comme des traceurs de tels changements environnementaux, le plus difficile étant de distinguer la source exacte lors de variations (augmentations, diminutions) des concentrations coquillières.

Les études portant sur les concentrations coquillières des éléments traces ont été résumées dans la Table I.3-4 selon l'espèce considérée et l'élément d'intérêt. La plupart des études se sont concentrées sur l'utilisation du magnésium et du strontium coquillier comme reflet de la température de l'eau environnante (Gillikin et al. 2005a; Lazareth et al. 2003). Cependant, l'absence d'une relation constante entre température et magnésium coquillier empêcherait l'usage direct du magnésium contenu dans la coquille comme un proxy haute résolution de la température (Vander Putten et al. 2000). Les profils Sr/Ca et Mg/Ca permettrait aussi de déterminer l'âge, la croissance et la saison de collecte du bivalve (Richardson et al. 2004; Takesue and Van Geen 2004). Comme pour les coquilles Saint Jacques, les diminutions des concentrations coquillières en strontium seraient associées à des effets cinétiques jouant un rôle plus important que la température pour l'incorporation de cet élément (Lorrain et al. 2005; Stecher et al. 1996). Les variations des concentrations coquillières en strontium seraient aussi attribuées à des changements de la salinité de l'eau (Pearce and Mann 2006) et à l'activité métabolique du manteau (Klein et al. 1996b).

Table I.3-4 Ordre de grandeur des concentrations coquillières déterminées dans la littérature en fonction des éléments et des espèces considérées. <LD représente des concentrations inférieures aux limites de détection.

Concentrations coquillières en µg/g	As	Ba	Cd	Cu	Fe	Mg	Mn	Mo	Pb	Sr	U	Zn	Références
<i>Arctica islandica</i>									1-100	100-5000			{Raith, 1996 #15}
<i>Ceraporella nicholsoni</i>		1 - 5				200			0,2 - 3	700-900			{Lazareth, 2000 #20; Rosenheim, 2005 #275}
<i>Cerastoderma edule</i>	<LD-250			<LD-80					<LD-70		<LD-20	<LD-120	{Price, 1997 #54}
<i>Comptopallium radula</i>		0,5-5						<LD-0,3					{Thébault, submitted #189}
<i>Ensis siliqua</i>		1-40	5-160			20-250			1-25	1000-3500	<LD-5	1-85	{Pearce, 2006 #368}
<i>Isognomon ephippium</i>		1 - 4				3000-5000	2 - 40			700-800			{Lazareth, 2003 #13}
<i>Mercenaria mercenaria</i>		1,4-50							0,005-0,3	800-2400			{Stecher, 1996 #44; Gillikin, 2005 #160}
<i>Modiolus modiolus</i>				1-25					0,4-8			1-35	{Richardson, 2001 #89}
<i>Mytilus</i>		1 - 80		4 - 9	2-160	1000-4000	4 - 200		0,4-5	800-1900		1-10	{Klein, 1996 #170; Puente, 1996 #152; Vander Putten, 1999 #17; Vander Putten, 2000 #50; Szefer, 2002 #149; Gillikin, 2006 #223}
<i>Patella aspera</i>						4605	7,2			1339			{Cravo, 2002 #19}
<i>Patella vulgata</i>						3621	46,1			1566			{Foster, 1995 #28}
<i>Pinna nobilis</i>						2000-6000				1300-3500			{Richardson, 2004 #59}
<i>Protothaca staminea</i>						400-800				800-2700			{Takesue, 2004 #39}
<i>Spisula solidissima</i>		0,6-55								1400-2400			{Stecher, 1996 #44}
<i>Pecten maximus</i>						1200-3900				1200-1800			{Lorrain, 2005 #207}

L'influence des pollutions ou apports anthropogéniques ont aussi été démontrés comme des facteurs influençant des augmentations des concentrations coquillères en plomb, zinc, cuivre, argent, cadmium et uranium chez différentes espèces de coquilles (Gillikin et al. 2005b; Giusti et al. 1999; Pearce and Mann 2006; Price and Pearce 1997; Puente et al. 1996; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001). Le plomb, le cadmium, l'uranium et le zinc seraient liés aux activités industrielles; le plomb et le zinc seraient aussi liés à des activités minières (Pearce and Mann 2006).

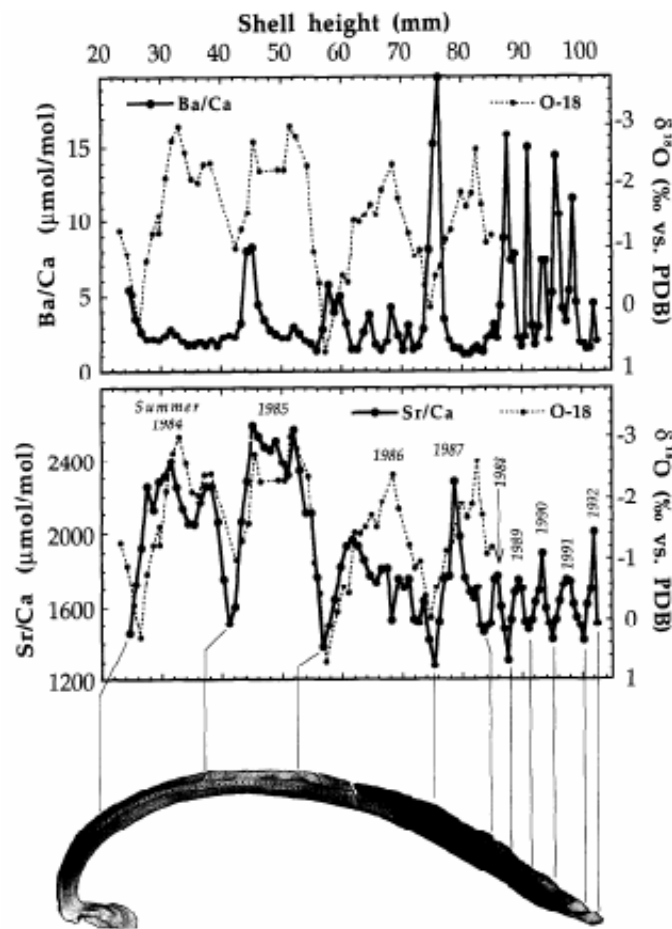


Figure I.3-6 Exemple de profils élémentaires du Sr et du Ba (en $\mu\text{mol.mol}^{-1}$) obtenus dans des coquilles du bivalve *Mercenaria mercenaria* (Stecher et al. 1996).

Les variations des concentrations coquillères en baryum seraient liées à la productivité primaire (Lazareth et al. 2003 ; Pearce and Mann 2006; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). Les résultats obtenus pour le Ba et Sr dans l'étude de Stecher et al. (1996) sont illustrés dans la Figure I.3-6. Le baryum dans la

coquille pourrait aussi être associé au strontium (Pearce and Mann 2006). De récentes découvertes ont confirmé les premières hypothèses établies en montrant que le baryum coquillier reflète à la fois la salinité avec les concentrations de son bruit de fond, et les efflorescences phytoplanctoniques spécifiques avec ses variations de concentrations (Gillikin et al. 2006).

L'utilisation de ces coquilles est jusqu'à présent limitée par la pauvre résolution temporelle qui peut être obtenue par les différentes espèces de bivalves étudiées: *Mercenaria mercenaria*, *Mytilus edulis*, *Isognomon ehippium*. Pour la plupart de ces espèces, seules des variations saisonnières des concentrations coquillères en éléments traces peuvent être soulignées, conduisant à une chronologie approximative et impliquant une datation imprécise d'éventuels phénomènes observés.

I.3.3.5. Spécificité des coquilles Saint Jacques

Les recherches ont été initialement menées sur la coquille Saint Jacques due à des pêches fluctuantes qui inquiétaient de plus en plus les pêcheurs et aux interrogations sur son possible élevage en aquaculture. La biologie et l'écologie de cette espèce ont donc été largement étudiée, et tout particulièrement en rade de Brest (Chauvaud et al. 2001; Chauvaud et al. 1996; Chauvaud et al. 1998; Le Pennec et al. 2003; Thouzeau et al. 2000). La vie pélagique du bivalve *Pecten maximus* a été examinée afin de connaître son impact sur son abondance future (Le Pennec et al. 2003). Les interactions entre les différentes espèces benthiques et les conditions environnementales locales (salinité, température, type de sédiment...) sont aussi démontrées comme des facteurs influençant le stock et la croissance des coquilles Saint Jacques (Chauvaud et al. 1996; Thouzeau et al. 2000). La salinité du milieu environnant le bivalve contrôlerait aussi sa croissance et sa survie (Christophersen and Strand 2003; Laing 2002). La reproduction de ce bivalve et l'allocation de son énergie dépendrait des effets combinés de la température et de la lumière, et donc de la saisonnalité (Saout et al. 1999).

Ce mollusque est un organisme benthique filtreur ingérant non spécifiquement toute la matière particulaire organique, par exemple du micro phyto benthos en suspension au détritus de diatomées pélagiques (Chauvaud 1998). L'assimilation trophique de ces particules dépend directement de la composition biogéochimique à

l'interface eau/sédiment, son habitat. Pour cette espèce, la disponibilité en nourriture (phytoplancton) n'est pas un facteur limitant la croissance coquillière, contrairement à la température et à la lumière (Chauvaud et al. 1998; Lorrain et al. 2000). De plus, la physiologie de ce bivalve ne démontre aucun impact sur sa composition coquillière élémentaire ou isotopique (aucun biais biologique), excepté pour le carbone.

Des recherches ont aussi été menées sur la composition chimique des tissus mous. La bioaccumulation de toxines, apporté par des espèces phytoplanctoniques toxiques, impacterait la nutrition du bivalve (Boughriet et al. 1992). L'acide domoïque produit par des espèces phytoplanctoniques a été démontré comme toxique pour le bivalve (Campbell et al. 2003). Les signatures isotopiques du carbone et de l'azote des différents organes de la coquille Saint Jacques ont ainsi été examinées comme indicateurs de son activité nutritionnelle et son allocation d'énergie (Lorrain et al. 2002). La composition $\delta^{15}\text{N}$ a ainsi été suggérée comme un puissant traceur du métabolisme de la coquille. La bioaccumulation des éléments traces tels que le cadmium, le cuivre ou le zinc dans le bivalve a été démontrée dépendante de l'élément d'intérêt, des différents tissus mous et écosystèmes considérés (Bustamante and Miramand 2004). Par exemple, le cadmium et le cuivre seraient plutôt accumulés dans la glande digestive, et le zinc dans le rein.

Déposant une marque de croissance journalière (Figure I.3-7), l'outil coquille Saint-Jacques, autorise sa calibration à très haute fréquence (marque temporelle et vitesse de croissance rapide: 250 $\mu\text{m}/\text{jour}$) (Chauvaud 1998). La coquille se comporte grâce à ses stries comme un calendrier. Ce bivalve vivant jusqu'à environ 10 ans, la mesure de sa croissance coquillière permet une description des conditions environnementales vécues (température et lumière), à haute fréquence (une valeur par jour) et sur une longue période de temps. Cependant, les périodes de croissance sont de plus en plus courtes quand le bivalve grandit. En effet, l'allocation d'énergie du bivalve diffère selon l'âge: la première année de croissance, la majorité de l'énergie est allouée à la formation de sa coquille tandis que pour les années suivantes, son énergie est de plus en plus allouée à sa reproduction. L'archivage dans la coquille est donc plus complet pour la première année de croissance (classe juvénile) couvrant ainsi une période plus longue.

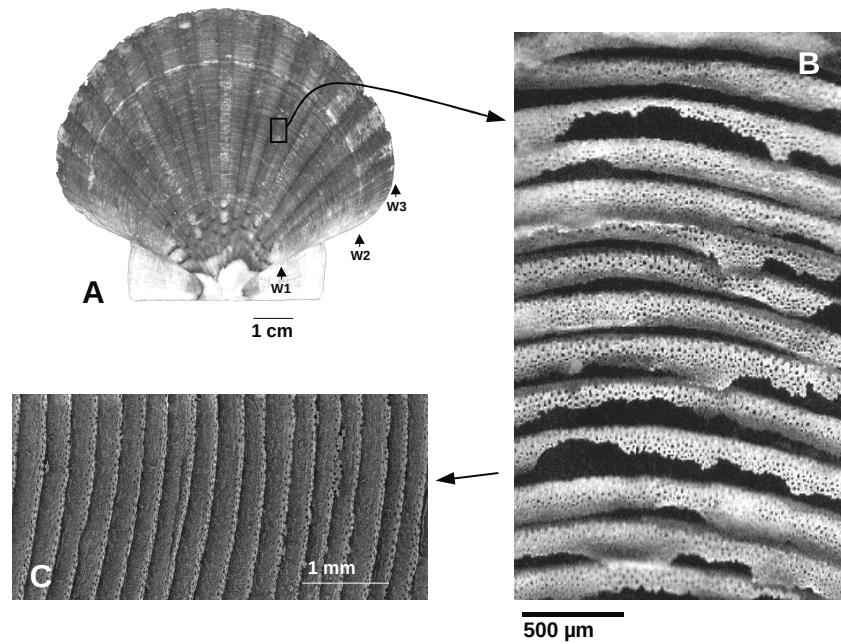


Figure I.3-7 *Pecten maximus*. A. Valve gauche d'un spécimen collecté en février 2002 dans la zone de Roscanvel (rade de Brest, France). La marque post-hivernale d'arrêt de croissance (W) permet une estimation précise de l'âge de l'individu. B. Photographie (microscope photonique) des lamelles externes (stries) avant décapage à l'acide acétique. C. Photographie (MEB) des stries après décapage. Ce traitement permet ensuite de mesurer les distances inter-stries (Chauvaud 1998).

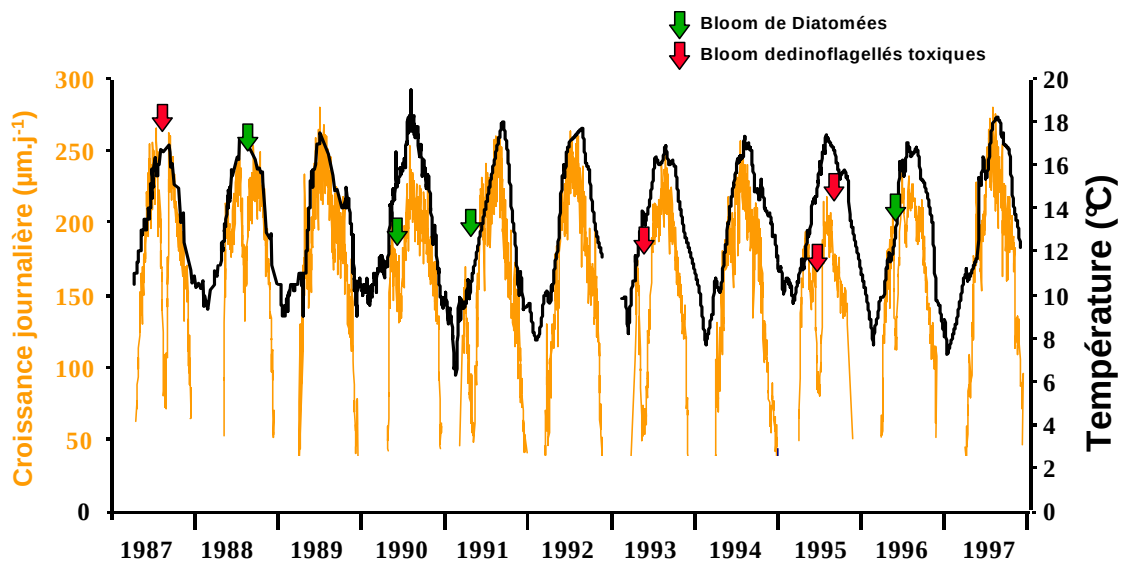


Figure I.3-8 Mise en évidence de la relation croissance coquillière/température de l'eau de mer pour les coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* sur la période 1987-1997. Les accidents de croissances sont identifiés et reliés à des efflorescences phytoplanctoniques (Chauvaud et al. 2004).

La croissance coquillière, elle-même, est donc un proxy de la température de l'eau de mer (Figure I.3-8). Elle a pu être modélisée (J. M. Guarini, CREMA, La Rochelle, (Chauvaud et al. 2005)) et a permis la calibration des relations température-lumière et croissance journalière au sein d'écosystèmes variés (Rade de Brest, France ou les fjords de Norvège). Elle est donc un outil performant pour l'évaluation des changements climatiques. Cependant, lorsque les températures sont trop froides (hiver), cette espèce stoppe sa croissance. La reprise de croissance printanière a lieu à une date fixe pour une latitude donnée. Ceci offre la possibilité d'un recalage précis des courbes de croissance obtenues, la datation précise de chaque strie et des prélèvements de la calcite coquillière effectués dans le cadre des analyses chimiques.

La croissance coquillière est aussi influencée par des efflorescences phytoplanctoniques (diminutions de croissance) massives de diatomées ou d'espèces toxiques (Chauvaud 1998; Lorrain et al. 2000). Elle peut donc être considérée à la fois comme un indicateur de la température de l'eau de mer et de la productivité primaire (Chauvaud 1998; Christophersen and Strand 2003; Cravo et al. 2002; Laing 2002; Saout et al. 1999).

Ce bivalve est sédentaire et vit dans des environnements tempérés de latitudes très variées du sud du Maroc au nord de la Norvège. Ce bivalve serait donc une archive complémentaire aux archives des milieux tropicaux (coraux) et des zones polaires (carottes de glace). En plus de sa large distribution géographique, ce bivalve vit à des profondeurs très diverses de 1 à 500 m, ce qui permet d'envisager des études à la fois sur le talus continental et dans tous les types d'écosystèmes côtiers, et par exemple le long de gradients de perturbation anthropique croissante.

Les études sur les coquilles se sont souvent limitées à des époques récentes dues au peu de collections de coquilles très anciennes. Cependant, de nombreuses collections existent pour l'espèce considérée. La coquille Saint Jacques, indifférente aux variations climatiques, s'est implantée définitivement le long des côtes atlantiques depuis presque 35 millions d'années. Les coquilles ont été largement consommées, utilisées comme parures dès le paléolithique, retrouvées dans des sépultures, et devenues un symbole religieux (pèlerinage de Saint Jacques de Compostelle). Lors de fouilles archéologiques, des coquilles peuvent aussi être excavées de dépôts sédimentaires immergés ou non.

Due à la spécificité de la croissance de cette espèce (stries journalières), la coquille de cette espèce présente un enregistrement à très haute fréquence des changements environnementaux (journalier), avec une datation précise des stries. Cette espèce, contrairement aux autres, permet une calibration temporelle précise des différents traceurs. La coquille Saint-Jacques se présente donc comme un outil très performant (latitude, haute fréquence) aux recherches en paléoclimatologie effectuées par la communauté scientifique internationale. De plus, l'espèce rencontrée dans des contextes archéologiques bien maîtrisés présente un intérêt archéologique croissant; son utilisation nouvelle pour cette discipline doit conduire à une meilleure appréhension des relations homme-climat au cours de l'holocène. Associé à l'analyse des spectres d'espèces issus de l'étude des amas coquilliers, l'outil coquille Saint-Jacques en offrant des informations uniques sur la saisonnalité des captures et les conditions de température des milieux fréquentés par l'homme, permettra de mieux comprendre les stratégies d'exploitation de l'environnement marin, dans leurs dimensions spatiales et temporelles.

La composition isotopique ou élémentaire mesurée dans la coquille de calcite a été considérée comme une archive des conditions environnementales (Chauvaud et al. 2005; Lorrain 2002 ; Lorrain et al. 2005; Lorrain et al. 2004). Comme pour la croissance, la composition coquillière isotopique de l'oxygène de ce bivalve a été définie comme un traceur de la croissance (Owen et al. 2002b) et un proxy de la température de l'eau (Chauvaud et al. 2005). La composition coquillière isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) a aussi été étudiée et révèle qu'elle diminuerait avec l'âge suggérant un effet métabolique plutôt qu'un contrôle environnemental direct. Les isotopes du carbone pourraient ainsi être utilisés pour discriminer l'activité métabolique des bivalves de différentes populations (Lorrain et al. 2004; Owen et al. 2002a ; Owen et al. 2002b).

A ce jour, les résultats obtenus ont donc montré que, chez cette espèce, la croissance coquillière et son dépôt journalier de calcite autorisent la mesure, à haute fréquence, des variations du métabolisme de l'animal, du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (Lorrain et al. 2004), des variations saisonnières de la température (Chauvaud et al. 2005), des fréquences et intensités des upwelling des côtes norvégiennes et espagnoles (Chauvaud et al., comm. pers.), de la latitude (Chauvaud et al., comm. pers.; Guarini et al., comm. pers.), de la fréquence et de la

nature des efflorescences phytoplanctoniques (Chauvaud 1998; Chauvaud et al. 2001; Lorrain 2002; Lorrain et al. 2002).

Toutes les spécificités de ce bivalve ont donc été des facteurs déterminants pour l'orientation de nos recherches sur la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (L.). Les études préalables sur la composition élémentaire se sont principalement focalisées sur le strontium. Contrairement aux premières hypothèses pour d'autres coquilles, les variations des concentrations coquillières en magnésium et en strontium sont suggérées ne pas être principalement influencées par la température de l'eau de mer (Lorrain et al. 2005). Freitas et al. (2006) suggèrent que les variations des concentrations coquillières en Sr sont principalement contrôlées par la température de calcification et la composition en Mg alors que les rapports Sr/Ca dans les coquilles de *Pecten maximus* seraient aussi supposés être contrôlés par des effets cinétiques (croissance) (Lorrain 2002). Des résultats préliminaires ont aussi été soulignés pour le baryum, le plomb et le manganèse (Lorrain et al. 2005). Les variations des concentrations coquillières en Mn sont supposées reflétées les concentrations dissoutes du Mn dans l'eau de mer (Freitas et al. 2006). Cependant, quelque soit les éléments, leurs variations saisonnières dans la coquille semblent être influencées par plusieurs facteurs environnementaux et/ou métaboliques, dont les effets n'ont pas été clairement déconvolués.

Les variations des concentrations des éléments traces dans les coquilles ne pourront être comprises que lors d'une meilleure connaissance des différents cycles biogéochimiques. L'analyse conjointe des cycles biogéochimiques des éléments à l'interface eau/sédiment et des variations des concentrations des éléments traces dans les coquilles devrait conduire à une meilleure définition des différents traceurs chimiques. Pour ceci, il est judicieux non seulement de choisir des coquilles échantillonnées sur des sites où le suivi environnemental est régulier, mais aussi d'utiliser une technique d'analyse appropriée à la détermination des éléments traces dans la calcite des stries de croissance du bivalve.

I.4. Micro analyse des éléments traces dans les solides par Ablation Laser et Spectrométrie de Masse à Plasma Inductif Couplé (LA-ICP-MS)

I.4.1. Méthode d'analyse par LA-ICP-MS

Dans le cadre de ma thèse, il a fallu utiliser une technique d'analyse du solide pour la détermination des éléments traces. Le choix s'est porté sur la technique de l'ablation laser couplée à un détecteur ICP-MS. Cette technique va donc être plus amplement présentée afin de comprendre son principe et ses performances. Un descriptif non exhaustif des différentes applications sera également présenté.

L'analyse des solides par LA-ICP-MS est reconnue comme une méthode performante pour la détermination des éléments majeurs, mineurs et traces dans les solides. De plus, les analyses des éléments traces dans les biominéraux ont généralement été effectuées grâce à ce couplage. Grâce à sa « simplicité » apparente, cette technique d'analyse peu invasive se développe fortement depuis ces 10 dernières années. En effet, elle permet une analyse directe des solides à l'échelle microscopique et est une méthode alternative plus qu'intéressante par rapport aux méthodes classiques analysant des solides remis en solution. Ces analyses conduisent, directement et avec une grande sensibilité, à la composition de l'échantillon, qualitativement dans un premier temps, puis quantitativement pour certains matériaux.

I.4.1.1. Principes et performances

Le schéma du couplage est présenté dans la Figure I.4-1. Le principe est le suivant. L'échantillon est introduit dans une cellule d'ablation. Le rayon laser atteint la surface de l'échantillon et conduit à l'éjection de particules du solide. Cette matière ablatée est ensuite portée vers le détecteur ICP-MS grâce à un flux de gaz porteur (argon ou hélium). Dans le plasma, l'échantillon est atomisé et ionisé. Ces ions sont ensuite introduits dans le spectromètre de masse par une interface qui sélectionne

seulement le faisceau d'ions le long de l'axe central du plasma. Les ions sont alors accélérés et le faisceau focalisé. Les ions sont ensuite sélectionnés en fonction de leur rapport M/Z dans le filtre de masse. Les ions sélectionnés atteignent finalement le détecteur ou multiplicateur d'électrons.

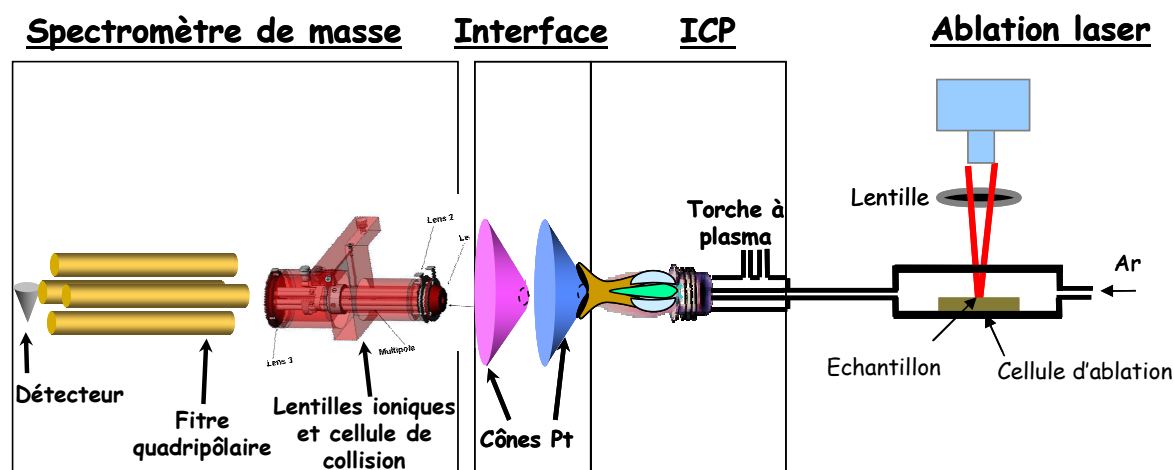


Figure I.4-1 Schéma du couplage ablation laser – spectrométrie de masse à plasma inductif couplé (LA-ICP-MS).

Le couplage LA-ICP-MS permet une analyse multi élémentaire et isotopique (40-60 isotopes simultanément), rapide, sélective, sensible (limite de détection de l'ordre du ng.g^{-1}) avec une large gamme dynamique. Le grand avantage est que cette technique ne nécessite pas de préparation d'échantillons. De plus, l'échantillonnage laser est très précis (5-200 μm) conduisant à une haute résolution temporelle lors de l'étude des accrétions successives de carbonate de calcium dans les coquilles. Le risque de contamination de l'échantillon est moindre, d'autant plus que dans certaines études la surface de l'échantillon est préalablement ablatée (Belloto and Mikeley 2000). Ce couplage permet aussi de s'affranchir, lors de la détection, d'interférences liées aux solvants ou acides utilisés.

Cependant, il faut être vigilant lors du choix des isotopes à analyser compte tenu des potentielles interférences, i. e. la présence d'ions moléculaires ou atomiques ayant la même charge que l'analyte étudié. L'usage de l'argon comme gaz vecteur et l'analyse de matrice de carbonate de calcium peuvent, par exemple, induire des interférences telles que ^{52}Cr et $^{40}\text{Ar}\text{-}^{12}\text{C}$, ^{46}Ca et ^{46}Ti , ^{25}Mg et $^{12}\text{C}\text{-}^{13}\text{C}$.

Cette méthode souffre aussi d'effets non stoechiométriques apparaissant pendant l'échantillonnage, le transport de l'aérosol, la vaporisation, l'atomisation et

l'ionisation dans l'ICP, décrit comme le fractionnement élémentaire (Guillong et al. 2003; Günther and Hattendorf 2005). Le fractionnement élémentaire est dépendant de la nature du matériau, de la forme chimique de l'élément, mais aussi des propriétés du laser utilisé (sa longueur d'onde, ses durées d'impulsion (généralement quelques ns) et son énergie) (Guillong and Günther 2002; Günther and Hattendorf 2005; Günther and Heinrich 1999; Motelica-Heino et al. 1999; Motelica-Heino et al. 2001). L'utilisation d'un faisceau laser infrarouge favorise un mécanisme d'ablation par fusion du matériau conduisant parfois à la formation de produits de fusion sur le rebord du cratère et dont la composition n'est pas parfaitement identique au solide. L'utilisation de faisceau ultraviolet (UV) réduit fortement cet effet. Au sein même des lasers émettant dans l'UV, le fractionnement est réduit lors du passage d'un faisceau de longueur d'onde 266 nm à 213 nm ou à 193 nm. La durée d'impulsion joue également un rôle important dans le fractionnement: les courtes impulsions (femto seconde) conduisent à un fractionnement réduit qui n'est pratiquement plus distinguable comparé à l'incertitude analytique et à une quantité ablatée plus grande (González et al. 2004; Poitrasson et al. 2003). L'énergie du laser étant délivrée en quelques femtosecondes seulement, la densité de puissance apportée est telle que la matière est éjectée du matériau avant que la chaleur n'est le temps de diffuser dans la matrice. Les particules produites sont fines (< 200 nm) et sont alors plus efficacement atomisée dans le plasma de l'ICP-MS, ce qui explique la quasi suppression du fractionnement élémentaire et l'augmentation de la sensibilité. Une telle ablation est dite « ablation froide ». Le développement de lasers femtosecondes couplés à un détecteur ICP-MS permet donc une nouvelles approche analytique pour la détermination des éléments traces dans les matériaux solides (Péchevran et al. in press; Péchevran et al. 2005). Cependant, ces lasers sont très onéreux et encore peu développés dans les laboratoires.

Ce phénomène de fractionnement est donc un facteur limitant lors d'analyse quantitative. L'utilisation de matériaux de référence de même composition chimique est donc nécessaire. Cependant, dû au manque de matériaux de référence certifiés pour la plupart des échantillons d'intérêt, les analyses quantitatives sont souvent restreintes à certains éléments ayant des comportements identiques vis à vis du fractionnement. Sinon, plusieurs stratégies sont adoptées afin de produire ces propres matériaux de référence. Pour les matériaux à base de poudres, les méthodes d'ajouts dosés ou de dilution isotopique sont employées: les poudres sont

dopées par des solutions, séchées et pastillées (Boulyga et al. 2004; Leach et al. 1999). Pour les matériaux massifs, d'autres approches ont été menées: l'étalonnage externe par des solutions, l'emploi de poudres, de composition proche ou obtenues après broyage d'un matériau massif similaire, dopées, séchées et pastillées (Russo et al. 2002; Watmough et al. 1997).

I.4.1.2. Domaines d'applications

Géologie: Le plus grand des succès du couplage LA-ICP-MS fût dans les sciences géologiques grâce aux performances de la méthode: la très bonne résolution spatiale de son échantillonnage et la haute sensibilité permettant la détermination des éléments traces et des rapports isotopiques à l'échelle du μm (Nesbitt et al. 1997). Ces empreintes chimiques sont d'un grand intérêt pour la datation des minéraux et l'étude de leur formation. De nombreuses recherches se sont focalisées sur la composition élémentaire des roches ou des minéraux pour étudier leur formation (Heinrich et al. 2003; Kurosawa et al. 2006; Pearce et al. 1999; Pereira et al. 2001; Watling et al. 1995a). De la même façon, les études en spéléologie se sont intéressées à la composition chimique des stalagmites ou stalactites (Desmarchelier et al. 2006; Roberts et al. 1999; Vadillo et al. 1998). La composition élémentaire des sédiments a aussi été étudiée afin de déterminer leur provenance (Copjakova et al. 2005).

La quantification par dilution isotopique et couplage LA-ICP-MS a été développée pour la détermination des concentrations en plutonium contenues dans des sols (Boulyga et al. 2004). La possibilité de déterminer la composition isotopique d'un matériau solide par LA-ICP-MS a conduit à une utilisation croissante de cette méthode pour les études de géochronologie (Chang et al. 2006; Horn et al. 2000; Jackson et al. 2004; Prince et al. 2000; Wang et al. 2006). L'ablation laser permet, par exemple, la datation de matériaux tels que les zircons avec les rapports isotopiques Pb/U (Figure I.4-2) (Jackson et al. 2004). La composition isotopique des solides permet une datation précise de sols, de roches, de sédiments, ou de céramiques archéologiques.

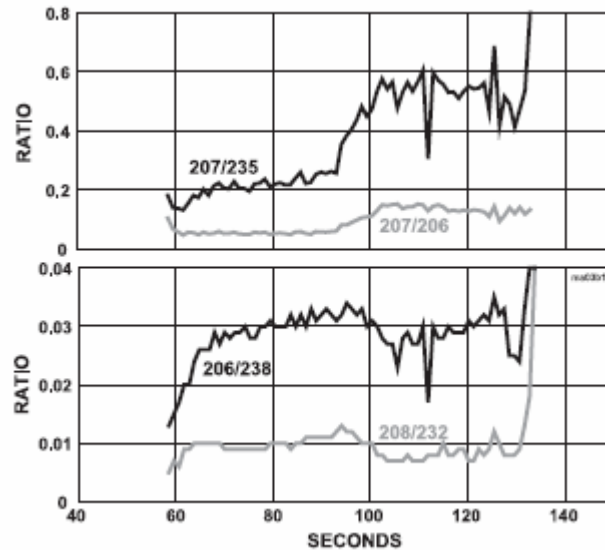


Figure I.4-2 Détermination par LA-ICP-MS de rapports isotopiques Pb/U dans des zircons. La zone d'intérêt est situé entre 65 et 95 s et permet une datation précise du matériau géologique (Jackson et al. 2004).

Archéologie: L'ablation laser couplé à un détecteur ICP-MS a aussi été développée pour l'analyse d'objets archéologiques. L'empreinte chimique reflétée par ces analyses permet de mieux comprendre l'évolution et la provenance des objets tels que les pièces de monnaie, les couverts en argent, les armes, des céramiques (Cochrane and Neff 2006; Guerra et al. 1999; Junk 2001; Ponting et al. 2003). Elle permet l'authentification d'objets antiques (Devos et al. 1999).

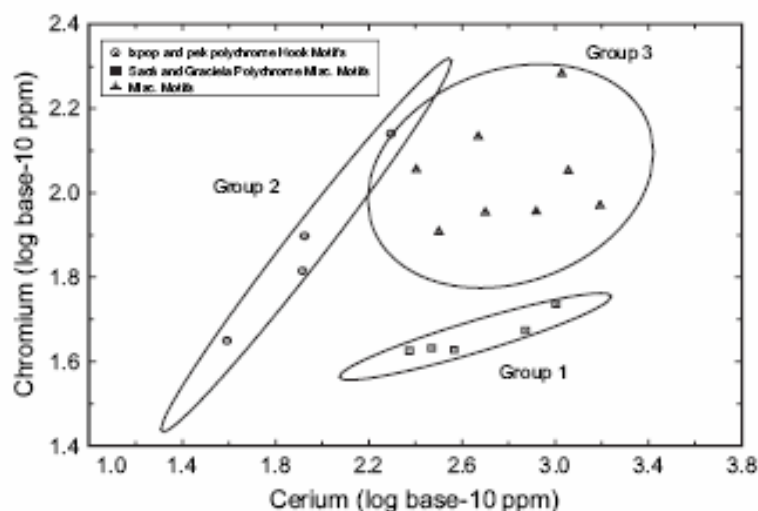


Figure I.4-3 Représentation des concentrations en Cr et en Ce dans les peintures noires utilisées pour la décoration des poteries : mise en évidence de plusieurs groupes sociaux Les ellipses représentent une probabilité de 90% d'appartenir au groupe (Cecil and Neff 2006).

Les échanges socio politiques, les alliances et les relations dominantes ont pu être mieux compris grâce aux empreintes chimiques de poterie (Cecil and Neff 2006). Une illustration de cette étude est présentée dans la Figure I.4-3.

Science des matériaux: La technique LA-ICP-MS est très utilisée pour l'étude de la caractérisation (chimique) des matériaux de haute pureté tels que les métaux, les alliages, les semi conducteurs, ou les isolants (Becker 2002a; Gruhl et al. 2005). Cette méthode permet aussi l'identification, le contrôle de la qualité, ou la cartographie de matériaux: ce qui est d'un grand intérêt pour les industries (Kogan et al. 1994; Latkoczy et al. 2005; Leach and Hieftje 2002). De la même façon, cette technique est employée pour la gemmologie afin de caractériser, authentifier et déterminer la pureté des pierres précieuses (Abduriyim and Kitawaki 2006; Watling et al. 1995b). La détermination des différentes couches d'un matériau est aussi rendue possible grâce à l'utilisation du couplage LA-ICP-MS (Figure I.4-4) (Balcaen et al. 2005; Morishita et al. 2005; Pécheyran et al. in press; Pécheyran et al. 2005; Plotnikov et al. 2001).

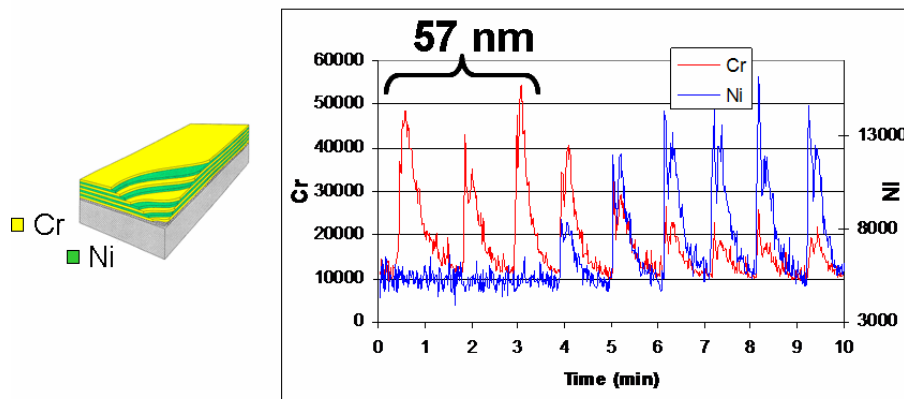


Figure I.4-4 Analyse élémentaire en profondeur par ablation laser femtoseconde et ICP-MS d'un matériau multicouches certifié Cr/Ni (NIST 2135c). L'épaisseur des couches est de 57 nm et 56 nm respectivement pour le chrome et le nickel (Pécheyran et al. 2005).

Les analyses par LA-ICP-MS de matériaux tels que, par exemple, les peintures de voitures, des morceaux de verres, sont même considérées, comme des preuves légales indispensables lors de crimes, vols ou accidents (Bajic et al. 2005; Deconinck et al. 2006; Trejos and Almirall 2005; Watling 1999; Watling et al. 1997). L'authenticité des tableaux d'artiste peut aussi être reconnue grâce à l'analyse des

peintures (Smith et al. 2005). Le développement récent du couplage de l'ablation laser du multi collecteur et de l'ICP-MS permet des mesures très précises des rapports isotopiques des éléments traces ou ultra traces pour diverses applications: que ce soit pour les sciences des matériaux, la recherche environnementale, la biologie, la géochimie ou la géochronologie (Becker 2002b; Mason et al. 2006; Pickhardt et al. 2005).

Biologie et médecine: Les performances du couplage LA-ICP-MS ont contribué à son grand essor en biologie et dans les sciences médicales. Les empreintes chimiques ont pu, par exemple, être déterminée le long de cheveux afin de montrer l'intoxication aux métaux lourds (Pt, Hg) le long de la vie humaine (Stadlbauer et al. 2005). De la même façon, des tissus de serpents ont pu être analysés pour définir son exposition vis-à-vis de contaminants (Jackson et al. 2003). La composition des dents peut être révélées tout au long de la vie par des analyses en LA-ICP-MS et reflèterait les conditions environnementales rencontrées (Eggins et al. 2003b; Ghazi et al. 2000 ; Kang et al. 2004; Lee et al. 1999; Lochner et al. 1999). Des parties infimes du cerveau peuvent aussi être examinées avec cette méthode pour leur composition chimique (Becker et al. 2005a; Becker et al. 2005b; Hutchinson et al. 2005).

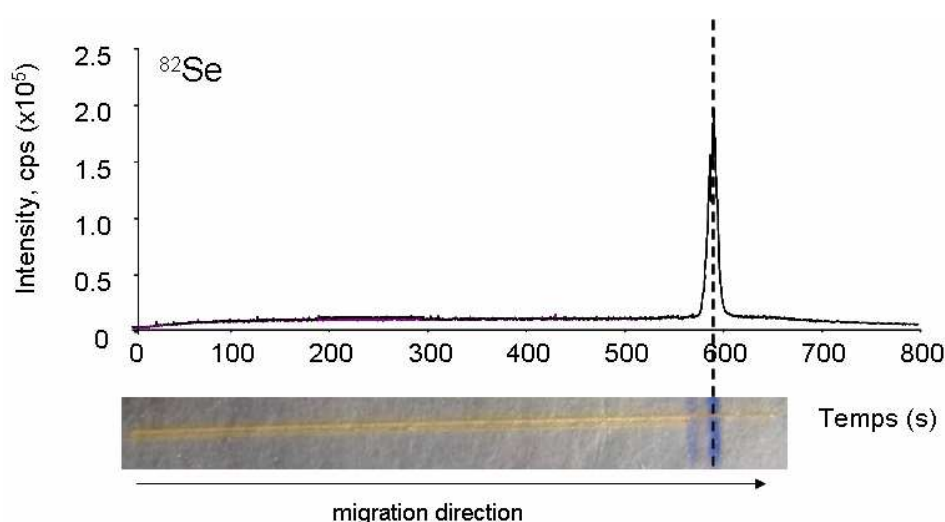


Figure I.4-5 Identification de protéines sélénées séparées sur gel 1-D SDS-PAGE par LA-ICP-MS (Ballihaut et al. 2005).

Avec cette technique, des protéines d'intérêt, ayant été préalablement séparées sur des gels 1D ou 2D (séparation par rapport à la charge et la taille), peuvent être identifiées et leur composition élémentaire peut être ainsi déterminée (Ballihaut et al. 2005 ; Becker et al. 2003; Muller et al. 2005). Cette étude est illustrée dans la Figure I.4-5. Ces analyses sur des échantillons biologiques spécifiques conduirait à terme à de nouvelles avancées et découvertes sur des maladies telles qu'Alzheimer et permettrait de nouveau diagnostic moins destructif (pour les tumeurs, par exemple). Les analyses par LA-ICP-MS ont aussi montré un grand intérêt pour l'analyse de comprimés pharmaceutiques (Lam and Salin 2004).

Sciences environnementales: Le suivi des pollutions (métaux lourds, arsenic...) est d'une grande importance. Dans cet objectif, le contrôle des radio nucléides par LA-ICP-MS a fait l'objet d'une revue très complète (Becker 2005b). La pollution actuelle par le mercure dans les sédiments de la baie de Minamata (Japon) a aussi été évaluée par le couplage LA-ICP-MS (Tao et al. 2002). La concentration des contaminants dans les sédiments ou sols ne constitue pas l'unique indicateur de pollution d'un milieu. De nombreux autres supports sont utilisés afin de suivre les variations de contamination en métaux (Pb, Hg...) et métalloïdes (As, Se...) dans l'environnement. L'analyse de l'écorce ou des anneaux de croissance (cernes) des arbres par LA-ICP-MS révèle de bons indicateurs de la contamination (Narewski et al. 2000; Pearson et al. 2005; Suzuki 2006). De même, les feuilles, les mousses et les lichens peuvent aussi être des traceurs de polluants déposés par des particules atmosphériques (Boulyga et al. 2003; Punshon et al. 2004). L'utilisation de cette technique analytique dans des aérosols est également particulièrement adaptée pour évaluer l'état de contamination de l'environnement (Okuda et al. 2006). La contamination de l'atmosphère peut aussi être évaluée à travers des époques géologiques en analysant les carottes de glace issus de régions polaires (Reinhardt et al. 2003). De la même façon, les carottes de sédiments ont été examinées pour déterminer les couches les plus contaminées (Rauch et al. 2006). Une représentation des résultats de cette étude est montrée dans la Figure I.4-6. Dans des environnements aquatiques, la technique LA-ICP-MS est très employée pour l'analyse des biominéraux tels que les coraux ou les coquilles de mollusques (Belloto and Mikeley 2000; Raith et al. 1996; Sinclair et al. 1998; Sinclair and Mc Culloch

2004; Vander Putten et al. 2000; Wyndham et al. 2004). Elle a permis de souligner non seulement des indicateurs de pollution (Pb, Ni...) (Pearce and Mann 2006; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001), mais aussi des indicateurs climatiques (Mg, Sr pour la température) (Lazareth et al. 2003; Pearce and Mann 2006; Rosenheim et al. 2005; Schrag 1999; Sinclair et al. 1998; Takesue and Van Geen 2004; Vander Putten et al. 2000) et des indicateurs biologiques (Ba pour la productivité primaire) (Lazareth et al. 2003 ; Pearce and Mann 2006; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000).

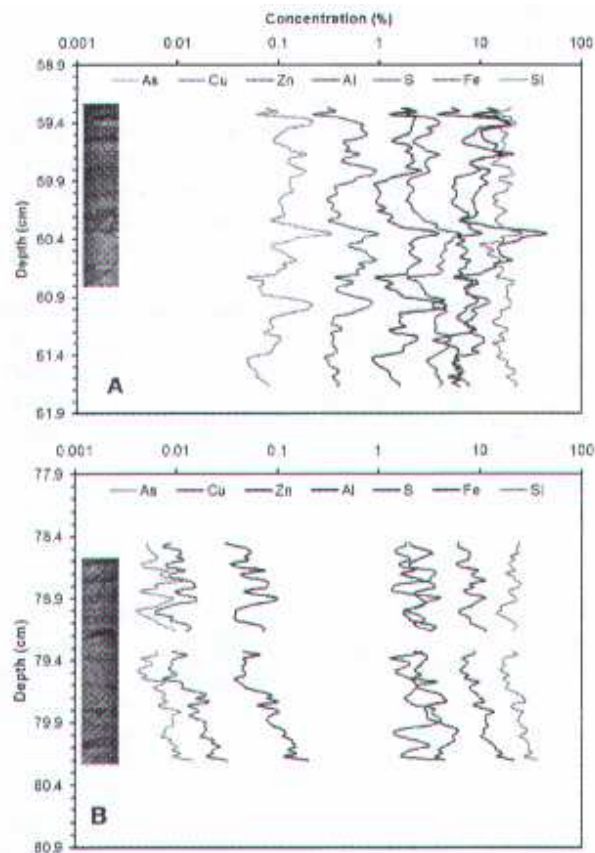


Figure I.4-6 Analyse élémentaire quantitative (As, Cu, Zn, Al, S, Fe, Si) par LA-ICP-MS de deux carottes de sédiment : A (années 1900) et B (années 1850): mise en évidence de la contamination métallique (Rauch et al. 2006).

I.4.2. Détermination des éléments traces dans des coquilles de bivalves

Plusieurs méthodes ont été développées pour déterminer les concentrations en éléments traces dans des coquilles de carbonate de calcium : une méthode indirecte et une méthode directe. La première consiste à prélever une partie de la coquille ou sa totalité, la mise en solution (dissolution) et l'analyser. La seconde

consiste à analyser directement le solide par des techniques d'analyse du solide telles que l'ablation laser décrit auparavant. Ces deux modes d'analyse ainsi que leurs avantages et leurs inconvénients sont présentés ci-dessous. Les deux méthodes seront ensuite comparées.

I.4.2.1. Analyse indirecte

Pour la méthode indirecte, les études se sont focalisées soit sur la totalité de la coquille, soit sur des fragments de coquilles découpés grossièrement (Puente et al. 1996; Richardson et al. 2004; Szefer et al. 2002) ou prélevés par des méthodes plus précises. Des prélèvements précis ont pu être effectués grâce à une micro perceuse (Merchantek Micromill) de foret 300 μm (Figure I.4-7) (Gillikin et al. 2005b; Gillikin et al. 2006; Lorrain et al. 2005). Les coquilles sont préalablement nettoyées des débris organiques ou algues fixés à leur surface (Gillikin et al. 2005b; Puente et al. 1996; Richardson et al. 2004; Szefer et al. 2002). Quelque soit la méthode de prélèvement, la poudre ou le fragment de carbonate de calcium est ensuite dissous avec de l'acide nitrique et la solution obtenue peut être analysée.

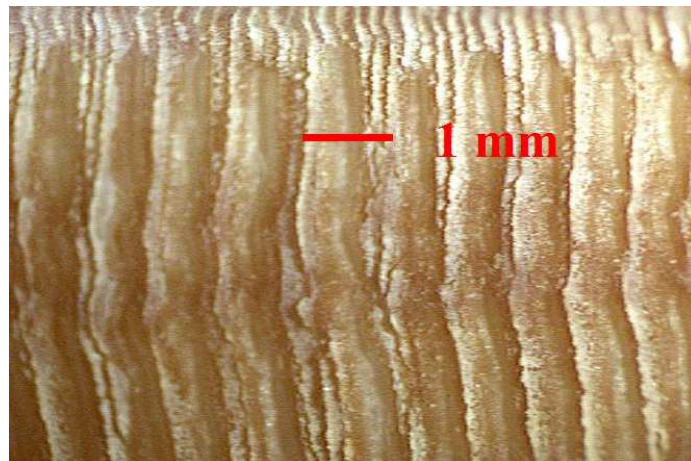


Figure I.4-7 Photographie des stries journalières des coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* et des prélèvements effectuées avec une micro perceuse (Lorrain 2002).

Plusieurs détecteurs sont utilisés pour les analyses multi élémentaires des éléments majeurs ($> 100 \text{ mg.l}^{-1}$), mineurs ($< 100 \text{ mg.l}^{-1}$) et traces ($< 10 \text{ }\mu\text{g.l}^{-1}$). Szefer et al. (2002) ont déterminé les concentrations de plusieurs métaux traces dans des

coquilles de moules *Mytilus edulis trossulus* par spectrométrie d'absorption atomique. La spectrométrie d'absorption atomique flamme (F-AAS pour Flame Atomic Absorption Spectrometry) peut être utilisée pour le dosage de la majorité des métaux et métalloïdes en solution. Cette technique est peu onéreuse, robuste, facile à mettre en œuvre. Cependant, son usage est limité par ses performances en terme de sensibilité, sélectivité et cadence d'analyse. Les concentrations de seulement 1 à 10 éléments peuvent être déterminées simultanément. Puente et al. (1996) ont déterminé la concentration en zinc et en plomb dans des coquilles de moules *Mytilus galloprovincialis* par spectrométrie d'absorption atomique four graphite (GF-AAS pour Graphite Furnace - Atomic Adsorption Spectrometry). Cette technique permet des analyses multi élémentaire avec d'excellentes limites de détection, proches de celle obtenue en ICP-MS. En revanche, cette technique est complexe à mettre en œuvre, son temps d'analyse long, sa gamme dynamique restreinte et les effets mémoire importants.

Deux types de détecteurs sont généralement utilisés pour ces analyses multi élémentaires: la spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES pour Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry) et la spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS pour Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry).

L'ICP-AES est une technique relativement simple d'utilisation, robuste et qui permet l'analyse de solutions chargées. Cette technique a, par exemple, été utilisée par Richardson et al. (2004) pour la détermination des rapports Mg/Ca et Sr/Ca dans des coquilles de l'espèce *Pinna Nobilis*. Cependant, les limites de détection de l'ICP-AES sont généralement insuffisantes pour l'analyse des éléments traces.

La technique la plus performante et plus récemment employée pour la détermination des éléments traces dans les coquille est l'ICP-MS (Gillikin et al. 2005b; Gillikin et al. 2006; Lorrain et al. 2005). Cette analyse indirecte permet différents types de détermination des concentrations: étalonnage externe, interne, ajouts dosés, dilution isotopique. De plus, elle conduit à de très bonne précision des mesures: l'écart type relatif est généralement inférieur à 5 %. Cependant, cette méthode conduit à une perte d'information lors du prélèvement, i. e. une perte de précision temporelle. Elle peut aussi induire des contaminations lors de la mise en solution du carbonate de calcium. Cette étape de dissolution peut aussi paraître un peu longue.

I.4.2.2. Analyse directe

Plusieurs techniques d'analyses du solide ont permis l'extraction d'information chimique à haute résolution spatiale. Le développement de ces techniques, de plus en plus performantes, a permis de passer d'une analyse des éléments traces de l'ensemble de la coquille, à des analyses discrètes plus ou moins espacées le long de la coquille (Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999). Les techniques utilisées incluent la photométrie de flamme (Dodd 1965), la spectrométrie de fluorescence de rayons X (Hallam and Price 1968), la spectrométrie d'absorption (Carriker et al. 1980), la cathodoluminescence (Barbin et al. 1991), la micro sonde protonique (Carriker et al. 1991), la spectrométrie d'émission atomique (Klein et al. 1996a), la micro sonde électronique (Vander Putten et al. 1999). Ces techniques analytiques se sont principalement concentrées sur l'analyse d'éléments majeurs tels que le calcium, ou mineurs tels que le magnésium et le strontium, (Dodd 1965 ; Hallam and Price 1968 ; Klein et al. 1996a ; Vander Putten et al. 1999). Cependant, elles ne semblent pas vraiment appropriées pour l'analyse d'éléments traces dans une telle matrice de carbonate de calcium.

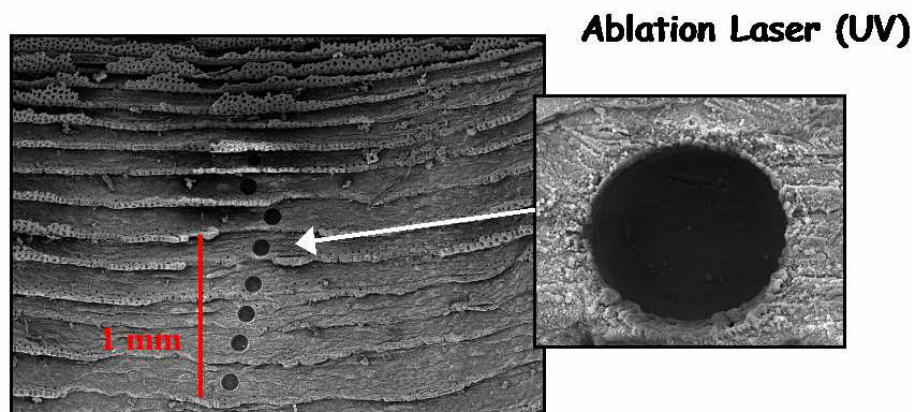


Figure I.4-8 Photographie (MEB) des stries journalières des coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* et des cratères d'ablations obtenues par LA-ICP-MS (Péchevran, comm. perso. ; (Lorrain 2002)).

Le développement de techniques de micro analyses de plus en plus sensibles telles que l'ablation laser permet un échantillonnage de l'échantillon rapide, précis (haute résolution spatiale, donc temporelle) et de faibles quantités. Couplée à un ICP-MS, l'ablation laser permet une détermination quantitative des éléments traces

piégés dans la coquille (Pearce and Mann 2006) (Figure I.4-8). Ce couplage a été largement utilisé pour l'analyse de biominéraux tels que les coquilles (Becker 2005a; Lazareth et al. 2003; Pearce and Mann 2006; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Rosenheim et al. 2005; Stecher et al. 1996 ; Takesue and Van Geen 2004; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000).

Aucun matériau certifié de carbonate de calcium n'est disponible pour l'analyse quantitative des éléments traces. Jusqu'à présent, une série de verres certifiés (NIST 610, NIST 612, NIST 614) est utilisée pour la quantification des éléments traces (Becker 2005a; Belloto and Mikeley 2000; Lazareth et al. 2003; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Seltzer and Berry 2005; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004; Thébault et al. submitted; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000). Cependant, l'usage de ces étalons est reconnu comme conduisant à une mauvaise estimation des concentrations pour des lasers à 266 nm (Belloto and Mikeley 2000). Dans ces conditions, il apparaît indispensable de produire des étalons de compositions similaires (même propriété physicochimique) pour une quantification précise (Günther and Hattendorf 2005). L'étalonnage avec ces verres certifiés pour un laser à 193 nm, a cependant été démontré pertinent pour l'analyse d'éléments traces et de terres rares dans les coraux (Fallon et al. 1999; Fallon et al. 2002; Sinclair et al. 1998).

Plusieurs méthodes sont possibles pour réaliser des étalons de composition similaire au matériau à analyser: (1) broyage d'une partie de coquille, dopage à différentes concentrations d'une partie de la poudre avec une solution multi élémentaire (ajout dosé), séchage de la poudre, une partie de la poudre est pastillée, l'autre partie étant dosé en retour par ICP-MS après mise en solution; (2) dopage d'une poudre pure de carbonate de calcium avec une solution multi élémentaire (étalonnage externe), pastillage des différentes poudres, les différentes poudres ayant aussi été dosées en retour par ICP-MS. Une méthode de préparation de matériau de référence a déjà été mise au point (Belloto and Mikeley 2000). Cependant, cette méthode conduit à des limites de détection de l'ordre de la cinquantaine de ng.g^{-1} et aussi à des interférences spectrales sur les analytes lors de la détection liées à la présence de sodium (utilisé sous forme de Na_2CO_3 pour la précipitation). Quelque soit la méthode de quantification, le calcium, constituant majeur de la coquille (40%), peut être choisi comme étalon interne afin de

s'affranchir de dérives analytiques potentielles. Ces dérives peuvent, par exemple, être liées à des changements de l'énergie du faisceau laser, des variations de condition du plasma de l'ICP-MS, de l'état des cônes, à des instabilités soudaines du détecteur pendant l'analyse.

I.4.2.3. Comparaison des deux méthodes

Ces méthodes, directes ou indirectes, présentent chacune leurs avantages et leurs inconvénients (Table I.4-1). Le choix entre ces deux méthodes dépend du type et du niveau d'informations que l'on veut obtenir.

Table I.4-1 Avantages et inconvénients des deux méthodes de détermination des concentrations des éléments traces dans des coquilles de carbonate de calcium. Généralement, la méthode directe utilise le couplage LA-ICP-MS, tandis qu'une analyse conventionnelle par ICP-MS est choisie pour la méthode indirecte.

	<u>Analyse directe (LA-ICP-MS)</u>		<u>Analyse indirecte (ICP-MS)</u>	
<u>Avantages</u>	Rapidité, pas de préparation d'échantillons Très bonne résolution spatiale (de l'ordre de quelques dizaines de μm) Techniques non destructives	$\neq$ $\neq$ $\neq$	Préparation d'échantillons: coûteuse en temps et risque de contaminations Mauvaise résolution spatiale (au mieux 300 μm) Techniques invasives (destructives) Interférences liées aux solvants et acides utilisés pour la remise en solution du carbonate de calcium Effets mémoire lors d'échantillons trop concentrés	<u>Inconvénients</u>
<u>Inconvénients</u>	Pas de matériaux de référence certifiés pour la quantification des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium Limites de détection (LD) de l'ordre de la dizaine de ng/g Précision des mesures moins bonne Fractionnement, donc préparation d'étalons de même matrice pour la quantification (coûteuse en temps)	$\neq$ $=$ $\neq$	Choix importants de méthodes de quantification: étalonnage externe, interne, ajouts dosés, dilution isotopique $1 < \text{LD} < 10 \text{ ng/l}$ voire plus bas, soit 5-50 ng/g si on prend 150-200 μg dans 1ml Grande précision des mesures (ecartype relatif de seulement quelques %)	<u>Avantages</u>

Aucune préparation d'échantillons étant nécessaire, l'analyse directe, par LA-ICP-MS, sera plutôt privilégiée pour des analyses rapides et non destructives. Même, si l'analyse est semi quantitative, elle permettra de souligner dans un premier les

variations élémentaires le long de la coquille. Elle sera aussi choisie pour sa très bonne résolution spatiale (5-200 μm). Elle est considérée comme une technique non destructive. La précision de ces prélèvements permet des analyses successives des accrétions de carbonate de calcium le long de la coquille. Si la coquille a un rythme de croissance bien spécifique, comme celle de la coquille Saint Jacques, ces analyses conduisent à la détermination de profils élémentaires à haute résolution temporelle tout au long de la coquille ou de la période étudiée. Son principal inconvénient, la quantification, peut être comblé soit en produisant des étalons, soit en menant en parallèle des analyses indirectes.

Les limites de détection obtenue par ICP-MS sont généralement inférieures à 10 ng.l^{-1} . Pour les analyses des coquilles, 150 à 200 μg de poudres sont dissoutes dans 1 ml (Gillikin et al. 2006; Lorrain et al. 2005). Ceci correspond donc à des limites de détections de l'ordre de 5 à 67 ng.g^{-1} . L'analyse indirecte par ICP-MS conduit ainsi à des limites de détections semblables à celles obtenus par couplage LA-ICP-MS (dizaine de ng.g^{-1}) (voir chapitre II, partie II.1.).

La méthode indirecte sera aussi privilégiée si aucun étalon de carbonate de calcium n'est disponible pour la quantification. La force de cette technique est sans doute le large choix de méthodes pour la quantification : étalonnage externe, interne, ajouts dosés, dilution isotopique. De plus, cette étape de quantification conduit à une meilleure précision sur les mesures que celle utilisée avec le couplage LA-ICP-MS.

Le principal inconvénient de cette méthode reste l'une des premières étapes de la chaîne analytique, i. e. la mise en solution de l'échantillon solide qui conduit à d'éventuelles contaminations et interférences dues aux réactifs et aux flacons, le long temps de préparation des échantillons (pouvant dépasser la demi journée), et surtout la perte d'information sur la distribution spatiale de l'élément dans l'échantillon. De plus, la quantité de matériau nécessaire pour effectuer une analyse après remise en solution, classiquement de quelques centaines de milligrammes, est très importante comparée à celle utilisée en ablation laser (moins d'un milligramme). Dans le cas d'échantillons trop concentrés, certains effets mémoire peuvent aussi avoir lieu lors d'analyses en ICP-MS.

I.5. Présentation du travail

Comme nous l'avons vu précédemment, les coquilles des bivalves croissent régulièrement en déposant successivement des couches de carbonate de calcium capable de préserver un enregistrement temporel de l'environnement chimique et de l'état physiologique que le bivalve a connu le long de sa vie. Les coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* (L.) ont la particularité de présenter sur leurs coquilles des marques temporelles, i. e. des stries journalières qui permettent un enregistrement chronologique précis dans la coquille. Les coquilles Saint Jacques, formées de calcite, piègent lors du processus de la calcification des éléments traces qui reflètent le milieu environnant du bivalve.

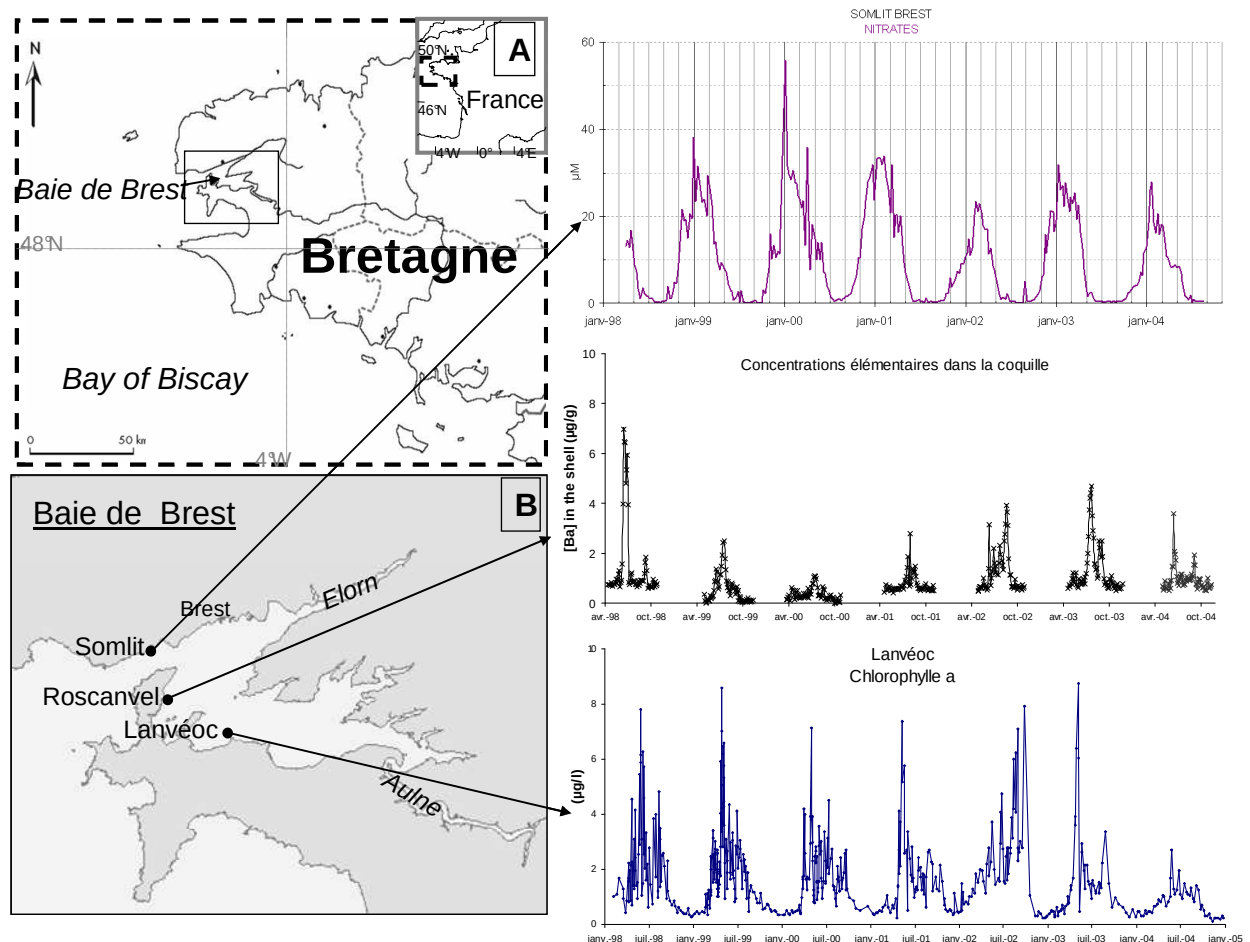


Figure I.5-1 Situation de la baie de Brest, de la zone d'échantillonnage, et des stations de suivi hydrologiques, biologiques et chimiques.

Nos études se sont principalement intéressées à la baie de Brest (Figure I.5-1) car cette baie est soumise à un suivi régulier par l'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer) et l'IUEM (Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale UBO - Centre National de la Recherche Scientifique CNRS) de nombreux paramètres: hydrologiques (température, salinité), biologiques (chlorophylle a, spéciation du phytoplancton), et chimiques (oxygène dissous, nitrates,...). De plus, des archives et des collections régulières depuis 1980 sont disponibles. Le gisement de coquilles St Jacques étudié (Roscanvel) est situé entre 20 et 30 m de profondeur. Il a été sélectionné pour sa forte densité en coquilles St Jacques.

La rade de Brest est un bassin semi fermé de 180 km² situé à l'extrême pointe de la Bretagne. Elle communique avec la mer d'Iroise par un étroit goulet long de 1,2 km et profond de 40 m. Le bassin est de faible profondeur (profondeur moyenne de 8 m). 80% des apports d'eau douce proviennent de 2 rivières, l'Aulne (surface du bassin versant : 1792 km², débit: 28 m³.s⁻¹) et l'Elorn (surface: 402 km², débit 7m³.s⁻¹). Les eaux de la baie sont bien homogénéisées par de forts courants de marée. Les marées suivent un cycle de renouvellement semi-diurne et un cycle de vives eaux-mortes eaux de 14 jours. Le marnage important (8 m) permet le renouvellement de 40% du volume d'eau de la rade à chaque marée.

Les spécificités de ce bivalve et du site étudié ont donc initié nos recherches. Notre étude s'est focalisée sur la détermination des concentrations des éléments traces dans la coquille de ce bivalve, puis sur la signification de ces concentrations et de leurs variations en fonction des changements environnementaux à l'interface eau/sédiment (habitat du bivalve). La thèse s'articule donc autour de deux grands axes: une première partie méthodologique et une seconde environnementale. Les sujets abordés sont présentés sous forme de différents articles.

➤ **Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite des coquilles Saint Jacques et implication pour leur partition et archivage**

Dans un premier temps, la méthode analytique utilisée a été mise au point (Figure I.5-2). Le couplage de l'ablation laser – spectrométrie de masse à plasma inductif couplé a donc été développé pour l'analyse quantitative des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium. La littérature ayant reporté un manque de matériaux de référence pour l'analyse de matrices telle que les carbonates de

calcium et le besoin d'étalon de même composition chimique que l'échantillon pour la quantification, des pastilles étalons de CaCO_3 ont été produites à différentes concentrations. La préparation des étalons sera décrite. Les performances et la validité de cet étalonnage seront discutées. Ce couplage et cet étalonnage seront ensuite utilisés pour l'analyse des éléments traces contenus dans la coquille du bivalve *Pecten maximus*. Des profils annuels de concentrations élémentaires seront ensuite définis avec une résolution temporelle de trois jours.

Dans un second temps, la signification de ces concentrations élémentaires par rapport aux conditions environnementales rencontrées par le bivalve sera étudiée. Les profils chronologiques et à haute résolution des éléments traces dans la coquille seront d'abord classés selon les différentes typologies observées. Les implications des constantes de partition et de l'archivage chronique des conditions environnementales seront ensuite examinées pour comprendre le bruit de fond des éléments traces piégés dans la coquille. La variabilité du bruit de fond des concentrations élémentaires dans les coquilles sera étudié sur une période de 7 ans, dans la baie de Brest, afin d'étudier et de souligner d'éventuelles évolutions chroniques dans les environnements côtiers.

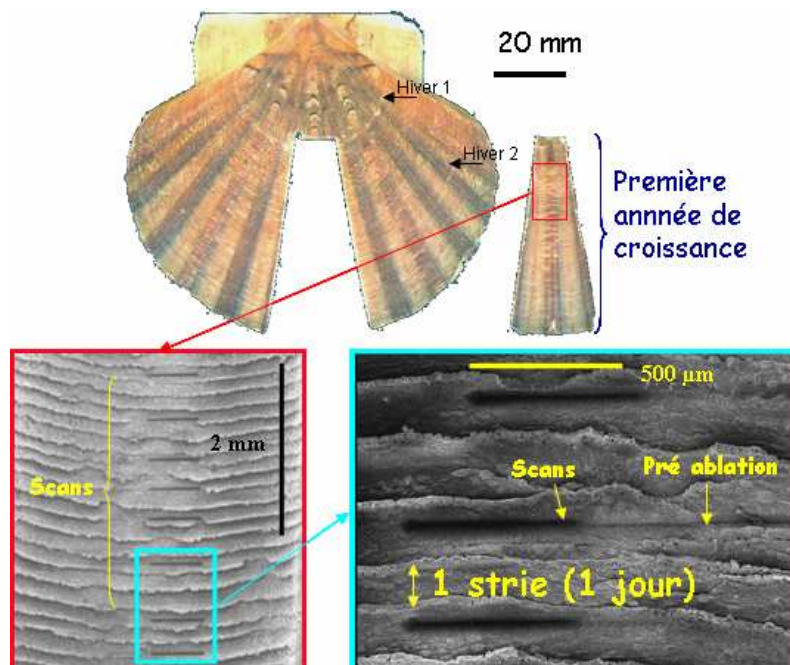


Figure I.5-2 Photographie d'une coquille et du fragment analysé. Zooms (Photographie MEB) sur les stries journalières de la coquille Saint Jacques et les traits d'ablation (pré ablation et analyse).

➤ **Enrichissements épisodiques des concentrations coquillières en éléments traces comme témoin de processus biogéochimiques des environnements côtiers**

L'objectif de ce second volet de la thèse sera de comprendre les enrichissements épisodiques des concentrations mesurées en éléments traces dans les coquilles en fonction des conditions environnementales à l'interface eau/sédiment (habitat du bivalve). Cette partie s'articule autour de trois études concernant le molybdène, le baryum et le manganèse.

- Les enrichissements printaniers des concentrations du molybdène dans la coquille du bivalve *Pecten maximus* seront d'abord examinés comme proxy potentiel des efflorescences printanières des diatomées dans des environnements côtiers tempérés.

- Les enrichissements spécifiques des concentrations du baryum dans les coquilles Saint Jacques seront ensuite suggérés être des proxis potentiels haute résolution des efflorescences phytoplanctoniques estivales (toujours dans le même type d'écosystème).

- Le cycle biogéochimique du manganèse à l'interface eau/sédiment dans la baie de Seine (France) sera finalement examiné à travers la micro chimie des coquilles du bivalve *Pecten maximus*.

**Chapitre II Micro analyse quantitative des éléments traces
dans la calcite des coquilles Saint Jacques et implication pour
leur partition et archivage**

II.1. Analyse quantitative des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium biogène par ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma inductif: application à la détermination de profils d'éléments traces dans les coquilles St Jacques (*Pecten maximus*) à une échelle journalière

Matrix-matched quantitative trace element analysis in biogenic calcium carbonate by Laser Ablation ICP-MS: application to the determination of daily scale profiles in scallop shell (*Pecten maximus*)

A. Barats¹, C. Pécheyran^{1*}, D. Amouroux¹, S. Dubascoux¹, L. Chauvaud², O.F.X. Donard¹

1 Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement, CNRS UMR 5034, Hélioparc Pau-Pyrénées, Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2 avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

2 Laboratoire des sciences et de l'Environnement Marins, CNRS UMR 6539 - Institut Universitaire Européen de la Mer, Technopole Brest-Iroise, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

Le développement, ces 20 dernières années, de l'ablation laser couplé à la spectrométrie de masse à plasma inductif couplé (LA-ICP-MS) a montré que cette technique était d'un grand intérêt pour l'analyse élémentaire et isotopique à une haute résolution spatiale (40-200 μm), et sensible (du ng.g^{-1} au $\mu\text{g.g}^{-1}$). Cette méthode a été récemment utilisée pour des analyses environnementales de biominéraux tels que les coraux (Fallon et al. 1999; Fallon et al. 2002; Sinclair et al. 1998; Wyndham et al. 2004), les otolithes (Gemperline et al. 2002), et les coquilles de bivalves (Belloto and Mikeley 2000; Lazareth et al. 2003; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Seltzer and Berry 2005; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004; Thébault et al. submitted; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000).

