



**HAL**  
open science

# Analyse de la composition élémentaire de *Pecten maximus* par HR-ICP-MS Element 2 : développements méthodologiques et interprétations écologiques.

Manuel Richard

## ► To cite this version:

Manuel Richard. Analyse de la composition élémentaire de *Pecten maximus* par HR-ICP-MS Element 2 : développements méthodologiques et interprétations écologiques.. Autre. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2009. Français. NNT: . tel-00458100v2

**HAL Id: tel-00458100**

**<https://theses.hal.science/tel-00458100v2>**

Submitted on 20 Mar 2010

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

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



**THESE / UNIVERSITE DE BREST**  
*sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne*  
pour obtenir le titre de  
**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BREST**  
*Mention : Géosciences Marines*  
**Ecole Doctorale des Sciences de la Mer**

présentée par

**Manuel Richard**

Préparée au sein des Unités Mixtes de recherche  
6538 Domaines océaniques et 6539 Laboratoire des  
sciences de L'Environnement MARin  
Institut Universitaire Européen de la Mer

«Analyse de la composition élémentaire de  
*Pecten maximus* par HR-ICP-MS Element 2 :  
développements méthodologiques et  
interprétations écologiques.»

**Thèse soutenue le 23 septembre 2009**  
devant le jury composé de :

**David Amouroux**

Directeur de Recherche CNRS, Pau / *rapporteur*

**Catherine Jeandel**

Directeur de Recherche CNRS, Toulouse / *rapporteur*

**Jacques Clavier**

Professeur UBO, Brest / *examineur*

**Mathieu Benoit**

Chargé de recherche CNRS, Toulouse / *co-encadrant*

**Laurent Chauvaud**

Chargé de recherche CNRS, Brest / *co-directeur de thèse*

**Christophe Hémond**

Maître de Conférence, Brest / *co-directeur de thèse*









## **Remerciements**

*En premier lieu, je tiens sincèrement à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé et soutenu à réaliser ce travail de thèse.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Christophe Hémond pour la confiance qu'il m'a accordé en m'acceptant pour réaliser cette thèse. Je le remercie également de m'avoir fait participer à la campagne océanographique PLURIEL à bord du Marion Dufresne. Cette excursion qui m'a permis également de découvrir l'île de la Réunion restera inoubliable. Merci Christophe pour tout ses moments magiques et du soutien que tu m'as apporté au cours de cette thèse.*

*C'est également avec un immense plaisir que je remercie Mathieu Benoit et Laurent Chauvaud, qui m'ont fait profiter de leurs multiples talents aussi bien scientifiques qu'humains.*

*Mathieu merci de m'avoir appris à « maîtriser » l'ICP-MS Element 2. Merci également pour tes conseils analytiques, ton soutien mais surtout d'avoir déchiffré les premiers écrits qui ont du te faire bondir au plafond vu les conneries qu'ils contenaient. Mais surtout merci de m'avoir fait découvrir Trashington DC et leur hymne « to live and die in B.M.O ».*

*Laurent, merci de m'avoir encouragé à finir ce mémoire, merci aussi pour ta disponibilité à toujours répondre à mes interrogations concernant *Pecten maximus*. L'enthousiasme que tu témoignais lorsque je te rapportais les résultats d'analyses ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.*

*Je suis profondément reconnaissant à Catherine Jeandel et David Amouroux d'avoir accepté de juger ce travail. Je les remercie beaucoup de l'intérêt qu'ils portent à mon travail.*

*Je remercie également Jacques Clavier qui a accepté de prendre part à ce jury de thèse et de le présider. Ce geste témoigne de l'intérêt qu'il porte à mon travail. Merci de m'avoir notamment fait part de votre remarque pertinente sur l'abondance en calcium mesurée dans les coquilles.*

*Je souhaite remercier deux autres personnes qui ont amplement participé à ce travail. Merci à Julien Thébault dont les travaux et les conseils qu'il m'a apportés tout au long de cette thèse m'ont été d'une aide si précieuse dans la compréhension des résultats. Merci à Claire Bassoulet pour ton assistance lors des dernières mesures sur l'Element 2 et ta disponibilité chaque fois que j'ai eu besoin de toi. Mais surtout merci pour votre énorme gentillesse.*

*La nature pluridisciplinaire de mon sujet de Thèse m'a permis de rencontrer et de collaborer avec des personnes d'horizons variés, contribuant à l'enrichissement de mon travail et de ma réflexion. Je souhaite leur exprimer ici le plaisir que j'ai eu à travailler avec elles. Je remercie donc chaleureusement Rudolph Corvaisier, Céline Poulain, Jean Pierre Oldra, Gérard Sinquin, Marcel Bohn, Yann Patry, l'équipe du LASAA et Momo.*

*Comment ne pas saluer les compagnons de chambrée avec qui j'ai partagé de sacrés moments. Merci à el colonel Daoud, Hawe, Mister Chocolat Hassan Magareh, Ivo et Carla, Yassine « Le Kabyle » , Abel le Pavarotti de Plouzané et son poussin, Vince Brandon Lee et Elise. En outre, l'Institut doit se féliciter de notre départ car ses notes d'électricité ont du sensiblement baissées. Merci aux collègues (Carlos, Cédric, Flora, Christopher, Myriam, l'arnaqueur Fateh, le porc-tout-gai Nuno, Romain le mormon, Nima, Philou, Carole, blondin,...) pour les nombreux passages récréatifs dans le bureau.*

*Clin d'œil à tout ceux qui m'ont soutenu dans cette aventure : Pope, Ma, sœur Karine, Tyger Nic, Gant de toilette, Kev, Joël et Christine, les fumistes de l'Ilot Vert, les bobo-chouans Noam et Elsa, Séverin et Gui avec qui la vie est plus belle, le XY du Poitou, le Squale, Playmobil le faux straight-edge, Michou, Raoul et ses potos, Aramis et Biboune, la troupe du Bailleul pour leur énorme soutien alcoolique, Money time, Kiki motard et Garlam les cousins globe-trotters, le Rhum Damoiseau, Chochottes 49, les sparing partners de la savate, le bdc, Kalibres et ceux dont le nom est absent. Bien entendu gros coup de cœur aux deux petites femmes Amélie et Athénaïs qui me supportent.*



## SOMMAIRE

<b>Sommaire</b>	<b>1</b>
<b>Avant-propos</b>	<b>4</b>
<b>Introduction</b>	<b>5</b>
<b>I L'ICP-MS comme outil de recherche sur l'évolution climatique (via l'étude des mollusques)</b>	<b>21</b>
I-1 Historique	21
I-2 Qu'est ce qu'une source plasma	22
I-3 Différents spectromètres à source plasma	25
I-3-1 L'ICP-AES	25
I-3-2 L'ICP-MS	26
I-3-2-a L'ICP-MS quadripolaire	26
I-3-2-b Le HR-ICP-MS	27
I-4 Fonctionnement de l'Element 2	28
I-4-1 Analyse en phase liquide	28
I-4-2 Analyse par couplage avec un système d'ablation-laser	33
I-5 Etudes antérieures sur les mollusques par ICP-MS	35
I-5-1 Etudes antérieures	35
I-5-2 Objectifs de ce travail	42
<b>II L'ICP-MS Element 2 comme outil de recherche pertinent des traceurs contenus dans les valves de <i>Pecten maximus</i></b>	<b>44</b>
II-1 Méthodologie	44
II-1-1 Traitement des données	44
II-2 Elaboration d'une solution standard liquide à matrice CaCO <sub>3</sub>	45
II-2-1 Vérification de l'abondance du calcium dans les valves de <i>Pecten maximus</i>	48
II-2-1-a Description brève de la microsonde électronique	49
II-2-1-b Préparation des échantillons et choix analytiques	49
II-2-1-c Résultats concernant le calcium le long d'un axe de croissance (période : mars-septembre 2004)	51
II-2-1-d Résultats concernant le calcium le long d'une strie	52
II-2-2 Conception de la solution standard à matrice carbonate de calcium ("Calcite Brest")	54
II-2-2-a Les constituants majeurs	54
II-2-2-b Les éléments en traces	55
II-2-3 Calibration de "Calcite Brest"	56
II-3 Analyse des coquilles par ICP-MS en mode liquide	58
II-3-1 Préparation des coquilles avant dosage par ICP-MS	58
II-3-2 Préparation des solutions avant dosage par ICP-MS	59
II-3-2-a Les échantillons de poudre	60
II-3-2-b Les blancs	60
II-3-2-c L'étalon externe, contrôle de la reproductibilité	60
II-3-2-d Le standard de calcite artificiel (l'étalon externe)	61
II-3-3 Réglage de l'ICP-MS avant dosage des solutions	61
II-3-4 Définition de la méthode d'analyse des coquilles Saint-Jacques en mode indirect	65
II-3-4-a Choix des éléments et du mode de résolution	65

II-3-4-b Définition de la méthode “Ca-Mg réduite”	69
II-3-5 Traitement des données en analyse indirecte	70
II-4 Méthodologie d’analyse des coquilles de <i>Pecten maximus</i> par LA-ICP-MS	73
II-4-1 Généralité sur l’analyse LA-ICP-MS	73
II-4-2 Amélioration de l’analyse des coquilles Saint-Jacques via LA-ICP-MS	74
II-4-2-a Choix de l’étalon interne	74
II-4-2-b Choix de la méthode d’ablation	75
II-4-3-c Réglage du système LA-ICP-MS	80
II-4-3-d Eléments composant la méthode “Laser mollusque”	81
II-4-3-e Conditions opératoires de la méthode “Laser mollusque”	82
II-4-3 Mesure et traitement des données	82
II-4-3-a Choix des Standards et déroulement d’une séquence de mesure	82
II-4-3-b Traitement des données	85
II-5 Recalage temporel des prélèvements et calcul du profil de croissance	86
II-5-1 Recalage temporel des prélèvements	86
II-5-2 Calculs des profils de croissance	86
II-6 Présentation des sites d’études	87
II-6-1 La rade de Brest	87
II-6-2 Belle-Ile en mer et la baie de Saint-Brieuc	88
<b>III Etude comparative des méthodes d’analyse des carbonates de <i>Pecten maximus</i></b>	<b>89</b>
III-1 Comparaison entre une analyse LA-ICP-MS et ICP-MS	89
III-1-1 Les constituants majeurs des coquilles Saint-Jacques	89
III-1-2 Les éléments en traces	93
III-1-3 Un échantillonnage différent	97
III-1-4 Conclusion	98
III-2 Comparaison aux résultats antérieurs obtenus chez <i>Pecten maximus</i>	99
III-2-1 Comparaison des « bruit de fond »	100
III-2-2 Comparaison des enrichissements épisodiques	109
III-2-2-a Comparaison des profils pour une saison équivalente	109
III-2-2-b Reproductibilité sur les 3 années étudiées	112
III-2-2-c Nécessité de prélever pendant la période de croissance pour un enregistrement à haute-résolution	113
III-3 Comparaison des abondances élémentaires obtenues le long des coquilles de <i>Pecten maximus</i> par ICP-MS et microsonde	116
III-3-1 Le calcium	116
III-3-2 Les autres éléments	118
III-3-3 Analyse microsonde à l’échelle de la strie	121
III-3-4 Mode d’incorporation de certains éléments dans la matrice organique	123
III-4 Reproductibilité et homogénéité des teneurs élémentaires sur la valve gauche de <i>Pecten maximus</i>	125
<b>IV Variations des concentrations en éléments en traces dans les valves de <i>Pecten maximus</i></b>	<b>129</b>
IV-1 Le molybdène : un traceur de l’assimilation de nitrates par la masse phytoplanctonique dans les écosystèmes côtiers ?	130
IV-1-1 Reproductibilité inter-individuelles et variations annuelles de la teneur en molybdène dans les valves de <i>P. maximus</i> : cas de la rade de Brest	131
IV-1-2 Variabilité spatiale des profils de concentration coquillière en Mo (Belle-Ile en mer et Baie de Saint-Brieuc)	137

---

IV-1-3 Concentrations valvaires en molybdène : importance des paramètres environnementaux avec l'exemple de la population brestoise	140
IV-1-4 Origine des enrichissements de la teneur coquillière en molybdène chez <i>P. maximus</i>	147
IV-1-4-a Augmentation éphémère en molybdène dans la colonne d'eau liée aux apports en eaux douces ?	147
IV-1-4-b Relargage du molybdène des sédiments induit par les conditions réductrices à l'interface eau/sédiment ?	149
IV-1-4-c Ingestion d'agrégats enrichis en molybdène issus de l'effondrement de bloom des cellules phytoplanctoniques ?	152
IV-1-4-d Ingestion de cyanobactéries ayant fixé du di-azote ?	154
IV-1-4-e Ingestion de cellules phytoplanctoniques enrichies en molybdène lorsque les nitrates sont source d'azote ?	155
IV-1-5 Conclusion sur les enrichissements de la teneur en molybdène chez <i>Pecten maximus</i>	159
IV-2 Le lithium : un traceur biologique et environnemental potentiel dans les coquilles Saint-Jacques ?	160
IV-2-1 Reproductibilité inter-individuelle et variations annuelles de la teneur en lithium dans les valves de <i>Pecten maximus</i> : cas de la rade de Brest	161
IV-2-2 Variabilité spatiale des profils de concentration coquillière en lithium (Baie de Saint-Brieuc, Belle-Ile en mer)	166
IV-2-3 Relation lithium - croissance journalière de <i>Pecten maximus</i>	170
IV-2-4 Influence d'un ou plusieurs paramètres environnementaux sur l'incorporation du lithium chez <i>Pecten maximus</i> ?	178
IV-2-5 Conclusion sur l'incorporation du lithium chez <i>Pecten maximus</i>	196
<b>Synthèse - Perspective</b>	<b>198</b>
Synthèse	198
Perspective	202
<b>Références bibliographiques</b>	<b>207</b>
<b>Glossaire</b>	<b>222</b>
<b>Liste des Tableaux</b>	<b>223</b>
<b>Liste des Figures</b>	<b>225</b>
<b>Annexes</b>	<b>229</b>
<b>Abstract</b>	<b>235</b>
<b>Résumé</b>	<b>236</b>

---



## **Avant-propos**

Au cours des dernières décennies, l'essor et le développement des techniques d'analyses physico-chimiques ont permis la mesure de plus en plus efficace des teneurs élémentaires présentes en faible quantité dans diverses matrices.

En 2004, le laboratoire Domaines Océaniques de l'IUEM<sup>1</sup> (voir glossaire p222) a acquis sur des fonds régionaux un spectromètre de masse haute résolution couplé à une source plasma (HR-ICP-MS Element 2) de Thermo Electron<sup>TM</sup>. Cet instrument permet l'ionisation et la quantification efficace de tous les éléments chimiques dans toutes sortes de matériaux au préalable mis en solution ou bien pulvérisés quasi-simultanément par ablation laser. La principale caractéristique de cet appareil est une détection rapide et multi-élémentaire à haute résolution en masse et à de très faibles niveaux de concentration. Les services et les performances du HR-ICP-MS peuvent être évidemment proposés aux diverses composantes scientifiques de l'institut (géologues, biologistes, chimistes marins). L'ICP-MS Element 2 peut, entre autres, déterminer les teneurs en éléments en traces dans des tissus biologiques. Chez la coquille Saint-Jacques, cet outil permet de mesurer simultanément les concentrations d'un ensemble d'éléments le long d'un axe de croissance des valves puis déterminer la modalité d'incorporation de ces éléments au sein de cette structure. Nous chercherons à atteindre deux objectifs principaux au cours de ce travail portant sur la coquille Saint-Jacques : (1) obtenir des mesures de concentrations fiables d'éléments en traces dans ces carbonates et (2) déterminer dans quelle mesure certains éléments s'avèrent de bons indicateurs des modifications spatiales ou temporelles du milieu ambiant.

Dès à présent notons que la quantification simultanée d'un nombre important d'éléments en traces dans les valves de mollusques est à priori délicate à réaliser avec un HR-ICP-MS, du fait de la grande gamme de teneurs rencontrées. Elle nécessite en effet la mise en place de méthodologies spécifiques aux matrices carbonatées. C'est dans cette optique qu'un travail de thèse a été entrepris car les carbonates bioconstruits offre des potentiels biogéochimiques et écologiques forts. Il se situe à l'interface entre deux laboratoires de l'IUEM : le laboratoire Domaines Océaniques qui fournit le savoir faire analytique et le LEMAR<sup>2</sup> l'expertise en biologie, les outils de microscopies et le suivi environnemental. Ce programme bénéficie par ailleurs d'un financement du Fond Social Européen (FSE) sur ce sujet spécifique. Ce manuscrit présente les travaux réalisés lors de ce projet.



## **Introduction**

Il a été démontré qu'outre leur origine naturelle (cycles glaciaires et cycles solaires... Imbrie, et al., 1992 ; Wilson et al., 2000 ; Keller, 2004), les variations climatiques de notre planète possèdent aujourd'hui une composante anthropique (Chamley, 2002 ; Rosenzweig et al., 2008 ; Gall, 2009). Les effets du changement climatique en domaine marin sont identifiables et parfois quantifiables. Parmi ces effets sont inclus l'augmentation du niveau moyen de la mer (Overpeck et al., 2006 ; Otto-Bliesner et al., 2006), l'accélération de la fonte des calottes glaciaires, la modification de la circulation océanique, et la hausse de la température des eaux de surface (zone photique - eaux comprises entre 0 et 100 m). Cette dernière provoque déjà la migration et l'invasion d'espèces marines dans certains écosystèmes au détriment souvent des espèces locales (Boudouresque et al., 2002 ; Lewis et al., 2003).

Avec 37% de la population mondiale vivant à moins de 100 km des côtes, 70% des grandes cités mondiales (cités > 1,6 million d'habitants) se trouvant dans la zone côtière (Cohen et al., 1997 ; Burke et al., 2001), et une situation d'interface entre l'océan et les milieux terrestres, les écosystèmes côtiers de la planète sont en fait soumis à un ensemble d'agressions anthropiques (destruction d'habitat, pollutions, surpêche, invasions biologiques, ...). Ces conditions nouvelles impliquent une vulnérabilité importante de ces sites (Nicholls et al., 2004). Par ailleurs, l'expansion démographique humaine toujours en cours provoque un accroissement de l'urbanisation du littoral, du transport maritime, des pêches sélectives, de l'exploitation des ressources renouvelables et non-renouvelables (Burkett et al., 2001; Myers et al., 2003 ; Kremer et al., 2005 ; Martinez et al., 2007). Ces activités engendrent la modification des apports en sédiments, l'augmentation de contaminants et de métaux lourds menant à l'eutrophisation et l'acidification de ces écosystèmes (Valiela, 1995 ; Goolsby et al., 2000 ; Cloern, 2001 ; Schiedek et al., 2007 ; Dennison, 2008). Toutefois, ces sites présentent une diversité biologique supérieure à celle de l'océan ouvert ou à celle de l'écosystème terrestre global (Grall & Chauvaud, 2002).

Ainsi, les systèmes côtiers subissent un grand nombre d'agressions et celles-ci pouvant interagir entre elles, c'est dans leur ensemble qu'il convient d'étudier les réponses de ces systèmes aux diverses perturbations (Cloern, 2001). Parmi les défis restant à relever figure la distinction de la part naturelle de la part anthropique dans les réponses des écosystèmes côtiers aux divers impacts anthropiques. Le présent travail se place donc dans un contexte prospectif où

l'un des objectifs est la mise au point d'outils paléo-écologiques permettant d'étudier le fonctionnement des écosystèmes passés afin de mieux comprendre les réponses des écosystèmes actuels.

### **Recherche de traceur et d'indicateur**

Si l'impact anthropique sur le climat de la planète ne peut désormais plus être nié, son ampleur reste toutefois relativement difficile à évaluer. Plus précisément, il est difficile d'estimer les parts respectives des activités anthropiques et de la variabilité climatique naturelle sur les changements observés de nos jours au niveau de la structure et du fonctionnement des écosystèmes. Ce découplage est aujourd'hui l'une des priorités de la communauté scientifique internationale. Dans cette optique, mais également dans l'objectif de modéliser correctement l'évolution future de ces écosystèmes, il est crucial de disposer d'informations permettant de quantifier l'importance des variations climatiques et environnementales naturelles avant toute influence humaine majeure (exemple avant le début de l'ère industrielle). Il est notamment capital d'appréhender la variabilité naturelle passée du système océanique (température, salinité, production primaire), l'océan mondial étant un acteur essentiel du système climatique (circulation thermohaline, pompe biologique de carbone, ...).

L'étude de la production primaire passée fait appel, pour les périodes récentes, à des enregistrements instrumentés ou historiques de divers paramètres environnementaux (température de l'eau de mer, concentration en nutriments, en oxygène, en dioxyde de carbone, vitesse des vents...). Cependant, la longueur de ces séries temporelles n'excède généralement pas deux siècles pour les plus longues. Au-delà, la communauté scientifique utilise des traceurs dont les variations sont enregistrées au sein de différents types d'archives naturelles.

Un traceur correspond à une variable, souvent géochimique (rapports d'isotopes stables, concentrations élémentaires). Sa valeur est « corrélée » à un paramètre environnemental comme la température, la salinité, la vitesse des vents, le cycle des marées, la concentration en nutriments, la productivité, etc. (Jones, 1983 ; Wefer et al., 1999). Leur découverte est généralement issue d'études portant sur la période actuelle établissant un lien statistique ou mécanistique entre le traceur et un paramètre environnemental. La particularité principale des archives de traceurs est de croître par dépôts successifs et périodiques sous forme de couches (organiques par exemple). Si cette croissance est datable (dépôt annuel, saisonnier, voire même

journalier), toutes les strates peuvent être replacées sur une échelle chronologique établissant ainsi un enregistrement précis des variations environnementales.

En domaine continental, les modèles utilisés sont les cernes de croissance des arbres (Fritts et al., 1971 ; Padilla et al., 2002 ; De Vives et al., 2006 ; Yu et al., 2008), les carottes de glace (Murozumi et al., 1969 ; Petit et al., 1999 ; Thompson et al., 2002 ; Barbante et al., 2004 ; Marteel et al., 2008), les sédiments lacustres (Zwolsman et al., 1993 ; Chillrud et al., 1999 ; Ruiz-Fernández et al., 2004 ; Rauch et al., 2006 ; Su et al., 2008 ), et les spéléothèmes<sup>3</sup> (stalagmites stalactites) (Winograd, 1992 ; Finch et al., 2001 ; Smith et al., 2009).

En milieu marin, on peut citer les carottes de sédiments (Chow et al., 1962, 1978; Szefer & Skwarzec, 1988 ; Fukue et al., 1999) et les squelettes calcaires d'organismes biologiques marins tels les foraminifères (Emiliani, 1954 ; Lea et al., 1989 ; Billups et al., 2002 ; Eggins et al., 2004 ; Ferguson et al., 2008), les coraux (Weber et Woodhead 1970 ; Fairbanks and Dodge, 1979 ; Swart et al., 1982, 2003 ; Mitsuguchi et al., 1996 ; Fallon et al., 2003 ; Esslemont et al., 2004 ; Al Rousan et al., 2007), les spongiaires (éponges) (Druffel and Benavides, 1986 ; Bohm et al., 1996 ; Lazareth et al., 2000 ; Swart et al., 2002a ; Rosenheim et al., 2004), les otolithes de poissons (Carpenter et al., 2003 ; Bath Martin & Thorrold, 2005 ; LaBonne et al., 2008) et les coquilles de mollusques (Davenport, 1938 ; Dood, 1965 ; Jones et al., 1989 ; Raith et al., 1996 ; Lazareth et al., 2003 ; Gillikin et al., 2005a ; Takesue et al., 2008).

C'est dans une optique de calibration de traceurs (« proxies ») que les activités de recherche du groupe LEMAR se sont essentiellement focalisées sur l'utilisation des coquilles de mollusques comme archives de la variabilité passée de l'environnement marin côtier (Chauvaud et al., 1998 ; Lorrain, 2002 ; Chiffolleau et al., 2004 ; Thébault, 2005 ; Barats, 2006 ; Barats et al., 2008, 2009 ; Thébault et al., 2009).

### **Potentiel des bivalves comme archives de l'environnement marin**

Les mollusques présentent de nombreux avantages par rapport aux carottes de sédiments ou de coraux, le premier d'entre eux étant la présence de marques de croissance formées, chez quelques familles de bivalves, avec une fréquence très élevée (marques journalières) dans la matrice calcaire, permettant de replacer les variations du traceur étudié sur une échelle calendaire. Cette caractéristique confère à ces bivalves un potentiel considérable en terme de reconstruction haute-résolution des variations infra-saisonniers des conditions environnementales, alors que les

coraux et les sédiments n'offrent le plus souvent qu'une résolution infra-annuelle à décennale. D'autre part, les mollusques permettent une couverture géographique très large des enregistrements de type « proxies » (écosystèmes polaires, tempérés et tropicaux, estuaires, zones côtières, plateau continental, sources hydrothermales, etc.). Enfin, le taux de croissance très élevé de certaines espèces permet d'étudier précisément, en conditions contrôlées, les mécanismes d'incorporation des signaux géochimiques dans la matrice coquillière.

Les études des coquilles de bivalves, une des huit classes de l'embranchement des mollusques connaît un essor grandissant. Leur croissance par incréments successifs de couches de carbonate de calcium, à une fréquence très rapide (marquage journalier chez certaines espèces) offre des informations intéressantes. Cette rythmicité élevée donne un dispositif reconstituteur de grande qualité sur le biotope chimique environnemental et l'état physiologique que l'animal a connu durant son existence.

Leur seul inconvénient peut résider dans une durée de vie moins élevée en général comparée aux coraux incluant un enregistrement de fenêtre temporelle plus petite, même si celui-ci est à très haute résolution. Pourtant, il existe des exceptions pour certaines espèces ; dernièrement un clam *Arctica islandica* des côtes islandaises aurait vécu entre 405 et 410 ans homologuant un nouveau record du règne animal ([www.bangor.ac.uk/news/full.php.en?Id=382](http://www.bangor.ac.uk/news/full.php.en?Id=382)). La combinaison de plusieurs espèces de bivalves sur un site peut permettre un suivi environnemental avec des résolutions et échelles de temps variables selon les espèces étudiées.