Le principal inconvénient de cette méthode repose sur le manque d'échantillons solides certifiés qui permettent l'analyse quantitative des éléments trace dans les solides. La plupart des études utilisent encore une série de verres certifiés (NIST 610, NIST 612, NIST 614) pour la quantification des éléments traces (Becker 2005a; Belloto and Mikeley 2000; Lazareth et al. 2003; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Seltzer and Berry 2005; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004; Thébault et al. submitted; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000). Cependant, l'usage de ces étalons n'est pas recommandé lors de l'utilisation d'un laser nanosecondes UV à 266 nm car il conduit à une mauvaise estimation des concentrations (Belloto and Mikeley 2000). En effet, la quantité de matière ablatée et la taille des particules ablatées sont influencées par la composition de la matrice. Avec ce type de laser, le fractionnement élémentaire est important pour certains éléments (Guillong et al. 2003). Dans ces conditions, il apparaît nécessaire d'utiliser des étalons de compositions similaires pour une quantification précise. Jusqu'à présent, aucun matériau de référence de carbonate de calcium n'a été certifié pour leur composition en éléments traces. Produire des étalons de carbonate de calcium devient donc une nécessité pour analyser, par ablation laser, des matrices carbonatées.

Dans cette étude, le couplage de LA-ICP-MS a donc été développé pour la détermination des concentrations des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium telles que les coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* (L.). Le laser utilisé étant un laser UV à 266 nm, des étalons de carbonate de calcium, treize pastilles étalons de CaCO_3 de concentrations différentes en éléments traces, ont été produites pour permettre un étalonnage externe précis. Ces étalons ont été fabriqués à partir d'une poudre de carbonate de calcium pure dissoute remise en solution avec de l'acide nitrique, dopée par une solution multi élémentaire (plus de 25 éléments) et co précipitée avec ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{HCO}_3$). Une partie des poudres re précipitées ont été pastillées, l'autre partie ayant été analysée en

retour par ICP-MS. Ces différentes pastilles ont été analysées par LA-ICP-MS sous un mode d'ablation « scan » ou ligne, préféré pour sa stabilité, sa meilleure sensibilité et une meilleure représentativité de l'échantillon.

Ces étalons ont été démontrés comme homogènes et permettent des analyses quantitatives sensibles (limites de détection de l'ordre du ng.g^{-1}) et pour une large gamme de concentrations (de 0.1 à 500 $\mu\text{g.g}^{-1}$). De plus, les performances analytiques obtenues avec un étalonnage utilisant ces étalons sont significativement améliorées comparées aux précédents résultats. La validité de cet étalonnage a été évaluée par l'analyse de 3 matériaux de référence certifiés riche en calcium. L'usage de ces pastilles étalons a conduit à des résultats en accord avec les concentrations certifiées. Ayant un potentiel important pour l'analyse de matrice environnementale de carbonate de calcium, cette méthode de quantification a été appliquée pour l'analyse des éléments traces contenus dans les stries journalières des coquilles Saint Jacques. Ces analyses conduisent à la détermination de profils de concentration de plusieurs éléments traces le long de la coquille, c'est-à-dire un profil à haute résolution temporelle (journalière). La qualité, la forme des ablations, la résolution temporelle, la normalisation et l'étalonnage ont été examinés avec soin. Des analyses répétées sur une même strie de coquilles ont suggérées que la distribution des éléments traces est homogène le long d'une strie. Les profils obtenus pour différentes coquilles prélevées simultanément sur le même site ont aussi démontrés une grande reproductibilité pour une même communauté de coquilles. La coquille Saint Jacques peut donc être un bon indicateur de son environnement.

II.1.1. Abstract

A micro-scale method for analysing trace element concentration profiles in the calcium carbonate shell of the Great scallop (*Pecten maximus*) was developed. A 266nm UV Laser Ablation coupled to ICP-MS detection was used to analyse daily calcite striae of shell samples to obtain a high temporal resolution of archived trace elements. Analysis of scallop shells was carefully examined in terms of quality of calcium carbonate ablation and calibration. An accurate external calibration method based on matrix matching was developed. 12 sodium-free enriched calcium carbonate standards containing up to 24 elements were prepared by co-precipitation with (NH₄OH + NH₄HCO₃) and subsequently back calibrated in the laboratory. These CaCO₃ standards were found to be homogenous and their use conducted to sensitive quantitative analyses (detection limits in the range of few ng.g⁻¹) over a wide range of concentrations (0.1 to 500 µg.g⁻¹). The use of these CaCO₃ standards was also evaluated for analyses of 3 Ca-rich certified reference materials. This calibration is consistent with certified results and provides a sensitive tool for analyses of environmental calcium carbonate matrices. Repeated analyses of Scallop shell samples collected simultaneously at the same location showed that the trace elements are homogeneously distributed along a stria. The reliability of such biogenic calcium carbonate in situ archived (scallop shell) is demonstrated by inter-individual and inter-annual reproducibility of the trace element profiles.

Keywords: *laser ablation, ICP-MS, calcium carbonate, calibration, shells, trace elements*

II.1.2. Introduction

In recent years, interest has grown on investigations about historical recorder of trace element in relation to pollution and climatic variations in biogenic marine carbonate (Armynot Du Châtelet et al. 2004; Cardinal et al. 2001; Fallon et al. 2002; Smith et al. 1979). Some organisms with aragonite (corals, fish otoliths) or calcite (mollusc shells) structures contain discernible physical attributes such as growth laminae or concentric growth rings that are deposited with annual, seasonal or more frequent periodicity (Chauvaud et al. 2005; Chauvaud et al. 1998; Hart and Cohen 1996; Watanabe et al. 2001; Xia et al. 1997). Trace elements can be trapped in the biogenic carbonate skeleton during their calcification process (Gillikin et al. 2005b; Lazareth et al. 2000; Lorrain et al. 2005; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Rosenheim et al. 2005; Stecher et al. 1996; Thébault et al. submitted; Vander Putten et al. 2000). To trace major oceanic changes, several trace element proxies were already defined and reviewed by Henderson et al. (Henderson 2002). Generally, the molar ratios between trace elements content and calcium were used.

Most investigations on trace element focussed on ratios of Sr/Ca and Mg/Ca. These ratios were mainly used in aragonite matrix such as a paleothermometer of surface seawater (Henderson 2002; Richardson et al. 2004; Rosenheim et al. ; Schrag 1999; Sinclair et al. 1998; Smith et al. 1979; Vander Putten et al. 2000); and also in calcium carbonate shells (Lazareth et al. 2003; Lorrain 2002; Lorrain et al. 2005; Richardson et al. 2004; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004).

Ba/Ca ratios were demonstrated to be linked to ocean productivity, nutrient dynamics, as well as ocean upwelling (Henderson 2002; Lazareth et al. 2003; Lea et al. 1989; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000). Others proxies of ocean productivity were underlined such as U and Mn (Lazareth et al. 2003; Vander Putten et al. 1999). Cadmium variations were often associated to ocean circulation and upwelling events which would provide nutrient inputs (Reuer et al. 2003). Investigations on anthropogenic inputs or pollution were focussed on the use of Pb/Ca ratio as a tracer (Gillikin et al. ; Lazareth et al. 2000; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Rosenheim et al.).

Marine molluscs were established to concentrate trace elements from seawater. Most efforts were directed to soft tissues of the organisms because generally, they accumulate more efficiently concentrations of metals than in hard part (Becker 2005a). Nevertheless, trace element composition of soft tissues changes all along the life of bivalves which allow describing only a punctual state of the ecosystem. Because shell hard part can also concentrate a wide range of trace elements with varying amounts according to the different

striae, these bivalves can potentially archive some environmental conditions at different periods of its life. The Great Scallop (*Pecten maximus*) lives in coastal environment, spread over a wide range of latitude (Norway to Morocco) (Chauvaud et al. 2005). Minor and trace elements present in surrounding environment can thus precipitate or be incorporated in calcium carbonate matrix during calcification process of the shell (Cravo et al. 2002; Foster and Chacko 1995; Lorrain et al. 2005). During the growing period, the Great Scallop presents a singular growing pattern at a rate one calcite stria per day. Analysis of elemental composition along the shell may then become a source of environmental data on a daily basis. A micro-analysis technique with a high spatial resolution (a stria measures 40-200 μm), and sensitivity (from ng.g^{-1} to $\mu\text{g.g}^{-1}$) is required to analyse such samples. The Laser Ablation (LA) coupled with an Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS) is a widely applied technique to analyse trace elements with such requirements (elemental and isotopic) (Lazareth 2003; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Rosenheim et al. 2005; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999).

LA-ICP-MS method has been recently used for analyses of environmental biominerals such as corals (Fallon et al. 1999; Fallon et al. 2002; Sinclair et al. 1998; Wyndham et al. 2004), tooth (Budd et al. 1998; Ghazi et al. 2000; Kang et al. 2004; Lee et al. 1999; Lochner et al. 1999), otoliths (Gemperline et al. 2002), and shells (Belloto and Mikeley 2000; Lazareth et al. 2003; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Seltzer and Berry 2005; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004; Thébault et al. submitted; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000). Most of these studies used however CRM glass standard series to quantify minor and trace elements in shells (Becker 2005a; Belloto and Mikeley 2000; Lazareth et al. 2003; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Richardson et al. 2001; Seltzer and Berry 2005; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004; Thébault et al. submitted; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000). It is now well established that one of the major limitations of LA-ICP-MS is the quantification of trace elements for a given matrix.

Each commonly employed laser wavelength (1064, 266, 213, 193 nm) leads to some degree of non-stoichiometric detection, which makes quantification using non matrix-matched calibration standards difficult for some elements (Guillong et al. 2003). The so-called elemental fractionation is mainly influenced by particle size distribution, the largest particles being incompletely atomised and subsequently excited into the plasma of the ICP, resulting in measurement bias on some refractory elements. Shorter UV wavelengths (e.g. 193 nm) produce less severe elemental fractionation effects because the laser induced particles size distribution is shifted towards small particles which are more easily atomized and excited into

the plasma of the ICP. Consequently, the requirements for matrix matched-standards are reduced. Fallon et al. (1999) showed that the use of matrix-matched standards was not essential with a 193 nm ArF laser for determining trace elements in calcium carbonate matrix (corals) (Fallon et al. 1999; Fallon et al. 2002). They demonstrated that NIST 600 glass standards series could be used for accurate calibration of trace elements and rare earth elements. However, with more conventional laser systems (e.g Nd-YAG, 266 nm), elemental fractionation is still likely to occur which precludes the use of non matrix-matched standards for accurate calibration (Belloto and Mikeley 2000). Since no reference calcium carbonate material has been certified to date for trace element composition, lab-made standards have to be synthesized. In recent studies, Bellotto et al. prepared calcium carbonate standards enriched with trace elements from pure calcite after co-precipitation with Na_2CO_3 (Bellotto and Mikeley 2000). However, with this method, the precipitate has to be thoroughly rinsed with pure water in order to remove the excessive amount of sodium, likely to induce polyatomic interference during the ICP-MS detection. During this washing step, the most soluble carbonates may be removed from the matrix whereas the sodium is hardly completely eliminated.

In this work, a micro-scale method based on a 266 nm LA-ICP-MS detection is used to analyse trace element concentrations in calcium carbonate shell (*Pecten maximus*). An original protocol for matrix matching standard using co-precipitation of pure calcite with ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{HCO}_3$) has been developed. Homogeneity of these standards and analytical performances obtained with this calibration (sensitivity, detection limits, precision, and accuracy) are examined. The ablation procedure of the scallop shells is also investigated in order to provide the best performance in term of representativeness of the ablated zone, signal sensitivity and stability. This method is then applied to the determination of trace element concentration profiles in the shell at a daily scale, in order to further develop element proxies.

II.1.3. Experimental

II.1.3.1. Scallop shell samples

The Great Scallop shells *Pecten maximus* (L.) examined in this study were collected by an anchor dredge at Belle Ile, France (47°2N, 3° 1W), in 2001. For convenience reasons related to the growing striae visualisation and the flatness of the shell, only the flat valve part was considered for LA-ICP-MS analysis. In order to remove bio-fouling from the shell that could hamper striae identification, the shells were cleaned with glacial acetic acid (Merk,

analysis grade) for 60 seconds, thoroughly rinsed with 18.2 MOhm milli-Q water and dried overnight.

A 45x10 mm² cross section corresponding to the first year of growth was then cut with a diamond saw to fit into the ablation cell of the laser. Finally, prior to analysis, the striae of interest were preablated by the laser in order to remove some potential contaminations (Wyndham et al. 2004). The laser was then operated in a fast scanning mode (see Table II.1.1) in order to remove the thin calcite surface layer (few microns) likely to be contaminated.

II.1.3.2. LA-ICP-MS coupling

The LA-ICP-MS coupling consisted of a 266 nm CETAC LSX 100 laser-ablation system (CETAC Technologies, Omaha, Nebraska, USA) connected to an X7 series CCT ICP-MS fitted with the Dual Mode Sample Introduction kit for laser ablation (Thermo Electron, Windsford, UK). The operating conditions are given in Table II.1-1.

The interface consisted of a two-inlet torch mixing the laser produced aerosol together with a liquid aerosol (nebulized by means of a pneumatic concentric nebulizer) prior to introduction into the plasma (Ballihaut et al. 2005). This dual flow introduction system allowed a complete and easy optimization of the LA-ICP-MS coupling (mass calibration, detector voltage, gas flows, lens voltages, torch position) when nebulizing a 1 ng.g⁻¹ tuning solution. The total argon carrier gas flow was split between the ablation cell and the pneumatic nebulizer. This partition was a key issue since it had to ensure both high efficiency laser induced aerosol transport and stable formation of the nebulized aerosol. These conditions were obtained for an ablation cell flow of 0.4 L/min and a nebulizer flow of 0.6 L/min. During laser ablation analysis, the plasma was kept in wet conditions by nebulizing an acidified blank solution (2% HNO₃, J. T. Baker, ultrex grade) to avoid CaCO₃ deposition along the torch injector. Such CaCO₃ deposits were found to occur after intensive calcite samples ablation when dry plasma conditions were used.

The shell sections were individually placed into the ablation cell in such a way that the growing striae were parallel to the flow direction and that the top of the shell matches with the height of the carrier gas exit. The scallop shell striae widths being within a range of 80 µm to 300 µm during the growth period, the laser parameters (energy and defocuss) were then adjusted in order to obtain a spot size of 80 µm wide. As the growing bands provides linear-like sections (few millimetres) suitable for single line scanning ablation, this mode was chosen to obtain a high signal intensity without loosing the daily scale resolution aimed in our

study (Figure II.1-1). The choice of the ablation mode was also influenced by the structure of the shell. The shell presents a wrinkled structure due to the superposition of the daily precipitated calcite layers forming the growth bands (Thébault et al. submitted). Therefore, when drilling a hole at the surface of the shell, the laser would first ablate the given stria, and then the striae formed the previous days, generating an inextricable overlap in the signal recorded. The single line scanning ablation mode taking place always at the surface layer was found well adapted to ensure the proper ablation of the growth band of interest.

Table II.1-1 LA-ICP-MS operating conditions.

Laser Parameters	
Laser	CETAC LSX 100
Wavelength, pulse width	266 nm, 8 ns
Pulse energy, Repetition rate	1 mJ (fluence 19 J/cm ²), 20 Hz
Defocus	500 µm
Ablation cell	
Ar gas flow	0.4 l.min ⁻¹
Size, Volume	5.3 cm internal diameter, 38 cm ³
Connection to the torch	70 cm Teflon coated tubing (ID=1/8", OD= 1/4")
Ablated zone	80 µm x 550 µm (single line)
Scan speed	50µm/s (pre-ablation) - 5 µm/s (analysis)
ICP-MS parameters	
ICP-MS	X7 Serie CCT (Thermo Electron)
Dual sample introduction system	
Torch	2 inlets - Internal injector diameter 1.5 mm
Nebulizer	Pneumatic concentric nebulizer 1 ml.min ⁻¹
Spray chamber	Cooled Impact bead (2 °C)
Nebulizer gas flow	0.6 l.min ⁻¹
Rf power	1350 W
Cooling, Auxiliary	15 l.min ⁻¹ , 0.8 l.min ⁻¹
Cones	Platinum
[Isotopes] (Dwell time, Resolution)	[⁵¹ V, ^{52,53} Cr, ⁵⁵ Mn, ⁵⁹ Co, ^{63,65} Cu, ⁷⁵ As, ^{77, 82} Se, ^{95,98} Mo, ^{111,114} Cd, ^{118,120} Sn, ^{121,123} Sb, ^{137,138} Ba, ²⁰² Hg, ^{206,207,208} Pb] (25 ms, 0.75 amu) [⁴³ Ca, ^{86,87} Sr] (5 ms, 0.3 amu)
Signal acquisition and processing	TRA profile mode (PlasmaLab)

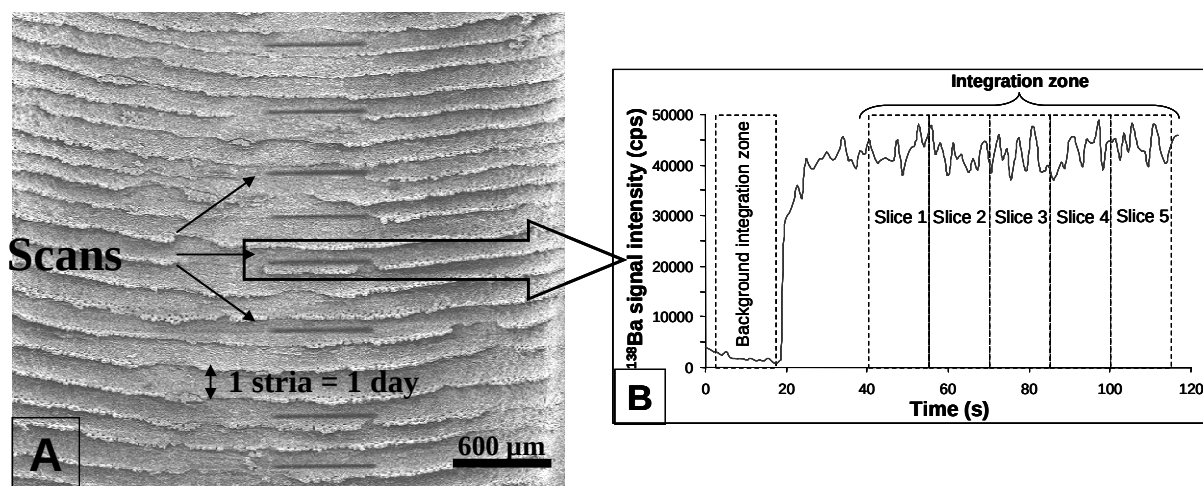


Figure II.1-1 (A) MEB picture of a scallop shell sample highlighting the daily striae and the ablated zones (scans); (B) ^{138}Ba profile obtained for one scan and the signal integration procedure.

The laser was then operated with a continuous sample translation speed of $5 \mu\text{m.s}^{-1}$. The ablation was maintained during 120 s, resulting in a $80 \times 600 \mu\text{m}^2$ scan along the stria of interest (Figure II.1-1). Calcium carbonate standards were analysed according to the same procedure as the scallop shell striae. Ar background measurement was systematically collected before and after the analysis of the stria of interest and CaCO_3 standards in order to correct for potential memory effects.

28 isotopes corresponding to 16 elements were analysed (Table II.1-1). Major element isotopes (^{43}Ca , $^{87,86}\text{Sr}$) were recorded with a small dwell time (5 ms) and the higher mass resolution (0.3 amu) in order to preserve the ICP-MS detector from overloading. The intensity of the isotopes of interest was systematically normalized against the ^{43}Ca signal in order to compensate for variations in ablation yield due to laser energy drift, sample density and surface unevenness.

Signal processing was performed using Plasmalab Software. Five time-slices of 15 seconds were defined after signal stabilization, as shown in Figure II.1-1. The mean signal recorded within each slice was reported and an average inter-slices signal was calculated. This procedure allowed improving the signal standard deviation according to the Poisson statistic law's.

II.1.3.3. Time scale identification

The singular growing pattern of *Pecten maximus* at a rate one stria per day (during the growing period) allows an accurate dating of a given stria. This is particularly easy for juvenile shells (less than one year) collected during the growing period, since the date of formation of

the stria of interest can be assigned by backdating from the last stria (date of collection ± 1 day). However, during winter the shell stops growing in such a way that the striae can hardly be distinguished from each other. Accurate stria dating of the early years of its life becomes then more complex to assess. This is however possible when statistical growing patterns (growth curves showing striae widths as a function of the date) have been established for the year of interest from several scallop shells collected in their first year of growth. In these conditions, the growing pattern of the shell of interest is compared and time calibrated from the model previously established (Chauvaud 1998).

Accurate growing curves were constructed from scanning electron microscopy pictures of the whole shell. A HITACHI S-3200N SEM (Hitachi High Technologies America Inc., Pleasanton, California, US) equipped with a tungsten filament was used in this study. SEM pictures were merged using PanaVue Image Assembler software (PanaVue Company, Quebec, Canada) in order to reconstruct the complete shell section. Striae widths were then measured accurately with Visilog software version 6.11 (NOESIS Company, Courteboeuf, France).

II.1.3.4. Standardisation

In most cases, matrix matching between samples and standards is essential in order to provide accurate and quantitative results by LA-ICP-MS. However, certified reference materials for LA-ICP-MS are very scarce and mostly limited to glasses or metals. In particular, trace element calcium carbonate standards ($\mu\text{g.g}^{-1}$ to sub $\mu\text{g.g}^{-1}$ range) are not readily available and have to be synthesised in the laboratory (Belloto and Mikeley 2000; Perkins et al. 1991).

A series of 12 calcium carbonate standards containing 24 co-precipitated trace elements in expected concentrations ranging from 0.1 to 500 $\mu\text{g.g}^{-1}$ was then prepared (Table II.1.2). These elements (Ba, Sn, Hg, Sb, As, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Mo, Ni, Se, Tl, Ti, V, Zn, Li, Sr) were selected according to their environmental relevance. Pure calcite (Merk, suprapur) was first dissolved in Milli Q water (18.2 MOhms, Millipore) acidified with ultra pure nitric acid (65%, J.T. Baker, Ultrex grade). A multi-elemental stock solution (Spex, Longjumeaux, France) was then spiked in order to achieve the suitable concentration. Subsequent calcium carbonate re-precipitation was performed by addition of NH_4OH (20%, J. T. Baker, Baker analysed). The required amount of NH_4HCO_3 (Fluka, assay >99.5%) was then added in order to compensate for carbonate evasion (CO_2) during calcite dissolution. The precipitate was then filtered on a 0.45 μm PVDF filter (Millipore) and

dried at ambient temperature for one week under a laminar bench hood (class 100). After manual homogenisation, 200 mg of the dried precipitate was finally pressed into 13 mm diameter dies at a pressure of 7 MPa for 2 minutes (Hydraulic press, Eurolabo, France). The mechanical properties of the pellets were found to match with the laser ablation requirements without the use of any binder that could otherwise alter the standard purity. The resulting pellets were then individually stored in small plastic containers under dry atmosphere (silica gel crystals) in order to keep their mechanical properties. A blank sample was also produced following the same dissolution/precipitation/filtration and compaction procedure.

In order to correct for contamination or losses during the calcite standard preparation, the recovery of co-precipitation was assessed for each element of interest. An aliquot of each enriched CaCO_3 powder was then dissolved in nitric acid solution and analysed by ICP-MS fitted in the conventional nebulisation solution mode. Reliable quantification was obtained due to an external calibration using matrix matched solutions and an internal standardisation (^{89}Y).

An argillaceous limestone (SRM 1c, NIST, USA) composed by 50,3% of CaO and a calcareous loam soil (CRM 141r, BCR, Belgium) containing 93.2 g.kg^{-1} of calcium (indicative value), were pressed in 13 mm dye and used as certified reference materials in order to assess the reliability of our enriched calcium carbonate pellets.

A CaCO_3 material in final stage of certification MACS-1 was also analysed.

Trace elements quantification in scallop shells was obtained via an external calibration using the enriched CaCO_3 pellets. For each sample, the calibration was systematically made twice, respectively at the beginning and at the end of the analytical sequence.

II.1.4. Results and discussion

II.1.4.1. Validation of the enriched calcium carbonate standards

II.1.4.1.1. Element recovery

Some representative results on the recovery of the co-precipitation are presented in Table II.1-2. The concentrations are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ and are given with a 2-SD interval on three replicates.

Table II.1-2 Recovery on enriched calcium carbonate standards. Nominal and measured concentrations are expressed in $\mu\text{g.g}^{-1}$ for each element. Uncertainty is expressed as 2 times the standard deviation on 3 replicates.

Nominal concentrations $\mu\text{g/g}$	Measured concentrations ($\mu\text{g/g}$)					
	Ti	Cr	Mn	As	Se	Sr
0	0,428 $\pm$ 0,100	1,02 $\pm$ 0,04	0,171 $\pm$ 0,012	0,251 $\pm$ 0,016	0,650 $\pm$ 0,048	6,47 $\pm$ 0,31
0,1	0,600 $\pm$ 0,058	1,40 $\pm$ 0,09	0,289 $\pm$ 0,014	0,376 $\pm$ 0,004	0,851 $\pm$ 0,022	7,69 $\pm$ 0,05
0,25	0,756 $\pm$ 0,034	1,49 $\pm$ 0,12	0,445 $\pm$ 0,022	0,554 $\pm$ 0,026	1,07 $\pm$ 0,03	7,72 $\pm$ 0,26
0,5	1,04 $\pm$ 0,09	1,69 $\pm$ 0,04	0,697 $\pm$ 0,006	0,97 $\pm$ 0,058	1,59 $\pm$ 0,14	7,43 $\pm$ 0,31
1	2,12 $\pm$ 0,13	4,31 $\pm$ 0,248	1,46 $\pm$ 0,03	1,26 $\pm$ 0,05	2,47 $\pm$ 0,14	14,5 $\pm$ 0,3
2	3,24 $\pm$ 0,12	6,04 $\pm$ 0,184	2,69 $\pm$ 0,11	2,46 $\pm$ 0,05	4,13 $\pm$ 0,35	17,1 $\pm$ 0,7
5	5,07 $\pm$ 0,10	7,35 $\pm$ 0,242	5,15 $\pm$ 0,53	4,84 $\pm$ 0,32	6,30 $\pm$ 0,23	17,4 $\pm$ 1,2
12,5	11,9 $\pm$ 0,3	14,6 $\pm$ 0,4	12,5 $\pm$ 0,3	12,0 $\pm$ 0,4	14,0 $\pm$ 0,1	21,8 $\pm$ 0,9
25,0	19,0 $\pm$ 0,6	22,7 $\pm$ 0,7	20,8 $\pm$ 0,9	18,5 $\pm$ 0,5	24,5 $\pm$ 0,5	40,6 $\pm$ 0,4
50,0	29,4 $\pm$ 3,3	58,7 $\pm$ 1,0	56,2 $\pm$ 4,6	35,1 $\pm$ 2,4	43,2 $\pm$ 5,2	83,0 $\pm$ 6,1
100	59,0 $\pm$ 6,5	90,5 $\pm$ 5,2	98,2 $\pm$ 4,5	74,7 $\pm$ 2,9	90,6 $\pm$ 6,7	113 $\pm$ 1
250	125 $\pm$ 7	156 $\pm$ 1	192 $\pm$ 19	143 $\pm$ 6	191 $\pm$ 2	184 $\pm$ 6
500	283 $\pm$ 9	334 $\pm$ 12	499 $\pm$ 52	324 $\pm$ 5	419 $\pm$ 14	417 $\pm$ 10

Nominal concentrations $\mu\text{g/g}$	Measured concentrations ($\mu\text{g/g}$)					
	Mo	Cd	Sn	Ba	Hg	Pb
0	0,016 $\pm$ 0,011	0,015 $\pm$ 0,001	0,083 $\pm$ 0,002	0,033 $\pm$ 0,002	0,075 $\pm$ 0,004	0,079 $\pm$ 0,002
0,1	0,035 $\pm$ 0,011	0,127 $\pm$ 0,006	0,184 $\pm$ 0,008	0,079 $\pm$ 0,002	0,072 $\pm$ 0,006	0,182 $\pm$ 0,006
0,25	0,062 $\pm$ 0,011	0,289 $\pm$ 0,007	0,348 $\pm$ 0,007	0,172 $\pm$ 0,001	0,109 $\pm$ 0,004	0,350 $\pm$ 0,004
0,5	0,107 $\pm$ 0,013	0,559 $\pm$ 0,019	0,600 $\pm$ 0,019	0,316 $\pm$ 0,009	0,202 $\pm$ 0,032	0,644 $\pm$ 0,028
1	0,184 $\pm$ 0,020	0,916 $\pm$ 0,021	1,06 $\pm$ 0,03	0,497 $\pm$ 0,012	0,288 $\pm$ 0,022	1,03 $\pm$ 0,03
2	0,352 $\pm$ 0,023	1,94 $\pm$ 0,03	2,13 $\pm$ 0,03	1,06 $\pm$ 0,02	0,421 $\pm$ 0,022	1,97 $\pm$ 0,04
5	0,601 $\pm$ 0,021	4,52 $\pm$ 0,19	4,91 $\pm$ 0,21	2,50 $\pm$ 0,11	0,609 $\pm$ 0,036	4,68 $\pm$ 0,06
12,5	1,75 $\pm$ 0,02	12,1 $\pm$ 0,3	12,6 $\pm$ 0,9	6,87 $\pm$ 0,11	1,77 $\pm$ 0,10	12,5 $\pm$ 0,1
25,0	1,85 $\pm$ 0,01	21,2 $\pm$ 0,5	21,5 $\pm$ 1,5	17,9 $\pm$ 0,3	3,55 $\pm$ 0,41	23,9 $\pm$ 0,5
50,0	4,37 $\pm$ 0,72	57,6 $\pm$ 1,5	50,9 $\pm$ 1,1	51,5 $\pm$ 0,6	8,09 $\pm$ 0,22	56,1 $\pm$ 0,5
100	7,54 $\pm$ 0,72	94,8 $\pm$ 2,2	82,4 $\pm$ 1,9	91,5 $\pm$ 1,5	12,1 $\pm$ 0,7	98,5 $\pm$ 1,1
250	14,1 $\pm$ 0,7	205 $\pm$ 3	143 $\pm$ 3	176 $\pm$ 2	20,7 $\pm$ 1,6	174 $\pm$ 2
500	31,9 $\pm$ 1,3	501 $\pm$ 11	313 $\pm$ 5	429 $\pm$ 8	47,3 $\pm$ 9,0	364 $\pm$ 6

Most of the elements are in good agreement with the expected values (nominal concentrations) as regards the amount of trace elements spiked into the calcium carbonate solutions prior co-precipitation. This indicates that the co-precipitation protocol used here is efficient for most elements. Some elements, however, like Mo, Hg or Li and Sb (not presented) showed very poor recovery values (less than 20%), suggesting that for these particular elements, the carbonate formation yields are incomplete. High coefficients of solubilisation, complexation processes or chemical forms of precipitated elements could explain these discrepancies. For instance, the pathway for the co-precipitation of Mo into CaCO_3 has still to be elucidated since soluble compounds are usually under anionic form (MoO_4^{2-}). Usual Ca substitution by trace element cations (Sr^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) does not seem possible for Mo precipitation. Recent publications suggested that Mo is prone to precipitate under a stable calcium molybdate structure, CaMoO_4 (s) ($K_s=2.5\times 10^{-3}$) (Swinkels et al. 2004). However, this hypothetical Mo precipitation in shells has still to be demonstrated as a preferential mechanism.

These low efficient precipitations clearly indicate that careful analysis of the enriched CaCO_3 powders are required in order to certify the trace elements concentrations in the pellets to be used for LA-ICP-MS calibration.

In order to validate the calcium carbonate formation with this co-precipitation method, over other calcium based compounds (CaO , Ca(OH)_2 , etc...), the composition of the enriched standards as regards Ca, C and O was assessed by XPS (X ray Photoelectron Spectroscopy, M-probe, SSI, C. Guimon, pers. comm., CNRS, Pau, France). Results showed that the Ca, C and O spectra of the enriched standards matched perfectly with those of the pure Baker calcium carbonate powders confirming the calcium carbonate formation in our conditions.

II.1.4.1.2. Homogeneity of the pellets

The homogeneity of the enriched calcium carbonate standards in terms of elemental composition was assessed by ablating five zones uniformly distributed at the pellet surface. Table II.1-3 reports the reproducibility (%RSD) of the measurement obtained for three pellets of nominal concentrations ranging from 0.25 to 100 $\mu\text{g.g}^{-1}$.

Table II.1-3 Homogeneity of the enriched calcium carbonate pellets and analytical performances of the coupling.¹ recorded in the high resolution mode (0.3 amu)

*obtained by Belloto et al. (Belloto and Mikeley 2000)

Isotope	Repeatability RSD % (n=5)			Correlation coefficient, r	Limits of detection (ng.g ⁻¹)	
	Nominal concentration of the pellets				Our work	Ref *
	0,25 µg.g ⁻¹	25 µg.g ⁻¹	100 µg.g ⁻¹			
⁵¹ V	6%	6%	2%	0,9989	8,4	
⁵³ Cr	22%	3%	7%	0,9989	51	720
⁵⁵ Mn	20%	2%	2%	0,9993	14	60
⁵⁹ Co	12%	3%	3%	0,9916	37	30
⁶³ Cu	14%	5%	10%	0,9964	32	70
⁸⁷ Sr ¹	2%	3%	2%	0,9984	56	
⁹⁸ Mo	7%	7%	4%	0,9946	2,6	
¹¹¹ Cd	7%	7%	15%	0,9975	5,4	70
¹²⁰ Sn	10%	5%	6%	0,9981	7,4	780
¹²¹ Sb	8%	2%	3%	0,9987	2,8	
¹³⁸ Ba	10%	2%	2%	0,9999	3,3	700
²⁰² Hg	21%	19%	9%	0,9863	7,8	
²⁰⁸ Pb	16%	7%	7%	0,9963	4,0	20

For most of the pellets, the signal recorded at the five locations exhibits reproducibility better than 10 % for most of the elements. The lowest concentrated pellet (0.25 µg.g⁻¹ as nominal concentration) provides however the higher RSD (ranging within 2% to 22 %) that mainly reflects the uncertainty associated to the measurement of low concentrations close to the limit of detection (see below). The highest uncertainty is recorded for mercury, which might reflect some memory effects. However, bearing in mind that these values encompass the overall analytical uncertainty associated to the laser ablation processes, the aerosol transport and the ICP-MS detection, the homogeneity of the elemental concentrations should be considered as quite acceptable. These results show that co-precipitation with NH₄OH and NH₄HCO₃ gives rise to homogenous distribution of trace elements, similarly to what Bellotto et al. obtained by co-precipitation with Na₂CO₃ (Belloto and Mikeley 2000).

II.1.4.1.3. Linearity

LA-ICP-MS analysis of the enriched calcium carbonate standards pellets show a good linearity for most of the elements as illustrated in Table II.1-3, confirming the good correlation between the signal response of the ablated aerosol and the in-lab certified pellets concentrations. Mercury is the least correlated ($R=0.9863$) which is mainly due to the large uncertainty associated to the measurement of the enriched CaCO_3 standards.

II.1.4.1.4. Analysis of calcium based reference materials

Due to the lack of pure calcium carbonate reference material certified for trace elements, the accuracy of the analytical method was assessed by analyzing soil reference materials (CMR 141 r and SRM 1c) containing significant amount of calcium. Each pellet was analyzed five times. Results are presented in Table II.1-4.

It is worthwhile noting that these values result from the microanalysis ($80 \times 500 \mu\text{m}$) of a small fraction of soils (about $10\text{--}20 \mu\text{g}$) and could therefore reflect some sample heterogeneity. For these samples, the recommended mass to be analyzed is 50 mg and 500 mg, respectively in order to insure representative measurements. Although in-run heterogeneities were recorded when the laser ablated some particular enriched grains, the mean values are in good agreement with the certified concentrations confirming the reliability of our enriched calcium carbonate pellets. The analysis of the carbonate material in final stage of certification (MACS 1) shows results within the range of the expected values which are again a good indication of the reliability of our analytical procedure.

II.1.4.1.5. Limits of detection

The limits of detection are reported in Table II.1-3. They were based on a 3σ criterion, where σ is the standard deviation of 5 repetitive measurements of the Ar background (no ablation). The choice of considering the Ar background as the blank was motivated by the significant trace element concentrations measured in the ultra pure calcium carbonate sample that would hamper the proper instrumental LOD

determination. The LOD range is estimated from 3 ng.g⁻¹ (Sb) up to 55 ng.g⁻¹ (Sr in high resolution mode). Limits of detection previously reported in the literature on carbonate samples are also presented (Belloto and Mikeley 2000). Our results exhibit the lowest detection limits that basically reflect the use of an improved new generation ICP-MS.

Table II.1-4 LA-ICP-MS analysis of calcium based certified reference materials. All elemental concentrations are expressed as µg.g⁻¹ and were obtained after calibration with our enriched calcium carbonate pellets. Uncertainty is expressed as 2 times the standard deviation on 5 replicates.

µg.g ⁻¹	Measured concentrations	Certified values
<i>BCR CRM 141r (a calcareous loam soil)</i>		
Cr	204 ± 13	195 ± 7
Mn	699 ± 102	683 ± 16
Ni	98 ± 14	103 ± 3
Co	11 ± 1	10,5 ± 0,3
Cu	47 ± 2	46,4 ± 1,7
Zn	278 ± 52	283 ± 5
Cd	14 ± 2	14,6 ± 0,5
Pb	60 ± 9	57,2 ± 1,2
<i>SRM 1c (an argillaceous limestone)</i>		
Mn	178 ± 9	194 ± 39
Sr	261 ± 23	254 ± 42
<i>MACS-1 (CaCO₃)</i>		Indicative values
Cr	115 ± 4	100-150
Mn	108 ± 3	100-130
Sr	223 ± 4	200-240
Cd	113 ± 8	100-150
Sn	103 ± 4	40-80
Ba	109 ± 2	100-150
Pb	134 ± 2	100-150

II.1.4.2. Trace element profiles in Scallop shells

II.1.4.2.1. *Homogeneity of the trace elements along the stria*

Five distinct 80 µm x 500 µm single line scanning ablations were performed on the same stria in order to assess the spatial distribution of trace elements along a stria. Table II.1-5 reports the values obtained on a representative stria.

Results clearly indicate that for all the elements of interest, the intra-stria reproducibility are less than 5% (n=5). This is typically in the range of the analytical

uncertainty of our method and the trace element distribution was then considered as homogenous on a given stria.

Table II.1-5 Distribution of trace elements normalized against ^{43}Ca along a stria (n=5).

	Mean signal intensity*	RSD(%)
^{55}Mn	1,3E-02	4,7
^{63}Cu	7,0E-04	2,2
^{87}Sr	1,2E-01	3,0
^{98}Mo	2,0E-04	1,2
^{113}Cd	2,8E-06	3,9
^{138}Ba	2,0E-03	4,6
^{208}Pb	2,2E-04	2,3

II.1.4.2.2. Ablation of the shell vs enriched CaCO_3 pellets

Despite the matrix matching of our enriched pellets as regards to the shell, both were made of calcium carbonate, the calcium signal (internal standard) was systematically lower when ablating the shell. This is likely related to differences in physical parameters related to crystalline structure (density, hardness, etc) from the standards to the shell that could influence laser interactions in terms of mass removal rate. It is worthwhile noting that a rough estimation of the shell and pellet density show that they depart from about 20%, the shell presenting systematically the highest density. These signal variations were, however, compensated due to calcium normalization, assuming that the trace elements of interest behaved the same as calcium.

Considering the time required to analyse one stria (approximately 4 minutes, including laser beam positioning, focussing, pre-ablation, Ar background measurement and finally ablation) and the high number of striae formed during one year (around 200), it was decided to analyse each third stria in order to limit the analysis time to approximately 5 hours per sample. Variations of trace elements concentrations were then examined during the growth period (mid-April to end November). For each year, a minimum of 3 shells of a same community were analyzed in order to assess the reproducibility of the signal recorded. Results obtained for Ba are presented in Figure II.1-2.

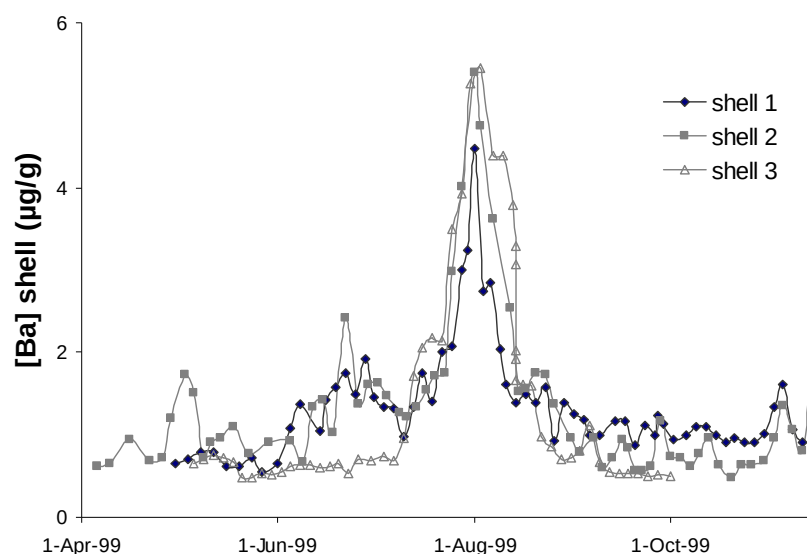


Figure II.1-2 Variations of barium concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) in 3 shells originating from Belle Ile for the year 1999.

Like all other trace elements analysed, variations of Ba concentration expressed strong similarities in shells belonging to the same population, in terms of background and maximum concentrations. The occurrence of concentration peaks at a specific date is also consistent in the same community of scallops, confirming the fact that only one shell is representative of a given community.

A monitoring of shell concentration was performed over a 3-year period in Belle Ile. Results obtained for Mo and Ba are reported in the Figure II.1-3.

These shell concentrations highlight a specific pattern according to the element. Ba concentrations exhibit a background concentration around $0.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ and some increases of concentration in summer. Previous results suggested that Ba may be a tracer of ocean productivity, linked to nutrient dynamics or upwelling events (Lazareth et al. 2003; Lea et al. 1989; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000). Mo variations reveal a background concentration close to the detection limit (1.8 ng.g^{-1}) and significant transient increases of shell concentration during the spring. The complex processes related to variations of Mo and Ba shell concentrations are beyond the scope of this paper and will be published elsewhere (Chapitre III, partie III.1 et III.2). Other elements (Mn, Pb, Sn...) do not provide significant increases of concentration during the target period. Background concentration can nevertheless reflect the level of trace elements concentration in

seawater and its exposition to potentially chronicle natural or anthropogenic inputs (Chapitre I, partie I.2).

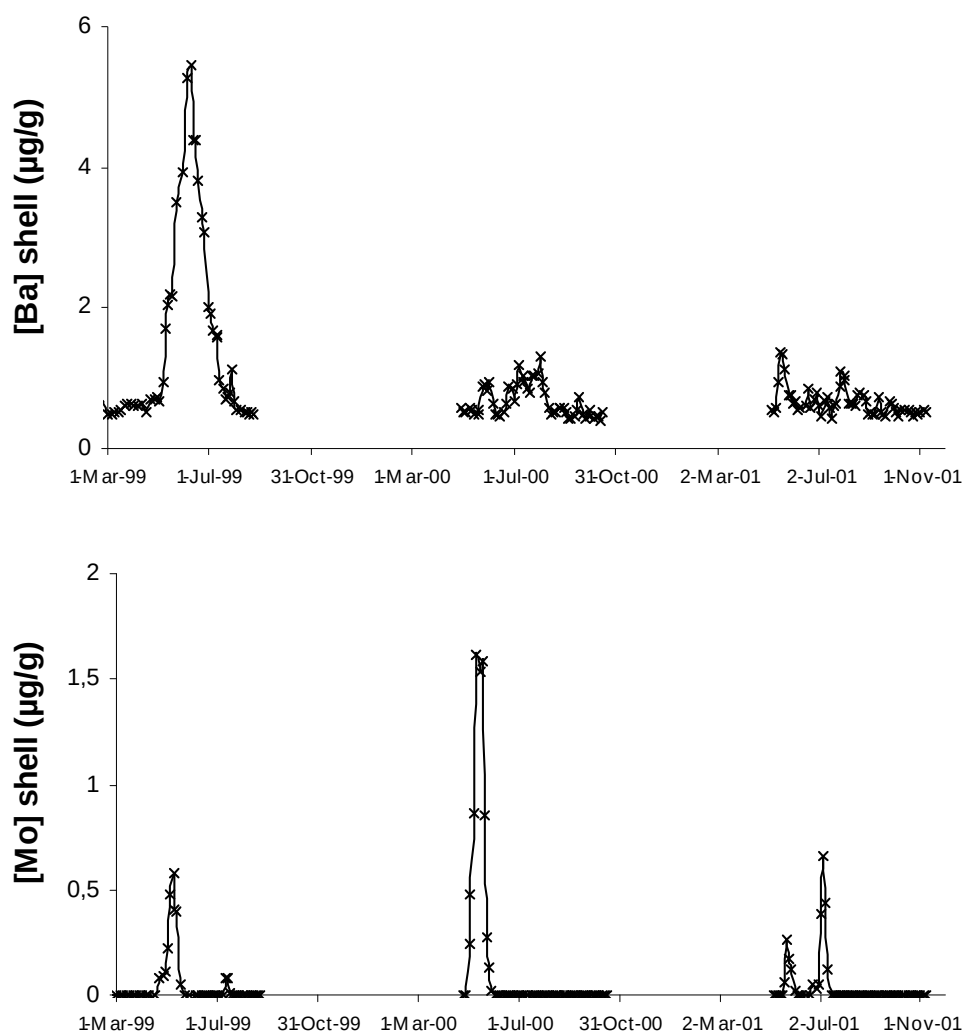


Figure II.1-3 Inter-annual variations of barium and molybdenum concentrations (in $\mu\text{g.g}^{-1}$) in shells originating from Belle Ile.

Acknowledgements

This work was supported in the framework of two research programs: ACI PECTEN (French Ministère de la Recherche) and “Suivi Erika” (French Ministère de l’Environnement). Thermo Electron Company is thanked for the loan of the ICP-MS. A.B. acknowledges the Aquitaine Region (ORQUE project) for her Doctoral fellowship. The authors are also grateful to A. Castetbon (Université de Pau, France) for his advices for CaCO_3 standard preparation and C. Guimon (LCTPCM, CNRS, Pau, France) for his help for XPS analyses.

II.2. Définition du bruit de fond des profils de concentration des éléments traces le long des stries de croissances de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*): implication de la partition et de l'archivage chronique

Trace element background concentration profiling along calcite growing layers of the Great Scallop shells (*Pecten maximus*): implications for their partition with seawater and chronicles interpretation

A. Barats¹, D. Amouroux^{1*}, L. Chauvaud², T. M. Church³, C. Pécheyran¹, G. Siquin⁴, O.F.X. Donard¹

(1) LCABIE-UPPA, CNRS UMR 5034, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2 avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

(2) IUEM-UBO, CNRS UMR 6539, Technopole Brest-Iroise, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

(3) College of Marine Studies, University of Delaware, Robinson Hall, Newark and Lewes, Delaware, USA

(4) GME-UBO, UFR des Sciences & Techniques, 6 av. Victor Le Gorgeu - CS 93837 - 29238 Brest, France

Soumis

Résumé : Les coquilles des bivalves sont reconnues comme des archives des conditions environnementales à l'interface eau/sédiment. Une collection de coquilles Saint Jacques (*Pecten maximus*) a donc été collectées dans la baie de Brest de 1998 à 2004 (n=3 pour chaque année) pour examiner les variations de leurs concentrations élémentaires. La représentativité de ces concentrations coquillières et de leurs profils le long de la coquille a été étudiée. Trois types de profils ont pu être définis: (1) un profil de concentrations stables pour Pb, Sr, Co, Cu, Sn et Mn, (2) un profil de concentrations en constantes augmentations pour le Mg, et (3) un profil de concentrations stables ponctués par des enrichissements transitoires et significatifs pour le Mo et la Ba. Dans cette étude, seules les concentrations du bruit de fond des éléments traces ont été considérées. Ces concentrations ont, tout d'abord, été supposées fortement liées à la composition de l'eau de mer et des constantes thermodynamiques de solubilité au sein des carbonates. Des relations empiriques ont été définies dans cette calcite biogène. Leur pertinence a été testée lors de l'étude des variations annuelles des concentrations de bruit de fond sur une période de 7 ans. Les variations annuelles des concentrations du bruit de fond en plomb et en manganèse dans les coquilles sont significativement corrélées. Les variations annuelles des températures moyennes de l'eau de mer sur la période de croissance soulignent des corrélations significatives, positives avec le Sr coquillier ($r^2=0.46$, $n=7$, $p<0.05$) et négatif avec le Mn et le Pb (respectivement, $r^2=0.45$ and 0.53 , $n=7$, $p<0.05$). Ces relations confirment que l'assimilation du Sr dans les coquilles est généralement contrôlée par le taux ou la température de calcification, et que le Mn et le Pb à l'interface eau/sédiment sont issus d'apports continentaux, principalement liés aux conditions hydro climatiques. Les variations annuelles des concentrations du bruit de fond du Ba et du Co dans les coquilles sont aussi fortement corrélées et ces concentrations ont tendance à augmenter avec la salinité moyenne sur la période de croissance. Les processus biogéochimiques contrôlant cette association Ba/Co ($r^2=1.00$, $p<0.05$, $n=7$) n'ont cependant pas été clairement identifiés.

II.2.1. Abstract

Shells of the Great Scallop *Pecten maximus* from the bay of Brest (France) were annually examined for their elemental concentrations over a 7 year period (1998-2004). Bivalve shells are recognized to archive in their hard part, minor and trace element which may reflect environmental conditions at SWI. Significance of elemental shell concentrations and the typology of their shell profiles were investigated. For all years, three specific concentration profile typologies could be defined: (1) a steady state concentration profile for Pb, Sr, Co, Cu, Sn and Mn, (2) a steadily increasing concentration profile for Mg, and (3) a steady concentration profile punctuated by significant transient enrichments for Mo and Ba. In the present work, background shell concentrations were only considered to underline the potential processes related to these shell enrichments. Elemental background shell enrichments are first supposed to be tightly associated with seawater composition and thermodynamic solubility constants within carbonates. Empirical relationships are thus obtained for biogenic calcite to associate the trace element composition according to the bulk seawater composition, carbonate solubility constants and their usual structure of precipitation. These relationships subsequently allow investigating background shell concentrations evolution over a 7-year period in order to evaluate their potential relevance as inter-annual chronicles for coastal environments. Pb and Mn annually average background shell concentrations are significantly correlated ($r^2=0.90$, $p<0.05$, $n=7$). Based on the annual average hydrological parameters recorded along the growth period, significant positive and negative correlation were obtained between average seawater temperature and, respectively, Sr ($r^2=0.46$, $n=7$, $p<0.05$), and both Mn and Pb (respectively, $r^2=0.45$ and 0.53 , $n=7$, $p<0.05$). These results confirm that Sr shell uptake is generally driven by the calcification temperature and/or rate, and that bioavailable Mn and Pb at the SWI are provided by similar crustal inputs apparently controlled by hydroclimatic conditions of weathering. Finally, Ba and Co annually averaged shell concentration are also very well correlated ($r^2=1.00$, $p<0.05$, $n=7$) and tend to increase with average salinity. The biogeochemical processes controlling the strong Ba/Co association are however not clearly identified.

Keywords: Great scallop profiles, trace element, seawater, shells.

II.2.2. Introduction

Bivalves have the potential to record surrounding changes of environmental conditions in their calcium carbonate shells (Dodd 1965; Lorens and Bender 1980). Here the hard carbonate shell may survive for many years, unlike the soft parts which will decay shortly after death, with the potential to record long-term aquatic conditions. Bulk shell analysis provides only a record for the lifetime of the organism, but modern analytical methods such as laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) can yield with high spatial resolution and low limits of detection, to measure the temporal record stored within the shells can be determined. LA-ICP-MS coupling is usually applied to determine a range of metallic contaminants (e.g. Zn, Cd, Pb) and geochemical tracers (Mg, Sr, Ba and U) for bivalve species (Pearce and Mann 2006; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Toland et al. 2000; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000).

Several trace element proxies are used to trace major oceanic changes (Henderson 2002). Most investigations on trace elements in calcium carbonate shells focus on Sr and Mg as paleotemperature proxies of surface seawater (Lazareth et al. 2003; Pearce and Mann 2006; Schrag 1999; Sinclair et al. 1998; Stecher et al. 1996; Takesue and Van Geen 2004; Vander Putten et al. 1999). However, recent investigations indicate that environmental parameters such as the seawater temperature or salinity have a minor influence on Sr, Mg, Ba and Mn concentrations in aragonite shells (*Mesodesma donacium* and *Chione subrugosa*) (Carré et al. 2005). Sr incorporation in the shell was then suggested to be rather strongly influenced by the calcification rate of the shell. In another study, Sr is considered to be a tracer of seawater salinity (Pearce and Mann 2006). Variations of Mg concentrations in *Mytilus* shells are apparently induced by an input of dissolved Mg and thus proportional to seawater salinity (Vander Putten et al. 2000). Changes of salinity can also reflect some freshwater inputs. The study of both seawater salinity and temperature can also implicate upwelling events which replenish surface layer with nutrient-enriched colder seawater of higher salinity. All these investigations showed however that variations of Mg and Sr shell concentrations are not only governed by the seawater temperature. In

Pecten maximus shells, variations of Mg or Sr concentrations are not reported to directly reflect seawater temperature (Lorrain 2002). In *Pecten maximus* species, Sr/Ca shell ratios are reported to be rather controlled by kinetic (growth) effects (Lorrain et al. 2005) or by calcification temperature and Mg content (Freitas et al. 2006). Even if Sr and Mg shell concentrations are not relevant indicators of the seawater temperature, shell growth rate of *Pecten maximus* bivalves is, however, a relevant proxy of seawater temperature (Chauvaud et al. 2005).

Variations in Ba shell content are suggested to be linked to ocean productivity, nutrient dynamics, as well as ocean upwelling (Gillikin et al. 2006; Lea et al. 1989; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). The Ba background concentrations are also reported to be a relevant indicator of the seawater salinity (Gillikin et al. 2006). Ba and Mn are suggested to originate from both dissolved and particulate river inputs (Sinclair and McCulloch 2004; Wyndham et al. 2004). Different authors consider also Mn in shells as a proxy of ocean productivity (Lazareth et al. 2003; Vander Putten et al. 1999). In *Pecten maximus* shells, variations of Mn concentrations are, however, supposed to reflect mainly variations of the seawater dissolved Mn concentrations (Freitas et al. 2006).

In estuaries, Co, Sn, Cd, Cr and As are considered to be records of metal pollution (Church and Scudlark 1998). Their significant concentrations in sediments from sites submitted to anthropogenic activities are consistent with eventual resuspension of these metals at the SWI which are thus bioavailable for the shells. Anthropogenic inputs can be induced both by riverine inputs (floods), resuspension of trace metals trapped in sediments, or dredging activities. Metal bioaccumulation in marine organisms is suggested to be mainly induced by a dietary uptake of metal bound to particles, especially for bivalve species (Luoma and Rainbow 2005). In *Pecten maximus* shells, metal bioaccumulation in scallop tissues and organs reveals the greatest concentrations of Cd and Cu in the digestive gland (respectively 75 – 93 % and 52 – 74 % of the total body burden of this metal), and the greatest concentrations of Zn in the kidney (53 - 97 % of the total body burden of this metal) (Bustamante and Miramand 2004). Anthropogenic inputs apparently results in an increase in Pb, Zn, Cd, Cu, U and Ag concentrations in skeletal structure of mussel shells (Gillikin et al. 2005b; Giusti et al.

1999; Pearce and Mann 2006; Puente et al. 1996; Richardson et al. 2001; Fallon, 2002 #35). Investigations on anthropogenic inputs or marine pollution highlight the potential use of Pb/Ca ratio as relevant tracer (Gillikin et al. 2005b; Lazareth et al. 2000; Price and Pearce 1997; Raith et al. 1996; Rosenheim et al. 2005). Cadmium variations are also associated with ocean circulation and upwelling events providing nutrient inputs at the seawater surface layer (Reuer et al. 2003).

Precipitation of trace elements into calcite minerals is widely studied for several elements: Sr, Mg, Ba, Mn, Pb, Cd (Morse and Bender 1990; Rimstidt et al. 1998; Tesoriero and Pankow 1996). There are also investigations into biogenic calcite for Sr, Mg and Ba which usually reveal a substitution of Ca by trace element cations (Sr^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) (Lazareth et al. 2003; Lazareth et al. 2000; Lorrain et al. 2005; Raith et al. 1996; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999). Formation of these precipitates depends directly on solubility constants and the bioavailability of the minor or trace elements at the SWI. In numerous studies, trace element affinity with the calcium carbonate matrix is defined by the partition coefficients K_d . These coefficients are calculated to evaluate the influence of seawater composition on shell content and are determined according to the following equation: $K_d = ([\text{Me}]/[\text{Ca}])_{\text{calc}} / ([\text{Me}]/[\text{Ca}])_{\text{sw}}$ where $[\text{Me}]$ is the concentration of minor or trace elements and $[\text{Ca}]$ the calcium concentration in shell calcium carbonate matrix or in seawater. They highlight the distribution of trace elements between solid carbonate and aqueous solutions, and are widely investigated for mineral calcite (Morse and Bender 1990; Rimstidt et al. 1998; Tesoriero and Pankow 1996). They are also examined for biogenic calcium carbonates in foraminifera (Havach et al. 2001; Hintz et al. 2006a; Hintz et al. 2006b), in otoliths (Bath et al. 2000) and in shells (Gillikin et al. 2006; Gillikin et al. 2005c).

This investigation focuses on shells of the Great Scallop *Pecten maximus* (L.) because they are found in coastal environments spread over a wide range of latitudes (from Norway to Morocco). Moreover, its growth rate is atypical: a daily stria is deposited on its calcified structure. The scallop shell is thus of great interest to perform investigations through environmental bio monitoring. Analysis of elemental composition along the shell may become a source of environmental data on a daily basis. Shell analysis requires, however, the use of a micro-analytical technique with a high spatial

resolution (a stria measure 40-200 μm), and sensitivity (concentrations from ng.g^{-1} to $\mu\text{g.g}^{-1}$). Minor and trace element (Mg, Sr, Mn, Ba, Pb, Mo, Cu, Co, Sn) concentrations in *Pecten maximus* shells are thus quantified by LA-ICP-MS to examine shell elemental profiles as a potential daily time series record of coastal environmental changes. The coupling and the calibration procedure are previously described in detail (Chapitre II, partie II.1.).

The aim of this study is to understand the significance of minor and trace element shell concentrations, and the typology of their shell profiles. Only background shell concentrations are examined and determined deconvoluting background from transient concentration increases. The objective is to evaluate trace element shell enrichment according to seawater composition and thermodynamic solubility constants within carbonates. This approach is also used to compare background concentrations archived in different shells collected over a 7-year survey period (1998-2004) in the Bay of Brest.

II.2.3. Materials and methods

II.2.3.1. Sampling sites and sample preparation

Specimens of the Great Scallop *Pecten maximus* were sampled at Roscanvel zone (48°2N, 4°3W) in the Bay of Brest (French Brittany, France) (Figure II.2-1). The semi enclosed Bay of Brest is submitted to coastal macro-tidal influences. Characteristics of this ecosystem were previously described in detail (Chapitre III, partie III.1.). Shells were collected via scuba diving. Only the flat valve was considered for trace element analyses to provide a better visualisation of the growth striae. Flat valves were first cleaned in a bath of 90% acetic acid for one minute to remove organic matter at the surface layer of the shell. They were then rinsed with 18.2 MOhm milli-Q water, dried and stored in dried conditions. Shells were cut with a diamond saw to further analyse only the section corresponding to the first year of growth (juvenile stage).

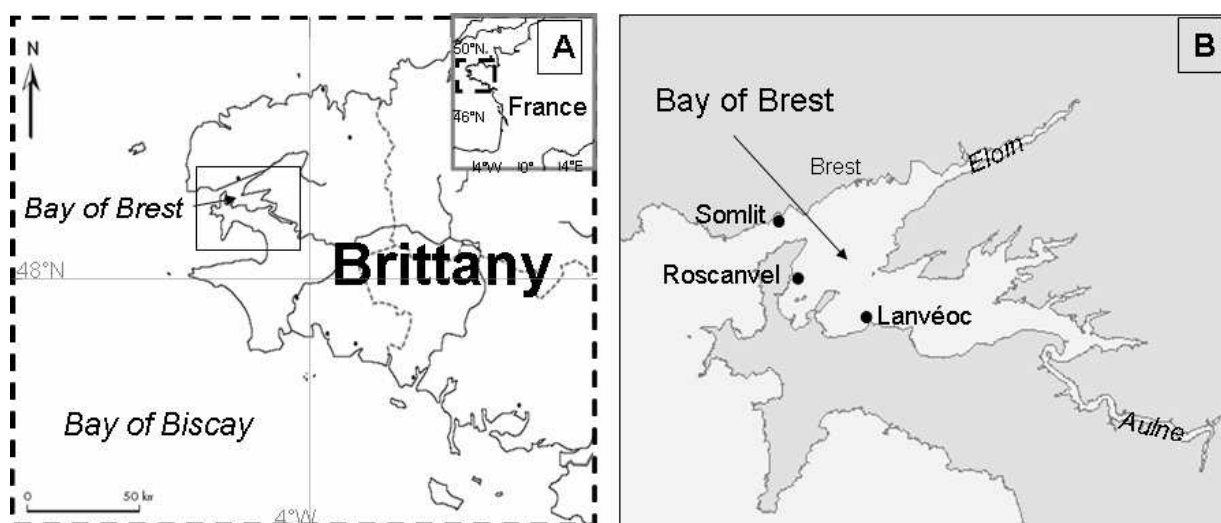


Figure II.2-1 Maps of the studied sites: A) presents the sampling zone in Brittany (France); B) is focussed on the Bay of Brest showing the investigated sites (Roscanvel for the sampling, and the others for regular measurements of environmental parameters).

II.2.3.2. Trace element analyses in shells

LA-ICP-MS analyses: Shells were analysed by LA-ICP-MS. This method allows quantitative analysis of trace elements in solid matrix with detection limits of about tens ng.g^{-1} and a high spatial resolution ($80 \mu\text{m}$). In this study, a CETAC LSX 100 laser-ablation system (CETAC Technologies, Omaha, Nebraska, USA) equipped with a 266 nm Nd:YAG laser was coupled with a X7 series CCT ICP-MS (Thermo Electron, Windsford, UK). This coupling was previously described for analyses of shell samples (Chapitre II, partie II.1.). Quantitative shell analyses were performed on externally calibrated CaCO_3 standards and an internal calibration with ^{43}Ca . This calibration step was also previously described in detail (Chapitre II, partie II.1.). The shell section was analysed each third stria. Scallop forming a daily calcite stria, temporal resolution of the sampling was about 3 days.

Chronological calibration: The singular growing pattern of *Pecten maximus*, with a daily calcite stria formed during the growth period, allowed an accurate dating of each analysed stria. Because the sampling date is documented, a date of formation could be assigned to each stria by backdating from the last stria (date of collection ± 1 day). A date was thus assigned to each analysed stria and the shell growth rate curve

reconstructed (Chauvaud 1998; Lorrain 2002). More details on this dating were previously explained (Chapitre II, partie II.1.).

II.2.3.3. Seawater composition and environmental database

Standard seawater concentrations used in this study were first those from the literature (Brown et al. 1989; Morel and Hering 1993). Samples of seawater were also collected on the 3rd and the 10th of May 2004 at the seawater sediment interface (SWI) in Roscanvel zone (Bay of Brest). Measurements of seawater composition were performed using 2 different methods. For determination of Mn, Ba, Mo and Sr seawater concentrations, seawater samples were diluted 50 times in 1% nitric acid (ultrapure grade, J.T. Baker). These concentrations were determined using external calibrations and a normalisation with a Rh internal standard by ICP-MS (X7 series CCT, Thermo Electron, Winsford, UK). The Cu concentrations were determined with a different sample method. The analytes were first preconcentrated using a suspended particulate reagent (SPR) with immidodiacetate (IDA) functional groups (10%, particle size: 2-5 µm, Cetac Technology Inc., Omaha, USA). This IDA gel was considered to allow at the same time the preconcentration of analytes and the elimination of matrix elements (Na, Mg, Ca) in riverwater or seawater before ICP-MS measurements (Kühn and Kriews 2000; Lee et al. 2000). The analytes were first concentrated into the SPR and the matrix - the supernatant - was eliminated after centrifugation. The SPR was thus filtered, rinsed. Analytes were then eluted and directly analysed by ICP-MS. This method is described elsewhere (Annexe VI.2.2).

Seawater salinity, temperature, and chlorophyll a data was taken from a reference station in the Bay of Brest at Lanvéoc (48°18N, 4°27W), nearby Roscanvel sampling zone, as part of littoral environment monitoring program lead by Ifremer (database, <http://www.ifremer.fr/envlit/>).

II.2.3.4. Shell profiles and comparison with environmental data

Shell elemental profiles present a time resolution of three days. Qualitative and quantitative criteria are defined to reconstruct the elemental shell profiles. Erratic spikes

representing a single analysis with higher concentration for only one stria are systematically eliminated. These spikes are suggested to be induced by analytical artefacts or contaminations of shell surface and probably do not reflect environmental changes. For all the elements (except Mg), the average background concentrations were defined as the average concentrations after removing all the significant peak events with concentrations larger than the mean average concentration plus 3 times the standard deviations.

A statistical evaluation was performed to highlight environmental parameters associated with elemental background shell concentrations. Bravais Pearson tests were performed with Stabox for Windows Ver. 6 (Grimmer Soft wares, France). For each year, the average of shell growth rate ($n \approx 230$), at the seawater temperature ($n \approx 30$), salinity ($n \approx 30$) and the chlorophyll a concentrations ($n \approx 50$) are included from mid April to the end of November.

II.2.4. Results and discussion

II.2.4.1. Significance of trace element profiling on scallop shells

II.2.4.1.1. *TE profile variability among a scallop community*

Scallops from the same community (Roscanvel zone) are investigated to examine variations of minor and trace element concentrations along their calcite shells. Reproducibility of these variations is tested to evaluate the relevance of using *Pecten maximus* shells as a tracer of environmental changes. As an example, the variability of several elements along three shells originating from Roscanvel zone and collected in November 2003 is presented in Figure II.2-2. For each element investigated, the three shell profiles exhibit comparable concentrations and variations all along the year 2003. Such shell elemental profiles, as illustrated in Figure II.2-2, are typical of the 7 years period investigated in this study.

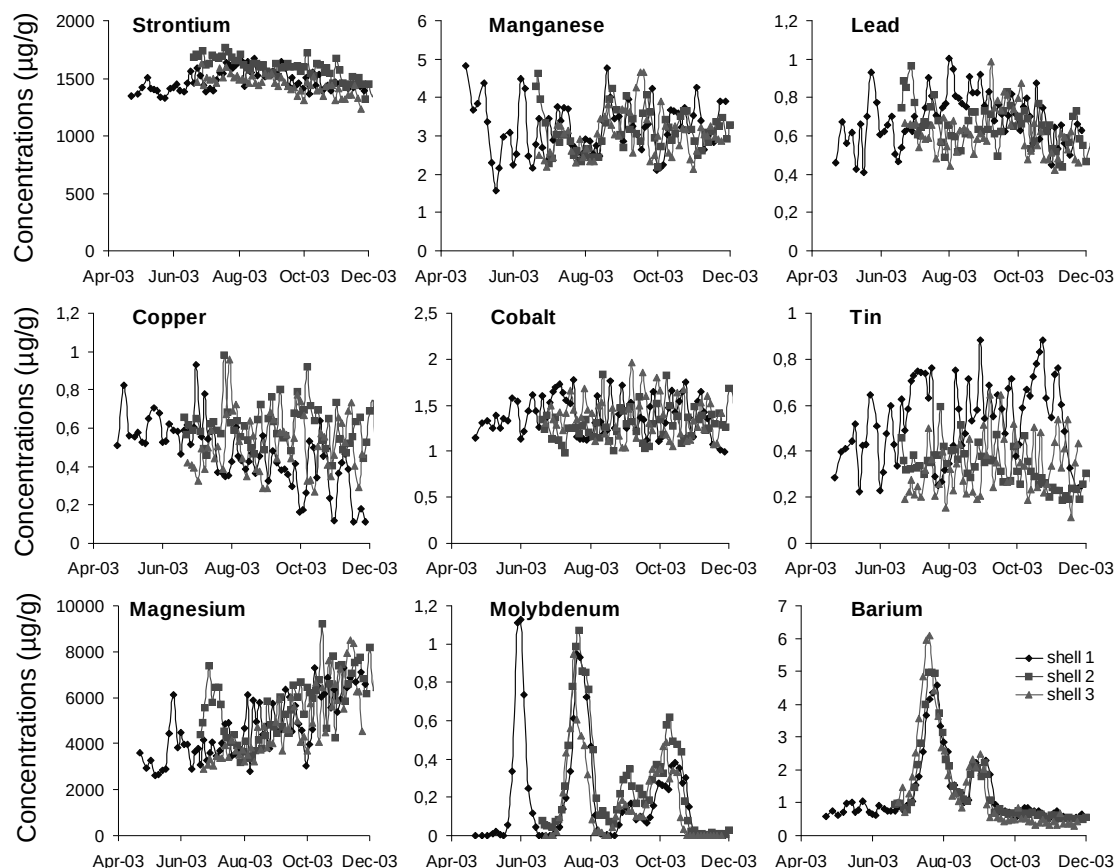


Figure II.2-2 Concentration profiles of Sr, Mg, Mn, Pb, Ba, Mo, Co, Cu, Sn in $\mu\text{g.g}^{-1}$ obtained for 3 shells collected at Roscanvel for the time frame period investigated: April-November 2003.

The year 2003 can be thus further used to depict the characteristic of each elemental profile. Sr shell concentrations measured in the three different shells reveal a steady state profile with low inter shell variability. The Mn, Cu, Sn, Co and Pb concentrations exhibit this same specific pattern but with a higher inter shell variability in their concentrations. Mg shell profiles indicate similar steadily increasing concentrations for the three shells. One shell reveals, however, a different pattern with increased concentration in June/July, not observed in the two other shells. Variations of Mo and Ba concentrations exhibit another specific pattern with stable background concentrations punctuated with significant transient peak events. These transient shell enrichments were related to seasonal biogeochemical processes and are discussed elsewhere (Chapitre III, partie III.1. and III.2.). They are most probably linked to the pelagic

scavenging of such elements during specific bloom events and subsequent trophic uptake by the scallop. All these profiles indicate thus good reproducibility in their variations of concentration for the whole scallop community.

The average shell growth rate ($n=3$) was also determined in Figure II.2-3 for the year 2003 and was then compared with variations of shell concentrations. In this study, shell growth rate profile exhibits a specific pattern different from those obtained for the shell concentrations of trace element. Shell growth rate can not be thus correlated to the elemental composition of Sr, Mg, Mn, Pb, Co, Cu, Sn, Mo and Ba which suggests no significant influence on elemental bioincorporation.

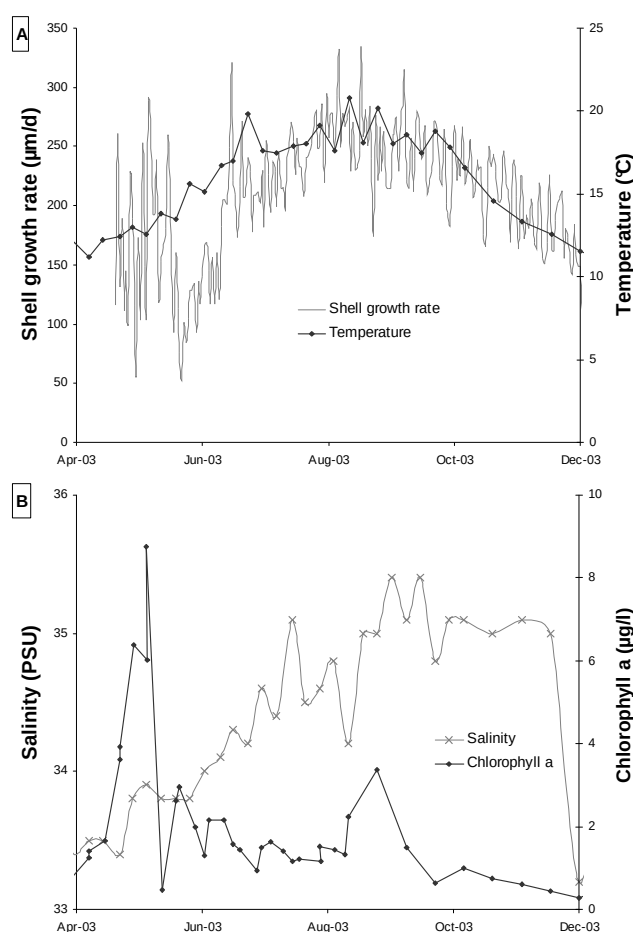


Figure II.2-3 A) Average of shell growth rate ($\mu\text{m.d}^{-1}$) for 3 shells collected at Roscanvel for the time frame period investigated: April-November 2003 and the seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$) measured at the Lanvéoc station, nearby the sampling zone. B) Seawater salinity (PSU) and chlorophyll a concentrations ($\mu\text{g/l}$) for the same period and the same station.