C'est dans ce cadre que les propriétés intrinsèques des bivalves, en font de bons candidats pour la compréhension de l'incorporation des signaux environnementaux ainsi que, pour *in fine*, la reconstruction des fluctuations environnementales passées (Wefer et Berger, 1991 ; Richardson, 2001a).

### **Constitution de la coquille – un creuset de traceurs**

Afin de comprendre comment des informations environnementales peuvent s'incorporer dans les coquilles des bivalves, il est nécessaire d'expliquer au préalable le processus de fabrication de la coquille. Cette bio-minéralisation n'est pas complètement régulée par des facteurs environnementaux mais aussi par des processus biologiques car les deux valves, communes à tout ce groupe zoologique, constituent l'exosquelette calcifié de l'animal. La coquille des mollusques se forme par précipitation à partir d'éléments dissous ( $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{HCO}_3^-$ ) (Wilbur & Saleuddin,

1983), et est secrétée par le bord du manteau, à savoir le Fluide Extra-Palléal (FEP). Il s'agit d'une couche de tissu qui entoure le corps de l'animal situé entre les cellules épithéliales du manteau et la surface de calcification de la coquille (Figure 1). Cette caractéristique apparaît importante car si des éléments métalliques sont présents dans ce fluide, ils peuvent être incorporés dans la matrice coquillière. Typiquement, FEP est isolé de l'eau de mer et présente des concentrations élémentaires ou isotopiques différentes. La composition de l'exosquelette des mollusques diffère selon les espèces mais se caractérise toujours par un montage complexe d'une fraction minérale (essentiellement du carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$ ) incluse dans une matrice organique (composée de protéines et glycoprotéines) pour une proportion avoisinant 95% $\text{CaCO}_3$ /5% Matière Organique (Carroll et al., 2006). Le processus de fabrication de la coquille, d'une grande complexité, n'est pas complètement élucidé compte tenu de la difficulté rencontrée pour comprendre le rôle des substances organiques et le peu d'études sur ce sujet. Explicitement, le principe réside dans la construction à la périphérie de la coquille d'une mince enveloppe éventuellement colorée et pourvue d'ornements dénommée périostracum. Cette strate s'élabore à partir de substances organiques essentiellement des protéines conchyolines. Ensuite, une épaisse couche sous-jacente, l'ostracum (couche des prismes) s'établit et se constitue de cristaux de carbonate de calcium séparés et emprisonnés dans une trame organique.

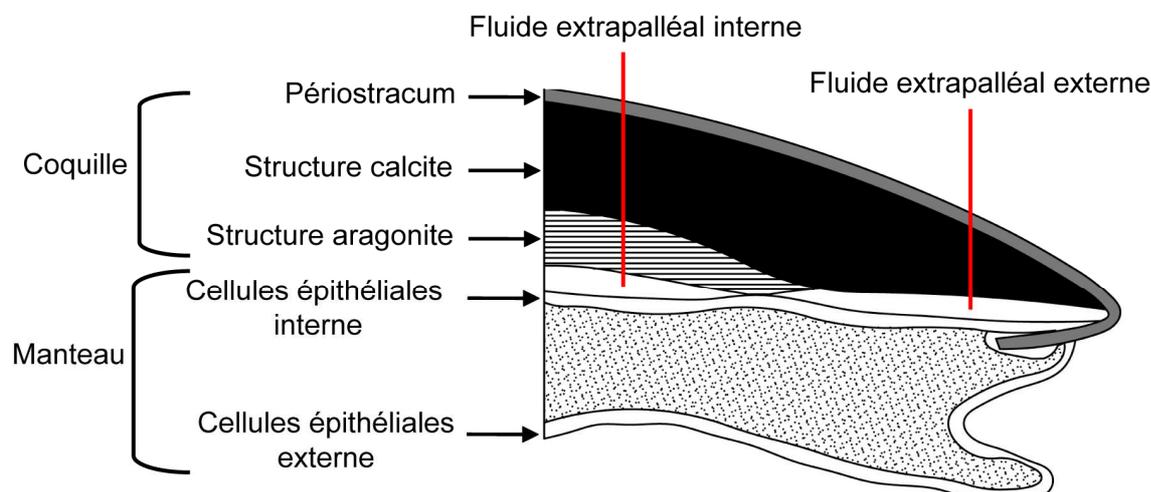
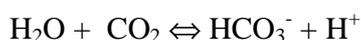


Figure 1 : Schéma illustrant les divers compartiments constitutifs des coquilles de mollusques (d'après Klein et al., 1996a). Il convient de noter que les valves de *Pecten maximus* ne contiennent pas la structure aragonite (excepté la partie située sous le muscle adducteur (Roux et al., 2000 ; Lorrain, 2002)).

L'ensemble des analyses faisant l'objet de ce mémoire se concentre sur les éléments dont les teneurs à l'intérieur de la coquille sont faibles à très faibles. En théorie ces éléments sont absents dans la matière organique, en conséquence cette phase ne sera pas plus détaillée ici.

Il a été démontré que deux enzymes participent activement aux mécanismes réactionnels de la précipitation du carbonate de calcium. Il s'agit de la phosphatase alcaline ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase) et l'anhydrase carbonique (CA). L'enzyme  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase augmente l'alcalinité du fluide extrapalléal pour favoriser la cristallisation du carbonate de calcium en entraînant le pompage des ions  $\text{Ca}^{2+}$  de FEP tout en ôtant les ions hydrogènes ( $2\text{H}^+$ ). L'anhydrase carbonique influe sur la vitesse de cristallisation en agissant comme catalyseur sur la transformation réversible du gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ) pour former l'acide carbonique ( $\text{HCO}_3^-$ ).



Explicitement, le  $\text{CO}_2$  qui se répand facilement dans les membranes (Cohen et McConnaughey, 2003) réagit avec l'eau pour former les ions ( $2\text{H}^+$  et  $\text{CO}_3^{2-}$ ). Ensuite, l'assemblage des ions carbonates  $\text{CO}_3^{2-}$  et des cations  $\text{Ca}^{2+}$  entraîne la formation du carbonate de calcium (la phosphatase alcaline substituant les ions hydrogènes) selon la réaction chimique suivante :



Il peut prendre deux organisations cristallines différentes : l'aragonite (système orthorhombique) et la calcite (système rhomboédrique). Une troisième forme (la vaterite, système hexagonal) existe mais elle est peu représentée chez les mollusques.

Chacune a son propre  $K_s$  (énergie libre de formation).

$$\text{PKs aragonite} = 8,22 \text{ et } \text{PKs calcite} = 8,35 \text{ à } T = 25^\circ\text{C}.$$

Ces deux formes minéralogiques sont spécifiques à l'espèce, en effet chaque type de mollusque présente une structure bien définie. Certains peuvent regrouper les deux types de réseaux cristallins délimités l'un de l'autre sous formes de couches (les moules), d'autres sont spécifiquement en aragonite (les amandes de mer) et enfin certains sont entièrement en calcite. Les coquilles Saint-Jacques sont en calcite excepté la partie se situant sous le muscle adducteur qui se compose d'aragonite.

C'est donc dans ces formes calcaires diverses que les biologistes recherchent des marqueurs biogéochimiques. Il est par conséquent important de bien connaître la nature de ces formes

cristallines pour correctement évaluer la proportion des traceurs.

### **Traceurs isotopiques**

L'étude des isotopes du carbone et de l'oxygène ( $\delta^{13}\text{C}$  :  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  et  $\delta^{18}\text{O}$  :  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) s'est avérée intéressante. En effet, plusieurs études ont établi que le rapport des isotopes stables de l'oxygène ( $\delta^{18}\text{O}$ ) au sein des coquilles de mollusques traduit précisément les variations de la température de l'eau de mer dans laquelle a vécu l'organisme constructeur du squelette calcaire (Epstein et al., 1953 ; Hickson et al., 1999 ; Elliot et al., 2003 ; Chauvaud et al., 2005). Toutefois, les travaux de Epstein et al. (1953) semblent montrer une influence du  $\delta^{18}\text{O}$  du fluide ambiant lors de la précipitation du carbonate. Ce dernier paramètre dépend lui-même de la salinité (Lorrain, 2002 ; Gillikin et al., 2005a).

Le  $\delta^{13}\text{C}$  des coquilles reflèterait la composition atmosphérique en  $\text{CO}_2$  et les variations de la productivité primaire du milieu aquatique (Dettman et al., 1999). Ces propositions restent hypothétiques. Elles sont à considérer avec prudence dans le cas des bivalves tant la compréhension des facteurs contrôlant le rapport  $\delta^{13}\text{C}$  dans les coquilles reste difficile du fait de la forte contrainte métabolique de l'animal sur ce paramètre (Owen et al., 2002 ; Lorrain et al., 2004).

### **Traceurs élémentaires**

Notons dès à présent que les éléments qui s'incorporent dans les carbonates bioconstruits peuvent être répertoriés en deux catégories : (1) les éléments mineurs dont la teneur dans la matrice carbonatée atteint plus de 100 ppm et (2) les éléments en traces qui ont une teneur inférieure à 100 ppm voire généralement  $< 1$  ppm (Rosenheim et al., 2005). Depuis les travaux pionniers de Emiliani (1954), de nombreux auteurs ont montré que les éléments mineurs ou en traces incorporés dans des carbonates biogéniques pouvaient être utilisés comme traceurs environnementaux (Weber, 1973, Smith et al., 1978, 1979 ; Dodge & Gilbert, 1984 ; Swart et al., 1984, 1999, 2002b ; Beck et al., 1992 ; Lea et al., 1993, 1996, 1999 ; Rong Min et al., 1995 ; Sinclair et al., 1998 ; Cardinal et al., 2001 ; Alibert et al., 2003 ; Reuer et al., 2003 ; Rosenheim et al., 2005 ; Rosenthal et al., 2006 ; Montaggioni et al., 2006 ; Diouf et al., 2006, ...). Les travaux réalisés sur les bivalves révèlent leur fort potentiel. Au sein de cette classe, de nombreuses recherches se sont concentrées sur la détection des métaux comme traceur de pollution de

l'écosystème où réside l'organisme (Richardson et al., 2001b ; Chiffolleau et al., 2004 ; Thébault, 2005 ; Barats, 2006). En effet, le calcium peut être en partie remplacé par d'autres éléments généralement métalliques (Me) car ces éléments se trouvent sous la forme de cations doublement chargés dans l'eau de mer (Raith et al., 1996 ; Stecher et al., 1996 ; Van der Putten et al., 1999 ; Lazareth et al., 2003 ; Lorrain et al., 2005). La réaction suivante permet la substitution de l'élément métallique au calcium :



Par ailleurs, il convient de noter que l'aragonite et la calcite se différencient clairement d'un point de vue cristallographique. Dans l'aragonite, la distance entre les atomes calcium et oxygène est plus importante permettant un remplacement plus aisé du Ca par des cations plus gros comme le Ba et le Sr (Barats, 2006). Par contre, vue leur petite taille le Mg et le Mn sont mesurés en concentrations plus importantes dans la calcite.

Plusieurs possibilités sont envisagées sur les voies de transfert des éléments de l'environnement pour atteindre l'emplacement de la calcification (Wang & Fisher, 1999 ; Roditi et al., 2000 ; Guo et al., 2001 ; Luoma & Rainbow, 2005). Typiquement les ions accèdent à l'hémolymphe des mollusques marins principalement par les branchies, bien qu'ils puissent y parvenir également par l'intermédiaire de l'intestin ou par diffusion directe au travers de l'épithélium externe du manteau (Wilbur et Saleuddin, 1983). Le transport à travers ces membranes est principalement facilité par diverses enzymes bien que les relations intercellulaires existent également.

La présence ou non d'un élément chimique dans la matrice dépend directement de leur disponibilité dans l'écosystème de la coquille c'est-à-dire à l'interface eau-sédiment (Thébault, 2005 ; Barats, 2006). Elle peut être « corrélée » à certains paramètres aussi bien physiques (température, salinité) que biologiques (productivité primaire, taux de croissance) ou chimiques (le degré de contamination de leur environnement).

Un indice (facteur d'enrichissement) est calculé afin d'exprimer simplement l'affinité d'un élément pour le carbonate de calcium. Le facteur d'enrichissement ( $D_{\text{Me}}$ ) est défini par

$$D_{\text{Me}} = ([\text{Me}] / [\text{Ca}]_{\text{carbonate}}) / ([\text{Me}] / [\text{Ca}]_{\text{sw}})$$

Typiquement, Me/Ca s'exprime en rapports molaires (Henderson and Kracek, 1927). L'idée de ces coefficients est de représenter la répartition de l'élément métallique (Me) et de son porteur (Ca ici) entre le solide (carbonate de calcium) et la solution (milieu où s'établit la calcification).

Des estimations ont déjà été réalisées dans les otolithes de poissons (Bath et al., 2000), les foraminifères (Havach et al., 2001 ; Hintz et al., 2006a, 2006b) et les coquilles de bivalves (Gillikin, 2005 ; Gillikin et al., 2006 ; Barats, 2006).

Un nombre important de travaux ont été réalisés visant tous à démontrer que l'incorporation de certains éléments dans les coquilles est modulée par les variations spatiales ou temporelles de l'environnement dans lesquelles croissent ces animaux. Le véritable défi de ces recherches est de pouvoir utiliser les liens établis entre les compositions des mollusques actuels avec l'océan environnant et les mollusques fossiles et la composition des océans du passé.

Dans ce contexte, du fait de leur présence majoritaire dans la matrice carbonatée, beaucoup de travaux ont porté sur le strontium et le magnésium afin de comprendre leur processus d'incorporation. Différents résultats se dégagent de ces analyses et divergent par leurs interprétations suivant les espèces étudiées. Le strontium a longtemps été l'objet d'études pour en faire un révélateur de la température de surface (Dood, 1965 ; Hallam & Price, 1968 ; Hart & Blusztajn, 1998). Cet intérêt était entretenu par l'existence d'une relation inverse entre la température et les rapports Sr/Ca dans d'autres organismes vivants tels que les coraux (Beck et al., 1992). Toutefois, de récents travaux estiment que le rapport Sr/Ca des coquilles de mollusques est influencé par d'autres paramètres tels le rapport Sr/Ca de l'eau (Lorenz et Bender, 1980), les changements de la salinité de l'eau chez *Ensis siliqua* (Pearce and Mann, 2006), l'activité métabolique du manteau chez *Mytilus trossolus* (Klein et al., 1996a), ou la vitesse de croissance chez *Mercenaria mercenaria* (Stecher et al., 1996), chez *Saxidomus giganteus* (Gillikin et al., 2005b) et chez *Pecten maximus* (Lorrain et al., 2005). L'interprétation de l'incorporation du strontium dans les coquilles diffère considérablement d'un auteur à l'autre même lorsque les études sont réalisées sur des espèces identiques. Gillikin et al. (2005b) n'observe pas de relation entre le taux de croissance et le rapport Sr/Ca chez *Mercenaria mercenaria*. De la même façon, Van der Putten et al. (2000) démontre l'absence de relation entre les variations du rapport Sr/Ca chez *Mytilus edulis* et l'un des paramètres environnementaux considérés (Sr/Ca de l'eau, température...). Ce constat est également fait chez *Concholepas concholepas* (Lazareth et al., 2007), car les variations de la teneur coquillière en strontium sont trop faibles pour être interprétées en termes de changements environnementaux. En outre, la présence du strontium dans les coquilles ne semble pas explicable par la thermodynamique seule,

mais également liée à des processus biologiques (Gillikin et al., 2005b). Pourtant, une récente étude (Wanamaker et al., 2008) a mis en évidence une forte corrélation ( $r^2 = 0,75$ ) entre le rapport Sr/Ca des valves juvéniles de la moule *Mytilus edulis* et la température lorsque la salinité du milieu est inférieure à 24. Ces auteurs estiment que le rapport Sr/Ca des valves juvéniles de *Mytilus edulis* pourrait permettre de reconstruire les variations de la température de l'eau dans les estuaires avec une précision de 2,8°C.

Des études sur *Mytilus trossulus* (Klein et al., 1996b), *Isognomon ehippium* (Lazareth et al., 2003) et *Protothaca staminea* (Takesue and Van Geen, 2004) suggèrent également que le magnésium pourrait être un traceur de la température de l'eau de mer. Or comme pour le strontium, les mêmes incertitudes sont révélées dans la littérature avec des conclusions contradictoires (absence de relation constante) chez *Mytilus edulis* (Van der Putten et al., 2000) et chez *Pecten maximus* (Lorrain, 2002 ; Freitas et al., 2006). Récemment, Wanamaker et al. (2008) considèrent que le rapport Mg/Ca des valves juvéniles de *Mytilus edulis* permettrait de reconstruire les variations de la température de l'eau dans les estuaires avec une précision de 2,4°C. En effet, ces auteurs ont observé une relation linéaire entre le rapport Mg/Ca dans la calcite de *Mytilus edulis* et la température du milieu ( $r^2 = 0,82$ ) lorsque la salinité reste inférieure à 24. Par ailleurs, l'analyse du mollusque chilien *Concholepas concholepas* (Lazareth et al., 2007) montre que l'incorporation du magnésium dans la coquille et le taux de croissance changent cycliquement entre la nuit et le jour. Pendant le jour, l'incorporation du magnésium semble corrélée avec la température de l'eau, par contre la nuit, elle apparaît contrôlée par le métabolisme de l'animal (activité trophique, et formation d'incrémentes de croissance riches en matière organique). Les résultats de cette étude pourraient expliquer, au moins en partie, les anomalies observées lors des travaux précédents portant sur l'utilisation du magnésium comme traceur de la température de l'eau de mer dans des coquilles de mollusque. Récemment, l'analyse de deux coquilles de bivalves *Arctica islandica* indique que les enrichissements saisonniers de Mg/Ca sont observables pendant les arrêts de croissance hivernaux (Foster et al., 2008). Cette étude suppose que le magnésium s'incorpore dans le carbonate de calcium mais aussi dans la phase organique. L'ensemble de ces résultats souligne la nécessité d'une calibration rigoureuse à l'échelle de chaque espèce (Klein et al., 1996a ; Van der Putten et al., 2000). Il semble donc difficile de tirer des conclusions aisément généralisables sur l'incorporation du strontium et du

magnésium dans les coquilles de bivalves.

Hormis les éléments pré-cités, l'essentiel des analyses des coquilles de bivalves concerne les teneurs en métaux lourds (Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, V, U) dans le but d'y détecter la présence de pollutions ou de contaminations anthropogéniques (Fuge et al., 1993 ; Raith et al., 1996 ; Schettler et al., 1996 ; Price and Pearce, 1997 ; Van der Putten et al., 2000 ; Richardson et al., 2001b ; Lorrain, 2002 ; Lazareth et al., 2003 ; Chiffolleau et al., 2004 ; Gillikin et al., 2005c ; Liehr et al., 2005 ; Pearce and Mann, 2006 ; Thébault, 2005 ; Kadar et al., 2006, Barats et al., 2008 ; Takesue et al., 2008). Beaucoup d'attention s'est portée sur le plomb depuis que des travaux sur les coraux (Shen & Boyle, 1987 ; Ramos et al., 2004) et les sclérosponges (Lazareth et al., 2000 ; Rosenheim et al., 2005) ont montré qu'il était possible de reconstruire les fluctuations environnementales de cet élément dans les eaux tropicales. Pour les bivalves, les premiers travaux estiment que la teneur coquillière en plomb de structure calcitique (Bourgoin, 1990) ou aragonitique (Pitts et Wallace, 1994) reflète les concentrations environnementales de ce métal. Pareillement aux éponges, les bivalves présentent la capacité de pouvoir accumuler des concentrations élevées en plomb dans leur exosquelette calcaire et donc d'archiver sur le caractère pollué ou non des sites étudiés (Price et al., 1997 ; Richardson et al., 2001b). Pourtant de récentes études reviennent sur ces premières conclusions, car une forte variabilité inter-individuelle et intra-annuelle se remarquent dans les concentrations coquillières de *Merceneria merceneria* (Gillikin et al., 2005c) et de *Comptopalium radula* (Thébault, 2005). Toutefois en dépit de cette variabilité, l'enregistrement chronologique de 1949 à 2002 obtenu par l'analyse de 11 coquilles *Merceneria merceneria* met en évidence la nette hausse de la teneur coquillière en plomb induite par l'utilisation d'essence plombée au début de l'ère industrielle (Gillikin et al., 2005c). Cette étude constate également que l'emploi de plusieurs spécimens permet seule de retracer efficacement à long terme les fluctuations environnementales en plomb.

Un ensemble de travaux a suggéré par ailleurs que les variations ontogéniques des teneurs coquillières d'autres éléments métalliques (Zn, Cu, Cd, Ni) peuvent être liées aux apports pélagiques en métaux dans l'océan (Fuge et al., 1993 ; Van der Putten et al., 1999 ; Giusti et al., 1999 ; Toland et al., 2000 ; Richardson et al., 2001b ; Liehr et al., 2005). À l'inverse, comme dans le cas du plomb, de récentes études menées sur les valves de *Comptopalium radula* (Thébault, 2005) et de *Bathymodiolus azoricus* (Cravo et al., 2007) pondèrent la valeur de ces résultats. Les concentrations coquillières en métaux sont faibles et présentent une forte variabilité

interindividuelle. L'étude sur *Comptopalium radula* a montré que les concentrations coquillères en métaux (Ni, Cr, Cu, Mn, Co) reflètent probablement plus les flux benthiques de métaux dissous que les apports pélagiques. En effet, aucune relation significative n'a pu être clairement constatée entre les concentrations en métaux dans les coquilles et dans le compartiment dissous de l'eau.

Dans ce contexte, l'identification des métaux dans les coquilles Saint-Jacques par la technique ICP-MS constituera une part importante des travaux réalisés dans le cadre de ce travail de thèse. Nous nous attacherons au paragraphe I-4 à décrire l'évolution d'éléments en traces (Ba, Mo, Mn) présents dans l'exosquelette des bivalves et détectés par la méthode LA-ICP-MS. Auparavant, il est primordial d'avoir une parfaite connaissance de l'organisme étudié, de sa biologie, et de son autoécologie, pour parvenir à interpréter nos résultats.

### **Choix des bivalves**

L'un des critères de sélection d'un modèle biologique d'archivage environnemental est l'ensemble de connaissances acquises sur la biologie de l'espèce. Celle-ci doit être suffisante pour que cet animal puisse devenir un modèle biologique pertinent dans le cas de la calibration de traceurs. Le principal critère de sélection repose sur la connaissance incontestable de la rythmicité de leur dépôt coquillier. En effet, ce processus permet d'établir les relations entre les différents traceurs inclus dans les valves et les variations des paramètres environnementaux. Pour certains bivalves, il est si difficile de déterminer cette fréquence de formation des stries lorsqu'elles sont présentes, que la datation des échantillons s'en trouve imprécise ou approximative voire impossible. De plus, la périodicité journalière ne peut être considérée comme une caractéristique universelle de la famille de bivalve considéré. La naissance d'incertitude sur le calage chronologique conduit à des difficultés (erreurs) d'interprétation (Klein et al., 1996 a, b ; Van Der Putten et al., 2000).

#### **Les Pectinidae : un modèle biologique adaptée à la calibration / utilisation des traceurs.**

De toutes les familles de mollusques ayant été étudiées dans un cadre paléocéanographique, celle des coquilles Saint-Jacques (Bivalvia ; Pectinidae) compte parmi les plus intéressantes. Les études menées par les membres du groupe de recherche ACI-PECTEN (Action Concertée Incitative Jeunes Chercheurs 2001) ont notamment démontré que la coquille Saint-Jacques européenne, *Pecten maximus*, le pétoncle chilien *Argopecten purpuratus*, et le pétoncle

calédonien, *Comptopallium radula*, étaient des outils puissants pour décrire l'hydroclimat, puisque leurs coquilles enregistrent à très haute fréquence de nombreuses informations hydro-biologiques nécessaires à la compréhension du fonctionnement des écosystèmes côtiers et de leur climat (présence de stries de croissance journalières chez *Pecten maximus* et *Argopecten purpuratus* et bi-journalières chez *Comptopallium radula* (Chauvaud et al., 1998 ; Thébault et al., 2006 ; Thébault et al., 2008 ; Patry, 2009). En ce qui concerne *Pecten maximus* (Linné 1758 ; Figure 2), notre groupe de recherche a déjà étudié plusieurs covariations :

- de floraisons phytoplanctoniques et de ralentissements de croissance (Chauvaud et al., 1998 ; Lorrain et al., 2000).
- des concentrations en vanadium et nickel au sein de la calcite des coquilles ayant vécu la catastrophe pétrolière de l'Erika (Chiffolleau et al., 2004 ; Chauvaud et al., 2004).
- de la respiration/calcification et du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{CCID}}$  et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$  (Lorrain et al., 2004).
- de la température et du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$  des valves (Chauvaud et al., 2005).
- du rapport (Sr/Ca)<sub>calcite</sub> et de la croissance des valves (Lorrain et al., 2005).
- et très récemment, des floraisons phytoplanctoniques et des concentrations coquillières en baryum et en molybdène (Barats et al., 2009, soumis).