II.2.4.1.2. TE profile typology and background concentrations

A study of minor and trace element shell concentrations was carried out over a 7-year period, from 1998 to 2004, at Roscanvel site (Bay of Brest). This investigation on shell chemistry permits to check their potential in: (1) differentiating between freshwater/seawater flow regimes; (2) and recording seasonal environmental changes. The examination of elemental shell profiles over the 7-year period permits the identification of three patterns according to the different elements, as illustrated for 2003 (Figure II.2-2).

Steady shell profiles: As shown for 2003, most of the elements of interest, such as Sr, Mn, Pb, Co, Cu and Sn, present a steady profile for the entire year investigated (Figure II.2-2). Average shell concentrations are thus considered as the background concentrations for these elements which is reported in the Table I.2-1. The compilation of the annual average concentrations reveals a low variability of Sr shell concentrations, the annual relative standard deviations being usually below 10% (Table I.2-1). The Mn, Cu, Sn, Co and Pb annual average concentrations exhibit, however, a higher variability of their concentrations (i.e. $10\% < \text{RSD} < 50\%$). The high variability of Cu, Sn, Co and Pb concentrations is suggested to be specifically related to their low background shell concentrations (sometimes close to detection limit) which are associated with a proportionally larger analytical error.

Steadily increasing shell profiles: Secondly, elemental shell profiles reveal steadily increasing concentrations for Mg all along the year and for all the included years (Figure II.2-2). No realistic annual background concentrations can be thus defined for this type of profiles. The slopes of the steadily increasing Mg profiles were thus considered here to define the Mg profiles and their inter-annual variations (Table I.2-1). The Mg profiles have similar slopes for the different years with an average slope of $22 \pm 2 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$ (over the 7 years). The Cu and Sn profiles obtained for a few shell individuals also reveal slightly increasing concentrations but they were found not to be representative over the three shells selected for each year.

Table II.2-1 Elemental average or background shell concentrations ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), their relative standard deviations (%), the minimum and maximum concentrations measured along Roscanvel shells according to the different year. Ba background concentrations were defined eliminating all the significant increases of shell concentrations. Mg shell profile being steady increasing concentrations, slopes of Mg profiles were considered. “<” represents the concentrations below the limits of detection.

	Average concentrations ($\mu\text{g/g}$)							Background concentrations ($\mu\text{g/g}$)	Slopes ($\mu\text{g/g/d}$)
	Mn	Co	Cu	Sr	Sn	Pb	Mg	Ba	Mg
1998 (n=3)									
x	4,19	1,00	0,481	1339	0,331	0,809	6415	0,564	25,2
%RSD	44	15	29	8	26	23	29	37	22
min	1,55	0,641	0,115	931	0,055	0,311	2628	0,426	
max	11,4	1,76	0,975	1728	0,653	1,50	10485	6,98	
1999 (n=3)									
x	3,38	0,914	0,753	1337	0,043	0,631	6687	0,528	34,5
%RSD	36	8	22	6	64	16	33	23	24
min	1,76	0,803	0,517	1160	0,009	0,372	3228	0,370	
max	6,21	1,12	1,30	1466	0,189	0,880	11797	3,813	
2000 (n=3)									
x	2,703	1,169	<u>< 0,029</u>	1301	<u>< 0,007</u>	0,513	3294	0,576	11,0
%RSD	32	29		21		24	20	11	6
min	1,67	0,602		818		0,020	1646	0,479	
max	8,83	2,08		1872		1,09	8437	1,52	
2001 (n=3)									
x	3,44	0,938	0,530	1416	0,154	0,548	7499	0,552	21,2
%RSD	29	4	20	8	37	25	19	11	38
min	0,985	0,834	0,321	1117	0,066	0,181	4199	0,386	
max	6,30	1,08	0,732	1656	0,375	0,770	11013	1,88	
2002 (n=2)									
x	3,90	1,726	0,483	1399	0,640	0,652	5808	0,697	28,9
%RSD	32	14	31	7	19	15	36	15	24
min	1,50	1,04	0,034	1037	0,253	0,422	2786	0,443	
max	7,82	2,61	1,26	1654	1,02	1,05	11960	3,87	
2003 (n=3)									
x	3,13	1,36	0,527	1500	0,399	0,648	5068	0,620	19,5
%RSD	3	3	13	4	31	6	11	22	28
min	1,57	0,98	0,110	1231	0,114	0,407	2609	0,283	
max	4,85	2,00	0,98	1766	0,88	1,00	9209	6,10	
2004 (n=3)									
x	4,91	1,22	0,689	1304	<u>< 0,007</u>	0,927	4501	0,608	15,4
%RSD	18	21	45	5		31	8	19	14
min	2,28	0,92	0,029	976		0,265	2508	0,384	
max	12,6	1,85	1,69	1539		2,15	8226	3,59	
7-year average									
x	3,67	1,22	0,651	1371	0,294	0,675	5643	0,592	22,2
%RSD	20	26	30	5	77	22	25	9	8,0
min	0,985	0,602	<u>< 0,029</u>	818	<u>< 0,007</u>	0,020	1646	0,283	
max	12,6	2,78	2,53	1872	1,25	2,15	11960	6,98	

Non steady state shell profiles: A third pattern is observed for the profiles of Mo and Ba shell concentrations. This pattern, similar to those exhibited in 2003 (Figure II.2-3), underlines stable background concentrations punctuated with significant transient peak events. In parallel studies, such transient increases of shell concentrations were

found to be most probably related to seasonal environmental changes within the bay of Brest and are thus discussed elsewhere (Chapitre III, partie III.1. et III.2.). For this shell profile pattern, background concentration levels can also be defined by removing all the significant shell enrichments. The remaining data for each profile provide a steady concentration profile. Background shell concentrations are however only considered for Ba because those of Mo are systematically under the limit of detection (2.6 ng.g^{-1}) for all the investigated years. The Ba background shell concentrations are similar over the studied period and reveal an average concentration with low variability ($0.59 \pm 0.05 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$). Although Mn shell profiles exhibit a general pattern similar to a steady state, they may sometimes exhibit some significant periods of increased concentrations at specific years, but less significant than those obtained for Mo or Ba. Variability of Mn background concentrations is also higher with a RSD around 20-30 % (Table I.2-1). This higher RSD can be explained by such shell enrichment periods obtained for few shell individuals. To allow the calculation of relevant Mn background concentrations, peculiar enrichment events were thus removed.

II.2.4.2. Potential background shell enrichment of trace elements from the seawater

II.2.4.2.1. *Relationship between TE shell composition and seawater composition*

Scallops are filter-feeding organisms using different kinds of food, such as phytoplankton and organic detritus (Lorrain et al. 2004; Lorrain et al. 2002). Composition of phytoplankton particles may be different according to bloom species. Particle phases originating from scallop feeding (phytoplankton sedimentation, local sediment resuspension, floods...) are considered to provide supplementary inputs of some elements and thus punctuate the background shell concentrations with distinct transient enrichments (Chapitre III, partie III.1. et III.2.). Background shell concentrations are thus suggested rather to be influenced by the composition of the dissolved phase in seawater at the SWI. In *Pecten maximus* shells, variations of Mn concentrations were indeed previously reported to be mainly influenced by the local dissolved Mn concentration (Freitas et al. 2006).

Seawater composition is compared to average shell background concentrations obtained for Roscanvel (n=20) through the calculation of distribution coefficients (K_d). These distribution coefficients are considered both for standard seawater composition and for measured seawater concentrations at the SWI (May 2004). These enrichment factors are also compared to seawater concentrations normalized by calcium (Figure II.2-4). This representation underlines two kinds of elements: (1) For Ba, Mg and Sr, K_d 's that are below 1 exhibiting a less efficient uptake and precipitation of these elements as cations into calcite relative to seawater concentrations; (2) For Pb, Sn, Co, Cu, Mn, these enrichment factors are higher than 1 revealing a preferential assimilation and precipitation into calcite shell.

Except for Pb and Sn, distribution coefficients higher than 1 are obtained for trace elements precipitating within a calcite structure (trigonal symmetry). Eventhough Pb usually crystallises in an aragonite structure (orthorhombic symmetry), this element is enriched in the calcite shell. Tin is preferentially under an anionic form in seawater as SnO_3^{2-} (Brown et al. 1989). This predominant Sn species suggests a preferential anionic pathway for tin precipitation in the shell, supposedly as the $\text{CaSnO}_3(\text{s})$ form in a perovskite structure (orthorhombic symmetry). Although this pathway of Sn precipitation may account for its enrichment in aragonite structure, solubility of this compound in a stable form is nevertheless unknown.

Molybdenum occurs also in an anionic form in seawater as molybdate MoO_4^{2-} (Collier 1985). The only known structure of molybdate precipitation with Ca^{2+} is the powellite form (CaMoO_4) with a solubility constant of $10^{-7.84}$. This component crystallizes neither under calcite nor aragonite structure. A maximum value of the distribution coefficient can also be estimated considering a Mo shell concentration equal to the limit of detection of our analytical method (2.6 ng.g^{-1}). This result predicts a maximum distribution coefficient of 2.10^{-4} . This low K_d obtained for Mo relative to the other elements might be explained by its anionic related precipitation pathway within the calcium carbonate shell.

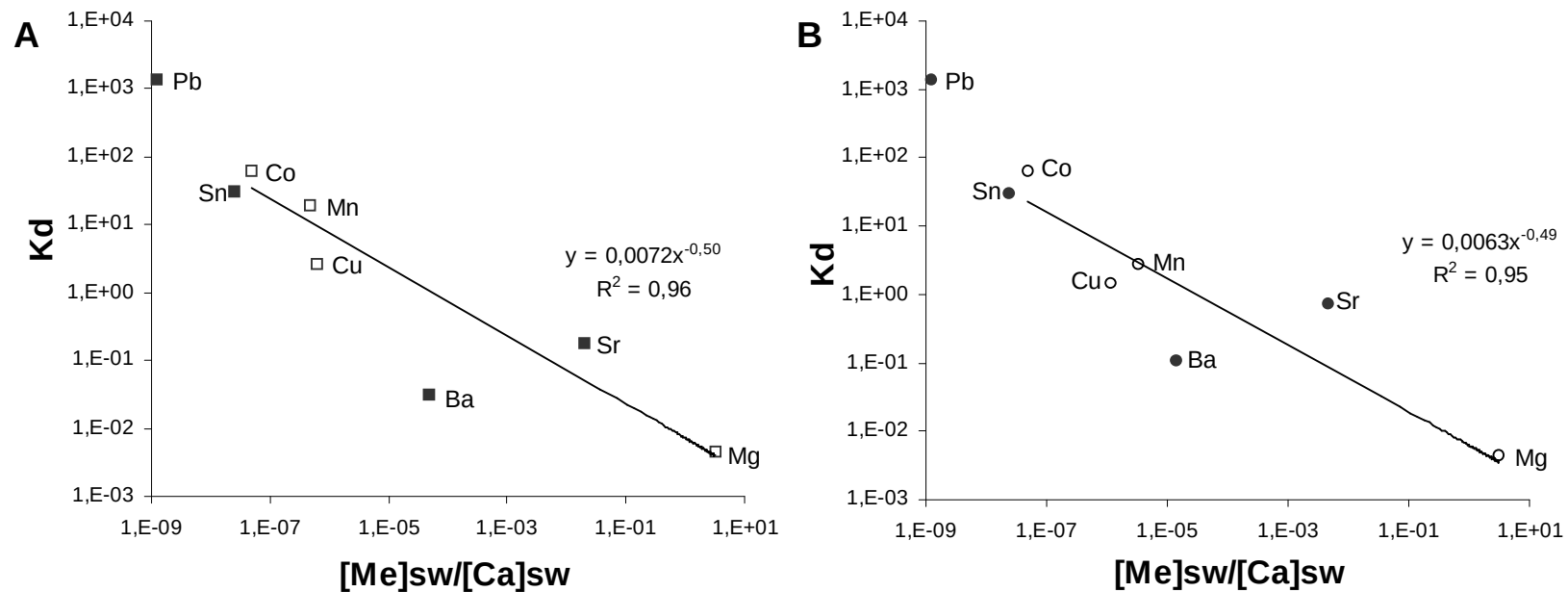


Figure II.2-4 Enrichment factors between the biogenic calcite (average shell concentrations obtained in shells from Roscanvel, n=20) and seawater according to seawater concentrations for minor and trace element normalized to calcium. Figure 5A is obtained for a literature seawater composition, whereas Figure 5B is for measured concentrations in bottom seawater at Roscanvel (May 2004). Elements presented with filled symbol are not included in the linear regression because their incorporations in the calcium carbonate lattice are not favoured: i. e. for Sr, Pb, Ba, $r_i > r_i(Ca)$ and Sn is not supposed to substitute for Ca^{2+} in calcite.

Mg^{2+} , Sr^{2+} and Ba^{2+} are well recognized to substitute Ca^{2+} in the $CaCO_3$ matrix (Lazareth et al. 2003; Lazareth et al. 2000; Lorrain et al. 2005; Raith et al. 1996; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 1999). Their calcite distribution coefficients are, however, lower than 1. The lower distribution coefficients of Ba and Sr can be accounted for preferential crystallization of these elements into the aragonite form. In both the field and laboratory, background Ba concentrations in *Mytilus edulis* shells are reported to be directly related to the Ba/Ca ratios of the water in which they grew (Gillikin et al. 2006). Field data obtained in our study provided an average background Ba/Ca partition coefficient (K_d) of 0.11 ± 0.01 . This value agrees with the K_d of 0.10 ± 0.02 previously determined in mussel shells by Gillikin et al. (2006). Background Ba shell concentrations, normalized to Ca data, are suggested to be a relevant specific indicator of salinity in estuaries considering the inverse relationship between Ba seawater concentration normalized to Ca and salinity (Gillikin et al. 2006). Although Mg is not enriched in the calcite shell ($K_d < 1$), it usually precipitates as a calcite structure. Limited uptake of Mg at the SWI may directly depend on its chemical form (i.e. $MgOH^+$ vs Mg^{2+} ; (Brown et al. 1989)), but also on competition with other minor cations during calcite precipitations (Ca^{2+} , Sr^{2+} , (Hartley and Mucci 1996; Mucci and Morse 1983; Zuddas and Mucci 1994; Zuddas and Mucci 1998)).

Figure II.2-4 display the inter-dependence between seawater and calcite shell concentrations. The enrichment factors determined for the different minor and trace elements are compared to concentrations normalized by the Ca concentration in seawater. These enrichment factors calculated for standard seawater composition can be predicted by seawater concentrations with the following equation:

$$K_d = 0.0045([Me]/[Ca])_{sw}^{-0.53} \text{ or } ([Me]/[Ca])_{shell} = 0.0045([Me]/[Ca])_{sw}^{0.47}. \quad (1)$$

This relationship accounts for a significant non-linear regression coefficient of $r^2=0.85$ ($n=8$), and reveals a direct assessment of shell background concentration using standard seawater composition. This relationship also highlights an impoverishment of minor or trace element shell concentrations relative to those in seawater. Different behaviors are nevertheless revealed for Pb, Ba and Sr, which are evidently supported by their preferential precipitation in an aragonite structure, while Sn is also suggested not to

substitute Ca^{2+} in the calcite structure. Removing these four specific elements, the regression relationship obtained for calcite structures is improved ($r^2 = 0.96$, $n = 4$):

$$Kd = 0.0072([Me]/[Ca])_{sw}^{-0.50} \text{ or } ([Me]/[Ca])_{shell} = 0.0072([Me]/[Ca])_{sw}^{0.5}. \quad (2)$$

The same calculation is performed with measured local seawater concentrations in May 2004 for Sr, Ba, Mn, and Cu. For all the elements, the following trend ($r^2=0.83$, $n=8$), is obtained:

$$Kd = 0.0061([Me]/[Ca])_{sw}^{-0.51} \text{ or } ([Me]/[Ca])_{shell} = 0.0061([Me]/[Ca])_{sw}^{0.49}. \quad (3)$$

This relationship agrees with the one obtained for standard seawater composition. The difference can be explained by higher concentrations of Sr and Ba in standard seawater with higher salinity. A lower deviation in the trend is thus expected for these two elements. Removing the same four exceptions (Pb, Sr, Ba, Sn) also results in an improvement of the relationship regression ($r^2=0.95$, $n=4$):

$$Kd = 0.0063([Me]/[Ca])_{sw}^{-0.49} \text{ or } ([Me]/[Ca])_{shell} = 0.0063([Me]/[Ca])_{sw}^{0.51}. \quad (4)$$

This equation is again similar to the one obtained for standard seawater composition.

All these relationships (1, 2, 3, 4) are similar and highlight that average background shell concentrations are mainly governed by the average concentrations of minor and trace elements in the seawater. Seawater composition of dissolved cations is thus suggested to be the main factor to control the order of magnitude for the minor or trace element enrichment in the CaCO_3 shell. However, significant attention must nevertheless be paid to the aqueous concentrations, species and to the specific structure of minor or trace element carbonates to extensively apply this type of result.

II.2.4.2.2. Relationship between TE shell enrichment and substituent ion solubility within the calcite shell matrix

Shell assimilation of minor and trace elements are previously suggested to depend on the local seawater composition. Solubility constants with carbonates may also help to predict the co-precipitation of such elements in the shell. The solubility constant of carbonates, K_s , is defined by: $K_s = [Me]_{diss} \times [Ca]_{diss}$ where $[Me]_{diss}$ and $[Ca]_{diss}$ are the

dissolved anion and cation concentrations in solution. Minor and trace element shell enrichments within carbonate matrices is favoured for the lower solubility constants. Solubility constants depend on the seawater temperature and salinity. The average salinity and temperature indicate low variability over the 7-year period: mean values being respectively of 34.0 ± 0.3 PSU and 14.5 ± 0.6 °C. The solubility constants were thus considered without specific correction for salinity and temperature in order to obtain only the general trend using available standard thermodynamic constants.

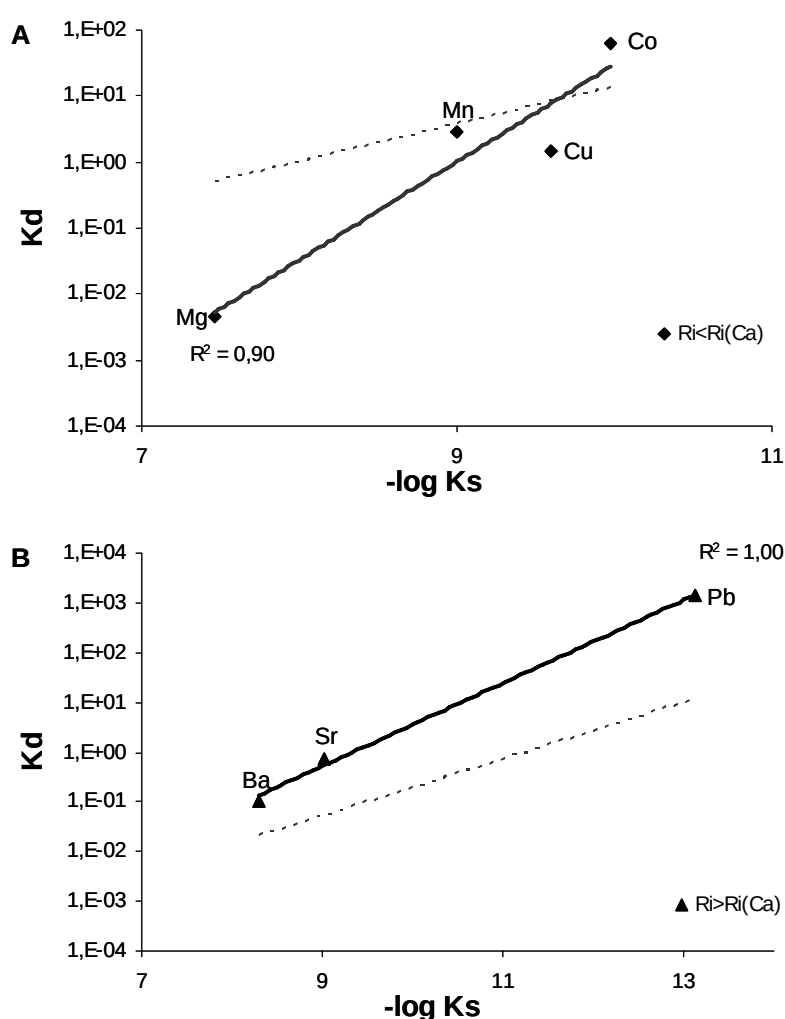


Figure II.2-5 Enrichment factors between the biogenic calcite and seawater (normalisation to Ca), according to solubility constant and ionic radii of the element. A) for elements with $r_i < r_i(\text{Ca})$ versus B) for those with $r_i > r_i(\text{Ca})$. Solid lines are obtained in this study and dashed lines by Rimstidt et al. (Rimstidt et al. 1998).

Enrichment factors are examined according to solubility constants of each element. Enrichment factors in the calcite mineral are normally related to the thermodynamic solubility constant which are also dependant on ionic radii of the cations which precipitate into calcite (Rimstidt et al. 1998). The distribution coefficients are compared to these 2 parameters in Figure II.2-5. Examination of enrichment factors, solubility constant and ionic radii thus allows us to evaluate elemental shell precipitation underlining the two relationships.

For the cations Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} and Cu^{2+} , the ionic radii are smaller than that for Ca^{2+} . These 4 elements precipitate also under a calcite structure. A first equation for Mg, Mn, Co and Cu is obtained:

$$Kd = 5.10^{-14} Ks^{-1.48} \text{ with } r^2=0.90, n=4. \quad (5)$$

For Ba^{2+} , Sr^{2+} and Pb^{2+} , the ionic radii are larger than for Ca^{2+} . These 3 elements form aragonite structure with carbonates. A second relation is then observed for Ba, Sr and Pb:

$$Kd = 2.10^{-8} Ks^{-0.83} \text{ with } r^2=1.00, n=3. \quad (6)$$

These results on biogenic calcite in scallops are then compared to those of Rimstidt et al. obtained experimentally for abiotic calcite (Rimstidt et al. 1998) (Figure II.2-5).

The relationships obtained for Ba, Sr and Pb, are similar showing however an offset which strongly indicates minor and trace element enrichments in biogenic calcite. For Mg, Mn, Cu, Co, literature trends are different from those observed in scallop shells. The Mn behavior appears nevertheless to fit with the literature data with abiotic calcite. For all the other elements, their precipitation into biogenic calcite shell does not follow the trend suggested for calcite mineral. The Mg and Cu are impoverished in biogenic calcite according to the mineral calcite, meanwhile Co is significantly enriched. The assimilation pathway and the physiology of bivalves are thus suggested to induce deviations in minor or trace element precipitation in biogenic calcite, especially for Mg, Co and Cu. Various trace metals were indeed found to be differently allocated and bioaccumulated in scallop organs on the French Atlantic coast (Bustamante and Miramand 2005). This type of elemental discrimination might also be reflected in the scallop enrichment.

Because the solubility constant of $\text{CaMoO}_4(\text{s})$ is known, the relationships (5) and (6) are examined, even if MoO_4^{2-} is suggested not to substitute calcium, to evaluate the distribution coefficient for Mo. This results in distribution coefficients of respectively, 0.02 and 0.06. These values are much higher than those calculated with the detection limit value ($K_d=0.0002$). This result argues against the precipitation pathway via Ca substitution observed for most of the trace elements and thus with the low enrichment of Mo in the shell.

These hypothetical trends obtained for biogenic calcite can however be a useful tool to evaluate the order of magnitude for background seawater composition (dissolved phase) according to background shell concentrations of minor and trace elements. The determination of background seawater levels of minor and trace elements is important to investigate the long term evolution of the seawater composition at the SWI, particularly in coastal seawater exposed to significant anthropogenic and hydroclimatic changes. The limitation of this approach is the occurrence of transient inputs of enriched particles originating from pelagic scavenging or from sediment resuspension (Chapitre III, partie III.1. and III.2.). These particulate inputs may provide dramatic shell enrichments that cannot be predicted by our hypothetical and theoretical trends.

II.2.4.3. Evaluation of annually integrated background shell concentrations over a 7-year period

Variations of Sr, Mn, Pb, Ba and Co background shell concentrations according to the different studied years are examined in the Figure II.2.6. The Mg in shells is not considered because of the little relevance of profile slopes (Table I.2-1). Inter annual variations of Sn and Cu shell concentrations are also not examined because of both low concentrations and high variability along the shell profiles ($\text{RSD}>20\%$).

The Sr shell concentrations exhibit a low inter annual variability with relative standard deviations usually below 10% (Table I.2-1). A significant correlation is observed with the average seawater temperature ($r^2=0.46$, $n=7$, $p<0.05$) (Table II.2-2). This tends to agree with previous studies which reported a main influence of calcification temperature (Freitas et al. 2006), or precipitation rate (Lorrain et al. 2005) on the Sr/Ca ratios in *Pecten maximus* shells.

Table II.2-2 Correlation matrix between average minor and trace element average shell concentrations, the shell growth rate and hydrological or biological parameters (average seawater temperature, salinity and chlorophyll a concentrations during the shell growth period) from the Bay of Brest (Roscanvel) over a 7-year period (1998 - 2004, n = 7). The correlation coefficients in bold present a probability $p < 0,05$. Mg profiles exhibiting steady state increasing concentrations, the slopes of the shell profiles were considered instead of the average shell concentrations. For Ba, only the background shell concentrations were examined.

	Mg (slope)	Mn	Co	Sr	Ba (bkg)	Pb	Shell growth rate	T	S	Chlorophyll a
Mg (slope)	1	0,28	-0,05	0,01	-0,04	0,16	-0,02	0,11	-0,47	0,53
Mn		1	0,10	-0,30	0,23	0,92	0,50	-0,67	0,48	-0,47
Co			1	0,33	0,99	0,05	0,51	-0,27	0,54	0,21
Sr				1	0,33	-0,29	0,33	0,68	0,23	0,31
Ba (bkg)					1	0,15	0,54	-0,31	0,62	0,13
Pb						1	0,60	-0,73	0,47	-0,52
Shell growth rate							1	-0,39	0,76	-0,43
T								1	-0,43	0,51
S									1	-0,65
Chlorophyll a										1

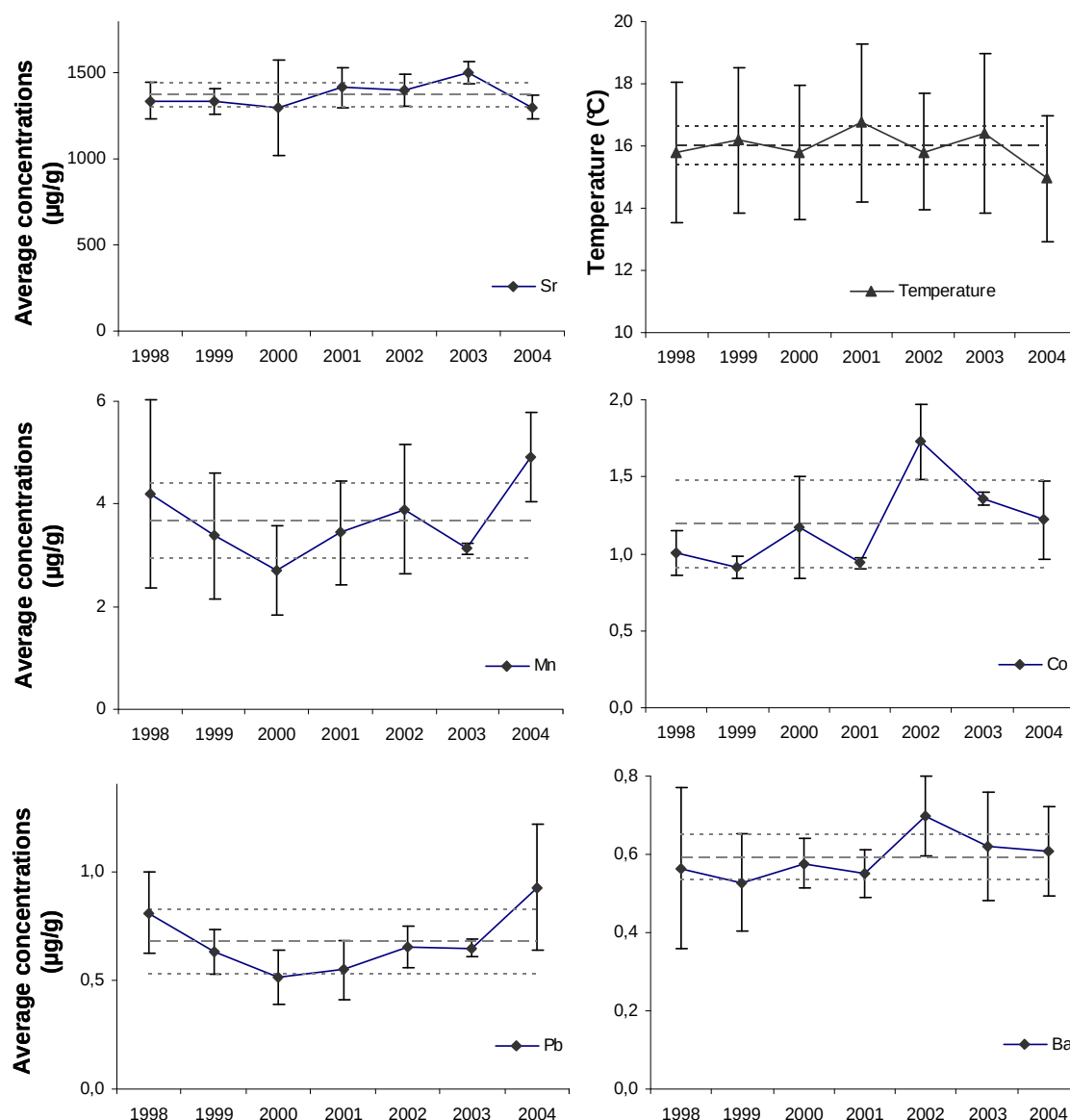


Figure II.2-6 Annual average concentrations of minor and trace elements (background average concentrations for Ba) in calcite shells collected in the Bay of Brest (Roscanvel) over the 7-year period (1998 to 2004), according to average shell concentrations (dashed line) and their standard deviations (dotted line) over this period. For Ba, only the background shell concentrations were examined. Variations of average seawater concentrations are also considered during the shell growth period (from mid-April to the end of November).

Average shell concentrations of Pb suggest similar inter-annual variations than those of Mn (Figure II.2-6). Average shell concentrations of Co and Ba exhibit also similar inter annual variations (Figure II.2-6). These similar patterns are also confirmed

by significant correlations shown in the Table II.2-2. The Pb shell concentrations present a positive correlation with Mn shell concentrations ($r^2=0.85$, $n=7$, $p<0.05$); and Ba shell concentration with those of Co ($r^2=0.97$, $n=7$, $p<0.05$) (Figure II.2-7). These similar behaviors are occurring for elements presenting very different ionic radii and solubility constants. The Ba^{2+} and Pb^{2+} have a ionic radius larger than those of Ca^{2+} , whereas those of Co^{2+} and Mn^{2+} are smaller than those of Ca^{2+} . Solubility constant for Pb is 10^{-13} whereas that of Mn is 10^{-9} . These results suggest that these inter element relationships (Pb vs Mn, and Ba vs Co) are independent of the precipitation pathway in the calcite shell. These relationships are suggested to be rather induced by similar sources at the sediment/water interface such as particulate scavenging or uptake, benthic inputs and riverine inputs.

Sedimentation of phytoplankton blooms can induce only transient inputs at SWI which can be considered as potential supplementary inputs (Chapitre III, partie III.1. and III.2.). These punctual pelagic fluxes can thus account neither for the relationship between background shell concentrations of Pb and Mn, nor with the one obtained between Ba and Co.

In summer, benthic remobilization due to more reduced conditions can occur at the SWI and may induce Mn and Pb release, associated with other trace elements at the SWI. The Co and Ba background shell concentrations however do not correlate with Mn background shell concentration. This benthic remobilization may thus be consistent neither with the negative correlation between Pb and Mn background shell concentration and the seawater temperature, nor with the relationship between Co and Ba. This process can nevertheless account for the specific Mn shell profiles showing increases of Mn concentrations in summer (Chapitre III, partie III.3.).

The Mn and Pb shell concentrations may also reflect the dissolved and particulate inputs from the rivers and subsequent remobilization at the SWI all along the year. The river flow rate usually increases from November to April, i. e. the period with colder freshwater temperatures. Variations of Mn and Pb average shell concentrations exhibit an opposite trend with the average seawater temperature (Figure II.2-6). The average seawater temperature presents a significant negative correlation with Mn and Pb (respectively, $r^2=0.45$ and 0.53 , $n=7$, $p<0.05$) (Table II.2-2, Figure II.2-7). These

correlations are significantly improved if the average seawater temperature is considered over the whole year (respectively, $r^2=0.55$ and 0.76 , $n=7$, $p<0.05$). These relationships probably underline that Mn and Pb shell concentrations may be related to specific crustal inputs in conjunction with hydroclimatic conditions. Crustal inputs are thus supposed to be the main source for the Pb and Mn shell background concentrations.

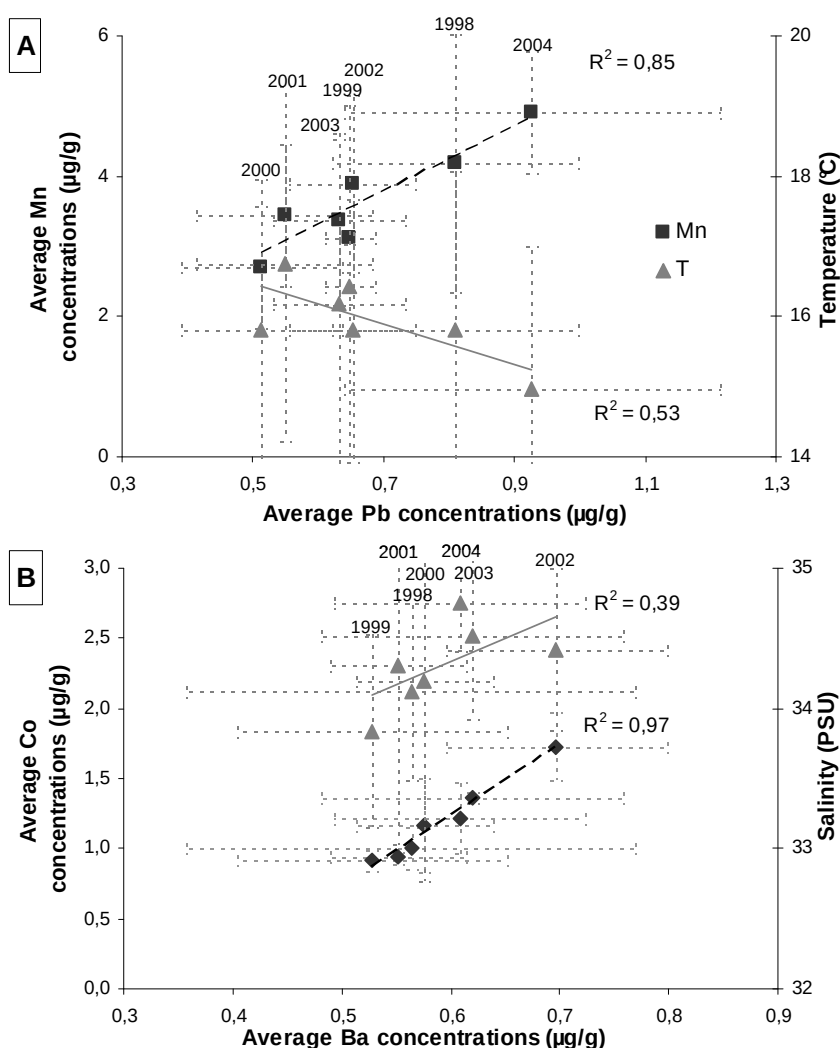


Figure II.2-7 Relationship obtained over the 7-year period (1998-2004) ($n = 7$) between: A) Pb versus Mn shell concentrations; B) Co versus Ba shell concentrations.

The Co and Ba shell background concentrations reveal the best correlation with salinity ($r^2 = 0.29$ and 0.38 , $n = 7$, $p = 0.14$ and 0.07) (Table II.2-2, Figure II.2-7). Even if these relationships are not significant, they may suggest that Ba/Co association is also related to hydroclimatic conditions, such as freshwater flow or upwelling. These elemental relationships may also suggest a similar behavior of these two elements at the SWI, i. e. similar partition between dissolved, complexed forms and the particulate phase. The speciation of Ba and Co at the SWI may thus allow better understanding the specific association between Ba and Co background shell concentrations, which remain to date unexplained.

II.2.4.4. Biosensing and chronicles of trace elements at the coastal sediment-water interface

Pecten maximus shells living at the SWI, their elemental skeletal concentrations reflect the bioavailability of each element in the shell's environment. Variations in trace element concentrations in a common community reveal a high reproducibility of shell profiles. This result confirms that the shell composition is a relevant tool to investigate environmental conditions at the SWI. The examination of background shell concentrations and its variability may provide new information on the long term evolution of the ecosystem. Shell background composition is first demonstrated to be significantly influenced by the seawater composition, solubility constants, ionic radii of trace element cations and their normal structure of precipitation. Different processes can also account for the diagenetic availability of trace elements at the SWI, the bioavailability for shells and thus the background shell enrichments, such as marine pollution, and riverine inputs and sedimentary inputs. Shell background concentrations of *Pecten maximus* shells may thus potentially monitor the quality of the seawater composition at a coastal SWI and thus to further investigate long term evolution of coastal environments.

Acknowledgment

This work was supported in the framework of two research programs: ACI PECTEN (French Ministère de la Recherche) and “Suivi Erika” (INERIS, French Ministère de l'Environnement). Thermo Electron Company is thanked for the loan of the

ICP-MS. A.B. acknowledges the Aquitaine Region (ORQUE project) for her Doctoral fellowship.

Synthèse analytique

La technique de microanalyse directe par ablation laser - spectrométrie de masse à plasma inductif couplé (LA-ICP-MS) a été mise en oeuvre pour la détermination quantitative des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium (CaCO_3). Compte tenu du manque de matériaux certifiés en CaCO_3 , jusqu'à aujourd'hui un seul matériau MACS-1 en cours de certification et ayant des concentrations nominales importantes $100 \mu\text{g.g}^{-1}$, des étalons de CaCO_3 ont donc été produits pour analyser, de façon quantitative, avec le type de laser disponibles (UV, 266nm), les éléments traces dans des matrices carbonatées. Des pastilles étalons de CaCO_3 ont ainsi été préparées par coprécipitation avec ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{HCO}_3$) pour différentes concentrations en éléments traces. Ces étalons ont été démontrés homogènes sur toute la surface de la pastille et leur utilisation a été validée grâce à l'analyse de matériaux de référence certifiés riches en Ca ou en cours de certification. Ce type d'étalonnage s'est révélé performant conduisant à des analyses quantitatives sensibles (limites de détection de quelques à un dizaine de ng.g^{-1}) pour une large gamme de concentrations en éléments traces ($0\text{-}500 \mu\text{g.g}^{-1}$). Cette méthode de quantification apporte ainsi un potentiel important pour l'analyse des éléments traces dans les matrices carbonatées.

Cette technique analytique a ensuite été adaptée pour l'analyse quantitative des éléments traces contenus le long des stries de croissance calcitique de la coquille Saint Jacques *Pecten maximus*. Les différentes étapes méthodologiques sont récapitulées dans la Figure II.2-8. Les stries sont préalablement ablatées pour éviter toute potentielle contamination de surface et sont ensuite analysées tous les 3 stries. Les signaux obtenus sont intégrés, puis normalisés par rapport au ^{43}Ca afin de s'affranchir de potentiels dérives et instabilités liées au couplage (étape 1). La comparaison de ces signaux normalisés obtenus pour les stries avec ceux obtenus pour les pastilles étalons de CaCO_3 (étalonnage externe, étape 2) a conduit à la détermination des concentrations en éléments traces dans chaque strie analysée. Des photographies au microscope électronique à balayage (MEB) de toute la section de coquille analysée (étape 3) ont ensuite permis le recalage temporel. En effet, compte tenu du rythme de croissance atypique de la coquille, i. e. la formation d'une strie de croissance journalière, une date a

pu être attribuée à chaque strie ce qui a permis la définition de profils chronologiques (annuels) et à haute résolution temporelle (3 jours) des concentrations élémentaires le long des stries de croissance de la coquille. Les analyses menées sur différents bivalves d'une même population (année et site) ont révélé tout d'abord une bonne reproductibilité de ces profils au sein d'une même population, mais aussi une typologie similaire de ces profils élémentaires pour différents écosystèmes.

La signification des profils coquilliers des éléments traces a ensuite été évaluée, c'est-à-dire les facteurs environnementaux contrôlant l'incorporation des éléments traces dans la coquille. Les profils coquilliers ont été examinées en fonction des conditions environnementales, plus particulièrement pour un site d'étude de référence situé en Rade de Brest (Roscanvel, France). Compte tenu des profils élémentaires obtenus, montrant aucun enrichissement significatif de ces concentrations (excepté pour le Mo et le Ba), seules les concentrations de fond ou moyennes ont été examinées. Les variations interannuelles des concentrations de fond de certains éléments (Mn et Pb, Ba et Co) ont soulignées des comportements similaires suggérant une assimilation ou des sources similaires. Les concentrations de fonds moyennes enregistrées au cours de l'année semblent traduire les conditions environnementales et hydroclimatiques moyennes. Elles ont été directement liées aux concentrations des éléments en phase dissoute de l'eau de mer environnant le bivalve, aux constantes de solubilité de ces éléments dans les carbonates et aux structures de précipitation (Figure II.2-9). Des relations empiriques ont été établies entre les concentrations des éléments dans les coquilles (calcite biogène), celles en phase dissoute dans l'eau, les constantes de solubilité dans les carbonates (K_s) et les structures de précipitation. Ces relations, dont la pertinence a été évaluée sur une période de 7 ans dans la rade de Brest, pourraient, à terme, permettre la prédiction des concentrations élémentaires dans l'eau grâce à l'utilisation des concentrations dans les coquilles. Ceci conduirait ainsi à un suivi environnemental à haute fréquence (journalier) des conditions environnementales rencontrées par le bivalve. L'utilisation de ces relations n'est toutefois pas valide pour l'étude des enrichissements récurrents périodiques ou saisonniers observées par exemple dans la rade de Brest pour le Mo et le Ba.

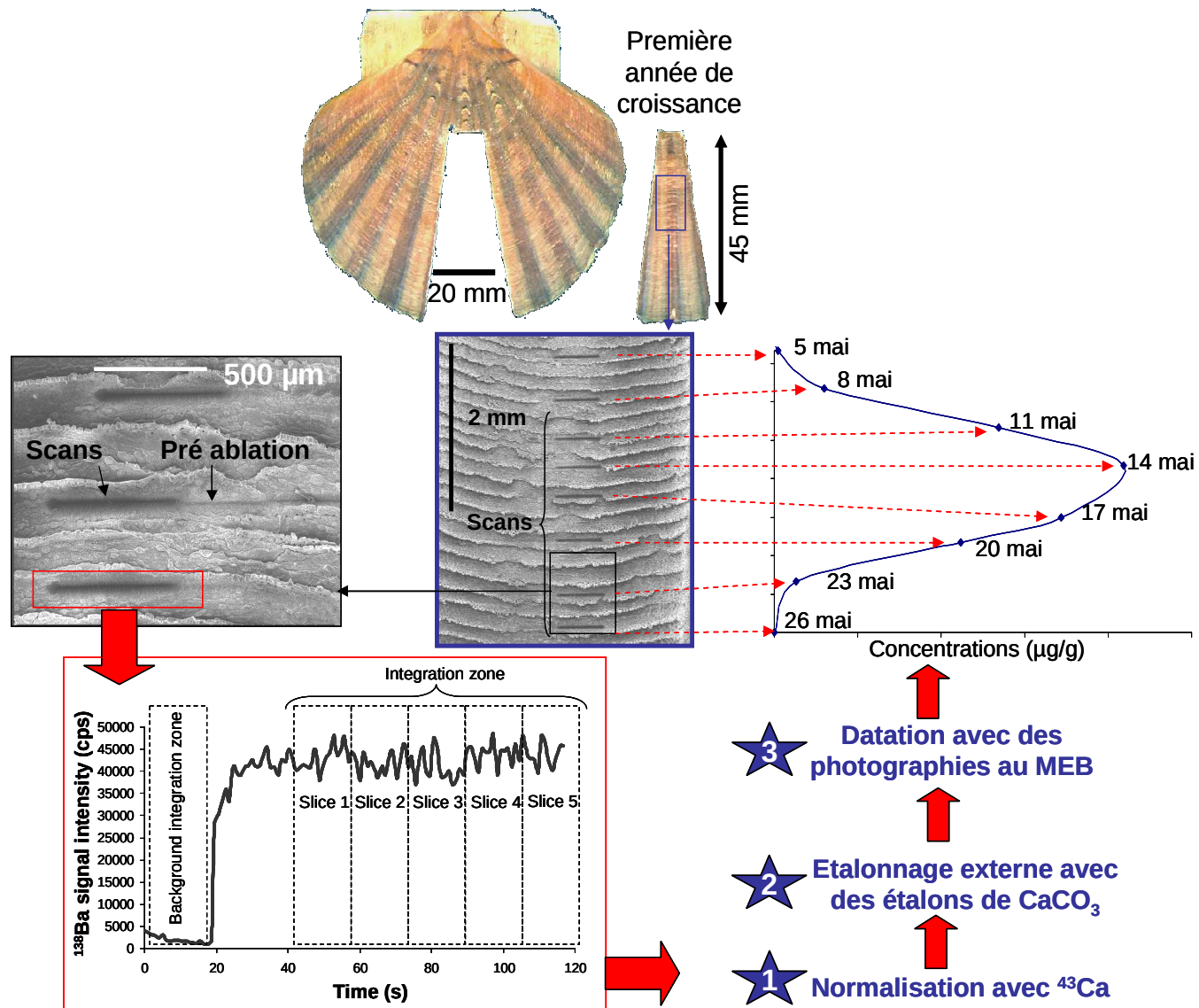


Figure II.2-8 Utilisation du couplage de l'ablation laser ICP-MS pour l'analyse des éléments traces dans les stries journalières de calcite des coquilles Saint Jacques.

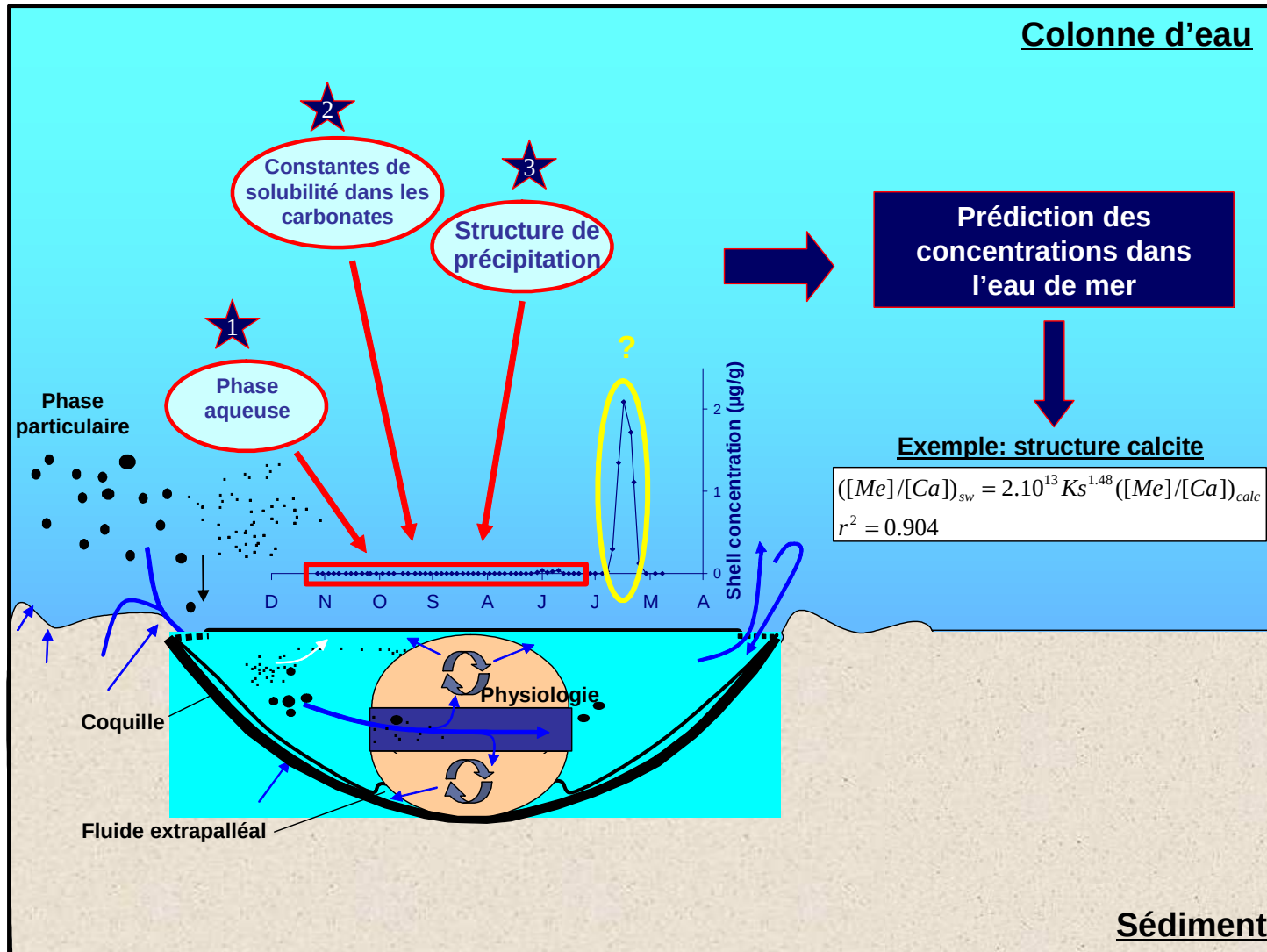


Figure II.2-9 Représentation schématique des principaux facteurs influençant les concentrations coquillières de fond des éléments traces dans la coquille Saint Jacques.

**Chapitre III Enrichissements épisodiques du Mo, Ba et Mn
dans la calcite des coquilles Saint Jacques comme témoin de
processus biogéochimiques des environnements côtiers**

III.1. Variations journalières des concentrations en molybdène dans la coquille de *Pecten maximus* (L.): un proxy des efflorescences printanières des diatomées dans les environnements côtiers tempérés?

Daily variations of molybdenum concentrations in the shell of the Great Scallop *Pecten maximus* (L.): a proxy of spring diatom blooms in temperate coastal environments?

A. Barats¹, D. Amouroux^{1*}, C. Pécheyran¹, L. Chauvaud², J. Thébault², G. Siquin³, O.F.X. Donard¹

(1) LCABIE-UPPA, CNRS UMR 5034, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2 avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

(2) IUEM-UBO, CNRS UMR 6539, Technopole Brest-Iroise, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

(3) GME-UBO, UFR des Sciences & Techniques, 6 av. Victor Le Gorgeu - CS 93837 - 29238 Brest, France

Soumis

Résumé: Les stries de croissances des coquilles Saint Jacques (*Pecten maximus*) ont été examinées pour leurs concentrations en molybdène. Les variations journalières des concentrations coquillières en Mo ont été mesurées toutes les 3 stries (3 jours) dans des coquilles juvéniles collectées dans des environnements côtiers tempérés (Bretagne, France) et comparées sur une période de 6 ans (1998 à 2003). Ces profils coquilliers ont révélés de faibles variations interindividuelles (<30%, n=3), et un profil particulier commun à toutes les années et les sites étudiés. Ce profil est défini par des concentrations de bruit de fond généralement inférieures à la limite de détection et par des enrichissements significatifs et transitoires, généralement au mois de mai. La comparaison de ces concentrations en Mo et de la biomasse phytoplanctonique mesurée dans la même zone (Roscanvel, baie de Brest, France) révèle une coïncidence, statistiquement prouvée, entre les enrichissements du Mo dans la coquille et les efflorescences phytoplanctoniques printannières dominées par des diatomées (*Rhizosolenia spp.*, *Pseudonitzschia spp.*, *Chaetoceros spp.*). Les enrichissements du Mo dans la coquille sont suggérée être liés à l'assimilation trophique d'efflorescences de diatomées, ou de leur déposition, plutôt qu'à des flux benthiques (remobilisation). Ce résultat indique que les enrichissements coquilliers significatifs du Mo pourraient être des indicateurs potentiels de la dynamique printannière des diatomées dans les environnements côtiers tempérés.

III.1.1. Abstract

Calcite growth striae of the Great Scallop shells *Pecten maximus* were investigated for their skeletal Molybdenum (Mo) concentrations. Following daily increments of shell, variation in the Mo concentration in calcite was measured in juvenile valves (age class 1) collected in coastal environments (Brittany, France). From several populations, daily variations of Mo shell concentration were compared between 1998 and 2003. Every third daily striae (50-400 μm wide) was analysed. The Mo concentrations showed low inter-individual variations ($< 30\%$, $n = 3$), with a background concentration below the Mo detection limit (1.8 ng.g^{-1}) and an intense concentration peak, usually occurring in Spring (May), for all sites and all years. The comparison between Mo shell concentration profiles and phytoplankton biomass measurements at a coastal monitoring site (Roscanvel, Bay of Brest) revealed a significant coincidence between Mo spring peak events and spring phytoplankton blooms, dominated by diatom species (e.g. *Rhizosolenia spp.*, *Pseudonitzschia spp.*, *Chaetoceros spp.*) which was statistically significant. These results suggest that Mo shell uptake is probably induced by trophic assimilation of diatom blooms or their deposits, rather than benthic flux remobilization. This major hypothesis indicates that the ubiquitous Mo concentration peak recorded in shells might be used as a proxy of diatom dynamics in temperate coastal environments.

Keywords: Great Scallop shells, Mo, calcium carbonate, diatoms, spring blooms, *Pecten maximus*, paleoproxy, trace elements

III.1.2. Introduction

In the recent years, numerous investigations demonstrate the potential use of biogenic CaCO_3 elemental and isotopic composition as proxies in the marine environment (Vander Putten et al. 2000, Cravo et al. 2002). Trace element composition of these biominerals is specifically shown to be related to biogeochemical processes. A number of geochemical tracers are commonly employed in corals (Cardinal et al. 2001, Sinclair et al. 2004, Wyndham et al. 2004). The magnesium and strontium coral composition is mainly used to determine past fluctuation of surface seawater temperature (Cardinal et al. 2001; Schrag 1999; Sinclair et al. 1998; Smith et al. 1979). Barium and cadmium coral compositions are expressed as potential tracers of ocean upwelling (Lea et al. 1989; Reuer et al. 2003). Lead, zinc, or copper concentration variations in corals provide an indicator of anthropogenic inputs (Esslemont et al. 2004; Fallon et al. 1999). The main drawbacks of using corals for paleobiomonitoring studies are their low growth rate and the difficult visualisation of their growth pattern.

Bivalve shells grow regularly through an incremental deposit of calcium carbonate layers. The shell is thus able to preserve a temporal record of the chemical environment and physiological state that the bivalve experienced during its life cycle. Some bivalves have the specificity to exhibit some temporal marking, which allow use of the shell like a chronological record. Following this assumption, several investigations demonstrate the potential use of bivalve shells elemental composition as archives of proxies for coastal biogeochemical processes. Variations in sea-surface temperature are shown to proportionally influence the strontium and magnesium content in bivalve shells (Gillikin et al. 2005a; Lazareth et al. 2003; Lorrain et al. 2005). Specific phytoplankton blooms are also found to increase the barium content in the calcium carbonate matrix of bivalve species (Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). Soft tissues of *Mytilus* shells provide an interesting alternative in the Mussel Watch programs that are conducted worldwide for the biomonitoring of heavy metal pollution (Beliaeff et al. 1997; O'connor 1998). Anthropogenic inputs are also highlighted by increased lead, zinc, copper or silver concentrations in skeletal structure of mussel shells (Gillikin et al. 2005b; Giusti et al. 1999; Puente et al. 1996; Richardson et al. 2001). The interpretation of these various studies is to date limited by the poor time resolution that can be achieved by the different

bivalve species investigated (*Mercenaria mercenaria*, *Mytilus edulis*, *Isognomon ephippium*). For most of these bivalve species, only seasonal trace element variations can be distinguished in the shell, providing an approximate chronology and avoiding the possibility of any dating of the observed phenomena.

Pecten maximus grows in coastal environments over a wide spread range of latitudes (30° to 60° N). At temperate latitudes such as in Brittany, it exhibits (i) a fast daily growth rate (max 350 µm per day) and (ii) the longest growth season (from mid-April to end-November) during the second year of life (Chauvaud 1998; Chauvaud et al. 2005). In *Pecten maximus*, juvenile daily growth lines are visible on the upper part of the left valve. Chauvaud et al. (1998, 2005) demonstrated that such stria could be used to describe the growth history of the organism at a daily scale. This bivalve deposits daily calcite increments on the shell during its growth period. This shell growth period is nevertheless limited both by seawater temperature (scallop grows only if $T_{sw} > 9-10\text{ }^{\circ}\text{C}$), and massive or toxic phytoplankton blooms (Lorrain et al. 2000; Owen et al. 2002a; Owen et al. 2002b) Shell growth rate itself should be thus considered as a proxy because seawater temperature, and primary production affect this biological parameter (Christophersen and Strand 2003; Cravo et al. 2002; Laing 2002; Saout et al. 1999).

The variations of trace element concentrations and isotopic composition measured within the calcite of shell increments can be thought as an archive for several environmental proxies (Chauvaud et al. 2005; Lorrain et al. 2005). *Pecten maximus* is a non-selective filter feeder ingesting all compartments of particulate organic matters from suspended microphytobenthos to detritus (Chauvaud et al. 2005; Lorrain et al. 2005). The trophic uptake of this material is directly dependent on the biogeochemical composition at the seawater/sediment interface, which also influences the trace element composition of the suspended material.

Several previous studies have focussed on Sr, Mg, Pb, Mn, or Ba shell contents, but none on skeletal Mo (Lorrain et al. 2002). Cations (Sr^{2+} , Mg^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Ba^{2+}) can readily substitute for calcium, although Mo, being probably an anionic species, probably cannot substitute for Ca (Collier 1985).

Interest on sedimentary Mo record as a paleoenvironmental indicator of anoxia has increased (Adelson et al. 2001; Chaillou et al. 2002; Crusius et al. 1996; Elbaz-

Poulichet et al. 2005). Molybdenum is one of the most abundant transition group metals in seawater with a concentration averaging 110 nmol.l^{-1} in marine environment (Collier 1985). Mo is mainly present as the oxy anion MoO_4^{2-} in oxygenated environment, and is essentially conservative in pelagic waters suggesting little influence of biogeochemical processes on its abundance (Collier 1985). Coastal Mo distribution is governed by freshwater-seawater mixing (Dalai et al. 2005).

In seawater, molybdenum assimilation by cyanobacteria and phytoplankton is an essential catalytic factor for the majority of N_2 -fixing organisms and many nitrate reductase systems (Collier 1985; Hille 2002). Mo availability may act to limit N fixation in marine ecosystems, and consequently, may limit primary productivity (Cole et al. 1993; Marino et al. 1990). Various marine phytoplankton species have been investigated for their cellular contents of Mo (Ho et al. 2003). An average and rather homogeneous concentration of $3.3 \text{ mmol Mo/mol of P}$, or $3.1 \text{ } \mu\text{mol/l}$ of cellular volume has been measured. This concentration obtained under identical culture conditions is apparently independent of the phytoplankton species and does not exhibit any specific assimilation related to the phylogenetic origin of the investigated species, as can be observed for other micronutrients (Ho et al. 2003; Quigg et al. 2003). Benthic organic matter originating from the sedimentation of phytoplankton blooms can provide changes of redox conditions at the seawater/sediment interface (SWI). Under suboxic diagenetic conditions, the reduction of sedimentary manganese oxides can lead to Mo release in the overlying water as MoO_4^{2-} dissolved species (Crusius and Thomson 2000; Dalai et al. 2005; Morford et al. 2001). Released Mo can also be re precipitated (authigenesis) into Mo-Fe-S forms, but only under strict anaerobic conditions (Erickson and Heltz 2000; Sundby et al. 2004; Tribouillard et al. 2004; Zheng et al. 2000).

Increasing analytical development of Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (LA-ICP-MS) allows sampling the shell calcite at sub millimetre scales for multi elemental and quantitative analyses with less than hundreds of ng.g^{-1} detection limits (Becker 2005a; Belloto and Mikeley 2000). The overall aim is to examine Mo concentration variability in CaCO_3 scallop shells *Pecten maximus* as a potential signature of biogeochemical processes occurring at the SWI. The comparison between variations of Mo shell concentration with scallop shell growth rates, together with

hydrobiological conditions monitored at reference coastal stations, is presented in order to distinguish different processes for Mo incorporation in the shells. Finally, hypothetical pathways are proposed in order to evaluate potential use of Mo shell concentrations as an indicator for temperate coastal environmental changes.

III.1.3. Materials and methods

III.1.3.1. Scallop shell sampling and sampling sites

Three replicates of live juvenile *P. maximus* specimens were collected for each year and site (Brittany, France; Figure III.1-1). The three stations sampled (Roscanvel, Quiberon and Belle Ile) provided ecosystems with their own ecological characteristics. Shells originating from open coastal ecosystems were sampled off Belle Ile (47°2N, 3°1W) and off Quiberon (47°3N, 3°0W). The main sampling zone was Roscanvel (48°2N, 4°3W) in the Bay of Brest. This bay is a 180 km² semi-enclosed coastal macro-tidal ecosystem connected to shelf waters (Iroise Sea) by a narrow (2 km wide) and deep (40 m) strait. There are five watersheds responsible for freshwater inputs in the Bay, but those from the two main rivers, the Aulne (1842 km²) and the Elorn (402 km²) make up 80% of the total freshwater inputs. These waters are well mixed by the tides; the tidal variation reaching 8 m during spring tides, which represents a tidal prism of 40% of the high tide volume. Roscanvel (30 m deep), the studied site, is characterised by an oscillating current during flood tide, by mixed sediments, and by one of the highest scallop densities in the Bay (Chauvaud et al. 1998).

Scallops were collected by scuba diving in Roscanvel station and by dredging for the other ecosystems. For convenience reasons related to the growth striae visualisation and the flatness of the shell, only the flat valve part was considered for LA-ICP-MS analysis. The shells were cleaned with glacial acetic acid (Merck, analysis grade) for 60 seconds, thoroughly rinsed with 18.2 M Ohm milli-Q water and dried overnight. This cleaning step was of importance in order to remove bio-fouling and inorganic particulate matter at the surface layer of the shell that prevents distinct striae identification. A 45x10 mm² cross section corresponding to the first year of growth was then cut along the axis of maximum growth rate with a diamond saw to fit into the ablation cell of the laser.

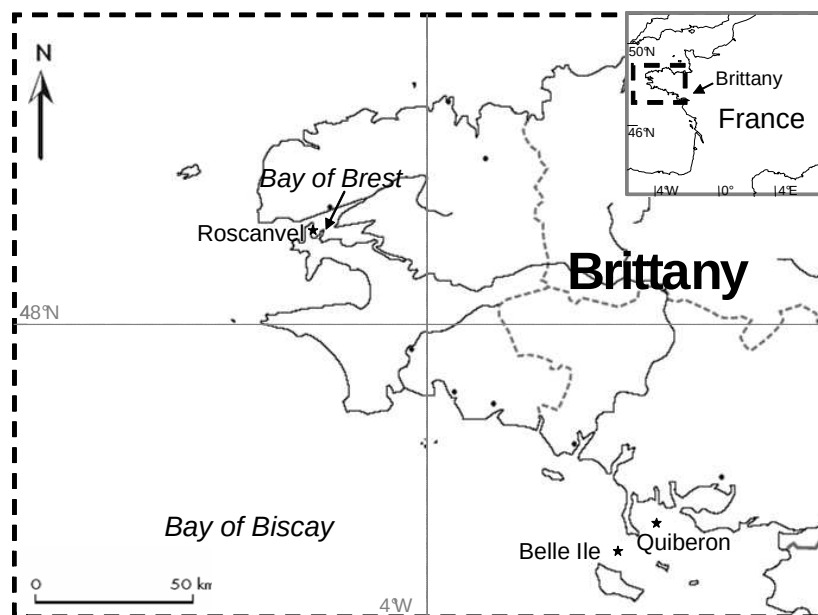


Figure III.1-1 Map of the investigated area (Brittany Coast, Bay of Biscay) showing the three sampling zones in Brittany, France: Belle Ile (47°2N, 3°1W), Quiberon (47°3N, 3°0W), Roscanvel in the Bay of Brest (48°2N, 4°3W). Scallop shells were collected by scuba diving in Roscanvel and by dredging for the other ecosystems.

III.1.3.2. Determination of Mo and trace element concentrations in calcite shell by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometer (LA-ICP-MS)

The basic principle of the LA-ICP-MS method consists of coupling a UV laser ablation unit (LSX 100 UV 266 nm, Cetac) to an ICP-MS (X7 serie, Thermo Electron). The technical details for analysis of scallop shells is described elsewhere (Chapitre II.1.) and succinctly in previous investigations (Chiffoleau et al. 2004) Thébault et al., in preparation). The operating conditions were the same for analyses of scallop shells, except the following: the laser was operating at a defocus of 500 μm and at a rate of 5 $\mu\text{m.s}^{-1}$ (for analysis); the ICP-MS was used with Pt cones and without the collision cell.

Single line raster ablation mode was chosen because it provides a better signal stability than crater mode and a spreading of the surface sampling. Such sampling was preferred to avoid sample heterogeneity, critical for biological samples such as shells. Samples were analysed during 2 min at a line raster speed rate of 5 $\mu\text{m.s}^{-1}$. Results of each isotope profile were normalised by the ^{43}Ca isotope to correct for instrumental drift

and instability. Quantitative analyses were performed with an external calibration using lab prepared CaCO_3 pellets containing Mo concentrations ranging from 0.042 to 3.81 $\mu\text{g.g}^{-1}$. The protocol used for the preparation of these standards was adapted from Belloto et al. (2000) and described elsewhere (Chapitre II.1.).

The Mo calibration curve displayed a good linearity with a correlation coefficient r^2 above 0.99. Detection limits were calculated from the standard deviation on blank samples and the slope of the calibration curves. The Mo detection limit was about 2.6 ng.g^{-1} .

For shells, an ablation scan was made for each third stria to limit the analysis time to approximately 5 hours per sample. Scallop shells forming a daily calcite stria, temporal resolution of the sampling was about 3-days. A pre cleaning ablation of the calcite surface was conducted in order to avoid surface contamination (Wyndham et al. 2004). This pre cleaning step consisted in a quick (around 20 s) pre-ablation of shell surface at a rate of 50 $\mu\text{m.s}^{-1}$. As with the standards, the pre ablated surface was analysed during 2 min at a rate of 5 $\mu\text{m.s}^{-1}$. Ablated striae were 600 μm long and 80 μm wide. Scallop analyses provided a concentration profile of the target isotopes according to each sampled stria.

A date of formation was assigned to each ablated sample, by backdating from the harvest date, based on the daily periodicity of striae formation in *P. maximus*. An estimate of the shell growth rate (dorso-ventral linear extension of the shell per unit time), expressed in $\mu\text{m.d}^{-1}$ was then made for each shell by measuring distances between successive striae (growth increment width) using an image analysis technique described by (Chauvaud 1998).

III.1.3.3. Environmental monitoring

Seawater salinity, temperature, and phytoplankton speciation originated from a reference station in the Bay of Brest at Lanvéoc (48°18N, 4°27W), nearby Roscanvel sampling zone, as part of littoral environment monitoring program lead by Ifremer (database, <http://www.ifremer.fr/envlit/>). Chlorophyll a data also originated from the Lanvéoc station (Ifremer database) and from measurements at the SOMLIT station (48°21N, 4°33W), as part of monitoring activities of the Intitut Universitaire Européen de

la Mer (http://www.univ-brest.fr/IUEM/observation/observation_iroise.htm). The database of seawater nitrate also originated from the SOMLIT station.

A statistical data treatment was performed to highlight environmental parameters influencing variations of Mo shell concentration. Bravais Pearson tests and principal component analysis (PCA) was performed with Stabox for Windows Ver. 6 (Grimmer Softwares, France).

III.1.4. Results

III.1.4.1. Significance of the Mo concentration profiles along the scallop shells

The Mo shell concentration profiles exhibited variations along the year with significant transient peaks (Figure III.1.2). A first evaluation of the occurrence of these Mo shell concentration peaks was performed before understanding the potential origin of such variations. The interpretation of these variations could only be achieved if Mo profiles reveal similarity for all the shells of a specific community (e.g. juvenile population at one location) with reproducible transient peaks versus time and concentration. The Mo concentrations were investigated first for a specific juvenile Scallop community of the same growth year to assess the inter-shell reproducibility of Mo profiles. Skeletal Mo content of different sites was then considered to determine if different communities display similar variations in Mo shell concentration profiles. The Mo shell concentration profile was finally examined over a six year survey in the Bay of Brest in order to reveal potential biogeochemical processes related to these significant variations.

III.1.4.1.1. Ubiquitous occurrence of a Mo shell concentration peak in scallop communities among different coastal environments (Brittany)

Three shells from Belle Ile were analysed for the year 2000. The Mo concentrations of the three shells showed a similar profile with average background concentrations below the detection limit, and an average Mo peak intensity of $1.65 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$ (%RSD=4) (Figure III.1-2). These maximum concentrations occurred simultaneously in all shell samples, during spring time and whatever the population (14

May 2000 ± 3 days). This result demonstrated that Mo variations exhibited statistically a high reproducibility among a single scallop population.

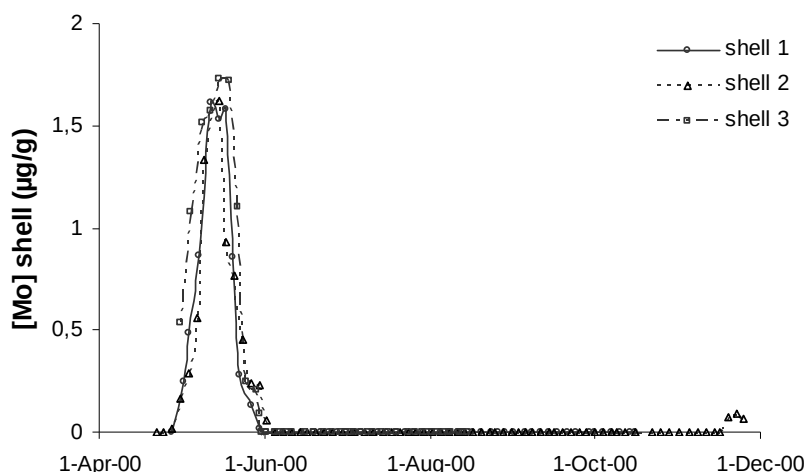


Figure III.1-2 Comparison of Mo concentration profiles of three scallop shells, from Belle Ile, during the year 2000, to evaluate the inter shell reproducibility of Mo variations. Mo shell profile exhibits a maximum of concentration of $1.65 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$ occurring the 14th May ± 3 days.

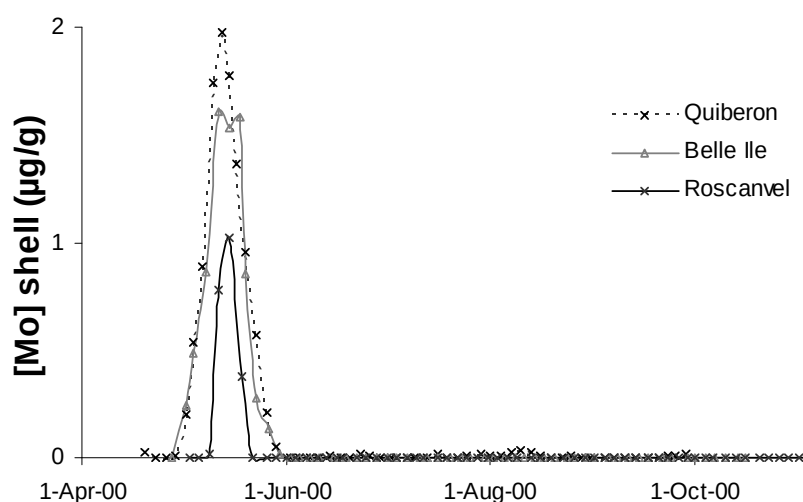


Figure III.1-3 Comparison of Mo concentration profiles in 2000 from the investigated locations to examine Mo concentration peak ubiquity. The maxima of Mo shell concentration occurs the 14th May, the 15th May and the 16th May with an uncertainty of 3 days, respectively in Belle Ile, Quiberon, Roscanvel. Intensities of these Mo maxima are respectively about 1.65 ± 0.06 , 1.81 ± 0.17 , $1.04 \pm 0.35 \mu\text{g.g}^{-1}$.

For the same year 2000, shells from Quiberon (n=3), Roscanvel (n=3) were analysed. The Mo concentration variations are displayed in Figure III.1-3.

For each site, Mo shell concentration profiles showed similar background content below the detection limit (Table III.1-1). A significant Mo concentration peak occurred during spring time at all locations with maximum concentrations ranging between 1 and 2 µg/g. This Mo shell concentration peak was dated as the same period of May for all investigated sites corresponding to the first major bloom period occurring in coastal water of Brittany in 2000. Most of these Mo concentration peaks could be defined by about 10 sampling points along the shell (1 point every 3 days), which corresponded to a duration of about a month (30 days). The most intense section of this Mo concentration peak located on the shell was generally characterised by a period of 15 to 21 days (i.e. 5 to 7 sampling points) for all locations. The intensity of these Mo concentration peaks was site-dependent (Table III.1-1).