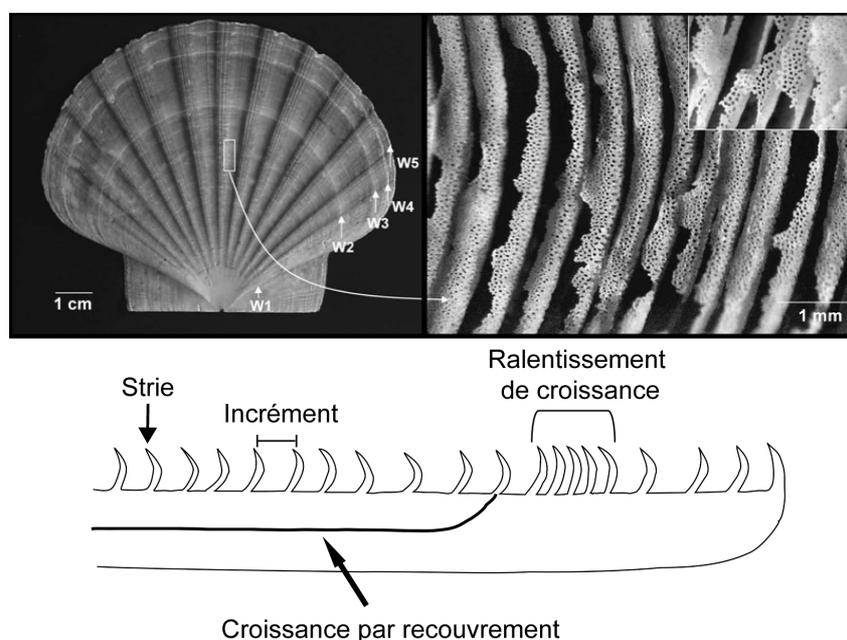


Figure 2 : Illustration, caractéristique de l'espèce *Pecten maximus* et représentation schématique de sa croissance coquillière.

La biologie, la physiologie, ainsi que l'écologie de cette espèce sont parfaitement connues, C'est une espèce sédentaire et aux déplacements limités (du mètre à la dizaine). Parmi les autres avantages de cette espèce, citons notamment ses larges distributions latitudinale (Portugal-Norvège) et bathymétrique (1-500 m). De plus, comme sa présence sur les côtes atlantiques remonte à 35 millions d'années et que l'homme l'a utilisée comme parure ou aliment depuis le néolithique, cette espèce est retrouvée lors de fouilles archéologiques dans des sépultures ou dans des amas de restes culinaires (Taborin, 1993). *Pecten maximus* est également récupérée ou extraite de dépôts sédimentaires. Du paléolithique à aujourd'hui, la coquille se révèle un excellent outil de recherche pour la paléoclimatologie. *Pecten maximus*, par la très haute fréquence des reconstructions qu'autorise sa coquille, mais aussi par le fort degré de connaissances écologiques associées à cette espèce, se présente donc comme un excellent outil pour atteindre les objectifs fixés dans le cadre de cette thèse.

### **L'analyse des valves par ICP-MS**

Les études sur les coquilles de bivalves se sont accrues durant ces quinze dernières années grâce à l'essor et au perfectionnement des méthodes d'analyses physico-chimiques. Auparavant, il était inconcevable de pouvoir extraire à haute résolution les informations chimiques contenues dans la matrice calcaire du fait des limites de détection restreintes des techniques analytiques utilisées. Les premiers travaux réalisés sur les bivalves utilisaient l'ensemble de la coquille (les deux valves) dans le cadre d'études visant la description de pollutions environnementales (Pilkey & Goodell, 1963 ; Dood, 1965 ; Brooks et al., 1965 ; Pilkey & Harris, 1966). L'exosquelette des bivalves suscitaient l'intérêt des biologistes car il s'avérait plus propice à l'analyse que les tissus mous (aisance de manipulation et absence de soin de stockage). Puis, les améliorations technologiques permirent d'accéder à une détection élémentaire de plus en plus sensible et un micro-échantillonnage plus sophistiqué pouvant générer des prélèvements moins espacés le long de la coquille (Stecher et al., 1996). Ce progrès est dû aux mesures par diverses techniques dont la fluorescence des rayons X (Hallam et Price, 1968), la microsonde électronique (Van der Putten et al., 1999) et protonique (Carriker et al., 1982 ; 1991, Takesue et al., 2008) la spectrométrie d'absorption (Carriker et al., 1980), et d'émission atomique (Klein et al., 1996a ; 1996b ; Freitas et al., 2006, 2008 ; Wanamaker et al., 2008).

Parmi ces nombreux développements, l'outil qui fait l'objet de la plus grande attention est un spectromètre de masse à source plasma couplé avec un système d'ablation laser (LA-ICP-MS) (Gray, 1985 ; Jarvis et al., 1992). Une alternative à l'ablation laser comme moyen de prélèvement est la micro-foreuse ("micromill") qui permet d'analyser, après une préparation chimique, des échantillons de carbonate (Lorrain et al., 2002 ; Richardsdon et al., 2005 ; Gillikin et al., 2005c, Freitas et al., 2006, 2008...). Ces deux méthodes permettent d'étudier la composition chimique des coquilles à très haute résolution spatiale donc temporelle. Les atouts techniques et analytiques sont multiples car la détection est rapide et multi-élémentaire à de faibles limites de détection, de l'ordre de la ppb.

Un ensemble de travaux a exploré cette technique analytique lors de l'identification et de la quantification des évolutions des teneurs élémentaires au sein des carbonates biogéniques marins (Fuge et al., 1993 ; Van der Putten et al., 2000 ; Richardson et al., 2001b, Gillikin, 2005 ; Lazareth et al., 2007 ; Thébault et al., soumis). Le LEMAR a déjà largement contribué à mettre en œuvre et utiliser ce type d'instrument pour analyser les coquilles Saint-Jacques via une collaboration avec le LCABIE (Laboratoire de Chimie Analytique BioInorganique et Environnement) de Pau (Lorrain, 2002 ; Thébault, 2005 ; Barats, 2006 ; Barats et al., 2007, 2008, 2009, soumis ; Thébault et al., 2009). Les résultats ont permis de discerner les informations chimiques élémentaires contenues dans la calcite des coquilles en fonction des conditions environnementales, de découvrir de nouveaux traceurs et de la sorte mieux calibrer l'outil *Pecten*. La recherche des traces métalliques dans *Pecten maximus* constitue le cœur de ce mémoire. Ce manuscrit s'organisera autour de quatre parties.

La **1<sup>ère</sup> partie** reviendra sur l'intérêt d'utiliser les spectromètres à source plasma comme outil quantitatif adapté au travail de recherche paléoenvironnementale lorsque l'on utilise l'exosquelette des mollusques comme archive. Une description de chaque type d'instrument sera entreprise puis nous montrerons les spécificités particulières du HR-ICP-MS. Nous détaillerons le fonctionnement de l'ICP-MS Element 2 sur lequel toutes les analyses de cette étude ont été effectuées. Après un récapitulatif des résultats antérieurs obtenus sur divers mollusques par la technique LA-ICP-MS (dont la collaboration LEMAR/LCABIE), nos objectifs seront présentés.

La **2<sup>ème</sup> partie** développera précisément l'approche méthodologique mise en place pour quantifier les éléments présents dans les valves de *Pecten maximus* selon les deux modes d'analyses disponibles sur l'Element 2 (analyse en phase liquide ou en couplage avec un système d'ablation

laser).

La **3<sup>ème</sup> partie** se découpera en quatre sections.

-Premièrement, nous comparerons et contrôlerons les concentrations élémentaires obtenues sur le même individu à partir de nos deux protocoles analytiques.

-Deuxièmement, nous vérifierons si nos résultats s'accordent avec les études précédentes réalisées sur *Pecten maximus* au LCABIE de Pau par LA-ICP-MS quadripolaire (Barats, 2006).

- Troisièmement, nous comparerons la méthodologie analytique développée sur l'ICP-MS avec la microsonde électronique (Microsonde Ouest IFREMER Brest). Cet instrument a été utilisé au cours de cette étude pour déterminer et vérifier l'abondance du calcium dans les coquilles Saint-Jacques. Il a permis également de quantifier quelques éléments mineurs présents dans cette matrice (Na, Sr, S).

- Enfin, la dernière section de ce chapitre discutera de l'homogénéité de la distribution élémentaire dans les coquilles de *Pecten maximus*.

La **4<sup>ème</sup> partie** abordera les résultats obtenus au cours de ce travail de thèse à partir des valves de *Pecten maximus*. Elle examinera les variations de la teneur en certains éléments en traces dans la matrice carbonatée qui semblent « corrélées » à des conditions environnementales ou à des facteurs biologiques.

- Des enrichissements épisodiques printaniers du molybdène sont constatés sur chaque spécimen étudié au cours de ce travail de thèse. Nous supposons que l'ingestion de cellules phytoplanctoniques ayant concentrées du molybdène lorsque les nitrates sont la source d'azote pour la biomasse phytoplanctonique dans les écosystèmes côtiers pourrait expliquer les augmentations transitoires de la teneur en Mo dans les valves de *P. maximus*.

- Ensuite, l'évolution spécifique du lithium sera discutée car un ou plusieurs paramètres semblent influencer son incorporation dans les valves de *Pecten maximus* :

-Un signal basique qui semble principalement relié à la croissance de l'animal

-La présence, certaines années, d'enrichissements épisodiques dont l'origine est complexe à déterminer.

Enfin, une **synthèse** dressera un bilan général quant à la méthodologie mise en place sur l'Element 2 et reviendra sur les résultats principaux observés au cours de cette étude. Puis, nous terminerons sur les nombreuses réflexions et perspectives ouvertes par ce sujet.





## **I L'ICP-MS comme outil de recherche sur l'évolution climatique** **(via l'étude des mollusques)**

### **I-I Historique**

La spectrométrie de masse occupe une place importante dans l'histoire de l'innovation technique et scientifique.

Suite aux travaux d'E Goldstein en 1806 et W.Wien en 1890 cherchant à déchiffrer le noyau atomique ; les expériences de J.J. Thomson en 1897 permirent la démonstration de l'existence des électrons aboutissant à la conception du premier véritable modèle atomique.

Grâce à la caractérisation du rapport  $m/z$  (masse/charge massique), il obtint en 1912 les premiers spectres de gaz ( $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ), puis observa les ions négatifs, les ions multichargés et découvrit des métastables. L'année suivante, il mit en évidence les isotopes  $A= 20$  et  $22$  du néon.

Le concept principal de séparateur des masses d'atomes divers et leurs isotopes étant établi, les innovations qui suivirent tendirent principalement à augmenter la sensibilité du dispositif. Ainsi en 1918, A.J. Dempster conçut le premier spectromètre à secteur magnétique. L'année suivante, F.W. Aston améliora l'outil en triant les ions selon leur vitesse afin d'accéder à une mesure de l'abondance relative des isotopes. Enfin, c'est en 1942 que le spectromètre de masse devint commercialement disponible.

Fondamentalement un spectromètre de masse comprend les parties suivantes :

- ⇒ Un système d'introduction de la substance à analyser
- ⇒ Une source pour ioniser cette substance
- ⇒ Un ou plusieurs analyseurs pour séparer les divers ions produits
- ⇒ Un détecteur pour compter les ions
- ⇒ Et enfin un système de traitement des données ainsi acquises.

Autour de cette représentation de principe, il existe un grand nombre de spectromètres de masse. Ils s'adaptent aux exigences des divers utilisateurs (chimie, biologie, pharmacie, archéologie...). Concernant l'ICP-MS, son origine dérive des travaux de Houk en 1980 (Houk et al., 1980) sur la maîtrise et du potentiel d'une source à plasma produit par couplage inductif (ICP).

Le terme ICP-MS tiré des initiales de l'appellation anglaise Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer signifie en français spectromètre de masse à plasma à couplage inductif. Le fonctionnement de cet appareil est basé sur l'association d'une source plasma produit par un couplage inductif générant des ions (ionisation) avec un spectromètre de masse permettant de séparer les ions selon leur masse puis de les détecter.

## **I-2 Qu'est ce qu'une source plasma ?**

Tout d'abord le plasma aussi nommé « quatrième état de la matière », faisant suite dans l'échelle des températures aux trois états classiques, solide, liquide, gazeux, n'existe qu'à très haute température. Il est défini quand l'énergie est si importante que les chocs inter-atomiques vont réussir à arracher des électrons des couches périphériques des atomes. Il s'agit de la transformation progressive d'un gaz en un gaz ionisé. Il se constitue de particules neutres, chargées, d'ions positifs et d'électrons ; c'est-à-dire un assemblage de particules de natures différentes qui peuvent interagir entre elles ainsi qu'avec l'environnement et en proportion telles que le milieu est globalement neutre. On parle de « soupe » d'électrons extrêmement agités dans laquelle baignent des noyaux d'atomes.

Normalement, un milieu gazeux non chargé est électriquement non-conducteur. Soumis à un champ électrique faible, un gaz pur est considéré comme un isolant parfait, car il ne contient aucune particule chargée libre (électrons ou ions positifs). Les électrons libres et les ions positifs peuvent apparaître si on soumet le gaz à un champ électrique de forte intensité ou à des températures suffisamment élevées, si on le bombarde de particules ou s'il est soumis à un champ électromagnétique très intense. Lorsque l'ionisation est assez importante pour que le nombre d'électrons par unité de volume soit comparable à celui des molécules neutres, le gaz devient alors un fluide très conducteur qu'on appelle plasma.

C'est cette transformation qui est réalisée au sein de l'ICP-MS et qui est représentée sur la Figure 3 ci-dessous.

La source plasma à couplage inductif repose donc sur l'élaboration d'un plasma généré par couplage inductif dans un flux de gaz rare généralement l'argon (Mermet JM, 1989) au sein duquel l'échantillon en solution est introduit sous forme d'aérosol. L'hélium et l'azote peuvent aussi être utilisés mais l'argon est essentiellement exploité car il possède une énergie d'ionisation élevée (15,75 eV) qui permet l'analyse de la plupart des éléments. Il est indispensable que le gaz plasma soit pur, car des contaminants dans le gaz pourraient éteindre la torche.

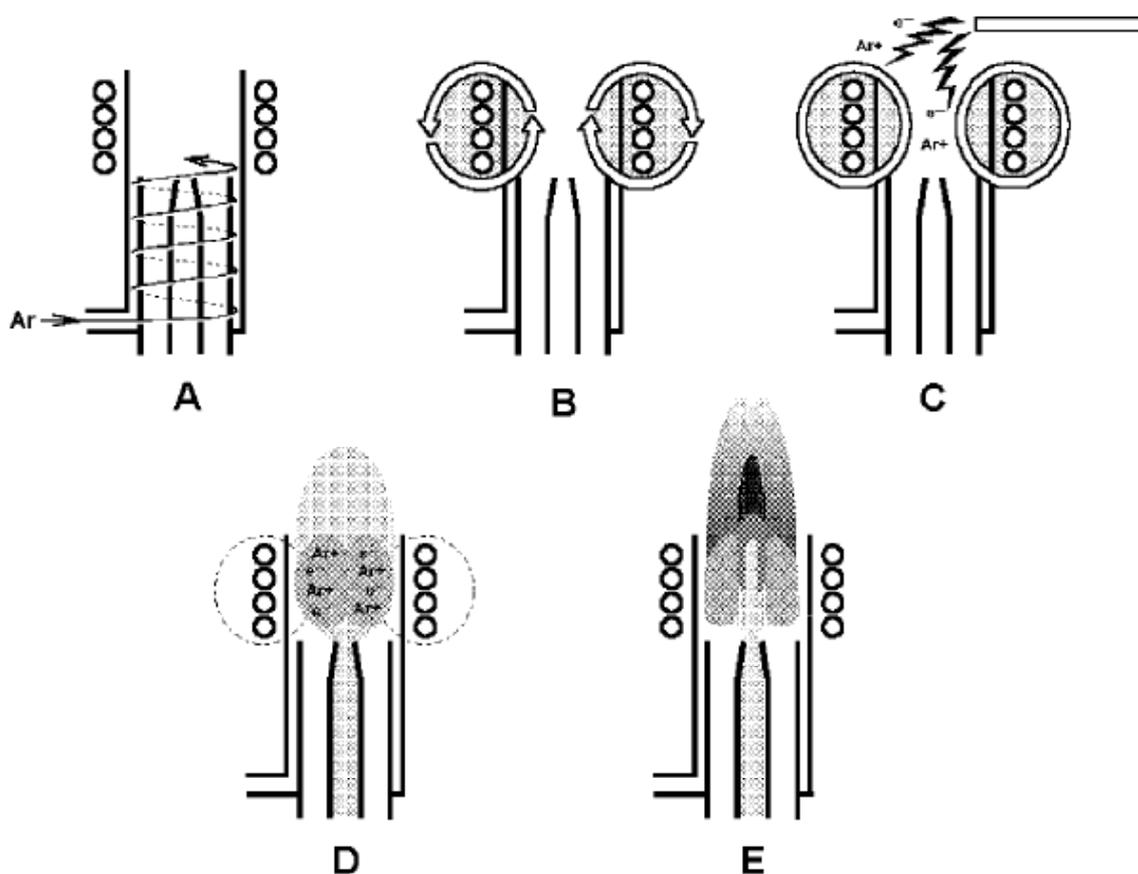


Figure 3 : Décryptage de l'allumage d'un plasma sous ICP (d'après Boss et Freedon, 1997).

La Figure 3 qui détaille les étapes successives de création du plasma montre que celui-ci est maintenu dans une torche qui se compose d'une série de trois tubes concentriques habituellement en quartz. Premièrement, un flux continu tourbillonnant d'argon gazeux circule à travers les deux tubes les plus à l'extérieur de la torche (A). L'extrémité de la torche est entourée par une bobine

d'induction refroidie assemblée à un générateur de haute fréquence (B). Puis un court instant, une étincelle électrique est déclenchée pour introduire quelques électrons libres dans le jet de gaz (C). Ces électrons interagissent avec le champ magnétique du solénoïde. Ils se retrouvent accélérés d'abord dans un sens puis dans l'autre car le champ a la particularité d'être oscillant à haute fréquence. Ce mécanisme parvient à créer un champ électromagnétique haute fréquence dans la bobine qui engendre une accélération des électrons. Ceux-ci vont en conséquence se heurter à des atomes d'argon et les ioniser. Il en résulte une croissance subséquente d'un plus grand nombre d'électrons et d'ions argon par stimulation de collision, qui seront eux-mêmes accélérés (D). Le mécanisme se poursuit jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint entre l'ionisation de l'argon et la recombinaison des électrons avec des ions d'argon.



Les collisions de ces différentes espèces provoquent finalement la formation d'un plasma sur le haut de la torche approchant une température de 8000 Kelvins. A cet endroit, l'écoulement gaz porteur- aérosol échantillon va pénétrer, perforer et percer un trou dans le plasma (E). Le plasma est auto refroidi par son propre gaz ce qui évite la fonte du bord de la torche. Une longue queue, illustrée sur la Figure 4, s'étire où la température fluctue entre son cœur (8000°C) et sa périphérie (environ 6000°C).

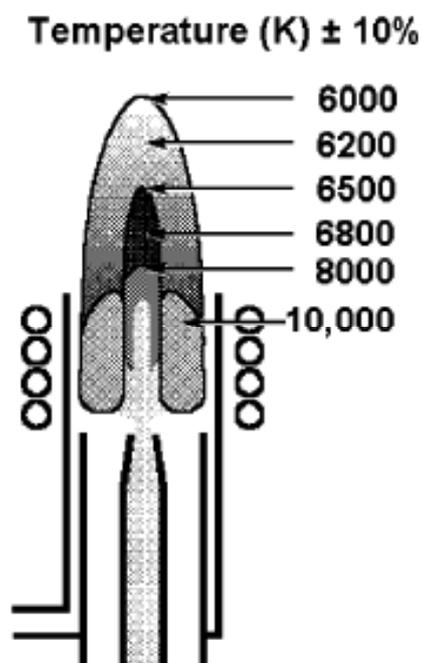


Figure 4 : Représentation des régions de température du plasma (d'après Boss et Freedon, 1997).

Au centre du plasma, tous les éléments sont ionisés alors qu'au niveau périphérique, de multiples recombinaisons entre les ions des échantillons et les éléments majoritaires contenus dans le plasma se produisent: O, H, N et Ar. Ces recombinaisons favorisent la formation de nombreux complexes (oxydes, hydroxydes, etc...). Ils peuvent avoir une masse très proche de celles des éléments souhaités à doser. Ils entraînent de ce fait l'existence de nombreuses interférences de masse qui devront être filtrées ou corrigées.

### **I-3 Différents spectromètres à source plasma**

Le type de spectromètre varie selon le type d'analyseur ajouté à la source ICP. L'ICP est respectivement utilisé comme source d'émission atomique pour l'ICP-AES (Inductively Coupled Plasma –Atomic Emission Spectrometry) et comme source d'ions pour l'ICP-MS.

#### **I-3-1 L'ICP-AES**

Fonctionnement : brièvement, le phénomène d'émission atomique repose sur le fait que les électrons des atomes excités (ionisés) se trouvant dans un état instable retournent à l'état fondamental. Sous cette action, ils émettent un photon dont la longueur d'onde est caractéristique de l'élément. Le principe de l'ICP-AES consiste à séparer selon un système dispersif les raies d'émissions issues de la désexcitation des analytes dans le plasma afin de les isoler puis de les détecter à l'aide d'un photomultiplicateur. Comme l'intensité des raies d'émission d'un atome ou d'un élément est proportionnelle à sa concentration dans la solution ; une analyse quantitative peut être conçue. Pour plus d'informations, Boss et Freedon (1997) énoncent de façon plus détaillée la description technique de l'appareil, le principe de fonctionnement, la méthodologie ainsi que les avantages et les limites d'analyse par ICP-AES. Dans le contexte biologique, des analyses ont déjà été réalisées par Richardson et al. (2004), Freitas et al. (2006, 2008) et Wanamaker et al. (2008) pour la détermination des rapports Mg/Ca et Sr/Ca dans des coquilles de l'espèce *Pinna nobilis*, *Pecten maximus* et *Mytilus edulis*. C'est une technique rapide, simple d'utilisation, robuste, appliquée principalement pour l'obtention précise des compositions en éléments majoritairement présents dans les matrices bio-carbonatées (>100 mg.l<sup>-1</sup>). De ce fait, elle ne concernera pas les investigations de ce mémoire. Ces limites de détection apparaissent insuffisantes pour l'analyse d'éléments à l'état de traces que l'on cherche à estimer dans les coquilles Saint-Jacques.

### I-3-2 L'ICP-MS

Actuellement, l'ICP-MS est un instrument dont l'utilisation s'accroît. Il est doté d'une excellente sensibilité permettant de travailler à des concentrations 100 à 1000 fois inférieures à celles nécessaires pour l'ICP-AES. Il s'avère un outil idéal pour l'analyse des éléments sous forme de traces voir ultra traces (élément dont la teneur est  $<$  à la ppm et qui approche les ppt ( $10^{-12}$  g/g) pour les ions non interférés). Son domaine d'analyse concerne toutes sortes de matériaux naturels comme les solutions aqueuses, les sédiments, les roches voire les composants électroniques. De plus, c'est une technique récemment employée pour la détermination des éléments en traces dans les matrices bio-carbonatées qui se révèle performante.

Deux types d'ICP-MS existent qui diffèrent par leur système de séparation et filtre en masse.

#### I-3-2-a L'ICP-MS quadripolaire :

Cet instrument sélectionne les ions en les faisant vibrer lors de leur passage dans le quadripôle. Le quadripôle est constitué de 4 électrodes cylindriques parallèles où s'établit une combinaison d'un champ électrique fixe (tension continue U) et d'un champ électrique oscillant (tension alternative V). Ainsi, seuls les ions ayant une trajectoire sinusoïdale stable suivant V et U passeront l'obstacle et seront détectés, comme représentés sur la Figure 5.

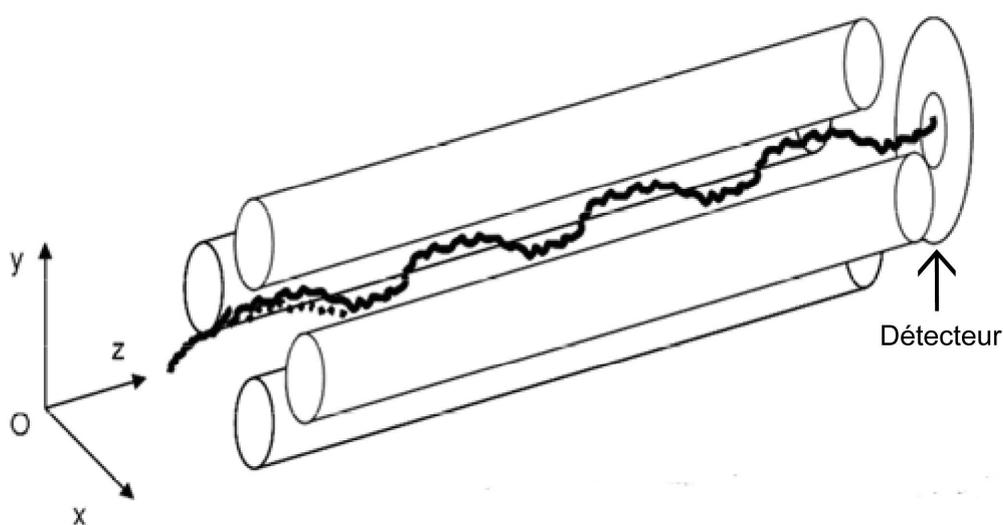


Figure 5 : Schéma de la trajectoire stable d'un ion traversant le quadripôle.

Les avantages de l'ICP-MS quadripolaire, résident dans sa rapidité d'analyse, sa simplicité d'utilisation, sa faible maintenance, son couplage et agencement à différentes interfaces. Cette adaptabilité permet un assemblage aisé avec un système d'ablation laser ou avec un dispositif de chromatographie liquide ou gazeuse. Par contre, sa résolution minimale (unitaire) sur toute la gamme de masse peut s'avérer une contrainte face aux interférences spectrales. Elles peuvent être résolues, pour certains cas, par les cellules de collision qui consistent en l'ajout d'une cellule pressurisée contenant un gaz permettant d'éliminer certaines interférences nuisibles (polyatomiques).