Table III.1-1 Molybdenum background and peak concentrations in the three study sites

Concentrations (µg/g)		Mean	SD	%RSD	date
Belle Ile (n=3)	bkg	<DL			
	peak 1	1,65	0,06	4	14-May-00
Quiberon (n=3)	bkg	<DL			
	peak 1	1,81	0,17	10	15-May-00
Roscanvel (n=3)	bkg	<DL			
	peak 1	1,04	0,35	34	16-May-00

The most intense Mo signals were observed in Belle Ile and Quiberon (maximum around 2 µg/g). The comparison of the Mo shell concentration profiles from the different sites investigated in Brittany provided a reasonable assessment of strong inter-population similarities of Mo uptake by Scallop communities within these coastal temperate environments. This significant finding indicated a common spring time Mo shell concentration peak at all sites and underlined specific and ubiquitous processes involved in such coastal ecosystems.

III.1.4.1.2. Recurrence of the Mo shell concentration peaks in a Scallop community among a 6-year period in the of Bay of Brest (Brittany)

An inter-annual population study was carried out over a six-year period, from 1998 to 2003, at a reference station located at Roscanvel site (Bay of Brest). The Mo concentrations along shell profiles ranged between 0 to 2.2 $\mu\text{g.g}^{-1}$. These profiles provided a general recurrent pattern for Mo concentration variations along the shell for all years, except in 2003 (Table III.1-2, Figure III.1-4). For all years, background concentrations along the shell profiles are below the detection limit. During spring time (May-June), a significant concentration peak occurred with variable intensities among the different years. The relative standard deviation obtained from analysis of 3 scallop shells for each year was usually less than 30% for such spring peak. Additional peaks were also measured from June to late summer, but exhibited lower intensities than the first spring time event.

Table III.1-2 Molybdenum background (bkg) and peak concentrations (listed in the time order of the peak) over a 6-year period in Roscanvel (* average of the 2 standard deviations obtained respectively for the 2 shell average concentrations).

Concentrations ($\mu\text{g/g}$)		Mean	SD	%RSD	Date
1998	bkg	<DL			
(n=3)	peak 1	0,703	0,276	39	2-Jun-98
	peak 2	0,124	0,068	55	1-Jul-98
1999	bkg	<DL			
(n=3)	peak 1	0,193	0,120	62	5-May-99
2000	bkg	<DL			
(n=3)	peak 1	1,04	0,35	34	16-May-00
2001	bkg	<DL			
(n=3)	peak 1	1,53	0,56	37	16-May-01
	peak 2	0,055	0,041		22-Jun-01
2002	bkg	<DL			
(n=2)	peak 1	0,121	0,030*	25	8-May-02
	peak 2	0,069	0,045*	66	5-Jun-02
2003	bkg	<DL			
(n=3)	peak 1	1,15	0,07	6	1-Jun-03
	peak 2	1,00	0,06	6	19-Jul-03
	peak 3	0,231	0,100	43	3-Sep-03
	peak 4	0,332	0,049	15	27-Sep-03
	peak 5	0,491	0,122	25	9-Oct-03

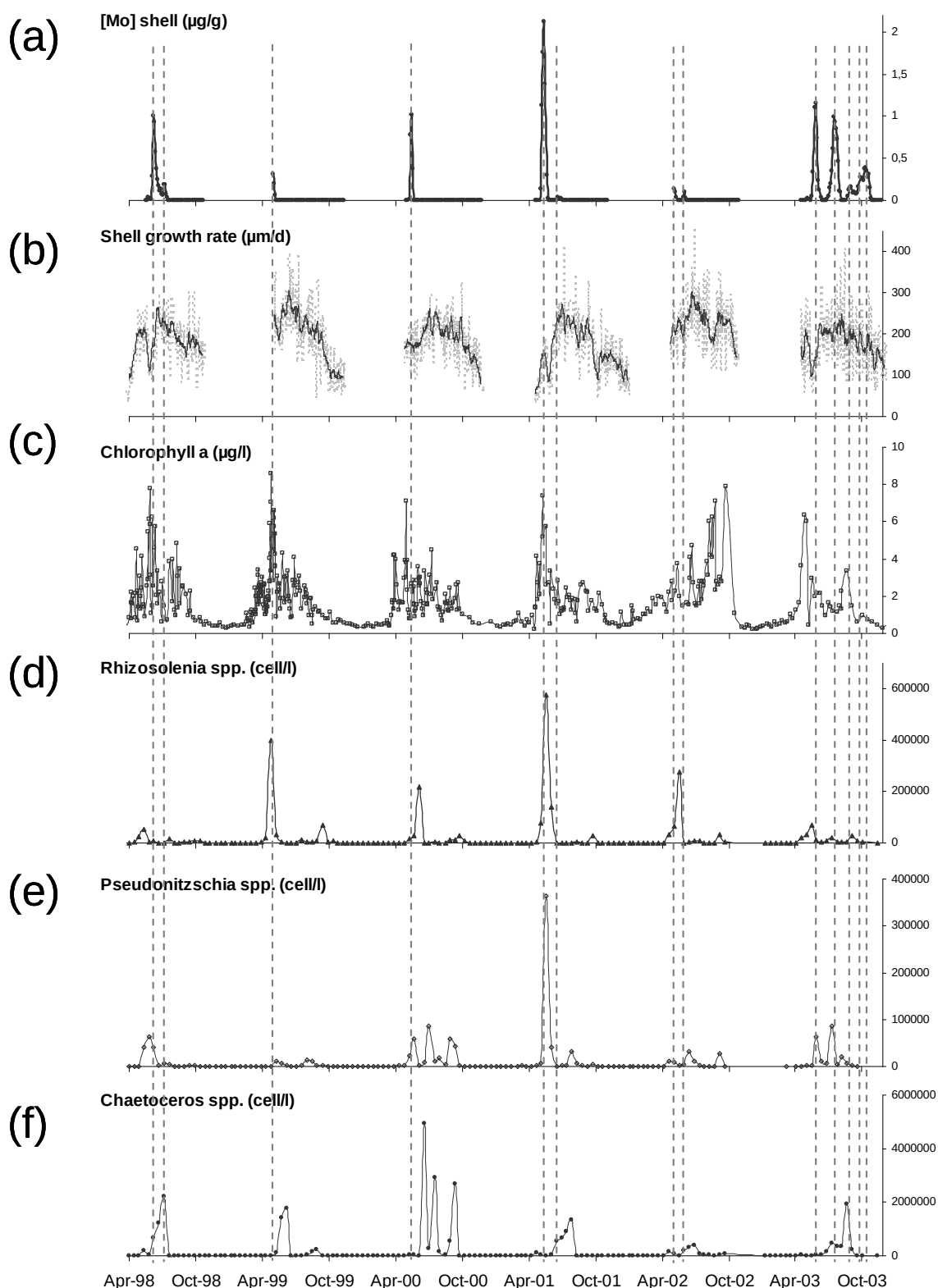


Figure III.1-4 Mo concentration profiles in shells from Roscanvel over a 6-year period (1998-2003) (a) compared to: (b) shell growth rate and its average on 8

days; (c) chlorophyll a concentration in seawater; and phytoplankton diatom species of: (d) *Pseudonitzschia spp.*, (e) *Rhizosolenia spp.*, (f) *Chaetoceros spp.*. For each year, only results obtained for one shell on Mo profile and growth rate are represented. Chlorophyll a and phytoplankton speciation data (respectively weekly and 15-day temporal resolution) are originating from a reference station in the Bay of Brest at Lanvéoc (48°18N, 4°27W) and the SOMLIT station (48°21N, 4°33W), nearby Roscanvel sampling zone.

Spring time Mo concentration peak intensities presented high variability according to the year. The lowest concentration peak was observed in 2002 ($0.069 \pm 0.045 \mu\text{g.g}^{-1}$), while the highest occurred in 2001 ($1.53 \pm 0.56 \mu\text{g.g}^{-1}$). The year 2003 exhibited an unusual Mo concentration profile with 5 significant peaks from May to October. A first specific spring time Mo concentration maximum at $1.15 \pm 0.07 \mu\text{g.g}^{-1}$ occurred early-June (1 Jun. 2003), and was followed by 4 others in summer ($1.00 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$, 19 Jul. 2003; and $0.231 \pm 0.100 \mu\text{g.g}^{-1}$, 03 Sep. 2003) and in autumn ($0.332 \pm 0.049 \mu\text{g.g}^{-1}$, 27 Sep. 2003; $0.491 \pm 0.122 \mu\text{g.g}^{-1}$, 9 Oct. 2003).

This survey over a 6-year period at Roscanvel station in the Bay of Brest first demonstrated the inter-annual recurrence of Mo shell concentration variations exhibiting significant spring time peak events for all years. Second, this intense Mo concentration peak was statistically reproducible among a specific community of juvenile scallops and could be observed at various locations along the coast of Brittany. The specific spring time Mo shell concentration peak was characterised by its occurrence during the period of May to June, which may correspond to ubiquitous biogeochemical processes in coastal temperate environments at that time of the year.

III.1.4.2. Comparisons of Mo shell concentration profiles with shell growth rate and phytoplankton characteristics

The Mo shell concentration peaks were compared to two types of parameters available in this work. The Mo variations were first compared to shell growth rate and then to ecological constraints (i.e. biological turn over). Ecological conditions were controlled through phytoplankton dynamics following chlorophyll a and phytoplankton speciation variations. The influence of different variables was resolved by principal component analyses (PCA) that allow distinction of the principal factor statistically

related to the peak Mo shell concentration events. Shells collected at Roscanvel zone (Bay of Brest) were studied in this section.

III.1.4.2.1. *Shell growth rate*

The Mo profiles were plotted with shell growth rate data at the Roscanvel station. Shell growth rates showed some drastic slow down at the end of May for all the years investigated. Several additional declines in shell growth were also observed in 2000 and during late summer period in 2001 (August) and 2002 (October) (Figure III.1-4).

Except for the year 1999 and 2002, spring decreases of shell growth rate were usually observed during the first *Pseudonitzschia spp.* blooms (particularly in 2001). Nevertheless, later blooms of comparable intensity did not occur during a period of shell growth rate anomaly.

Growth decreases were not systematically concomitant to an increase of Mo shell concentration. For the years 1998 and 2003, a decrease of shell growth rate was followed in the next 15 days by an increase of Mo concentration in shells. For the years 1999 to 2002, the maxima of Mo concentrations in shells were not related to posterior growth rate decreases. They mainly occurred before (1999, 2001), or during a period without a significant growth anomaly (2000, 2002).

III.1.4.2.2. Phytoplankton biomass

Phytoplankton dynamics was studied through chlorophyll a concentrations in surface seawater. The Mo concentration profiles were plotted in Figure III.1-4 with chlorophyll a monitoring data in the Bay of Brest. Chlorophyll a concentrations displayed a general pattern with an intense peak of concentration during Spring followed by a slow decrease in summer to background concentration in autumn, except in 2002. During this exceptional year, chlorophyll a data exhibited increasing background concentration with the most intense sharp concentration peak at the end of September. For all the shells analysed, spring Mo concentration peak was concomitant, or with a short lag, to an intense chlorophyll a concentration peak. For the year 2002, Mo variations presented a weak increase of Mo concentration in shells about $0.121 \pm 0.030 \mu\text{g.g}^{-1}$ (%RSD=25)

dated in early May (8 May 2002 $\pm$ 3 days). Simultaneously, chlorophyll a concentrations exhibited also a low maximum of concentration (8 May 2002, 2.79 $\mu\text{g.l}^{-1}$). The year 2003 remained unusual for Mo shell concentrations profiles. Indeed, chlorophyll a concentrations showed later in the summer three intense peaks during the study period. Concomitant chlorophyll a concentrations maxima (21 May 2003, 2.96 $\mu\text{g.l}^{-1}$; 4 Jul. 2003, 1.62 $\mu\text{g.l}^{-1}$; 25 Aug. 2003, 3.36 $\mu\text{g.l}^{-1}$) preceded by several few days three Mo shell concentration peaks (1 Jun. 2003; 19 Jul. 2003; 3 Sep. 2003). The other Mo concentration peaks (27 Sep. 2003 and 9 Oct. 2003) could not be related to significant chlorophyll a concentration maxima.

III.1.4.2.3. Diatom species

To further identify the role of the phytoplankton dynamics on Mo shell concentration profiles, an extensive study was performed with complementary monitoring data on the identification and quantification of phytoplankton species in the Bay of Brest (more than 100 species). During spring time, the major phytoplankton species were diatoms (Chauvaud et al. 1998; Lorrain et al. 2000). The Mo shell data were compared with concentrations of the major diatom species (cell/l) occurring during Mo shell peak concentration periods. Only three genera (*Rhizosolenia* spp., *Pseudonitzschia* spp. and *Chaetoceros* spp.) were examined because of their recurrence and dominance during Mo shell enrichments among the 6-year period (Figure III.1-4).

A general pattern for *Rhizosolenia* spp. was observed, with an intense spring bloom between end April - early June period. A less intense bloom occurred later in the year, from July to September. For the 6 year period investigated, the first spring bloom was systematically coincident to a Mo concentration peak in Scallop shells. During the period of increased shell Mo concentration, this species was usually predominant in the Bay of Brest. However, in 1998, this was not the major species, but simultaneous to a *Chaetoceros* spp. bloom (61% of total biomass). Other blooms during the year did not induce other Mo concentration peaks, except in 2003. For this unusual year, monitoring data exhibited another trend for *Rhizosolenia* spp.. Three different blooms were

developed with fluctuating peak concentrations from April to August. The first bloom is the dominant species (71%) and the two last blooms were concomitant with *Chaetoceros spp.* blooms (respectively, 60% and 74% of total cell). For each *Rhizosolenia spp.* blooms in 2003, increases of Mo concentration occurring in the shell were either coincident or subsequent. On the other hand, intensities of maximum of Mo concentration were not linked to intensity of these blooms for all the years investigated. *Rhizosolenia spp.* variations may be a significant factor to explain Mo shell spring concentration peak in the Bay of Brest.

A general pattern for *Pseudonitzschia spp.* was observed with an intense spring bloom between mid May - early June period (2 peaks for 2002) and later weak maxima of concentration from early July to early September. The first spring bloom of each year was systematically concomitant with a Mo concentration peak in the shells, but not the predominant species. These spring blooms were simultaneous to a *Rhizosolenia spp.* bloom and preceding a *Chaetoceros spp.* bloom. In May 2000, *Pseudonitzschia spp.* was the predominant species. For remaining years, the two other species (*Rhizosolenia spp.* and *Chaetoceros spp.*) represented the major abundance. For the year 2003, the summer *Pseudonitzschia spp.* bloom was the most intense (15 Jul. 2003, 86200 cell.l⁻¹, 11% of total cell) and just preceded the intense Mo maximum concentration defined on 19th July. *Pseudonitzschia spp.* concentrations in 2000 presented also the most intense peak in July, but no increase of Mo shell concentration was observed then. The first spring *Pseudonitzschia spp.* bloom may be thus related to the first spring increase of Mo concentration. Other later *Pseudonitzschia spp.* blooms were not systematically concomitant with an increase of Mo shell concentration.

The Mo shell concentration increase occurred systematically before the higher concentration of *Chaetoceros spp.* bloom, except for the year 2003. For this year, two summer Mo maxima (19 Jul. 2003 and 3 Sep. 2003) were preceded by dominant *Chaetoceros spp.* blooms. The increase of Mo shell concentration of early September (3 Sep. 2003) agreed also with a decrease of shell growth rate; but Mo maximum intensity remained low ($0.231 \pm 0.100 \mu\text{g.g}^{-1}$, %RSD=43). The Mo increase at the end of July (19 Jul. 2003) was intense ($1.00 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$, %RSD=6) and seemed related to the 3 diatom blooms on 15th July: a *Chaetoceros spp.* bloom (60% of total cell), to a

Pseudonitzschia spp. bloom (11% of total cell) or to a *Rhizosolenia* spp. bloom (2.7% of total cell). *Chaetoceros* spp. development could not be considered as the only direct factor for spring Mo concentration variations along shell profiles, except perhaps for the latter Mo concentration maxima in 2003.

III.1.4.3. Principal component analyses

Multivariate statistical analyses by PCA were conducted to distinguish environmental factors associated with an increase of Mo concentration in shells. The Mo maximum events were defined by their maximum intensity and their corresponding Julian date. The Mo shell spring increase was significant over a 15-21 day period. Environmental parameters were integrated over a 3-week period: two weeks before - one week after the Mo maximum of concentration. This 3-week period also allowed us to take into account an eventual response delay between changes at the SWI and its response in the shell. Shell growth rate average, seawater temperature and salinity average, maximum chlorophyll a concentration, and maximum diatom concentrations (*Chaetoceros* spp., *Pseudonitzschia* spp. and *Rhizosolenia* spp.) were thus integrated over a three-week period.

The correlation coefficients and the PCA are displayed in Table III.1-3, Table III.1-4 and Figure III.1-5.

Table III.1-3 Principal component (PC) analysis of Mo peak (date and intensity), during Mo peak period, shell growth rate average, maximum of Chlorophyll a, *Chaetoceros* spp., and *Rhizosolenia* spp.

Variables	PC1 (57%)	PC2 (15%)
Mo peak date	14	8,0
Mo peak intensity	5,2	39
Shell growth rate average	9,8	1,1
Chla max height	12	11
Max. <i>Chaetoceros</i> spp.	3,5	14
Max. <i>Pseudonitzschia</i> spp.	8,5	20
Max. <i>Rhizosolenia</i> spp.	15	0,0029
Seawater temperature	15	4,5
Seawater salinity	18	2,8

Table III.1-4 Correlation matrix for Mo peaks and during Mo peak period, shell growth rate average, maxima of Chlorophyll a, *Chaetoceros spp.*, and *Rhizosolenia spp.*

Variables	Mo peak date	Mo peak intensity	Shell growth rate average	Chl a max height	Max. <i>Chaetoceros spp.</i>	Max. <i>Pseudonitzschia spp.</i>	Max. <i>Rhizosolenia spp.</i>	Seawater temperature	Seawater salinity
Mo peak date	1	-0,22	0,49	-0,72	0,23	-0,38	-0,71	0,78	0,89
Mo peak intensity		1	-0,42	0,25	-0,39	0,71	0,32	-0,22	-0,39
Shell growth rate average			1	-0,56	0,30	-0,48	-0,44	0,57	0,58
Chl a max height				1	0,04	0,37	0,58	-0,69	-0,83
Max. <i>Chaetoceros spp.</i>					1	-0,17	-0,41	0,50	0,28
Max. <i>Pseudonitzschia spp.</i>						1	0,66	-0,30	-0,55
Max. <i>Rhizosolenia spp.</i>							1	-0,77	-0,82
Seawater temperature								1	0,88
Seawater salinity									1

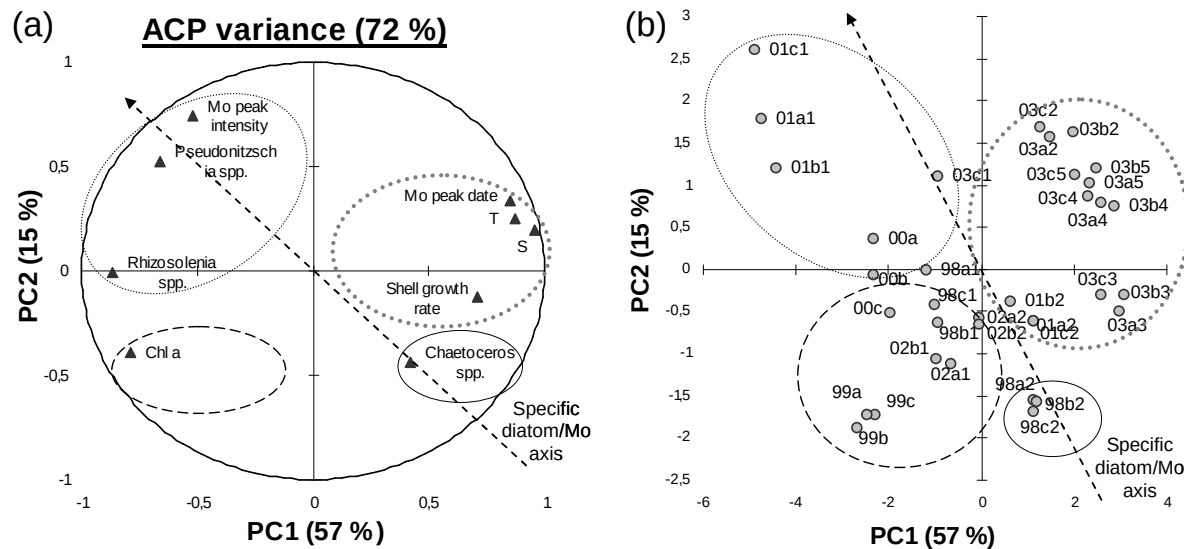


Figure III.1-5 Principal component analysis for Roscanvel shells for the 6-year period (1998-2003). This statistical representation retains 72% of the total variance with 57% for the first PC and 15% for the second PC. The first PC is mainly explained by climatic conditions whereas the second by Mo peak intensity (contribution of 39%). A specific axis related to maximum of Mo shell concentration and diatom species is represented, expressing the statistical variability of Mo maximum intensity according to diatom species. (a) Four main clusters of variables are highlighted: a first expressed seasonal characteristics; the second, variables associated to Mo concentration peak intensity; the third, the variability of maximum concentration of *Chaetoceros spp.*; the last, the variability of the maximum concentration of chlorophyll a. (b) Four clusters of the Mo shell concentration peaks: first, the 2001 intense Mo spring; second, the 1998 weak Mo maxima; third, the 2003 later Mo shell maxima; and the last, Mo maxima of intermediate concentrations.

Correlation coefficients of Mo peak intensity with other variables exhibited the best correlations with maximum of *Pseudonitzschia* spp. ($r^2=0.50$, $p<0.01$, $n=35$) the best anti-correlations with shell growth rate average ($r^2=0.17$, $p<0.01$, $n=35$). Seawater salinity and temperature average presented a linear regression with Mo peak date; with positive slope and correlation coefficients respectively of $r^2=0.79$ ($p<0.01$, $n=35$, Bravais Pearson test) and 0.61 ($p<0.01$, $n=35$). Seawater salinity were also associated with maximum of chlorophyll a concentrations ($r^2=0.69$, $p<0.01$, $n=35$) and *Rhizosolenia* spp. ($r^2=0.67$, $p<0.01$, $n=35$). These relationships corresponded obviously to the seasonal dynamics of the bloom period and not to an influence of the seawater temperature or salinity to the intensity of the Mo shell peak date. A significant correlation was obtained between chlorophyll a concentrations with the maximum concentration of *Rhizosolenia* spp. ($r^2=0.34$, $p<0.01$, $n=35$), and an anti-correlation with shell growth rate average ($r^2=0.31$, $p<0.01$, $n=35$). The correlation between chlorophyll a and *Pseudonitzschia* spp. was significant, although weakly correlated ($r^2=0.14$, $p<0.01$, $n=35$). Otherwise, *Pseudonitzschia* spp. displayed a relevant interdependence with *Rhizosolenia* spp. ($r^2=0.44$, $p<0.01$, $n=35$).

Statistical representation (Figure III.1-5) exhibits the first two principal components (PC) which retain 72% of the total variance. The first PC (57% of the total variance) revealed seasonal or climatic conditions. The second PC (15% of the total variance) was mainly explained by Mo peak intensity (contribution of 39%). In this PCA result, four main clusters of variables were highlighted (Figure III.1-5a). The first expressed seasonal characteristics: seawater temperature, salinity, shell growth rate average and Mo peak date variability. The second exhibited variables associated to Mo concentration peak intensity: maximum concentration of *Pseudonitzschia* spp. and *Rhizosolenia* spp. variance. The third group provided mainly the variability of maximum concentration of *Chaetoceros* spp. The last cluster highlighted the variability of the maximum concentration of chlorophyll a.

A specific axis related to maximum of Mo shell concentration and diatom species is thus suggested in Figure III.1-5, expressing the statistical variability of Mo maximum intensity according to diatom species. In this representation, four clusters of the Mo shell concentration peak were defined (Figure III.1-5b). First, the intense Mo spring peak in 2001 suggested an association with *Pseudonitzschia* spp. and *Rhizosolenia* spp. variables. Second, the weak Mo concentration maximum at the end-June 1998 was related to *Chaetoceros* spp. variable. The Mo shell maxima later

in 2003 provided a third group related to seasonal variables. A last cluster presented Mo maxima of intermediate concentrations which was not associated to only one group of variables, but probably to mixed diatom blooms.

III.1.5. Discussion

III.1.5.1. Mo shell concentration peaks and intensity as function of specific biogeochemical variables

Study on Mo shell peaks and biogeochemical variables at the SWI reveals major influential factors. The major cause for the occurrence of Mo shell peaks is suggested to be induced by phytoplankton dynamics. For each year (1998-2003), a Mo shell spring concentration maximum occurs simultaneously or with a short lag with the most intense increase of seawater chlorophyll a concentration. Since two Mo spring events (1998 and 2003) are coincident with a sharp decrease of the shell growth rate, occurrence of spring Mo increases of concentration can not be directly explained by shell physiological constraints. Nevertheless, previous studies at the Roscanvel station demonstrate that these decreases in shell growth rate are induced by phytoplankton dynamics: either by a toxic dinoflagellate bloom (*Gymnodinium spp.*) or by a specific diatom bloom (*Rhizosolenia delicatula*, *Chaetoceros sociale* or *Cerataulina pelagica*) (Chauvaud et al. 2001; Chauvaud et al. 1998; Lorrain et al. 2000). Blooms of another diatom species *Pseudonitzschia australis* might also be toxic for scallops due to its production of domoic acid (Campbell et al. 2003).

Since spring phytoplankton dynamics are dominated by diatom species, the Mo shell maximum events are thus considered to be related to diatom blooms. The occurrence of these blooms during the period of increased Mo shell concentration (May-June) reveals three recurrent major species: *Rhizosolenia spp.*, *Pseudonitzschia spp.* and *Chaetoceros spp.*. The simultaneity of these three species, particularly *Rhizosolenia spp.* and *Pseudonitzschia spp.*, with these Mo shell concentration maxima is suggested to result from a Mo input to the *P. maximus* shell induced by the spring diatom bloom events. The PCA confirms this trend leading to a statistically significant inter dependence between these diatom species and Mo concentration peak intensities. Thus, the biogeochemical dynamics of these diatom

species are hypothesized to influence both Mo concentration maxima occurrence and intensity.

A specific axis reported in Figure III.1-5 shows shell Mo maximum intensity according to diatom species. Early in Spring, maxima of Mo shell concentrations are intense and statistically associated with *Pseudonitzschia spp.* and *Rhizosolenia spp.* blooms. In later Spring, Mo shell peak concentrations are low and may be induced by another diatom species such as *Chaetoceros spp.*. Late Mo maxima events might be rather induced by unusual climatic conditions and subsequent atypical phytoplankton dynamics, perhaps caused by warm conditions in 2003.

III.1.5.2. Potential processes related to Mo uptake into Scallop shell during peak events

Kuzendorf et al. (2001) reported that elevated Mo concentrations in sediments may be mainly influenced by nitrogen fixer blooms. The occurrence and intensity of Mo shell maxima are thus suggested to be related to biological processes, particularly to diatom blooms. The process of Mo shell assimilation induced by specific biological dynamics has yet to be elucidated. Two pathways are discussed in order to exhibit the most probable hypothetical processes. Both direct Mo trophic uptake from phytoplankton biomass, and benthic Mo remobilisations contributing to the Scallop shell, are considered respectively (i.e. either Mo associated with diatom sedimentation, or benthic remobilization from diatom sedimentation leading to epibenthic suboxia).

III.1.5.2.1. *Influence of hydroclimatic conditions on Mo shell uptake*

Mo shell uptake can be considered to be indirectly induced by the hydroclimatic dynamics in the Bay. In coastal ecosystems, seawater/freshwater mixing can govern Mo abundance and distribution (Dalai et al. 2005). The Mo seawater concentration in coastal waters can thus be influenced by river floods. Molybdenum is nevertheless well known for its conservative seawater concentration (about 110 nmol.l⁻¹) (Collier 1985). The Mo shell variations and seawater salinity are compared to know if freshwater inputs (dissolved Mo, or Mo-enriched particles) provide Mo shell enrichment. No decrease of seawater salinity can be associated

with a Mo shell concentration peak. However, hydroclimatic conditions govern occurrence of phytoplankton blooms and their maximum concentration. Sedimentary resuspension can also occur during river floods or storm events, but as mentioned before none of these events (seawater salinity, wind speed) are concomitant to Mo shell concentration increases (Lorrain 2002). Examination of physical processes related to hydroclimatic dynamics thus cannot yield insight into the occurrence of Mo shell increases of concentration.

Scallop uptake from sedimentary particles originating from the Bay of Brest might provide a contribution. The Mo concentrations measured, at the same location, in the 2 first cm of sediment, during spring time, was around $8.76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ (Annexe VI.2.3). Similar Mo concentrations were already measured in sediments from the Bay of Biscay in France (Chaillou et al. 2002). An enrichment factor may be calculated for the ratio between Mo concentrations in sediment and in crust. The Mo enrichment factor is close to 1 suggesting a low standing Mo stock in surface sediments.

Phytoplankton sedimentation can also induce redox changes at the SWI. Sedimentary Mo release is related to the suboxic diagenesis via the reductive dissolution of iron and manganese oxyhydroxides (Chaillou et al. 2002; Crusius et al. 1996; Elbaz-Poulichet et al. 2005; Morford et al. 2005). This benthic flux contribution could be assimilated by Scallop shells. The Mo stock in a 30m-depth water column ($1\text{m}^2 \times 30\text{m}$) is estimated to be 3.3 mmol, whereas it is only 87.6 μmol in 2 cm-depth surface sediment ($1\text{m}^2 \times 2\text{cm}$). Suboxic remobilisation would contribute only to a small fraction of dissolved Mo at SWI (maximum 5%). The Mo sedimentary release remains thus negligible due to the low standing Mo stock in surface sediments. Preferential particle uptake and time coincidence between Mo shell maxima and specific diatom blooms are not consistent with a hypothetical benthic contribution for Mo shell uptake.

III.1.5.2.2. Mo pelagic biogenic source

Metal bioaccumulation in hard carbonate shells of marine organisms is suggested to be mainly induced by a dietary uptake of metal bound to particles, especially for bivalve species (Luoma and Rainbow 2005). Dissolved Mo being conservative in seawater (Collier 1985), Mo uptake into Scallop shells during Mo maximum events would lead preferentially to an uptake of Mo enriched particles. A

direct trophic transfer from seawater biogenic particles is thus considered for Mo shell enrichment. Seawater MoO_4^{2-} species are shown to be assimilated by phytoplankton species (Cole et al. 1993; Howarth et al. 1988; Marino et al. 1990; Paulsen et al. 1991). After intense phytoplankton blooms, vertical mixing and decaying biomass materials provide biogenic particles downward transport to the SWI. Dietary uptake of these biogenic particles may provide important Mo inputs to the shell.

Study on trace element bioaccumulation in scallop tissues and organs reveal the greatest concentration of Mo in the digestive gland (Bustamante and Miramand 2005). Preliminary measurements on *Pecten maximus* species from Roscanvel station (January 2003) lead also to the highest Mo concentration in digestive gland ($16 \pm 6 \mu\text{g.g}^{-1}$) which represents 69% of the total Mo in the bivalve (soft tissues plus shell) (Annexe VI.2.3). In addition, the Mo in digestive gland appears to be mostly bound to a soluble fraction (Bustamante and Miramand 2005). These Mo soluble compounds would be related to their binding to cytosolic proteins in the digestive gland (Bustamante and Miramand 2005). Scallop digestion of biogenic particles would thus provide available dissolved Mo compounds, which can then able to co-precipitate in the calcite hard shell.

Mo originating from phytoplankton species:

Calcite shell uptake of elevated digestive Mo concentrations can be provided by phytoplankton particles. Cellular Mo concentrations (per cell volume) determined in different species of marine phytoplankton average $3.1 \pm 0.9 \mu\text{mol.l}^{-1}$ (Ho et al. 2003; Quigg et al. 2003). This phytoplankton Mo cellular concentration is rather low and homogeneous among the 15 phytoplankton species investigated (green algae, coccolithophores, diatoms), exhibiting concentrations ranging from 0.52 to $13.0 \mu\text{mol.l}^{-1}$.

A hypothetic evaluation is conducted only on Mo concentrations for diatom species from coastal and estuarine site (*Thalassiosira weissflogii*, *Nitzschia brevistris*, *Thalassiosira eccentrica*), to evaluate if Mo input is significant compared to dissolved seawater and sediment concentrations. The cellular volume of these species and a hypothetic sedimenting bloom of 40000-1000000 cells per l of seawater are suggested to determine the quantity of Mo in μmol that provide one liter of seawater. The scallop shell is considered to filter 1.2 l of seawater per hour and

per gram of soft tissue dry weight (Chauvaud, pers. comm.). The soft tissues dry weight can be estimated by the relation between soft tissues dry weight and the shell height, as proposed by Lorrain et al. (Lorrain et al. 2004). The shell height is about 4.5 cm during the increase period of Mo shell concentration. With these data, a scallop is assumed to filter around 17.5 l of seawater per day and thus the Mo input in μmol can thus be calculated for only one day. If we hypothesize a daily growth rate of 0.2 mm, the weight of the calcite produced during the day can also be calculated with a previously suggested equation (Lorrain et al. 2004). Scallops are suggested to filter the Mo input from phytoplankton, and as such, Mo enriched particles may be incorporated and digested in the extrapalleal fluid and incorporated into the calcite shell. If all the Mo phytoplankton input would precipitate in the shell, Mo shell concentrations would be greater than $50 \mu\text{g.g}^{-1}$, which is significantly higher than Mo shell concentrations measured during peak events. Such concentrations can thus contribute to an enrichment of particulate Mo in the water column during intense bloom events.

The Mo shell enrichments are nevertheless suggested to be specifically induced by diatom species such as *Pseudonitzschia spp.*, *Rhizosolenia spp.* and *Chaetoceros spp.*. No data is available concerning Mo concentration in these three species. Average diatom cellular Mo concentrations are about $3.2 \pm 1.2 \mu\text{mol.l}^{-1}$ (*Ditylum spp.*, *Thassiosira spp.*, *Nitzschia spp.*) showing no significant difference with other phytoplankton species (Ho et al. 2003; Quigg et al. 2003). Cellular volumes are nevertheless very different according to the phytoplankton species and may reveal higher Mo concentration for some species. The Mo phytoplankton enrichment is thus not specific to diatoms, but downward transport of diatom cells via settling to the SWI has been demonstrated to be the most effective among the marine phytoplankton species (Sarhou et al. 2005). Large cell size and density promote a rapid sedimentation rate for the diatom cells, and thus induce additional particulate Mo input to the SWI available for scallop feeding. The Mo uptake or enrichment from ingesting diatom species and/or further epibenthic enrichment after diatom sedimentation, is thus a strong hypothesis to explain Mo enrichment in Scallop shells during specific spring bloom events. This may suggest that Mo can be possibly concentrated into phytoplankton cells during diatom bloom events by both an active uptake for specific enzymatic activity (Kisher et al. 1997) and non enzymatic enrichment in the biogenic particles perhaps during local eutrophication.

Mo originating from endosymbiotic cyanobacteria and diatoms:

The releases of Mo from degrading organic matter is suggested to be produced by an algal decay at the SWI (Kunzendorf et al. 2001), such that Mo may be a tracer of phytoplankton occurrences, particularly of cyanobacteria blooms. In some temperate marine environments, cyanobacteria and phytoplankton assimilate Mo into essential enzymes for the majority N₂-fixing organisms (nitrogenase) and nitrate reductase systems (Cole et al. 1993; Collier 1985; Marino et al. 1990).

The dominant marine N₂-fixing cyanobacteria are *Richelia intracellularis* and *Trichodesmium spp.* (Sellner 1997). In the Bay of Brest, there are no data to document the presence and abundance of these two cyanobacteria. However, *Trichodesmium spp.* blooms may not occur during Mo shell peak because of too low seawater temperature (<21°C). *Richelia intracellularis* is a small cyanobacterium living in endosymbiotic association within the diatom genera *Rhizosolenia*, *Hemiaulus* and *Chaetoceros* (Sellner 1997; Villareal 1992). Thus, increase in Mo shell concentration can be tentatively hypothesized to be promoted by the feeding or settling of the two dominant diatom species (*Rhizosolenia spp.* and *Chaetoceros spp.*). This hypothesis is also suggested for pectinidae species (*Comptopallium radula*) growing in tropical coastal environment (New Caledonia) (Thébault J., in preparation). This association of *R. intracellularis* as an endosymbiont in *Rhizosolenia* or *Chaetoceros* diatoms usually occurs in warm water of tropical climate (Gomez et al. 2005). This symbiotic association is also specific to nitrate depleted ecosystems such as the Baltic Sea or the North Atlantic Ocean and rarely observed in coastal temperate environment (Sellner 1997; Villareal 1992). This hypothetical pathway can not be conclusive for such temperate coastal ecosystem exhibiting important nitrate inputs from human activities (Lorrain 2002).

Mo originating from enzymatic pathways during Spring:

Another hypothetical pathway of Mo shell uptake might be related to microorganism use of specific Mo enzymes under spring conditions. In the marine environment, Mo is also assimilated into a second class of essential Mo enzymes, which catalyse net oxygen atom transfer reactions to and from a variety of biologically important substrates (Kisher et al. 1997; Mc Master and Enemark 1998).

In the marine environment, the family dimethylsulfoxide (DMSO) reductases include Mo-containing enzymes. These DMSO enzymes are exclusively found in eubacteria and include, among other enzymes, the dissimilatory nitrate reductases (Kisher et al. 1997). Specific seasonal enzymatic activity, such as in endo bacteria during the Spring, might be suggested as a potential process for Mo shell enrichment. In the absence of oxygen, these enzymes serve as terminal reductases to provide energy for organisms (Kisher et al. 1997). However, in the Bay of Brest, seawater is well oxygenated during spring conditions due to freshwater and tidal inputs. In addition, these specific DMSO enzymes occur in heterotrophic organisms whereas, in the ecosystem studied under spring conditions, autotrophic organisms usually dominate. This specific spring enzymatic bacterial activity can not thus account for Mo shell enrichment.

Another important class of essential Mo enzymes are assimilatory nitrate reductase enzymes found in photoautotrophs, including phytoplankton (Joseph and Villareal 1998). Nitrate reductase activity, measured in cultures of *Rhizosolenia formosa*, are limited by the availability of nitrate (Joseph and Villareal 1998). During spring in the Bay of Brest, seawater nitrate concentrations usually decrease toward the end of June. Nitrate average concentration during maxima of Mo shell concentration are statistically related neither to maxima in shell Mo concentration ($r^2=0.08$, $p>0.01$, $n=35$), nor to dates of these maxima ($r^2=0.21$, $p<0.01$, $n=35$). This hypothetical pathway can however not be excluded because there is no similar evidence on the local *Rhizosolenia* species being considered. It also provides an explanation for the association of intense spring phytoplankton blooms with a maximum shell Mo concentration. Similar to endosymbiotic association of N_2 fixing cyanobacteria with diatoms, specific nitrate reductase activity related to spring diatom blooms may lead to Mo concentration increase in the pelagic biomass material.

Mo originating from spring Mo-associated non-enzymatic pathways:

Because Mo is found at significant concentrations in marine waters, non specific pathways for its enrichment with diatom cells can also be proposed. Due to its apparent conservative behaviour in the marine water, Mo pelagic biogeochemistry has not been well investigated, although it is a well recognized potential micronutrient for many microorganisms (Collier 1985; Kisher et al. 1997). In opposition, barium biogeochemistry in marine waters has established barite as a paleoproductivity tracer

(Dymond and Collier 1996; Paytan and Kastner 1996; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). Recent investigations on the specific enrichment of biogenic particles with barium highlight the role of specific microenvironments in seawater. Here, there was evidence for the extensive barium precipitation as barite supported by diatom growth in cultured and real environments (Bishop 1988; Ganeshram et al. 2003). In addition, it has been clearly stated that barium is preferentially adsorbed onto mineral oxides (i.e. Fe) formed subsequently with diatom biogenic particles, rather than direct cellular uptake (Sternberg et al. 2005). Although Mo chemistry is rather different from barium, a specific Mo enrichment into biogenic particles produced from diatom blooms, probably not related to enzymatic activities, is a reasonable potential pathway. The strong affinity of Mo to Fe and Mn oxy-hydroxides associated by scavenging with biogenic material allows proposing this hypothesis (Chaillou et al. 2002; Cole et al. 1993; Morford et al. 2001), perhaps such material specific to one of the dominant diatom species. Diatoms can produce biogenic silicate frustules that might provide a significant microenvironment for Mo entrapping and enrichment from the water column. From our results, we cannot however distinguish specific enzymatic biotic uptake from subsequent non-biotic chemical enrichment of Mo in the diatom originating biogenic particles.

III.1.6. Conclusion

The Mo concentration variations in shells reveal high inter- and intra-shell reproducibility. Spring diatom blooms dominated by *Pseudonitzschia spp.* and *Rhizosolenia spp.* are synchronous with Mo peaks within scallop shells. The benthic Mo geochemistry cannot easily explain Mo variations in shells. A pelagic mechanism is suggested here to be the preferred Mo source. The hypothetical pathway is that Mo shell uptake is induced by a direct trophic uptake of Mo-enriched diatom particles. Different processes involved in Mo enrichment in the dominant diatoms (*Pseudonitzschia spp.*, *Rhizosolenia spp.* and *Chaetoceros spp.*) are suggested: phytoplankton or diatom Mo enrichment, cyanobacteria symbiotic to diatoms, specific spring enzymatic activity (nitrate reductase) in phytoplankton or in bacteria, and non enzymatic enrichment of biogenic particles. Examination of these processes cannot yield a clear single insight into understanding specific Mo enrichment in any of these three diatom species. One primary hypothesis on the specific uptake of Mo is related

to essential enzymatic activities (denitrogenase, nitrate reductase). These appear related to diatom species or to the pelagic enrichment of diatom derived biogenic particles (frustules). Further investigation related to diatom cell physiology and species dependent enzymatic properties of the involved species (growth rate and limitation, specific surface to volume ratio, aggregation and sinking rate) might help to determine which pathway is controlling Mo enrichment during diatom bloom events. Nonetheless, the use of Mo content in calcitic shells such as scallop valves can serve as a tracer of spring diatom bloom events in coastal marine environments. This result could provide a coastal marine paleoproductivity proxy, and suggests the potential use of Mo in other marine biogenic carbonates. The potential use of trace element content in shells provides insight into the monitoring of environmental conditions. This can include periods of eutrophication associated with a large abundance of diatom blooms.

Acknowledgements

This work was supported in the framework of two research programs: ACI PECTEN (French Ministère de la Recherche) and “Suivi Erika” (INERIS, French Ministère de l’Environnement). Thermo Electron Company is thanked for the loan of the ICP-MS. A.B. acknowledges the Aquitaine Region (ORQUE project) for her Doctoral fellowship. The authors are also grateful to Prof. T. Church (U. Delaware, USA) for improving the quality of this manuscript.

III.2.Enrichissement épisodique du baryum dans la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) associé à des efflorescences phytoplanctoniques estivales dans les environnements côtiers tempérés

Episodic barium shell enrichment in *Pecten maximus* related to summer phytoplankton blooms in temperate coastal environments

A. Barats¹, D. Amouroux^{1*}, L. Chauvaud², C. Pécheyran¹, T. M. Church³, J. Thébaut², O.F.X. Donard¹

(1) LCABIE-UPPA, CNRS UMR 5034, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2 avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

(2) IUEM-UBO, CNRS UMR 6539, Technopole Brest-Iroise, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

(3) College of Marine Studies, University of Delaware, Robinson Hall, Newark and Lewes, Delaware, USA

Soumis

Résumé: La coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) forme une strie journalière de croissance sur sa coquille permettant une datation précise de la strie et un archivage des conditions environnementales à l'échelle de la journée. Les concentrations coquillères en baryum ont été mesurées dans des coquilles juvéniles collectées dans des environnements côtiers tempérés (Bretagne, France), pour une période de 7 ans (de 1998 à 2004, n=3 pour chaque année). Les variations de ces concentrations ont été comparées avec une base de données environnementales, complète (baie de Brest). Les profils coquilliers du Ba sont en accord avec les précédentes études soulignant une concentration du bruit de fond stable et des enrichissements significatifs et épisodiques. La détermination du bruit de fond du Ba coquillier ($0.59 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$) et du coefficient de partition entre la coquille et l'eau ($K_d = 0.11 \pm 0.01$) est en accord avec les premières hypothèses suggérant une influence des concentrations dans l'eau de mer. Les enrichissements importants du Ba coquillier apparaissent, généralement, en été et ceci quelque soit les années et les sites. Ils sont, de plus, statistiquement, corrélés avec la biomasse totale ou chlorophyll a ($r^2 = 0.10$, $p < 0.05$, $n=43$) suggérant un mécanisme pélagique plutôt que benthique. Les enrichissements coquilliers en Ba pourraient donc être des indicateurs potentiels des efflorescences phytoplanctoniques en période estivale. Les enrichissements liés au début de la période estivale (Juin-Juillet) sont plutôt liés à des efflorescences spécifiques de diatomés (*Chaetoceros spp.*) ($r^2 = 0.19$, $p < 0.05$, $n=20$), alors que ceux liés à la fin de l'été (Août-Septembre) sont associés à la biomasse phytoplanctonique totale ($r^2 = 0.62$, $p < 0.05$, $n=16$). Ces enrichissements coquilliers en Ba sont supposés être influencés par des processus pélagiques non spécifiques de déposition du phytoplancton à l'interface eau/sédiment. Plusieurs processus sont proposés tels que l'assimilation de particules de barytine, de particules d'hydroxydes enrichis en Ba, de particules phytoplanctoniques enrichies en Ba, ou du recyclage des particules pélagiques enrichies en Ba déposées à l'interface eau/sédiment après des efflorescences. Cette étude suggère que les enrichissements épisodiques en Ba dans la coquille de *Pecten maximus* seraient un traceur à haute résolution temporelle de la dynamique phytoplanctonique dans des environnements côtiers tempérés.

III.2.1. Abstract

The Great Scallop *Pecten maximus* (L.) produces a daily calcite stria on its shells which permit an accurate dating of the stria and archiving of environmental conditions at a daily scale. Skeletal barium (Ba) concentrations were measured in juvenile flat valves (age class; 3 shells/year) collected in coastal environments (Brittany, France) over 7 years (1998 to 2004). The variations of Ba shell concentrations are also compared with a complete environmental database (Bay of Brest). Barium shell profiles agree with previous investigations on other bivalve species exhibiting a steady state background concentration and significant episodic enrichments. Determination of the background Ba concentration in shells ($0.59 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$) and the partition coefficient ($K_d = 0.11 \pm 0.01$) confirm the previous hypothesis of an influence of seawater concentration. Dramatic changes of Ba shell concentrations occur during summer every year at the site. These Ba shell enrichments are demonstrated to be significantly correlated with chlorophyll a data ($r^2 = 0.10$, $p < 0.05$, $n = 43$) suggesting a pelagic mechanism rather than a benthic source. Ba shell enrichments may thus be a potential proxy for coastal blooms especially for the summer period. Ba shell enrichments occurring during the early summer (June-July) are then related to specific dominant diatom blooms (*Chaetoceros spp.*) ($r^2 = 0.19$, $p < 0.05$, $n = 20$), whereas those occurring during the late summer (August-September) related to the total phytoplankton biomass ($r^2 = 0.62$, $p < 0.05$, $n = 16$). Ba shell enrichments are supposed to be induced by an unspecific pelagic scavenging pathway for Ba input to the seawater/sediment interface. Different pathways are proposed such as uptake of barite, Ba-enriched hydroxide particles, phytoplankton species containing high levels of barium, or a recycling of pelagic Ba particles deposited after the blooms at SWI. This study suggests that *Pecten maximus* shell episodic enrichment with barium provides high temporal resolution of summer phytoplankton dynamics in coastal environments that might be further used to better constrain Ba biogeochemistry and its relevance as a paleoproxy.

Keywords: Great Scallop shells, Ba, calcium carbonate, blooms, phytoplankton

III.2.2. Introduction

The elemental composition of mollusc shells has been shown to be related to environmental parameters (Dodd 1965; Lorens and Bender 1980). As a result, the successively deposited shell calcium carbonate layers are potential archives of the varying environmental conditions, which the mollusc has experienced during its life (Klein et al. 1996a; Klein et al. 1996b; Stecher et al. 1996). This study is focussed on the Great Scallop (*Pecten maximus*), because this bivalve deposits daily calcite increments on its shell during its growth period (Chauvaud 1998; Chauvaud et al. 2005). This specific growth characteristic implies that a detailed study of trace-element distribution in mollusc shells may potentially provide specific environmental information at high temporal resolution. This specie grows in coastal environments over a wide spread range of latitude (30° to 60°N) . At temperate latitudes such as in Brittany (47°-48°), they exhibit (i) a fast daily growth rate (max 350 µm per day) and (ii) the longest growth season (from mid-April to end-November) during the first year of growth (Chauvaud 1998; Chauvaud et al. 2005). Shell growth rate should be thus considered as a proxy itself because seawater temperature, and primary production also affects this biological parameter (Christophersen and Strand 2003; Cravo et al. 2002; Laing 2002; Saout et al. 1999). The variations of trace element concentrations and isotopic composition measured within the calcite of shell increments can also be used as an archive for several environmental proxies (Chauvaud et al. 2005; Lorrain et al. 2005) (Chapitre II). *Pecten maximus* is a non-selective filter feeder ingesting all compartments of particulate organic matters from suspended micro phyto-benthos to detritus via pelagic phytoplankton (Chauvaud et al. 2005; Lorrain et al. 2005). The trophic uptake of this material is directly dependent on the biogeochemical composition at the SWI, which also influences the trace element composition of the suspended material. To correctly interpret the chemical elemental archives within such mollusc shells, it is however necessary to document and validate shell concentration variability in relation to hydrological and physiological conditions along the growth period.

Increasing studies investigated Ba content of biogenic carbonate, such as corals, foraminifera, and otoliths (De Vries et al. 2005; Lea and Martin 1996; Lea et al. 1989; Sinclair 2005; Sinclair and McCulloch 2004). A study on corals reported that coralline Ba concentration can be considered as a proxy record for discharge

and/or sediment load in riverine systems (Sinclair and Mc Culloch 2004). However, the same authors also underscored the fact that some sharp Ba peaks do not correlate with markers of river discharge (Sinclair 2005). Previous studies generally exhibited some sharp increases of Ba concentration which are suggested to be related to the phytoplankton dynamics. In recent studies, a lot of attention was also paid to the Ba content in mussel shells (*Mytilus edulis*) (Gillikin et al. 2005a; Lazareth et al. 2003; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000), clam shells (*Mercenaria mercenaria*, *Spisula solidissima*) (Gillikin et al. 2005a; Lazareth et al. 2003; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000), or others bivalve shells (*Isognomon ephippium*) (Gillikin et al. 2005a; Lazareth et al. 2003; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). The Ba background concentration in the common mussel shell (*Mytilus edulis*) may be considered as a proxy of salinity in estuarine environment (Gillikin et al. 2005a). Increases in the barium content of the calcium carbonate matrix of bivalve species were suggested to be related to specific phytoplankton blooms (Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). Stecher et al. (1996) first proposed that these peaks were due to the filter feeding clams ingesting Ba-rich particles associated with diatom blooms, as either biogenic matter, or barite precipitate. Vander Putten et al. (2000) found a remarkable coincidence of the Ba peaks in several mussel shells collected at the same site, providing further evidence that these Ba shell enrichment may be associated with the occurrence of specific types of phytoplankton. They nevertheless suggested that phytoplankton blooms were not the direct source for Ba shell enrichments observed in such bivalves. Barium shell enrichments were hypothesized to be induced by input of barite particles supported by the phytoplankton decay (Gillikin et al. 2006). Enriched Ba particle - recognized as the main source for the Ba shell enrichment during peak event- once inside the digestive tract, may be metabolized and transferred via the hemolymph to the extrapalleal fluid (EPF), where shell precipitation occurs (Gillikin et al. 2006; Lorrain 2002).

In coastal waters, the Ba enrichment can be related to the release from river-borne particulate phases during estuarine mixing, in the low to mid salinity ranges (Coffey et al. 1997; Shaw et al. 1998). The magnitude of barium release can be strongly dependent upon the riverine supply of particulate matter. Another major source of Ba to the high salinity of estuarine waters can also occur through exchange of Ba rich ground waters and pore waters within the tidal prism (Shaw et al. 1998).

In recent years, barium was also well documented to be a proxy of primary productivity both in the seawater column and in sediments (Balakrishnan Nair et al. 2005; Dymond and Collier 1996; Mc Manus et al. 1998; Mc Manus et al. 2002; Reitz et al. 2004; Schenau et al. 2001; Stecher and Kogut 1999). It was also well known that primary productivity and barite formation are closely associated (Dehairs et al. 1997; Dehairs et al. 1991). Phytoplankton is implicated as a potentially important vectors for the vertical transport of barium in the oceans and thus can affect the biogeochemical cycling of barium. Barium was recognized to be accumulated at high levels in phytoplankton both in dinoflagellates and several other algae (Fisher et al. 1991). The most commonly accepted hypothesis was that barite forms as a result of passive precipitation through enrichment of sulphate and/or barium in decomposing organic material (Bishop 1988; Dehairs et al. 2000; Ganeshram et al. 2003; Jeandel et al. 2000; Stecher and Kogut 1999). Results from time-series decay and sequential leaching experiments of laboratory cultured and coastal plankton was reported to elucidate the mechanisms controlling barite formation in seawater (Ganeshram et al. 2003). The living plankton was suggested to contain a relatively large pool of labile Ba, which is rapidly released during plankton decomposition and acts as the main source of Ba for barite formation in supersaturated microenvironments. Most of the released Ba is then returned to the dissolved Ba pool in surrounding water, but a small fraction (2–4% in their experiments) precipitates as barite in supersaturated microenvironments created as a result of the rapid Ba release (Ganeshram et al. 2003). Recent studies also revealed that Ba phytoplankton uptake and barite formation are not sufficient to explain the vertical flux of Ba in oceanic waters (Sternberg et al. 2005). Barium can also be adsorbed onto mineral oxides (i.e. Fe, Mn) formed subsequently with diatom biogenic particles rather than by a direct cellular uptake (Sternberg et al. 2005). These oxides were considered to act as a prominent scavenging phase for particulate biogenic Ba (Balakrishnan Nair et al. 2005).

Ba in sedimentary solid phases was proposed to be a paleo productivity tracer (Bishop 1988; Dehairs et al. 1991; Dymond and Collier 1996). The sedimentary Ba composition consists of three major fractions: authigenic barite, Ba incorporated in aluminosilicates, and Ba associated with Mn/Fe oxides (Schenau et al. 2001). Ba sedimentation is supposed to be influenced by the precipitation of dissolved Ba as barite within the upper water column (Bishop 1988; Dehairs et al. 1991) followed by

partial remobilization within the sediment (Mc Manus et al. 1994). Arguments in favour of high Ba preservation in sediments were first partly based on the assumption that sediment pore waters are generally at saturation with respect to pure barite. Otherwise, recent investigations revealed that the use of sedimentary Ba as a proxy of paleo export productivity must be used cautiously, because total sedimentary Ba alone was not always controlled by the barite solubility and thus was not always a reliable productivity proxy (Gonneea and Paytan 2006; Mc Manus et al. 1998; Paytan and Kastner 1996; Sanchez-Vidal et al. 2005). Under oxic or suboxic diagenetic conditions, Ba burial efficiency may be reduced because significant Ba remobilization can occur (Mc Manus et al. 1998; Paytan and Kastner 1996). Benthic Ba fluxes were recognized to be higher in areas with high primary productivity (Paytan and Kastner 1996).

The overall aim of this investigation is to examine Ba concentration variability in *Pecten maximus* calcite shells as a potential signature of biogeochemical processes occurring at the SWI. Increasing analytical development of Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (LA-ICP-MS) allowed a direct sampling of shell calcite striae at sub millimetre scales for quantitative and sensitive analyses (Becker 2005a; Belloto and Mikeley 2000) (Chapitre II, partie II.1.). Although data for twenty elements were collected with LA-ICP-MS (Chapitre II), only Ba results are presented here since this element has been extensively used in geochemical studies as tracers of productivity. Significance of the Ba shell profile is first evaluated for both background concentration and episodic enrichments on a scallop community over a 7-year period (1998-2004). The results are also compared among different coastal sites (Brittany) and according to the previous patterns reported for other bivalve shells. Hydrological variables and phytoplankton dynamics are then examined to underline the major parameters that may influence the variations of the Ba shell enrichment. The potential processes related to Ba shell uptake during such episodic events are finally discussed.

III.2.3. Materials and methods

III.2.3.1. Scallop shell sampling sites and sampling

The three sampling zones in French Brittany (Bay of Brest, Quiberon peninsula and Belle Ile) represent different ecosystems with their own ecological characteristics (Chapitre III, partie III.1.). Shells originating from open coastal ecosystems were sampled in Belle Ile zone (47°2N, 3°1W) and in Quiberon zone (47°3N, 3°0W). The main sampling site was the Roscanvel zone (48°2N, 4°3W) in the Bay of Brest. The 180-km² Bay of Brest a shallow embayment in which more than a half of its surface has a depth of less than 5 m. This coastal ecosystem is mainly under the influence of the tidal exchange with the Iroise Sea, but also submitted to the freshwater supply of two small rivers, the Aulne and Elorn. The study area, named “banc de Roscanvel” is 30 m deep and the bottom consists of mixed sediments (mud, sand). This site was selected because scallop density is one of the highest in the Bay of Brest (Chauvaud et al. 2000; Chauvaud et al. 2005).

Live juvenile *P. maximus* specimens were collected by scuba diving in Roscanvel station and by dredging for other ecosystems during the late autumn period. This shell is textured with fine concentric striae, formed with a daily periodicity. Only the juvenile stage of the shells (first year of growth) was examined because it exhibits the longest annual growth season. The shells were isolated and cleaned by submerging in glacial acetic acid (Merk, analysis grade) for 60 seconds to remove the bio-fouling, then rinsed with 18.2 MOhm milli-Q water and dried. For convenience in visualizing the growing striae and the flatness of the shell, only the flat valve part was considered for LA-ICP-MS analysis. A 45x10 mm² cross section was cut from each shell using a diamond saw to fit into an ablation chamber.

III.2.3.2. Determination of Ba concentrations in calcite shell by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometer (LA-ICP-MS)

Barium concentrations were measured in the shell sections using LA-ICP-MS. Shell ablation was performed using a LSX 100-Cetac laser operating at 266 nm and analyses of the ablated samples with an X7 Thermo-Elemental ICP-MS. The coupling for this analysis was previously described in detail (Chiffolleau et al. 2004) (Chapitre II). Single line raster ablation mode was chosen because it provides a

better signal stability than crater mode and a spreading of the surface sampling. ^{43}Ca was used as an internal standard for correcting laser beam energy decrease during analysis, instrument instability and drift (Chapitre II). Quantitative analyses were performed with an external calibration using five CaCO_3 pellets with Ba concentrations ranging from 0.005 to $19.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Chapitre II). Samples were analysed during 2 min at a speed rate of $5 \mu\text{m.s}^{-1}$. A pre cleaning ablation of the calcite shell was conducted in order to exclude surface contamination (Wyndham et al. 2004). This pre-cleaning step consisted in a quick (around 20 s) pre-ablation of shell surface at a rate of $50 \mu\text{m.s}^{-1}$. The protocol used for the quantification was described elsewhere (Chapitre II). The Ba calibration curve displayed a good linearity with a correlation coefficient r^2 of 0.998. Detection limit was estimated from the signal intensities of argon blanks (3σ) and was about 3.3 ng.g^{-1} for barium.

Shell section was ablated every three stria along the axis of maximal growth in order to reconstruct a well resolved temporal profile (Chapitre II). Scallop shells are demonstrated to form a daily calcite stria (Chauvaud 1998). The temporal resolution of the analyses was about 3-days. Scallop analyses provided a concentration profile of the target isotopes according to each sampled stria. Based on the daily periodicity of stria formation in *Pecten maximus*, an absolute date of formation was assigned to each ablated stria by backdating from the last stria (Chauvaud 1998). The backdating of the striae and the analyses was assumed to conduce to an uncertainty of less than one week for Ba shell profiles (± 3 days). The shell growth rate (dorso-ventral linear extension of the shell per unit time) was also estimated at a daily resolution by measuring distances between successive striae (growth increment width) using an image analysis technique (Chauvaud 1998).

III.2.3.3. Environmental monitoring database

Scallop Ba composition was examined according to several environmental parameters that may influence its biogeochemical cycle at SWI. Only Roscanvel station was investigated in this study because of the regular environmental monitoring and the long time series obtained by the shell analysis (1998 to 2004). Hydrological parameters (seawater salinity, temperature) and biological parameters (total biomass reflected by chlorophyll a, and phytoplankton speciation) were obtained from a reference station in the Bay of Brest located near to Roscanvel area

(Lanvéoc station; 48°18N, 4°27W), as part of littoral environment monitoring program lead by Ifremer (database, <http://www.ifremer.fr/envlit/>). Chlorophyll a data originated both from the Lanvéoc station (Ifremer database) and from measurements at the SOMLIT station (also in the Bay of Brest), as part of the monitoring activities of the Institut Universitaire Européen de la Mer.

III.2.3.4. Dating, time resolution, data comparability

The Ba shell enrichments were defined by their maximum intensity and by their corresponding Julian date. The database of the seawater temperature, salinity, and chlorophyll a concentrations presented a weekly resolution. In 2003, measurements of chlorophyll a concentrations in seawater were performed on each of 15 days. The determination of phytoplankton speciation was carried out each 15 days, except in 2004 (7-days resolution).

A statistical evaluation was performed to highlight environmental parameters associated with variations of Ba shell concentration. Bravais Pearson tests and principal component analysis (PCA) was performed with Stabox for Windows Ver. 6 (Grimmer Soft wares, France).

Ba shell enrichments generally exhibited a wide peak of concentration along the shell profile and were significant over a 20-day period. Environmental parameters were thus integrated over a 3-week period: two weeks before to one week after the date of the maximum Ba shell enrichment. This integration corresponded an overlapping between Ba shell signal and environmental data collection. This 3-week period also took into account both an eventual response delay between changes in the water column and at the SWI and its response in the shell. Shell growth rate average, seawater temperature and salinity average, maximum chlorophyll a concentration, and maximum phytoplankton concentrations (*Chaetoceros spp.* and *Gymnodinium spp.*) were thus integrated over this three-week period.

III.2.4. Results and discussion

III.2.4.1. Significance of the Ba concentration profiles along the scallop shells

III.2.4.1.1. *Background concentration and episodic enrichment reproducibility among a scallop community*

Barium shell profiles are considered significant and representative only if they reveal similarities for all the shells from a same specific community (e.g. juvenile population at one location and for one year) with reproducibility both with background concentrations and transient peaks (maximum concentrations and corresponding dates). This is prerequisite for *Pecten maximus* shells to be used as an archive of environmental changes. Variations of Ba concentrations in 2003 are thus examined in three shells originating from a same community (Bay of Brest, Roscanvel) (Figure III.2-1).

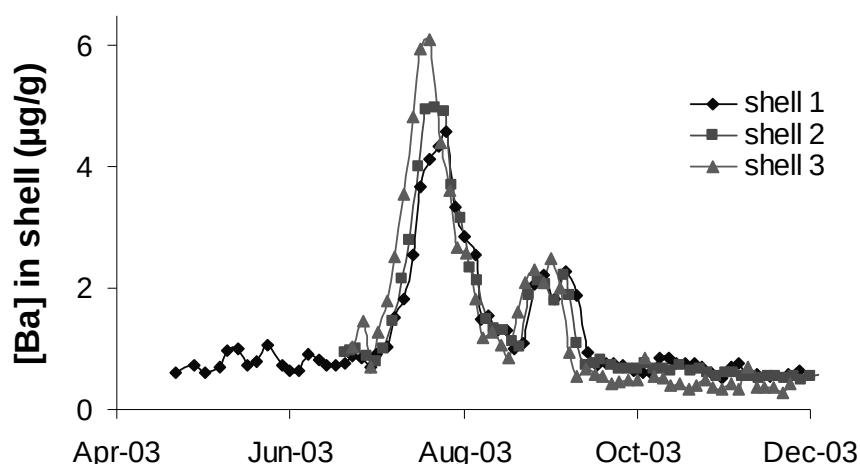


Figure III.2-1 Reproducibility of the profiles of Ba concentrations in 3 shells originating from a same community: collected in Roscanvel area (Bay of Brest, France) and analysed for the year 2003.

Barium shell profiles display a high inter shell reproducibility both for the background concentration ($0.620 \pm 0.138 \mu\text{g.g}^{-1}$) and for simultaneous peak events of comparable intensities (%RSD<15). The reproducibility of the Ba shell concentration profile has been further demonstrated for all years and investigated sites (Table III.2-1, Table III.2-2). This suggests that scallop shells are able to accurately archive barium in their calcite matrix and thus may reflect various biogeochemical processes at the SWI.

Table III.2-1 Definition of barium shell profiles with their background (bkg) and peak concentrations (named by the time order of the peak) over a 7-year period in shells from Roscanvel (* deviation to the mean average concentrations) according to the total biomass expressed by chlorophyll a concentrations and the phytoplankton speciation during the different Ba shell enrichments.

Year	Barium in shells					Chlorophyll a		Phytoplankton speciation				
	Ba concentrations (µg/g)				Date	Date	Concentrations	Date	Total concentrations	Abundance (%)		
	Mean	SD	%RSD	(± 3 d)			(µg/l)		(cell/l)	<i>Chaetoceros spp.</i>	<i>Gymnodinium spp.</i>	Others species (>10%)
1998	bkg	0,56	± 0,21	37								
(n=3)	peak 1	6,40	± 2,56	40	12-Jun-98	12-Jun-98	5,73	8-Jun-98	833000	81%	0%	-
	peak 2	1,63	± 0,23	14	10-Sep-98	12-Sep-98	0,96	14-Sep-98	546200	0%	93%	-
1999	bkg	0,53	± 0,12	23								
(n=3)	peak 1	1,75	± 0,62	35	21-Jun-99	19-Jun-99	0,83	7-Jun-99	1818500	97%	0%	-
						22-Jun-99	0,93	21-Jun-99	49500	0%	70%	-
	peak 2	2,95	± 1,08	37	20-Jul-99	19-Jul-99	1,31	19-Jul-99	310300	1%	75%	-
2000	bkg	0,58	± 0,06	11								
(n=3)	peak 1	1,48	± 0,08	5	23-Jul-00	21-Jul-00	2,40	18-Jul-00	3020500	96%	0%	-
	peak 2	1,16	± 0,15	13	27-Aug-00	28-Aug-00	2,44	28-Aug-00	767700	69%	0%	11% (<i>Skeletonema spp.</i>)
2001	bkg	0,55	± 0,06	11								
(n=3)	peak 1	1,86	± 0,45	24	04-Aug-01	2-Aug-01	1,85	30-Jul-01	1683100	80%	0%	12% (<i>Skeletonema spp.</i>)
	peak 2	1,60	± 0,29	18	30-Aug-01	31-Aug-01	2,72	27-Aug-01	985400	0%	99%	-
2002*	bkg	0,70	± 0,10	15								
(n=2)	peak 1	2,55	± 0,82	32	14-Jun-02	10-Jun-02	1,67	17-Jun-02	441800	65%	0%	16% (<i>Thalassionema spp.</i>)
	peak 2	2,02	± 0,25	13	03-Jul-02	4-Jul-02	1,58	1-Jul-02	591500	62%	0%	18% (<i>Thalassionema spp.</i>)
	peak 3	2,13	± 0,25	12	26-Jul-02	22-Jul-02	2,79	29-Jul-02	212100	11%	67%	-
	peak 4	3,90	± 0,17	4	24-Aug-02	20-Aug-02	4,08	26-Aug-02	163400	0%	66%	-
2003	bkg	0,62	± 0,14	22								
(n=3)	peak 1	5,37	± 0,79	15	21-Jul-03	18-Jul-03	1,21	15-Jul-03	792100	58%	1%	24% (<i>Leptocylindrus spp.</i>) 11% (<i>Pseudonitzschia spp.</i>)
								28-Jul-03	370600	93%	0%	-
	peak 2	2,42	± 0,17	7	31-Aug-03	25-Aug-03	3,36	25-Aug-03	2200350	87%	12%	-
2004	bkg	0,61	± 0,12	19								
(n=3)	peak 1	3,44	± 0,73	21	19-Jun-04	22-Jun-04	1,96	15-Jun-04	645590	68%	0%	30% (<i>Rhizosolenia spp.</i>)
								22-Jun-04	678350	94%	0%	-
	peak 2	2,03	± 0,25	12	11-Sep-04	13-Sep-04	1,27	3-Sep-04	214762	29%	0%	46% (<i>Rhizosolenia spp.</i>)

Table III.2-2 Ba archived in different bivalve shells according to different ecosystems. Both Ba background and maximum concentrations are examined. The period of Ba shell enrichment are also exhibited. * represent analyses performed with matrix-matched standards.

Bivalves	Species	Location	Ecosystem type	Time resolution	Investigated period	Background Ba/Ca concentrations ($\mu\text{mol/mol}$)	Ba enrichment period	Ba/Ca maximum concentration ($\mu\text{mol/mol}$)	$[\text{Ba}]_{\text{max}} / [\text{Ba}]_{\text{bkg}}$	Références
Scallop	<i>Pecten maximus</i>	Bay of Brest, France	Coastal, temperate	3 days + accurate dating	1998-2004	$0,43 \pm 0,04$	late June to early September	0,85 - 4,7	2 - 11	This study *
		Quiberon, France	Coastal, temperate	3 days + accurate dating	2000	$0,66 \pm 0,02$	June - July	1,2 - 1,7	2 - 3	This study *
		Belle Ile, France	Coastal, temperate	3 days + accurate dating	1999-2001	$0,52 \pm 0,08$	June - early August	0,92 - 3,8	2 - 7	This study *
Scallop	<i>Comptopallium radula</i>	Nouméa, New Caledonia	Coastal, tropical	4 days + accurate dating	2002-2003	0,4	January, March, May, August, September	0,7 - 4	2 - 10	(Thébault et al. submitted)*
Clam	<i>Mesodesma donacium</i>	Peru	Coastal	Less than one month	2001-2003 (+fossil)	2 (800)	January, May, September (?)	10 - 30 (1500)	5 - 10 (2)	(Carré et al. 2005)
Clam	<i>Chino subrugosa</i>	Peru	Coastal	Less than one month	2001-2004	10	January, November, December	30 - 40	3 - 4	(Carré et al. 2005)
Clam	<i>Mercenaria mercenaria</i>	USA, Delaware Bay	Coastal, temperate	Seasonal	1984 - 1992 (+fossil)	2 (5)	Spring	5 - 20 (15 - 35)	3 - 10 (3 - 7)	(Stecher et al. 1996)
Clam	<i>Spisula solidissima</i>	USA, Chesapeake Bay	Coastal, temperate	Seasonal	1980 - 1982	2	Spring	5 - 40	3 - 20	(Stecher et al. 1996)
Mussel	<i>Mutilus edulis</i>	The Netherlands, Schelde estuary	Coastal, temperate	Seasonal	1995 - 2003	3	Spring	20 - 70	7 - 23	(Gillikin et al. 2006; Vander Putten et al. 1999; Vander Putten et al. 2000)
Pod razor	<i>Ensis siliqua</i>	Great Britain	Coastal, temperate	Seasonal	1991 - 1998	1 - 5	Usually late summer	2 - 20	2 - 4	(Pearce and Mann)
	<i>Isognomon ehippium</i>	Kenya, Tudor estuary or mangroves	Coastal, tropical	Seasonal	1991 - 1998	1	Monsoon period	5 - 11	5 - 11	(Lazareth et al. 2003)

III.2.4.1.2. Ba background content as a relative indicator of Ba aqueous concentration

The Ba background concentration in *Pecten maximus* shells has been investigated in the Bay of Brest over the 7-year period, as shown in the Table III.2.1. Ba shell profiles reveal an average background concentration of $0.59 \pm 0.06 \mu\text{g.g}^{-1}$, i. e. a background Ba/Ca ratio of $0.43 \pm 0.04 \mu\text{mol.mol}^{-1}$. This result underlines a low variability of background shell concentrations over this 7-year period (%RSD < 10). Ba background shell concentrations, examined at two other sites (Table III.2-2) also exhibit background Ba/Ca shell ratios in the same range of concentration: respectively, 0.52 ± 0.08 and $0.66 \pm 0.02 \mu\text{mol.mol}^{-1}$ for Belle Ile and Quiberon zone. The shells from the Bay of Brest reveal, however, slightly lower Ba background concentrations.

The background Ba shell concentrations are previously reported to be influenced by the Ba concentrations in the seawater and by the solubility constant with carbonates (Chapitre III.3.). Preliminary measurements on *Pecten maximus* species from Roscanvel station (January 2003) lead to the highest Ba contribution in the shell (63%) in comparison to the total Ba in the bivalve (soft tissues plus shell) and only 9 % in the digestive gland (Annexe VI.2.3). This result may argue rather with a Ba shell uptake of the dissolved phase than an uptake of particles for the background Ba shell concentrations. The background shell Ba/Ca partition coefficient obtained for *Pecten maximus* ($K_d=0.11 \pm 0.01$) is also similar to those of *Mytilus* ($K_d=0.10 \pm 0.02$) for a European temperate coastal ecosystem (Table III.2-2) (Chapitre III.3.). Gillikin et al. (2006) suggested that only background of Ba/Ca ratios in mussel shells (*Mytilus edulis*) are directly related to the Ba/Ca ratios of the water in which they grew, both in the laboratory and in the field. Ba background concentrations measured in *Pecten maximus* shells may thus be considered as a relevant indicator of the Ba aqueous concentrations. $[\text{Ba/Ca}]_{\text{water}}$ was also previously considered to be significantly related to seawater salinity in estuaries (Gillikin et al. 2006). Based on this supposition, the Ba/Ca (background) in *Pecten maximus* shells could also be used as a relative indicator of salinity especially in a tidal estuarine environment. Ba shell enrichment must however be related to other biogeochemical pathways.

III.2.4.1.3. Occurrence of Ba concentration peak among various coastal sites (Brittany) and several years (1998-2004 in the Bay of Brest)

The variations of Ba concentrations in shells originating from three sites (Roscanvel, Belle Ile and Quiberon) are shown in Table III.2-2. This inter site study reports a similar pattern with ubiquitous Ba shell enrichments in later spring and in summer. The range of maximum concentrations of these Ba shell enrichments is similar in the three locations: from 1 to 7 $\mu\text{g.g}^{-1}$. Ba shell enrichments represent also maximum concentrations from 2 to 11 times the background concentrations. This comparison provides a reasonable assessment of strong inter-population similarities of Ba uptake by scallop communities among diverse coastal temperate environments.

The Ba shell concentration profiles are finally examined on a specific community over a seven year survey in Roscanvel. Variations of Ba concentrations during this period are displayed in Figure III.2-2 and described in Table III.2-1. In this investigated area (Roscanvel), Ba shell profiles usually reveal two Ba enrichment events of different intensities according to the year and usually occurring from early to late summer. The first Ba maximum occurs from mid June to July and is usually the most intensive. The second one occurs from August to early September and presents lower maximum concentration. Significant negative correlation between the maximum concentrations and the dates of Ba shell enrichments agrees with this observation (Pearson test, $r^2=0.17$, $p<0.05$, $n=43$). An opposite pattern is however observed in 1999 and in 2002 where the most intensive peak occurs in late summer. In 2002, an interesting specific Ba pattern is exhibited with four significant enrichments of increasing concentrations. The year 2000 exhibits the weakest Ba shell enrichments.

These results characterize a common Ba shell profile at all sites and different years with a first intensive peak in early summer (mid-June to July) and a weaker in late summer (August to early September) underlining specific and ubiquitous processes involved in the Ba shell enrichment for such coastal ecosystems.

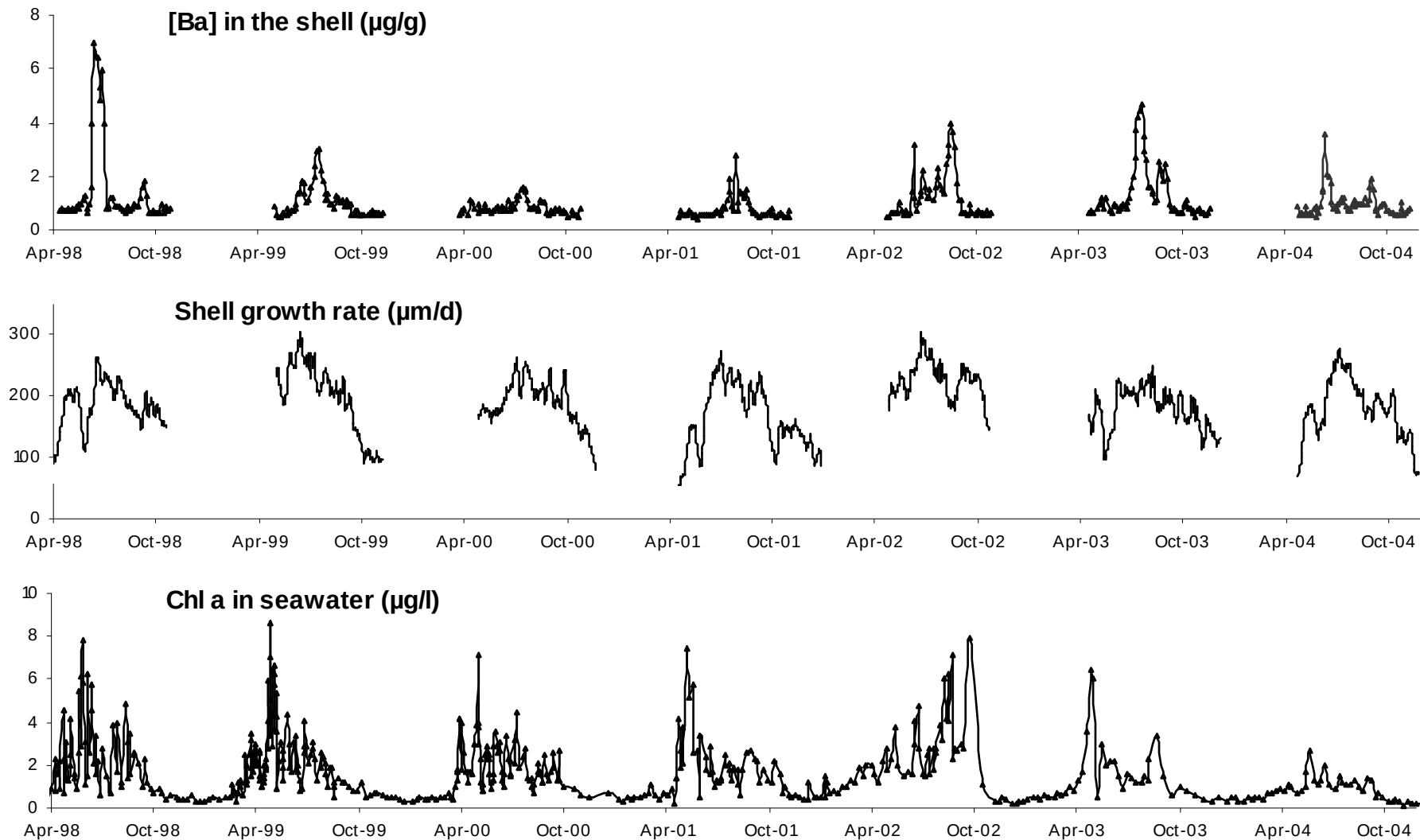


Figure III.2-2 Variations of Ba concentrations over 6-year period (1998-2004) in shells from Roscanvel station (Bay of Brest, France) according to shell growth rate (moving average on 8 days), chlorophyll a concentration in seawater.

III.2.4.1.4. Comparison of the archived Ba signal with other bivalve shells

Bivalve shells grow regularly through an incremental deposit of calcium carbonate layers and some have the specificity to exhibit some temporal variations. Following this assumption, several investigations demonstrated the potential use of bivalve shells elemental composition as archives of proxies for coastal biogeochemical processes. The interpretation of these various studies is however to date limited by the poor time resolution that can be achieved by the different bivalve species investigated (*Mercenaria mercenaria*, *Mytilus edulis*, *Isognomon ehippium*, *Ensis siliqua*). Table III.2-2 summarizes the investigations on Ba in different bivalve species. For most of these bivalve species, only seasonal variations of Ba concentrations can be distinguished in the shell, providing an approximate chronology and avoiding the possibility of a precise dating of the observed phenomena (Gillikin et al. 2006; Lazareth et al. 2003; Pearce and Mann 2006; Stecher et al. 1996). The use of scallop shells allows not only to provide chronological record at high temporal resolution, but also to date accurately the analysed striae (Chauvaud 1998; Chauvaud et al. 2005; Thébault et al. submitted).

Our results on *Pecten maximus* shells express recurrent Ba annual shell profile exhibiting two increases of concentration: the most intensive in the mid-June to July, and the other in August to early September. Sharp Ba peaks are also observed in corals and three hypotheses are suggested and critically tested against the observations: barite inclusion following phytoplankton blooms, decaying blooms of the blue-green algae *Trichodesmium*, and physiological perturbations associated with coral mass spawning (Sinclair 2005). The two first hypotheses cannot be conclusive for our study because of the absence of *Trichodesmium* bloom in such temperate coastal ecosystem and very small shells to spawn ($L < 7$ cm). The only hypothesis that may be considered in our study is the shell uptake of barite particles supported by phytoplankton blooms. A similar pattern for variations of Ba shell concentrations with a stable background signal interrupted by sharp episodic peaks is also recorded in other bivalves (Gillikin et al. 2006; Lazareth et al. 2003; Lorrain 2002; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000) (Table III.2-2). These Ba shell enrichments are reported to generally occur in spring or summer. Taking into account

their seasonal resolution and our 3-day resolution and accurate dating, their results agree with our own.

Both background and maximum Ba concentrations in scallop shells are lower than the other bivalves (Table III.2.2). This might be explained by a difference of analytical procedure: use of matrix-matched standard for scallop analyses, and use of glass standard (NIST) for the others bivalves. Maximum concentrations of Ba enrichments in all the bivalves are however usually from 2 to 10 times the background shell concentrations.

III.2.4.2. Episodic Ba shell enrichment in relation to hydrological parameters and phytoplankton dynamics

III.2.4.2.1. *Relationship between Ba shell peaks (concentrations and dates) with hydrological conditions, shell growth rate, and phytoplankton bulk abundance*

Hydrological parameters have been first examined because they govern shell growth rate, phytoplankton activity and probably some Ba shell enrichment. Seawater temperature and salinity is thus compared to Ba shell concentration over the 7-year period using a statistical data treatment. The average of seawater temperature over the integration period (3 weeks) can not be statistically related to some increases of Ba shell concentration. Only the average of seawater salinity exhibits a moderate correlation with the Ba shell enrichments (Pearson test, $r^2 = 0.09$, $p < 0.05$, $n = 43$). This result may highlight that the Ba shell enrichments are more important when average seawater salinity is decreasing. Sinclair et al. (2004) previously supposed that river discharge may support the sharp Ba shell enrichments in corals.

Figure III.2-2 indicates the variations of shell growth rate according to the Ba shell concentration. Seawater temperature is considered to be the main factor regulating the shell growth rate (Chauvaud et al. 1998). Shell growth rates show some sharp decreases for all investigated years. Accidental decreases of shell growth rate were also reported to be induced by phytoplankton blooms (Lorrain et al. 2000). In some cases, these decreases occurred during some increases of Ba shell concentrations. The last Ba shell enrichment in summer and the first Ba peak in 2000 are systematically concomitant to a decrease of shell growth rate. Averages of shell growth rate during the Ba shell enrichments are, however, not significantly

associated with the maximum Ba shell enrichment. This result may be explained by the earliest maxima in Ba concentration which is never concomitant to a decrease of shell growth rate. Shell growth rate is thus not a direct source of Ba shell enrichment, but rather a consequence of specific summer blooms (Chauvaud et al. 2005; Lorrain et al. 2000).

Phytoplankton dynamics are considered through the seawater chlorophyll a (Chl a) concentration. Figure III.2-2 presents the variations of Chl a concentration according to Ba shell concentrations over 7 years in Roscanvel. Chlorophyll a concentrations exhibit a general pattern with an intensive maximum of concentration occurring in early spring and later ones in late summer of decreasing concentrations. The shape of Ba profiles, especially during the summer period, is almost similar to Chl a pattern. This pattern agrees with the significant negative correlation observed between the date of Ba shell enrichments and the average of chlorophyll a concentrations during this period ($r^2 = 0.12$, $p < 0.05$, $n = 43$). Ba shell enrichments usually occur during increased Chl a concentrations. These observations are consistent with the weak but very probable correlation between maximum concentrations of Ba shell enrichments and the maximum Chl a concentrations during this period ($r^2 = 0.10$, $p < 0.05$, $n = 43$). The more intensive maxima of Chl a concentrations occur at least two weeks before the Ba shell maxima. This relationship is thus suggested to be consistent with the weak intensities of Chl a maxima concomitant to the Ba shell maxima.

Since *Pecten maximus* species live at SWI and are a non-selective filter feeder (Chauvaud et al. 2005; Lorrain et al. 2005), shells can assimilate both alive or dead phytoplankton particles and mineral particles. Ba shell enrichments might be thus supposed to be an indicator of the relative phytoplankton biomass.

III.2.4.2.2. Influence of species specific phytoplankton summer blooms (*Chaetoceros* spp. and *Gymnodinium* spp.) on Ba shell peaks

To further identify the role of the phytoplankton dynamics on Ba shell concentration peaks, an extensive study is performed with complementary monitoring data on the identification and quantification of phytoplankton species in the Bay of Brest. Ba uptake process in shells being apparently favoured under summer conditions, phytoplankton composition is determined during this period (Table III.2-1).

This table reveals two recurrent and dominant species (*Chaetoceros spp.* and *Gymnodinium spp.*) and some other punctual and minor species during the period of Ba shell enrichments. Variations of only two species (*Chaetoceros spp.* and *Gymnodinium spp.*) among the hundreds are examined and presented in Figure III.2-3 because of their recurrence and their dominance during Ba shell maxima and for all the summer period. All the first Ba shell enrichments occur simultaneously or with a short lag with dominant *Chaetoceros spp.* blooms, whereas the later ones usually during dominant *Gymnodinium spp.* blooms. These Ba shell enrichments are thus separately considered according to the period of their occurrence: the first period corresponding to mid-June to July, named “early summer” and the second to mid-August to early September, named “late summer”.

Ba shell enrichments during the early summer period

Figure III.2-3 confirms that the first Ba shell enrichments usually occur in the early summer period and during the first *Chaetoceros spp.* blooms. For the year 2002, the first two Ba shell maxima can be related to specific dominant blooms of *Chaetoceros spp.*. In Table III.2-1, these species are systematically dominant during the Ba shell enrichment. For 1999, the phytoplankton dynamics reveal an unusual dominance of *Gymnodinium spp.* during the first Ba shell maximum, although an intensive *Chaetoceros spp.* bloom occurs less than 2 weeks before the Ba shell enrichment.

A statistical evaluation is performed with all the first Ba shell enrichments occurring before the 4th of August. The results are expressed in Table III.2-3. The significant correlation between the following variables: the date, the average seawater salinity, temperature, and the maximum of chlorophyll a concentrations reveals seasonal characteristics and no influence of these environmental parameters on the Ba shell enrichments. The maxima of Chl a concentrations exhibit no significant relation with Ba shell enrichment during the mid-June to July period. The maxima of *Chaetoceros spp.* during the period of Ba shell enrichment underline, however, a significant negative correlation with the intensity of Ba shell enrichment ($r^2= 0.19$, $p<0.05$, $n=20$). The concentrations of Ba shell enrichments are plotted with the maximum of *Chaetoceros spp.* concentrations in the Figure III.2-4.

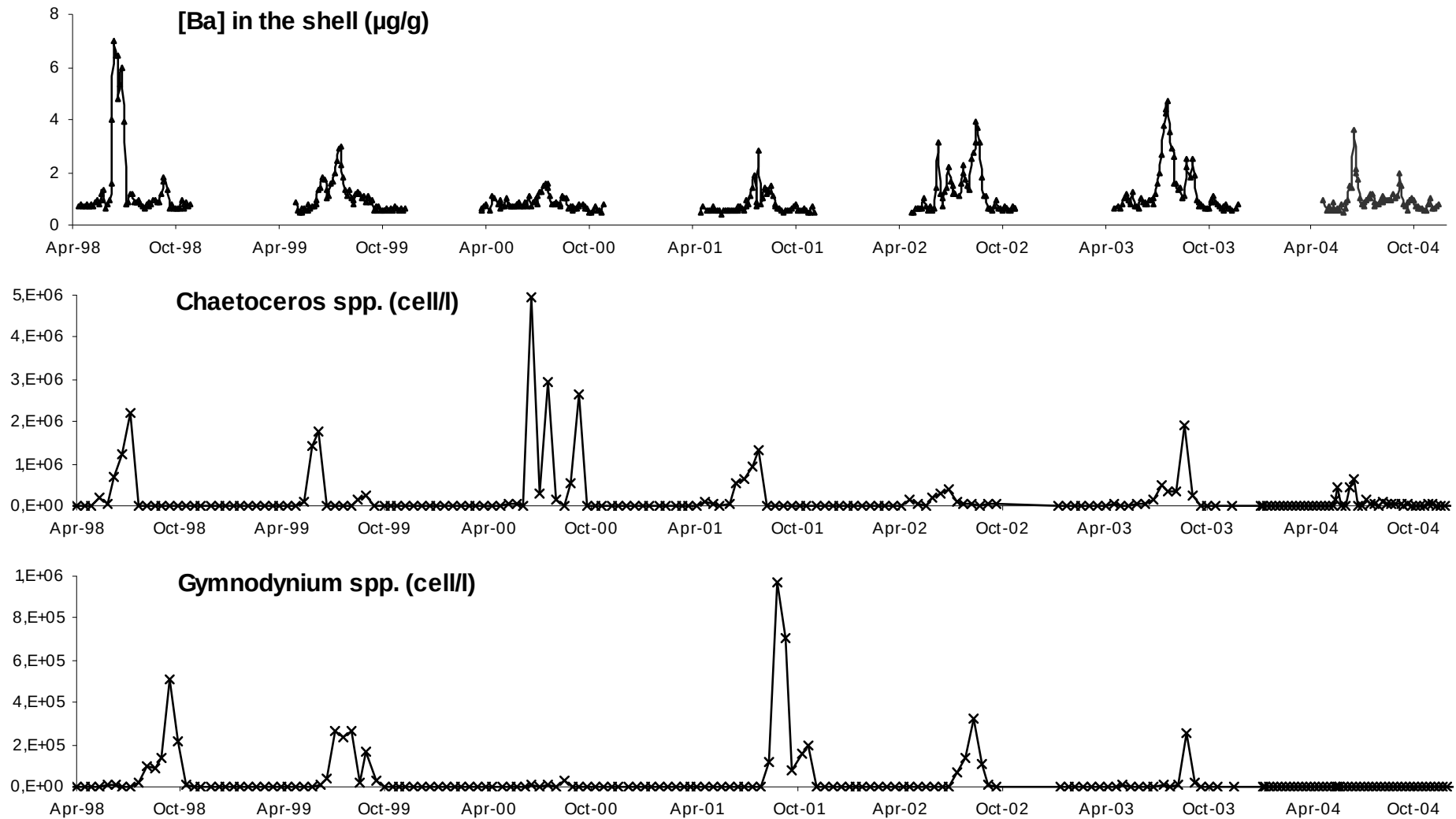


Figure III.2-3 Variations of Ba concentrations over 6-year period (1998-2004) in shells from Roscanvel station (Bay of Brest, France) according to concentrations of two phytoplankton species: *Chaetoceros spp.* and *Gymnodinium spp.*.

Table III.2-3 Pearson tests (in bold, the correlation coefficients with $p < 0.05$) for Ba shell peaks ($n=20$) occurring before the 4th of August, according to their date of occurrence (julian date), averages of shell growth rate ($\mu\text{m/d}$), of seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$), of salinity (PSU), the maximum concentrations of chlorophyll a ($\mu\text{g.l}^{-1}$), of *Chaetoceros spp.* (cell.l^{-1}) over the period from 15 days before to 7 days after the maximum concentrations of Ba shell enrichment.

	Ba peak date	Ba peak intensity	Growth rate	Chlorophyll a	T	S	<i>Chaetoceros spp.</i>	<i>Gymnodinium spp.</i>
Ba peak date	1	-0,31	0,25	-0,40	0,87	0,72	0,33	0,30
Ba peak intensity		1	-0,19	0,22	-0,08	-0,07	-0,44	-0,26
Growth rate			1	-0,19	0,31	-0,08	0,14	-0,02
Chlorophyll a				1	-0,33	-0,53	0,41	-0,05
T					1	0,47	0,19	0,36
S						1	0,04	-0,11
<i>Chaetoceros spp.</i>							1	0,17
<i>Gymnodinium spp.</i>								1

Table III.2-4 Pearson tests (in bold, the correlation coefficients with $p < 0.05$) for Ba shell peaks ($n=16$) occurring after the 4th of August, according to their date of occurrence (julian date), averages of shell growth rate ($\mu\text{m/d}$), of seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$), of salinity (PSU), the maximum concentrations of chlorophyll a ($\mu\text{g.l}^{-1}$), of *Chaetoceros spp.* and *Gymnodinium spp.* (cell.l^{-1}) over the period from 15 days before to 7 days after the maximum concentrations of Ba shell enrichment.

	Ba peak date	Ba peak intensity	Growth rate	Chlorophyll a	T	S	<i>Chaetoceros spp.</i>	<i>Gymnodinium spp.</i>
Ba peak date	1	-0,27	0,01	-0,54	-0,52	0,05	-0,22	-0,09
Ba peak intensity		1	-0,08	0,79	0,21	-0,51	0,10	0,00
Growth rate			1	-0,30	0,05	0,37	0,42	-0,19
Chlorophyll a				1	0,50	-0,61	0,06	0,22
T					1	-0,38	0,46	0,65
S						1	0,33	-0,74
<i>Chaetoceros spp.</i>							1	-0,22
<i>Gymnodinium spp.</i>								1

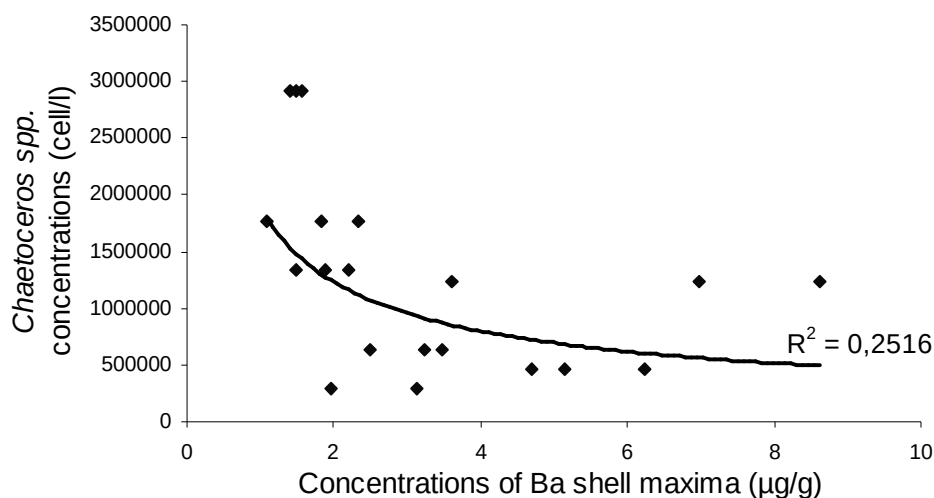


Figure III.2-4 Relationship between maximum concentrations of Ba shell enrichments occurring after the 4th August and the maximum concentrations of *Chaetoceros spp.* (cell.l⁻¹).

This representation highlights the increasing concentrations of Ba shell enrichments when those of *Chaetoceros spp.* maxima are decreasing. Some *Chaetoceros spp.* blooms occur both during decreases of shell growth rate and Ba shell enrichments. For example, this is the case in 1998, when a massive *Chaetoceros spp.* bloom occurred. Shell growth retardation was also observed for one-year-old juveniles during the summer of 1995, and was proposed to be induced by the sedimentation of a massive *Rhizosolenia delicatula*-*Chaetoceros sociale* bloom (Chauvaud et al. 1998). It is suggested that the large aggregates of these diatoms lead the clogging of the scallop gills (Lorrain et al. 2000). The consequences of these massive *Chaetoceros spp.* blooms can explain both Ba enrichment and its uptake limitation in the shell. A negative correlation between the intensity of Ba shell enrichments and the maximum of *Chaetoceros spp.* concentrations is thus obtained.

The initial Ba shell enrichment is thus suggested to be strongly influenced by the occurrence of these *Chaetoceros spp.* blooms. The Ba shell enrichment might thus be species specific during the mid-June to July period. In the same ecosystem, Mo shell enrichments were also reported to be rather species specific to diatom species (*Rhizosolenia spp.*, *Pseudonitzschia spp.*, *Chaetoceros spp.*) during the spring period, particularly in May (Chapitre III, partie III.1.). During this early summer period, all these

blooms are however not concomitant to the occurrence of Ba shell enrichment. In 2000, Ba shell profiles exhibit a weak increase of concentration only during the second bloom of this species, and not for the first one, occurring on the 19th of June. Even if the Ba shell enrichments in the early summer period are significantly related to the *Chaetoceros spp.*, these exceptions may underline the fact that Ba shell enrichments favoured in summer conditions are not species specific during the mid-June to July period.

Ba shell enrichments during the late summer period

Figure III.2-3 reveals that Ba shell enrichments during the period from August to early September are usually concomitant with dominant *Gymnodinium spp.* blooms. These phytoplankton species are dinoflagellates (toxic). This species displays a general pattern with an intensive bloom in August (except for 1998, in September), which is coincident with the Ba shell maxima. All the first *Gymnodinium spp.* blooms, during this 7-year period, are coincident with the later increases of Ba shell concentration and associated with a specific decrease in shell growth rate. Decreases of shell growth rate were previously demonstrated to be induced by *Gymnodinium spp.* blooms (Chauvaud et al. 1998). This species displays specific late blooms (late summer, 30-Aug-99; fall, 22-Oct-01) which can not be assigned to a Ba shell enrichment. In 2002, the two last Ba shell enrichments occur during dominant *Gymnodinium spp.* blooms. The years 2000 and 2004 are also rather specific without the development of *Gymnodinium spp.* blooms, but with Ba shell enrichment. Three *Chaetoceros* or *Gymnodinium spp.* blooms occur also during the late summer period (in 2000 for *Chaetoceros spp.* and one in 1999 and 2001 for *Gymnodinium spp.*) and no increase of skeletal Ba concentration was observed. This observation contradicts our previous observation of Ba shell enrichment during specific phytoplankton blooms and may better support a Ba shell enrichment induced by unspecific phytoplankton biomass during the late summer period.

Table III.2-1 underlines also the fact that these species are not systematically occurring or dominant during Ba shell enrichment. For example, in 2000 and 2003, some Ba shell enrichments are concomitant to dominant *Chaetoceros spp.* blooms mixed or not with a *Gymnodinium spp.* bloom. In 2004, Ba shell enrichments occurred during a dominant diatom blooms of *Rhizosolenia spp.* mixed with a *Chaetoceros spp.* bloom.

These results are also consistent with an unspecific phytoplankton pathway for Ba shell enrichment.

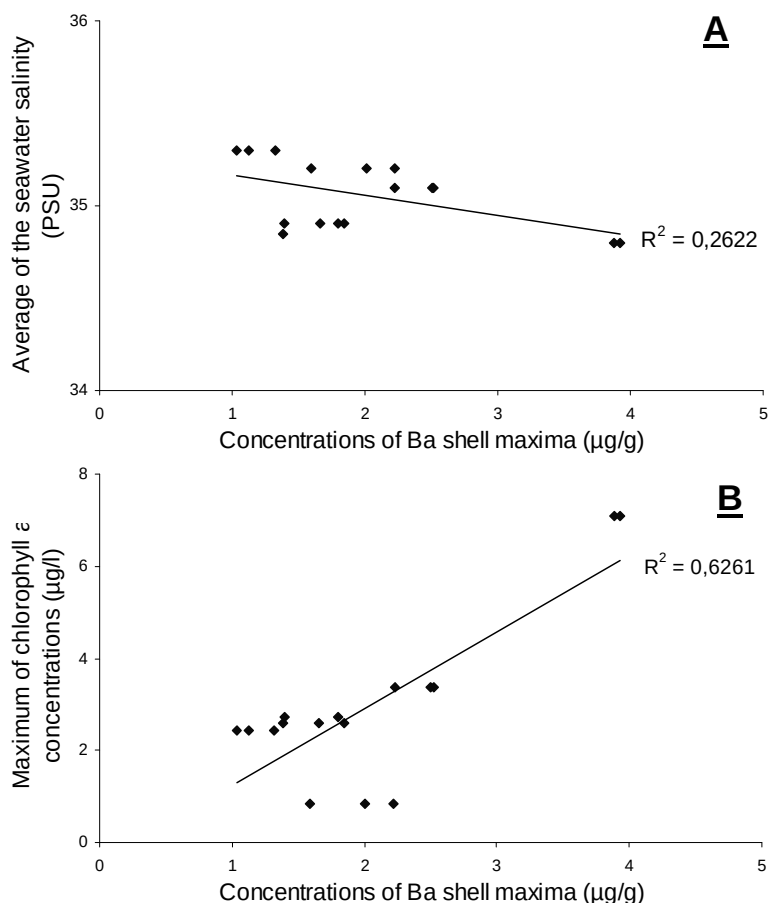


Figure III.2-5 Relationship between maximum concentrations of Ba shell enrichments occurring after the 4th August and (A) the average of seawater salinity; (B) Maximum concentrations of Chl a ($\mu\text{g.l}^{-1}$).

The results of statistical evaluations on the parameters influencing the Ba shell enrichments occurring in late summer (August-September) are presented in the Table III.2-4. No significant correlation between the intensity of Ba shell enrichments is revealed with specific phytoplankton species. The average concentrations of seawater salinity is significantly and negatively correlated with the maximum concentrations of Ba shell enrichments ($r^2 = 0.26$, $p < 0.05$, $n = 16$). The concentrations of Ba shell enrichments are plotted with the average concentrations of Chl a during this period (Figure III.2-5A).

Increased average salinity during the Ba shell enrichments is conducive to decreased concentrations of the Ba shell maxima. Even the significant association, no specific decrease of seawater salinity can be directly attributed to Ba shell enrichment. Maximum concentrations of Ba shell enrichments are also significantly related to the maximum concentrations of chlorophyll a during the period of Ba shell enrichment ($r^2=0.62$, $p<0.05$, $n=16$). The concentrations of Ba shell enrichments are plotted with the maximum of Chl a concentrations in Figure III.2-5B. Increasing maximum concentrations of Ba shell enrichments correlate well with increasing Chl a concentrations.

In late summer, the significant association observed between Ba shell enrichments and total phytoplankton biomass, highlights a species-unspecific pathway, corresponding to the major contribution of the total phytoplankton biomass. In the early summer period, even if the Ba shell enrichments are significantly related with *Chaetoceros spp.* blooms, the moderate correlation might agree with Ba shell enrichments induced by unspecific species.

III.2.4.2.3. Potential pelagic processes leading to Ba enrichment into the scallop shell

Barium biogeochemistry in marine waters has already been established as a paleo productivity tracer (Dymond and Collier 1996; Paytan and Kastner 1996; Stecher et al. 1996; Vander Putten et al. 2000). Maxima of barium concentrations within bivalve shell species were first suggested to be an effective proxy for primary production (Lazareth et al. 2003; Stecher et al. 1996; Thébault et al. submitted; Toland et al. 2000). The Ba shell peaks are also proposed to be the result of the filter feeding bivalves ingesting Ba-enriched particles associated with diatom blooms, as either phytoplankton, or barite (Stecher et al. 1996). All these results agree with our hypothesis of Ba shell enrichments related with phytoplankton biomass. Only the background Ba shell concentrations are demonstrated to be related to the seawater Ba concentrations (Gillikin et al. 2006) (Chapitre II.2.). Ba shell enrichments are thus supposed to be induced by particle uptake of phytoplankton. Metal bioaccumulation in hard carbonate shells of marine organisms is previously demonstrated to be induced by a dietary uptake of metal bound to particles, especially for bivalve species (Luoma and Rainbow 2005).

Different concomitant pathways can be highlighted for Ba shell enrichment: specific phytoplankton species containing high levels of barium, uptake of barite, Ba-enriched hydroxide particles, and/or recycling of pelagic Ba particles deposited at SWI after blooms.

Phytoplankton bioaccumulation:

Barium is recognized to be accumulated by marine phytoplankton grown both in diatoms (mostly associated with the Si frustules) and dinoflagellates (Fisher et al. 1991). Ba accumulation in diatom cells is proposed to be mainly or entirely associated with the frustules (Dehairs et al. 1980; Fisher et al. 1991). This accumulation may be consistent with a direct trophic uptake of Ba-enriched biogenic particles originating from all the phytoplankton species. This hypothesis may agree with an hypothetic unspecific pathway observed for Ba shell enrichments during the late summer period.

Barite formation:

Recent investigations on the specific enrichment of biogenic particles with barium highlight the role of specific micro-environments in seawater (Bishop 1988). There was evidence for the extensive barium precipitation as barite supported by diatoms growth in cultured and real environments (Bishop 1988; Ganeshram et al. 2003). Toward the end of blooms, diatoms can excrete large quantities of sticky, polysaccharide-rich material in response to nutritional stress (Stecher and Kogut 1999). Agglomeration of these exudates into “transparent exopolymer particles” or TEP is reported for *Chaetoceros spp.* blooms during and after intensive bloom events (Alldredge et al. 1995; Passow and Alldredge 1995; Stecher and Kogut 1999). The production of TEP provides a sulphate-rich micro environment required for barite precipitation (Stecher and Kogut 1999). This precipitation, supported by the diatom growth and decay, may thus induce a sudden pulse of Ba that can account for the Ba shell enrichment through barite ingestion (Gillikin et al. 2006). This process can explain specific intensive Ba shell enrichments during the *Chaetoceros spp.* blooms occurring in the early summer period. This process is however not sufficient to account for the summer specificity of Ba shell enrichments and their occurrence during dominant *Gymonodinium spp.* blooms.

Adsorption onto mineral oxides:

The use of biogenic Ba as a proxy of productivity requires a careful consideration of the dynamics of particle fluxes (Sanchez-Vidal et al. 2005). Recent studies reveal that barite formation and Ba phytoplankton uptake are not sufficient to explain the vertical flux of Ba in oceanic waters (Sternberg et al. 2005). Barium can also be adsorbed onto mineral oxides (i.e. Fe, Mn) formed subsequently within diatom biogenic particles rather than by direct cellular uptake (Sternberg et al. 2005). The adsorption of Ba on these oxides may contribute to Ba transport at SWI. This process can provide another explanation for intensive Ba shell enrichments during diatom blooms. The influence of the summer conditions (higher seawater temperature and salinity) on this adsorption process is however not known. This adsorption pathway can thus not clarify the summer specificity of Ba shell enrichments and also those occurring during dominant *Gyrodinium* spp. blooms.

Benthic recycling at the SWI:

Sedimentation of phytoplankton blooms may conduce to redox changes at SWI. Scallop Ba uptake from benthic release during the summer period might provide an alternate contribution into their shells. Sedimentary Ba release can be related to suboxic diagenesis via the reductive dissolution of iron and manganese oxy hydroxides, and subsequent benthic flux contribution might be assimilated into scallop shells (Mc Manus et al. 1998; Paytan and Kastner 1996). Seasonal variations of Mn concentrations in *Pecten maximus* shells are previously determined to reflect the seasonal variations of dissolved Mn concentrations (Freitas et al.). There is however no concomitant increase of Mn shell concentrations that might suggest significant benthic flux, and thus potential Ba shell enrichments. The Ba associated with Mn oxides is also suggested to be a relative minor fraction compared with bulk Ba concentrations (Schenau et al. 2001). The Ba concentrations measured in the 2 first cm of sediment, at the same location and during a spring period without Ba shell enrichments (May 2004), are around $1.41 \pm 0.09 \mu\text{mol.g}^{-1}$ (Annexe VI.2.3). A Ba enrichment factor is calculated as the ratio between Ba concentrations in sediment and those reported in the average crustal composition (4

$\mu\text{mol.g}^{-1}$). The enrichment factor is averaging 0.35 ± 0.03 and suggests a low standing stock of Ba in surface sediments. Even sedimentation of phytoplankton blooms can induce changes of redox conditions at SWI, the low Ba standing stock in surface sediments argue against a direct and significant benthic contribution for Ba shell enrichment during peak events.

An indirect benthic release can also be considered due to the potential recycling of pelagic Ba particles deposited at SWI after blooms. This recycling is favoured by the benthic bacterial activity which is more intensive in summer. In the Bay of Brest, Ba concentrations are previously determined in particulate suspended matter sampled at 1 m upper the SWI and in the dissolved phase (Lorrain 2002). This study suggests that Ba shell enrichments are not related with dissolved Ba concentrations, but rather with fluctuating Ba particulate concentrations, especially for biogenic particles (Lorrain 2002). This process coupling pelagic and benthic dynamics may account for the hypothetic unspecific phytoplankton pathway for Ba shell enrichments in summer.

III.2.5. Conclusion

Barium profiles obtained in the Great Scallop from the Bay of Brest agree with previous investigations. Similar to all bivalves analyzed to date, the Ba shell profiles are characterized by a relatively constant background of Ba shell concentration mainly governed by the Ba seawater concentration. Sharp Ba shell enrichments are also exhibited and related to phytoplankton dynamics. Ba shell enrichments are favoured in summer conditions and probably induced by a pelagic scavenging pathway for Ba input to the SWI, and thus a trophic uptake of Ba enriched particles. Different pathways such as uptake of barite, Ba-enriched hydroxide particles, specific phytoplankton species containing high levels of barium, and recycling of pelagic Ba particles deposited at SWI after blooms-, can account for the Ba shell enrichment. Although the dominant pathways are not clearly identified, our results give strong evidence that episodic Ba shell enrichment might be used as a proxy for phytoplankton blooms mainly occurring in summer in temperate coastal environments. The specificity of the scallop shell growth provides a new type of information that can be resolved on a daily time basis, which is extremely useful to investigate transient paleo-events.

Acknowledgments

This work was supported in the framework of two research programs: ACI PECTEN (French Ministère de la Recherche) and “Suivi Erika” (INERIS, French Ministère de l’Environnement). Thermo Electron Company is thanked for the loan of the ICP-MS. A.B. acknowledges the Aquitaine Region (ORQUE p185-roject) for her Doctoral fellowship.

Synthèse comparative des enrichissements coquilliers en Mo et en Ba

Quelque soit le type d'écosystèmes étudiés (France: rade de Brest, Belle Ile, Quiberon; Espagne : Ria de Vigo), les variations des concentrations du Mo et du Ba le long des stries de croissance des coquilles Saint Jacques ont révélé des profils récurrents avec des enrichissements significatifs et périodiques. Ces enrichissements coquilliers sont principalement observés au printemps pour le Mo (plus particulièrement au mois de mai) et en été dans le cas du Ba (fin juin à début septembre). Ces observations ont donc permis de mettre en évidence des phénomènes périodiques qui représentant donc des processus biogéochimiques significatifs à l'interface eau/sédiment (habitat de la coquille).

Ces enrichissements coquilliers observés pour le Mo et le Ba ont été statistiquement liés à la dynamique phytoplanctonique : dans le cas du Mo, à la biomasse phytoplanctonique printanière dominée par des diatomées, et pour le Ba à des efflorescences phytoplanctoniques estivales dominées par des diatomées ou des dinoflagellées. Ces enrichissements coquilliers du Mo et du Ba sont donc liés à des sources pélagiques, c'est-à-dire issues de l'efflorescence et de la sédimentation du phytoplancton. Ces enrichissements traduisent donc un apport particulier provenant de ces efflorescences phytoplanctoniques qui transitent du milieu vers la coquille par la voie trophique du bivalve (système digestif).

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'enrichissement particulier du Ba dans la colonne d'eau lors d'efflorescences phytoplanctoniques: l'assimilation directe du Ba dissous par les organismes phytoplanctoniques, la précipitation du Ba dissous sous forme de barytine dans des microenvironnements riches en sulfate générés lors de la sénescence des efflorescences phytoplanctoniques, ou l'adsorption du baryum dissous sur des hydroxydes minéraux particuliers. Plusieurs processus potentiellement impliqués pour les enrichissements printaniers du Mo ont aussi été évoqués : l'assimilation non expliquée du molybdate dissous par certaines diatomées, la présence de cyanobactéries, utilisant le Mo, symbiontes à certaines espèces de diatomées (Dénitrogenase), l'activité enzymatique de certains microorganismes (Nitrate reductase), ou l'association non enzymatique du Mo avec les particules biogènes. Cependant, que ce soit pour le Mo et le Ba, aucun processus dominant n'a été clairement identifié, pour comprendre les spécificités temporelles de ces enrichissements.

Cette étude a permis de confirmer les résultats préliminaires issus de la littérature pour le Ba et de souligner un nouveau traceur potentiel le Mo. Dans les environnements côtiers tempérés, les enrichissements du Mo et Ba dans la coquille sont des indicateurs du couplage pélagique/benthique et du flux de matières particulaires associées à la sédimentation des efflorescences phytoplanctoniques (Figure III.2-6). L'utilisation complémentaire de ces deux éléments comme traceurs potentiels de la dynamique phytoplanctonique conduirait ainsi à une meilleure estimation de la productivité, notamment pour les études de paléocéanographie. Cette approche expérimentale novatrice (coquille Saint Jacques + ablation laser ICP-MS) permet de mieux comprendre, au travers la microchimie des stries journalières de croissance de la coquille, la biogéochimie du Ba ou du Mo.

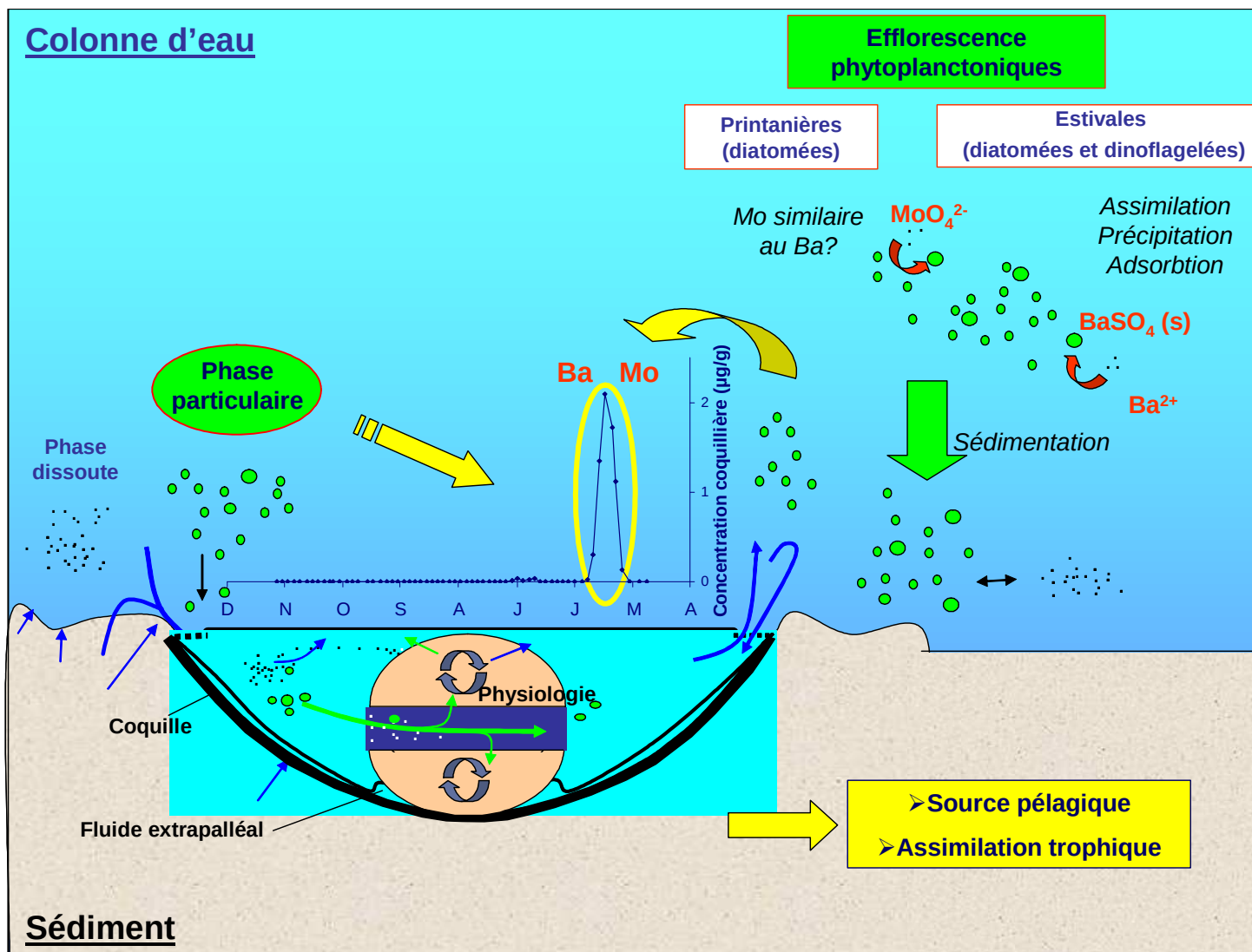


Figure III.2-6 Représentation schématique des principaux facteurs influençant les enrichissements des concentrations coquillières du Mo et du Ba dans la coquille Saint Jacques.

III.3. Archives haute fréquence des apports en manganèse dans la baie de Seine par la micro analyse des stries de croissance calcifiées de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*)

High frequency archives of manganese inputs to coastal waters (Seine Bay, France) resolved by the microanalysis of calcitic growth layers along scallop shells (*Pecten maximus*)

A. Barats¹, D. Amouroux^{1*}, C. Pécheyran¹, L. Chauvaud², O.F.X. Donard¹

(1) LCABIE-UPPA, CNRS UMR 5034, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2 avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

(2) IUEM-UBO, CNRS UMR 6539, Technopole Brest-Iroise, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

Soumis

Résumé: La coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) forme une strie journalière de calcite sur sa coquille qui permet une datation précise de la strie et un archivage des conditions environnementales à une échelle journalière. Des analyses quantitatives du manganèse ont été effectuées par LA-ICP-MS sur des coquilles collectées dans la baie de Seine (France). Les variations des concentrations en Mn dans la coquille ont été examinées d'Avril à Octobre 2004 en fonction de paramètres hydrologiques mesurés régulièrement dans la Seine, dans l'estuaire et dans la baie (Agence de l'Eau Seine Normandie: AESN, Institut Français de la Recherche pour l'Exploitation de la Mer: IFREMER). Le principal objectif de cette étude a été, d'abord, de souligner que la composition chimique du Mn le long de la coquille montre des enrichissements et des appauvrissements épisodiques et, ensuite d'évaluer le cycle du Mn et des apports à l'interface eau/sédiment en fonction des profils coquilliers du Mn. Cette étude révèle que les profils de concentrations du Mn, le long des stries journalières de la coquille, dépendent de processus biogéochimiques bien identifiés dans les environnements estuariens et côtiers. Les flux particuliers du Mn provenant de la Seine contrôlent, principalement, l'apport de Mn dans la baie et sont fortement corrélés aux concentrations coquillières en Mn du mois d'avril au mois de juillet ($r^2=0.97$, $n=8$, $p<0.05$). A la fin de l'été, les apports par la Seine ne sont pas suffisants pour expliquer l'enrichissement du Mn dans la coquille. D'autres sources additionnelles sont ainsi suggérées des apports supplémentaires de Mn. Pendant cette période, les données du suivi environnemental ont permis de souligner des oscillations successives des conditions rédox dans la zone turbide de l'estuaire et des conditions plus réductrices à l'interface eau/sédiment dans la baie induites par la déposition des efflorescences phytoplanctoniques. De tel processus peuvent induire des flux de Mn dissous issus de particules de l'estuaire, mais aussi du sédiment dans la baie, qui peuvent ainsi contribuer à l'enrichissement du Mn dans les coquilles. Cette étude révèle que l'enrichissement successif du Mn dans les coquilles Saint Jacques est une archive naturelle pertinente pour évaluer les processus biogéochimiques majeurs dans les environnements côtiers tempérés, à l'échelle de la journée.

III.3.1. Abstract

The Great Scallop *Pecten maximus* (L.) produces a daily calcite growth layer on its shells which permit an accurate dating of the stria and archiving of environmental conditions on a daily basis. Measurements of Mn were performed by LA-ICP-MS on *Pecten maximus* shells collected in the Seine bay (France). Variations of Mn shell concentrations were examined from April to October 2004 together with hydrological parameters continuously monitored in riverine, estuarine and coastal waters (Agence de l'Eau Seine Normandie: AESN, Institut Français de la Recherche pour l'Exploitation de la Mer: IFREMER). The main aim of this investigation was first to assess that Mn micro chemical composition along the shell is reflecting episodic enrichment or depletion in such an environment, and second, to depict Mn cycling and input at the sediment/water interface (SWI) according to the measured profiles. This study reveals that Mn concentration profiles along the daily shell growth layers depend on well identified processes for Mn biogeochemistry in estuarine and coastal environments. Potential Mn particulate fluxes from the Seine river, that mainly control the Mn input to the bay, are strongly correlated with Mn shell concentrations from April to July ($r^2 = 0.97$, $n = 8$, $p < 0.05$). In late summer, riverine input can not only account for the Mn shell enrichment in the shell, suggesting thus that additional sources for Mn at the SWI remain. During this period, hydrological monitoring data suggest that successive redox oscillations within the high turbidity zone of the lower Seine estuary and post-bloom reductive conditions developed at the SWI of the Seine Bay were occurring. Such time-resolved processes may lead to the release of dissolved Mn from both estuarine particles and coastal sediments, and may definitely contribute to Mn enrichment in the shell. This study reveals that incremental Mn enrichment in scallop shells is a relevant natural archive to evaluate major processes of Mn biogeochemistry in temperate coastal environments at intervals of one day.

Keywords: Manganese, shells, biogeochemistry, seawater/sediment interface, estuaries

III.3.2. Introduction

In a gradually changing chemical environment, the knowledge on the chemical speciation of trace metals is essential for the full understanding of processes controlling trace metals distribution in estuaries. The chemical behaviour of a metal within estuaries should be consistent with its reactivity which can be mostly described by its chemical speciation as a function of salinity. Manganese is an element very sensitive to redox conditions and is relatively mobile in natural waters. In oxygenated seawaters, the most stable Mn phase is the insoluble $\text{MnO}_2(\text{s})$ form (Overnell et al. 2002; Roitz et al. 2002; Rue et al. 1997). In the estuaries, permanently oxygenated conditions are not remaining and by consequence, occurrence of reducing conditions can favour the reduction of particulate $\text{MnO}_2(\text{s})$ into a dissolved Mn^{2+} . The slow kinetic of the Mn^{II} oxidation can also account for the persistence of this meta-stable ionic specie in oxic waters (Hem 1963). The biogeochemical estuarine cycling of Mn was suggested to be reflected by a dissolved Mn vs salinity diagram indicating the processes that may alter the dissolved Mn concentration of the water column (Roitz et al. 2002). Dissolved Mn was reported to increase during important Mn inputs of non-saline waters (freshwater runoff and wastewaters) and to decrease at higher contribution of seawater. Mn^{2+} desorption process from riverine suspended particles at the freshwater/seawater interface was evidenced in various studies (Ouddane et al. 1997; Statham et al. 2005).

Atmosphere/seawater exchange, such as evaporation/precipitation, may also alter dissolved Mn concentration in the water column being conservative with salinity. Atmospheric inputs was also reported to be an effective source for dissolved Mn in open ocean region of the eastern Atlantic Ocean (Statham et al. 1998), whereas this source was also suggested to be a negligible fraction of dissolved Mn in the coastal environment of the San Francisco Bay (Roitz et al. 2002). Anthropogenic sources were revealed to have a very limited impact on Mn concentrations in estuaries (Yang and Sanudo-Wilhelmy 1998). The cycling of Mn in estuaries is rather dominated by natural processes (e.g., river inputs, particles desorption and sediment remobilization) (Yang and Sanudo-Wilhelmy 1998). Statham et al. (1998) suggested the occurrence of other important sources of manganese (Statham et al. 1998). Benthic inputs of Mn can increase the dissolved Mn concentration of the water column, particularly at sediment-water interface (SWI) without change of the salinity

(Millward et al. 1998). These variations were attributed to the diagenetic remobilization in reducing conditions. Reduced Mn was recognized to be released into solution during summer when the dissolved oxygen concentrations decrease (Elbaz-Poulichet et al. 2006; Laslett and Balls 1995; Roitz et al. 2002). This enrichment of dissolved Mn is reported to be heterogeneous and spatially variable, presumably as a result of variability in release of Mn coupled with mixing of water and removal processes (Statham et al. 2005). Seasonal variabilities on Mn distribution were reported in vertically well mixed water column, but also in stratified water column (Laslett and Balls 1995; Millward et al. 1998; Tankere et al. 2000).

Measurement of Mn benthic flux would also reflect changes of redox conditions and account for seasonal variabilities (Laslett and Balls 1995; Point et al. in press). Mn benthic flux was already measured at the SWI and was correlated to the global benthic respiration rate (O_2 consumption) in a shallow eutrophic bay (Point et al. in press) or in a deep coastal bay (Berelson et al. 2003). These fluxes underlining seasonal variabilities demonstrated the occurrence of different controlling processes, including benthic carbon mineralization rates and bioirrigation activity. Dissolved Mn is particle reactive and can be removed from the water column by Mn oxide precipitation, sorption onto inorganic and organic particles, bacteria (Sunda and Huntsman 1987; Sunda and Huntsman 1990, Klinkhammer, 2001 #328), and phytoplankton (Sunda and Huntsman 1996). These processes can account to reduce the dissolved Mn concentration without change in the salinity of the water column. In summary, it is now well established that the speciation of Mn is thus a prominent indicator of redox conditions at the SWI in coastal environments (Rue et al. 1997).

The cycling of Mn in the Seine river estuary was investigated because both in dissolved and particulate phases. This ecosystem was already investigated to evaluate the Mn distribution and fluxes (Chiffoleau et al. 1994; Ouddane et al. 1997). Dissolved fluxes were determined multiplying the freshwater discharge at Poses and the metal concentration in the dissolved phase. Particulate fluxes were estimated by the freshwater discharge at Poses multiplied by the suspended particulate matter load (SPM) and the metal concentration in the particulate phase.

In the Seine river estuary, this metal was demonstrated to be also redox sensitive and to behave non-conservatively, which is in agreement with others studies (Klinkhammer and Mcmanus 2001). Mn behaviour was reported to be strongly influenced: (a) in solid samples, by the presence of calcium carbonate which

stabilise the Mn^{II} form; (b) in solution, by the increase of salinity, calcium, magnesium and suspended matter concentrations, by the formation inorganic complexes and by significant benthic fluxes to the water column (Ouddane et al. 1997). Chiffoleau et al. (1994) also reported that Mn can be released from the solid phase of the sediment to the pore water by reductive dissolution of Mn oxides to be re-injected as dissolved species to the water column during the sediment erosion periods.

In this work, a new approach is proposed to provide additional information related to the biogeochemical cycling of Mn at SWI with a high temporal resolution. The use of the scallop shells (*Pecten maximus*) was already defined like a promising archive of environmental changes in temperate environment (Chauvaud et al. 2005). This bivalve presents a daily calcite growth layer (stria) on its shell in which the variations of trace element concentrations may provide significant high frequency archived information (Chauvaud 1998). Shell composition is also considered to reflect the environmental conditions at the SWI. In *Pecten maximus* shells, Sr/Ca ratios were demonstrated to be mainly controlled by calcification temperature (Freitas et al. 2006), or the precipitation rate (Lorrain et al. 2005). Mg/Ca ratios, in *Pecten maximus* shells, were reported to be an unreliable temperature proxy (Freitas et al. 2006) in opposition to marine aragonite biominerals previously studied (Stecher et al. 1996). Average background shell concentration of most of the trace elements (Mg, Sr, Ba, Mn, Pb...) were however revealed to be related to the concentrations of trace element in seawater and their solubility constant with carbonates (Chapitre II, partie II.2.). Variations of Mo and Ba shell concentrations were also demonstrated to be a relevant tool to evaluate the phytoplankton dynamic in a coastal bay (blooms) (Chapitre III, partie III.1. et III.2.). Mn/Ca ratios in *Pecten maximus* shells originating from the Menai Strait (Wales, UK), revealed seasonal variations which were suggested to reflect the intra-annual variation of seawater dissolved Mn^{2+} (Freitas et al. 2006).

Based on these previous findings, we thus propose to examine the variations of Mn shell concentration in the Seine bay estuary as a potential indicator of the biogeochemical Mn cycling. The Mn shell concentration profiles are first examined on the growth layers of 3 shells covering the year 2004 (April to October). Potential processes related to the variability of the Mn shell content are then discussed in relation to the average growth of the shell community and to hydrological data

providing the temporal status of the Seine river end-member, estuarine High Turbidity Zone (HTZ) and estuarine plume along the year 2004.

III.3.3. Materials and methods

III.3.3.1. Studied site and sample preparation

The Seine river (France) is the largest freshwater outflow into the English Channel (Figure III.3-1). Its length is 780 km and its catchment area is 75000 km² in which 40% of the French population and economic activity are located.

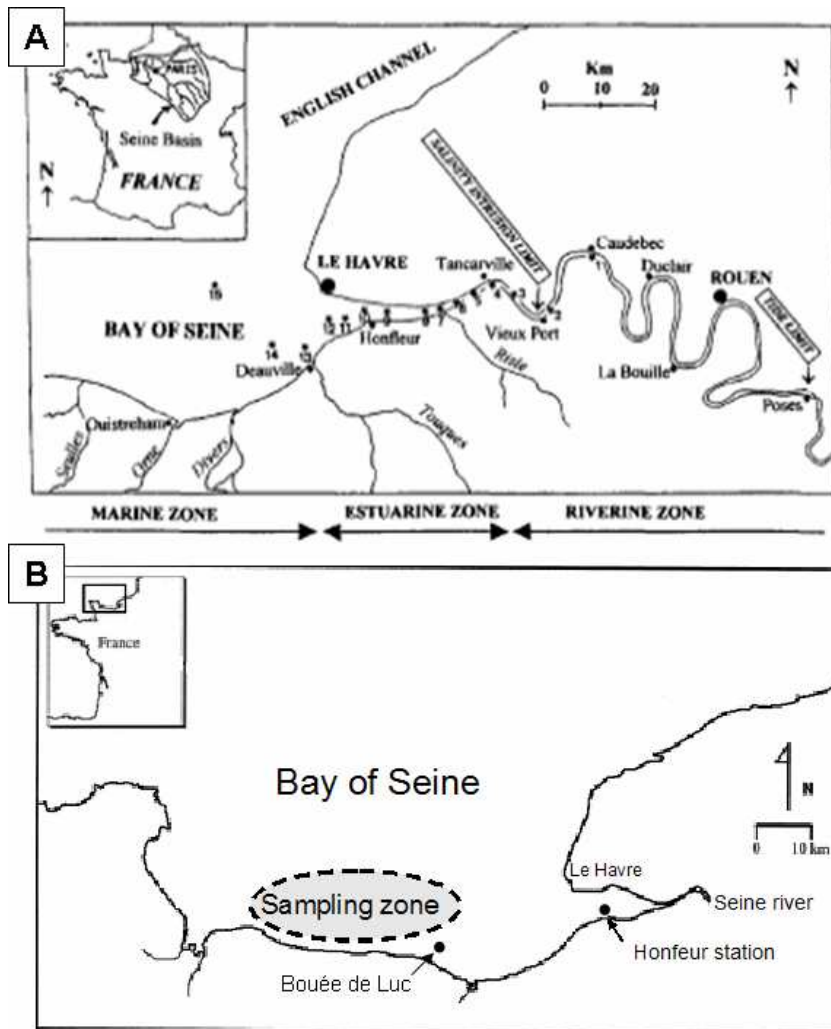


Figure III.3-1 Map of the investigated area: A/ exhibits the Seine river with the upstream stations “Poses” and the downstream station “Honfleur” in the estuary and the high turbid zone; B/ presents the sampling zone of the shells and the station “La Carosse” located in the plume of the river and in the bay.

The annual average water discharge ranges from 200 to 650 m³.s⁻¹ with significant seasonal fluctuation (from 60 to 2000 m³.s⁻¹) (Chiffolleau et al. 1999). The suspended particulate matter concentrations of the river mostly depend on the water inflow, leading to an average annual flux to estuarine waters of about 5 × 10⁸ kg.y⁻¹ (Avoine et al. 1986). The Seine river estuary is known to be highly contaminated by wastes derived from industrial and urban sources. The hydro-sedimentological processes in the Seine estuary are very complex. They are enhanced by a macrotidal regime which controls suspended material transport, deposition and erosion. The limit of tide variations can be observed 100 km upstream Le Havre at Poses (Figure III.3-1). The estuary is characterised by a high turbidity zone (up to several g.l⁻¹), very dynamic, usually found between Tancarville and Le Havre and related to the large tidal range (3 m at neap tide to 7.5 m at spring tide) coupled with relatively shallow depths (Avoine et al. 1986). The Bay of Seine is usually considered as one of the most eutrophicated coastal ecosystems in Europe, due to large nutrient loadings from the Seine river (Guillaud et al. 2000). This ecosystem is mainly influenced by the Seine river and the inputs induced by the others rivers are negligible.

Shells of *Pecten maximus* were collected in the Bay of Seine (France) by dredging trail on board a professional fishing vessel (L. Chauvaud, pers. comm.). The sampling area, shown in the Figure III.3-1, is characterized by one of the highest scallop densities in the Bay. Soft tissues were removed from the shells. The shells were then cleaned with glacial acetic acid (Merk, analysis grade) for 60 seconds, thoroughly rinsed with 18.2 MOhm milli-Q water and dried overnight. Only the flat valve part was considered for LA-ICP-MS analysis. A 45x10 mm² cross section corresponding to the year 2004 was then cut along the axis of maximum growth rate with a diamond saw to fit into the ablation cell of the laser.

III.3.3.2. Analyses

Quantitative analyses of the shells were performed by LA-ICP-MS method consisting of coupling a UV laser ablation unit (LSX 100 UV 266 nm, Cetac) to an ICP-MS (X7 serie, Thermo Electron). The technical details for analysis of scallop shells is described elsewhere (Chapitre II) and succinctly in previous investigations (Chiffolleau et al. 2004; Thébault et al. submitted). Standards and samples were analysed at a speed rate of 5 µm.s⁻¹ during 2 min. The shell samples were previously

ablated at a speed rate of $50 \mu\text{m.s}^{-1}$ to remove eventual deposited fresh material on the shell and thus to avoid surface contamination. Results of ^{55}Mn isotope profiles were normalised by the ^{43}Ca isotope. Quantitative analyses were performed with an external calibration using lab prepared CaCO_3 pellets containing Mn concentrations ranging from 0.289 to $20.8 \mu\text{g.g}^{-1}$. The Mn calibration curve displayed a good linearity with a correlation coefficient r^2 above 0.99. Detection limits were calculated from the standard deviation on blank samples and the slope of the calibration curves and conducted to a value of 14 ng.g^{-1} for the Mn.

Shell analyses were performed each third striae. Scallop shells forming a daily calcite stria, temporal resolution of the sampling was about 3-days. A date of formation was assigned to each ablated sample by backdating from the harvest date. An estimate of the shell growth rate, expressed in $\mu\text{m.d}^{-1}$ was then made for each shell by measuring distances between successive striae using an image analysis technique described previously in details (Chauvaud 1998; Chauvaud et al. 1998).

III.3.3.3. Environmental data

Seine riverine flow rate and concentrations of suspended particulate matter in 2004 were measured at Poses (no submitted to the influence of tide variations) and originated from the database of the GIP Seine-Aval (Agence de l'Eau Seine Normandie, www.seine-aval.fr) (Figure III.3-1A). Mn particulate concentrations over the 10-year (1993-2003) periods originated also from the same database.

Seawater temperature, oxygen and chlorophyll a were measured at the seawater surface (0 - 1 m) in the Seine river estuary, in the high turbidity zone at Honfleur ($49^{\circ}25.75'\text{N}$, $00^{\circ}01.40'\text{E}$) (Figure III.3-1A, Figure III.3-1B) as part of the MAREL program (IFREMER, <https://www.ifremer.fr/difMareISeine/>). This program attempts to develop automated monitoring station for classical sea water, oceanographic and meteorological analysis.

Seawater salinity, temperature, chlorophyll, turbidity, ammonium, oxygen data were also measured in the Bay of Seine, as part of littoral environment monitoring program ("Réseau Hydrologique Littoral Normand") lead by the "Laboratoire Environnement et Ressources de Normandie" (IFREMER, <http://www.ifremer.fr/envlit/>; © RNO/REPHY - MEDD / IFREMER, banque Quadrigé), the "Agence de l'Eau Seine Normandie" and the "direction générale de

l'environnement (DIREN) de Basse et Haute Normandie". The turbidity and chlorophyll concentrations were examined at surface seawater to avoid measurement interferences due to particulate matter from the benthic resuspension. All the other parameters were considered in the deep seawater (1 m of the SWI) because they are more representative of the environmental conditions at the SWI, the shell habitat. This database measured at Luc bouy (49°19.61'N, 00° 19.67'W) were investigated because of regular measurement from April to September (monthly or less). This bouy is located in the bay, nearby the sampling zone (Figure III.3-1B).

III.3.4. Results and discussion

III.3.4.1. High resolution profiles of Mn shell concentrations

Mn profile of shell concentrations exhibited in Figure III.3-2, described for the three shells similar pattern with seasonal variabilities. These inter shell comparison (n=3) underlined that these variations of Mn concentrations with a 3-day resolution were reproducible in a same population. The reproducibility of Mn shell concentration profiles among scallop communities has been already demonstrated over a 7 year period (1998-2004) in the Bay of Brest (Chapitre II, partie II.2.). In 2004, four main periods in the Mn shell profile were defined. Mn shell concentrations were first decreasing from around 4 to 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$ in April. Mn shell profile presented then lower Mn shell concentrations averaging $1.9 \pm 0.3 \mu\text{g.g}^{-1}$ from May to mid-June. Third, Mn shell concentrations increased dramatically from mid-June to early July, until an average Mn concentration about $5.1 \pm 0.9 \mu\text{g.g}^{-1}$ from mid-July to early-September. During this summer period 2004, Mn shell profile exhibited significant increases of concentration with four maxima occurring the 9th and 18th July, the 8th and 28th August (incertitude of ± 3 days). Finally, Mn shell concentrations decreased until a minimum Mn shell concentration of $3.4 \pm 1.0 \mu\text{g.g}^{-1}$ the 15th September, and increased to early-October reaching $6.0 \pm 1.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ (similar to summer concentrations).

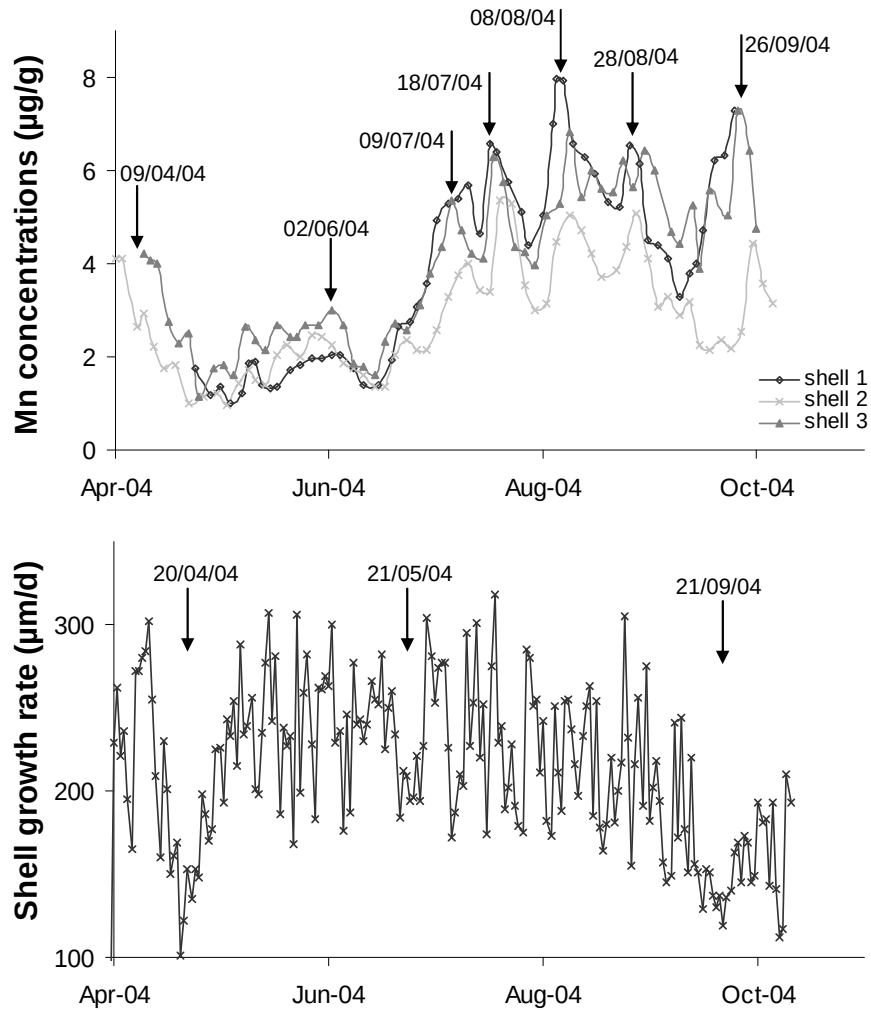


Figure III.3-2 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the average shell growth rate ($\mu\text{m.d}^{-1}$, $n=3$) from April to mid October 2004.

These Mn shell profiles underline seasonal variations that may be a relevant indicator of the bio availability of the manganese in the surrounding of shell habitat, i. e. the sediment-water interface. The seawater temperature and salinity are reported to have a minor influence on Mn concentrations in bivalve shells (*Mesodesma donacium* and *Chione subrugosa*) from the Peruvian Coast (Carré et al. 2005). In *Pecten maximus* shells, variations of Mn shell concentrations are considered to reflect intra-annual variations of seawater dissolved Mn^{2+} (Freitas et al. 2006).

In the Bay of Brest, Mn background shell concentrations were previously related to Mn seawater concentrations and the solubility constant with carbonates (Chapitre II, partie II.2.). Variations of Mn shell concentration are thus considered to reflect mainly the dissolved Mn, i. e. the more bioavailable form at SWI. In the Minea

Strait, Mn/Ca ratios in *Pecten maximus* shells revealed seasonal variations, but rather different than those obtained in this study (Freitas et al. 2006). In the Bay of Brest, little seasonal variations of shell concentrations were observed over a 7-year survey, and average background concentrations were assumed to be related to Mn inputs from river discharge followed by benthic remobilization (Chapitre II, partie II.2.).

Variations of Mn shell concentrations are compared with the shell growth rate (Figure III.3.2). Shell growth rate exhibit some periods of sharp decreases in late April, late June and late September. Decreases of shell growth rate were previously demonstrated to be induced by massive diatom or toxic dinoflagellate blooms (Chauvaud et al. 2005; Chauvaud et al. 1998; Lorrain et al. 2000). The major shell growth rate accident which occurs in late April do not correspond to any variation of Mn shell concentration. Minor decreases of shell growth rate exhibites in late June and in September are however concomitant to an increase of Mn shell concentrations. Most variations of Mn shell concentrations can not be thus related by shell growth rate evolution and thus time resolved physiological response of the scallop community to environmental factors.

Mn shell concentrations exhibits seasonal variations which are also expected for the behaviour of Mn at the SWI, especially for dissolved Mn^{2+} . Mn behaviour in the Seine bay estuary has been previously reported to be influenced by the increase of salinity, suspended matter concentrations, or by diffusion from sediments to water (Chiffoleau et al. 1994; Ouddane et al. 1997). Seasonnal variations of Mn shell concentrations are thus investigated according to the main seasonal periods (from April to October) characterized by specific hydrological and biogeochemical conditions in the Seine bay estuary.

III.3.4.2. Variations of Mn shell concentration in relation to estuarine and coastal cycling of Mn

III.3.4.2.1. Influence of upstream inputs from the Seine river on Mn shell enrichment

Early spring period (April-May 2004):

The Figure III.3-3 presents the variations of Mn shell concentrations according to the upstream flow rate and particulate flux of the Seine River. The particulate flux was estimated as the product of the flow rate by the suspended particulate matter (SPM) concentrations at Poses. The Seine river flow rate is decreasing from 383 $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ the 2nd of April to 296 $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ the 26th of April. The decrease of the Seine flow rates occurs also simultaneously with a decrease of the particulate flux from 3.6 $\text{kg}.\text{s}^{-1}$ the 7nd of April to 1.6 $\text{kg}.\text{s}^{-1}$ the 5th of May.

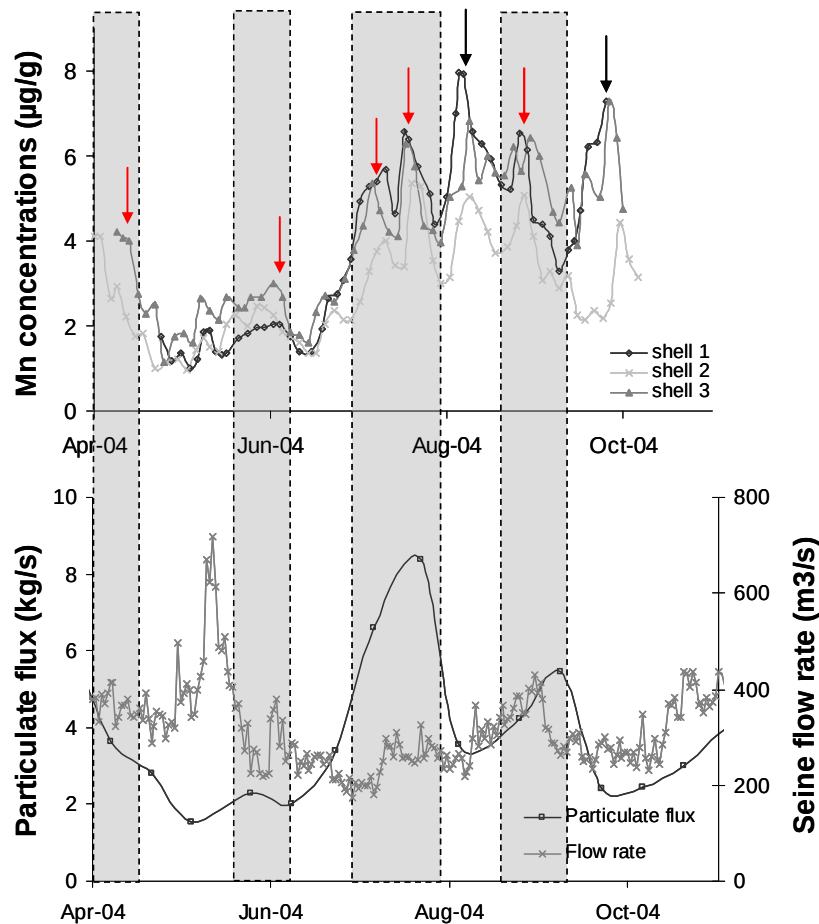


Figure III.3-3 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g}.\text{g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the flow rate ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) and the particulate flux ($\text{kg}.\text{s}^{-1}$) of the Seine river (measured at Poses), from April to mid October 2004. The dark grey arrows represent the maxima of Mn shell concentrations which are mainly influenced by the particulate upstream inputs from the Seine river. The black arrows exhibit others maxima of Mn shell concentrations.

Significant river discharges were previously recognized to bring large inputs of particulate Mn in the Seine bay estuary (Ouddane et al. 1997; Statham et al. 2005).