### I-3-2-b le HR-ICP-MS :

Cette deuxième technologie d'ICP-MS est caractérisée par une filtration en masse via une configuration de type Nier-Johnson inversée. Elle correspond à l'association d'un secteur magnétique et d'un secteur électrostatique permettant la réalisation d'une double focalisation. Ceci aboutit à l'obtention d'une meilleure sensibilité et d'une meilleure résolution comparée à l'ICP-MS quadripolaire. L'analyse reste multi élémentaire, rapide (moins que pour un ICP-MS quadripolaire) et sélective. Les limites de détection s'en trouvent conséquemment améliorées et atteignent le ppt pour les ions non interférés.

L'IUEM possède ce type d'instrument mis en service commun depuis 2004. C'est un ICP-MS (Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometer) de type HR (High Resolution) Thermo Electron<sup>TM</sup> Element 2.

Toutes nos études, investigations et mises au point méthodologiques pour analyser les éléments sous forme de traces incorporés dans des coquilles Saint-Jacques ont été réalisées avec cet appareil.

Le mode d'utilisation de ces outils peut différer selon la méthode d'analyse envisagée.

- 1°) Soit une analyse directe (nécessitant un couplage avec un laser)
- 2°) Soit une analyse indirecte (préparation chimique permettant la mise en solution des échantillons).

## I-4 Fonctionnement de l'Element 2

### I-4-1 Analyse en phase liquide

L'analyse indirecte correspond au cas où l'échantillon à analyser est dissous dans une matrice aqueuse, par le biais d'une préparation chimique adaptée. Cette procédure est développée au chapitre II, car elle reste propre au type de matrice de l'échantillon et aux éléments analysés.

Lors d'une analyse indirecte, la seule partie (A) (Figure 6) de l'appareil est différente de celle utilisée dans une analyse directe. Cette dernière nécessite un couplage avec un système d'ablation laser et sera décrite au paragraphe suivant (I-4-2).

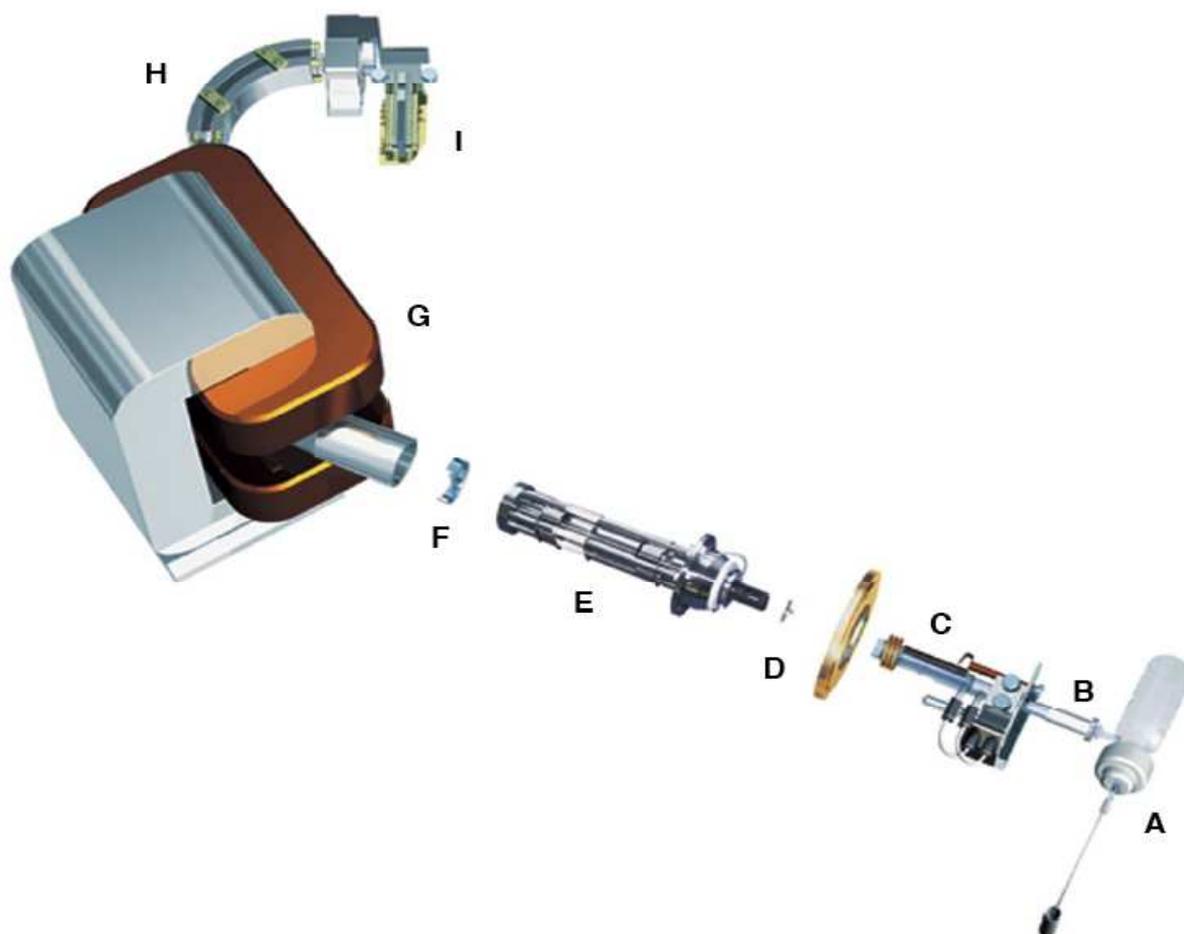


Figure 6 : Schéma descriptif d'un Thermo Electron<sup>TM</sup> HR ICP-MS Element 2.

Le jour de l'analyse, les solutions sont transférées dans des tubes à centrifuger en polypropylène sur un passeur automatique piloté par l'ordinateur contrôle de l'ICP-MS.

Lors d'une analyse en phase liquide, l'échantillon est prélevé par un capillaire pour être acheminé via une pompe péristaltique jusqu'au nébuliseur. Il se retrouve transformé en aérosol à l'entrée de la chambre de nébulisation grâce à l'action d'un gaz propulseur d'argon purifié. Ce mélange est introduit dans la chambre de nébulisation (A) qui par condensation des plus grosses gouttes sur les parois permet l'introduction des particules les plus fines dans le plasma. Cette opération permet d'accéder à la formation d'un brouillard extrêmement fin et homogène tout en garantissant un transport optimum des éléments en solution dans le plasma.

L'injecteur (B) amène ensuite l'aérosol au contact du plasma. Le plasma préalablement généré dans la partie torche (C), dont le principe a été détaillé au paragraphe I-2, permet l'évaporation, et l'ionisation des éléments présents dans l'aérosol.

L'interface (D) entre la partie torche et le spectromètre de masse est constituée d'une association de deux cônes (composés soit de Ni, de Al ou de Pt) positionnés l'un derrière l'autre entre lesquels un vide primaire est créé. La Figure 7 présente les constituants de l'interface et en particulier la position critique des deux cônes.

Cette partie permet, d'une part, le passage de la torche (pression atmosphérique) à la partie spectromètre de masse (sous ultravide  $1.10^{-6}$  bar) puis d'autre part l'accélération des ions.

Il est indispensable que les spectromètres de masse opèrent dans l'ultravide pour éviter toute collision du faisceau ionique avec les molécules atmosphériques. Ainsi, la pompe primaire d'interface permet d'aspirer le plasma, entraînant les ions dans l'interface à travers les cônes. La géométrie des cônes et leur espacement sont conçus de manière à sélectionner le faisceau ionique généré par le plasma, le long de l'axe central du plasma c'est-à-dire dans la zone de silence se localisant en arrière de l'onde de choc induite par sa vitesse supersonique.

Le faisceau ionique, transféré dans la partie spectromètre de masse, subit une accélération par un champ électrique à  $-2000V$  au niveau de la lentille d'extraction accélérant tous les ions positifs. Ensuite, une combinaison de lentilles électroniques et de petits quadripôles (E) focalise ce signal.

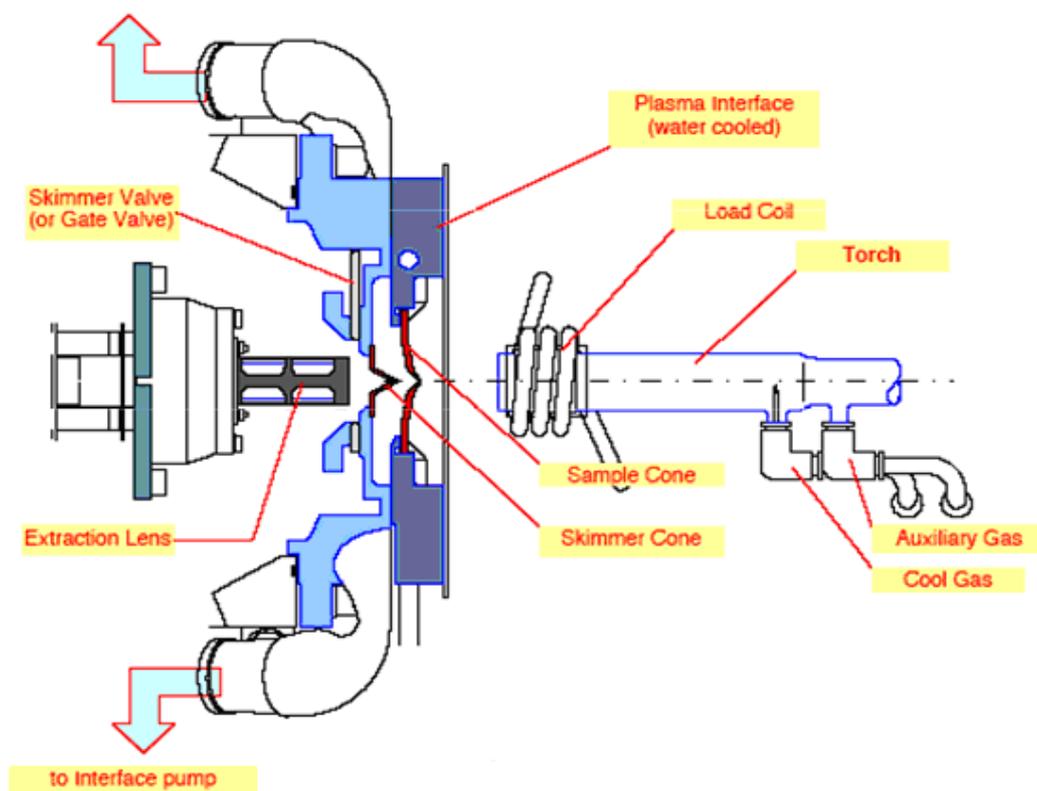


Figure 7 : Agrandissement de la zone interface.

Placées à la sortie du système de focalisation, les fentes de résolution (F) (entrance slit) constituées de plaques métalliques percées de trois fentes, vont modifier physiquement la largeur du faisceau ionique avant son entrée dans le secteur magnétique afin d'adapter la résolution en fonction des analyses réalisées. En effet, la méthode d'ionisation des éléments par la torche à plasma d'argon génère de nombreux complexes interférant avec les éléments que l'on souhaite analyser (paragraphe I-2). L'Element 2 présente la spécificité d'éliminer ces interférences de masse en augmentant la résolution. Ceci est accompli en diminuant physiquement la taille du faisceau ionique grâce aux fentes d'entrée et de sortie (entrance et exit slit) présentes avant et après le séparateur en masse. La réduction de la largeur du faisceau ionique permet d'augmenter la résolution en masse en sortie de l'électro-aimant, de séparer une partie des superpositions massiques dues aux interférences (oxydes, hydroxydes, ions doublement chargés...)

En revanche, cette augmentation de la résolution s'accompagne d'une perte conséquente sur l'intensité du signal (Figure 8).

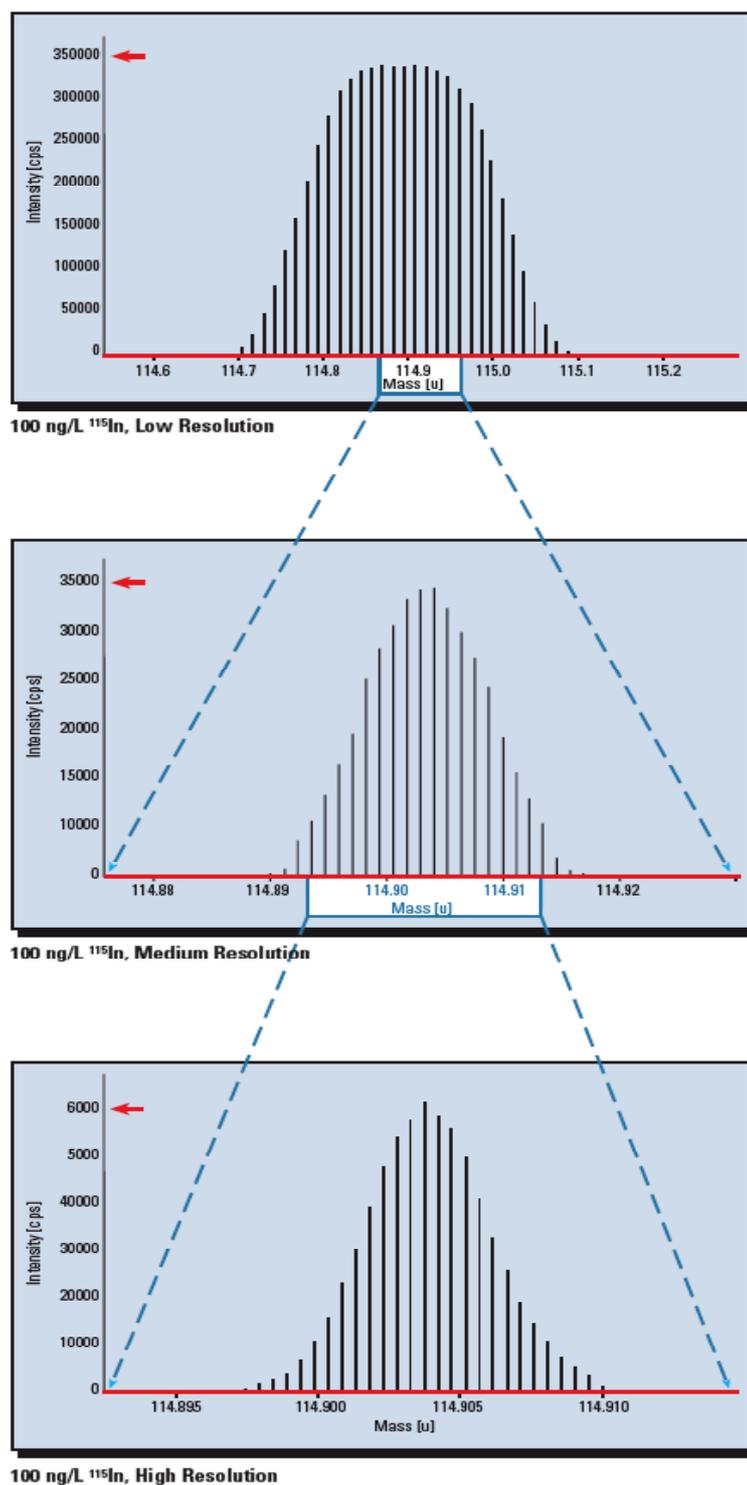


Figure 8 : Evolution de la forme du pic et de la perte en signal lors du passage basse-moyenne et haute résolution pour l'isotope  $^{115}\text{In}$ .

Le choix de travailler en basse, moyenne ou haute résolution est dépendant de nombreux paramètres comme le type de matrice, l'abondance de l'élément, et le type d'interférence à corriger (oxyde, hydrure, ion doublement chargé...).

Après la focalisation électrique, les ions sont sélectionnés en masse par un double filtre combinant secteur magnétique (G) et secteur électrostatique (H). Le secteur magnétique permet de trier les ions en fonction de leur masse. Le secteur électrostatique élimine les ions qui ont la bonne masse mais une mauvaise énergie cinétique. La trajectoire des ions traversant la zone où règne un champ magnétique uniforme perpendiculaire au plan de leur trajet, se trouve courbée en fonction de leur rapport masse/charge (dans la plupart des cas la charge est  $1^+$ ). La gamme de masses analysées avec cet instrument couvre l'ensemble du tableau périodique.

Dès que les ions sortent du séparateur en masse, ils pénètrent dans le système de détection (I) qui mesure en nombre de coups la quantité d'ions reçus. Sur l'Element 2, le collecteur est un SEM (Secondary Electron Multiplier), il s'agit d'un multiplicateur d'électron constitué d'une série de 19 dynodes. À la fin, le comptage en nombre de coups par seconde est théoriquement proportionnel à la teneur de l'élément dans l'échantillon.

À partir du numéro atomique 32 et jusqu'au numéro 60, la résolution à appliquer pour résoudre les interférences (ex oxydes) est trop élevée pour cet appareil (>10000) (Figure 9). Dans ce cas, la correction de l'interférence en masse par augmentation de la résolution ne peut s'appliquer. La mesure correcte de ces éléments peut s'obtenir par estimation de la production d'oxyde dans leur gamme de masse. C'est le cas pour les terres rares pour lesquelles même en réalisant des mesures à haute résolution, il est impossible de se débarrasser des interférences d'oxydes des Terres Rares légères sur les Terres Rares lourdes. Ce phénomène est particulièrement critique dans le cas de nos mesures puisque la méthode de calcul utilisée pour la détermination des concentrations en élément en traces est basée sur l'adjonction à tous nos échantillons du thulium (terre rare lourde) comme étalon interne. Durant cette étude, nous avons utilisés deux méthodes de calcul (méthode séquentielle (Paragraphe II-2-3), ajout d'un étalon interne (Paragraphe II-3-5)).

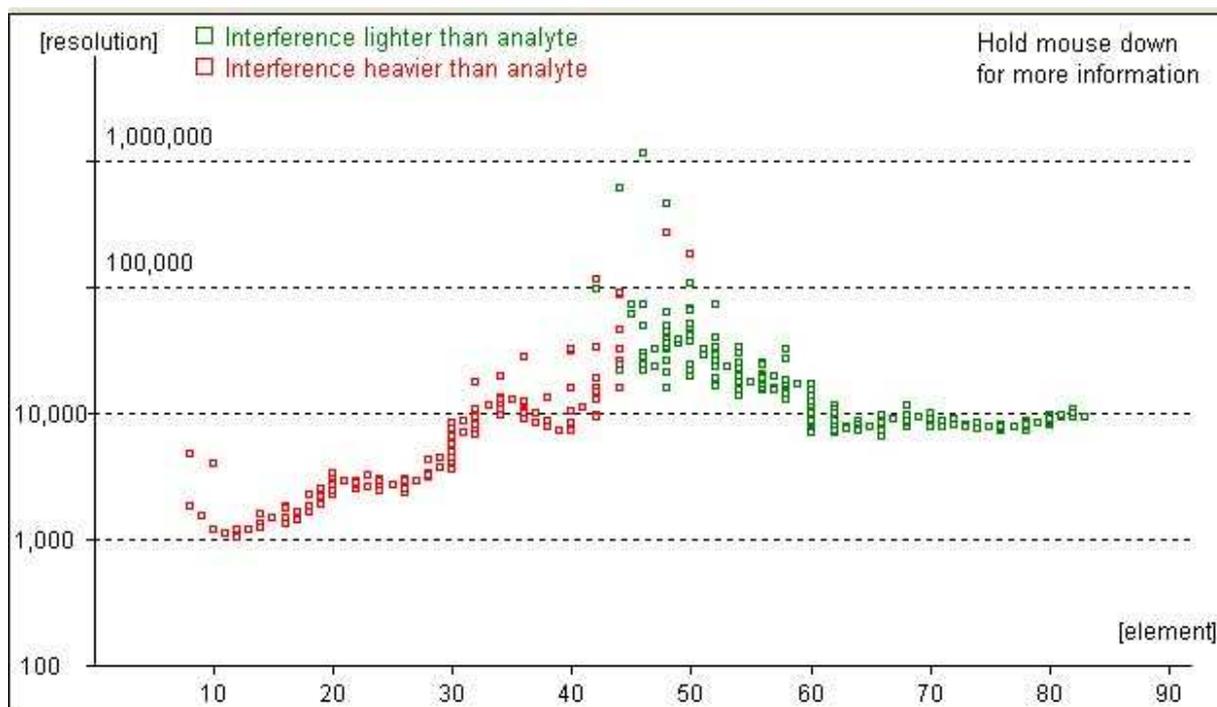


Figure 9 : Résolution requise pour résoudre les interférences dues aux oxydes.

#### **I-4-2 Analyse par couplage avec un système d'ablation-laser**

Les ICP-MS peuvent être couplés à un système d'ablation laser (Gray, 1985). La préparation chimique est alors extrêmement réduite et nécessite tout au plus un léger traitement de surface (polissage, nettoyage) pour la plupart des échantillons solides. Ce dispositif permet une ablation de la surface analysée de manière ponctuelle, « in situ ». Depuis septembre 2007, le laboratoire dispose grâce au financement de l'IFREMER, d'une plateforme Geolas<sup>TM</sup>Pro (COHERENT) qui associe un laser Excimer COMPexPro<sup>TM</sup> 102 opérant dans l'ultra violet (193 nm) à un système optique homogénéiseur et une platine motorisée.

Ce laser Excimer est un laser gaz combinant un gaz inerte (Ar) avec un gaz halogène réactif (F) qui émet un faisceau laser de longueur d'onde de 193 nm.

Les principaux avantages de ce type de laser sont :

- 1) sa longueur d'onde car le taux d'ablation augmente et le fractionnement diminue.
- 2) des effets thermiques limités.
- 3) l'émission directe dans l'UV, domaine où l'absorption du rayonnement laser est optimale pour la plupart des matériaux.
- 2) la création de photons énergétiques (6,4 eV) susceptible de casser les structures moléculaires

(production de particules fines idéale pour une bonne mesure).

3) la faible profondeur de pénétration ( $0,1 \mu\text{m}/\text{pulse}$ ). ( $30 \mu\text{m}/\text{mn}$ ) à 5 Hz pour une énergie de  $15 \text{ J}/\text{cm}^2$ .

L'association avec un système optique homogénéiseur permet de diriger et d'adapter le faisceau laser afin d'obtenir une distribution en énergie homogène et peu d'effet de bord. Ces caractéristiques engendrent un fractionnement limité, indépendant des caractéristiques du faisceau et une densité d'énergie homogène quelque soit le diamètre du spot laser. Différentes tailles de faisceau photonique peuvent être sélectionnées, dont l'ordre de grandeur varie de 4 à  $120 \mu\text{m}$  provoquant une haute résolution spatiale. Le couplage d'un microscope et d'une caméra CCD à ce dispositif assure un réglage précis de la zone de tir et le suivi direct de la qualité de l'ablation. L'échantillon placé dans une cellule fermée étanche, se retrouve bombardé par le laser qui creuse un cratère plus profond à chaque impulsion (Figure 10).

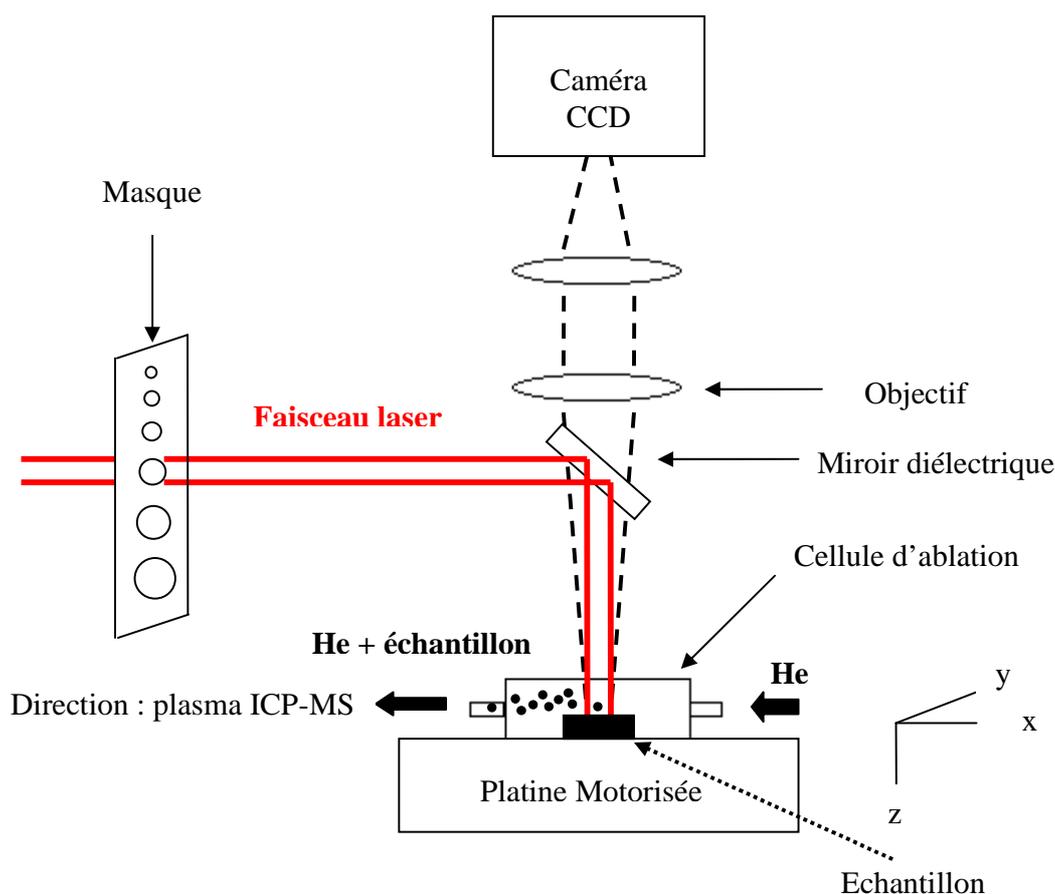


Figure 10 : Représentation de la cellule d'ablation laser Geolas™Pro.