The average particulate Mn concentration over a 10-year (1993-2003) period is about $416 \pm 75 \text{ mg.kg}^{-1}$. Mn particulate concentrations are mostly derived from the erosion of the drainage basin and thus supposed to be homogeneous in the suspended particulate matter from the Seine river. Particulate flux is then suggested to reflect the Mn particulate flux from the Seine river. Early in spring, the water column is well mixed and oxygenated. Manganese is thus preferentially under $\text{MnO}_2(\text{s})$ particulate form. Particulate excess Mn was also reported during similar period (Tankere et al. 2000). During freshwater/seawater mixing in the Seine estuary, dissolved Mn (Mn^{2+}) can be desorbed from these particles (Ouddane et al. 1997). Decrease of particulate flux in the Seine river can induce a subsequent lower release of dissolved Mn during freshwater/seawater mixing. The concentrations of both dissolved and particulate Mn in the Bay of Seine are thus decreased, and thus its bioavailability for the shell uptake. This process is consistent with the variations of Mn shell concentration in April and is considered to be the main source for Mn shell uptake.

Late spring period (May-June 2004):

Mn shell enrichment during late spring exhibit the lowest content over the entire shell growth period (Figure III.3-3) although the Seine river discharge shows a significant increase in May with a maximum of $717 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ (12th May). The particulate flux of the Seine river is however not influenced by this higher flow rate in May. Major river runoff in winter and in early spring is suggested to have previously carried the major part of particulate matters from the river. The particulate flux of the Seine river is thus remaining stable from May to mid-June at a mean value averaging 2 kg.s^{-1} . In addition, a slight increase of Mn shell concentrations in May is simultaneously occurring with an increase of the particulate inputs from the Seine river, but not with the river discharge.

Well oxygenated waters in spring, argues with high particulate Mn and low dissolved Mn. Even if Mn may be adsorbed on inorganic or organic matter or uptaken by the phytoplankton, particulate flux from the river is supposed to mainly govern Mn abundance and distribution in the Bay which further contributes to Mn shell uptake from May to mid June.

Summer period (July-August 2004):

For the year 2004, periods of significant riverine particulate inputs are also occurring and are revealed by specific Mn shell enrichment in July (Figure III.3-3). The higher flow rates of the river occurring in early summer allow the transport of this particulate matters to the bay. These higher river inputs agree with the Mn shell concentrations underline two maxima: the 9th and the 18th of July (± 3 days), respectively of about, $5.0 \pm 0.9 \mu\text{g.g}^{-1}$ and $6.1 \pm 0.6 \mu\text{g.g}^{-1}$. Evaluation, every 15 days, of the particulate fluxes is not sufficient to accurately underscore these shell Mn maxima with Seine inputs. The Figure III.3.4 present the average Mn shell concentration ($n=3$) according to the Mn particulate flux of the Seine river. The Mn particulate fluxes are evaluated at Poses, such as Chiffolleau et al. (1994), with an average Mn concentration of particulate over a 10-year period (1993-2003). This result highlight a significant linear relationship ($r^2 = 0.97$, $n = 8$, $p < 0.05$) which supports that particulate flux from the Seine river is the dominant source for the variations of Mn shell concentrations from April to July.

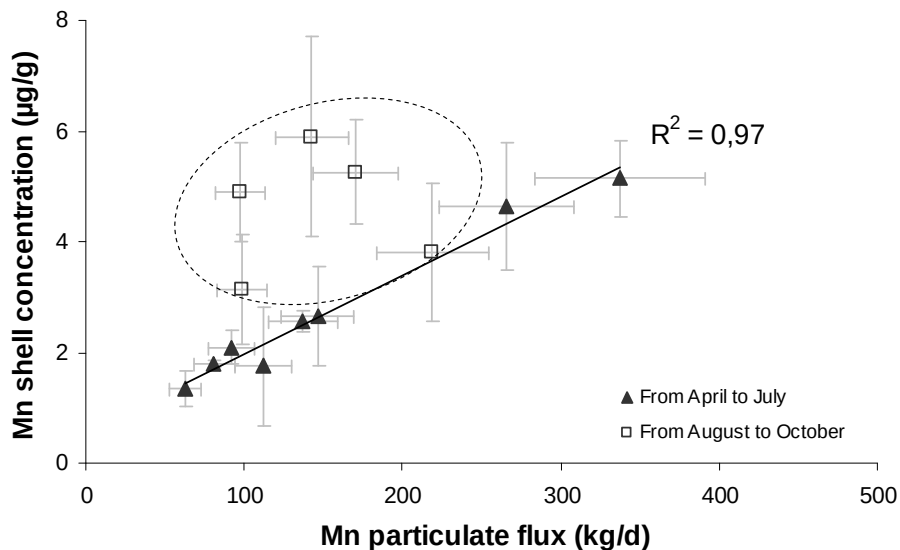


Figure III.3-4 Average Mn shell concentrations ($n=3$) as a function of the river particulate flux from April to July (full triangle) and the representation of the others points obtained from August to mid October (empty square) in 2004. For the Mn flux, the standart deviations were determined by the product of the standard deviation on the average Mn particulate concentration over a 10-year period (1993-2003), by the flow rate and by the suspended particulate matter (SPM) concentrations at Poses.

In August, particulate flux from the Seine is apparently not sufficient to account alone with such relative enrichment (Figure III.3-3 and Figure III.3-4). The Figure

III.3-4 exhibits an additional enrichment of Mn (factor 2 to 3) in the shell relatively to the riverine discharge for all the period taking place in summer. Other processes leading to additional Mn inputs are thus occurring in the estuary or in the bay during this period. In the Seine estuary, Mn is indeed reported to have a non-conservative behaviour during the low discharge period in summer (Chiffoleau et al. 1994) that revealed supplementary inputs of Mn in the Seine estuary and bay. The remaining contribution is furthermore demonstrated by a higher particulate flux measured at Poses which is again matching with a maximum Mn shell concentration (28th of August) observed during the same period (Figure III.3-3).

Late summer – early fall period (September-October 2004):

From September to mid-October, the river discharge and its subsequent particulate flux remain low (Figure III.3-3). Riverine input is decreasing from 415 m³.s⁻¹ the 1st September to 259 m³.s⁻¹ the 15th September. Particulate fluxes from the Seine exhibit a maximum input of about 5.4 kg.s⁻¹ the 8th September and are then decreasing to late September. This later decrease of the riverine inputs is thus suggested to account for the decrease of Mn shell concentrations from early September to mid-September. Seine flow rate is stable averaging 266 ± 25 m³.s⁻¹ from the 15th September to the 12th October. Riverine inputs and particulate flux are thus too low to be related with the increase of Mn shell concentrations from mid-September to early October. The upstream river inputs become thus negligible for this period.

III.3.4.2.2. Influence of the biogeochemical processes in the Seine estuary and bay on Mn shell enrichment

Spring period (May-June 2004):

Although the large riverine inputs are controlling Mn load to estuarine and coastal waters, available dissolved Mn at the SWI might be removed from solution by its sorption on inorganic and organic particles or uptake by phytoplankton and bacteria (Klinkhammer and Mcmanus 2001; Roitz et al. 2002; Sunda and Huntsman 1996). Variations of chlorophyll a concentrations exhibit an important phytoplankton biomass in May with increasing concentrations in the bay (Figure III.3-5).

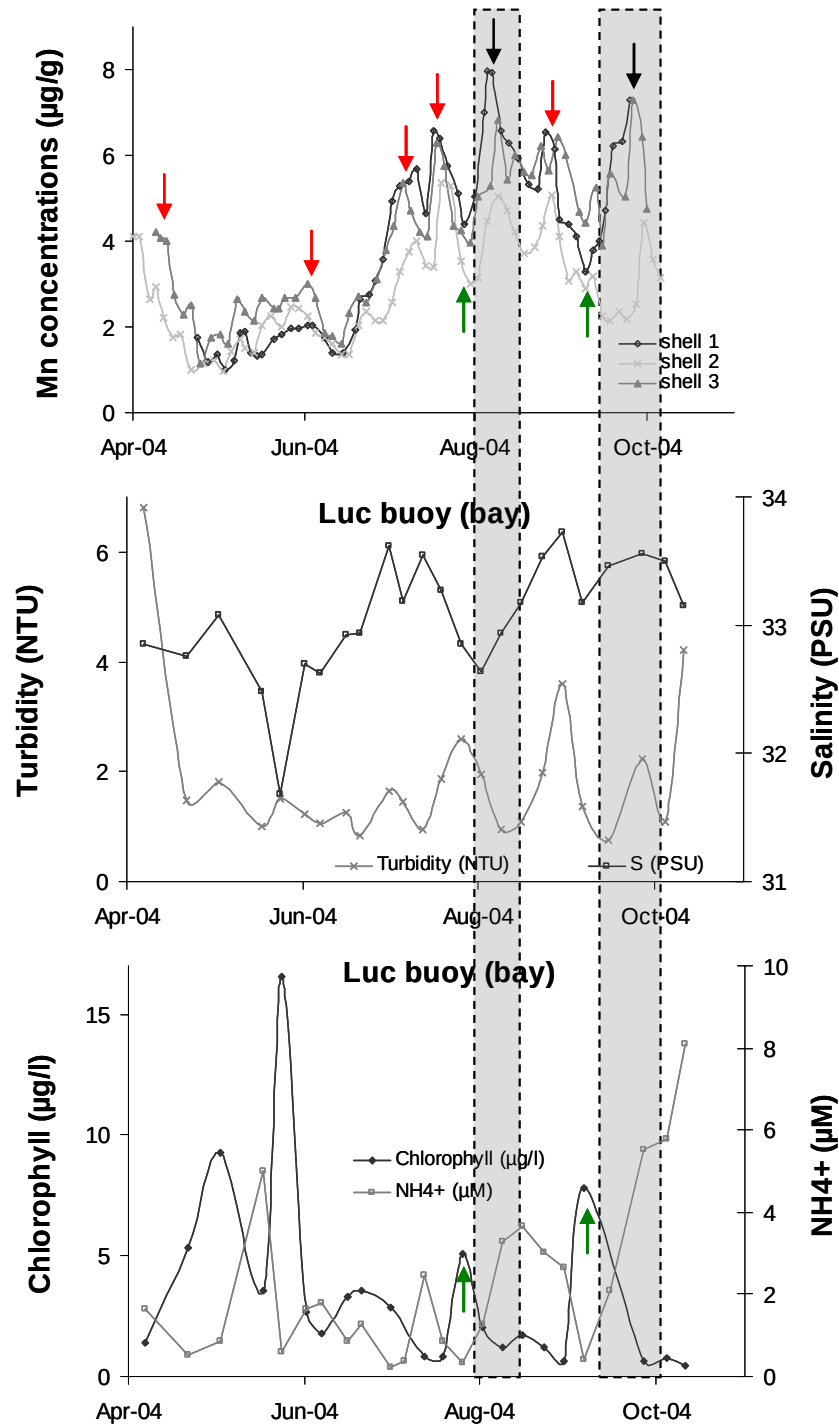


Figure III.3-5 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the seawater turbidity (NTU) and the chlorophyll concentrations ($\mu\text{g.l}^{-1}$) measured in surface seawater; and salinity (PSU) and ammonium concentrations ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) measured in deep seawater at Luc buoy (Seine bay), from April to mid October 2004. Black and light grey arrows reveal maxima and minima of Mn shell concentrations related to potential changes of redox conditions in the bay.

Large diatom blooms are indeed generally observed in spring (Cugier et al. 2005b). Mn may thus be adsorbed or uptaken by biogenic particle in oxygenated

water column. Subsequent biogenic particulate matters are sedimented through the water column. Deposition of this spring bloom is suggested to induce organic carbon inputs at the SWI and may consequently cause substantial reducing conditions at this interface. Release of dissolved Mn in the water column of the estuary combined with the high river flow rate may conduce to significant input of Mn in the bay water column. From mid-June to July, even if particulate fluxes from the Seine river are suggested to mainly govern the variations of Mn shell concentrations, release of dissolved Mn induced by the deposition of the spring phytoplankton bloom may also contribute to Mn shell enrichment.

Summer period (July- August 2004):

At the end of July, the chlorophyll concentrations in surface waters from the Bay of Seine are increasing, reaching a maximum value of $5.06 \mu\text{g.l}^{-1}$ the 26th of July (Figure III.3-5). The significant primary productivity occurring during this period is revealed by higher oxygen saturation in bottom water (Figure III.3-6). These variations may thus induce lower dissolved Mn concentrations at the SWI which thus agree with the minimum of Mn shell concentration observed simultaneously.

The Seine estuary is a macrotidal estuary characterized by a high turbidity zone (HTZ) governing the reactivity of the material transferred to coastal waters. During summer, eutrophication of the Seine river promotes estuarine heterotrophic activity and the formation of hypoxic to anoxic conditions in the HTZ (Anonymous 1991; Bally et al. 2004; Chiffoleau et al. 1994). The Figure III.3-6 presents the variations of Mn shell concentrations according to the estuarine water temperatures and oxygen saturation at Honfleur, i. e. within the estuarine HTZ. A severe depletion in oxygen occurs in the estuary in early August (minimum of 63 %, the 7th of August) which is concomitant with a period of high seawater temperature (maximum of about 21.8°C , the 11th of August), and with a maximum chlorophyll a concentration ($8 \mu\text{g.l}^{-1}$, the 4th of August). Mn shell concentrations exhibit also a maximum concentration of about $6.6 \pm 1.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ the 8th of August (± 3 days). The higher estuarine water temperature favours also heterotrophic activity and oxygen depletion. Reductive conditions measured in the HTZ are thus suggested to promote particulate Mn reduction to dissolved Mn^{2+} in both estuarine sediment and water column and to induce large inputs of dissolved Mn to the coastal waters.

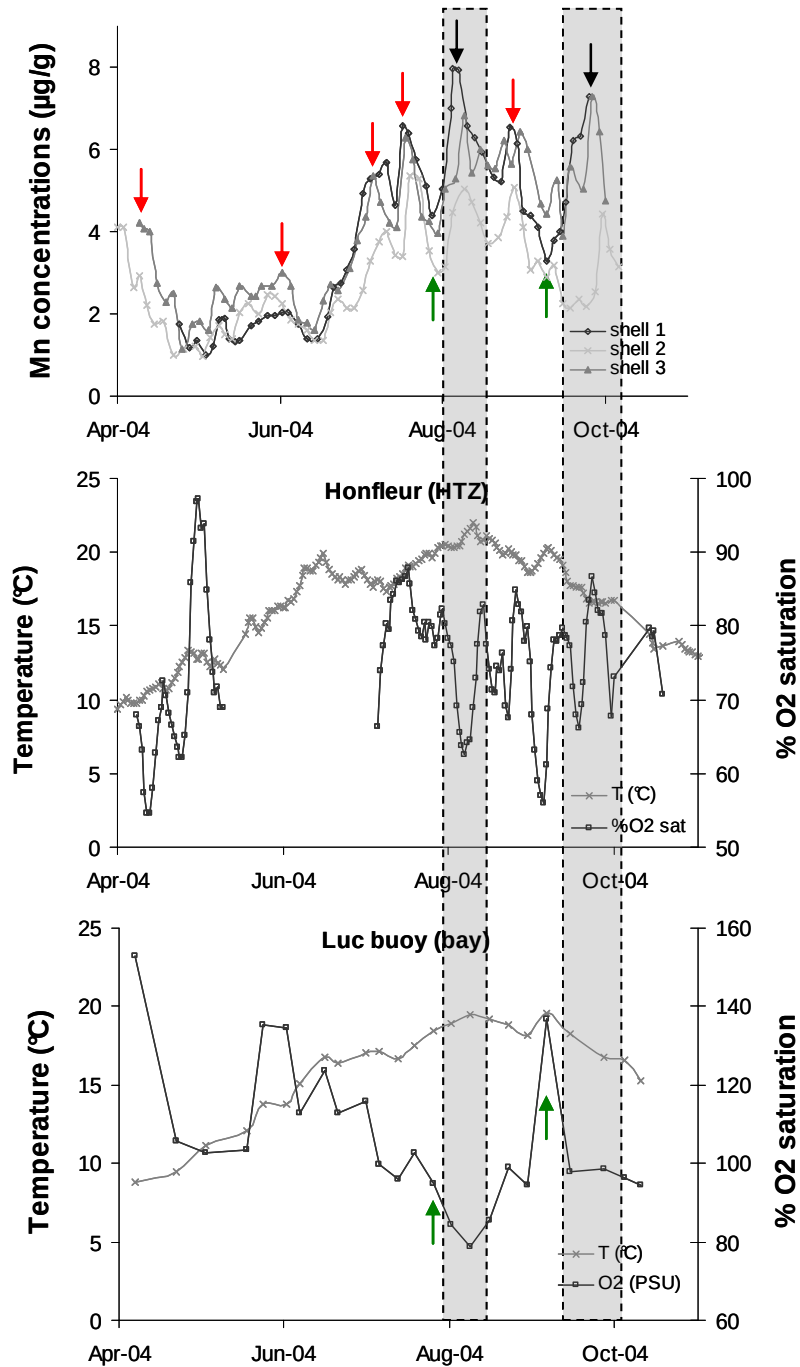


Figure III.3-6 Variations of Mn shell concentrations ($\mu\text{g.g}^{-1}$) obtained for 3 bivalves from the Seine bay according to the seawater temperature ($^{\circ}\text{C}$) and the saturation percentage of oxygen (%) in surface seawater at Honfleur station (Seine estuary, high turbid zone) and in deep water at Luc buoy (Seine bay), from April to mid October 2004. Black and light grey arrows reveal maxima and minima of Mn shell concentrations related to potential changes of redox conditions in the HTZ.

In the Seine bay, large summer blooms are usually associated to toxic dinoflagellates (Cugier et al. 2005a; Cugier et al. 2005b). The subsequent organic matter mineralization in surface sediments from the Bay requires also a significant

fraction of dissolved oxygen from the water column that may drastically promote the development of reductive conditions at the SWI.

In the bay, a massive bloom occurs with a maximum chlorophyll concentration of $5.06 \mu\text{g.l}^{-1}$, the 26th of August (Figure III.3-5). An oxygen depletion is subsequently observed (minimum of 79 %, 9th of August, Figure III.3-6). A simultaneous increase of NH_4^+ concentrations in seawater from $0.33 \mu\text{M}$ (the 26th of July) to $3.66 \mu\text{M}$ (the 16th of August) is also exhibited (Figure III.3-5). Increases of ammonium concentrations in the water column are generally induced by the remineralization of the organic matter (Bally et al. 2004). This significant increase of ammonium concentrations may thus confirm the benthic release of dissolved reduced components such as Mn^{2+} . This benthic can be thus related to the maximum of Mn shell concentrations of about $6.6 \pm 1.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ measured the 8th of August (± 3 days). In the North Sea, the ongoing oxidation of organic matter settling on the sediments, after the spring blooms, is demonstrated to sustain reducing conditions in the surface sediments for most of year, resulting in the mobilization of Mn and its depletion in the sediment (Dehairs et al. 1989). This diagenetic release of Mn, at or close to the SWI, is reported to occur predominantly in the summer, after the impact of the organic matter associated with phytoplankton blooms (Elbaz-Poulichet et al. 2006; Hall et al. 1999; Laslett and Balls 1995; Roitz et al. 2002).

Estuarine HTZ and coastal benthic processes, occurring both in the Seine estuary or bay, are consistent with higher dissolved Mn at the SWI in early August. Mn shell enrichments are thus not only related to upstream inputs from the Seine river, but also to downstream release of dissolved Mn under seasonal reducing conditions.

Late summer- early autumn period (September-October 2004):

In early September, chlorophyll surface concentrations in the bay are increasing until a maximum value of $7.82 \mu\text{g.l}^{-1}$ the 6th of September (Figure III.3-5). Again, the influence of primary productivity can be depicted by a simultaneous oxygen supersaturation in bottom waters (137%, the 6th of September) (Figure III.3-6). This may contribute to decrease the benthic release of the Mn to the water column. This process may thus account with the minimum of Mn shell concentrations observed the 9th of September.

After this period, the seawater column remains well oxygenated in the bay (average saturation of 97 %). NH_4^+ concentrations in seawater are however increasing from 0.41 μM (the 6th of September) to 8.11 μM (the 11th of October). Inputs of fresh organic matter from the late summer blooms to the bottom can thus significantly favour benthic mineralization and thus Mn remobilization at the SWI. In the post bloom period, concentrations of both dissolved and particulate Mn are recognized to increase due to diagenetic remobilization and to reach maximum levels in autumn (Hall et al. 1999). This process is suggested to be mainly involved into the Mn shell enrichment at the end of September.

After October, Mn benthic remobilization is suggested to decrease in the bay. During fall, the water column vertical mixing may drastically decrease dissolved Mn concentration at the SWI (Overnell 2002). This process is also suggested to account for the decrease of Mn shell concentration in October.

III.3.5. Conclusion

Mn shell uptake is governed by the Mn bioavailability at SWI, mainly as dissolved Mn. In the Seine bay, variations of Mn shell concentrations revealed similar profiles for shells from a same community and a seasonal pattern related to estuarine and coastal biogeochemistry. From early spring to July, Mn bioavailability and shell uptake is mainly controlled by the particulate upstream inputs from the Seine river. In late summer, Mn shell concentrations are additionally supported by the induction of reducing conditions both in the estuarine HTZ, and at the SWI of the bay. The observed seasonal cycle of Mn shell enrichment reflect the expected pattern of dissolved Mn concentrations in a number of coastal seas exhibiting an increase of dissolved Mn during warmer and post-bloom periods (i.e. summer/autumn). In coastal environment, Mn has been demonstrated to remain as an excellent tracer for crustal inputs via rivers, sediments, or the atmosphere. Our study may thus provide a new investigation tool based on high frequency archives to constrain Mn biogeochemistry in coastal environment, especially at the SWI. Such information can be further helpful to understand dissolved Mn pelagic/benthic exchanges and their significance towards seasonal coastal dynamics. In addition, the redox sensitive reactivity of Mn and its association with important trace elements and contaminants

are of particular interest to investigate the ecosystem response to seasonal eutrophication and the fate of trace chemicals in the coastal environment.

Acknowledgements

The authors acknowledge Philippe Riou (Laboratoire Environnement et Ressources de Normandie, Port en Bessin, France) and Antoine Huguet (Département Dynamique de l'Environnement Côtier, Nantes, France) from the French Research Institut for Exploitation of the Sea (IFREMER) for providing us with hydrological data from the Seine Bay and estuary. This work was supported in the framework of two research programs: ACI PECTEN (French Ministère de la Recherche) and "Suivi Erika" (INERIS, French Ministère de l'Environnement). Thermo Electron Company is thanked for the loan of the ICP-MS. A.B. acknowledges the Aquitaine Region (ORQUE project) for her Doctoral fellowship.

Chapitre IV Synthèse

Les objectifs de ce travail de recherche étaient, dans un premier temps, la mise en œuvre du couplage entre l'ablation laser et la spectrométrie de masse à plasma inductif couplé (LA-ICP-MS) pour l'analyse quantitative des éléments traces dans les coquilles Saint Jacques; dans un second temps, l'évaluation de la représentativité des informations chimiques élémentaires contenues dans la calcite des coquilles en fonction des conditions environnementales; puis la mise en évidence d'indicateurs, ou au mieux de proxis, à haute fréquence des changements écologiques des écosystèmes côtiers.

IV.1. Etude méthodologique

IV.1.1. Résultats

Le premier objectif de ma thèse a été atteint. Désormais, le couplage de l'ablation laser (266 nm) et de l'ICP-MS permet des analyses quantitatives des éléments traces dans les stries journalières de la coquille Saint Jacques. Pour ceci, des étalons de carbonate de calcium ont été synthétisés pour une large gamme de concentrations en éléments traces (0.1 à 500 $\mu\text{g.g}^{-1}$) et la validité de leur utilisation pour l'étalonnage a été démontrée. Cette méthode permet une détermination des concentrations coquillières en éléments traces jusqu'à quelques ng.g^{-1} et un prélèvement précis sur la surface de la coquille qui permet l'analyse de seulement une strie. Cette méthode conduit donc à la définition de profils temporels de concentrations en éléments traces à haute fréquence (résolution temporelle journalière). La distribution des éléments traces au sein d'une même strie d'une coquille a été démontrée homogènes et similaire au sein d'individus d'une même population. **La reproductibilité des concentrations élémentaires au sein d'une même strie et de leur variation le long de coquilles issues d'une même population a souligné la pertinence de cet « outil »** (Chapitre II, partie II.1.).

Les concentrations élémentaires dans les coquilles ont révélé le même type de variations au sein d'individus collectés sur plusieurs sites (Baie de Brest, Belle Ile, Quiberon, Bretagne, France). Généralement, trois types de profils ont été obtenus pour les variations des concentrations coquillières en éléments traces (Chapitre II, partie II.2.):

- un profil de concentrations stables tout au long de l'année (Pb, Sr, Co, Cu, Sn, Mn);
- un profil en constante augmentation (Mg);
- et un profil de concentrations stables ponctué par des enrichissements significatif et transitoire (Mo, Ba, Mn).

Les concentrations du bruit de fond de ces profils coquilliers, excepté pour le magnésium sont principalement liées à la composition de l'eau de mer, aux constantes thermodynamiques de solubilité des carbonates et à la structure de précipitation de l'élément. De nouvelles relations empiriques ont pu être ainsi définies dans ces carbonates de calcium biogénique. Ces relations et les variations inter annuelles des concentrations du bruit de fond des profils coquilliers ont été étudiées sur une période de 7 ans, dans la baie de Brest, afin d'évaluer leur pertinence comme archive inter annuelle des environnements côtiers. L'assimilation du Sr est généralement influencée par la température ou le taux de calcification. La biodisponibilité du Pb et du Mn à l'interface eau/sédiment est principalement contrôlée par les conditions hydro climatiques et montrerait des apports continentaux similaires. Les concentrations inter annuelles du bruit de fond du Ba et du Co sont associées et ont tendance à augmenter avec la salinité. Cependant, aucun processus biogéochimique, influençant cette association, n'a été clairement identifié. **Ces résultats ont donc révélé que les informations chimiques élémentaires contenues dans la calcite des coquilles de *Pecten maximus* pourraient refléter les conditions environnementales et sont donc une archive potentielle des conditions environnementales à l'interface eau/sédiment (Chapitre II, partie II.2.).**

IV.1.2. Perspectives

D'un point de vue analytique, plusieurs aspects restent encore à être développés pour automatiser les analyses des profils et pour améliorer les performances analytiques.

- La méthode doit d'abord être optimisée afin de diminuer le temps d'analyse d'une coquille qui, jusqu'à présent, était de 5 à 6 heures par coquille. Il faudrait pouvoir analyser, conjointement et en continu, le profil de surface (profilomètre) et le profil des éléments traces piégés dans les stries de croissances de la coquille Saint

Jacques par ablation laser ICP-MS. Ceci permettrait un recalage précis des analyses et une résolution temporelle encore meilleure des profils coquilliers.

➤ Cette méthode pourrait aussi être développée avec des lasers « nouvelles générations » tels que le laser femtosecondes (prototype développé au sein du laboratoire, ALFAMET, NOVALASE-AMPLITUDE, Bordeaux, France) et permettrait d'améliorer différents aspects :

- o limiter le fractionnement élémentaire (ou isotopique);
- o échantillonner plus rapidement les différentes stries de la coquille et donc de limiter le temps d'analyse d'un échantillon;

- o diminuer les limites de détections des éléments et ainsi de révéler des variations de concentration d'éléments qui jusqu'à présent ne sont pas détectés, comme les terres rares ou proches des limites de détection Cd, Co, Pb. Les concentrations des terres rares ont déjà été déterminées dans des biominéraux tel que les coraux (Wyndham et al. 2004);

- o étendre cette méthode à d'autres biominéraux carbonatés et d'autres bivalves : par exemple, les coquilles de *Comptopallium radula* (thèse, J.Thébaut, 2005);

- o mesurer avec précision des rapports isotopiques en couplant l'ablation laser à un ICP-MS multidétecteur, du molybdène par exemple. Des rapports isotopiques du Mo ont déjà été mesurés dans la colonne d'eau (Tossel 2005) et dans des sédiments (Nagler et al. 2005) pour déconvoluer les processus rédox.

IV.2.Etudes environnementales

IV.2.1. Résultats

Compte tenu des profils spécifiques définis pour le molybdène, le baryum et le manganèse, les variations intra annuelles de leurs concentrations élémentaires dans les coquilles ont ensuite été étudiées en fonction des conditions environnementales à l'interface eau/sédiment. La thèse s'est donc focalisée sur trois éléments et leurs cycles biogéochimiques afin de comprendre leurs variations (Chapitre III).

Le molybdène a révélé un profil spécifique avec des enrichissements coquilliers spécifiques au printemps (particulièrement au mois de mai) et pour différentes années et sites (Bretagne, France, 1998-2003). Cet enrichissement a été

observé et statistiquement prouvé coïncident à des efflorescences phytoplanctoniques, dominées au printemps par des diatomées (*Rhizosolenia spp.*, *Pseudonitzschia spp.*, *Chaetoceros spp.*). Ces résultats ont suggéré que l'assimilation du Mo est probablement liée à la voie trophique et l'apport de particules issues des efflorescences et de leur déposition, plutôt qu'un flux benthique (remobilisation) (Figure IV.2-1). Les enrichissements coquilliers en Mo pourraient donc devenir des indicateurs de la dynamique phytoplanctonique printannière, plus particulièrement des diatomées dans les environnements côtiers tempérés (Chapitre III, partie III.1.).

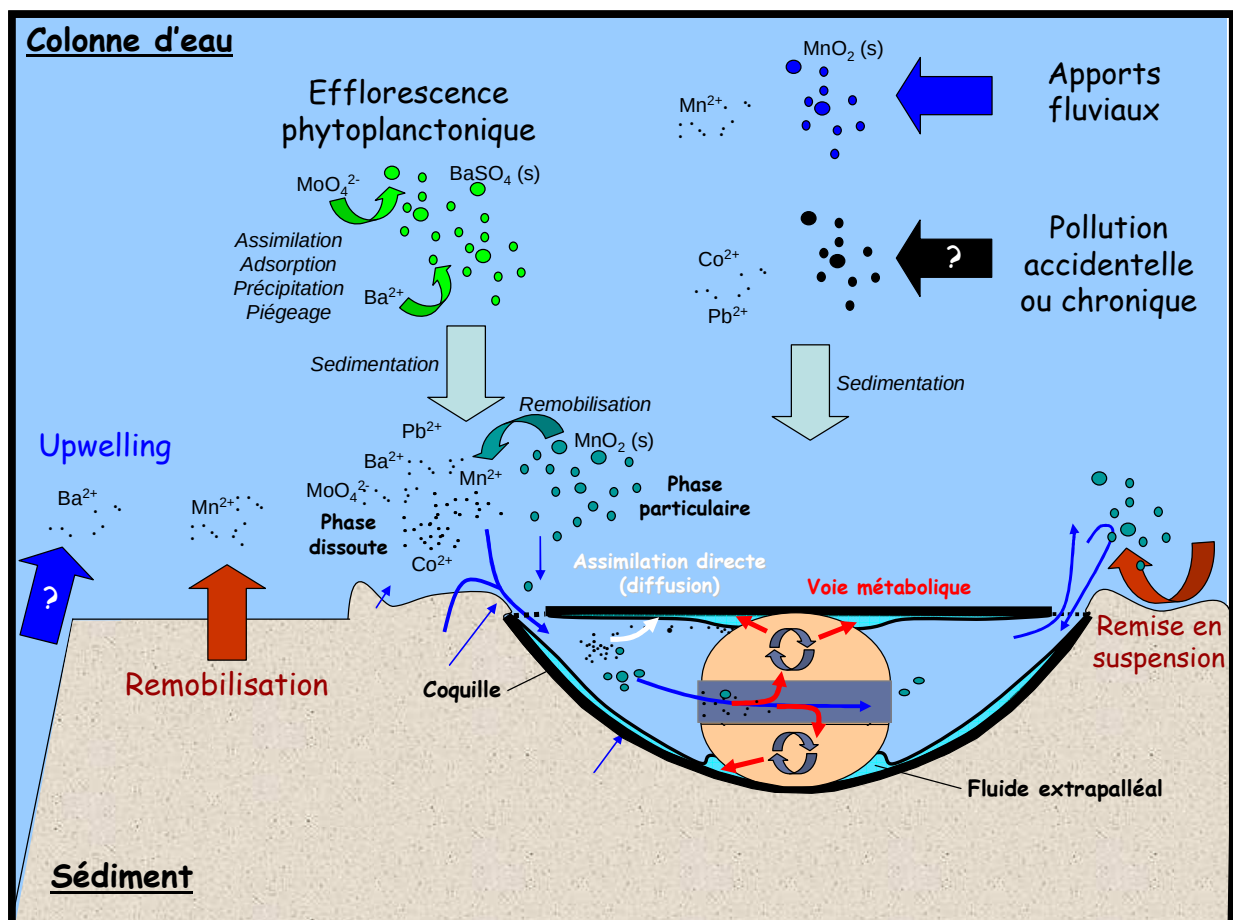


Figure IV.2-1 Sources et processus étant suggérés influencer l'enrichissement ou l'appauvrissement des éléments traces dans la coquille Saint Jacques dans les environnements côtiers tempérés.

Les variations des concentrations coquillières en baryum ont aussi été étudiées et comparées avec les paramètres environnementaux des sites. L'évaluation du bruit de fond des concentrations coquillières en Ba a d'abord

confirmé l'influence de la composition de l'eau de mer. Des enrichissements spécifiques et ponctuels du baryum ont ensuite été révélés de la fin du printemps au début de l'automne pour différentes années et sites (Bretagne, France, 1998-2004). L'enrichissement du Ba dans la coquille a été montré statistiquement lié à la biomasse totale pendant cette période estivale, suggérant des processus pélagiques de sédimentation non spécifiques d'espèces phytoplanctoniques dans la colonne d'eau vers l'interface eau/sédiment plutôt que des apports benthiques (Figure IV.2-1). Plusieurs mécanismes ont été suggérés: l'assimilation de critaux de barytine, d'hydroxydes particuliers ou de phytoplanctons enrichis en Ba, ou le recyclage de particules pélagique enrichies en Ba déposées après des efflorescences phytoplanctoniques (Figure IV.2-1). Même si les processus dominants n'ont pas été clairement identifiés, cette étude a montré que ces enrichissements peuvent être des indicateurs potentiels des efflorescences phytoplanctoniques dans les environnements côtiers tempérés, et tout particulièrement pour la période estivale (Chapitre III, partie III.2.).

Ces deux dernières études sur le Mo et le Ba ont montré que les variations des concentrations coquillières en Mo ou en Ba seraient des indicateurs, à haute résolution temporelle, complémentaires de la dynamique phytoplanctonique dans les environnements côtiers tempérés. Les profils coquilliers pourraient donc être plus largement utilisés pour mieux comprendre, à l'échelle journalière, la biogéochimie du Mo et du Ba à l'interface. De nouvelles recherches sont néanmoins nécessaires afin d'évaluer la pertinence de l'utilisation du Mo et du Ba comme proxis paléologique.

Cette thèse s'est aussi focalisée sur des coquilles issues d'un écosystème côtier soumis à des apports fluviaux importants. Les variations intra annuelles des concentrations coquillières du Mn dans des coquilles Saint Jacques collectées dans la baie de Seine ont été étudiées du mois d'avril au mois d'octobre 2004 en fonction de paramètres hydrologiques, biologiques et chimiques, mesurés dans le fleuve, dans l'estuaire et dans la baie. Ce travail a révélé que le profil des concentrations coquillières en Mn dépend de processus biogéochimiques du Mn bien identifiés dans les estuaires et les environnements côtiers. Les flux particuliers du Mn de la Seine sont suggérés contrôler principalement les apports du Mn dans la baie (Figure IV.2-1).

Cependant, cette étude a aussi révélé des apports supplémentaires de Mn à l'interface eau/sédiment en période estivale. Pendant cette période, les oscillations successives des conditions rédox dans la zone turbide de la partie basse de l'estuaire, et les conditions plus réductrices à l'interface eau/sédiment dues à la sédimentation des efflorescences phytoplanctoniques suggèrent un relargage de Mn dissous des particules estuariennes, mais aussi des sédiments (Figure IV.2-1). Cet apport supplémentaire en Mn dissous dans la colonne d'eau contribue, en été, à un enrichissement plus important du Mn dans les coquilles. **Cette étude a donc démontré que les stries successives et journalières des coquilles Saint Jacques sont une archive pertinente pour évaluer les processus biogéochimiques majeurs du Mn dans les environnements côtiers** (Chapitre III, partie III.3.).

Suite à l'échouage de l'Erika (Décembre 1999), les variations des concentrations métalliques (Ni, V, Pb...) ont été déterminés, d'avril 1999 à octobre 2001, dans des coquilles de *Pecten maximus* collectées dans des zones impactées par la pollution en hydrocarbures (Belle Ile, Quiberon) et n'ont, cependant, pas montré d'enrichissement coquillier particulier pouvant être directement lié à cette catastrophe écologique (Programme suivi Erika, Chauvaud et al. 2004 ; Annexe VI.1.1).

L'étude des variations des concentrations coquillières des éléments traces sur les sites soumis à de fréquents « upwelling », Vigo (Espagne) en 2000 (n=3) et Austevoll (Norvège) en 1987 (n=3), n'ont démontré qu'aucun enrichissement significatif d'éléments tels que Mg, Sr, Mo, Ba, Cd, Mn, Pb, Sn, Sb, Cu, Co. Des études supplémentaires sur d'autres individus ou années sont toutefois nécessaires avant d'affirmer que les variations des concentrations coquillières des éléments traces ne peuvent pas être un bon traceur de ces phénomènes d'« upwelling » (ACI PECTEN, travaux non publié; Annexe VI.1.2).

IV.2.2. Perspectives

D'un point de vue environnemental, des études complémentaires sont nécessaires afin de vérifier les hypothèses émises pour les trois éléments (Mo, Ba, Mn), et tout particulièrement pour le molybdène.

En effet, jusqu'à présent, le molybdène était reconnu comme un élément conservatif dans la colonne d'eau. Nos études ont démontrés des enrichissements périodiques importants dans la coquille, suggérant des apports importants à l'interface eau/sédiment. Des apports pélagiques, plutôt lié à des efflorescences de diatomées, ont été évoqués. Cependant, des preuves expérimentales sont nécessaires pour confirmer les hypothèses émises :

- Des prélèvements in situ et réguliers de sédiments (+ eaux interstitielles), d'eaux (dissous et particulaires) à l'interface eau/sédiment et des tissus mous de coquilles tout au long du printemps
- des expériences en milieu de culture seraient intéressantes à mettre en oeuvre. En aquarium, différents types d'espèces phytoplanctoniques pourraient idéalement être ajoutés comme nourriture pour la coquille et l'incorporation spécifique de certains éléments pourrait être révélée. La croissance coquillière est néanmoins affectée lors de manipulation en aquarium. La perte de cette résolution temporelle serait donc un facteur limitant ces expériences en laboratoire et nécessite de développer des protocoles in situ (enceintes benthiques, mésocosmes).

Pour le baryum, de nombreuses recherches se sont déjà intéressées à son cycle biogéochimique et son enrichissement dans différents bivalves. Cependant, les différents résultats se confrontent : certains suggèrent un enrichissement coquillier directement lié à la productivité primaire, d'autres supposent qu'il est indirectement lié. Notre étude a révélé que ces enrichissements coquilliers coïncident avec des efflorescences phytoplanctoniques. Comme pour le molybdène, des expériences supplémentaires menées spécifiquement en période estivale seraient cependant nécessaires pour comprendre les processus biogéochimiques liés à cette d'assimilation du Ba.

Dans le cas du Mn, l'analyse d'un plus grand nombre de coquilles pour différentes années, ainsi que des prélèvements à l'interface eau/sédiment d'eaux (particules et dissous) et de sédiment (+ eaux interstitielles) permettrait de mieux évaluer la pertinence de l'utilisation des stries journalières des coquilles Saint Jacques comme archive pertinente pour évaluer les processus biogéochimiques majeurs du Mn.

Toutes ces études environnementales ont montrées le potentiel de la coquille à archiver les conditions environnementales expérimentées. Même si aucun proxy n'a pu être calibré, des indicateurs ont été révélés et peuvent être désormais testés sur d'autres types d'écosystèmes: côtier ou hauturier. Le domaine d'applications peut aussi être élargi à l'analyse de pectinidés anciens ou fossiles. L'analyse de ce type de coquilles pourrait ainsi permettre de mieux comprendre les changements environnementaux: climatiques (température, salinité, apports fluviaux), biologiques (biomasse, phytoplancton), mais aussi ceux induits par la pression anthropique (eutrophisation, pollution).

Chapitre V Références bibliographiques

-A-

Abduriyim, A., and H. Kitawaki. 2006. Applications of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS) to gemology. *Gems & Gemology* **42**: 98-118.

Adelson, J. M., G. R. Heltz, and C. V. Miller. 2001. Reconstructing the rise of recent coastal anoxia: molybdenum in Chesapeake Bay sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **65**: 237-252.

Alibert, C., L. K. L., S. J. Fallon, M. T. Mc Culloch, R. Berkelmans, and F. Mc Allister. 2003. Source of trace element variability in Great Barrier corals affected by the Burdekin flood plumes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**: 231-246.

Allredge, A. L., C. Gotschalk, U. Passow, and U. Riebesell. 1995. Mass aggregation of diatom blooms: Insights from a mesocosm study. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **42**: 9-27.

Amouroux, D., P. S. Liss, E. Tessier, M. Hamren-Larsson, and O. F. X. Donard. 2001. Role of oceans as biogenic sources of selenium. *Earth and Planetary Science Letters* **189**: 277-283.

Amouroux, D., E. Tessier, and O. F. X. Donard. 2000. Volatilization of organotin compounds from estuarine and coastal environments. *Environmental Science & Technology* **34**: 988-995.

Anonymous. 1991. Commission chargée de contrôler l'évolution de la pollution en estuaire et en baie de Seine, Secr. Etat Envir., Minist. délég. chargé Mer, Ag. Eau Seine-Normandie, SPPPI, Cons. gén. Seine-Maritime. 1-36.

Armynot Du Châtelet, E., J. P. Debenay, and R. Soulard. 2004. Foraminiferal proxies for pollution monitoring in moderately polluted harbors. *Environmental Pollution* **127**: 27-40.

Arslan, Z., and D. H. Secor. 2005. Analysis of trace transition elements and heavy metals in fish otoliths as tracers of habitat use by American eels in the Hudson River estuary. *Estuaries* **28**: 382-393.

Avoine, J., D. Boust, and J.-F. Guillaud. 1986. Flux et comportement des contaminants dissous et particulaires dans l'estuaire de la Seine. *Rapp. P.-V. Réunion. Cons. Int. Explor. Mer* **186**: 392-411.

-B-

Bajic, S. J., D. B. Aeschliman, N. J. Saetveit, D. P. Baldwin, and R. S. Houk. 2005. Analysis of glass fragments by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry and principal component analysis. *Journal of Forensic Sciences* **50**: 1123-1127.

Balakrishnan Nair, T. M., V. Ittekkot, R. Shankar, and M. V. S. Gupta. 2005. Settling barium fluxes in the Arabian Sea: Critical evaluation of relationship with export production. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **52**: 1930-1946.

Balcaen, L. I. L., J. Lenaerts, L. Moens, and F. Vanhaecke. 2005. Application of laser ablation inductively coupled plasma (dynamic reaction cell) mass spectrometry for depth profiling analysis of high-tech industrial materials. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **20**: 417-423.

Ballihaut, G. and others 2005. Biosynthesis, purification and analysis of selenomethionyl calmodulin by gel electrophoresis-laser ablation-ICP-MS and capillary HPLC-ICP-MS peptide mapping following in-gel tryptic digestion. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **20**: 493-499.

Bally, G., V. Mesnage, J. Deloffre, O. Clarisse, R. Lafite, and J.-P. Dupont. 2004. Chemical characterization of porewaters in an intertidal mudflat of the Seine estuary: relationship to erosion–deposition cycles. *Marine Pollution Bulletin* **49**: 163-173.

Barbin, V., K. Ramseyer, J. P. Debenay, E. Schein, M. Roux, and D. Decrouez. 1991. Cathodoluminescence of recent biogenic carbonates: an environmental and ontogenic fingerprint. *Geological Magazine* **128**: 19-26.

Bath, G. E., S. R. Thorrold, C. M. Jones, S. E. Campana, J. W. McLaren, and J. W. H. Lam. 2000. Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **64**: 1705-1714.

Becker, B. J. 2005a. Spatial and temporal variation in trace elemental fingerprints of mytilid mussel shells: A precursor to invertebrate larval tracking. *Limnology Oceanography* **50**: 48-61.

Becker, J. S. 2002a. Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry in materials science. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* **57**: 1805-1820.

---. 2002b. State-of-art and progress in precise and accurate isotope ratio measurement by ICP-MS AND LA-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomistic Spectrometry* **17**: 1172-1185.

---. 2005b. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and laser ablation ICP-MS for isotope analysis of long-lived radionuclides. *International Journal of Mass Spectrometry* **242**: 183-195.

Becker, J. S., S. F. Boulyga, J. S. Becker, C. Pickhardt, E. Damoc, and M. Przybylski. 2003. Structural identification and quantification of protein phosphorylations after gel electrophoretic separation using Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry

and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry* **228**: 985-997.

Becker, J. S., M. V. Zoriy, C. Pickhardt, N. Palomero-Gallagher, and K. Zilles. 2005a. Imaging of copper, zinc, and other elements in thin section of human brain samples (Hippocampus) by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*.

Becker, J. S., M. V. Zoriy, C. Pickhardt, and K. Zilles. 2005b. Copper, zinc, phosphorus and sulfur distribution in thin section of rat brain tissues measured by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: possibility for small-size tumor analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **20**: 912-917.

Beliaeff, B., T. P. O'Connor, D. K. Daskalakis, and P. J. Smith. 1997. U.S. mussel watch data from 1986 to 1994: temporal trend detection at large spatial scales. *Environmental Science and Technology* **31**: 1411-1415.

Belloto, V. R., and N. Mikeley. 2000. Improvement in calibration procedures for the quantitative determination of trace elements in carbonate material (mussel shells) by laser ablation ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **367**: 635-640.

Berelson, W. and others 2003. A time series of benthic flux measurements from Monterey Bay, CA. *Continental Shelf Research* **23**: 457-481.

Bishop, J. K. B. 1988. The barite-opal-organic carbon association in oceanic particulate matter. *Nature* **332**: 341-343.

Boughriet, A., B. Ouddane, J. C. Fischer, M. Wartel, and G. Leman. 1992. Variability of dissolved Mn and Zn in the Seine estuary and chemical speciation of these metals in suspended matter. *Water Research* **26**: 1359-1378.

Boulyga, S. F., D. Desideri, M. A. Meli, C. Testa, and J. S. Becker. 2003. Plutonium and americium determination in mosses by laser ablation ICP-MS combined with isotope dilution technique. *International Journal of Mass Spectrometry* **226**: 329-339.

Boulyga, S. F., M. Tibi, and K. G. Heumann. 2004. Application of isotope-dilution laser ablation ICP-MS for direct determination of Pu concentrations in soils at pg g⁻¹ levels. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **378**: 342-347.

Brand, L. 1991. Minimum iron requirements of marine phytoplankton and the implications for the biogeochemical control of new production. *Limnology & Oceanography* **36**.

Brown, J., A. Colling, D. Park, J. Phillips, D. Rothery, and J. Wribght. 1989. Seawater: its composition, properties and behaviour. Prepared By and Open University Course Team., Gerry Bearman ed. Pergamon Press in association with the Open Univeristy.

Bruland, K. W. 1983. Trace elements in seawater, Riley, J.P. and Chester, R. ed. Academic Press London.

Budd, P., J. Montgomery, A. Cox, P. Krause, B. Barreiro, and R. G. Thomas. 1998. The distribution of lead within ancient and modern human teeth: Implications for long-term and historical exposure monitoring. *The Science of the Total Environment* **220**: 121-136.

Bustamante, P., and P. Miramand. 2004. Interspecific and geographical variations of trace element concentrations in Pectinidae from European waters. *Chemosphere* **57**: 1355-1362.

---. 2005. Subcellular and body distributions of 17 trace elements in the variegated scallop *Chlamys varia* from the French coast of the Bay of Biscay. *Science of The Total Environment* **337**: 59-73.

Butcher, S. S., R. J. Charlson, G. H. Orians, and G. V. Wolfe. 1992. Global Biogeochemical cycles. Harcourt Brace and Company.

-C-

Campbell, D. A., M. S. Kelly, M. Busman, E. Wiggins, and T. F. Fernandez. 2003. Impact of preparation method on gonad domoic acid levels in the scallop, *Pecten maximus* (L.). *Harmful algae* **2**: 215-222.

Cardinal, D., B. Hamelin, E. Bard, and J. Patzold. 2001. Sr/Ca, U/Ca and [δ]¹⁸O records in recent massive corals from Bermuda: relationships with sea surface temperature. *Chemical Geology* **176**: 213-233.

Carré, M. and others 2005. Stable isotopes and sclerochronology of the bivalve *Mesodesma donacium*: Potential application to Peruvian paleoceanographic reconstructions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **228**: 4-25.

Carriker, M. R., R. E. Palmer, L. V. Sick, and C. C. Johnson. 1980. Interaction of mineral elements in sea water and shell of oysters (*Crassostrea virginica* (Gmelin)) cultured in controlled and natural systems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **46**: 279-296.

Carriker, M. R., C. P. Swann, R. S. Prezant, and I. C. L. Counts. 1991. Chemical elements in the aragonitic and calcitic microstructural groups of shell of the oyster *Crassostrea virginica*: a proton probe study. *Marine Biology* **109**: 287-297.

Cecil, L. G., and H. Neff. 2006. Postclassic Maya slips and paints and their relationship to socio-political groups in El Peten, Guatemala. *Journal of Archaeological Science* **33**: 1482-1491.

Chaillou, G., P. Anschutz, G. Lavaux, J. Schafer, and G. Blanc. 2002. The distribution of Mo, U, and Cd in relation to major redox species in muddy sediment of the Bay of Biscay. *Marine Chemistry* **80**: 41-59.

Chambers, P. A. and others 1997. Impacts of municipal wastewater effluents on Canadian waters: a review. *Water Quality Research Journal of Canada* **32**: 659-713.

Chang, Z. S., J. D. Vervoort, W. C. McClelland, and C. Knaack. 2006. U-Pb dating of zircon by LA-ICP-MS. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **7**.

Chase, Z. and others 2005. Manganese and iron distributions off central California influenced by upwelling and shelf width. *Marine Chemistry* **95**: 235-254.

Chauvaud, L. 1998. La coquille Saint Jacques en rade de Brest: un modèle biologique d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement. Université de Bretagne Occidentale.

Chauvaud, L. and others 2004. Rapport final d'activité, Projet n°13 PETROPECTEN. CNRS-INERIS.

Chauvaud, L., A. Donval, G. Thouzeau, Y. M. Paulet, and E. Nézan. 2001. Variations in food intake of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France): Influence of environmental factors and phytoplankton species composition. *Compte rendus de l'Académie des Sciences Paris, Sciences de la Vie* **324**: 743-755.

Chauvaud, L., F. Jean, O. Ragueneau, and G. Thouzeau. 2000. Long-term variation of the Bay of Brest ecosystem: benthic-pelagic coupling revisited. *Marine ecology progress series* **200**: 35-48.

Chauvaud, L. and others 2005. Shell of the Great Scallop *Pecten maximus* as a high-frequency archive of paleoenvironmental changes. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **6**: 1-15.

Chauvaud, L., G. Thouzeau, and J. Grall. 1996. Experimental collection of great scallop postlarvae and other benthic species in the Bay of Brest: settlement patterns in relation to spatio-temporal variability of environmental factors. *Aquaculture International* **4**: 263-288.

Chauvaud, L., G. Thouzeau, and Y. M. Paulet. 1998. Effects of environmental factors on the daily growth rate of *Pecten maximus* juveniles in the Bay of Brest (France). *Journal of experimental marine biology and ecology* **227**: 83-111.

Chavez, F. P., and J. R. Toogweiler. 1995. Physical estimates of global new production: The upwelling contribution. In: *Upwelling in the ocean: modern processes and ancient records*, C. P. Summerhayes, K.-C. Emeis, M. V. Angel, R. L. Smith, B. Zeitzschel ed., Wiley.

Chiffoleau, J.-F., D. Auger, and E. Chartier. 1999. Fluxes of selected trace metals from the Seine estuary to the eastern English Channel during the period August 1994 to July 1995. *Continental Shelf Research* **19**: 2063-2082.

Chiffoleau, J.-F. and others 2004. Nickel and vanadium contamination of benthic invertebrates following the “Erika” wreck. *Aquatic Living Resource* **17**: 273-280.

Chiffoleau, J.-F., D. Cossa, D. Auger, and I. Truquet. 1994. Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge regime. *Marine Chemistry* **47**: 145-158.

Chilvers, D. C., and P. J. Peterson. 1987. Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment. In: Hutchinson TC, Meema KM (eds).

Christophersen, G., and O. Strand. 2003. Effect of reduced salinity on the Great Scallop (*Pecten maximus*) spat at two rearing temperature. *Aquaculture* **215**: 79-92.

Church, T. M., and J. R. Scudlark. 1998. Trace metals in estuaries: A Delaware Bay synthesis. (In:) *Metal Speciation and Contamination of Surface Water* Ann Arbor Press Inc.

Cloern, J. E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology-Progress Series* **210**: 223-253.

Cochrane, E. E., and H. Neff. 2006. Investigating compositional diversity among Fijian ceramics with laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS): implications for interaction studies on geologically similar islands. *Journal of Archaeological Science* **33**: 378-390.

Coffey, M., F. Dehairs, O. Collette, G. Luther, T. Church, and T. Jickells. 1997. The behaviour of dissolved barium in estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **45**: 113-121.

Cole, J. J., J. M. Lane, R. Marino, and R. W. Howarth. 1993. Molybdenum assimilation by cyanobacteria and phytoplankton in freshwater and salt water. *Limnology Oceanography* **38**: 25-35.

Collier, R. W. 1985. Molybdenum in the Northeast Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* **30**: 1351-1354.

Copjakova, R., P. Sulovsky, and B. A. Paterson. 2005. Major and trace elements in pyrope-almandine garnets as sediment provenance indicators of the Lower Carboniferous Culm sediments, Drahaný Uplands, Bohemian Massif. *Lithos* **82**: 51-70.

Craig, P. J. 1980. The Handbook of Environmental Chemistry, O. Hutzinger ed. Springer-Verlag, Heidelberg.

Cravo, A., P. Foster, and M. J. Bebianno. 2002. Minor and trace elements in the shell of *Patella aspera* (Roding 1798). *Environment International* **28**: 295-302.

Crusius, J., S. Calvert, T. Pedersen, and D. Sage. 1996. Rhenium and molybdenum enrichments in sediments as indicators of oxic, suboxic and sulfidic conditions of deposition. *Earth and Planetary Science Letters* **145**: 65-78.

Crusius, J., and J. Thomson. 2000. Comparative behavior of authigenic Re, U, Mo during reoxidation and subsequent long-term burial in marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **64**: 2233-2242.

Cugier, P., G. Billen, J. F. Guillaud, J. Garnier, and A. Menesguen. 2005a. Modelling the eutrophication of the Seine Bight (France) under historical, present and future riverine nutrient loading. *Journal of Hydrology* **304**: 381-396.

Cugier, P., A. Menesguen, and J. F. Guillaud. 2005b. Three-dimensional (3D) ecological modelling of the Bay of Seine (English Channel, France). *Journal of Sea Research* **54**: 104-124.

-D-

Dalai, T. K., K. Nishimura, and Y. Nozaki. 2005. Geochemistry of molybdenum in the Chao Phraya River estuary, Thailand: Role of suboxic diagenesis and porewater transport. *Chemical Geology* **218**: 189-202. [doi: 110.1016/j.chemgeo.2005.1001.1002].

De Vries, M. C., B. M. Gillanders, and T. S. Elsdon. 2005. Facilitation of barium uptake into fish otoliths: Influence of strontium concentration and salinity. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69**: 4061-4072.

Deconinck, I., C. Latkoczy, D. Gunther, F. Govaert, and F. Vanhaecke. 2006. Capabilities of laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry for (trace) element analysis of car paints for forensic purposes. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **21**: 279-287.

Dehairs, F., W. Baeyens, and D. Van Gansbeke. 1989. Tight coupling of iron and manganese in North Sea suspended matter and sedimentary redox processes: Evidence for seasonal variability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **29**: 457-471.

Dehairs, F., R. Chesselet, and J. Jedwab. 1980. Discrete suspended particles of barite and the barium cycle in the open ocean. *Earth and Planetary Science Letters* **49**: 528-550.

Dehairs, F., N. Fagel, A. N. Antia, R. Peinert, M. Elskens, and L. Goeyens. 2000. Export production in the Bay of Biscay as estimated from barium - barite in settling material: a comparison with new production. *Deep-Sea Research I* **47**: 583-601.

Dehairs, F., D. Shopova, S. Ober, C. Veth, and L. Goeyens. 1997. Particulate barium stocks and oxygen consumption in the Southern Ocean mesopelagic water column during spring and early summer: relationship with export production. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **44**: 497-516.

Dehairs, F., N. Stroobants, and L. Goeyens. 1991. Suspended barite as a tracer of biological activity in the Southern Ocean. *Marine Chemistry* **35**: 399-410.

Desmarchelier, J. M., J. C. Hellstrom, and M. T. Mcculloch. 2006. Rapid trace element analysis of speleothems by ELA-ICP-MS. *Chemical Geology* **231**: 102-117.

Devos, W., C. Moor, and P. Lienemann. 1999. Determination of impurities in antique silver objects for authentication by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14**: 621-626.

Dietzel, M., N. Gussone, and A. Eisenhauer. 2004. Co-precipitation of Sr^{2+} and Ba^{2+} with aragonite by membrane diffusion of CO_2 between 10 and 50 °C. *Chemical Geology* **203**: 139-151.

Dodd, J. R. 1965. Environmental control of strontium and magnesium in *Mytilus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **29**: 385-398.

Dymond, J., and R. Collier. 1996. Particulate barium fluxes and their relationships to biological productivity. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **43**: 1283-1308.

-E-

Eggins, S., P. De Deckker, and J. Marshall. 2003a. Mg/Ca variation in planktonic foraminifera tests: implications for reconstructing palaeo-seawater temperature and habitat migration. *Earth and Planetary Science Letters* **212**: 291-306.

Eggins, S., R. Grun, A. W. G. Pike, M. Shelley, and L. Taylor. 2003b. ^{238}U , ^{232}Th profiling and U-series isotope analysis of fossil teeth by laser ablation-ICPMS. *Quaternary Science Reviews* **22**: 1373-1382.

Elbaz-Poulichet, F., J.-L. Seidel, C. Casiot, and M.-H. Tusseau-Vuillemin. 2006. Short-term variability of dissolved trace element concentrations in the Marne and Seine Rivers near Paris. *Science of the Total Environment* **367**: 278-287.

Elbaz-Poulichet, F. and others 2005. Sedimentary record of redox-sensitive elements (U, Mn, Mo) in a transitory anoxic basin (the Thau lagoon, France). *Marine Chemistry* **95**: 271-281. [doi: 210.1016/j.marchem.2004.1010.1001].

Elsdon, T. S., and B. M. Gillanders. 2006. Temporal variability in strontium, calcium, barium, and manganese in estuaries: Implications for reconstructing environmental histories of fish from chemicals in calcified structures. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **66**: 147-156.

Erickson, B. E., and G. R. Heltz. 2000. Molybdenum (VI) speciation in sulfidic waters: Stability and lability of thiomolybdates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **64**: 1149-1158.

Esslemont, G., R. A. Russell, and W. A. Maher. 2004. Coral record of harbour dredging: Townsville, Australia. *Journal of Marine Systems* **52**: 51-64.

Evans, J. C., and E. E. Prepas. 1997. Relative importance of iron and molybdenum in restricting phytoplankton biomass in high phosphorous saline lakes. *Limnology and Oceanography* **42**: 461-472.

-F-

Fallon, S. J., M. T. Mc Culloch, R. Van Woesik, and D. J. Sinclair. 1999. Corals at their latitudinal limits: laser ablation trace element systematics in *Porites* from Shirigan Bay, Japan. *Earth and Planetary Science Letters* **172**: 221-238.

Fallon, S. J., J. C. White, and M. T. Mc Culloch. 2002. *Porites* corals as recorders of mining and environmental impacts: Misima Island, Papua New Guinea. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **66**: 45-62.

Fisher, N. S., R. R. L. Guillard, and D. C. Bankston. 1991. The accumulation of barium by marine phytoplankton grown in culture. *Journal of Marine Research* **49**: 339-354.

Foster, P., and J. Chacko. 1995. Minor and trace elements in the shell of *Patella vulgata* (L.). *Marine Environmental Research* **40**: 55-76.

Freitas, P. S., L. J. Clarke, H. Kennedy, C. A. Richardson, and F. Abrantes. 2006. Environmental and biological controls on elemental (Mg/Ca, Sr/Ca and Mn/Ca) ratios in shells of the king scallop *Pecten maximus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**: 5119-5133.

-G-

Gagnon, C., and I. Saulnier. 2003. Distribution and fate of metals in the dispersion plume of a major municipal effluent. *Environmental Pollution* **124**: 47-55.

Ganeshram, R. S., R. Francois, J. Commeau, and S. L. Brown-Leger. 2003. An experimental investigation of barite formation in seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**: 2599-2605. [doi: 2510.1016/S0016-7037(2503)00164-00169].

Gemperline, P. J., R. A. Rulifson, and L. Paramore. 2002. Multi-way analysis of trace elements in fish otoliths to track migratory patterns. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **60**: 135-146.

Ghazi, A. M., S. Shuttleworth, S. J. Angulo, and D. H. Pashley. 2000. Gallium diffusion in human root dentin: quantitative measurement by pulsed Nd: YAG laser ablation combined with an ICP-MS. *Journal of clinical laser medicine and surgery* **18**: 173-183.

Gillikin, D. P. and others 2005a. Assessing the reproducibility and reliability of estuarine bivalve shells (*Saxidomus giganteus*) for sea surface temperature reconstruction: Implications for paleoclimate studies. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **228**: 70-85.

Gillikin, D. P., F. Dehairs, W. Baeyens, J. Navez, A. Lorrain, and L. Andre. 2005b. Inter- and intra-annual variations of Pb/Ca ratios in clam shells (*Mercenaria mercenaria*): A record of anthropogenic lead pollution? *Marine Pollution Bulletin* **50**: 1530-1540.

Gillikin, D. P., F. Dehairs, A. Lorrain, D. Steenmans, W. Baeyens, and L. André. 2006. Barium uptake into the shells of the common mussel (*Mytilus edulis*) and the potential for estuarine paleo-chemistry reconstruction. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**: 395-407.

Gillikin, D. P. and others 2005c. Strong biological controls on Sr/Ca ratios in aragonitic marine bivalve shells. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **6**.

Giusti, L., A. C. Williamson, and A. Mistry. 1999. Biologically available trace metals in *Mytilus edulis* from the coast of Northeast England. *Environment International* **25**: 969-981.

Gomez, F., K. Furuya, and S. Takeda. 2005. Distribution of the cyanobacterium *Richelia intracellularis* as an epiphyte of the diatom *Chaetoceros compressus* in the western Pacific Ocean. *Journal of Plankton Research* **27**: 323-330.

Gonneea, M. E., and A. Paytan. 2006. Phase associations of barium in marine sediments. *Marine Chemistry* **100**: 124-135.

González, J., C. Liu, X. Mao, and R. E. Russo. 2004. UV-femtosecond laser ablation-ICP-MS for analysis of alloy samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **19**: 1165 - 1168.

Gruhl, S., C. Vogt, J. Vogt, U. Hotje, and M. Binnewies. 2005. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) of ZnS_{1-x}Se_x semiconductor materials. *Microchimica Acta* **149**: 43-48.

Guerra, M. F., C.-O. Sarthre, A. Gondonneau, and J.-N. Barrandon. 1999. Precious metals and provenance enquiries using LA-ICP-MS *Journal of Archaeological Science* **26**: 1101-1110.

Guillaud, J.-F., F. Andrieux, and A. Menesguen. 2000. Biogeochemical modelling in the Bay of Seine (France): an improvement by introducing phosphorus in nutrient cycles. *Journal of Marine Systems* **25**: 369-386.

Guillong, M., and D. Günther. 2002. Effect of particle size distribution on ICP-induced elemental fractionation in laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **17**: 831 - 837.

Guillong, M., I. Horn, and D. Günther. 2003. A comparison of 266 nm, 213 nm and 193 nm produced from a single solid state Nd:YAG laser for laser ablation ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **18**: 1224-1230.

Günther, D., and B. Hattendorf. 2005. Solid sample analysis using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry* **24**: 255-265.

Günther, D., and C. A. Heinrich. 1999. Comparison of the ablation behaviour of 266 nm Nd:YAG and 193 nm ArF excimer lasers for LA-ICP-MS analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14**: 1369 - 1374.

-H-

Hall, I. R., D. J. Hydes, P. J. Statham, and J. Overnell. 1999. Seasonal variations in the cycling of aluminium, cadmium and manganese in a Scottish sea loch: biogeochemical processes involving suspended particles. *Continental Shelf Research* **19**: 1783-1808.

Hallam, A., and N. B. Price. 1968. Environmental and biochemical control of strontium in shells of *Cardium edule*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **32**: 319-328.

Hamer, P. A., G. P. Jenkins, and P. Coutin. 2006. Barium variation in *Pagrus auratus* (Sparidae) otoliths: A potential indicator of migration between an embayment and ocean waters in south-eastern Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **68**: 686-702.

Hart, S. R., and A. L. Cohen. 1996. An ion probe study of annual cycles of Sr/Ca and other trace elements in corals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 3075-3084.

Hartley, G., and A. Mucci. 1996. The influence of PCO₂ on the partitioning of magnesium in calcite overgrowths precipitated from artificial seawater at 25[deg] and 1 atm total pressure. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 315-324.

Havach, S. M., G. T. Chandler, A. Wilson-Finelli, and T. J. Shaw. 2001. Experimental determination of trace element partition coefficients in cultured benthic foraminifera. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **65**: 1277-1283.

Heinrich, C. A. and others 2003. Quantitative multi-element analysis of minerals, fluid and melt inclusions by laser-ablation inductively-coupled-plasma mass-spectrometry. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **67**: 3473-3497.

Hem, J. D. 1963. Chemical equilibria and rates of manganese oxidation. US Geol Surv Water Supply **Pap 1667A**: 1-64.

Henderiks, J., and J. Bollmann. 2003. The Gephyrocapsa sea surface palaeothermometer put to the test: comparison with alkenone and foraminifera proxies off NW Africa. *Marine Micropaleontology* **948**: 1-24.

Henderson, G. M. 2002. New oceanic proxies for paleoclimate. *Earth and Planetary Science Letters* **203**: 1-13.

Hille, R. 2002. Molybdenum and tungsten in biology. *TRENDS in Biochemical Sciences* **27**: 360-367.

Hintz, C. J., T. J. Shaw, J. M. Bernhard, G. T. Chandler, D. C. Mccorkle, and J. K. Blanks. 2006a. Trace/minor element:calcium ratios in cultured benthic foraminifera. Part II: Ontogenetic variation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**: 1964-1976.

Hintz, C. J., T. J. Shaw, G. T. Chandler, J. M. Bernhard, D. C. Mccorkle, and J. K. Blanks. 2006b. Trace/minor element:calcium ratios in cultured benthic foraminifera. Part I: Inter-species and inter-individual variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**: 1952-1963.

Ho, T. Y. and others 2003. The elemental composition of some marine phytoplankton. *Journal of Phycology* **39**: 1145-1159.

Horn, I., R. L. Rudnick, and W. F. Mcdonough. 2000. Precise elemental and isotope ratio determination by simultaneous solution nebulization and laser ablation-ICP-MS: application to U-Pb geochronology. *Chemical Geology* **164**: 281-301.

Howarth, R. W., R. Marino, and J. J. Cole. 1988. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. 2. Biogeochemical controls. *Limnology & Oceanography* **33**: 688-701.

Hutchinson, R. W. and others 2005. Imaging and spatial distribution of beta-amyloid peptide and metal ions in Alzheimer's plaques by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytical Biochemistry* **346**: 225-233.

-J-

Jackson, B. P., W. A. Hopkins, and J. Baionno. 2003. Laser Ablation-ICP-MS analysis of dissected tissue: A conservation-minded approach to assessing contaminant exposure. *Environmental Science & Technology* **37**: 2511-2515.

Jackson, S. E., N. J. Pearson, W. L. Griffin, and E. A. Belousova. 2004. The application of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry to in situ U-Pb zircon geochronology. *Chemical Geology* **211**: 47-69.

Jeandel, C., K. Tachikawa, A. Bory, and F. Dehairs. 2000. Biogenic barium in suspended and trapped material as tracer of export production NE Atlantic (EUMELI sites). *Marine Chemistry* **71**: 125-142.

Joseph, L., and T. A. Villareal. 1998. Nitrate reductase activity as a mesure of nitrogen incorporation in *Rhizosolenia formosa* (H. Peragallo): Internal nitrate and diel effects. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **229**: 159-176.

Junk, S. A. 2001. Ancient artefacts and modern analytical techniques - Usefulness of laser ablation ICP-MS demonstrated with ancient gold coins. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B-Beam Interactions with Materials and Atoms* **181**: 723-727.

-K-

Kang, D., D. Amarasiriwardena, and A. H. Goodman. 2004. Application of laser ablation-inductively coupled plasma spectrometry (LA-ICP-MS) to investigate trace metal spatial distributions in human tooth enamel and dentine growth layers and pulp. *Analytical Bioanalytical Chemistry* **378**: 1608-1615.

Karvelas, M., A. Katsoyiannis, and C. Samara. 2003. Occurrence and fate of heavy metals in the wastewater treatment process. *Chemosphere* **53**: 1201-1210.

Kisher, C., H. Schindelin, and D. C. Rees. 1997. Molybdenum-cofactor-containing enzymes: structure and mecanism. *Annual Review of Biochemistry* **66**: 233-267.

Klein, R. T., K. C. Lohmann, and C. W. Thayer. 1996a. Bivalve skeletons record sea-surface temperature and delta O-18 via Mg/Ca and O-18/O-16 ratios. *Geology* **24**: 415-418.

---. 1996b. Sr/Ca and ¹³C/¹²C ratios in skeletal calcite of *Mytilus trossulus*: Covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 4207-4221.

Klinkhammer, G. P., and J. Mcmanus. 2001. Dissolved manganese in the Columbia River estuary: production in the water column. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **65**: 2835-2841.

Kogan, V. V., M. W. Hinds, and G. I. Ramendik. 1994. The direct determination of trace elements in gold and silver materials by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry without matrix matched. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* **49**: 333-343.

Kühn, M., and M. Kriews. 2000. Improved detection of transition and rare earth elements in marine samples with the CETAC DSX-100 preconcentration/matrix elimination system and ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **367**: 440-444.

Kunzendorf, H., M. Voss, W. Brener, T. Andren, and H. Vallus. 2001. Molybdenum in sediments of the central Baltic Sea as an indicator for algal blooms. *Baltica* **14**: 123-130.

Kurosawa, M., K. Shima, S. Ishii, and K. Sasa. 2006. Trace element analysis of fused whole-rock glasses by laser ablation-ICP-MS and PIXE. *Geostandards and Geoanalytical Research* **30**: 17-30.

-L-

Laing, I. 2002. Effect of salinity on growth and survival of king scallop spat (*Pecten maximus*). *Aquaculture* **205**: 171-181.

Lam, R., and E. D. Salin. 2004. Analysis of pharmaceutical tablets by laser ablation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and mass spectrometry (LA-ICP-AES and LA-ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **19**: 938-940.

Lares, M. L., G. Flores-Munoz, and R. Lara-Lara. 2002. Temporal variability of bioavailable Cd, Hg, Zn, Mn and Al in an upwelling regime. *Environmental Pollution* **120**: 595-608.

Laslett, R. E., and P. W. Balls. 1995. The behaviour of dissolved Mn, Ni and Zn in the Forth, an industrialised, partially mixed estuary. *Marine Chemistry* **48**: 311-328.

Latkoczy, C., Y. Muller, P. Schmutz, and D. Gunther. 2005. Quantitative element mapping of Mg alloys by laser ablation ICP-MS and EPMA. *Applied Surface Science* **252**: 127-132.

Lazareth, C. E. 2003. LA-ICP-MS analysis of trace elements in biogenetic minerals: time series recording of environmental changes. Final report.

Lazareth, C. E., E. Van Der Putten, L. André, and F. Dehairs. 2003. High-resolution trace element profiles in shells of the mangrove bivalves *Isognomon ehippium*: a record of environmental spatio-temporal variations. *Estuarine, coastal and shell science* **57**: 1103-1114.

Lazareth, C. E., P. Wilenz, J. Navez, E. Keppens, F. Dehairs, and L. André. 2000. Sclerosponges as a new potential recorder of environmental changes: Lead in *Ceratoporella nicholsoni*. *Geology* **28**: 515-518.

Le Pennec, M., A. Paugam, and G. Le Pennec. 2003. The pelagic life of the pectinid *Pecten maximus* - a review. ICES Journal of Marine Science **60**: 211-223.

Lea, D. W., and P. A. Martin. 1996. A rapid mass spectrometric method for the simultaneous analysis of barium, cadmium, and strontium in foraminifera shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 3143-3149.

Lea, D. W., G. T. Shen, and E. A. Boyle. 1989. Coralline barium records temporal variability in equatorial Pacific upwelling. *Nature* **340**: 373-376.

Leach, A. M., and G. M. Hieftje. 2002. Identification of alloys using single shot laser ablation inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **17**: 852-857.

Leach, J. J., L. A. Allen, D. B. Aeschliman, and R. S. Houk. 1999. Calibration of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry using standard additions with dried solution aerosols. *Analytical Chemistry* **71**: 440-445.