Cet impact provoque l'arrachement de particules fines (aérosol sec) de la matière analysée provenant de l'absorption du transfert d'énergie des photons dans la matière (Arjan et Mason, 1999). Ces particules sont acheminées au moyen d'un simple tuyau vers la torche de l'ICP-MS grâce à un flux permanent réglable d'hélium.

Les avantages de ce système d'ablation laser se traduisent par une grande qualité d'ablation, donc un signal plus élevée et la formation de cratères à bord verticaux et à fond plats (Figure 11).

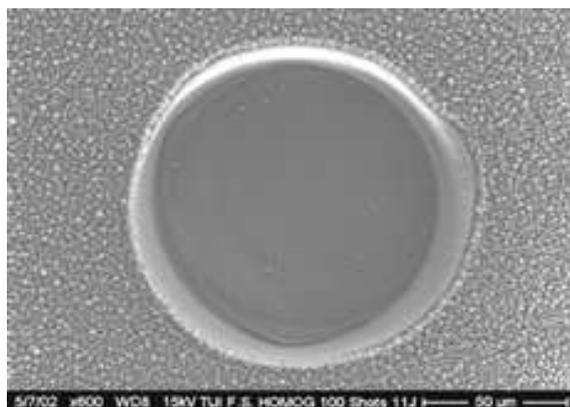


Figure 11 : Exemple de cratère à fond plat et bord verticaux effectué avec le Laser Geolas Pro dans la résine (diamètre 100 µm, énergie F= 10J/cm<sup>2</sup> photographie du site Coherent).

Nous avons procédé à de nombreux tests méthodologiques afin de définir les meilleures conditions analytiques pour mesurer les concentrations des éléments incorporés dans les valves. de *Pecten maximus*. Ils sont développés au paragraphe II-4.

## **I-5 Etudes antérieures sur les mollusques par ICP-MS**

### **I-5-1 Etudes antérieures.**

De nombreuses études (cf. Introduction) ont été menées par le passé sur les mollusques grâce à des instruments analytiques divers (microsonde, ICP-AES...).

La détection de traces (teneur élémentaire de l'ordre de la ppm) dans les coquilles de mollusques a été améliorée par le développement de la technique ICP-MS quadripolaire via un couplage laser.

Par le biais de cette technique fine, des phénomènes d'enrichissements épisodiques ont été

observés dans plusieurs espèces de bivalves.

La substitution du calcium par le strontium et le magnésium a largement été décrite, néanmoins d'autres travaux soulignent une présence intensive de pics de baryum durant l'été (Stecher et al., 1996 ; Van der Putten et al., 2000 ; Lorrain, 2002 ; Lazareth et al., 2003 ; Gillikin et al., 2006 ; Barats, 2006 ; Thebault, 2006 ; Barats et al., 2009 ; Thébault et al., 2009). Ces augmentations se déclenchent lors des périodes de production primaire pélagique intense toujours dominées par des diatomées. Certains estiment que ce synchronisme trouverait sa source dans un afflux inopiné de barytine dans l'environnement proche des coquilles, dont l'origine la plus vraisemblable serait les blooms phytoplanctoniques (Stecher et al., 1996 ; Van der Putten et al., 2000 ; Lazareth et al., 2003). Mais ce constat semble loin d'être acquis, car l'origine de ces pics paraît plus complexe et confuse. Des expérimentations menées sur la moule *Mytilus edulis* (Gillikin et al., 2006) démontrent l'absence de relation directe entre le rapport Ba/Ca de la coquille et celui de l'eau de mer ou avec une production phytoplanctonique. La cause resterait tout de même l'ingestion de particules de barytine lors de la décroissance du bloom.

Lorrain (2002) travaillant sur *Pecten maximus* en Rade de Brest a montré que si certains pics sont associés à des diatomées, d'autres ont lieu simultanément à des efflorescences de dinoflagellés. Or tous les blooms de diatomées n'entraînent pas systématiquement de présence de baryum dans la coquille et des différences temporelles d'incorporation entre deux coquilles sont observées. Ceci témoigne de l'incertitude à diagnostiquer précisément l'origine du baryum dans les coquilles Saint-Jacques. Un suivi sur plusieurs années de multiples coquilles de *Pecten maximus* souligne que le baryum ne peut être relié directement comme traceur de productivité phytoplanctonique. La hausse du baryum particulière dans l'eau de mer semble vraisemblablement contrôlée par des processus complexes ayant lieu entre les systèmes pélagiques et benthiques (Barats et al., 2009). Si ces transformations sont mieux comprises, les valves de coquilles Saint-Jacques pourraient alors contenir un traceur de la biogéochimie du baryum dans les environnements côtiers. Par ailleurs, des travaux portant sur l'un des pétoncles du sud-ouest de la nouvelle Calédonie *Comptopalium radula*, permettent d'avancer que l'hypothèse la plus vraisemblable sur l'origine des pics de Ba dans les carbonates fait suite à l'ingestion de cellules diatomées enrichies en baryum (Thébault et al., 2009). Le principe semble être l'adsorption de cet élément par l'oxyhydroxyde de fer sur les frustules de diatomées. Lorsque

le Ph atteint une valeur de 8, le processus précipitant l'oxyhydroxyde de fer sur les surfaces de cellule augmente. Le baryum dans *Comptopallium radula* pourrait être un traceur de la biomasse des diatomées.

Récemment, des enrichissements en molybdène ont été observés dans des coquilles de pectinidés (*Pecten maximus*, *Comptopallium radula*). Ces pics semblent synchronisés avec les efflorescences phytoplanctoniques printanières (Barats, 2006 ; Thébault, 2006) mais selon les espèces deux hypothèses sont proposées. L'hypothèse la plus probable concernant *Comptopallium radula* demeure l'ingestion de cellules phytoplanctoniques, ayant concentré du molybdène car ayant utilisé le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) comme source d'azote. Ces cellules présenteraient une concentration forte en molybdène suite au rôle de cet élément lors de l'activité enzymatique de la nitrate réductase. Le molybdène pourrait être un témoin de l'absorption de nitrate par le phytoplancton et nous aurions ainsi accès à un traceur de la production nouvelle<sup>4</sup> (Thébault et al., 2009). En Europe, les études de Barats et al. (soumis) ont montré que chez *Pecten maximus* les variations de la teneur coquillière en molybdène sont synchrones des enrichissements en molybdène de l'eau du fond. Ces événements typiques d'une période de bloom printanier seraient induits par un développement de l'espèce de diatomées *Pseudonitzschia*.

D'autres recherches se sont concentrées sur les particularités des variations temporelles du manganèse dans la matrice calcaire de plusieurs bivalves. Certains travaux (Van der Putten et al., 2000 ; Lazareth et al., 2003) ont noté des similitudes entre les variations des concentrations en Mn dans les valves avec les profils du Ba/Ca dans des coquilles calcitiques de bivalve (*Mytilus edulis* pour Van Der Putten ; *Isognomon ehippium* pour Lazareth avec  $r^2 = 0,76$ ). Ces augmentations seraient occasionnées soit par une hausse de la biomasse phytoplanctonique riche en Mn ou indiqueraient une augmentation de  $\text{Mn}^{2+}$  dissous dans l'eau de mer. Cette dernière explication a aussi été proposée pour les coquilles Saint-Jacques prélevées en rade de Brest (Lorrain, 2002) et du Menai Strait en Ecosse (Freitas et al., 2006). Lazareth et al. (2003) et Van Der Putten et al. (2000) suggèrent que les pics de Ba/Ca et Mn/Ca pourraient être associés à un type spécifique de phytoplancton. Par contre, une étude (Carré et al., 2006) sur deux espèces marines de bivalves de la côte péruvienne à structure aragonite (*Chione subbruguosa* et *Mesodesma donacium*) contredit le lien avec des blooms phytoplanctoniques. Selon Carré et al., l'incorporation du manganèse dans les coquilles apparaît peu influencée par les paramètres

environnementaux mais plutôt par des processus métaboliques. Barats et al. (2008) ont détecté au sein des valves de *Pecten maximus* prélevées en baie de Seine des enrichissements et des appauvrissements en Mn qui sont reproductibles sur plusieurs individus au cours du temps. Ces variations seraient contrôlées par des processus biogéochimiques caractéristiques des zones estuariennes et côtières.

Ces conclusions contradictoires sur ces éléments à teneurs réduites dans les coquilles montrent tout le travail restant à accomplir avant que les relations de cause à effet entre traceur et incréments ne soient clairement mises en évidence. En effet, les variations de ces traceurs sont souvent spécifiques et rejoignent les incertitudes énoncées en introduction pour le Sr, le Mg et les métaux lourds. En outre, la technologie évoluant, les hypothèses émises précédemment peuvent être testées avec plus de précision afin de les confirmer ou non.

Les tableaux suivants permettent de détailler la plupart des résultats acquis pour différents mollusques, quant à l'incorporation de certains éléments au sein de leur structure coquillière.

Le Tableau 1 recense la majorité des travaux effectués avec un ICP-MS généralement couplé avec un laser.

Le Tableau 2 récapitule les précédents travaux sur ICP-MS opérés par le LEMAR via une collaboration avec le LCABIE. Bien que Freitas et al. (2006) n'avaient pas fait partie de cette coopération, ses résultats sont recensés dans le Tableau 2 car l'espèce analysée est *Pecten maximus*, le modèle biologique de la présente étude.

Le Tableau 3 figure ici car il traite sur de nombreuses études menées sur divers mollusques et utilisant d'autres instruments analytiques (ICP-AES, absorption atomique (AAS<sup>5</sup>), microsonde, SHRIMPRG<sup>6</sup>) ayant émis des hypothèses sur les éléments susceptibles de nous intéresser.

Tableau 1 : Récapitulatif des études menées sur les mollusques via ICP-MS et des suggestions émises concernant l'incorporation des traceurs dans leur coquille. AR : aucune relation

<b>Espèce, structure</b>	<b>Traceur</b>	<b>Hypothèse paramètre</b>	<b>Etude</b>
<i>Actica islandica</i> , aragonite	Sr	salinité	Fuge et al., 1993
	Mg	température de l'eau	Fuge et al., 1993
	Pb, Zn, Cu	apports anthropiques, pollution métallique	Fuge et al., 1993 ; Raith et al., 1996 ; Liehr et al., 2005
	Sr	température de l'eau	Toland et al., 2000
	Mg	milieu ambiant (Mg de l'eau)	Toland et al., 2000
	Mg	processus métaboliques	Foster et al., 2008
<i>Ceraporella nicholsini</i> , aragonite	Ba	productivité primaire	Toland et al., 2000
<i>Cerastoderma edule</i> , aragonite	Pb	modifications environnementales	Lazareth et al., 2000
<i>Cerastoderma edule</i> , aragonite	As, Pb, Cu, Zn, U	apports anthropiques, pollution métallique	Price et al., 1996
<i>Chione subrugosa</i> , aragonite	Sr, Mg, Ba, Mn	Vitesse de croissance, processus métaboliques	Carré et al., 2006
<i>Concholepas concholepas</i> , calcite	Sr	AR	Lazareth et al., 2007
	Mg	jour : température de l'eau ; nuit : influence métabolique	
<i>Ensis siliqua</i> , aragonite	Sr	salinité et croissance	Pearce & Mann, 2006
	Mg	température de l'eau	
	Ba	productivité primaire	
	Pb, Zn, Cd, U	apports anthropiques, activités minières	
<i>Isognomon ephippium</i> , calcite	Sr	AR	Lazareth et al., 2003
	Mg	température de l'eau	
	Mn	phytoplancton, augmentation Mn <sup>2+</sup> dissous dans l'eau	
<i>Mercenaria mercenaria</i> , aragonite	Ba	productivité primaire	Gillikin et al., 2005b Stecher et al., 1996 Stecher et al., 1996 Gillikin et al., 2005c Carré et al., 2006
	Sr	paramètres biologiques	
	Sr	vitesse de croissance, effets cinétiques	
	Ba	productivité primaire	
	Pb	pollution humaine	
<i>Mesodesma donacium</i> , aragonite	Sr, Mg, Ba, Mn	vitesse de croissance, processus métaboliques	Carré et al., 2006
<i>Modiolus modiolus</i> , aragonite	Cu, Pb, Zn	apports anthropiques, pollution métallique	Richardson et al., 2001b
<i>Mya arenaria</i> , aragonite	Sr, Mn, Mg, Pb, Ba	âge, taux de croissance	Strasser et al., 2008
<i>Mytilus edulis</i> , calcite	Mg	température de l'eau	Fuge et al., 1993
	Sr, Mg	AR	Van der Putten et al., 2000
	Ba	productivité primaire (bloom printanier)	Gillikin et al., 2006 ; Van der Putten et al., 2000
	Mn	augmentation Mn particulière dans l'eau associée à un phytoplancton riche en Mn	Van der Putten et al., 2000
	Pb	autre facteur que modifications environnementales	Van der Putten et al., 2000
<i>Patella aspera, vulgata</i>	Mg	température de l'eau	Fuge et al., 1993
<i>Protothaca staminea</i> , aragonite	Sr	vitesse de croissance, effets cinétiques, âge	Takesue et al., 2004
<i>Saxidomus giganteus</i> , aragonite	Mg	température de l'eau	Gillikin et al., 2005b ; Gillikin, 2005
	Sr, U	processus biologiques	
<i>Spisula solidissima</i> , aragonite	Sr	vitesse de croissance, effets cinétiques	Stecher et al., 1996
	Ba	productivité primaire	

Tableau 2 : Etudes menées par ICP-MS sur l'espèce *Pecten maximus* dont la collaboration LEMAR/LCABIE.

Espèce, structure	Traceur	Hypothèse paramètre	Etude
<i>Pecten Maximus, calcite</i>	Sr	vitesse de croissance, effets cinétiques	Lorrain et al., 2005
	Sr	effets cinétiques	Freitas et al., 2006
	Mg	AR	Lorrain, 2002 ; Freitas et al., 2006
	Pb	effets cinétiques	Lorrain, 2002
	Mn	Mn particulière : apports des rivières, remise en suspension des sédiments	Lorrain, 2002
	Mn	augmentation Mn <sup>2+</sup> dissous dans l'eau	Freitas et al., 2006
	Mn	processus biogéochimiques	Barats et al., 2008
	Ba	productivité primaire	Barats et al., 2009
	Mo	hausse de la teneur en Mo dans les phases dissoutes et particulières de l'eau du fond liée à la sédimentation d'agregats de diatomées enrichis en Mo	Barats et al., soumis
	Ni, V	Indicateur d'une pollution pétrolière	Chiffolleau et al., 2004
<i>Comptopallium radula, calcite</i>	Ba	Productivité primaire	Thebault et al., 2009
	Mo	prise de nitrate par le phytoplancton (activité nitro-reductase)	Thebault et al., 2009
	Ni, Cd, Cr, Cu, Co, Mn, Pb	pas de mise en évidence de traçabilité de pollution, d'apports anthropiques	Thebault, 2006

Tableau 3 : Enoncé des hypothèses constatées sur l'assimilation de certains éléments au sein de coquilles de divers mollusques selon différentes techniques analytiques.

Espèce, structure	Traceur	Hypothèse paramètre	Etude	Technique
<i>Corbula amurensis, aragonite</i>	S	témoin de la présence de matière organique dans les valves	Takesue et al., 2008	SHRIMPRG
	Mg, Mn	une partie ne s'incorpore pas dans les cristaux de carbonate de calcium		
<i>Mytilus galloprovincialis, nacre</i>	B, Ba, Sr	Incorporation dans les cristaux de carbonate de calcium	Puenta et al., 1996	AAS
	Fe	Indicateur de pollution		
<i>Bathymodiolus azoricus, aragonite et calcite</i>	Fe, Cu, Zn	témoin de pollution des courants hydrothermiques	Kadar et al., 2006	AAS
		faible potentiel de traceur de pollution des courants hydrothermiques	Cravo et al., 2007	
<i>Mytilus edulis, trossulus, calcite</i>	Fe, Mn, Cu, Zn	témoin de pollution	Szefer et al., 2002	AAS
	Pb, Cd, Cr, Ag, Ni	indicateur de pollution	Giusti et al., 1999	AAS
<i>Mytilus edulis, calcite</i>	Mg	rapport Mg/Ca de l'eau	Lorens & Bender, 1980	AAS
	Sr	rapport Sr/Ca de l'eau	Lorens & Bender, 1980	AAS, microsonde protonique
<i>Patella vulgata</i>	Fe, Mn, Cu, Zn	non traceur de pollution	Foster & Chacko, 1995	AAS
<i>Patella aspera</i>	Mg	insensible à l'environnement	Cravo et al., 2002	AAS
	Fe, Mn, Zn	témoin de pollution		
<i>Mytilus trossulus, calcite</i>	Sr	salinité et activité métabolique	Klein et al., 1996a	ICP-AES
	Mg	température de l'eau	Klein et al., 1996b	ICP-AES
<i>Pinna nobilis, calcite</i>	Sr, Mg	température de l'eau	Richardson et al., 2004	ICP-AES
<i>Mytilus edulis, calcite</i>	Sr, Mg	température de l'eau dans les estuaires (salinité < 24)	Wanamaker et al., 2008	ICP-AES

À titre d'exemple et d'objectif, les résultats d'Aurélie Barats lors de la collaboration LCABIE/LEMAR associés à de multiples données biologiques sont illustrés sur la Figure 12 et la Figure 13. Ces courbes révèlent les profils particuliers du Mo et du Ba dans les valves de *Pecten maximus* de la rade de Brest.

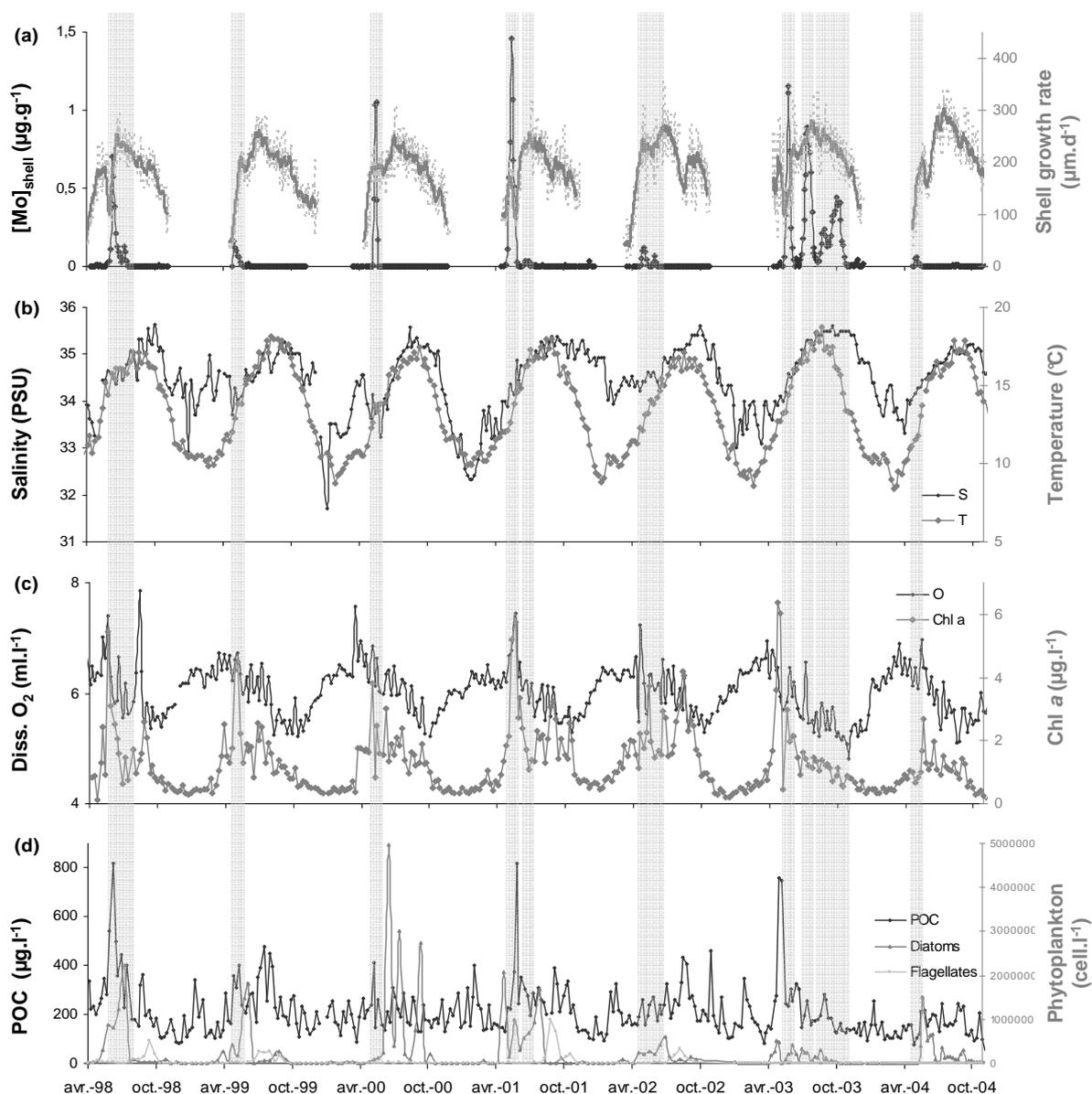


Figure 12 : Exemples de profils élémentaires du Mo sur une période de 7 ans obtenus dans les valves de *Pecten maximus* comparés avec la croissance et différents paramètres environnementaux (température, salinité, chlorophylle a,...) Barats et al., soumis.

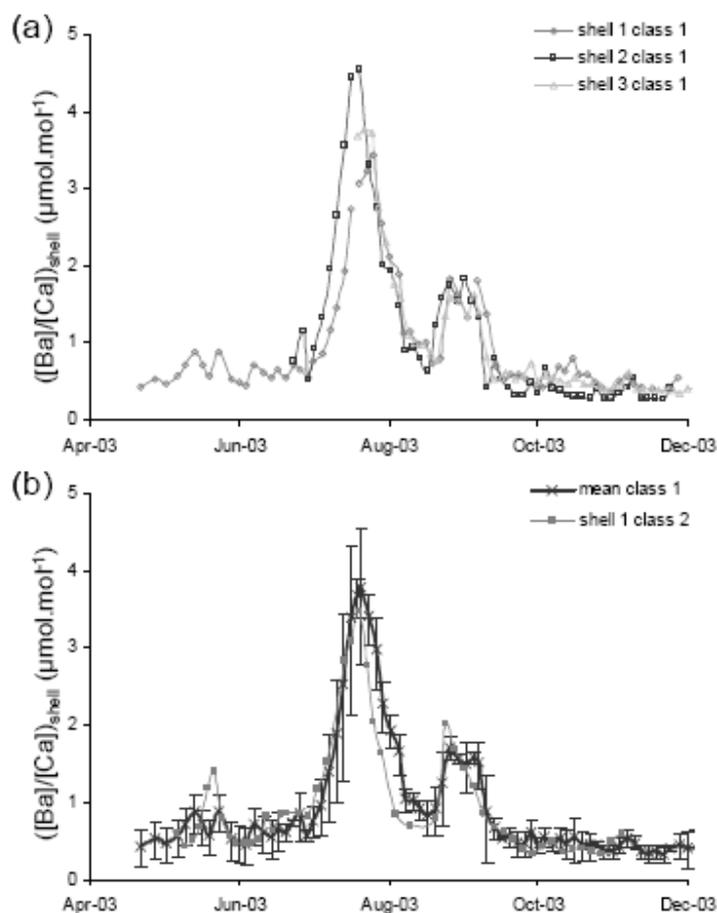


Figure 13 : Exemples de profils élémentaires du Ba pour l'année 2003 obtenus dans les coquilles de *Pecten maximus* (Barats et al., 2009).

Notre intention est de retrouver ces variations sur ces éléments à teneurs réduites (Mo, Ba) mais aussi si possible sur d'autres non encore détectés.

### **I-5-2 Objectifs de ce travail**

Les études réalisées dans le cadre de ce travail de thèse avaient quatre objectifs principaux :

1. Valider les résultats antérieurs sur le Mo, le Ba, le Mn obtenus avec l'ICP-MS quadripolaire et la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS.
2. Comparer et contrôler les résultats obtenus sur le même individu à partir des deux

méthodes analytiques disponibles sur le HR-ICP-MS (laser ou analyse indirecte).

3. Statuer sur la détectabilité et l'utilisation potentielle de nouveaux métaux traces.
4. Essayer de relier la présence de ces éléments métalliques à l'environnement marin.



## **II L'ICP-MS Element 2 comme outil de recherche pertinent des traceurs contenus dans les valves de Pecten maximus.**

### **II-1 Méthodologie**

#### **II-1-1 : Traitement des données**

La plupart des travaux effectués sur les coquilles de bivalves porte sur des rapports entre éléments et des comparaisons de teneur entre éléments. Tous les éléments mesurés sont rapportés au calcium (majoritaire dans la coquille ~ 40%), considéré comme invariant. L'objectif de cette étude est de parvenir à quantifier un nombre important d'éléments à l'intérieur de la coquille pour des teneurs inférieures à la ppm. Cette option n'était pas possible à l'IUEM de Brest avant l'acquisition de l'ICP-MS Element 2.

La quantification des éléments présents à l'état de traces dans les coquilles de carbonate de calcium avec un ICP-MS peut être réalisée de deux façons : par dissolution ou par ablation. La première consiste à prélever une partie de la coquille dont la quantité est pesée, de la dissoudre (mise en solution) dans une solution acidifiée puis de l'analyser sous mode liquide. Pour la seconde méthode, il suffit simplement d'analyser directement le solide en pulvérisant sa surface grâce à un laser puis de transférer la matière ainsi produite directement dans le plasma.

À l'IUEM le système d'ablation laser n'était pas encore couplé à l'ICP-MS au début de ce travail, l'analyse indirecte fut donc la première méthode développée.

Cette voie avait déjà été explorée. Certains travaux précédents se sont focalisés sur la totalité de la coquille, d'autres sur des fragments de coquilles découpés grossièrement (Puente et al., 1996 ; Richardson et al., 2004 ; Szefer et al., 2002) ou prélevés par des outils plus précis. Des prélèvements précis ayant déjà été entrepris avec une micro-foreuse (Merchanteck Micromill) (Lorrain et al., 2005 ; Gillikin et al., 2005b, c) et ayant démontré leur capacité d'échantillonnage séquentiel, nous avons poursuivi dans cette voie.

Le problème récurrent pour la détermination quantitative des éléments sous forme de traces dans les calcites biologiques reste de trouver un étalon de référence. Il permet d'une part de calibrer la mesure des concentrations et d'autre part de déterminer les teneurs dans les échantillons à mesurer, par calibration externe. Idéalement, la composition du standard choisi doit être de même nature que celle de l'échantillon analysé. Ceci afin d'éviter les erreurs dues :

1°) aux effets de matrice

2°) à la normalisation par rapport à un standard dont les concentrations en éléments en traces sont très différentes de celle de l'échantillon.

Aucun standard de ce type n'est correctement référencé dans la littérature. Le seul présentant une matrice proche est le standard MACS 1 (USGS). Il est cependant en cours de certification.

Ce constat nous a mené à préparer nous-mêmes une solution standard dont la matrice devait être la plus proche de celle d'une coquille Saint-Jacques mise en solution.

## **II-2 Élaboration d'une solution standard liquide à matrice CaCO<sub>3</sub>**

Plusieurs méthodes peuvent être envisagées :

- (1) Utiliser un échantillon naturel broyé et homogénéisé, le mettre en solution et doper cette dernière avec des quantités connues d'éléments en traces.
- (2) Faire la même chose avec un standard pur de CaCO<sub>3</sub>.

Les échantillons naturels à matrice carbonatée analysés au laboratoire n'étant pas tous de la famille des coquilles Saint-Jacques, nous avons préféré la seconde solution, afin de disposer d'une solution standard la plus universelle possible.

Peu de données quantitatives existaient, les principales sont énoncées dans le Tableau 4 et le Tableau 5 (les résultats concernant Aurélie Barats n'étaient pas encore disponibles lors de la conception de notre standard de calcite, ils sont regroupés dans le Tableau 4 juste à titre de comparaison). Les concentrations en traces connues ont été reproduites dans la solution standard, les autres ont été majorées, pour être certain d'être au-dessus de celles des échantillons naturels, pour une raison évidente de normalisation.

Tableau 4 : Ordre de grandeur des teneurs élémentaires dans des coquilles de mollusques (en ppm) déterminées via LA-ICP-MS lors de précédents travaux selon l'espèce.

Espèces	Sr	Mg	Mn	Ba	Pb	Sn	Co	Cu	Cd	As	Mo	U	Zn	Référence
<i>Pecten Maximus</i>	818-1872	1646-11960	1-12,6	0,3-7,2	<LD-2,2	<LD-1,3	0,6-2,8	<LD-2,5			<LD-2			Barats, 2006
<i>Arctica Islandica</i>	1000-4000	50-320			<LD-50			0,5-2,8						Fuge et al., 1993
<i>Arctica Islandica</i>	80-5000				<LD-100									Raith et al., 1996
<i>Arctica Islandica</i>	650-1900	10-260		1-85										Toland, et al., 2000
<i>Arctica Islandica</i>					<LD-3,5			<LD-7,9					5,7-68	Liehr et al., 2005
<i>Ceraporella nicholsini</i>					0,3-2,5									Lazareth et al., 2000
<i>Cerastoderma edule</i>					<LD-65			<LD-86		<LD-251		<LD-19	<LD-133	Price et al., 1997
<i>Comptopallium radula</i>	611-1350	2375-10897	0,5-13,8	0,3-6,2	<LD-0,5		0,8-1,3	0,1-5,3	<LD-0,4		<LD-0,4			Thebault, 2005
<i>Ensis siliqua</i>	900-3400	13-306		1-37	<LD-33				<LD-156			<LD-4,8	<LD-295	Pearce et al., 2006
<i>Isognomon ephippium</i>	600-900	2500-5000	1-45	0,5-4										Lazareth et al., 2003
<i>Modiolus modiolus</i>								0,4-8					1-35	Richardson et al., 2001b
<i>Mya oonogai</i>				2,5-6										Imai et al., 1992
<i>Mytilus edulis</i>		180-280			<LD-17			<LD-14					<LD-327	Fuge et al., 1993
<i>Mytilus edulis</i>	800-1600	500-3700	<LD-250	<LD-38	0,5-4,2									Van der Putten et al., 1999
<i>Patella aspera</i>		2750-4300			<LD-5,4			<LD-4,7					<LD-35	Fuge et al., 1993
<i>Patella vulgata</i>	1200-1600	3000-6500			<LD-5,4			<LD-4,7					<LD-35	Fuge et al., 1993

Tableau 5 : Ordre de grandeur des teneurs élémentaires dans des matrices bio-carbonatées (en ppm) recensées dans la littérature scientifique selon l'instrument analytique et l'espèce de mollusque.

Espèces	Sr	Mg	Mn	Pb	Co	Cr	Cu	Cd	Ni	Fe	Ag	Zn	V	Référence	Technique
<i>Bathimiodolus azoricus</i>							15-111			10-294		24-40		Kadar et al., 2006	AAS
<i>Patella aspera</i>	1222-1424	4030-5233	6,2-130,5							22-71		3,5-9		Cravo et al., 2002	AAS
<i>Patella vulgata</i>	1259-2070	2852-4400	5,1-114,2				1,7-5,6			5,8-33		2,1-7,8		Foster et al., 1995	AAS
<i>Mytilus edulis</i>			4,6-48,2	23,6-73	1-18,6		12,6-50	0,5-7	3,6-29,1	2,1-317		10-20,4		Giusti et al., 1999	AAS
<i>Mytilus edulis</i>			7,5-119				4,7-8,3			216-1303	6,3-7,6	1,2-9,8		Szefer et al., 2002	AAS
<i>Mytilus galloprovincialis</i>				0,4-3,5	19-29	7-8,2	8,8-10,2		24,6-28,5			6,5-9,7		Puente et al., 1996	AAS
<i>Cardium edule</i>	900-2600													Hallam et al., 1968	Fluorescence des RX
<i>Comptopallium radula</i>						<LD-1			<LD-1,6					Thebault, 2005	LA-ICP-MS
<i>Pecten Maximus</i>									0,3-1,2			0,05-0,2		Chiffolleau et al., 2004	LA-ICP-MS

La dilution de la solution standard doit être adaptée au type de mesure effectuée : suffisamment concentrée pour que les teneurs en éléments en traces restent mesurables tout en conservant une charge ionique limitée pour que le plasma ne s'écroule pas.

Des travaux précédents (Lorrain et al., 2005 ; Gilikin et al., 2005b) ont estimé que la quantité de poudre récoltée sur une strie à l'aide d'un "micromill" approchait ~150 ou 200 µg. Les tests de pesée ont montré que nous recueillons entre 100 et 80 µg, surtout pour les prélèvements en début d'année de croissance. Cette zone, qui comprend des stries moins écartées les unes des autres et une surface de prélèvement plus réduite, demande un forage sur plusieurs stries parfois pour atteindre la quantité minimale nécessaire. De plus, il est primordial de garder une trace de nos prélèvements (une portion de la strie sélectionnée est laissée intacte) afin de les recalibrer chronologiquement. Il est nécessaire d'atteindre 80-100 µg pour que la pesée à la micro-balance (à 10<sup>-6</sup>g) soit correcte.

Mis en solution, un tel prélèvement se retrouve dilué entre 6666 et 10000 fois dans 0,8 à 1 ml qui est la quantité minimum de solution nécessaire à une mesure (prélèvement plus analyse).

Pour satisfaire une session d'analyse complète d'un seul spécimen de coquille, la quantité d'étalon externe (solution de calcite artificielle) doit être suffisante. Sachant que si des individus étudiés sont prélevés en fin de seconde année de croissance (fin novembre), le nombre de stries atteint approximativement 260. Ce chiffre implique approximativement 85 échantillons à analyser car notre objectif est de prélever toutes les trois stries. Comme la séquence d'analyse comprend la mesure de l'étalon externe tous les cinq échantillons, cela ramène à 20 fois son nombre de passage. Il est donc souhaitable d'avoir au minimum une quantité de 30 ml d'étalon artificiel lors d'une session d'analyse.

Comme la "solution-mère" d'étalon de calcite est fabriquée dans une bouteille téflon d'un volume d'1 litre, il est envisagé de prélever 0,5 ml pour chaque analyse afin de garder un stock conséquent de solution mère, parfaitement calibrée. Il a été décidé d'attribuer un facteur de dilution 8000 pour la solution standard "fille" (intermédiaire entre 6666 et 10000). Le Tableau 6 présente les facteurs de dilution des solutions mère et fille ainsi que les quantités de prélèvement effectuées pour passer de l'une à l'autre.

Tableau 6 : Facteur de dilution de la solution standard et quantités prélevées.

<b>Statut</b>	<b>Conservation</b>	<b>Passage ICP-MS</b>
<b>Calcite artificielle</b>	“Solution mère”	“Solution fille”
<b>Passage mère / fille</b>	Prélèvement 0,5 dans 30 ml	Dilution 60
<b>Facteur dilution</b>	133,33	8000

### **II-2-1 Vérification de l'abondance du calcium dans les valves de *Pecten maximus***

La concentration en calcium est considérée comme invariante dans l'ensemble de la coquille d'un mollusque (Stecher et al., 1996). À partir de la microsonde, des études antérieures ont estimé son abondance en poids métal à 38, 2% dans *Concholepas concholepas* (Guzman, 2004), à 39,8% dans *Mytilus edulis* (Van der Putten et al., 1999) et à 40% dans les coquilles Saint-Jacques (Larvor, 1996). Ces données certifient le calcium comme élément majeur et le plus homogène dans la matrice carbonatée.

Pourtant, la vérification de ces hypothèses est décisive pour deux raisons :

1°) la conception de notre étalon artificiel liquide se base sur cette estimation et il apparaît judicieux qu'elle soit contrôlée dans les coquilles du bivalve *Pecten maximus*.

2°) le couplage LA-ICP-MS requiert l'utilisation d'étalons internes pour corriger diverses instabilités et dérives dues au laser et à l'ICP-MS au cours du temps. Cet étalon interne doit être un élément majoritaire et constitutif de la matrice utilisée. Sa concentration doit rester constante et son comportement doit être similaire aux autres éléments étudiés au cours de l'ablation. Les variations de signal observées sur l'étalon interne seront utilisées pour normaliser les résultats des analyses élémentaires. Or pour les analyses de carbonates de calcium, c'est généralement un isotope du calcium qui est particulièrement utilisé (Pearce et al., 1992b).

En conséquence, il s'avère indispensable de déterminer la concentration du calcium tout le long de la coquille, voire à l'échelle de la strie. L'utilisation de la microsonde électronique (Microsonde Ouest IFREMER Brest) apparaît appropriée pour confirmer cette hypothèse.

### II-2-1-a Description brève de la microsonde électronique :

La microsonde électronique (Electron MicroProbe, EMP) est une technique analytique qui permet de déterminer les éléments majeurs voire, mineurs et même à l'état de traces d'une surface donnée sur une épaisseur de quelques micromètres à la surface de l'échantillon. Un faisceau d'électrons (5 à 30 keV) est focalisé sur l'échantillon qui émet alors des rayons X dont les longueurs d'ondes sont caractéristiques des espèces élémentaires qui le composent. L'analyse des spectres de longueurs d'onde obtenus permet de déterminer la composition chimique de l'échantillon par comparaison avec ceux obtenus sur des standards connus. La zone échantillonnée est très réduite permettant de ne pas la dégrader (sauf lors d'une cartographie). Les concentrations de cinq éléments peuvent être déterminées simultanément grâce aux cinq spectromètres. Cet appareil est moins performant qu'un ICP-MS car les limites de détection varient entre quelques dizaines et quelques centaines de ppm selon les éléments et les matrices. C'est une technique qui s'associe avec l'ICP-MS pour la détermination des éléments majeurs ou plus appropriée pour des éléments difficiles à mesurer par ICP-MS (c'est le cas du soufre voir chapitre III-3-2).

### II-2-1-b Préparation des échantillons et choix analytiques

Trois lames minces ont été fabriquées au LASAA (Laboratoire de Sclérochronologie des Animaux Aquatiques ; ce laboratoire est aujourd'hui intégré au groupe LEMAR) à partir de valves de *Pecten maximus* prélevées le 03/09/2004 en Rade de Brest (site de Roscanvel).

La procédure de préparation des lames minces reste une opération délicate à cause de la fragilité des stries. La stratégie suivie est de découper une portion large de coquille contenant une section complète de croissance. Ce fragment est inclus dans un mélange de résine époxy et de catalyseur (araldite® type2020) selon les indications du fabricant, dans des moules souples siliconés. La phase de polymérisation s'effectue en 48 heures à 30°C. Une coupe d'environ 1 mm d'épaisseur est tronçonnée grâce à une scie circulaire diamantée à vitesse lente (Struers Accutom 50). Un polissage s'ensuit, premièrement sur des disques d'un grain de 400 µm puis 1200 µm afin d'éliminer les traces de découpe, puis sur des disques feutrés à suspension diamantée et granulométrie décroissante (3, 1, 0,25 µm). Entre chaque polissage, et à la fin de la manipulation, la lame est nettoyée dans un bac à ultrasons pendant quelques minutes. L'objectif est d'obtenir

une épaisseur finale d'environ 700  $\mu\text{m}$ , nécessaire pour visualiser les stries à la microsonde.

Les individus étudiés sont de classe I (I : un seul premier janvier vécu), c'est-à-dire des juvéniles qui entament leur deuxième année de croissance. Chacune de ces lames représente une section complète de croissance qui couvre la période fin mars à septembre 2004. Toutefois des stries antérieures à cette période (correspondant à l'hiver et la période larvaire) ont aussi été analysées. Elles ne sont pas exposées sur le profil calendaire car elles ne peuvent pas être datées précisément, mais elles sont tout de même utilisées pour le calcul de l'abondance. Une résolution d'échantillonnage toutes les trois stries (similaire à celle développée pour l'ICP-MS, chapitre II-3) est entreprise. Chaque strie répertoriée est analysée trois fois dans trois positions différentes. L'emplacement de ces points se situe à la base de la strie (Figure 14).

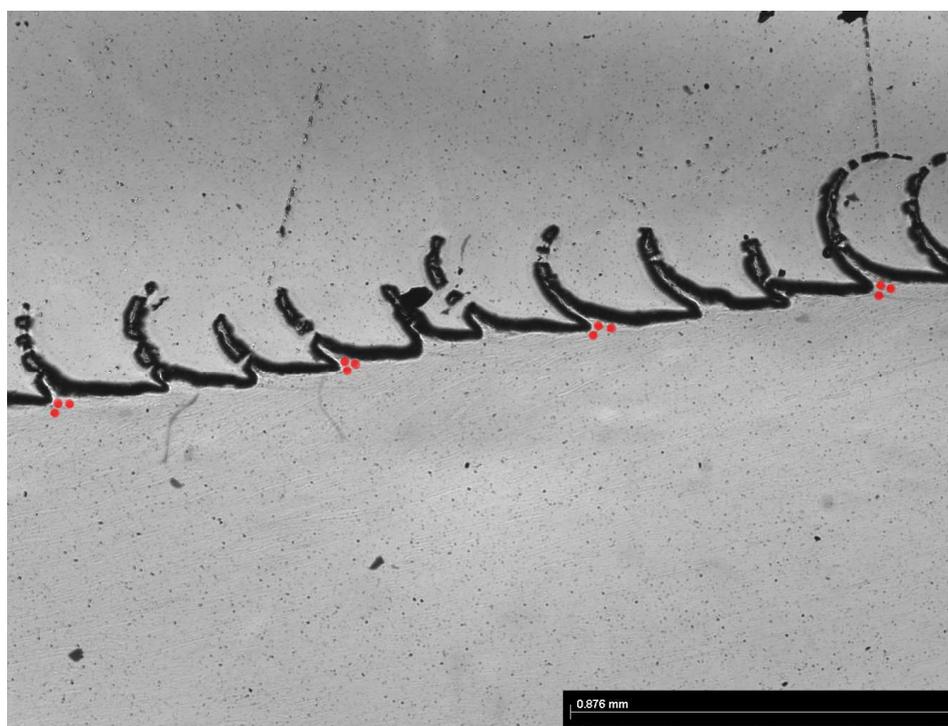


Figure 14 : Processus d'échantillonnage pour analyser les lames minces de *Pecten maximus* avec la microsonde électronique (les points d'impacts sont grossis en rouge pour une meilleure visualisation).

Le recalage des stries échantillonnées suit la même procédure que décrite au paragraphe II-5-1, sauf que le microscope électronique à balayage est remplacé par un microscope (Olympus BX 41) en lumière réfléchiée. Cette caractéristique permet de ne pas abîmer ces lames minces afin de les rendre utilisables pour d'éventuelles prochaines analyses (LA-ICP-MS ou microsonde) Ensuite

la reconstitution complète de la lame mince permet de connaître le positionnement des analyses pour les caler chronologiquement (Annexe 1).

II-2-1-c Résultats concernant le calcium le long d'un axe de croissance (période : mars-septembre 2004)

La Figure 15 illustre l'évolution temporelle de l'abondance du calcium pour les trois individus analysés. Les trois coquilles présentent un signal reproductible restant constant aux alentours de 39%. Quelques fluctuations s'observent fin novembre pour la coquille n°2 liées à des soucis analytiques (filament défectueux).

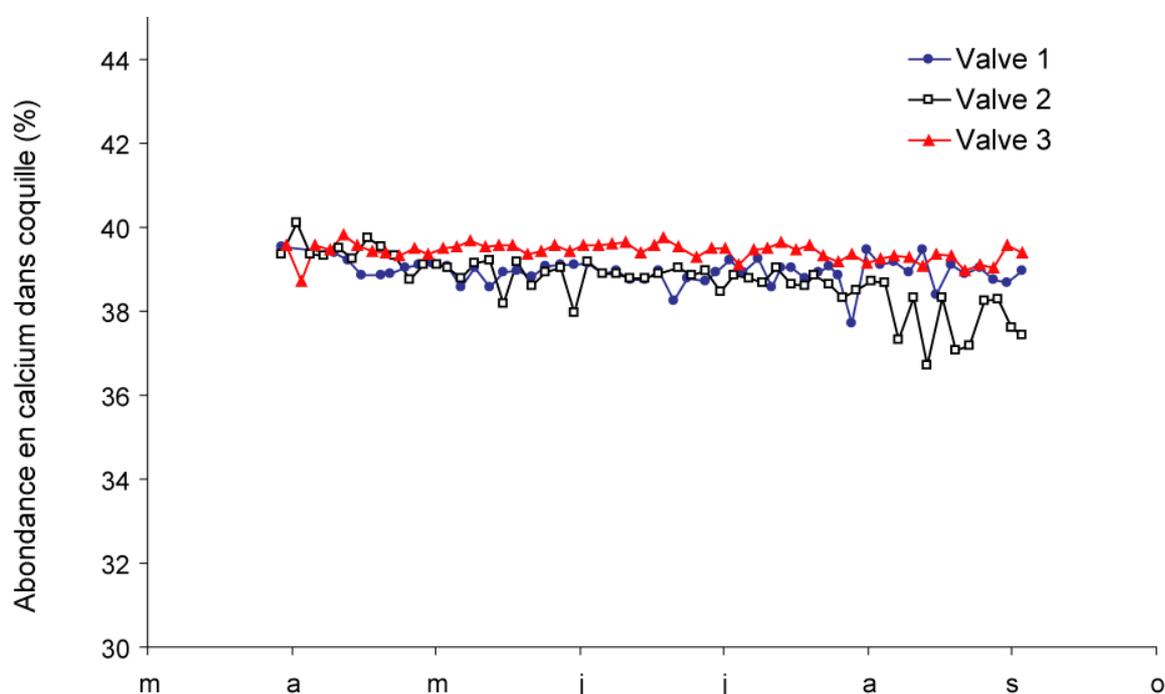


Figure 15 : Variations temporelles de l'abondance du calcium au cours de l'année 2004 au sein de 3 coquilles S<sup>l</sup>-Jacques prélevées en rade de Brest (Banc de Roscanvel).

Le Tableau 7 présente les moyennes obtenues sur chaque spécimen. Les variations demeurent inférieures à 2%. La moyenne des trois individus indique que le calcium représente 39% de l'exosquelette carbonatée de *Pecten maximus*.

Tableau 7 : Abondances et écarts types relatifs à 3 coquilles Saint-Jacques classe I de la rade de Brest prélevées le 03/09/2004.

Moyenne	Coquille n°1	Coquille n°2	Coquille n°3	Ensemble des 3
<b>Abondance (%)</b>	38,98	38,87	39,43	39,09
<b>RSD</b>	0,8	1,98	0,54	1,4

II-2-1-d Résultats concernant le calcium le long d'une strie

Des travaux sur LA-ICP-MS ont souligné la reproductibilité intra-strie de plusieurs éléments traces rapportés au calcium (Lorrain, 2002 ; Barats et al., 2006) soutenant que leur distribution est homogène sur une strie. Pour compléter notre étude et examiner à une échelle plus réduite, une des nombreuses stries non détruites lors de la fabrication des lames minces d'un de ces trois spécimens est choisie pour vérifier l'homogénéité du calcium sur la totalité de la longueur d'une strie. La Figure 16 dresse (I) le tracé établi où les points échantillonnés partent de la pointe de la strie pour atteindre la base de la couche calcitique et (II) l'évolution de l'abondance du calcium sur cette strie.

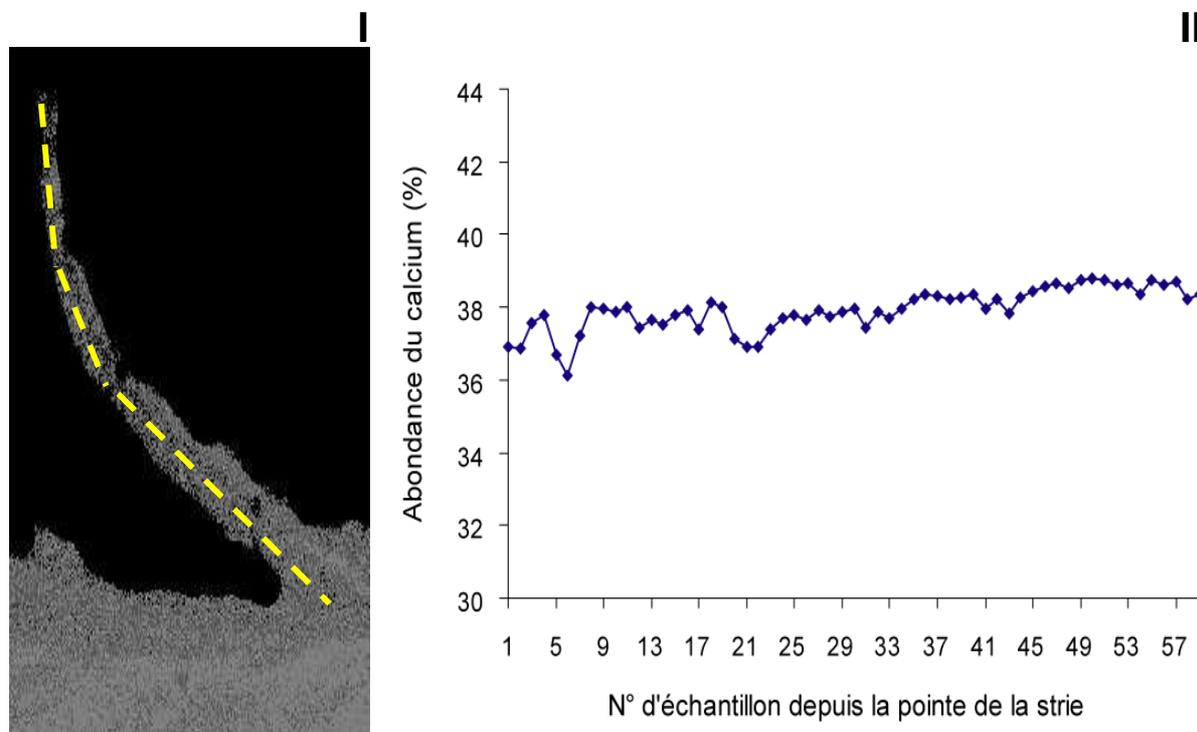


Figure 16 (I) : Visualisation du parcours échantillonné (de la pointe à la base de la strie) et (II) évolution de l'abondance en calcium au sein d'une strie de coquille Saint-Jacques.

La Figure 16 montre que tout le long de la strie le calcium reste homogène autour de 38% (Nombre d'analyses = 59 ; RSD = 1,55%) confirmant à échelle réduite les résultats obtenus sur l'ensemble de la coquille.

En complément, une cartographie de répartition élémentaire sur cette section est réalisée. La Figure 17 expose les cartes du calcium ainsi que celle du carbone à titre de comparaison. Une légère croissance de l'abondance du calcium apparaît entre la pointe de la strie et l'intérieur de la couche calcitique. Cette progression s'observe aussi sur la Figure 16 (II). Deux parties se distinguent dans la coquille. Une zone où le calcium est plus abondant et une plus pauvre en calcium. Cette diminution semble vraisemblablement liée à une présence moins importante de matière organique à l'intérieur de la coquille. Dans la couche calcitique, des zones plus enrichies en calcium se remarquent. Cette différence apparaît très faible (~1%). En comparant avec la cartographie du carbone, ces zones se situent où le carbone est moins présent. L'explication peut venir d'une diffusion moins importante des électrons à cet endroit.