Lee, K.-H., M. Oshima, T. Takayanagi, and S. Motomizu. 2000. Simultaneous determination of trace elements in river-water samples by ICP-MS in combination with a discrete microsampling technique after enrichment with a chitosan-based chelating resin. *Analytical Sciences* **16**: 731-738.

Lee, K. M., J. Appleton, M. Cooke, F. Keenan, and K. Sawicka-Kapusta. 1999. Use of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry to provide element versus time profiles in teeth. *Analytica Chimica Acta* **395**: 179-185.

Libes, S. M. 1992. An introduction to marine biogeochemistry. John Wiley and Sons, Inc.

Lochner, F., J. Appleton, F. Keenan, and M. Cooke. 1999. Multi-element profiling of human deciduous teeth by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **401**: 299-306.

Lorens, R. B., and M. L. Bender. 1980. The impact of solution chemistry on *Mytilus edulis* calcite and aragonite. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **44**: 1265-1278.

Lorrain, A. 2002. Utilisation de la coquille Saint-Jacques comme un traceur environnemental: approches biologique et biogéochimique. Université de Bretagne Occidentale.

Lorrain, A. and others 2005. Strong kinetic effects on Sr/Ca ratios in the calcitic bivalve *Pecten maximus*. *Geology* **33**.

Lorrain, A., Y.-M. Paulet, L. Chauvaud, R. Dunbar, D. Mucciarone, and M. Fontugne. 2004. $\delta^{13}\text{C}$ variation in scallop shells: Increasing metabolic carbon contribution with body size? *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**: 3509-3519.

Lorrain, A., Y. M. Paulet, L. Chauvaud, N. Savoye, A. Donval, and C. Saout. 2002. Differential $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures among scallops tissues: implications for ecology and physiology. *Journal of experimental marine biology and ecology* **275**: 47-61.

Lorrain, A., Y. M. Paulet, L. Chauvaud, N. Savoye, E. Nezan, and L. Guerin. 2000. Growth anomalies in *Pecten maximus* from coastal waters (Bay of Brest, France): relationship with diatoms blooms. *Journal of marine biological association of the United Kingdom*.

Luoma, S. N., and P. S. Rainbow. 2005. Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environmental Science and Technology* **39**: 1921-1931.

-M-

Marino, R., R. W. Howarth, J. Shames, and E. Prepas. 1990. Molybdenum and sulfate as controls on the abundance of nitrogen-fixing cyanobacteria in saline lakes in Alberta. *Limnology and Oceanography* **35**: 245-259.

Mason, P. R. D., J. Kosler, J. C. M. De Hoog, P. J. Sylvester, and S. Meffan-Main. 2006. In situ determination of sulfur isotopes in sulfur-rich materials by laser ablation multiple-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-MC-ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **21**: 177-186.

Mc Manus, J. and others 1998. Geochemistry of barium in marine sediments: implications for its use as a paleoproxy. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**: 3453-3473.

Mc Manus, J., W. M. Berelson, G. P. Klinkhammer, T. E. Kilgore, and D. E. Hammond. 1994. Remobilization of barium in continental margin sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **58**: 4849-4907.

Mc Manus, J., J. Dymond, R. B. Dunbar, and R. W. Collier. 2002. Particulate barium fluxes in the Ross Sea. *Marine Geology* **184**: 1-15.

Mc Master, J., and J. H. Enemark. 1998. The active sites of molybdenum- and tungsten-containing enzymes. *Current Opinion in Chemical Biology* **2**: 201-207.

Millero, F. J. 2006. *Chemical Oceanography*, Third edition. CRC Press, Taylor & Francis.

Millward, G. E., A. W. Morris, and A. D. Tappin. 1998. Trace metals at two sites in the southern North Sea: Results from a sediment resuspension study. *Continental Shelf Research* **18**: 1381-1400.

Moffett, J. W., L. E. Brand, P. L. Croot, and K. A. Barbeau. 1997. Cu speciation and cyanobacterial distribution in harbors subject to anthropogenic Cu inputs. *Limnology and Oceanography* **42**: 789-799.

Morel, F. M. M., and J. G. Hering. 1993. Principles and applications of aquatic chemistry. Wiley-Interscience publication.

Morford, J. L., S. R. Emerson, E. J. Breckel, and S. H. Kim. 2005. Diagenesis of oxyanions (V, U, Re, and Mo) in pore waters and sediments from a continental margin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69**: 5021-5032.

Morford, J. L., A. D. Russel, and S. Emerson. 2001. Trace metal evidence for changes in the redox environment associated with the transition from terrigenous clay to diatomaceous. *Marine Geology* **174**: 355-369.

Morishita, T., Y. Ishida, S. Arai, and M. Shirasaka. 2005. Determination of multiple trace element compositions in thin (< 30 μ m) layers of NIST SRM 614 and 616 using laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Geostandards and Geoanalytical Research* **29**: 107-122.

Morse, J. W., and M. L. Bender. 1990. Partition coefficients in calcite: examination of factors influencing the validity of experimental results and their application to natural systems. *Chemical Geology* **82**: 265-277.

Motelica-Heino, M. 1999. Développement du couplage de l'ablation laser spectrométrie de masse à source d'ionisation plasma (LA-ICP-MS) pour l'analyse élémentaire du solide. Application à la caractérisation des métaux traces dans l'environnement. Université de Pau et des Pays de l'Adour.

Motelica-Heino, M., O. F. X. Donard, and J. M. Mermet. 1999. Laser ablation of synthetic geological powders using ICP-AES detection: effects of the matrix, chemical form of the analyte and laser wavelength. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14**: 675-682.

Motelica-Heino, M., P. Le Coustumer, and O. F. X. Donard. 2001. Micro- and macro-scale investigation of fractionation and matrix effects in LA-ICP-MS at 1064 nm and 266 nm on glassy materials. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **16**: 542-550.

Mucci, A., and J. W. Morse. 1983. The incorporation of Mg^{2+} and Sr^{2+} into calcite overgrowths: influences of growth rate and solution composition. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **47**: 217-233.

Muller, S. D., R. A. Diaz-Bobe, J. Felix, and W. Goedecke. 2005. Detection of specific proteins by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-

MS) using gold cluster labelled antibodies. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **20**: 907-911.

-N-

Nagler, T. H., C. Siebert, H. Luschen, and M. E. Bottcher. 2005. Sedimentary isotope record across the Holocene fresh-brackish water transition of the Black Sea. *Chemical Geology* **219**: 283-295.

Narewski, U., G. Werner, H. Schulz, and C. Vogt. 2000. Application of laser ablation inductively coupled mass spectrometry (LA-ICP-MS) for the determination of major, minor, and trace elements in bark samples. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **366**: 167-170.

Nesbitt, R. W., T. Hirata, I. B. Butler, and J. A. Milton. 1997. UV laser ablation ICP-MS: Some applications in the earth sciences. *Geostandards Newsletter-the Journal of Geostandards and Geoanalysis* **21**: 231-243.

Nriagu, J. O., and J. M. Pacyna. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* **333**: 134-139.

-O-

O'Connor, T. P. 1998. Mussel watch results from 1986 to 1996. *Marine Pollution Bulletin* **37**: 14-19.

Okuda, T. and others 2006. Long-term observation of trace metal concentration in aerosols at a remote island, Rishiri, Japan by using inductively coupled plasma mass spectrometry equipped with laser ablation. *Water Air and Soil Pollution* **174**: 3-17.

Ouddane, B., E. Martin, A. Boughriet, J. C. Fischer, and M. Wartel. 1997. Speciation of dissolved and particulate manganese in the Seine river estuary. *Marine Chemistry* **58**: 189-201.

Outridge, P. M., R. D. Evans, R. Wagemann, and R. E. A. Stewart. 1997. Historical trends of heavy metals and stable lead isotopes in beluga (*Delphinapterus leucas*) and walrus (*Odebenus rosmarus rosmarus*) in the canadian arctic. *The science of total environment* **203**: 209-219.

Overnell, J. 2002. Manganese and iron profiles during early diagenesis in Loch Etive, Scotland. Application of two diagenetic models. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **54**: 33-44.

Overnell, J., T. Brand, W. Bourgeois, and P. J. Statham. 2002. Manganese dynamics in the watercolumn of the upper basin of Loch Etive, a scottish fjord. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **55**: 481-492.

Owen, R., H. Kennedy, and C. Richardson. 2002a. Experimental investigation into partitioning of stable isotopes between scallop (*Pecten maximus*) shell calcite and sea water. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **185**: 163-174.

---. 2002b. Isotopic partitioning between scallop shell calcite and seawater: effect of shell growth rate. *Geochimica and Cosmochimica Acta* **66**: 1727-1737.

-P-

Passow, U., and A. L. Alldredge. 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.

Paulsen, D. M., H. W. Paerl, and P. E. Bishop. 1991. Evidence that molybdenum-dependant nitrogen fixation is not limited by high sulfate concentrations in marine environments. *Limnology and Oceanography* **36**: 1325-1334.

Paytan, A., and M. Kastner. 1996. Benthic Ba fluxes in the central Equatorial Pacific, implications for the oceanic Ba cycle. *Earth and Planetary Science Letters* **142**: 439-450.

Pearce, N. J. G., and V. L. Mann. 2006. Trace metal variations in the shells of *Ensis siliqua* record pollution and environmental conditions in the sea to the west of mainland Britain. *Marine Pollution Bulletin* **52**: 739-755.

Pearce, N. J. G., J. A. Westgate, W. T. Perkins, W. J. Eastwood, and P. Shane. 1999. The application of laser ablation ICP-MS to the analysis of volcanic glass shards from tephra deposits: bulk glass and single shard analysis. *Global and Planetary Change* **21**: 151-171.

Pearson, C., S. W. Manning, M. Coleman, and K. Jarvis. 2005. Can tree-ring chemistry reveal absolute dates for past volcanic eruptions? *Journal of Archaeological Science* **32**: 1265-1274.

Péchevran, C., S. Cany, P. Chabassier, E. Mottay, and O. F. X. Donard. in press. High repetition rate and low energy femtosecond laser ablation coupled to ICPMS detection: a new analytical approach for trace element determination in solid. *Journal of Physics: Conference Series*.

Péchevran, C., S. Cany, and O. F. X. Donard. 2005. Ablation laser femtoseconde à haute cadence de tir et basse énergie couplée à une détection ICP-MS: résultats préliminaires. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* **50**: 228-239.

Pereira, C. E. D., N. Miekeley, G. Poupeau, and I. L. Kuchler. 2001. Determination of minor and trace elements in obsidian rock samples and archaeological artifacts by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry using synthetic obsidian standards. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* **56**: 1927-1940.

Perkins, W. T., R. Fuge, and N. J. G. Pearce. 1991. Quantitative analysis of trace elements in carbonates using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **6**: 445-449.

Pickhardt, C., H. J. Dietze, and J. S. Becker. 2005. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for direct isotope ratio measurements on solid samples. *International Journal of Mass Spectrometry* **242**: 273-280.

Plotnikov, A., C. Vogt, V. Hoffmann, C. Taschner, and K. Wetzig. 2001. Application of laser ablation inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry (LA-ICP-QMS) for depth profile analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **16**: 1290-1295.

Point, D. 2004. Spéciation et biogéochimie des éléments traces métalliques dans l'estuaire de l'Adour. Université de Pau et des Pays de l'Adour.

Point, D. and others in press. Biological control of trace metal and organometal benthic fluxes in a eutrophic lagoon (Etang de Thau, Mediterranean sea, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

Poitrasson, F., X. L. Mao, S. S. Mao, R. Freydier, and R. E. Russo. 2003. Comparison of ultraviolet femtosecond and nanosecond laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry analysis in glass, monazite, and zircon. *Analytical Chemistry* **75**: 6184-6190.

Ponting, M., J. A. Evans, and V. Pashley. 2003. Fingerprinting of Roman mints using laser-ablation MC-ICP-MS lead isotope analysis. *Archaeometry* **45**: 591-597.

Price, G. D., and N. J. G. Pearce. 1997. Biomonitoring of Pollution by *Cerastoderma edule* from the British Isles: a Laser Ablation ICP-MS study. *Marine Pollution Bulletin* **34**: 1025-1031.

Prince, C. I., J. Kosler, D. Vance, and D. Gunther. 2000. Comparison of laser ablation ICP-MS and isotope dilution REE analyses - implications for Sm-Nd garnet geochronology. *Chemical Geology* **168**: 255-274.

Puente, X., R. Villares, E. Carral, and A. Carballeira. 1996. Nacreous shell of *Mytilus galloprovincialis* as a biomonitor of heavy metal pollution in Galiza (NW Spain). *The Science of the Total Environment* **183**: 205-211.

Punshon, T., B. P. Jackson, P. M. Bertsch, and J. Burger. 2004. Mass loading of nickel and uranium on plant surfaces: application of laser ablation-ICP-MS. *Journal of Environmental Monitoring* **6**: 153-159.

-Q-

Quigg, A. and others 2003. The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature* **425**: 291-294.

-R-

Raith, A., W. T. Perkins, N. J. G. Pearce, and T. E. Jeffries. 1996. Environmental monitoring on shellfish using UV laser ablation ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **355**: 789-792.

Rauch, S., H. F. Hemond, and D. J. Brabander. 2006. High spatial resolution analysis of lake sediment cores by laser ablation- inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Limnology & Oceanography: Methods* **4**: 268-274.

Reinhardt, H., M. Kriews, H. Miller, C. Ludke, E. Hoffmann, and J. Skole. 2003. Application of LA-ICP-MS in polar ice core studies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **375**: 1265-1275.

Reitz, A., K. Pfeifer, G. J. De Lange, and J. Klump. 2004. Biogenic barium and the detrital Ba/Al ratio: a comparison of their direct and indirect determination. *Marine Geology* **204**: 289-300.

Reuer, M. K., E. A. Boyle, and J. E. Cole. 2003. A mid-twentieth century reduction in tropical upwelling inferred from coralline trace element proxies. *Earth and Planetary Science Letters* **210**: 437-452.

Richardson, C. A., S. R. N. Chenery, and J. M. Cook. 2001. Assessing the history of trace metal (Cu, Zn, Pb) contamination in the North sea through laser ablation ICP-MS of horse mussel *Modiolus modiolus* shells. *Marine Ecology Progress Series* **211**: 157-167.

Richardson, C. A., M. Peharda, H. Kennedy, P. Kennedy, and V. Onofri. 2004. Age, growth rate and season of recruitment of *Pinna nobilis* (L) in the Croatian Adriatic determined from Mg:Ca and Sr:Ca shells profiles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **299**: 1-16.

Rimstidt, J. D., A. Balog, and J. Webb. 1998. Distribution of trace element between carbonate minerals and aqueous solutions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**: 1851-1863.

Roberts, M. S., P. L. Smart, C. J. Hawkesworth, W. T. Perkins, and N. J. G. Pearce. 1999. Trace element variations in coeval holocene speleothems from GB cave, southwest England. *Holocene* **9**: 707-713.

Roitz, J. S., A. R. Flegal, and K. W. Bruland. 2002. The biogeochemical cycling of manganese in San Francisco Bay: temporal and spatial variations in surface water Concentrations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **54**: 227-239.

Rosenheim, B. E., P. K. Swart, and S. R. Thorrold. 2005. Minor and trace elements in sclerosponge *Ceratoporella nicholsoni*: Biogenic aragonite near the inorganic endmember? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **228**: 109-129.

Rue, E. L., G. J. Smith, G. A. Cutter, and K. W. Bruland. 1997. The response of trace element redox couples to suboxic conditions in the water column. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **44**: 113-134.

Rushdi, A. I., J. Mcmanus, and R. W. Collier. 2000. Marine barite and celestite saturation in seawater as a function of temperature, salinity, and pressure. *Marine Chemistry* **69**: 19-31.

Russo, R. E., X. L. Mao, H. C. Liu, J. Gonzalez, and S. S. Mao. 2002. Laser ablation in analytical chemistry - a review. *Talanta* **57**: 425-451.

-S-

Saiz-Salinas, J. I. 1997. Evaluation of adverse biological effects. induced by pollution in the Bilbao Estuary (Spain). *Environmental Pollution* **96**: 351-359.

Sanchez-Vidal, A., R. W. Collier, A. Calafat, J. Fabres, and M. Canals. 2005. Particulate barium fluxes on the continental margin: a study from the Alboran Sea (Western Mediterranean). *Marine Chemistry* **93**: 105-117.

Santschi, P. H., J. J. Lenhart, and B. D. Honeyman. 1997. Heterogeneous processes affecting trace contamination distribution in estuaries: The role of natural organic matter *Marine Chemistry* **58**: 99-125.

Saout, C., C. Quéré, A. Donval, Y. M. Paulet, and J. F. Samain. 1999. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France). *Aquaculture* **172**: 301-314.

Sarthou, G., K. R. Timmermans, S. Blain, and P. Treguer. 2005. Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research*

Iron Resources and Oceanic Nutrients - Advancement of Global Environmental Simulations **53**: 25-42.

Schenau, S. J., M. A. Prins, G. J. De Lange, and C. Monnin. 2001. Barium accumulation in the Arabian Sea: controls on barite preservation in marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **65**: 1545-1556.

Schrag, D. P. 1999. Rapid analysis of high-precision Sr/Ca ratios in corals and other marine carbonates. *Paleoceanographic Currents* **14**: 97-102.

Sellner, K. G. 1997. Physiology, ecology, and toxic properties of marine cyanobacteria blooms. *Limnology and Oceanography* **42**: 1089-1104.

Seltzer, M. D., and K. H. Berry. 2005. Laser ablation ICP-MS profiling and semiquantative determination of trace element concentrations in desert tortoise shells: documenting the uptake of elemental toxicants. *Science of Total Environment* **339**: 253-265.

Shaw, T. J., W. S. Moore, J. Kloepfer, and M. A. Sochaski. 1998. The flux of barium to the coastal waters of the southeastern USA: the importance of submarine groundwater discharge. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**: 3047-3054.

Sinclair, D. J. 2005. Non-river flood barium signals in the skeletons of corals from coastal Queensland, Australia. *Earth and Planetary Science Letters* **237**: 354-369.

Sinclair, D. J., L. P. J. Kinsley, and M. T. Mc Culloch. 1998. High resolution analysis of trace elements in corals by laser ablation ICP-MS. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**: 1889-1901.

Sinclair, D. J., and M. T. Mc Culloch. 2004. Corals record low mobile barium concentrations in the Burdekin River during the 1974 flood: evidence for limited Ba supply to rivers? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **214**: 155-174.

Slomp, C. P., J. F. P. Malschaert, L. Lohse, and W. Van Raaphorst. 1997. Iron and manganese cycling in different sedimentary environments on the North Sea continental margin. *Continental Shelf Research* **17**: 1083-1117.

Smith, K., K. Horton, R. J. Watling, and N. Scoullar. 2005. Detecting art forgeries using LA-ICP-MS incorporating the in situ application of laser-based collection technology. *Talanta* **67**: 402-413.

Smith, S. V., R. W. Buddemeier, R. C. Redalje, and J. E. Houck. 1979. Strontium-Calcium thermometry in coral skeletons. *Science* **204**: 404-407.

Smith, S. V., and J. T. Hollibaugh. 1993. Coastal metabolism and the oceanic organic carbon balance. *Reviews of Geophysics* **31**: 75-89.

Stadlbauer, C., T. Prohaska, C. Reiter, A. Knaus, and G. Stingeder. 2005. Time-resolved monitoring of heavy-metal intoxication in single hair by laser ablation ICP-DRCMS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **383**: 500-508.

Statham, P. J. and others 2005. Spatially complex distribution of dissolved manganese in a fjord as revealed by high-resolution in situ sensing using the autonomous underwater vehicle Autosub. *Environmental Science and Technology* **39**: 9440-9445.

Statham, P. J., P. A. Yeats, and W. M. Landing. 1998. Manganese in the eastern Atlantic Ocean: processes influencing deep and surface water distributions. *Marine Chemistry* **61**: 55-68.

Stecher, H. A., and M. B. Kogut. 1999. Rapid barium removal in the Delaware estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **63**: 1003-1012.

Stecher, H. A., D. E. Krantz, J. C. Lord, Iii, G. W. Luther, Iii, and K. W. Bock. 1996. Profiles of strontium and barium in *Mercenaria mercenaria* and *Spisula solidissima*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 3445-3456.

Sternberg, E., D. Tang, T. Y. Ho, C. Jeandel, and F. M. M. Morel. 2005. Baryum uptake and adsorption in diatoms. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69**: 2745-2752.

Stewart, R. E. A., P. M. Outridge, and R. A. Stern. 2003. Walrus life-history movements from lead isotopes in annual layers of teeth. *Marine mammal science* **19**: 808-818.

Stumm, W., and J. J. Morgan. 1996. *Aquatic chemistry*. 3rd ed. Wiley.

Sunda, W. G., and S. A. Huntsman. 1987. Microbial oxidation of manganese in a North Carolina estuary. *Limnology & Oceanography* **32**: 552-564.

---. 1990. Diel cycles in microbial manganese oxidation and manganese redox speciation in coastal waters of the Bahama Islands. *Limnology & Oceanography* **35**: 325-438.

---. 1996. Antagonisms between cadmium and zinc toxicity and manganese limitation in a coastal diatom. *Limnology & Oceanography* **41**: 373-387.

Sunda, W. G., P. A. Tester, and S. A. Huntsman. 1990. Toxicity of Trace Metals to *Acartia tonsa* in the Elizabeth River and Southern Chesapeake Bay. *Estuarine Coastal and Shelf Science* **30**: 207-221.

Sundby, B., P. Martinez, and C. Gobeil. 2004. Comparative geochemistry of cadmium, rhenium, uranium, and molybdenum in continental margin sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**: 2485-2493.

Suzuki, K. 2006. Characterisation of airborne particulates and associated trace metals deposited on tree bark by ICP-OES, ICP-MS, SEM-EDX and laser ablation ICP-MS. *Atmospheric Environment* **40**: 2626-2634.

Swinkels, P. L. J. and others 2004. Conceptual process design as a prerequisite for solving environmental problems; a case study of molybdenum removal and recovery from wastewater. *Minerals Engineering* **17**: 205-215.

Szefer, P. and others 2002. Distribution and relationships of trace metals in soft tissues, byssus and shells of *Mytilus edulis trossulus* from the southern Baltic. *Environmental Pollution* **120**: 423-444.

-T-

Takesue, R. K., and A. Van Geen. 2004. Mg/Ca, Sr/Ca, and stable isotopes in modern and Holocene *Protothaca staminea* shells from a northern California coastal upwelling region. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **28**: 3845-3861.

Tankere, S. P. C., P. J. Statham, and N. B. Price. 2000. Biogeochemical Cycling of Mn and Fe in an Area Affected by Eutrophication: The Adriatic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **51**: 491-506.

Tao, G., Y. Fujikawa, M. Mitsui, and R. Yamada. 2002. Determination of mercury in sediment samples by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **17**: 560 - 562.

Tesoriero, A. J., and J. F. Pankow. 1996. Solid solution partitionning of Sr^{2+} , Ba^{2+} , and Cd^{2+} to calcite. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 1053-1063.

Tessier, E., D. Amouroux, G. Abril, E. Lemaire, and O. F. X. Donard. 2002. Formation and volatilisation of alkyl-Iodides and -Selenides in macrotidal estuaries. *Biogeochemistry* **59**: 183-206.

Thébault, J. and others submitted. Molybdenum and barium content in scallop shells as high-resolution proxies for diazotrophy and diatom dynamics in tropical coastal seawater. *Limnology and Oceanography*.

Thébaut, J. 2005. La coquille de *Comptopallium radula* (Bivalvia; Pectinidae), archive eulérienne haute-fréquence de la variabilité de l'environnement côtier tropical (Océan Pacifique). Université de Bretagne Occidentale.

Thouzeau, G., L. Chauvaud, J. Grall, and L. Guerin. 2000. Rôle des interactions biotiques sur le devenir du pré-recrutement et la croissance de *Pecten maximus* (L.) en rade de Brest. *C. R. Acad. Sci. Paris, Science de la vie* **323**: 815-825.

Toland, H., B. Perkins, N. Pearce, F. Keenan, and M. J. Leng. 2000. A study of sclerochronology by laser ablation ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **15**: 1143-1148.

Tossel, J. A. 2005. Calculating the partitionning of the isotopes of Mo between oxidic and sulfidic species in aqueous solution. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69**: 2981-2993.

Trejos, T., and J. R. Almirall. 2005. Sampling strategies for the analysis of glass fragments by LA-ICP-MS - Part I. Micro-homogeneity study of glass and its application to the interpretation of forensic evidence. *Talanta* **67**: 388-395.

Tribovillard, N., A. Riboulleau, T. Lyons, and F. Baudin. 2004. Enhanced trapping of molybdenum by sulfurized marine organic matter of marine origin in Mesozoic limestone and shales. *Chemical Geology* **213**: 385-401.

-V-

Vadillo, J. M., I. Vadillo, F. Carrasco, and J. J. Laserna. 1998. Spatial distribution profiles of magnesium and strontium in speleothems using laser-induced breakdown spectrometry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **361**: 119-123.

Vander Putten, E., F. Dehairs, L. André, and W. Baeyens. 1999. Quantitative in situ micro-analysis of minor and trace elements in biogenic calcite using infrared laser ablation-ICP-MS: a critical evaluation. *Analytica Chimica Acta* **378**: 261-272.

Vander Putten, E., F. Dehairs, E. Keppens, and W. Baeyens. 2000. High resolution distribution of trace elements in the calcite shell layer of modern *Mytilus edulis*: Environmental and biological controls. *Geochimica and Cosmochimica Acta* **64**: 997-1011.

Villareal, T. A. 1992. Marine nitrogen-fixing diatom-cyanobacteria symbioses, p. 163-175. In E. J. Carpenter, D. G. Capone and J. G. Rueter [eds.], *Marine pelagic cyanobacteria: Trichodesmium and others diazotrophs*. Kluwer Academic Publisher.

-W-

Wang, X. L., J. C. Zhou, J. S. Qiu, W. L. Zhang, X. M. Liu, and G. L. Zhang. 2006. LA-ICP-MS U-Pb zircon geochronology of the Neoproterozoic igneous rocks from Northern Guangxi, South China: Implications for tectonic evolution. *Precambrian Research* **145**: 111-130.

Watanabe, T., A. Winter, and T. Oba. 2001. Seasonal changes in sea surface temperature and salinity during the Little Ice Age in the Caribbean Sea deduced from Mg/Ca and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios in corals. *Marine Geology* **173**: 21-35.

Watling, R. J. 1999. Novel application of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry in forensic science and forensic archaeology. *Spectroscopy* **14**: 16-+.

Watling, R. J., H. K. Herbert, and I. D. Abell. 1995a. The Application of Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) to the Analysis of Selected Sulfide Minerals. *Chemical Geology* **124**: 67-81.

Watling, R. J., H. K. Herbert, I. S. Barrow, and A. G. Thomas. 1995b. Analysis of Diamonds and Indicator Minerals for Diamond Exploration by Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Analyst* **120**: 1357-1364.

Watling, R. J., B. F. Lynch, and D. Herring. 1997. Use of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for fingerprinting scene of crime evidence. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **12**: 195-203.

Watmough, S. A., T. C. Hutchinson, and R. D. Evans. 1997. Application of laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry in dendrochemical analysis. *Environmental Science & Technology* **31**: 114-118.

Wyndham, T., M. Mc Culloch, S. Fallon, and C. Alibert. 2004. High-resolution coral records of rare earth elements in coastal seawater: Biogeochemical cycling and a new environmental proxy. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**: 2067-2080.

-X-

Xia, J., D. R. Engstrom, and E. Ito. 1997. Geochemistry of ostracode calcite: Part 2. The effects of water chemistry and seasonal temperature variation on *Candona rawsoni*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **61**: 383-391.

-Y-

Yang, M., and S. A. Sanudo-Wilhelmy. 1998. Cadmium and manganese distributions in the Hudson River estuary: interannual and seasonal variability. *Earth and Planetary Science Letters* **160**: 403-418.

-Z-

Zheng, Y., R. F. Anderson, A. Van Geen, and J. Kuwabara. 2000. Authigenic molybdenum formation in marine sediments: A link to pore water sulfide in the Santa Barbara Basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **64**: 4165-4178.

Zuddas, P., and A. Mucci. 1994. Kinetics of calcite precipitation from seawater: I. A classical chemical kinetics description for strong electrolyte solutions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **58**: 4353-4362.

---. 1998. Kinetics of Calcite Precipitation from Seawater: II. The Influence of the Ionic Strength. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**: 757-766.

Chapitre VI Annexes

VI.1. Etudes complémentaires

VI.1.1. Impact de la marée noire due au naufrage de l'Erika (Décembre 1999) sur la coquille Saint Jacques sur les côtes atlantiques du Sud de la Bretagne (France)

L'originalité des travaux qui avaient été effectués avant le naufrage de l'Erika sur la coquille Saint-Jacques reposait sur notre aptitude à mesurer et à dater au jour près et a posteriori, chez un invertébré sédentaire, un paramètre biologique structural (la croissance journalière) sur une longue période de temps. L'approche pluridisciplinaire (biogéochimie, biologie, écologie benthique) retenue lors de notre proposition de travail devait nous permettre de caractériser la variabilité journalière de l'environnement de cette espèce et d'analyser en retour les réponses de *Pecten* aux changements subtils ou brutaux du milieu. En effet, au sein de l'aire de répartition de l'animal (Atlantique Nord-Est), les incréments journaliers de calcite constituent des enregistrements haute fréquence de la variabilité hydrobiologique de l'environnement côtier. Les premiers résultats obtenus nous ont amené à proposer l'utilisation de la coquille (carbonate de calcium, 100%) de *Pecten maximus* comme enregistrement haute fréquence de l'impact de la marée noire due au naufrage de l'Erika sur la croissance journalière de *Pecten maximus*. En effet, la mesure des isotopes stables ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$) et d'éléments traces (Ba, Sr, Mn, Mg, U) contenus dans la calcite de la coquille permet la discrimination des effets thermiques (saison, upwelling), anthropiques (pollutions) et trophiques (occurrence et nature des blooms) sur la croissance coquillière.

A la demande de l'INERIS nous avons mis l'accent sur la mesure des deux éléments, nickel et vanadium qui devaient être dosés dans la calcite de *Pecten*. Ces deux éléments devaient attester de la présence du pétrole de l'Erika dans l'eau environnant les individus collectés. Nous avons développé une technique permettant de doser ces éléments chez *Pecten maximus* par spectrométrie de masse (LA-ICPMS). Ces résultats ont de façon préliminaire fait l'objet d'une publication (Contamination de quelques invertébrés benthiques par le nickel et le vanadium suite au naufrage de l'ERIKA. Chiffolleau et al.) et font de façon plus spécifique à *Pecten maximus* l'objet d'une publication plus méthodologique.

Nickel and vanadium contamination of benthic invertebrates following the “Erika” wreck

Jean-François Chiffolleau^{1,a}, Laurent Chauvaud², David Amouroux³, Aurélie Barats³, Aurélie Dufour¹, Christophe Pécheyran³ and Nathalie Roux¹

¹ IFREMER, Département DEL/PC, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 3, France

² IUEM, UMR CNRS 6539 (Lemar), Technopôle Brest-Iroise, Place N. Copernic, 29280 Plouzané, France

³ Laboratoire de Chimie analytique bio-inorganique et Environnement, CNRS UMR 5034, Université de Pau et des Pays de l'Adour, 64053 Pau Cedex 9, France

Received 10 February 2004; Accepted 26 May 2004

Abstract – Levels of nickel and vanadium, trace metals found in high concentration in the oil spilled from the “Erika” tanker off Brittany (France) in December 1999 (41 ± 1 and 87 ± 3 mg kg⁻¹ respectively), have been monitored over a one-year period following this accidental event in several benthic invertebrates. Ni and V in mussels (*Mytilus edulis*) and oysters (*Crassostrea gigas*) soft tissues were analysed twice a month by graphite furnace atomic absorption spectrometry and a scallop (*Pecten maximus*) shell daily growth bands were sampled every three bands by laser ablation and analysed by ICP-MS for these two contaminants. Survey data for mollusc tissues were compared with reference data arising from the national monitoring database. Ni concentrations in dried tissues, comparable with reference data (1.8 ± 0.9 µg g⁻¹ in mussels and 1.2 ± 0.5 µg g⁻¹ in oysters) do not show any additional input during the whole period. Conversely, a sharp increase in vanadium concentrations (up to 4.6 and 3.2 µg g⁻¹ for mussels and oysters respectively) is observed around May 2000, i.e. 5 months after the wreck, compared with the monitoring data (1.4 ± 0.6 µg g⁻¹ in mussels and 1.3 ± 0.6 µg g⁻¹ in oysters). Furthermore, no Ni peak is detectable in the time profiles of scallop shell growth bands where a V peak is observed also in May 2000. This study shows that although a “mussel-watch-type” network, based on the monitoring of vanadium concentration in mollusc tissues, is able to identify contamination due to oil spills, similar information might be obtained a posteriori by analysing daily growth bands of scallop shells.

Key words: Oil spill / Nickel / Vanadium / Mussel / Oyster / Scallop shell / Monitoring

Résumé – **Résumé.** Contamination des invertébrés benthiques par le nickel et le vanadium suite au naufrage de l’« Erika ». Les concentrations en nickel et en vanadium, métaux traces présents en quantité importante dans le fioul échappé du pétrolier « Erika » au large de la Bretagne (France) en décembre 1999 (41 ± 1 et 87 ± 3 mg kg⁻¹ respectivement) ont fait l’objet d’un suivi d’un an après le naufrage chez quelques invertébrés benthiques. Ni et V ont été analysés deux fois par mois dans les tissus mous de moules (*Mytilus edulis*) et d’huîtres (*Crassostrea gigas*) par absorption atomique à four graphite et tous les trois jours dans les stries journalières de croissance des valves d’une coquille Saint-Jacques (*Pecten maximus*) par ICP-MS après ablation laser. Les données obtenues pour les tissus de mollusques ont été comparées avec les valeurs de références fournies par le programme national de surveillance. Durant toute la période d’étude, on n’observe pas d’apport occasionnel en nickel, dont les concentrations dans la chair séchée sont comparables aux valeurs de référence ($1,8 \pm 0,9$ µg g⁻¹ chez les moules et $1,2 \pm 0,5$ µg g⁻¹ chez les huîtres). En revanche, une élévation importante des concentrations en vanadium (jusqu’à 4,6 et 3,2 µg g⁻¹ chez les moules et les huîtres respectivement) comparées aux données de la surveillance ($1,4 \pm 0,6$ µg g⁻¹ chez les moules et $1,3 \pm 0,6$ µg g⁻¹ chez les huîtres), est observée en mai 2000, soit 5 mois après le naufrage. De la même manière, aucun pic de nickel n’a été détecté dans les profils temporels de stries journalières de coquille de pectinidé alors qu’un pic de vanadium est observable en mai 2000. Cette étude montre qu’un réseau d’observation de type « mussel-watch » basé sur la surveillance des concentrations en vanadium dans les tissus de mollusques est apte à identifier une contamination due à une marée noire, et une information du même type pourrait être obtenue a posteriori en analysant les stries journalières des valves de coquilles Saint-Jacques.

^a Corresponding author: jfchiff@ifremer.fr

1 Introduction

Most of the oil discharged in the environment originates from natural sources and fuel oil consumption – this last category includes industrial discharges and vehicle emissions. Since the middle of the seventies, about 100 000 tons of oil have been discharged annually in the marine environment due to oil tanker accidents. The number of accidental spills has however highly decreased over the years and nowadays, oil contamination is mostly attributable to a limited number of oil tanker accidents (Anderson and Labelle 2000). Among the latter, the *Erika* shipwreck on December 12, 1999, in the Bay of Biscay, France, which spilled about 20 000 tons of No. 2 fuel oil off the shores of South Brittany (Le Hir and Hily 2002). This region of Western Europe has experienced 7 major oil spills over the last 30 years (Dyrynda et al. 2000).

Following these accidents, a number of scientific studies on the impact of oil spills on coastal ecosystems were carried out, notably on hydrocarbons, the highly toxic chief constituents of petroleum products (Seip 1984; Highsmith et al. 1996; Lee and Page 1997; Jones et al. 1998; Law et al. 1999). However, although petroleum products also contain significant concentrations of trace metals (Metwalli et al. 1997; Márquez et al. 1999), so far few studies have focused on the impact of these elements on the environment. Studies by Bu-Olayan and Al Yakoob (1998) and Cantu et al. (2000), for instance, show that nickel and vanadium are not very mobile in fuel oil, and consequently their transfer to the aqueous phase is extremely slow. Vanadium is however proposed as an internal marker for the monitoring of microbial degradation of crude oil (Sasaki et al. 1998). As nickel and vanadium are increasingly integrated in marine monitoring programs, it is thus crucial to study the impact of an oil tanker accident on the levels of these elements in coastal organisms, namely in species used as bioindicators in these programs.

For 25 years, the National Network for the Observation of Marine Environment Quality (RNO, the French Mussel-Watch) has been regularly (once every three months) measuring concentrations of certain chemical contaminants in oyster and mussel tissues (Claisse 1989). This valuable database (80 sampling stations distributed along the French coasts) is used as a reference to either identify trends toward contamination/decontamination with specific contaminants, or accidental-type peak concentrations. Moreover, all collected samples are stored in an organism bank. Although nickel and vanadium were not part of the list of contaminants that were monitored by the RNO at the time of the *Erika* wreck, it has been possible to define the coastal mollusc nickel and vanadium contamination situation before the wreck, inside and outside of the area affected by the oil spill, a posteriori using this organism bank. Additional samplings (increased frequency at the original sampling sites and additional sites) allowed us to refine our observations.

This study was complemented by a very high frequency monitoring on mollusc shells during that same period. It has been known that molluscs, bivalves in particular, accumulate certain metal contaminants, such as cadmium (Sturesson 1978), lead (Sturesson 1976), vanadium (Miramand et al. 1980) in their shell. Richardson et al. (2001) showed, using laser ablation-ICP-MS, that metal concentration varies as a

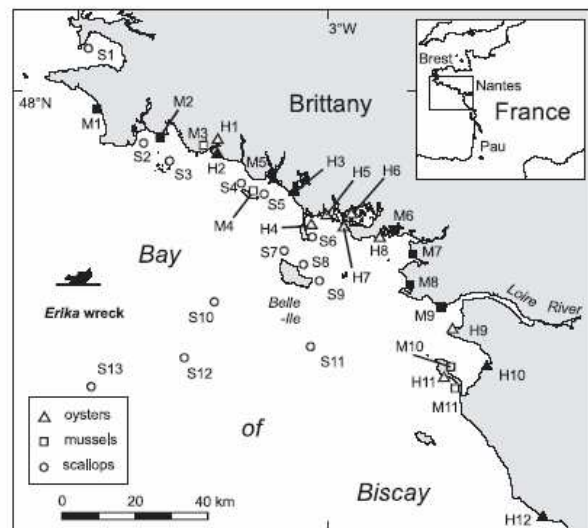


Fig. 1. Study site and sampling strategy. Black symbols refer to the RNO sampling stations.

function of age in horse mussel (*Modiolus modiolus*) shell. We developed a high frequency monitoring method for the measurement of metal concentration in scallop (*Pecten maximus*) shells, which consists in analysing daily growth bands using this same laser ablation technique. This method was used for the study of scallops collected in the area where the wreck occurred. As opposed to the classical mussel-watch sampling strategy, this method offers the unquestionable advantage of being able to be performed after an unforeseeable event.

2 Material and methods

2.1 Site of study and sampling strategy

Bivalves (mussels, oysters, cockles, tellins, clams) and crustaceans (barnacles) were sampled immediately after the *Erika* wreck and before oil slicks reached the shore (between December 12 and 24, 1999). Sampling was done by hand, according to international quality assurance guidelines (Claisse 1989), in nearly thirty sites along the northern coastline of the Bay of Biscay in order to complement the sampling strategy of the RNO and define very precisely the initial conditions for subsequent expertise. During the following year (year 2000), these sites were surveyed semi-monthly. Part of the samples (stations M1 to M11 for mussels, stations H1 to H12 for oysters) were used for the study of nickel and vanadium contamination (Fig. 1).

As for coastal molluscs, selected sites to study contamination in scallops were located in the area that had been hit by oil slicks and at its outermost limits. Stations S1 to S13 were sampled (Fig. 1) in this area from October 2001 to March 2002, mostly by dredging, with a chartered fishing boat, and sometimes by scuba diving. Scallops collected at each site were usually of different age groups, however analyses focused on

Table 1. Quality control results (Concentrations are expressed in $\mu\text{g g}^{-1}$ dw).

	Nickel			Vanadium		
	SRM 2976	SRM 1566b	TORT-2	SRM 2976	SRM 1566b	TORT-2
Detection limit	0.09	0.09	0.09	0.5	0.5	0.5
Obtained value	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.2	2.5 ± 0.2	1.5 ± 0.2	0.57 ± 0.08	2.0 ± 0.2
Certified value	0.93 ± 0.12	1.04 ± 0.09	2.3 ± 0.3	-	0.58 ± 0.02	1.6 ± 0.2

scallop shells of less than 3 years. In this work we present preliminary results obtained from a single scallop shell collected off Belle-Ile.

2.2 Collection, treatment, and analysis

Fuel oil

150 mg of *Erika* fuel oil (collected by the CEDRE, Centre of Documentation, Research and Experimentation on the accidental Pollutions of Waters) were mineralised in a microwave oven at 180 °C during 2 hours by 10 ml nitric acid. Nickel and vanadium were analysed by graphite furnace atomic absorption spectrometry (VARIAN model AA800) with Zeeman background correction.

Mussel and oyster tissues

Following the recommendations of Cossa (1989) related to the statistical significance of sampling, each sample consisted of a pool of at least 50 mussels (*Mytilus edulis*) or 10 oysters (*Crassostrea gigas*) of the same size or age range (35–60 mm for mussels, 2 years for oysters), ensuring a good estimation of the average concentration of the population studied; molluscs were collected at low tide, immediately packed in plastic bags, and kept at +4 °C during transport (Claisse 1989). Back in the laboratory, soft tissues were removed from their shells, pooled, homogenised, and freeze-dried.

As per the protocol used by the RNO (Chiffolleau et al. 2002), aliquots of 200 mg of dried samples were mineralised at 90 °C with nitric acid under atmospheric pressure. Nickel and vanadium were analysed by graphite furnace atomic absorption spectrometry (VARIAN model AA800) with Zeeman background correction.

Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) concentrations (the sum of 16 PAH surveyed on a routine basis, i.e. naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(a)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene, indeno(1,2,3-cd)pyrene) are reported from Chantereau et al. (2003).

Quality assurance relies on the systematic control of blanks and on the determination of the accuracy and reproducibility of measurement conditions using certified reference material.

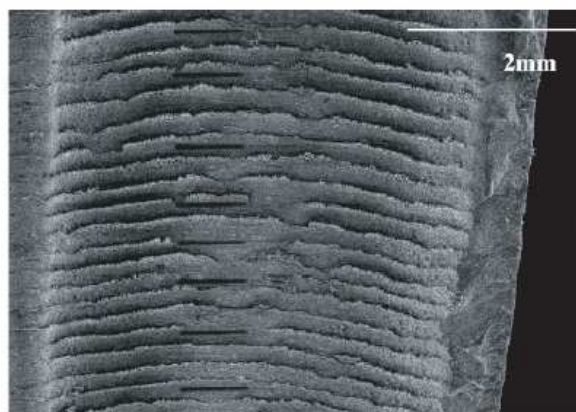


Fig. 2. Ablated microgrooves (dark lines) on daily growth bands (1 of 2) of a scallop shell.

We participate in interlaboratory comparisons, such as the E.U. project QUASIMEME, on a regular basis. The standards used in this study were the SRM 2976 mussel tissue and the SRM 1566b oyster tissue from the National Institute for Standards and Technology (USA), and the CRM TORT-2 lobster liver from the National Research Council Canada. The control data are reported in Table 1.

Scallop shells

Once collected scallops (*Pecten maximus*) extracted from their shell, left valves were cleaned with acetic acid for one minute for better visualisation of growth bands, rinsed with milli-Q water, and dried. Sections of shells just big enough to fit into the ablation chamber (approximately 20 × 45 mm) were cut with a diamond saw. On each shell, growth bands (1 of 2) were ablated with a beam of approximately 50 μm in width, using a LSX 100-Cetac laser consisting of a (UV) Nd:YAG crystal operating at 266 nm according to the conditions described in Table 2. A complete study conducted in laboratory showed that the best strategy consists in ablating each band lengthwise, thus forming microgrooves (Fig. 2). This approach allows smoothing of data on a representative sample of the band and avoids dealing with artefacts that may be caused by inclusions in the shell. Moreover, it improves signal reproducibility.

Table 2. Conditions used for laser ablation – ICP-MS.

Laser: CETAC LSX 100
Wavelength: 266 nm
Laser mode: Q-switched, defocus 500 μm
RF power: ~ 0.7 mJ
Repetition rate: 20 Hz
Scanning speed: 5 $\mu\text{m s}^{-1}$ (analysis), 50 $\mu\text{m s}^{-1}$ (stripping)
Duration of ablation: 120 s
Length of the ablated segment: ~ 600 μm
ICP-MS: X7 Thermo Elemental
Cones: platinum
Plasma power: 1350 W
Argon flow rate:
Plasmagen: 14 L min^{-1}
Auxiliary: 1.1 L min^{-1}
Nebulizers: 1.1 L min^{-1}
Dwell time: 20 ms
Number of isotopes: 23
Signal processing: “TRA Profile” mode (Thermo Elemental Plasmalab software)

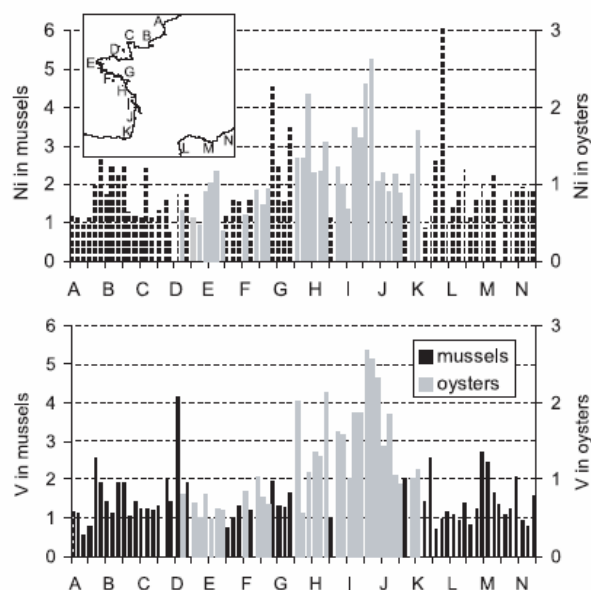
Thus in each band, a segment of approximately 600 μm in length was analysed in 2 min.

Analyses of the ablated aliquot were done on a X7 Thermo-Elemental ICP-MS (Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer) according to the conditions described in Table 2. Several isotopes were simultaneously recorded: ^{51}V , ^{58}Ni , ^{60}Ni , and ^{43}Ca . As calcium is the chief constituent of the carbon skeleton of scallops (40% on average; cf. Larvor 1996), it is also the most homogenous element in the matrix and can be considered constant in the shell; for that reason it was used as an internal standard for drift correction that may be caused by laser ablation or ICP-MS detection and thus signals obtained for nickel and vanadium were systematically normalised with ^{43}Ca . Analyte quantification was carried out using calcite standards prepared in the laboratory from ultra-pure calcite to which known quantities of metals were added by coprecipitation. Compact pellets were thus produced and ablated the same way the scallop shells were in order to generate an external standard curve.

3 Results

3.1 Ni and V concentration in fuel oil

The concentrations of nickel and vanadium in crude oil are highly variable depending of the oil source, ranging from 2 to 200 mg kg^{-1} for nickel (Vale et al. 2004) and from 0.02 to 1180 mg kg^{-1} for vanadium (Crans et al. 1998). In the *Erika* fuel oil, concentrations of 41 ± 1 mg kg^{-1} and 87 ± 3 mg kg^{-1} have been measured for nickel and vanadium respectively. As a comparison, they are of the same order although slightly lower than those of the fuel spilled from the PRESTIGE tanker off

**Fig. 3.** Spatial distribution of nickel and vanadium concentrations in French seashore molluscs ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) in February 1999.

Spain in November 2002, evaluated by our laboratory and the same method at 55 ± 1 mg kg^{-1} and 170 ± 5 mg kg^{-1} for Ni and V respectively.

3.2 Characterisation of Initial conditions

The initial conditions were defined based on samples from the RNO. The RNO has been measuring concentrations of a number of contaminants in oysters and mussels 4 times a year since 1979 (Claisse 1989) in nearly 80 sampling stations distributed along the French shoreline (Chiffoleau and Bonneau 1994). Although nickel and vanadium were not included in the list of monitored contaminants until 2003, a retrospective analysis of these elements was conducted on samples that had been collected before the oil spill, freeze-dried, and stored in an organism bank belonging to the RNO. Spatial variability in nickel and vanadium concentrations was characterised using samples collected during the first trimester of 1999, whereas seasonal variability was defined based on samples collected during all four trimesters of the four years that preceded the shipwreck.

Spatial distribution. On the French coasts, nickel concentrations (Fig. 3) varied from 0.8 to 6.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight (dw) in mussel tissues (mean: 1.8 ± 0.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw) and from 0.4 to 2.6 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw in oyster tissues (mean: 1.2 ± 0.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ dw). No areas were found to be contaminated as a whole by nickel, however certain sites seemed relatively rich in nickel when compared to the seashore mean concentration. It was actually the case for the Loire (region G) and the Gironde (region I) estuaries, on the Atlantic coast, and on the Mediterranean coast, the Pond de Bages (region L). On the south coasts of Brittany (region F), mussels and oysters were not found to be chronically contaminated by nickel.

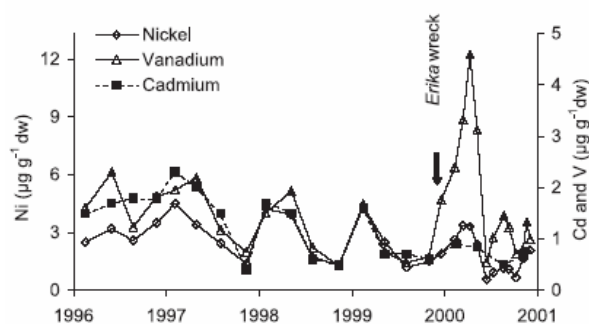


Fig. 4. Time evolution of cadmium, nickel, and vanadium concentrations in mussels ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) at Erfosse (station M6) before and after the *Erika* wreck.

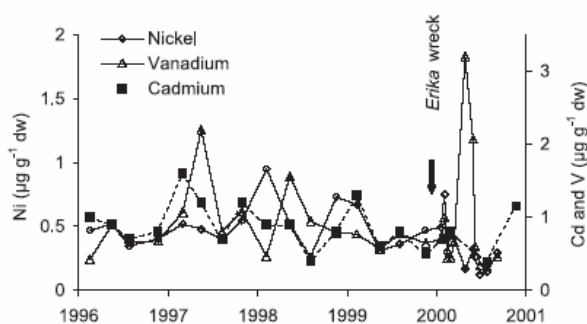


Fig. 5. Time evolution of cadmium, nickel, and vanadium concentrations in oysters ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) at Riec sur Bélon (station H2) before and after the *Erika* wreck.

Concentrations in vanadium (Fig. 3) ranged from 0.6 to $4.1 \mu\text{g g}^{-1}$ dw in mussel tissues (mean: $1.4 \pm 0.6 \mu\text{g g}^{-1}$ dw), and from 0.5 to $2.7 \mu\text{g g}^{-1}$ dw in oyster tissues (mean: $1.3 \pm 0.6 \mu\text{g g}^{-1}$ dw). Unlike for nickel, the entire Gironde estuary region (region I) appeared to be contaminated with vanadium, this contamination could still be detected further North, up to the Vendée coasts (region H).

Temporal variability of concentrations. During the 4 years preceding the *Erika* wreck, we observed a seasonal cycle of nickel and vanadium concentrations in mussels, such as in Erfosse (station M6) for example, which was characterised by high values in the winter and much lower values in the summer and fall (Fig. 4). These seasonal variations, due to physiologic changes occurring in these organisms throughout the year (reproductive cycle), are typically observed in monitoring programs (Beliaeff and Smith 1996). We noted that concentration variations (by a factor on the order of 3) are perfectly superimposable for nickel and vanadium on the one hand, and cadmium, an element that has been monitored by the RNO for over 20 years, on the other hand. In oysters, seasonal variations before the *Erika* wreck were much less regular, as seen in samples from Riec sur Bélon (station H2), and while nickel concentrations superimposed relatively well with cadmium concentrations, it was not so for vanadium concentrations (Fig. 5). Evolution of the latter sometimes appeared phase shifted with that of the other elements considered, notably in 1997 and 1998. However the amplitude of the variation in the concentration of these 3 elements was comparable, and was, as for mussels, of a factor on the order of 3.

3.3 Evolution of nickel and vanadium concentrations following the *Erika* wreck

Mussels and oysters. In a very large part of the sampled stations, we observed after the wreck of *Erika* an evolution of concentrations such as that observed in mussels from Erfosse (Fig. 4) and oysters from Riec sur Bélon (Fig. 5). As early as the first months of 2000, a peak in nickel concentrations slightly distinct from the cadmium curve was observed in mussels as well as in oysters. The amplitude of the variations in nickel concentration in these two species was however not larger than that observed before the wreck. This peak cannot be

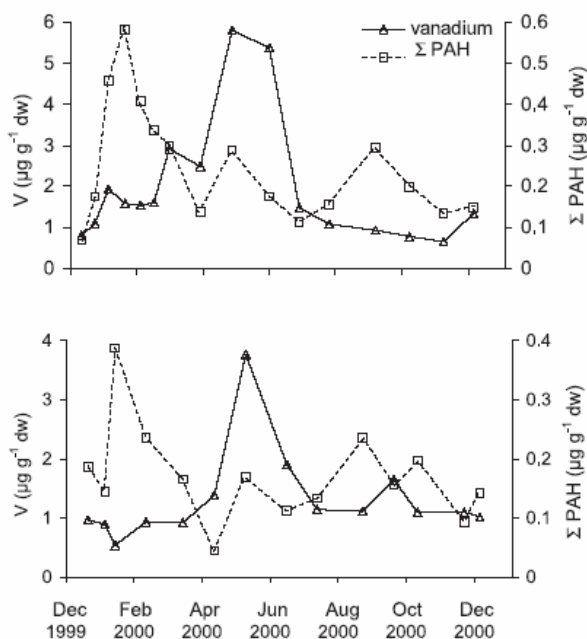


Fig. 6. Comparison of the evolution of vanadium and PAH concentrations in mussels at Poulguin (station M3) and in oysters at Men er Roué (station H4) after the *Erika* wreck.

attributed with certainty to the oil spill. As opposed to nickel, we observed a very intense peak of vanadium levels in mussels as well as in oysters during the spring of 2000, with maximum concentrations of 4.6 and $3.2 \mu\text{g g}^{-1}$ dw, respectively, much higher than concentrations observed in this region in the spring of 1999 (Fig. 3), and which can definitely not be assimilated to naturally occurring seasonal variations illustrated by cadmium curves.

When comparing the evolution of vanadium concentrations during the year 2000 and that of PAH – in mussels (Fig. 6 top) from Poulguin (station M3) and oysters (Fig. 6 bottom) from Men er Roué (station H4), for instance – we notice that there is a time difference between the moment at which each maximum occurs. Concentrations in PAH increased as soon as oil slicks reached the shore (end of December 1999)

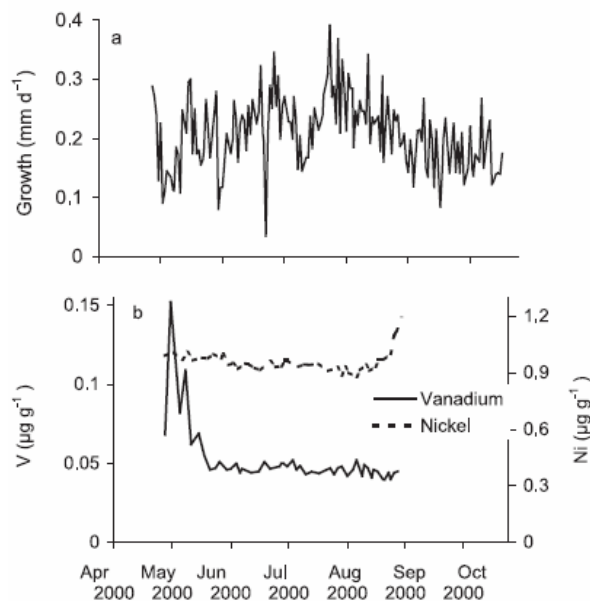


Fig. 7. Scallop shell growth (a) and time evolution of nickel and vanadium concentrations (b) in scallop shells collected off of Belle-Ile (station S8) after the *Erika* wreck.

and reached maximum values during the month of January, while maximum concentrations of vanadium were reached in May in mussels from Poulguin as well as in oysters from Men er Roué.

Scallops. Growth of scallop shells collected off of Belle-Ile (station S8), was on the order of 0.1 to 0.3 mm d⁻¹ (Fig. 7) from May to October 2000. During that period, the Ni concentration was remarkably stable around 0.9 µg g⁻¹ after Ca normalisation. For vanadium, on the other hand, a very intense peak concentration, which reached 0.15 µg g⁻¹ and was centred around the beginning of May, was followed by a very rapid return to baseline, where concentrations stabilised around 0.05 µg g⁻¹ until the end of the growth period. Further validation must be now achieved on other individuals after this single shell investigation.

4 Discussion

In a punctual environmental study, aiming at characterising an accidental event, it is indispensable to reframe the data obtained in this context, based on reference values. Description of the initial conditions must be able to give a clear picture of the general context (chronic contamination of the seashore, reference concentrations) and historical trends, as well as the importance of natural variability. The monitoring program RNO does that perfectly well and notably shows the importance of seasonal variations (Figs. 4 and 5 show contaminant concentration ratios of around 3 between the different seasons), avoiding wrong interpretations. Using the RNO data also make it possible to identify differences in bioaccumulation factors for nickel and vanadium as a function of species.

A mussel-watch-type monitoring program only studies elements that can be bioaccumulated. Such a network however, cannot, due to the costs involved, take into account all the chemicals potentially present in the environment, and in particular, those that are rarely found in hazardous concentrations. In order to remedy the situation, the French strategy, consisting in systematically preserving collected samples in good conditions in an organism bank, perfectly served this purpose. In the case of the *Erika* wreck, it was thus possible to reconstitute a posteriori historical trends of a contamination with elements that had not previously been monitored. The RNO program however has its limitations, and this study shows that in the event of accidental pollution, the sampling strategy must be adapted to the purpose of the analysis: the number of sampling stations must be increased in order to precisely define the spatial extent, and sampling frequency must be higher than in a routine monitoring program, with time interval between each sample collection in the range 1–2 weeks.

Lastly, a monitoring program based on the measurement of contaminant concentrations in mollusc tissues requires real-time sampling. Indeed the contaminant concentration in the mollusc soft tissues is a function of exposition and time. In particular when exposition ceases, a several weeks depuration time follows (Miramand and Fowler 1998; Punt et al. 1998), during which contaminant concentrations decrease in the mollusc until they reach a new equilibrium – i.e., generally the same concentrations than before the contamination event. This means that animals do not keep a quantitative record of past contaminations in their tissues. So in case of accidental event, the suitable strategy is to collect organisms more frequently than during routine monitoring periods, select and analyse the key samples and store the others until complementary investigations.

The study of the contamination of the marine environment through the analysis of daily growth bands in scallop shells by ICP-MS after laser ablation is remarkably complementary: as opposed to soft tissues, there is no depuration phenomenon in the shell which thus keeps a definitive record, in each growth bands, of metal contamination that occurred in its environment at the time this growth band was elaborated. This means that sampling can be done several months after the event, and as a consequence the sampling strategy can be optimised, upon, of course, availability of resource. In the same way, the frequency of sampling on a shell by laser ablation (interval between the daily bands that are analysed) will also be adapted a posteriori as need be, as the laser ablation technique allows for the analysis of each individual daily growth bands if necessary. Consequently, this type of monitoring, such as that of mussel and oyster tissues, can, although with a much better resolution, provide information on concentrations outside the impact zone (reference concentrations), and concentrations in the impact zone immediately before the accident. This monitoring method is able to determine the exact date of the return to the initial state. As soon as the animal is no longer exposed to the contaminant, contaminant concentration in the new growth band instantly decreases when compared to the previous band (there is no depuration time). The main problem of this method lies in the sophistication of the analysis, although with the development of a rigorous analytical protocol

we expect a drastic simplification of the procedures involved. The second problem is that it can't be done during winter.

This study aimed at monitoring the evolution of nickel and vanadium contamination in molluscs. It gave however the opportunity of developing innovating techniques and allowed the formulation of hypotheses regarding the phenomena that may be responsible for the observed situation, i.e. a vanadium contamination of the marine environment (Figs. 4 and 5) which was delayed as opposed to the PAH contamination (Fig. 6). This suggests that vanadium was effectively bioavailable for molluscs after the spill, although not immediately after it. Knowing that vanadium is mainly found as porphyrin complexes in crude oil—these are very stable complexes (Guidroz and Sneddon 2002), which causes this element to be found in the heaviest fractions in the refinement processes (Sasaki et al. 1998) – and that these complexes are not very likely to transfer to the aqueous phase (Wang et al. 1999; Cantu et al. 2000), we cannot draw the hypothesis that vanadium was naturally released of from oil slicks that have been washed ashore. Sasaki et al. (1998) have shown that in 45 days, less than 10% of vanadium is released from crude oil due to oil-degrading micro-organisms. We cannot either hypothesise that vanadium concentration peaks in molluscs were attributable to ingestion of pellets of oil, as this would have translated into concomitant PAH concentration peaks, which was not observed (Fig. 6). Thus vanadium is more likely to have been released from its host by unnatural means. Cantu et al. (2000) report that the use of surfactants promotes transfer of vanadium to the aqueous phase. This hypothesis may be considered, although it does not totally account for the delay in the appearance of the vanadium concentration peak, nor for the brevity of the contamination, notably evidenced by the analysis of scallop shells. In addition, the role of the primary production in the transfer of vanadium to higher trophic levels may be proposed to account for the contamination of mollusc tissues, as proposed by Miramand et al. (1980), as the period at which the peak was detected coincides with a spring bloom, a time-limited phenomenon which usually occurs at that time of the year in the Bay of Biscay (Herbland et al. 1998).

This study was not able to demonstrate the occurrence of a nickel contamination, neither in oyster and mussel tissues nor in scallop shells. The stability of vanadium porphyrin complexes in oil must be considered, and further investigations on the comparative evolution of nickel and vanadium porphyrin complexes in the marine environment may provide useful key information.

5 Conclusion

The concomitant use of two types of bioindicators to define the modalities of a marine monitoring program to carry out in the event of an accidental oil spill, was able to show (1) that there has been a relatively important contamination of the water column by vanadium, which is in high concentrations in heavy fuel oil and its derivatives; (2) that nickel, which is also present in high concentrations in heavy fuel oil has not been detected using this monitoring method; (3) that there was a several months delay between the time at which oil slicks washed ashore and the time of apparition of vanadium

peaks in soft tissues and shells and (4) that the peak concentration was only observed for a brief period of time. Altogether this means that a “mussel-watch” type of monitoring program, which does not include high frequency sampling, is not very likely to detect traces of such an accident. On the other hand, this monitoring program provides a solid data base from which the initial conditions, before the chronic contamination, can be determined. Conversely, assessment of metal contamination using daily growth bands in scallop shells collected several months after an oil spill may provide precise information on the distribution and transport of released vanadium. In order to improve our understanding of these phenomena, however, and tentatively explain these observations, further studies on the maturation of heavy fuel oil and mobilisation of vanadium contained in the latter within the water column are warranted.

Acknowledgements. The authors are grateful to the staff of the IFREMER coastal laboratories who collected the numerous samples for this study, and to the Rouen Municipal laboratory for the PAH analysis. We are also grateful to Mrs Isabelle Brisson for assistance in English language.

References

- Anderson C.M., Labelle R.P., 2000, Update of comparative occurrence rates for offshore oil spills. *Spill Sci. Technol. Bull.* 6, 303-321.
- Beliaeff B., Smith P.J., 1996, Estimation of coastal water contamination long-term trend using seasonal linear models. *J. Am. Water Resour. Assoc.* 32, 595-603.
- Bu-Olayan A.H., Al-Yakoob S., 1998, Lead, nickel and vanadium in seafood: An exposure assessment for Kuwaiti consumers. *Sci. Total Environ.* 223, 81-86.
- Cantu R., Stencel J.R., Czernuszewicz R.S., Jaffe P.R., Lash T.D., 2000, Surfactant-enhanced partitioning of nickel and vanadyl deoxyphylloerythroetioporphyrins from crude oil into water and their analysis using surface-enhanced resonance raman spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 34, 192-198.
- Chantereau S., Chiffolleau J.-F., Dufour A., Jeanneret H., 2003, Utilisation des données du RNO dans le cadre du naufrage de l'*Erika*. Surveillance du Milieu marin ; travaux du RNO. Editions IFREMER, Plouzané, France, pp. 25-43.
- Chiffolleau J.-F., Bonneau C., 1994, Chromium content in French coastal mussel and oysters. *Mar. Pollut. Bull.* 28, 458-460.
- Chiffolleau J.-F., Auger D., Chartier E., Grouhel A., 2002, Dosage de certains métaux traces (Ag, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V, Zn) dans les organismes marins par absorption atomique. Méthodes d'analyse en milieu marin. Editions IFREMER, Plouzané, France.
- Claissé D., 1989, Chemical contamination of French coasts. The results of a ten years Mussel-Watch. *Mar. Pollut. Bull.* 20, 523-528.
- Cossa D., 1989, A review of the use of *Mytilus edulis* sp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanol. Acta* 12, 417-432.
- Crans D.C., Amin S.S., Keramidas A.D., 1998, Chemistry of relevance to vanadium in the environment. In: Nriagu, J.O. (Ed.), *Vanadium in the Environment. Part I: Chemistry and Biochemistry*. John Wiley and sons, pp. 73-96.
- Dyrynda E.A., Law R.J., Dyrynda P.E.J., Kelly C.A., Pipe R.K., Ratcliffe N.A., 2000, Changes in immune parameters of natural mussel *Mytilus edulis* populations following a major oil spill (“*Sea Empress*”, Wales, UK). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 206, 155-170.

- Guidroz J.M., Sneddon J., 2002, Fate of vanadium determined by nitrous oxide – acetylene flame atomic absorption spectrometry in unburned and burned Venezuelan crude oil. *Microchem. J.* 73, 363-366.
- Herbland A., Delmas D., Sautour B., Artigas F., 1998, Phytoplankton spring bloom of the Gironde plume waters in the Bay of Biscay: early phosphorus limitation and food-web consequences. *Oceanol. Acta* 21, 279-291.
- Highsmith R.C., Rucker T.L., Stekoll M.S., Saupe S.M., Lindeberg M.R., Jenne R.N., Erickson W.P., 1996, Impact of the *Exxon Valdez* oil spill on intertidal biota. In :Rice, S.D., Spies, R.B., Wolfe, D.A., Wright, B.A. (Eds.). *Proceedings of the Exxon Valdez* symposium. Bethesda, MD (USA). 18, 212-237.
- Jones D.A., Plaza J., Watt I., Sanei M.A., 1998, Long-term (1991-1995) monitoring of the intertidal biota of Saudi Arabia after the 1991 Gulf War oil spill. *Mar. Pollut. Bull.* 36, 472-489.
- Larvor H., 1996, Biomineralization of *Pecten maximus* L.: anomalies connected with the environmental disturbances. Thesis. Université de Bretagne Occidentale, Brest.
- Law R.J., Kelly C.A., Nicholson M.D., 1999, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in shellfish affected by the *Sea Empress* oil spill in Wales in 1996. *Polycycl. Aromatic. Comp.* 17, 229-239.
- Lee R.F., Page D.S., 1997, Petroleum hydrocarbons and their effects in subtidal regions after major oil spills. *Mar. Pollut. Bull.* 34, 928-940.
- Le Hir M., Hily C., 2002, First observations in a high rocky-shore community after the *Erika* oil spill (December 1999, Brittany, France). *Mar. Pollut. Bull.* 44, 1243-1252.
- Márquez N., Ysambert F., De La Cruz C., 1999, Three analytical methods to isolate and characterize vanadium and nickel porphyrins from heavy crude oil. *Anal. Chim. Acta* 395, 343-349.
- Metwalli M.E.S., Al-Muzaini S., Jacob P.G., Bahloul M., Urushigawa Y., Sato S., Matsumura A., 1997, Petroleum hydrocarbons and related heavy metals in the near-shore marine sediments of Kuwait. *Environ. Internat.* 23, 115-121.
- Miramand P., Guary J.-C., Fowler S.W., 1980, Vanadium transfer in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Biol.* 56, 281-293.
- Miramand P., Fowler S.W., 1998, Bioaccumulation and transfert of vanadium in marine organisms. In: Nriagu, J.O. (Ed.), *Vanadium in the Environment. Part I: Chemistry and Biochemistry*. John Wiley and sons, pp. 167-197.
- Punt A.G., Milward G.E., Jones M.B., 1998, Uptake and depuration of ^{63}Ni by *Mytilus edulis*. *Sci. Total Environ.* 214, 71-78.
- Richardson C.A., Chenery S.R.N., Cook J.M., 2001, Assessing the history of trace metal (Cu, Zn, Pb) contamination in the North Sea through laser ablation - ICP-MS of horse mussel *Modiolus modiolus* shells. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 211, 157-167.
- Sasaki T., Maki H., Ishihara M., Harayama S., 1998, Vanadium as an internal marker to evaluate microbial degradation of crude oil. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3618-3621.
- Seip K.L., 1984, The *Amoco Cadiz* oil spill - at a glance. *Mar. Pollut. Bull.* 15, 218-220.
- Sturesson U., 1976, Lead enrichment in shells of *Mytilus edulis*. *Ambio* 5, 253-256.
- Sturesson U., 1978, Cadmium enrichment in shells of *Mytilus edulis*. *Ambio* 7, 122-125.
- Vale M.G.R., Damin I.C.F., Klassen A., Silva M.M., Welz B., Silva A.F., Lepri F.G., Borges D.L.G., Heitmann U., 2004, Method development for the determination of nickel in petroleum using line-source and high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* in press.
- Wang Z., Fingas M., Page D.S., 1999, Oil spill identification. *J. Chromatogr. A.* 843, 369-411.

Conclusion

Les résultats obtenus lors de cette étude sont prometteurs. Ils montrent que dans le cas d'une pollution, certains éléments traces pourraient être utilisés comme proxy des niveaux de pollution au cours du temps. Etant donné les mesures effectuées, il est encore difficile de savoir si le nickel ou le plomb peuvent être de bons traceurs de pollution par du pétrole lourd dans les coquilles St Jacques. En revanche, le vanadium n'est pas un traceur adapté car il présente des niveaux de concentration très bas dans la calcite et souvent à la limite d'être détecté. Dans cette étude, aucun dosage effectué par LA-ICP-MS au sein de la calcite ne permet de conclure sur la présence de pétrole ou plus exactement des métaux associés à ce pétrole.

La validation d'une méthode permettant de déterminer les concentrations des métaux par ablation laser et ICP-MS, permet d'effectuer des comparaisons inter individu, inter site et inter annuelle. L'outil Coquille Saint-Jacques en temps qu'«enregistreur» des variations de concentrations des métaux dans les environnements côtiers semble donc avoir un fort potentiel. Cependant, cet outil doit être plus amplement validé et étudié sur un plus grand nombre d'échantillons afin de comprendre la représentativité des individus par rapport à l'écosystème environnant et les voies métaboliques d'assimilation des polluants métalliques dans la calcite biogène.

VI.1.2. La composition en éléments traces dans la coquille Saint Jacques peut elle être un traceur de phénomènes « d'upwelling »?

VI.1.2.1. Introduction

La micro chimie des stries journalières des coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* (L.) a été examinée pour des écosystèmes soumis à de fréquents *upwelling*. L'objectif était de savoir si la coquille de cette espèce pouvait être une archive d'autres variations environnementales. Notre étude s'est focalisée sur ces phénomènes de *upwelling* qui affectent régulièrement la côte Ouest norvégiennes (Hordaland), et aussi la côte Nord-ouest espagnoles (Galice). De ces phénomènes résultent des remontées d'eaux froides enrichies en nutriments et plus salines. Ce phénomène, en réapprovisionnant les eaux de surface en nutriments, favorise la productivité biologique. Les régions côtières où les *upwelling* sont fréquents sont les régions les plus riches du monde pour l'activité biologique et sont caractérisées économiquement par des pêches intenses (Chavez and Toogweiler 1995).

L'effet de ces stress thermiques (liés aux *upwelling*) sur la croissance de la coquille Saint Jacques a déjà été étudié lors des travaux de recherche de L. Chauvaud. Ces phénomènes de *upwelling* engendrent des perturbations de la croissance des coquilles Saint Jacques. La croissance coquillière avec son dépôt journalier de calcite a même été démontrée comme une archive, à haute résolution temporelle, des fréquences et intensités des *upwelling* des côtes norvégiennes et espagnoles (Chauvaud et al., en préparation).

Fort des connaissances déjà acquises sur la croissance de ce bivalve dans ce type d'écosystème, notre étude s'est intéressée à l'influence de ces *upwelling* sur les concentrations en éléments traces incorporés dans les stries journalières de la coquille. Le principal objectif était de mettre en évidence des traceurs élémentaires de ces phénomènes incorporés dans la calcite biogène des coquilles.

La composition des éléments traces dans l'eau de mer sont sensibles à ces changements induits par les *upwelling*. Par exemple, les concentrations du baryum dans les océans ne sont pas conservatives avec la profondeur et présentent un profil caractéristique similaire aux nutriments, avec un appauvrissement en surface suivi de concentrations croissantes des eaux de surface vers les eaux profondes (Bruland 1983). Ceci pourrait permettre d'expliquer des concentrations en baryum plus

importantes dans l'eau de mer d'un environnement côtier lors de *upwelling*. De la même façon, la distribution du manganèse et du fer est aussi influencée par les *upwelling* (Chase et al. 2005). La bio disponibilité du cadmium, du mercure, du zinc, du manganèse et de l'aluminium dans l'eau de mer a été aussi examinée lors de *upwelling* et a montré que seul le cadmium est fortement influencé par ces phénomènes (Lares et al. 2002).