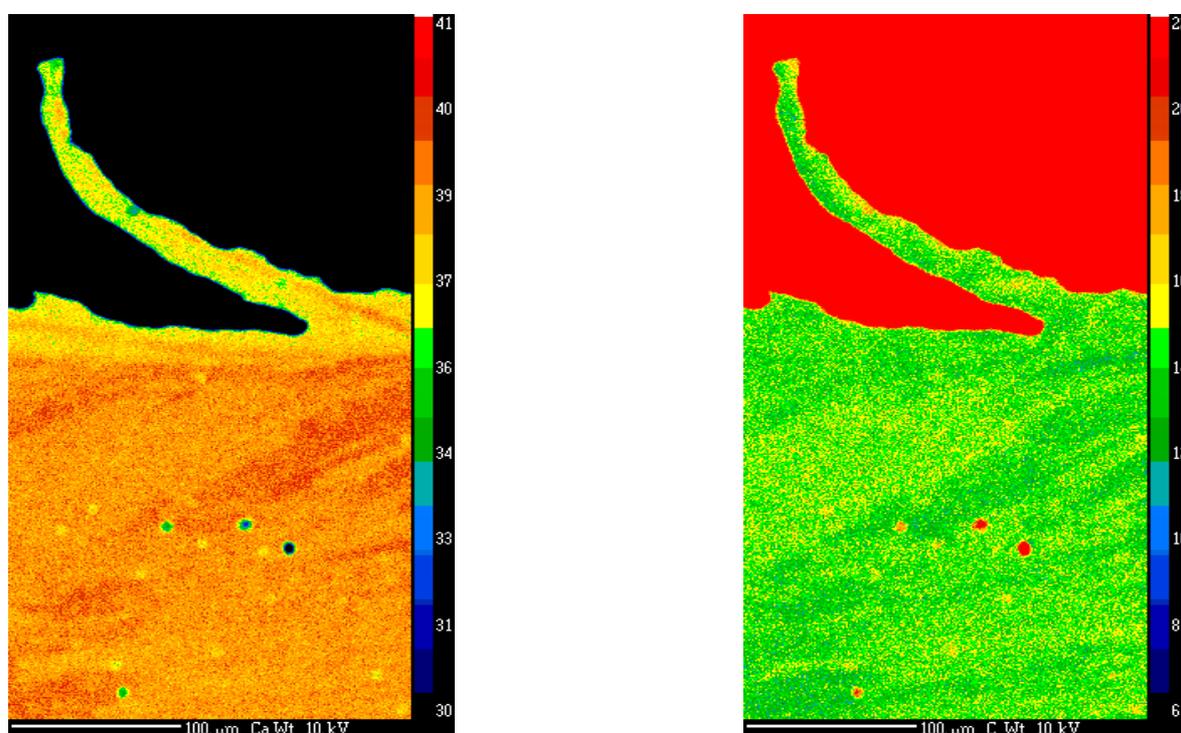


Figure 17 : Cartographie de répartition du calcium et du carbone pour une strie de *Pecten maximus*.

La synthèse de tous ces résultats confirme les interprétations réalisées auparavant, sur ce même type d'appareil, par d'autres chercheurs concernant les coquilles Saint-Jacques (Larvor, 1996) et pour d'autres mollusques (Stecher et al., 1996 ; Guzman, 2004). Le calcium est un élément homogène dans les coquilles de mollusques.

## **II-2-2 Conception de la solution standard à matrice carbonate de calcium (“Calcite Brest”)**

Partant de 7,5 g de poudre de carbonate de calcium (ref produit : Merck) nous avons fabriqué 1 litre de “solution mère”. Cette quantité permet de respecter la proportion de 40% de calcium et d'obtenir le facteur de dilution de 8000 pour les “solutions filles”.

### II-2-2-a Les constituants majeurs

Les coquilles de mollusques ont de faibles concentrations d'éléments minéraux, en dehors du calcium et du sodium (Milliman, 1974). D'après les résultats obtenus antérieurement (Tableau 4 et Tableau 5), le magnésium et le strontium sont deux composants présents majoritairement dans les bio-carbonates. Leur concentration varie selon les espèces, mais dépasse aisément 1000 ppm dans la matrice coquillière.

Aucune étude quantitative n'a été réalisée sur le sodium pour les coquilles de mollusques, les seules évaluations connues concernent notre étude (0,5% en poids métal voir paragraphe III-3-2) et celles des otolithes (données personnelles laboratoire Géosciences, présence du sodium = 0,2% en poids métal) établi avec la microsonde de l'IFREMER. Ces données permettent de considérer le sodium comme un élément majeur, plus abondant que le Mg et le Sr.

Le Tableau 8 recense les étapes de conception de la “solution-mère”.

Tableau 8: Dosages et solutions mono-élémentaires utilisés dans le protocole de préparation du standard “Calcite Brest”.

Référence produit : Accutrace<sup>™</sup> Reference solution mono-elementaire pour Mg et Sr, Merck pour les poudres de CaCO<sub>3</sub> et Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

<b>Elément</b>	<b>Donnée considérée</b>	<b>Ajout effectué (teneur/matrice)</b>	<b>Teneur voulue solution mère (mesurée)</b>
Ca	40% (Pectinidae)	7,5 g poudre CaCO <sub>3</sub>	40%
Na	0,2% (otolithes)	34,54 mg poudre Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,20%
Sr	3000 ppm (otolithes)	10 ml (496 ppm / 5% HNO <sub>3</sub> )	22,5 ppm (4,96)
Mg	4000 ppm (bivalve)	90 ml (100 ppm / 5% HNO <sub>3</sub> )	30 ppm (9)

### II-2-2-b Les éléments en traces

Les éléments en traces présents dans l'écosystème où se développe l'animal peuvent être piégés dans la matrice carbonatée lors du processus de calcification. Les données des précédents travaux disponibles concernent surtout les métaux tels Cu, Cd, Mn, Ni, Pb, Zn, V. Leurs teneurs sont faibles à très faibles (Tableau 4 et Tableau 5), et de ce fait sont proches de la limite de détection de l'appareil de mesure, en particulier avec le facteur de dilution que nous sommes contraints d'utiliser. La détermination antérieure des concentrations de ces éléments apparaît peu reproductible dans la littérature (Lorrain, 2002, Barats, 2006). Pour ces éléments à teneurs faibles, nous nous sommes fixés comme limite inférieure 0,1 ppb dans les solutions filles de notre standard “Calcite Brest”. Le nombre de coups sur ces éléments est de ce fait suffisant en mode basse résolution pour permettre une détermination précise de ces teneurs.

Au vu des données existantes sur le baryum, qui semble présent en quantité significative dans la matrice des coquilles, il a été légèrement sur dosé (\*10) dans la solution standard. Le projet est d'obtenir des concentrations finales de l'ordre de la ppb.

Le Tableau 9 résume les considérations énoncées plus haut.

Tableau 9 : Exemple de teneur estimée pour quelques éléments dans le standard artificiel.

<b>Elément</b>	<b>Teneur estimée pour coquille</b>	<b>Teneur “solution mère”</b>	<b>Teneur “solution fille”</b>
Mg	4000 ppm	30 ppm	0,5 ppm
Ba	8 ppm	60 ppb	1 ppb
traces	0,8 ppm	6 ppb	0,1 ppb

Le standard de calcite est composé de plusieurs solutions multi-élémentaires certifiées. En conséquence, certains éléments ont des teneurs multipliées par deux car ils sont présents dans deux solutions (ex “Multi-element standard” de Plasma Cal et “ICP-MS-Cal 2-1” de Accutrace<sup>Tm</sup> Reference pour le lithium). Le Tableau 10 récapitule le nom, l'origine et la composition des solutions multi-élémentaires utilisées.

Certains éléments sélectionnés, par exemple les terres rares, le bore, le potassium ou le rubidium n'ont encore jamais été analysés dans les coquilles de bivalves. Ce choix est délibéré car nous pensions pouvoir les quantifier dans cette structure. Pour les terres rares, l'objectif est d'évaluer si les teneurs mesurées sont « corrélables » à celle de la phase dissoute dans l'eau de mer, comme

cela a pu être constaté dans les coraux (Wyndham et al., 2004).

Tableau 10 : Récapitulatif des solutions utilisées et des éléments en traces qui composent le standard "Calcite Brest".

<b>Nom solution</b>	<b>Éléments présent (teneur en ppm)</b>	<b>Matrice</b>
Accutrace <sup>™</sup> Reference Mono-elementaire	Ba (100)	5% HNO <sub>3</sub>
Plasma Cal "Multi-element standard"	Ca (9,9) ; Co, Pb (9,92) ; Ag, Be, Ga, Ni, V (9,95) ; As, Cr, Sr, Zn (9,97) ; Al, Li, Na, Se (9,98) ; Ba, Cu, Fe, K (9,99) ; Mg, Mn (10) ; Cd, Tl (10,01) ; Bi (10,06)	5% HNO <sub>3</sub>
Accutrace <sup>™</sup> Reference "ICP-MS-Cal-1-1"	Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sm, Sc, Tb, Th, Tm, Yb, Y (10)	5% HNO <sub>3</sub>
Accutrace <sup>™</sup> Reference "ICP-MS-Cal-2-1"	Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn (10)	5% HNO <sub>3</sub>
Accutrace <sup>™</sup> Reference "ICP-MS-Cal-3-1"	Au, Sb, Hf, Ir, Pd, Pt, Rh, Ru, Te, Sn (10)	10% HCl
Accutrace <sup>™</sup> Reference "ICP-MS-Cal-4-1"	B, Ge, Mo, Nb, P, Re, Si, S, Ta, Ti, W, Zr (10)	H <sub>2</sub> O traces HF

La "solution-mère" est conservée dans un milieu composé d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) à 5%. Ce choix paraît le plus approprié (Gillikin, 2005) pour éviter des réactions telles que précipitation, adsorption ou complexation de certains éléments.

### **II-2-3 Calibration de "Calcite Brest"**

Avant son utilisation, cette solution est parfaitement calibrée selon une méthode d'analyse séquentielle. Il suffit de mesurer successivement ce standard intercalé avec des solutions multi-élémentaires diluées dans des gammes de teneurs équivalentes. Ensuite par règle de trois, les concentrations sont calculées, modulo des corrections particulières : interférences, dérives instrumentales, ....

Comme dans la "solution-fille", les éléments en traces ont des concentrations dans une gamme située entre 0,1 ppb et 0,2 ppb, l'idéal est de disposer de solutions de calibration encadrant cette valeur (typiquement : 0,1 ppb, 0,2 ppb, 0,4 ppb). Cette méthodologie n'est pas applicable au sodium et au calcium, au vu de leurs teneurs. En conséquence ils sont quantifiés à part et individuellement à partir de solutions étalons spécifiques. Les multiples calibrations ont permis d'affiner par tests et mesure de blanc répétés, la détection de certains éléments (exemple le Fer) qui posaient des difficultés. Le Tableau 11 reporte les multiples améliorations développées.

Tableau 11 : Solutions choisies pour améliorer l'estimation de certains éléments du standard "Calcite Brest".

<b>Éléments (isotope)</b>	<b>Problèmes rencontrés</b>	<b>Solutions</b>
Mo, Rb, Zr, Sc, Hf, Th, Bi, Fe, Ni, Co, Cu, Cr	Mauvaise détection : instabilité dans les solutions	Dilution des solutions filles dans 2% HNO <sub>3</sub> au lieu H <sub>2</sub> O
Fe, Zn	Tubes en polyéthylène : source de pollution	Tube en polypropylène
Ga ( <sup>69</sup> Ga)	Interférence <sup>138</sup> Ba <sup>3+</sup>	Passage en moyenne résolution
B, Na, Ca	Erreur d'estimation	Analyse 48 h maximum après préparation

Les résultats obtenus sont tout à fait reproductibles et résumés dans l'annexe 3.

Certains éléments (Sr, Mn, Ba, Mg, Fe) montrent des teneurs supérieures aux valeurs attendues. Cet excès est dû à une contamination par les poudres de carbonate de calcium et de sodium utilisées pour la création du standard artificiel. Il s'avère que les standards purs de Na et de Ca contiennent des traces non négligeables en ces éléments.

D'autres éléments (ex K, P et Ti) présentent également des concentrations élevées et systématiquement associées à des % d'erreurs importants. Les causes sont multiples :

Des teneurs trop faibles pour la résolution choisie (moyenne résolution pour P et Ti).

Des difficultés provoquées par le matériel utilisé (pilulier, bouchon), impliquant des contaminations difficiles à éviter (ex Al, Zn), peuvent aussi en être l'origine.

Le dosage du K s'effectue en haute résolution à cause de l'interférence majeure de l'hydrure d'argon (ArH). Le nombre de coups étant divisé par 1000 à cette résolution, la faible teneur en K du standard induit des erreurs importantes sur la mesure.

Enfin, le bore et le soufre ne sont pas quantifiés, à cause d'un nombre de coups trop élevé dans le bruit de fond (blanc + machine).

## **II-3 Analyse des coquilles par ICP-MS en mode liquide**

### **II-3-1 Préparation des coquilles avant dosage par ICP-MS**

Dans un premier temps, la valve supérieure est choisie car les stries de croissance sont mieux définies, plus visibles et identifiables. Comme il n'est pas nécessaire de travailler sur la totalité de la coquille, un fin fragment contenant l'axe maximal de croissance, est découpé à la scie diamantée.

Avant de recueillir la poudre, chaque portion de coquille subit un nettoyage spécifique : élimination des algues, détritrus ou débris organiques fixés à sa surface. Les échantillons sélectionnés sont passés aux ultrasons pendant 30 mn à 1 heure selon le degré de saleté. Puis, ils sont plongés dans un bain d'acide acétique (90 %) durant 3 minutes. Ils sont ensuite rincés abondamment à l'eau distillée et séchées à l'air libre sous hotte. Les prélèvements de poudre des stries de croissance sont accomplis grâce à un "micromill" (Merchantec) : c'est une microforeuse pilotée par ordinateur. La meilleure stratégie consiste à prélever chaque strie dans le sens de la strie, formant ainsi des sillons. L'opération étant délicate, le fragment de coquille doit être parfaitement fixé sur la platine du microscope. Il est indispensable (1) que la section de coquille reste stable lors du forage et (2) de pouvoir transférer efficacement la poudre dans le pilulier.

Pour réaliser ce projet, la section de coquille est incluse dans un mélange de résine époxy et de catalyseur (araldite® type2020) selon les indications du fabricant de la résine, et disposée sur un morceau plan de plexiglas (Figure 18).



Figure 18 : Section découpée comportant l'axe maximal de croissance d'une coquille Saint-Jacques classe I incluse dans la résine et prête à subir des prélèvements par "Micromill".

Ensuite, ce dispositif est collé sur la platine à l'aide de cire d'abeille. Ce montage réalisé, la section de coquille est visualisée sur un écran et peut être déplacée dans les 3 dimensions grâce à une platine motorisée (X, Y et Z). Ce dispositif permet de préparer à l'écran le trajet souhaité pour la micro perceuse. Pour notre situation, une ligne est établie le long d'une strie (longueur entre 1600 et 2500  $\mu\text{m}$ ). En préalable au prélèvement proprement dit, un profil en Z est entrepris pour connaître l'épaisseur de notre échantillon le long du tracé afin d'adapter la profondeur de creusement (100  $\mu\text{m}$ ). Une fois déterminée, la foreuse en carbure de tungstène (forme conique ; diamètre à 100  $\mu\text{m}$  : 150  $\mu\text{m}$ ) peut creuser un « fossé » dans la coquille en suivant le profil défini (ligne pointillée sur Figure 19). La poudre issue du forage est transférée manuellement dans un petit pilulier et pesée précisément avec une Micro balance MX5 METTLER TOLEDO ( $10^{-6}\text{g}$ ). La Figure 19 montre l'état de surface d'une coquille lors de cette étape.

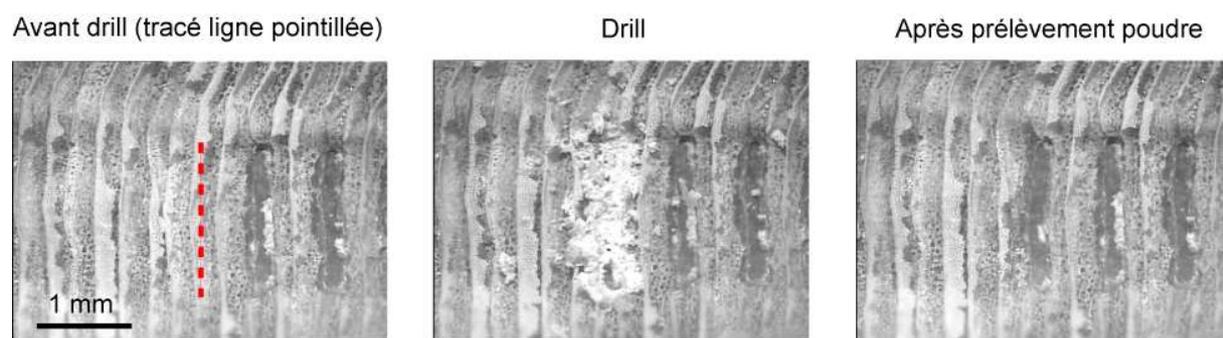


Figure 19 : Photos présentant les différentes étapes permettant de recueillir un échantillon de poudre de carbonate de calcium sur une coquille Saint-Jacques par micro-prélèvement de type « Micromill »

La longueur du tracé est optimisée afin d'obtenir une quantité de poudre approximant les 100  $\mu\text{g}$ , suffisante pour fabriquer le volume nécessaire de solution liquide lors de la mesure à l'ICP-MS. Les prélèvements, répétés toutes les trois stries, suivent l'axe de croissance maximal de la coquille, du plus jeune (début de croissance de l'année 1) au plus vieux (umbo). Des tests (Gill et al., 1995) ont montré que l'application de différentes vitesses de forage ne provoque aucune transformation minéralogique et de fractionnement isotopique.

### **II-3-2 Préparation des solutions avant dosage par ICP-MS**

La mise en solution des échantillons est réalisée la veille de la mesure.

Un des problèmes majeurs du dosage d'éléments en traces et ultra traces reste celui de la maîtrise des contaminations depuis le prélèvement jusqu'au terme de l'analyse (Baruthio & Ducros, 1992). En conséquence tout ce protocole est réalisé dans une salle blanche de classe 10000.

Le milieu dans lequel les solutions sont préparées est un milieu acide ( $\text{HNO}_3$  dilué) purifié par « subboiling » dans un dispositif de type quartex au laboratoire (réactif de départ : Merck PA référence : 5121). De la même façon, tout les consommables utilisés (pilulier, tubes à centrifuger, godet, flacon...) sont préalablement nettoyés dans des bains d'acide nitrique à 5% durant un laps de 12 heures minimum.

#### II-3-2-a Les échantillons de poudre

Le protocole de dissolution est le même pour tous les échantillons : minéralisation dans une solution de  $\text{HNO}_3$  2%. La quantité de solution ajoutée à l'échantillon est calculée en fonction du facteur de dilution voulu (8000 pour notre étude).

Ensuite 7 $\mu\text{l}$  de solution mono-élémentaire de thulium ( $[\text{Tm}] = 77,9 \text{ ppb}$ ) est ajouté, avec une micropipette, à l'échantillon dissous et pesé précisément (Sartorius  $10^{-5}\text{g}$ ). Cet élément est utilisé comme étalon interne (spike) pour corriger les dérives du signal à court et à long terme (le principe est décrit au paragraphe II-3-5). Cet ajout de spike de Tm est optimisé de façon à créer une anomalie positive parfaitement quantifiable à l'ICP-MS.

#### II-3-2-b Les blancs

Pour chaque série d'échantillons, des blancs sont préparés en suivant les mêmes étapes que pour les échantillons. Ces blancs permettent de mesurer le bruit de fond de la machine et le blanc protocole. Aucun ajout en thulium n'est accompli, car les résultats obtenus en nombre de coups sont systématiquement retranchés à ceux qui sont obtenus pour les échantillons (voir méthode de calcul).

#### II-3-2-c L'étalon externe, contrôle de la reproductibilité

Une coquille complète (valve supérieure) de l'espèce *Pecten maximus* provenant de la rade de Brest, préalablement lessivée à l'acide acétique et lavée à l'eau ultra-pure, a été broyée finement

dans un mortier en agate. La poudre obtenue après séchage en étuve (45°C) est conservée dans un flacon. Quelques mg de cette poudre sont préparés suivant le même protocole d'attaque que les échantillons. 7µl de spike en Tm sont additionnés par micropipette. La mesure répétée de cet échantillon permet de nous assurer de la reproductibilité externe de notre protocole.

#### II-3-2-d Le standard de calcite artificiel (l'étalon externe)

La "solution fille" du standard de calcite est préparée comme décrit au chapitre II-1-b. Aucun ajout en Tm n'est réalisé.

Le matin de l'analyse, toutes les solutions sont transférées dans des tubes à centrifuger en polypropylène et disposées sur le passeur d'échantillon automatique.

### **II-3-3 Réglage de l'ICP-MS avant dosage des solutions**

Après allumage du plasma, l'ICP-MS est réglée à l'aide d'une solution artificielle multi-élémentaire où tous les éléments en traces présentent une concentration de 1 ppb.

1°) Réglage de l'état du plasma. Cette étape, la plus importante, permet d'optimiser les conditions du plasma en jouant sur plusieurs paramètres (gaz, position torche, focalisation). L'objectif est d'obtenir le maximum d'intensité pour le signal avec une excellente stabilité, une bonne sensibilité, une production minimale d'oxyde (< 5-6%) et un équilibre idéal d'ionisations entre les éléments légers, moyens et les lourds (Li, In, U).

2°) Pour les trois modes de résolution une calibration en masse du couplage champ magnétique champ électrique est réalisée avec la solution de calibration à 1 ppb. Il s'agit d'accomplir une procédure spécifique à chaque mode de résolution qui couvre toute la gamme de masse. La combinaison idéale entre l'utilisation du champ magnétique et du champ électrique est réglée pour passer d'un élément à un autre. La machine est conçue pour stabiliser, fixer le champ magnétique à un certain point de masse et utiliser le champ électrique pour balayer à partir de ce point de masse vers d'autres masses plus élevées. Lorsque le champ électrique ne peut plus augmenter, le champ magnétique augmente et la même action se répète jusqu'à couvrir toute la gamme de masse.

Les isotopes ou ions poly-atomiques scannés pendant la calibration en masse sont les suivants :

En basse résolution ( ${}^6\text{Li}$ ,  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^{11}\text{B}$ ,  ${}^{23}\text{Na}$ ,  ${}^{28}\text{Si}$ ,  ${}^{45}\text{Sc}$ ,  ${}^{59}\text{Co}$ ,  ${}^{69}\text{Ga}$ ,  ${}^{89}\text{Y}$ ,  ${}^{103}\text{Rh}$ ,  ${}^{115}\text{In}$ ,  ${}^{138}\text{Ba}$ ,  ${}^{175}\text{Lu}$ ,  ${}^{205}\text{Tl}$ ,  ${}^{238}\text{U}^{16}\text{O}$ )

En moyenne résolution ( ${}^6\text{Li}$ ,  ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^{11}\text{B}$ ,  ${}^{23}\text{Na}$ ,  ${}^{28}\text{Si}$ ,  ${}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ ,  ${}^{38}\text{Ar}^1\text{H}$ ,  ${}^{45}\text{Sc}$ ,  ${}^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ ,  ${}^{59}\text{Co}$ ,  ${}^{69}\text{Ga}$ ,  ${}^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ ,  ${}^{89}\text{Y}$ ,  ${}^{103}\text{Rh}$ ,  ${}^{115}\text{In}$ ,  ${}^{138}\text{Ba}$ ,  ${}^{175}\text{Lu}$ ,  ${}^{205}\text{Tl}$ ,  ${}^{238}\text{U}^{16}\text{O}$ )

En haute résolution ( ${}^7\text{Li}$ ,  ${}^{11}\text{B}$ ,  ${}^{28}\text{Si}$ ,  ${}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ ,  ${}^{38}\text{Ar}$ ,  ${}^{38}\text{Ar}^1\text{H}$ ,  ${}^{45}\text{Sc}$ ,  ${}^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ ,  ${}^{59}\text{Co}$ ,  ${}^{69}\text{Ga}$ ,  ${}^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ ,  ${}^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ ,  ${}^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ ,  ${}^{89}\text{Y}$ ,  ${}^{103}\text{Rh}$ ,  ${}^{115}\text{In}$ ,  ${}^{138}\text{Ba}$ ,  ${}^{175}\text{Lu}$ ,  ${}^{205}\text{Tl}$ ,  ${}^{238}\text{U}^{16}\text{O}$ )

3) Lorsque nous écrivons une méthode, d'autres éléments sont ajoutés. Le passage champ magnétique / champ électrique va se faire différemment entraînant un décalage en masse dû à l'effet d'hystérésis de l'aimant. En effet, si nous demandons à la machine de passer du  ${}^7\text{Li}$  à  ${}^{115}\text{In}$  ou du  ${}^{89}\text{Y}$  à  ${}^{115}\text{In}$ , le saut est différent induisant une valeur du champ différente. Il faut en conséquence déterminer ces décalages en masse de manière à voir tous les pics centrés dans la fenêtre d'acquisition.

4°) Test de stabilité. Cette étape permet de vérifier la stabilité du signal au cours du temps. Le lithium, l'indium et l'uranium sont mesurés de manière séquentielle sur une période de temps suffisante pour tester une éventuelle dérive instrumentale de l'appareil.

5°) Mesure de la contribution des oxydes sur les Terres Rares lourdes (Barrat et al., 1996).