L'incorporation des éléments traces dans une matrice biogène de carbonate de calcium est liée à leur abondance dans la colonne d'eau et peut, en préservant toujours l'archivage journalier des conditions environnementales, être différente lors de ces phénomènes d' *upwelling* (enrichissement ou appauvrissement). Dans les coraux, par exemple, les rapports molaires Ba/Ca et Cd/Ca sont influencés par ces *upwelling* (Lea et al. 1989 ; Reuer et al. 2003). Le baryum est considéré comme un traceur plus sensible de ces événements que le cadmium (Lea and Martin 1996). L'importante bio réactivité du cadmium et donc son assimilation préférentielle par le phytoplancton pendant les périodes où les eaux de surface sont appauvries en nutriments, expliquerait la différence de comportement entre le Ba et le Cd. Cependant, Reuer et al. (2003) ont montré que l'utilisation systématique des deux traceurs était nécessaire pour une calibration plus précise. Récemment, l'utilisation potentielle du rapport Ba/Ca dans les coraux comme un indicateur des mouvements saisonniers d'eaux enrichies en nutriments et en baryum vers la surface a été confirmée (Montaggioni et al. 2006; Ourbak et al. 2006). Dans les coquilles du bivalve *Protothaca staminea*, les concentrations du strontium et du magnésium sont suggérées ne pas être de bon indicateur de ces phénomènes de *upwelling* (Takesue and Van Geen 2004). Dans la même étude, la composition isotopique du carbone $\delta^{13}\text{C}$ est, au contraire, supposée être un potentiel indicateur de ce type d'évènement. Cependant, aucune étude ne s'est focalisée sur les variations du baryum ou du cadmium dans des coquilles pour tracer ces phénomènes de *upwelling*.

Nos premiers résultats obtenus dans la rade de Brest (Roscanvel), écosystème non soumis à ces phénomènes, ont suggéré que les variations des concentrations coquillières du baryum et du molybdène étaient de bons traceurs des efflorescences phytoplanctoniques (Chapitre III, partie III.1 et III.2). Or, les *upwelling* influencent directement la productivité biologique grâce à l'apport de nutriments. L'utilisation de ces traceurs a donc été évaluée dans deux écosystèmes soumis à des *upwelling* fréquents: les côtes norvégiennes (Austevoll) et espagnoles (Vigo).

Les variations des concentrations des autres éléments traces ont donc été examinées par rapport à ces évènements.

Dans un premier temps, les périodes des *upwelling* ont été définies sur les deux sites grâce aux températures de l'eau de mer ou les indices de *upwelling*. Ces périodes ont été comparées avec la croissance de la coquille pour déterminer si les effets de ces phénomènes impactent directement la physiologie de l'animal. Les variations des concentrations des éléments traces dans la coquille ont ensuite été examinées dans différents sites soumis ou non à des *upwelling*. Finalement, les différents éléments traces piégés dans la coquille ont été examinés comme potentiel traceur de *upwelling*.

VI.1.2.2. Matériels et méthodes

Des spécimens de coquilles Saint Jacques ont été prélevés par dragage sur deux sites différents: au large d'Austevoll en Norvège et au large de Vigo en Espagne. Les coquilles, débarrassées de leur chair, ont été nettoyées pendant 45 à 60 s dans un bain d'acide acétique à 95 % (Merck, analysis grade) afin de détruire toutes traces de leurs épibiontes. Elles ont ensuite été rincées avec de l'eau milliQ à 18.2 MOhm et séchées à l'air ambiant. Seulement la valve plate a été considérée pour les analyses par ablation laser et spectrométrie de masse à plasma inductif couplé (LA-ICP-MS). Dans le cadre des analyses des coquilles de Vigo (Espagne), la section correspondant à la première année de croissance, i. e. l'année 2000, a été découpée le long de l'axe de croissance maximale avec une scie diamantée. Pour comparaison avec un site non soumis à des phénomènes de *upwelling*, des sections de coquilles provenant de la baie de Brest (Roscanvel, France), correspondant aussi au stade juvénile, ont été découpées pour l'année 2000. Pour le site d'Austevoll, la section de coquille, découpée de la même façon, correspondait à la deuxième année de croissance (1986). Dans ce cas, le stade juvénile n'a pas été examiné car il ne correspondait pas à une année soumise à des *upwelling*.

Les sections de ces coquilles ont été analysées quantitativement par LA-ICP-MS. Tous les détails sur la technique analytique et son application à l'analyse de coquilles ont déjà été présentés auparavant (Chapitre II). Ces analyses, couplées à une étude photographique de la section analysée, ont conduit à la définition d'un

profil coquillier de concentration pour chaque élément et à haute résolution temporelle (3 jours) (Chapitre II).

Les données environnementales utilisées dans cette étude proviennent de plusieurs sources. Les données des températures de l'eau de mer sur le site d'Austevoll sont issues des données déjà récupérées sur cet écosystème par Laurent Chauvaud (communication personnelle). Les données des températures sur le site Vigo ont été mesurées au point géographique 42°12.8N 8°51'0W, à une profondeur de 20 m et ont été récupérées grâce à l'Instituto Español de Oceanografía (Vigo, Espagne) (José M. Cabanas, communication personnelle). Les périodes de *upwelling* ont pu aussi être précisément déterminées sur Vigo (Espagne) grâce aux indices de *upwelling*. Ces indices considèrent l'amplitude du transport vers l'océan des eaux côtières (transport «Ekman»). Ces indices ont été calculés en utilisant les vents dans la zone géographique 43°N 11°W et sont corrélés avec les températures des eaux de surface. L'unité est le m³ d'eaux de surface déplacée à plus de 1000m de la côte par seconde. Les valeurs positives reflètent un *upwelling* et les valeurs négatives un *downwelling*. Lors de ces phénomènes de *upwelling*, l'eau régénérée sur les côtes provient de remontées d'eaux profondes. Les données concernant ces indices proviennent de l'Instituto Español de Oceanografía (Vigo, Espagne) (José M. Cabanas, communication personnelle).

VI.1.2.3. Résultats

VI.1.2.3.1. *Mise en évidence des phénomènes d'upwelling grâce à la croissance coquillière*

Les phénomènes de *upwelling* sont caractérisés grâce à des diminutions rapides des températures. Leurs occurrences sont donc facilement identifiables. La croissance étant un proxy de la température, les effets des *upwelling* se font ressentir par l'organisme du bivalve et sont directement reflétés par une diminution de la croissance lors de ces événements. Afin d'identifier ces périodes de *upwelling*, les croissances coquillières des deux sites (Austevoll, Norvège et Vigo, Espagne) ont donc été comparées avec les température de l'eau de mer (Figure VI.1-1).

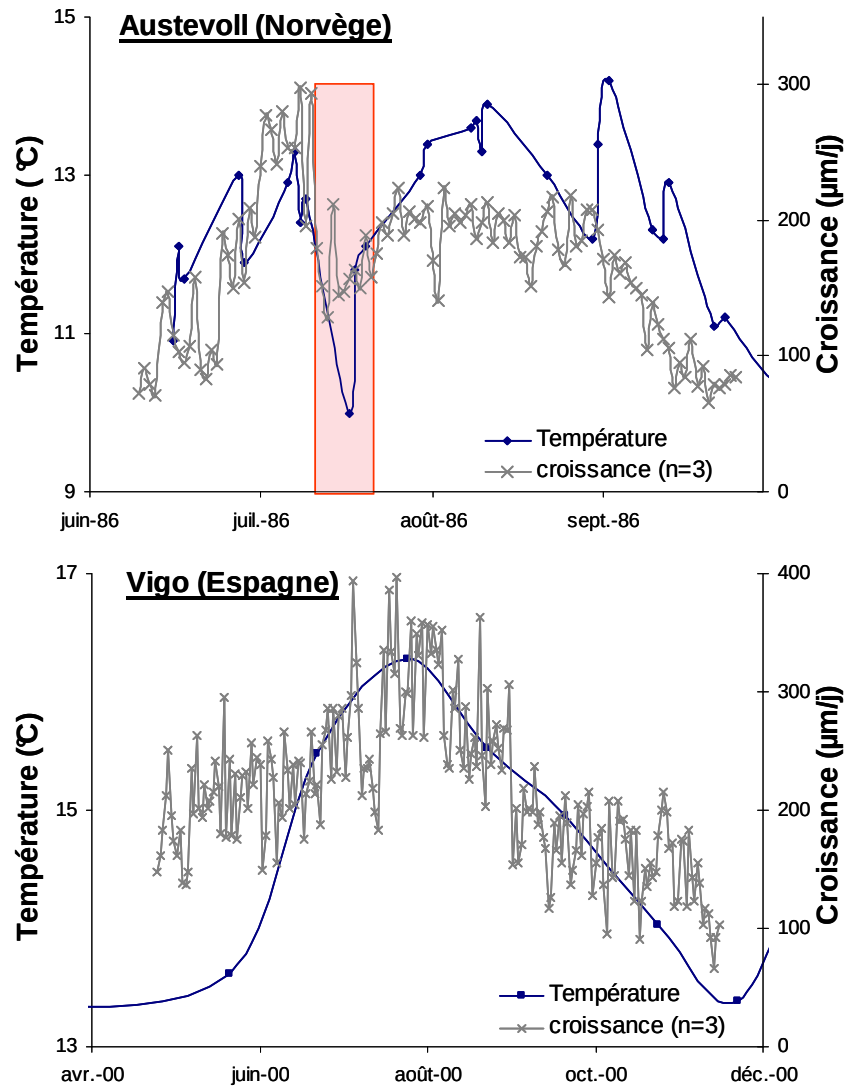


Figure VI.1-1 Variation de la croissance coquillière ($\mu\text{m.j}^{-1}$) en fonction de la température de l'eau de mer ($^{\circ}\text{C}$) pour le site d'Austevoll (Norvège) et de Vigo (Espagne). En Norvège, un phénomène de *upwelling* impactant la croissance coquillière dû à l'apport d'eaux profondes froides est identifié sur 10 jours par la partie grise.

Ces comparaisons ont permis d'identifier les périodes de *upwelling* pour la Norvège: un phénomène de *upwelling* intense apparaît du 10 au 19 juillet 1986. Pour le site espagnol, la résolution temporelle des données de température de l'eau de mer ne permet pas une datation précise de ce type de phénomène. Cependant, une diminution de la croissance apparaît entre le 6 et le 16 juillet. Une bonne approximation des périodes de *upwelling* a pu, cependant, être faite grâce aux indices de *upwelling*. La variation de ces indices a été comparée avec la croissance coquillière (Figure VI.1-2). Plusieurs périodes de *upwelling* sont mises en évidence

grâce à des indices positifs. Seulement, deux périodes (7 au 18 juillet 2000 et du 29 juillet au 12 août) ont pu être associées à des diminutions de croissance de la coquille: du 9 au 18 juillet 2000 et du 3 au 10 août 2000. Les autres périodes indiquant des *upwelling* sont généralement plus courtes en temps et n'influenceraient pas la croissance du bivalve.

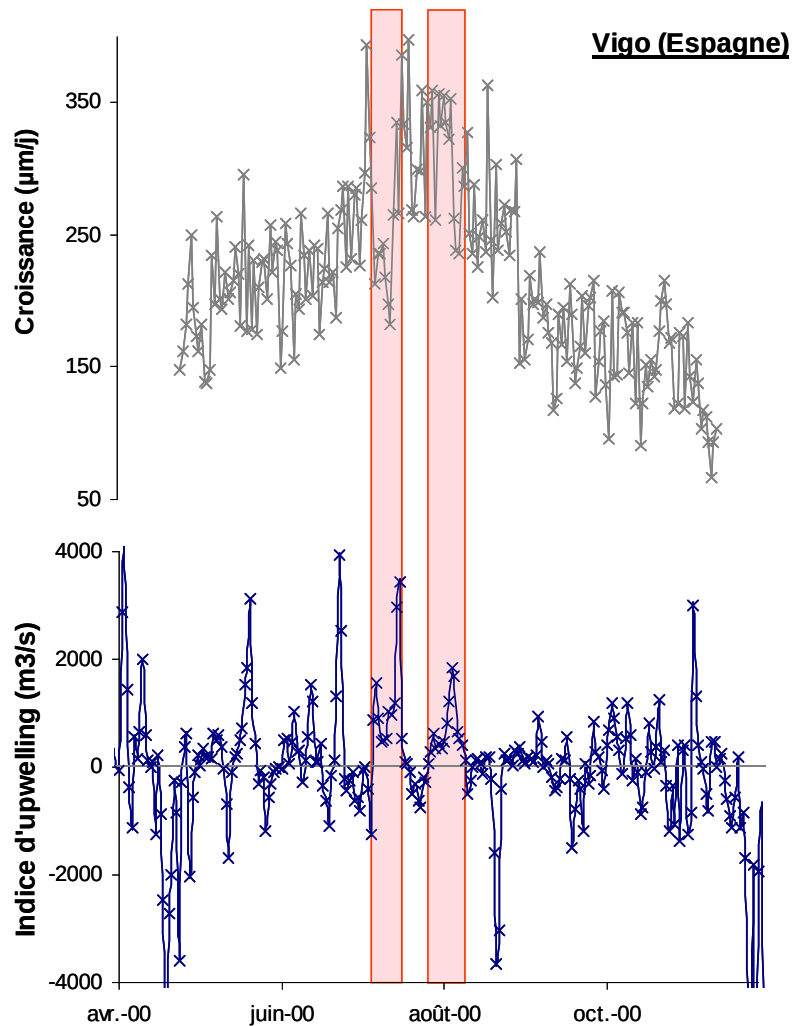


Figure VI.1-2 Variation de la croissance coquillière ($\mu\text{m.j}^{-1}$) comparée avec l'indice de *upwelling* ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$) de Vigo (Espagne). Les parties grises identifient des phénomènes de *upwelling* apparaissant sur une longue période (15 jours).

VI.1.2.3.2. Variations des éléments traces lors d'années ponctuées par des *upwelling*

Les périodes de *upwelling* étant identifiées, les variations annuelles des concentrations en éléments traces dans les coquilles ont ensuite été examinées sur

les deux sites (espagnol et norvégien) pour respectivement, les années 2000 et 1986.

Vigo (Espagne)

Pour l'année 2000, les variations de concentrations du strontium, du manganèse et du baryum dans la coquille sont comparées à sa croissance dans la Figure VI.1-3. Les profils coquilliers obtenus pour le strontium ne montrent pas d'enrichissement ou d'appauvrissement spécifiques de ses concentrations tout au long de la période considérée. L'écart type relatif obtenu sur la moyenne annuelle des concentrations ($n=3$) est seulement de 10 % pour le Sr.

Les profils coquilliers obtenus pour le manganèse présentent de fortes variations inter individus des concentrations reflétées par un écart type relatif, obtenu sur la moyenne annuelle des concentrations, de 38 %. Compte tenu de ces fortes variations inter individus, aucune variation significative ne peut être soulignée pour les profils coquilliers obtenus du manganèse.

Les variations des concentrations du strontium et du manganèse ne semblent donc pas être affectées par des phénomènes de *upwelling*. Comme pour le Sr et le Mn, la plupart des éléments traces (Cd, Mg, Pb, Sn, Sb, Cu, Co) ne montrent aucun enrichissement ou appauvrissement significatif dans la coquille lors de ces événements. Seuls les profils coquilliers du baryum et du molybdène présentent des variations significatives avec des maxima de concentrations.

Les profils coquilliers du molybdène présentent des maxima concomitants à une période de faibles croissances (9-18 juillet 2000) (Figure VI.1-3). La variabilité inter individu des profils obtenus pour le Mo est très importante. Seul le premier pic de concentration du Mo est reproductible dans les trois coquilles. Le maximum est défini pour une concentration moyenne sur les trois coquilles de $0.090 \pm 0.019 \mu\text{g.g}^{-1}$, le 17 ± 3 juillet 2000. De plus, ce pic coquillier de Mo est concomitant à la diminution de croissance observée entre le 6 et le 16 juillet.

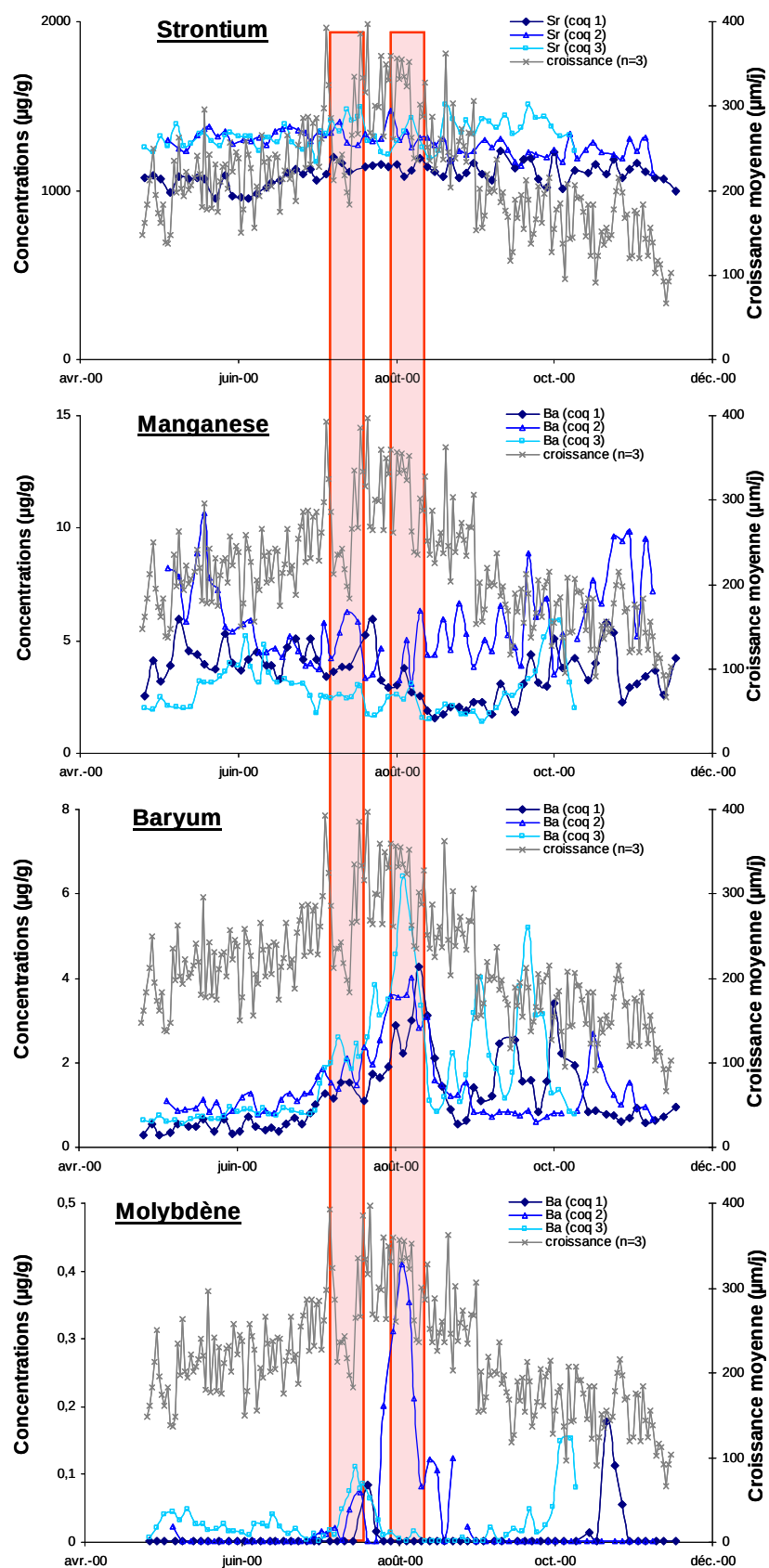


Figure VI.1-3 Variations des concentrations du strontium, manganèse et baryum dans les coquilles de Vigo (Espagne) en fonction de la croissance coquillière moyenne (n=3). Les parties grises identifient des phénomènes de *upwelling*.

Les variations de concentrations du baryum dans les coquilles de Vigo soulignent aussi des pics significatifs (Figure VI.1-3). Les pics les plus tardifs ne sont pas reproductibles en temps et en intensité au sein de la même population. Ils ne sont donc pas considérés comme significatifs. Seul le premier pic, le plus intense, est supposé significatif: son maximum est défini le 7 août 2000 $\pm$ 3 jours pour une concentration de $4.9 \pm 1.3 \mu\text{g.g}^{-1}$, c'est-à-dire pendant la seconde période de diminution de la croissance (3 au 10 août 2000) ou second *upwelling*. Cependant, la durée du pic de concentration du Ba dans la coquille est longue: si on considère la significativité du pic à partir d'une concentration supérieure à 3 fois le bruit de fond ($0.80 \mu\text{g.g}^{-1}$), elle s'étend du 20 juillet au 16 août.

Austevoll (Norvège)

Comme le souligne la Figure VI.1-4, les variations de concentrations du strontium, du manganèse et du baryum, mesurées dans trois coquilles d'une même population suggèrent un profil constant en 1986 étant donné les variations importantes de leurs concentrations inter individus. Les écarts types relatifs obtenus sur les moyennes annuelles des concentrations sont respectivement de 17, 16 et 33 %, pour le Sr, le Mn et le Ba. Pendant la période de *upwelling*, les concentrations coquillières de ces trois éléments ne présentent aucune variation significative (augmentation ou diminution des concentrations). Les profils coquilliers du molybdène ne soulignent aussi aucune variation significative pendant la période de *upwelling*. Comme pour le site de Vigo, les autres éléments traces (Cd, Mn, Pb, Sn, Sb, Cu, Co) ne montrent aussi aucun enrichissement ou appauvrissement significatif dans la coquille lors de ces événements.

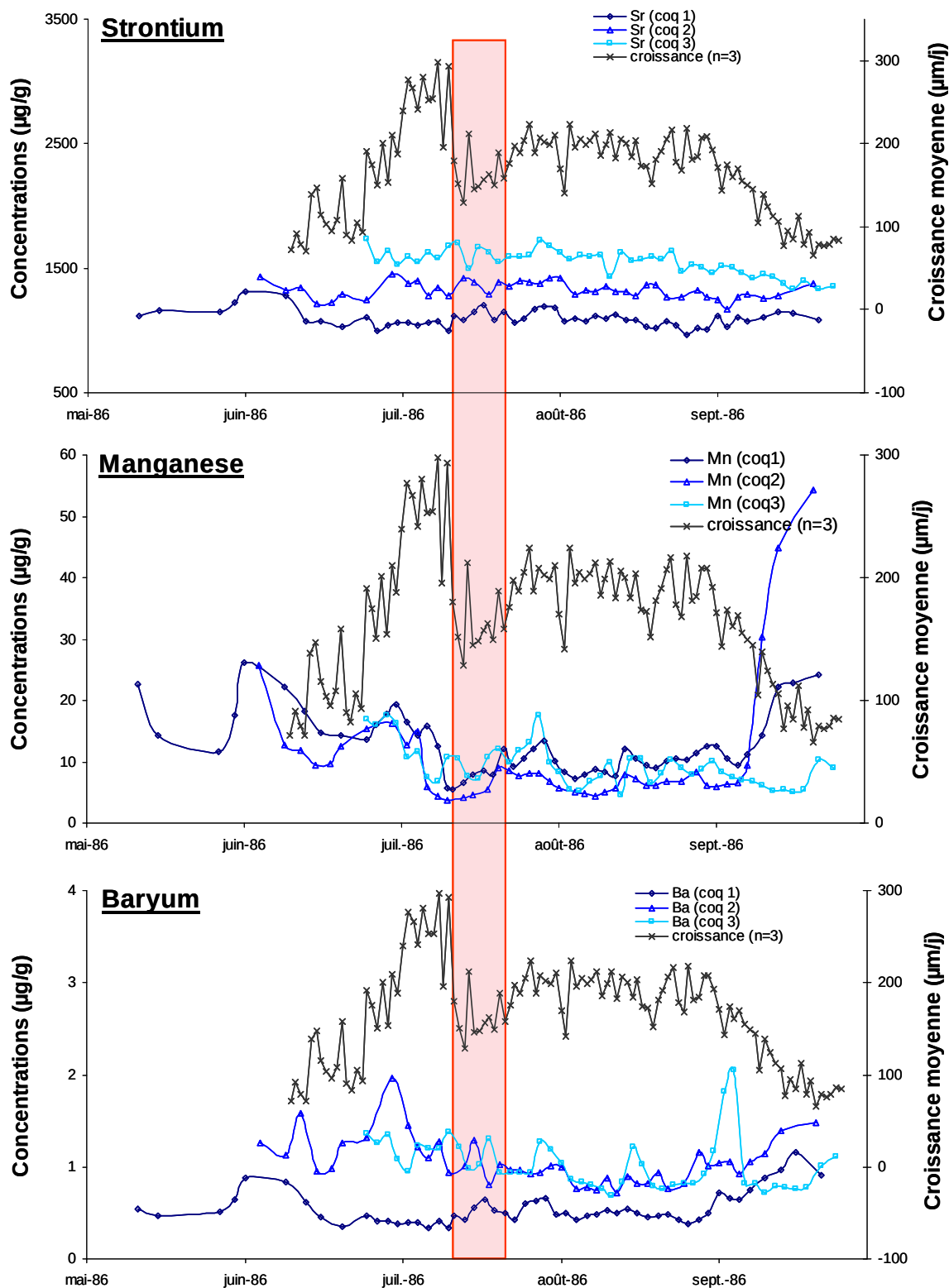


Figure VI.1-4 Variations des concentrations du strontium, manganèse et baryum dans les coquilles d'Austevoll (Norvège) en fonction de la croissance coquillière moyenne (n=3). La partie grise identifie un phénomène de *upwelling*.

VI.1.2.4. Discussion

Les éléments traces présentent des distributions dans la colonne d'eau très différentes selon l'élément considéré (voir Chapitre I, Table I.4, page 18 ; (Brown et al. 1989 ; Millero 2006)). Lors des phénomènes de *upwelling*, la composition de la colonne d'eau est donc sensiblement modifiée, excepté pour le magnésium, le strontium et le molybdène qui présentent un profil conservatif dans la colonne d'eau. Généralement, les variations des concentrations des éléments traces (Cd, Pb, Sn, Sb, Cu, Co, Mg) ne révèlent aucun enrichissement ou appauvrissement significatif dans les coquilles des deux sites considérés. Les variations des concentrations des éléments traces dans les coquilles Saint Jacques ont, cependant, été spécifiquement étudié pour le strontium, le manganèse, le molybdène et le baryum.

Le strontium présente un profil conservatif dans la colonne d'eau (Brown et al. 1989 ; Millero 2006). Les phénomènes de *upwelling* n'influenceraient donc pas directement l'abondance du Sr dans l'eau de mer. Ils induisent, néanmoins, une baisse des températures de l'eau de mer. Or, les rapports Sr/Ca dans la coquille Saint Jacques seraient principalement influencés par le taux de précipitation de la calcite (Lorrain et al. 2005) ou par la température de calcification (Freitas et al. 2006). Dans notre cas, la baisse des températures de l'eau de mer liée aux phénomènes de *upwelling* n'induit aucune variations significatives des concentrations du Sr dans la coquille et ceci quelque soit le site étudié (Vigo ou Austevoll). Ces résultats seraient donc en accord avec les résultats obtenus dans le Chapitre II, Partie II.2: c'est-à-dire des concentrations moyennes (ou bruit de fond) du strontium dans les coquilles influencées par les concentrations dans l'eau de mer et les constantes thermodynamiques de précipitation (i. e. K_s , constantes de solubilité soit l'inverse de la constante de précipitation), plutôt que par la température. Etant donné le profil coquillier constant généralement observé, le strontium ne serait donc pas un bon traceur des phénomènes de *upwelling*.

Le manganèse présente un profil vertical enrichi en surface dans la colonne d'eau (Brown et al. 1989 ; Millero 2006). Les phénomènes de *upwelling* induiraient donc un appauvrissement du Mn dans l'eau de mer. De plus, les concentrations en Mn dans la coquille seraient négativement corrélées avec la température dans l'eau

de mer (Chapitre II, Partie II.2). Cette association Mn/T suggère ainsi un appauvrissement des concentrations en Mn dans la coquille lors de *upwelling*. Quelque soit les sites considérés, les profils coquilliers du Mn ne montrent, cependant, aucune variation significative de ses concentrations pendant ces périodes de *upwelling*. Le manganèse ne serait donc pas un bon indicateur des phénomènes de *upwelling*.

Le molybdène présente une distribution conservative le long de la colonne d'eau (Brown et al. 1989 ; Millero 2006). Comme pour le Sr, les phénomènes de *upwelling* n'induisent donc aucun enrichissement ou appauvrissement direct du molybdène dans la colonne d'eau. Ils favorisent, cependant, la productivité biologique en réapprovisionnant les eaux de surface en nutriments. Dans la baie de Brest (Roscanvel), les concentrations du Mo dans la coquille Saint Jacques *Pecten maximus* (L.) sont considérées, dans le Chapitre III, Partie III.1., comme un traceur spécifique des efflorescences phytoplanctoniques printanières. Dans notre étude, le molybdène ne souligne pas un profil similaire pour les deux sites. Pendant la période de *upwelling*, les concentrations du Mo dans les coquilles ne révèlent, aucune variation significative sur le site d'Austevoll (Norvège) alors qu'elles présentent des enrichissements significatifs et épisodiques sur le site de Vigo (Espagne). Les profils coquilliers du Mo observés pour Vigo révèlent des similitudes avec ceux observés pour la baie de Brest (France). Ceci suggère aussi que la dynamique de l'écosystème norvégien est très différente des deux autres sites considérés. Cependant, les maxima de concentration observés dans la zone de Vigo ne sont pas présentés au printemps comme dans la rade de Brest, mais plutôt en été. Ces différences entre les différents sites (Vigo, Austevoll, baie de Brest) démontreraient que : 1/ le molybdène ne peut pas être considéré comme un proxy de des phénomènes de *upwelling*; 2/ la dynamique phytoplanctonique n'est pas similaire dans les différents écosystèmes; 3/ l'assimilation du molybdène dans la coquille serait spécifique à certaines espèces phytoplanctoniques.

Le baryum présente un profil vertical dans la colonne d'eau enrichi en profondeur. Les phénomènes de *upwelling* contribueraient donc à enrichir la colonne d'eau en Ba. De la même façon que le molybdène, les enrichissements des concentrations en Ba dans les coquilles Saint Jacques de la baie de Brest seraient

des indicateurs potentiels des efflorescences phytoplanctoniques (Chapitre III, Partie III.2.), plutôt estivales et non spécifiques. Comme pour le Mo, les concentrations du Ba dans les coquilles ne révèlent, pendant la période de *upwelling*, aucune variation significative sur le site d'Austevoll (Norvège) alors qu'elles présentent des enrichissements significatifs et épisodiques sur le site de Vigo (Espagne). Le seul fait qu'aucune variation significative n'est observée sur le site d'Austevoll (Norvège) pour le Ba, comme pour le Mo, pendant la période de *upwelling* démontre que ces deux éléments ne peuvent pas être considérés comme des proxy de ces phénomènes. La dynamique de l'écosystème norvégien est très différente. L'écosystème norvégien est principalement caractérisé par des températures de l'eau plus faibles tout au long de l'année (Figure 1). Les variations des concentrations du baryum dans la coquille de Vigo (Espagne) soulignent, cependant, des variations similaires à celles observées dans la baie de Brest (France), i. e. des maxima de concentrations estivaux pour les plus intenses et plutôt automnaux pour les moins intenses. Il semble cependant y avoir un décalage de 15 jours entre le profil de Roscanvel et celui de Vigo. Les enrichissements épisodiques du Ba observés pour les coquilles de Vigo pourraient donc aussi être liés à des efflorescences phytoplanctoniques. Les similarités entre ces deux sites (Vigo et baie de Brest) souligneraient aussi que même si la dynamique phytoplanctonique n'est pas nécessairement la même tout au long de l'année, elle pourrait être comparable pour la période estivale.

Aucun élément trace piégé dans la coquille ne semble donc être spécifique aux phénomènes de *upwelling*. Les rapports élémentaires de deux éléments ayant des distributions verticales diamétralement opposées dans la colonne d'eau marine ont, donc, été examinés car ils pourraient être des indicateurs beaucoup plus sensibles que les concentrations élémentaires. Les rapports molaires entre le baryum et le manganèse ont donc été considérés pour les coquilles des deux sites (Vigo et Austevoll) (Figure VI.1-5). Une augmentation de ces rapports est observée lors des *upwelling* pour les deux sites considérés. Cependant, d'autres augmentations de ces rapports Ba/Mn, observées en fin d'été, ne sont pas associées avec ces phénomènes. Ces enrichissements du rapport Ba/Mn pourraient être influencé par d'autres phénomènes tels des efflorescences phytoplanctoniques suggérées induire un enrichissement coquillier spécifique du Ba. Les enrichissements des rapports molaires Ba/Mn pourraient donc refléter soit des

phénomènes de *upwelling*, soit des efflorescences phytoplanctoniques estivales non induites par un *upwelling*.

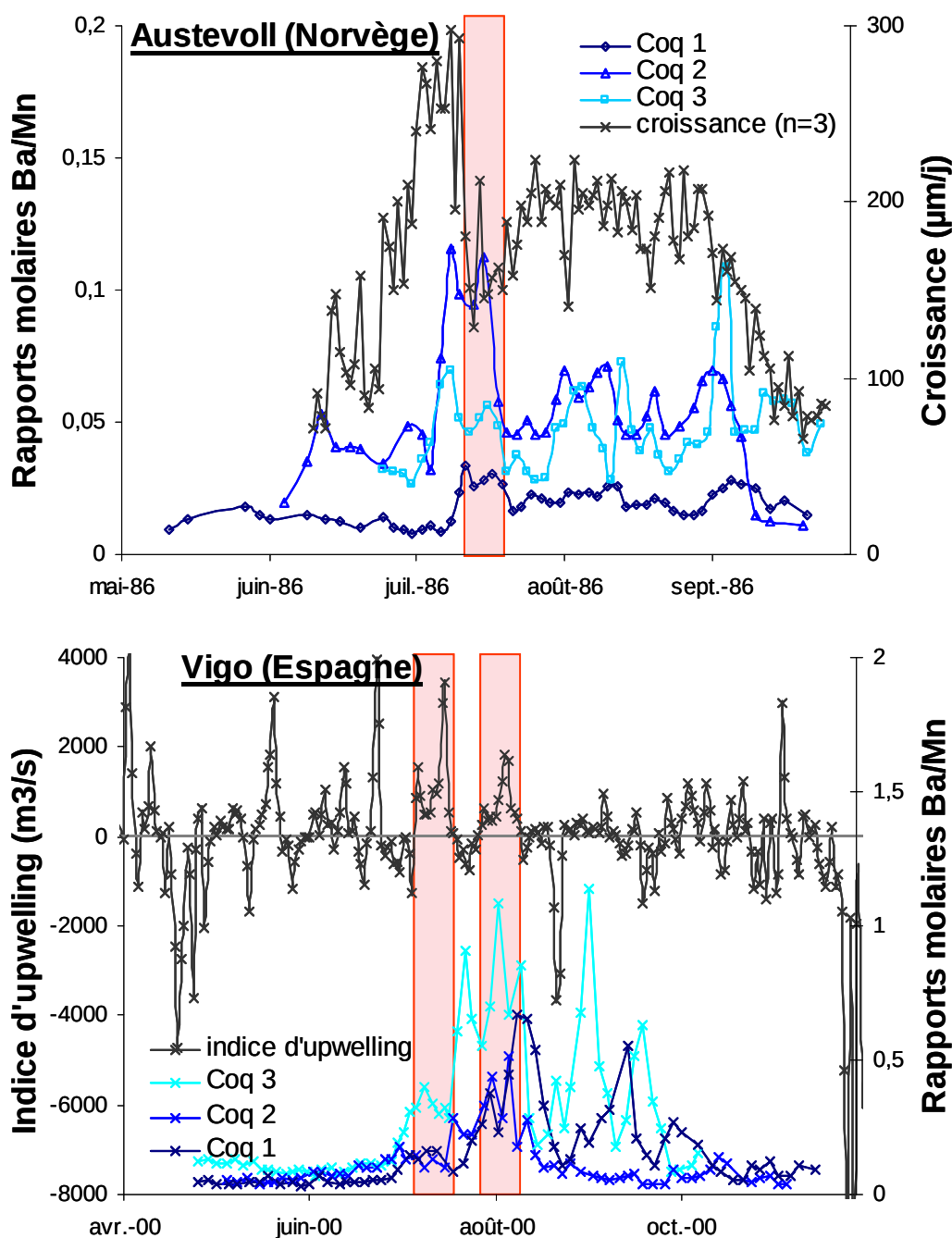


Figure VI.1-5 Variations des rapports molaires Ba/Mn dans les coquilles d'Austevoll (Norvège) et de Vigo en fonction, respectivement, de la croissance coquillière moyenne ($n=3$, $\mu\text{m.s}^{-1}$) et des indices de *upwelling* ($\text{m}^3.\text{s}^{-1}$). Les parties grises identifient les *upwelling*.

VI.1.2.5. Conclusion

L'étude des variations des concentrations coquillières des éléments traces sur les deux sites Vigo (Espagne) et Austevoll (Norvège) soumis à de fréquents *upwelling* ont démontré qu'aucun élément trace enrichi dans les stries calcifiées de la coquille Saint Jacques (Mg, Sr, Mo, Ba, Cd, Mn, Pb, Sn, Sb, Cu, Co) ne peut être considéré seul comme un traceur spécifique de ces phénomènes. En effet, aucun élément trace étudié n'a souligné un enrichissement ou un appauvrissement significatif et spécifique dans les stries calcifiées de la coquille simultanément aux phénomènes de *upwelling* observés sur les deux sites considérés. Les rapports molaires Ba/Mn pourraient, néanmoins, devenir des traceurs de ces phénomènes. Cependant, ces rapports peuvent aussi être des indicateurs d'autres phénomènes non liés à des *upwelling*. Cette étude s'est limitée à deux années particulières pour lesquelles nous ne pouvons généraliser les résultats obtenus (1986 pour Austevoll et 2000 pour Vigo). Des études à plus long terme et sur d'autres environnements soumis à des *upwelling* sont donc nécessaires afin de confirmer que les concentrations coquillières en éléments traces dans la coquille Saint Jacques sont ou ne sont pas des indicateurs de ces phénomènes.

Cette étude a cependant montré que l'assimilation du Mo et du Ba dans les coquilles est très différente entre le site d'Austevoll et les sites de Vigo ou de la baie de Brest (Roscanvel). L'écosystème norvégien a des caractéristiques environnementales très différentes des deux autres sites, principalement lié aux plus faibles températures du milieu tout au long de l'année qui peuvent fortement influencer l'incorporation des éléments lors du processus de calcification des coquille. L'étude du site de Vigo a révélé des caractéristiques similaires au site de la baie de Brest (Roscanvel) (Chapitre III) quant à l'occurrence de pics de Ba ou de Mo. Les enrichissements du Mo et du Ba dans la coquille du bivalve *Pecten maximus* pourraient donc aussi être liés à des efflorescences phytoplanctoniques de manière spécifique ou non.

Références

Brown, J., A. Colling, D. Park, J. Phillips, D. Rothery, and J. Wribght. 1989. Seawater: its composition, properties and behaviour. Prepared By and Open University Course Team., Gerry Bearman ed. Pergamon Press in association with the Open Univeristy.

Bruland, K. W. 1983. Trace elements in seawater, Riley, J.P. and Chester, R. ed. Academic Press London.

Chase, Z. and others 2005. Manganese and iron distributions off central California influenced by upwelling and shelf width. *Marine Chemistry* **95**: 235-254.

Chavez, F. P., and J. R. Toogweiler. 1995. Physical estimates of global new production: The upwelling contribution. In: *Upwelling in the ocean: modern processes and ancient records*, C. P. Summerhayes, K.-C. Emeis, M. V. Angel, R. L. Smith, B. Zeitzschel ed., Wiley.

Freitas, P. S., L. J. Clarke, H. Kennedy, C. A. Richardson, and F. Abrantes. 2006. Environmental and biological controls on elemental (Mg/Ca, Sr/Ca and Mn/Ca) ratios in shells of the king scallop *Pecten maximus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**: 5119-5133.

Lares, M. L., G. Flores-Munoz, and R. Lara-Lara. 2002. Temporal variability of bioavailable Cd, Hg, Zn, Mn and Al in an upwelling regime. *Environmental Pollution* **120**: 595-608.

Lea, D. W., and P. A. Martin. 1996. A rapid mass spectrometric method for the simultaneous analysis of barium, cadmium, and strontium in foraminifera shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**: 3143-3149.

Lea, D. W., G. T. Shen, and E. A. Boyle. 1989. Coralline barium records temporal variability in equatorial Pacific upwelling. *Nature* **340**: 373-376.

Lorrain, A. and others 2005. Strong kinetic effects on Sr/Ca ratios in the calcitic bivalve *Pecten maximus*. *Geology* **33**.

Millero, F. J. 2006. Chemical Oceanography, Third edition. CRC Press, Taylor & Francis.

Montaggioni, L. F., F. Le Cornec, T. Correge, and G. Cabioch. 2006. Coral barium/calcium record of mid-Holocene upwelling activity in New Caledonia, South-West Pacific. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **237**: 436-455.

Ourbak, T., T. Correge, B. Malaize, F. Le Cornec, K. Charlier, and J. P. Peypouquet. 2006. A high-resolution investigation of temperature, salinity, and upwelling activity proxies in corals. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **7**.

Reuer, M. K., E. A. Boyle, and J. E. Cole. 2003. A mid-twentieth century reduction in tropical upwelling inferred from coralline trace element proxies. *Earth and Planetary Science Letters* **210**: 437-452.

Takesue, R. K., and A. Van Geen. 2004. Mg/Ca, Sr/Ca, and stable isotopes in modern and Holocene *Protothaca staminea* shells from a northern California coastal upwelling region. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **28**: 3845-3861.

VI.2.Résultats complémentaires

VI.2.1.Comparison between calibration with NIST glass standards and matrix-matched calibration with enriched calcium carbonate standards

One of the major limitations of LA-ICP-MS is the quantification of trace elements for a given matrix. Each commonly employed laser wavelength (1064, 266, 213, 193 nm) leads to some degree of non-stoichiometric detection, which makes quantification using non matrix-matched calibration standards difficult for some elements (Guillong et al. 2003). The so-called elemental fractionation is mainly influenced on particles size distribution, the largest particles being incompletely atomised and subsequently excited into the plasma of the ICP, resulting in measurement bias on some refractory elements. Shorter UV wavelengths (e.g. 193 nm) produce less severe elemental fractionation effects because the laser induced particles size distribution is shifted towards small particles which are more easily atomized and excited into the plasma of the ICP. Consequently, the requirements for matrix matched-standards are not necessary in such cases. Fallon et al. demonstrated that the use of matrix-matched standards was not essential with a 193 nm ArF laser for determining trace elements in calcium carbonate matrix (corals) (Fallon et al. 1999; Fallon et al. 2002). They demonstrated that NIST 600 glass standards series could be successfully used in their study for accurate calibration of trace elements and rare earth elements as well.

Trace element quantification in calcium carbonate matrix was first performed with NIST series glass standards because of the lack of CaCO_3 certified standards. However, with the conventional laser system used in our study (Nd-YAG, 266 nm), elemental fractionation, though limited compared to infrared lasers, is still likely to occur which precludes the use of non matrix-matched standards for accurate calibration (Belloto and Mikeley 2000). In recent studies, Bellotto et al. prepared trace elements enriched calcium carbonate standards from pure calcite after co-precipitation with Na_2CO_3 (Belloto and Mikeley 2000). An alternative method based on a co-precipitation with NH_4OH and NH_4HCO_3 was preferred in our study and was previously described (Chapitre II).

The LA-ICP-MS signal response provided by our synthesized calcium carbonate pellets were compared to the signal recorded when NIST 600 glass

standards series were ablated under the same analytical conditions. In order to compensate for discrepancy in the laser ablation efficiency from glass to calcium carbonate (the amount of sample ablated might differ depending on the matrix), calcium (^{43}Ca) was used as internal standard, assuming that it behaves similarly than the other elements. Taking into account the calcium concentrations in the NIST standards (8.58%) and in calcium carbonate (40.05%), the internal standardization consisted in dividing the signal recorded on each element of interest to the slope of ^{43}Ca measured for both matrices.

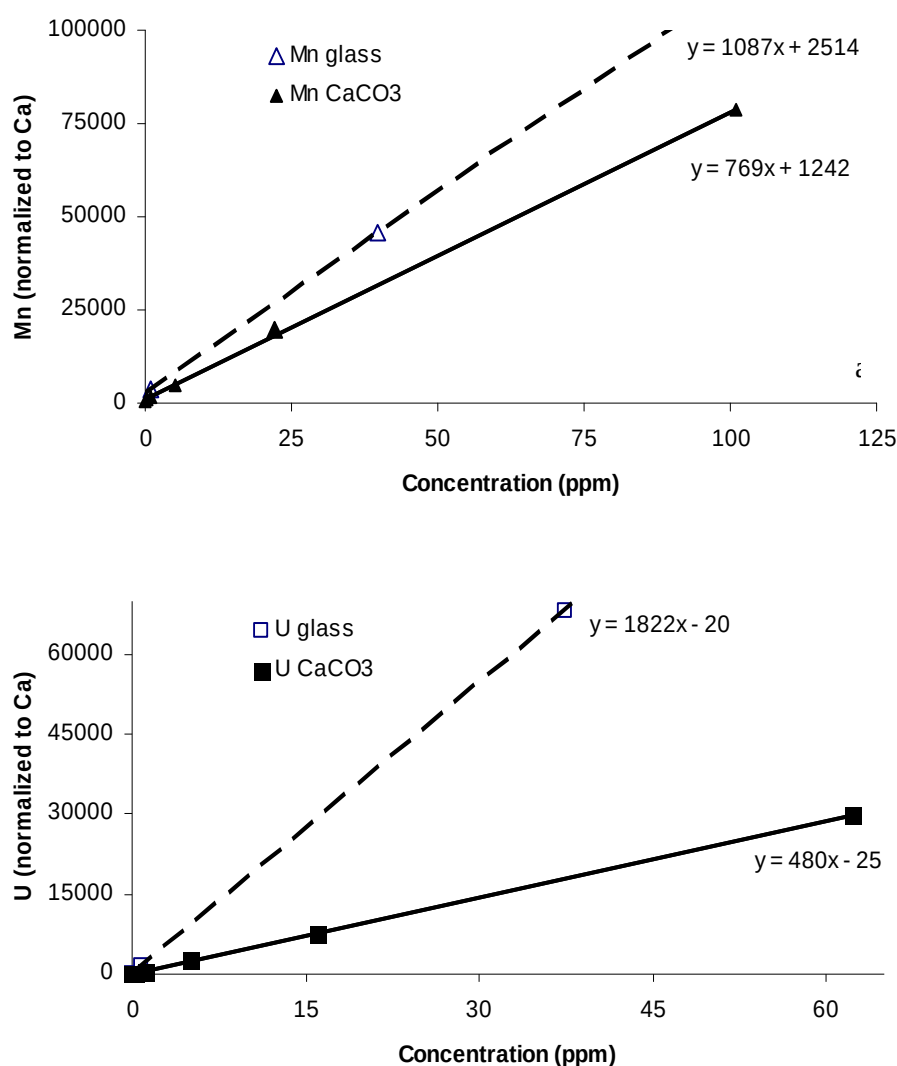


Figure VI.2-1 Representative calibration graphs obtain by LA-ICP-MS on the synthesized enriched calcium carbonate pellets and on the NIST 600 series glass standards. Signal intensity are normalised against the slope of calcium in both matrices.

The Figure VI.2-1 shows two representative calibration graphs obtained on manganese and uranium for both matrices. These results clearly indicate that even with internal standardization, the slopes differ significantly by a factor ranging from 1.4 to 3.8 for respectively Mn and U. In such conditions, calibration with glass standards would result in large inaccuracy. This is mainly due to global elemental fractionation processes that internal standardisation could not counterbalance. It results from the combination of intra-matrix elemental fractionation (Ca does not behave exactly the same as the other elements in a given matrix) and inter-matrix elemental fractionation (the elemental fractionation differs from a matrix to the other). These results show that the 266 nm UV laser used here provides a significant global elemental fractionation from glass samples to compacted calcium carbonate powders that imposes matrix matching calibration.

References

Belloto, V. R., and N. Mikeley. 2000. Improvement in calibration procedures for the quantitative determination of trace elements in carbonate material (mussel shells) by laser ablation ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 367: 635-640.

Fallon, S. J., M. T. Mc Culloch, R. Van Woesik, and D. J. Sinclair. 1999. Corals at their latitudinal limits: laser ablation trace element systematics in *Porites* from Shirigan Bay, Japan. *Earth and Planetary Science Letters* 172: 221-238.

Fallon, S. J., J. C. White, and M. T. Mc Culloch. 2002. *Porites* corals as recorders of mining and environmental impacts: Misima Island, Papua New Guinea. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66: 45-62.

Guillong, M., I. Horn, and D. Günther. 2003. A comparison of 266 nm, 213 nm and 193 nm produced from a single solid state Nd:YAG laser for laser ablation ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 18: 1224-1230.

VI.2.2. Analyses des éléments traces dissous dans l'eau de mer par préconcentration-élimination de matrices et ICP-MS

Les concentrations des métaux dissous (Mn, Co, Ni, Cu, Cd, Ba, Pb, U) dans des échantillons d'eaux de mer sont déterminées avec une méthode analytique utilisant une étape de pré concentration grâce à réactif particulaire en suspension (suspended particulate reagent, SPR) ayant des groupes fonctionnels imminodiacétate (IDA) (10%, taille des particules: 2-5 μm , Cetac Technology Inc., Omaha, USA). Ce IDA gel permet simultanément de pré concentrer des métaux cationiques et d'éliminer la matrice (Ca, Mg, Na) contenus dans des eaux de rivières ou des eaux de mer avant l'introduction de l'échantillon dans le spectromètre de masse à plasma inductif couplé (ICP-MS) (Kühn and Kriews 2000; Lee et al. 2000).

Protocole de préparation des échantillons:

➤ Solutions nécessaires pour le protocole

- *Eau ultrex acidifiée*: 150 μl (1.5 ml) HNO_3 ultrex (70%) dans 100 ml (dans 1l) d'eau ultrex
- *Eau ultrex tamponnée à pH = 7*
- *Gel à 10% acidifié*: 0.833 ml HNO_3 ultrex (70%) dans 10 ml du gel commercial à 10%
- *HNO_3 à 1.5 mol.l⁻¹*: 4.8 ml HNO_3 ultrex (70%) dans 50 ml d'eau ultrex
- *Etalon interne Y à 1 mg.l⁻¹*: 10 μl Y à 1000 mg.l⁻¹ dans 10ml d'eau ultrex acidifiée
- *Tampon phosphate à 2 mol.l⁻¹*: pour 15 ml de tampon, 3.3 g de sel $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ + 8.7 ml eau ultrex acidifiée + 3.75 ml NH_4OH + 45 μl de gel à 10% acidifié (purification du sel phosphate ajouté)
- *Solutions multi élémentaires à 1 mg.l⁻¹ et 50 $\mu\text{g.l}^{-1}$* : à partir de la solution multi élémentaire à 10 mg.l⁻¹ en (IMS-102 Ultra Scientific) et une solution mono élémentaire de Mo à 1000 mg.l⁻¹ (préparé à partir d'un sel de Na_2MoO_4). La solution de Mo est diluée 100 fois afin d'obtenir une solution à 10 mg.l⁻¹. Pour la solution à 1 mg.l⁻¹, 1 ml de la solution de Mo à 10 mg.l⁻¹ + 1 ml de la solution multi élémentaire à 10 mg.l⁻¹ + 8 ml d'eau ultrex acidifiée. Pour la solution à 50 $\mu\text{g.l}^{-1}$, 0.5ml de 1 mg.l⁻¹ + 9.5 ml d'eau ultrex acidifiée.

➤ Étalons

La gamme d'étalonnage préparée comporte des blancs (5) et des échantillons de 0.02 à 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Les étalons se préparent de la façon suivante :

Étalons	1) Eau ultrex acidifiée (en ml)	2) Etalon interne Y à 1 mg.l^{-1} (en μl)	3) Solution multi élémentaire à 50 ou 200 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (en μl)	4) Gel acidifié à 10% (en μl)
Blancs (5)	50	50	0	167
0.05 $\mu\text{g.l}^{-1}$	50	50	50 (50 $\mu\text{g.l}^{-1}$)	167
0,1 $\mu\text{g.l}^{-1}$	50	50	100 (50 $\mu\text{g.l}^{-1}$)	167
0,2 $\mu\text{g.l}^{-1}$	50	50	200 (50 $\mu\text{g.l}^{-1}$)	167
0,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$	49.5	50	500 (50 $\mu\text{g.l}^{-1}$)	167
1 $\mu\text{g.l}^{-1}$	50	50	50 (1 mg.l^{-1})	167
2 $\mu\text{g.l}^{-1}$	50	50	100 (1 mg.l^{-1})	167
5 $\mu\text{g.l}^{-1}$	49.8	50	250 (1 mg.l^{-1})	167
10 $\mu\text{g.l}^{-1}$	49.5	50	500 (1 mg.l^{-1})	167

Les 6 étalons sont ensuite agités 5 min sur une table elliptique.

➤ Échantillons certifiés et échantillons

Les échantillons sont acidifiés avec 75 μl HNO_3 ultrex pour 50 ml d'échantillon. Les échantillons certifiés (3 NASS-5 et 3 CASS-4) sont aussi préalablement acidifiés (si pas d'acidification antérieure) de la même façon. Pour chaque échantillon, 50 μl Y à 1 mg.l^{-1} , puis 167 μl de gel à 10% acidifié ont été ajoutés. Les échantillons sont aussi agités 5 min sur une table elliptique.

➤ Étalons et échantillons

Le pH des étalons et des échantillons est ensuite ajusté à une valeur proche de 7.5. Pour ceci, 150 μl d'un tampon phosphate 2 mol.l^{-1} à $\text{pH} \cong 7.5$ ont été ajoutés pour chaque échantillon et étalons, ainsi qu'une quantité variable de NH_4OH ultrex : environ 16 μl pour les étalons, et environ 200 μl pour les échantillons. Le protocole suivant est effectué pour toutes les solutions :

- 1- Agitation 5 min sur une table elliptique.
- 2- Centrifugation 2 min à 3500 tr/min.
- 3- Le surnageant est jeté.

- 4- Le culot est récupéré dans des tubes avec insert filtrant où on ajoute 1 ml d'eau ultrex tamponnée à pH = 7 (purification du gel des sels).
- 5- Centrifugation.
- 6- Le filtrat est jeté.
- 7- Ajout de 2 ml HNO₃ à 1.5 mol.l⁻¹ sur le culot.
- 8- Centrifugation.
- 9- Récupération du filtrat pour l'analyse.

Résumé du protocole: Lors de l'échantillonnage, 50 ml d'échantillon ont été acidifiés avec 75 µl d'acide nitrique (J. T. Baker, qualité ultrex). En laboratoire, 50 µl d'yttrium ont été ajoutés. Une quantité de 167 µl de réactifs SPR a ensuite été ajoutée aux échantillons acidifiés. Le mélange a été vigoureusement agité pendant 5 min. Le pH a été ajusté à 7.5 par addition d'un tampon de phosphate à 2 mol.l⁻¹ et pH = 7.5, et d'hydroxyde d'ammonium (J. T. Baker, qualité ultrex). L'élimination de la matrice a consisté à enlever le surnageant après centrifugation de 5 min de l'échantillon. Le réactif SPR enrichi en cations métalliques ont été ensuite filtré et rincé avec 1 ml d'eau pure (J. T. Baker, qualité ultrex) tamponnée à un pH de 7 avec des phosphates (J. T. Baker, qualité ultrex). Les cations ont ensuite été élués avec 2 ml d'acide nitrique à 1.5 mol.l⁻¹.

Analyse des échantillons:

La solution concentrée a été analysée par ICP-MS (X7 series, Thermo Electron, UK). Pour l'étalonnage, des étalons externes ont été préparés de la même façon que pour les échantillons. L'yttrium a été choisi comme étalon interne afin de corriger à la fois l'efficacité de la pré concentration du gel et les dérives du signal dues à la déposition de sels sur les cônes en Pt de l'ICP-MS. Pour introduire l'échantillon, un micro nébuliseur a été utilisé afin de minimiser la contamination de l'échantillon, l'apport en sel dans le détecteur, et d'augmenter le temps d'acquisition pour chaque échantillon. La torche de l'ICP a été équipée d'un écran afin d'augmenter la sensibilité du détecteur (Thermo Electron, UK). Les débits du gaz d'Ar utilisés sont 1.0 l.min⁻¹ pour la gaz de nébulisation, 0.75 l.min⁻¹ pour le gaz auxiliaire et 15 l.min⁻¹ pour le gaz de refroidissement.

Les performances analytiques sont résumées dans la table suivante:

µg/l	Limites de détection	NASS-5 (n=4)				CASS-4 (n=4)			
		Valeurs mesurées		Valeurs certifiées		Valeurs mesurées		Valeurs certifiées	
Mn	0,020	0,634	± 0,057	0,919	± 0,057	1,92	± 0,22	2,78	± 0,19
Co	0,012	0,161	± 0,039	0,011	± 0,003	0,128	± 0,074	0,026	± 0,003
Ni	0,215	0,616	± 0,069	0,253	± 0,028	0,394	± 0,004	0,314	± 0,03
Cu	0,030	0,235	± 0,038	0,297	± 0,046	0,401	± 0,035	0,592	± 0,055
Cd	0,004	0,022	± 0,006	0,023	± 0,03	0,026	± 0,005	0,026	± 0,03
Ba	0,030	5,58	± 0,25			4,99	± 2,54		
Pb	0,055	< 0,06		0,008	± 0,005	< 0,06		0,0098	± 0,0036
U	0,0001	3,04	± 0,46	2,6		2,98	± 0,27	3	

Cette méthode conduit donc à des limites de détection très faible de l'ordre de la dizaines de ng.l⁻¹, atteignant même 0.1 ng.l⁻¹ pour l'uranium. L'analyse des eaux de mer certifiées NASS-5 et CASS-4 a aussi permis de déterminer le domaine d'utilisation de cette méthode. Cette méthode est suggérée performante pour l'analyse du cadmium, de l'uranium. Elle semble aussi être valide pour la détermination du cuivre dans les eaux de mer océanique (comme NASS-5). L'utilisation de cette méthode dans des eaux côtières telles que la CASS-4 semble, cependant, limitée pour le cuivre. Sa complexation sur la matière organique, présente de façon importante dans des environnements côtiers, pourrait expliquer l'incohérence de ces mesures. Inversement au cuivre, la détermination du nickel en milieu côtier semble pertinente avec cette méthode alors qu'elle ne l'est pas en milieu océanique. La différence de comportement du nickel entre ces deux types d'environnements reste toutefois à éclaircir. Même si cette méthode ne semble, à priori, pas adaptée pour le manganèse, les valeurs mesurées correspondent toujours à 69 % des valeurs certifiées et ce quelque soit les eaux certifiées considérées. Ce facteur est donc suggéré potentiellement applicable pour déterminer les concentrations du manganèse dans les eaux. Il doit, cependant, être utilisé avec prudence et son origine devra être identifiée. Cette méthode n'a pu être validée ni pour le baryum car les eaux ne sont pas certifiées pour le baryum, ni pour le plomb car les concentrations certifiées sont plus faibles que la limite de détection.

References:

- Kühn, M., and M. Kriews. 2000. Improved detection of transition and rare earth elements in marine samples with the CETAC DSX-100 preconcentration/matrix elimination system and ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **367**: 440-444.
- Lee, K.-H., M. Oshima, T. Takayanagi, and S. Motomizu. 2000. Simultaneous determination of trace elements in river-water samples by ICP-MS in combination with a discrete microsampling technique after enrichment with a chitosan-based chelating resin. *Analytical Sciences* **16**: 731-738.

VI.2.3. Concentrations des éléments traces dans différents compartiments de la baie de Brest (zone Roscanvel): tissus mous de la coquille Saint Jacques, sédiments et eaux (dissous et particulaires)

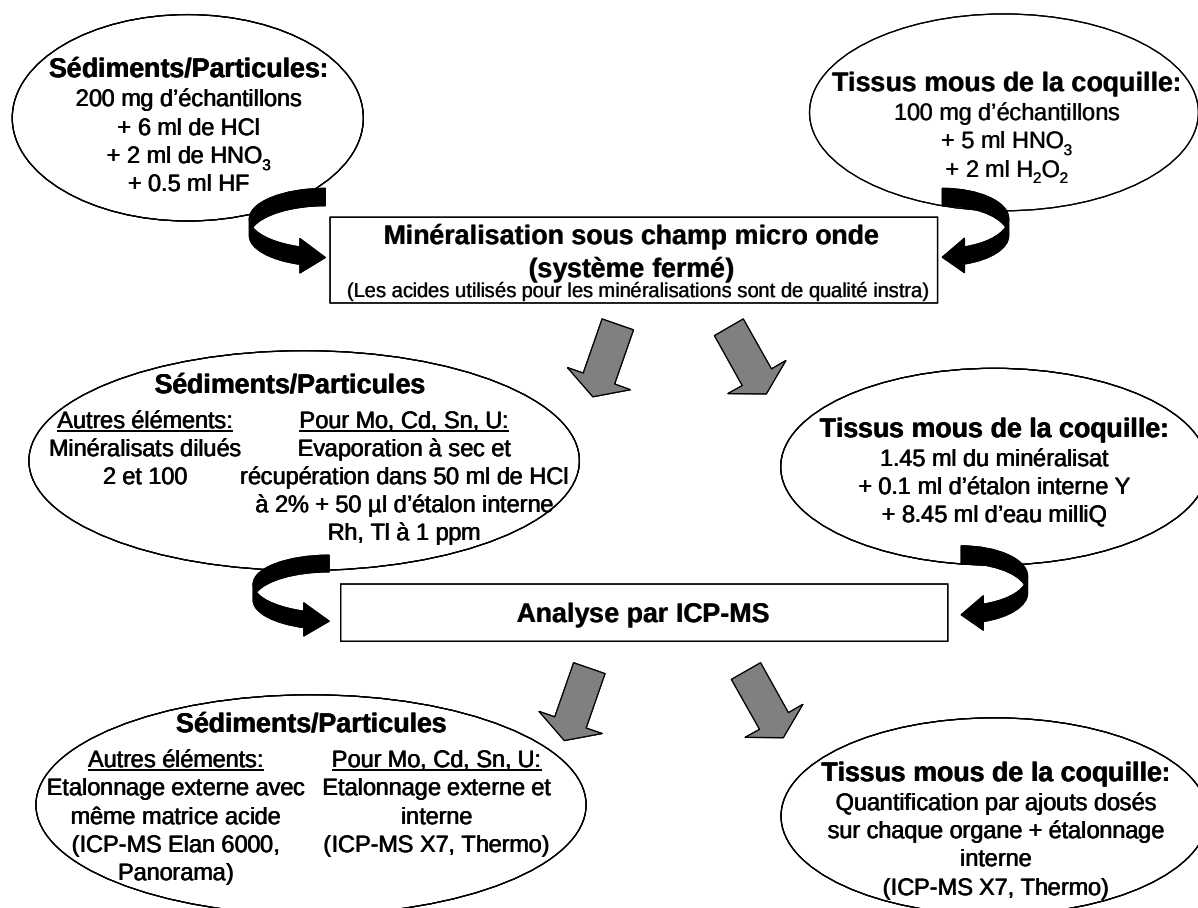


Figure VI.2-2 Protocole de préparation et d'analyse des différents types d'échantillons.

Table VI.2-1 Concentrations moyennes dans chaque type d'organes de coquilles Saint Jacques prélevées au mois de janvier 2003 dans la zone de Roscanvel (Baie de Brest, France).

ppb (ng/g poids sec)		V	Cr	Mn	Co	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Ag	Cd	Ba	Pb	U
Gonade	Moyenne	741	508	9508	90	12674	154960	8639	2828	22199	243	1046	238	622	330	207
	SD	349	97	7739	17	3764	58373	1857	443	10060	187	894	92	124	218	158
	RSD%	47,1	19,1	81,4	18,7	29,7	37,7	21,5	15,7	45,3	76,9	85,4	38,7	19,9	65,9	76,3
Glande digestive	Moyenne	13232	2835	11878	607	15607	80182	21540	7242	19883	16238	6708	44272	6279	2640	701
	SD	3596	457	5044	222	4690	21414	4987	1681	2815	5655	1274	11678	1246	941	170
	RSD%	27,2	16,1	42,5	36,6	30,1	26,7	23,2	23,2	14,2	34,8	19,0	26,4	19,8	35,6	24,3
Muscle	Moyenne	77	270	10447	27	524	55511	8528	675	5271	48	25	454	293	<LD	30
	SD	23	52	18519	12	361	9333	585	507	429	43	6	56	32		4
	RSD%	29,8	19,4	177,3	42,6	69,0	16,8	6,9	75,2	8,1	88,7	23,5	12,3	10,9		14,0
Reste	Moyenne	1745	990	304894	455	4579	244922	10555	3778	56644	661	521	1491	2082	3151	327
	SD	330	193	217879	176	2081	134310	1759	621	6553	116	160	491	570	1520	54
	RSD%	18,9	19,5	71,5	38,6	45,5	54,8	16,7	16,4	11,6	17,5	30,7	32,9	27,4	48,2	16,4

Table VI.2-2 Concentrations moyennes dans le sédiment de Roscanvel (Baie de Brest, France) en mai 2004 (3 carottes × 2 jours de prélèvements: 3 et 10 mai 2004).

Sédiment	ppm (µg/g)	Ti	Mn	Zn	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	U
0-0,5 cm	Moyenne	1514	128	107	1057	0,915	0,111	3,66	177	1,16
	SD	405	27	12	75	0,248	0,035	1,07	13	0,44
	RSD%	27	21	11	7	27	31	29	7	38
0,5-1 cm	Moyenne	1880	141	109	1026	0,649	0,114	2,81	204	0,956
	SD	313	21	24	45	0,293	0,032	1,02	16	0,473
	RSD%	17	15	22	4	45	28	36	8	49
1-1,5 cm	Moyenne	1756	130	109	1010	0,887	0,116	2,50	202	1,20
	SD	523	37	44	93	0,357	0,015	0,91	11	0,40
	RSD%	30	29	41	9	40	13	36	5	34
1,5-2 cm	Moyenne	1635	137	157	1070	0,909	0,114	2,41	194	1,20
	SD	391	34	22	116	0,310	0,033	1,05	9	0,49
	RSD%	24	25	14	11	34	29	44	5	41
0-2 cm	Moyenne	1696	134	121	1041	0,840	0,114	2,84	194	1,13
	SD	158	6	24	28	0,128	0,002	0,57	12	0,12
	RSD%	9	5	20	3	15	2	20	6	10

Table VI.2-3 Concentrations moyennes dans les particules en suspension de Roscanvel (Baie de Brest, France; prélèvement en surface et au fond × 2 jours: 3 et 10 mai 2004).

Particules	ppm (µg/g)	Ti	Cr	Mn	Cu	Zn	Sr	Mo	Cd	Sn	Ba	Pb	U
<i>Jour 1: 3 mai 2004</i>													
Surface (2 m en dessous de la surface)	Moyenne	114	<LD	30,6	<LD	<LD	175	0,330	0,104	0,037	3,63	10,7	0,152
	SD	8		0,6			3	0,020	0,006	0,004	0,09	0,3	0,010
	RSD%	7		2			2	6	6	10	2	3	7
Fond (2 m au dessus du sédiment)	Moyenne	1082	25	154	9	44	239	0,604	0,103	2,01	101	38	0,899
	SD	673	13	113	6	35	125	0,232	0,044	1,70	57	20	0,594
	RSD%	62	55	74	64	81	52	38	42	85	56	52	66
<i>Jour 2: 10 mai 2004</i>													
Surface (2 m en dessous de la surface)	Moyenne	62,6	1,71	15,1	2,30	7,79	80,8	0,353	0,026	0,303	7,26	14,7	0,158
	SD	7,2	0,19	1,02	0,34	1,00	6,26	0,13	0,042	0,046	0,71	0,8	0,067
	RSD%	11	11	7	15	13	8	36	165	15	10	6	42
Fond (2 m au dessus du sédiment)	Moyenne	1183	26	156	12	62	225	0,445	0,110	1,79	102	36,0	0,91
	SD	1352	31	200	13	69	258	0,600	0,144	3,03	120	39,8	1,08
	RSD%	114	118	128	108	110	115	135	131	170	117	111	119

Table VI.2-4 Concentrations moyennes dans les eaux filtrées de Roscanvel (Baie de Brest, France; prélèvement en surface et au fond × 2 jours: 3 et 10 mai 2004).

Eaux filtrées (dissous)	ppb (µg/l)	Méthode de préconcentration "gel" (annexe II.2.)								Dilution des eaux (50 ×)			
		Mn	Co	Cu	Sr	Cd	Ba	Pb	U	Mn	Mo	Sr	Ba
Surface (2 m en dessous de la surface)	Moyenne	1,01	0,104	0,469	746	0,019	2,34	0,358	5,48	1,14	12,4	1894	5,48
	SD	0,92	0,209	0,806	80	0,001	1,42	0,138	4,99	1,67	1,3	19	4,07
	RSD%	91	202	172	11	5	60	39	91	147	11	1	74
Fond (2 m au dessus du sédiment)	Moyenne	0,874	0,101	0,463	1148	0,017	4,26	0,138	5,19	1,34	13,1	1914	5,67
	SD	0,053	0,039	0,056	650	0,002	2,16	0,049	0,26	0,17	0,3	31	4,06
	RSD%	6	38	12	57	11	51	36	5	13	2	2	72

Micro analyse quantitative des éléments traces dans la calcite de la coquille Saint Jacques (*Pecten maximus*) par Ablation Laser ICP-MS: une archive journalière de la biogéochimie des environnements côtiers tempérés

Résumé: Le couplage de l'Ablation Laser et de la Spectrométrie de Masse à Plasma Inductif Couplé (LA-ICP-MS) a été mis en œuvre pour la détermination quantitative des éléments traces dans des matrices de carbonate de calcium (CaCO_3) grâce à l'utilisation de pastilles étalons de CaCO_3 (concentrations en éléments traces: 0-500 $\mu\text{g.g}^{-1}$). L'analyse quantitative des éléments traces le long des stries journalières de calcite des coquilles Saint Jacques *Pecten maximus* a conduit à la définition de profils chronologiques et à haute résolution temporelle. La signification de ces profils a ensuite été évaluée particulièrement pour la Rade de Brest (France). Les concentrations coquillières de fond sont directement liées aux concentrations de l'eau de mer en phase dissoute et aux constantes de solubilité dans les carbonates, traduisant ainsi les conditions environnementales et hydro climatiques moyennes. Des enrichissements récurrents, transitoires et/ou saisonniers ont été observés pour le molybdène (Mo), le baryum (Ba) et le manganèse (Mn). Les enrichissements du Mo et du Ba dans la coquille sont identifiés comme des indicateurs de la dynamique phytoplanctonique dans les environnements côtiers tempérés. Les enrichissements du Mn, observés spécifiquement pour les coquilles de la Baie de Seine, traduisent les apports fluviaux de la Seine et les oscillations des conditions rédox dans la colonne d'eau et à l'interface eau/sédiment. La micro chimie des éléments traces de la coquille est donc établie comme une archive à haute fréquence des changements des environnements côtiers tempérés, et permet aussi de mieux comprendre le cycle biogéochimique des éléments traces à l'interface eau - sédiment.

Mots clés: éléments traces, ablation laser, ICP-MS, carbonates de calcium, coquilles, *Pecten maximus*, biogéochimie, interface eau/sédiment, phytoplancton, conditions redox, proxy, traceur.

Quantitative trace element micro analysis in calcite shell of the Great Scallop (*Pecten maximus*) by Laser Ablation ICP-MS: a daily archive of the biogeochemistry in temperate coastal environments

Abstract: The development of Laser Ablation - Inductively Coupled Plasma - Mass spectrometry coupling (LA-ICP-MS) conducted to the quantitative micro analysis of trace elements (TE) in calcium carbonate (CaCO_3) matrices by the use of CaCO_3 standards (TE range of concentrations: 0-500 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Quantitative analyses of TE along the daily calcite striae of the Great Scallop shells (*Pecten maximus*) allowed the definition of chronological profiles at high temporal resolution. The significance of these profiles was then evaluated, particularly in the Bay of Brest (France). Background shell concentrations are directly related to TE dissolved concentration in the seawater surrounding the shell habitat and to the TE solubility constants within the carbonates, reflecting thus average environmental and hydroclimatic conditions. Recurrent transient or seasonal shell enrichments were observed for the molybdenum (Mo), the barium (Ba) and the manganese (Mn). Mo and Ba enrichments are identified as relevant tracers of phytoplankton dynamic in coastal temperate environments. Specific Mn enrichment, revealed for shells from the Bay of Seine, are related to continental inputs from the Seine river and to supplementary summer inputs induced by redox changes within the water column and at the sediment water/interface (SWI) in the estuary. The micro chemistry of trace elements in the shell can be thus considered as a relevant archive of environmental changes in coastal temperate ecosystems, and also allow to better constrain the biogeochemical cycle of trace elements at the sediment - water interface.

Keywords: trace elements, laser ablation, ICP-MS, calcium carbonates, shells, *Pecten maximus*, biogeochemistry, sediment/water interface, phytoplankton, redox conditions, proxy, tracer.

Adresse: LCABIE, UMR CNRS 5034, Hélioparc Pau Pyrénées, 2 avenue Pierre Angot, 64053 Pau Cedex 9, France