Pour les terres rares (Lu, Yb, Tm, Er, Ho, Dy, Tb, Eu, Gd), la correction de l'interférence en masse par augmentation de la résolution ne peut s'appliquer (Paragraphe I-4-1). La mesure correcte de ces éléments s'obtient par estimation de la production d'oxyde dans leur gamme de masse. La formation de ces interférences est dépendante du réglage (étape n°1) de la machine d'où l'importance quotidienne de ces corrections. La contribution des interférences est calculée en analysant trois solutions artificielles enrichies en terres rares produisant les oxydes interférant. L'eau ultra pure du jour est analysée initialement pour déterminer le bruit de fond.

La séquence de mesure des interférences est la suivante :

1°) eau pure

2°) solution artificielle (Sm, Eu, Gd, Tb)

3°) solution artificielle (Nd, Pr)

4°) solution artificielle (Ba, Ce)

Ces solutions, contenant les éléments à une concentration de 5 ppb, sont préparées avec des solutions mono-élémentaires (Custom grade standard ; 1000 ppm ; 5% HNO<sub>3</sub>).

Le facteur de correction d'oxydes est déduit selon la formule :

$$F(Y) = (N2(X) - N1(X)) / (N2(Y) - N1(Y))$$

Y : élément qui présente une interférence en oxyde non négligeable

X : élément qui produit l'interférence.

N2 (X,Y) : nombre de coups mesurés pour X, Y dans la solution artificielle qui contient X

N1 (X,Y) : nombre de coups mesurés pour X et Y dans la solution d'eau pure

Le Tableau 12 montre le principe suivi pour estimer les terres rares lourdes en les corrigeant de leurs interférences contraignantes.

Tableau 12 : Interférences et isotopes examinés pour corriger l'estimation des terres rares lourdes.

Élément	m/z	Interférences recensées	Correction : isotope sélectionné
<b>Ba</b>	135		
<b>La</b>	139		
<b>Ce</b>	140		
<b>Pr</b>	141		
<b>Nd</b>	146	( <sup>130</sup> Ba <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	négligeable
<b>Sm</b>	147	( <sup>130</sup> Ba <sup>16</sup> OH) <sup>+</sup>	négligeable
<b>Sm</b>	149	( <sup>132</sup> Ba <sup>16</sup> OH) <sup>+</sup>	négligeable
<b>Eu</b>	151	( <sup>134</sup> Ba <sup>16</sup> OH) <sup>+</sup> , ( <sup>135</sup> Ba <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	négligeable, <sup>135</sup> Ba <sup>+</sup>
<b>Gd</b>	157	( <sup>140</sup> Ce <sup>16</sup> OH) <sup>+</sup> , ( <sup>141</sup> Pr <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	<sup>140</sup> Ce <sup>+</sup> , <sup>141</sup> Pr <sup>+</sup>
<b>Tb</b>	159	( <sup>143</sup> Nd <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	<sup>146</sup> Nd <sup>+</sup>
<b>Dy</b>	163	( <sup>147</sup> Sm <sup>16</sup> O) <sup>+</sup> , ( <sup>146</sup> Nd <sup>16</sup> OH) <sup>+</sup>	<sup>146</sup> Nd <sup>+</sup> , <sup>147</sup> Sm <sup>+</sup>
<b>Ho</b>	165	( <sup>149</sup> Sm <sup>16</sup> O) <sup>+</sup> , ( <sup>148</sup> Nd <sup>16</sup> OH) <sup>+</sup>	<sup>146</sup> Nd <sup>+</sup> , <sup>149</sup> Sm <sup>+</sup>
<b>Er</b>	167	( <sup>151</sup> Eu <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	<sup>151</sup> Eu <sup>+</sup>
<b>Tm</b>	169	( <sup>153</sup> Eu <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	<sup>151</sup> Eu <sup>+</sup>
<b>Yb</b>	174	( <sup>158</sup> Gd <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	<sup>157</sup> Gd <sup>+</sup>
<b>Lu</b>	175	( <sup>159</sup> Tb <sup>16</sup> O) <sup>+</sup>	<sup>159</sup> Tb <sup>+</sup>

6°) Programmation de la séquence de mesure avant de commencer l'analyse.

Une interface du programme de l'ICP-MS permet d'établir l'ordre de passage de nos échantillons et leur positionnement sur le passeur d'échantillons. Toutes les données utiles (méthode, temps

de rinçage, temps de prélèvements, paramètres de l'ICP-MS définies au paragraphe II-3-4 pour notre méthode) sont insérées dans le programme pour fixer les conditions de l'analyse du jour.

Nos séquences de mesures comprennent l'analyse complète d'un seul spécimen de coquille, c'est-à-dire 85 échantillons au maximum. Elle débute toujours par la mesure des blancs pour estimer le bruit de fond (nécessaire pour le traitement des données cf. paragraphe II-3-5).

L'analyse de la "solution fille" du standard calcite Brest suit et se renouvelle tous les cinq échantillons. La réponse de l'appareil ICP-MS varie beaucoup au cours du temps, les cônes ont tendance à se boucher légèrement diminuant la détection. Le passage du standard de calcite permet de contrôler la dérive instrumentale. Pour notre méthode, il est répété tous les cinq échantillons pour compenser une dérive instrumentale trop importante entre le premier et le dernier échantillon analysé et réduire la durée de la séquence d'analyse. Grâce à la régularité de la mesure, il est possible de calculer avec fiabilité la teneur des éléments dans l'échantillon (interpolation par régression linéaire voir Paragraphe II-3-5 traitement des données).

L'ordre de passage des échantillons suit la logique des prélèvements de poudre de l'apex vers l'umbo (du début de la croissance vers le bord extérieur). Nous avons observé qu'un passage aléatoire des échantillons n'avait aucun impact sur les résultats.

La solution contenant l'échantillon de coquille broyée de *Pecten maximus* est intercalée tous les dix échantillons. La détermination des teneurs dans cette solution (matrice et concentrations similaires aux échantillons), en utilisant le même procédé de calcul que pour les échantillons, permet d'évaluer la reproductibilité de notre analyse.

A la fin des analyses, nous obtenons un seul fichier constitué par un tableau regroupant pour chaque solution analysée les éléments mesurés, le nombre de coups pour chaque élément et l'écart type dans l'ordre de passage décidé.

NB : L'étape 5 est nécessaire si les terres rares sont incluses dans notre méthode d'analyse ou si le Tm est utilisé comme étalon interne. Les étapes 2 et 3 sont spécifiques aux instruments HR-ICP-MS. L'étape 3 n'est pas utile si aucune modification telle ajout, suppression ou changement de résolution d'un élément, n'est apportée à notre méthode. Pour la 1<sup>ère</sup> étape, à chaque résolution, l'allure générale des pics peut s'optimiser grâce aux lentilles de focalisation spécifiques.

Le matériel analytique utilisé et les conditions typiques du plasma lors de nos analyses de coquilles de *Pecten maximus* en phase liquide sont résumés ci-dessous :

- Cônes : nickel
- Capillaire de prélèvement d'échantillon ; débit : 30  $\mu$ l/s
- Torche et Injecteur en verre. Diamètre de l'injecteur : 1,8  $\mu$ m
- \*\*Nébuliseur : concentriques
- \*\*Chambre de nébulisation : cyclonique
- Gaz de refroidissement (l/mn) : 16,06
- \*Puissance du plasma (watt) : 1270-1310
- \*Gaz auxiliaire (l/mn) : 0,54-0,65
- \*Gaz échantillon (l/mn): 0,950-1,039
- \*Position torche (mm) : x : 3,4 à 3,7 ; y : 1,9 à 2,4 ; z : -4,6 à -4,9

\* paramètres ajustés lors de la 1<sup>ère</sup> étape.

\*\* 2 matériels différents utilisés au cours de ce travail de thèse :

Nébuliseur : l'un en téflon (débit 0,2 ml/mn) l'autre en verre (débit 0,2 ml/mn).

Chambre de nébulisation : (1) Chambre cyclonique à deux étages. Cette chambre délivre un signal très stable

(2) Chambre effet Peltier PC3 (ESI). Elle permet d'opérer à basse température avec une petite chambre de nébulisation cyclonique. Avec ce dispositif, la production d'oxyde est moindre et l'intensité du signal est plus importante comparée à l'autre chambre de nébulisation.

#### **II-3-4 Définition de la méthode d'analyse des coquilles Saint-Jacques en mode indirect**

La méthode mise en place pour l'analyse en phase liquide des coquilles de bivalves est programmée sous le nom "Ca-Mg réduite". Les conditions opératoires spécifiques à cette méthode sont présentées ci-dessous.

##### II-3-4-a Choix des éléments et du mode de résolution

Notre intention pour *Pecten maximus* consistant à détecter la présence ou non de traces métalliques devenues mesurables grâce à la grande sensibilité de l'ICP-MS haute résolution et de valider les résultats antérieurs (i.e Mo, Ba...), nous avons sélectionné un grand nombre

d'éléments potentiellement porteur d'informations géochimiques (Tableau 13). Il convient de noter que l'hafnium, le zirconium et le thorium initialement sélectionnés ont été supprimés de la méthode "Ca-Mg réduite". En effet, l'analyse de solutions biologiques provoque la perte du signal pour ces éléments même pour les "solutions filles" du standard de calcite.

Tableau 13 : Eléments composants la méthode "Ca-Mg réduite" et les informations attendues.

<b>Eléments</b>	<b>Informations attendues</b>
Li, As, Al, Zn, Nb, Ag, Cd, Sn, Tl, Pb, U, Cr, Cu, Co, Ni, Fe	pollution, apports anthropiques
La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Y, Cs, Rb, Rh	bio-géochimiques
P, Se, Sb, W, Ge, Ti, V, Ga, Mo, S	activités enzymatiques
Na, Mg, Sr, B, K, Ba, Mn	lien avec un paramètre environnemental

L'Element 2 offre la possibilité de travailler selon trois modes de résolution (Paragraphe I-4). L'augmentation de la résolution permet d'une part de s'affranchir le plus possible des interférences sur des éléments mesurés et d'autre part de diminuer l'intensité du signal quand il s'agit d'éléments majeurs. L'écriture d'une méthode doit tenir compte du type d'échantillon analysé, des différents éléments présents et des interférences potentielles attendues.

Les constituants majeurs des coquilles de mollusques (Ca, Na, Mg et Sr), dont la concentration dépasse 1000 ppm, sont analysés en moyenne résolution afin d'éviter de saturer le compteur d'ions. Aux interférences courantes liées à des ions poly-atomiques (exemple :  $^{38}\text{ArH}$  sur  $^{39}\text{K}$ ,  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$  sur  $^{56}\text{Fe}$ , ...) doivent s'ajouter celles produites par la présence majoritaire de certains éléments dans la matrice carbonatée ou les réactifs (exemple  $^{23}\text{Na}^{40}\text{Ar}$  sur  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{42}\text{Ca}^{16}\text{O}$  sur  $^{58}\text{Ni}$ ,  $^{14}\text{N}^{40}\text{ArH}$  sur  $^{55}\text{Mn}$ ,...). Les éléments sélectionnés pour notre méthode nécessitant une résolution plus importante pour leur détermination se trouvent dans les deux tableaux suivants (Tableau 14 : analyse en moyenne résolution (MR); Tableau 15 : analyse en haute résolution(HR)).

La sélection de l'isotope de chaque élément composant la méthode "Ca-Mg réduite" est faite en fonction de son abondance, de la présence ou l'absence d'interférence et de l'influence de ces interférences. Dans le Tableau 14 et le Tableau 15, les isotopes soulignés en gris sont ceux choisis pour la méthode "Ca-Mg réduite" en moyenne et en haute résolution. Par exemple pour le titane, l'augmentation de la résolution (moyenne résolution) permet de s'affranchir de

nombreuses interférences, mais certaines interférences isobariques<sup>7</sup> sont toujours présentes (<sup>48</sup>Ca sur <sup>48</sup>Ti et <sup>46</sup>Ca sur <sup>46</sup>Ti) d'où le choix de l'isotope non interféré <sup>47</sup>Ti.

Tableau 14 : Liste des éléments ayant des interférences contraignantes en basse résolution (BR) conduisant à leur analyse en moyenne résolution (MR). Entre parenthèses figurent des interférences qui apparaissent négligeables pour notre analyse.

Elément	Isotope	Abondance (%)	Interférences contraignantes en BR	Non résolues en MR
<b>P</b>	<sup>31</sup> P	100	<sup>15</sup> N <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>62</sup> Ni <sup>2+</sup>	
<b>S</b>	<sup>32</sup> S	95,02	<sup>16</sup> O <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>64</sup> Zn <sup>2+</sup> , ( <sup>64</sup> Ni <sup>2+</sup> , <sup>14</sup> N <sup>18</sup> O <sup>+</sup> )	
	<sup>34</sup> S	4,21	<sup>18</sup> O <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	<sup>68</sup> Zn <sup>2+</sup>
<b>Ti</b>	<sup>46</sup> Ti	8	<sup>30</sup> Si <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	<sup>46</sup> Ca <sup>+</sup>
	<sup>47</sup> Ti	7,3	<sup>11</sup> B <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>31</sup> P <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	( <sup>94</sup> Mo <sup>2+</sup> , <sup>94</sup> Zr <sup>2+</sup> )
	<sup>48</sup> Ti	73,8	<sup>12</sup> C <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>32</sup> S <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>96</sup> Mo <sup>2+</sup> )	<sup>48</sup> Ca <sup>+</sup>
	<sup>49</sup> Ti	5,5	<sup>48</sup> CaH <sup>+</sup> , ( <sup>33</sup> S <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	
	<sup>50</sup> Ti	5,4	<sup>14</sup> N <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>34</sup> S <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>32</sup> S <sup>18</sup> O <sup>+</sup>	<sup>50</sup> Cr <sup>+</sup> , ( <sup>50</sup> V <sup>+</sup> )
<b>V</b>	<sup>51</sup> V	99,75	<sup>35</sup> Cl <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>11</sup> B <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>15</sup> N <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>	
	<sup>50</sup> Cr	4,31	<sup>14</sup> N <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>34</sup> S <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>32</sup> S <sup>18</sup> O <sup>+</sup>	<sup>50</sup> Ti <sup>+</sup> , ( <sup>50</sup> V <sup>+</sup> )
<b>Cr</b>	<sup>52</sup> Cr	83,79	<sup>12</sup> C <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>16</sup> O <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>	
	<sup>53</sup> Cr	9,5	<sup>13</sup> C <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>37</sup> Cl <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	
	<sup>54</sup> Cr	2,37	<sup>14</sup> N <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup>	<sup>54</sup> Fe <sup>+</sup>
<b>Mn</b>	<sup>55</sup> Mn	100	<sup>14</sup> N <sup>40</sup> ArH <sup>+</sup> , <sup>15</sup> N <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>39</sup> K <sup>16</sup> O, ( <sup>19</sup> F <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> )	
<b>Fe</b>	<sup>54</sup> Fe	5,8	<sup>14</sup> N <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup>	<sup>54</sup> Cr <sup>+</sup>
	<sup>56</sup> Fe	91,72	<sup>40</sup> Ca <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ar <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>38</sup> Ar <sup>18</sup> O <sup>+</sup>	
	<sup>57</sup> Fe	2,2	<sup>40</sup> Ar <sup>16</sup> OH <sup>+</sup> , <sup>39</sup> K <sup>18</sup> O <sup>+</sup> , <sup>41</sup> K <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	
	<sup>58</sup> Fe	0,28	<sup>42</sup> Ca <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ca <sup>18</sup> O <sup>+</sup> , <sup>40</sup> Ar <sup>18</sup> O <sup>+</sup>	<sup>58</sup> Ni <sup>+</sup>
<b>Co</b>	<sup>59</sup> Co	100	<sup>43</sup> Ca <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>23</sup> Na <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>19</sup> F <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> )	
	<sup>58</sup> Ni	68,08	<sup>42</sup> Ca <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>116</sup> Sn <sup>2+</sup> , <sup>116</sup> Cd <sup>2+</sup> )	<sup>58</sup> Fe <sup>+</sup>
<b>Ni</b>	<sup>60</sup> Ni	26,23	<sup>44</sup> Ca <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>24</sup> Mg <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>	
	<sup>62</sup> Ni	3,6	<sup>22</sup> Ne <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>24</sup> Mg <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>26</sup> Mg <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>	
<b>Cu</b>	<sup>63</sup> Cu	69,17	<sup>23</sup> Na <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>25</sup> Mg <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>27</sup> Al <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>	
	<sup>65</sup> Cu	30,83	<sup>25</sup> Mg <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>49</sup> Ti <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	<sup>27</sup> Al <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>29</sup> Si <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>
<b>Ga</b>	<sup>69</sup> Ga	60,1	<sup>138</sup> Ba <sup>2+</sup>	
	<sup>71</sup> Ga	39,9	<sup>55</sup> Mn <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>35</sup> Cl <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>53</sup> Cr <sup>18</sup> O <sup>+</sup> )	
<b>Ge</b>	<sup>70</sup> Ge	21,23	<sup>54</sup> Fe <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	<sup>70</sup> Zn <sup>+</sup>
	<sup>72</sup> Ge	27,66	<sup>32</sup> S <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>36</sup> Ar <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>34</sup> S <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> )	( <sup>56</sup> Fe <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )
	<sup>73</sup> Ge	7,73	<sup>37</sup> Cl <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>35</sup> Cl <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>33</sup> S <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>55</sup> Mn <sup>18</sup> O <sup>+</sup> )	
	<sup>74</sup> Ge	35,94	<sup>58</sup> Ni <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>34</sup> S <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>56</sup> Fe <sup>18</sup> O <sup>+</sup> )	( <sup>74</sup> Se <sup>+</sup> , <sup>58</sup> Fe <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )

Tableau 15 : Liste des interférences recensées en moyenne et basse résolution pour l'arsenic et le potassium entraînant leur analyse à haute résolution (HR). Entre parenthèses figurent des interférences qui apparaissent négligeables pour notre analyse.

Elément	Isotope	Abondance (%)	Interférence en MR	Interférence en BR
K	<sup>39</sup> K	93,26	<sup>1</sup> H <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>78</sup> Kr <sup>2+</sup> , <sup>23</sup> Na <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>78</sup> Se <sup>2+</sup> )	
	<sup>41</sup> K	6,73	<sup>1</sup> H <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>25</sup> Mg <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>82</sup> Se <sup>2+</sup> )	
As	<sup>75</sup> As	100	<sup>35</sup> Cl <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>59</sup> Co <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	<sup>39</sup> K <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup>

Trois éléments (Li, Mo, Zn) sont analysés à deux résolutions différentes (basse et moyenne résolution). Ces éléments (surtout Li, Mo) sont particulièrement intéressants car ils présentent dans les coquilles un profil temporel composé d'enrichissements épisodiques (Chapitre III et IV). Leur mesure en basse résolution tient compte de certaines interférences (Tableau 16) qui peuvent éventuellement modifier le résultat. Toutefois pour vérifier la justesse de la mesure, nous effectuons une mesure supplémentaire en moyenne résolution.

Tableau 16 : Interférences pour les éléments analysés en moyenne et basse résolution pour la méthode "Ca-Mg réduite" (en gris les isotopes sélectionnés pour notre méthode).

Elément	Isotope	(%)	Interférences en BR	Interférences non séparées en MR
Li	<sup>6</sup> Li	7,5	<sup>12</sup> C <sup>2+</sup>	
	<sup>7</sup> Li	92,7	<sup>14</sup> N <sup>2+</sup>	
Zn	<sup>64</sup> Zn	48,6	<sup>24</sup> Mg <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>28</sup> Si <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>48</sup> Ca <sup>18</sup> O <sup>+</sup>	<sup>64</sup> Ni <sup>+</sup>
	<sup>66</sup> Zn	27,9	<sup>26</sup> Mg <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>28</sup> Si <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>30</sup> Si <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>132</sup> Ba <sup>2+</sup> )	
	<sup>67</sup> Zn	4,1	<sup>27</sup> Al <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>29</sup> Si <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>134</sup> Ba <sup>2+</sup> )	
	<sup>68</sup> Zn	18,8	<sup>28</sup> Si <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>32</sup> S <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>136</sup> Ba <sup>2+</sup> )	<sup>30</sup> Si <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup>
Mo	<sup>92</sup> Mo	14,84	<sup>52</sup> Cr <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>76</sup> Se <sup>16</sup> O <sup>+</sup> )	<sup>56</sup> Fe <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>92</sup> Zr <sup>+</sup> )
	<sup>94</sup> Mo	9,25	<sup>78</sup> Kr <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>78</sup> Se <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>54</sup> Fe <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> )	<sup>58</sup> Ni <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>94</sup> Zr <sup>+</sup> )
	<sup>95</sup> Mo	15,92	( <sup>57</sup> Fe <sup>38</sup> Ar <sup>+</sup> )	<sup>55</sup> Mn <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup>
	<sup>96</sup> Mo	16,68	<sup>80</sup> Kr <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>80</sup> Se <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	<sup>60</sup> Ni <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>96</sup> Ru <sup>+</sup> , <sup>96</sup> Zr <sup>+</sup> )
	<sup>97</sup> Mo	9,55	( <sup>57</sup> Fe <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> )	( <sup>61</sup> Ni <sup>36</sup> Ar <sup>+</sup> )
	<sup>98</sup> Mo	24,13	<sup>58</sup> Ni <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , <sup>82</sup> Kr <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	( <sup>98</sup> Ru <sup>+</sup> )
	<sup>100</sup> Mo	9,63	<sup>60</sup> Ni <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup> , ( <sup>82</sup> Kr <sup>18</sup> O <sup>+</sup> )	<sup>84</sup> Sr <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , <sup>84</sup> Kr <sup>16</sup> O <sup>+</sup> , ( <sup>100</sup> Ru <sup>+</sup> )

En résumé, les isotopes analysés en basse résolution sont : <sup>7</sup>Li, <sup>10</sup>B, <sup>11</sup>B, <sup>27</sup>Al, <sup>66</sup>Zn, <sup>72</sup>Ge, <sup>77</sup>Se, <sup>85</sup>Rb, <sup>89</sup>Y, <sup>93</sup>Nb, <sup>97</sup>Mo, <sup>103</sup>Rh, <sup>109</sup>Ag, <sup>111</sup>Cd, <sup>118</sup>Sn, <sup>121</sup>Sb, <sup>133</sup>Cs, <sup>135</sup>Ba, <sup>137</sup>Ba, <sup>139</sup>La, <sup>140</sup>Ce, <sup>141</sup>Pr, <sup>143</sup>Nd, <sup>146</sup>Nd, <sup>147</sup>Sm, <sup>149</sup>Sm, <sup>151</sup>Eu, <sup>157</sup>Gd, <sup>159</sup>Tb, <sup>163</sup>Dy, <sup>165</sup>Ho, <sup>167</sup>Er, <sup>169</sup>Tm, <sup>174</sup>Yb, <sup>175</sup>Lu, <sup>182</sup>W,

$^{205}\text{Tl}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{238}\text{U}$ .

En moyenne résolution :  $^7\text{Li}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{S}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{47}\text{Ti}$ ,  $^{51}\text{V}$ ,  $^{52}\text{Cr}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{56}\text{Fe}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{69}\text{Ga}$ ,  $^{72}\text{Ge}$ ,  $^{86}\text{Sr}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{97}\text{Mo}$ .

En haute résolution :  $^{39}\text{K}$ ,  $^{75}\text{As}$ .

#### II-3-4-b Définition de la méthode “Ca-Mg réduite”

Pour réaliser une mesure complète (prélèvement + acquisition) et permettre l'analyse de solution réduite (minimale 0,6 ml), des conditions spécifiques d'analyses (nombre de run (réplicat), taille des fenêtres d'acquisition, temps de prélèvement...) sont attribuées à la méthode “Ca-Mg réduite”. Elles sont résumées ci-dessous.

-Basse résolution [m/ $\Delta$ m] : 300

-Moyenne résolution [m/ $\Delta$ m] : 4000

-Haute résolution [m/ $\Delta$ m] : 10000

-Nombre de runs (réplicats) : 2

-Nombre de pass (passage par réplicats) : 2

-Temps de stabilisation de l'aimant (settling time) (s) : 0,3

-Temps d'acquisition (Sample time) (s) : BR : 0,01 ; MR, HR : 0,02

-Fenêtre de Masse (%) : BR : 20 ; MR : 125 ; HR : 125

-Fenêtre d'intégration (%) : BR : 20, 80 pour  $^{10}\text{B}$  ; MR : 40, 80 pour  $^7\text{Li}$  ; HR : 40

-Nombre de points par pic : BR : 50 ; MR : 20 ; HR : 20 pour K et 50 pour As

-Contrôle du décalage en masse en MR :  $^{40}\text{Ar}$   $^{40}\text{Ar}$

-Mode de détection : Analogique et comptage\*

#### Conditions d'analyses :

-Vitesse pompe péristaltique (tours par minutes) : 2,5

-Temps de prélèvement d'échantillon (s) : 90, 80 si solutions < 0,65 ml.

-Temps d'acquisition (s) : 100

-Temps “move up” (s) : 55

-Temps de rinçage (s) : 180

\*Le mode comptage détecte le signal qui se situe dans une gamme de 0 à  $5 \cdot 10^6$  coups par seconde. Le mode analogique est utilisé pour un signal entre  $10^4$  à  $10^{10}$  coups par seconde.

### **II-3-5 Traitement des données en analyse indirecte**

Pour notre étude, le calcul des teneurs élémentaires des échantillons associe la mesure régulière de l'étalon externe ("calcite Brest" dont les teneurs sont parfaitement connues voir paragraphe II-2-3) à la mesure de l'échantillon spiké. Le calcul suit la logique expliquée ci dessous.

Pour l'élément X, sa teneur dans la solution échantillon est calculée par une simple règle de 3

Ce(x) : teneur de l'élément X dans la solution échantillon en ppm.

Cc(x) : teneur de l'élément X dans le standard de calcite en ppm.

Nc(x) : signal détecté (nombre de coups par seconde) dans la solution fille du standard de calcite pour un élément X.

Ne(x) : signal mesuré (nombre de coups par seconde) dans la solution-échantillon pour un élément X.

Si la teneur Cc(x) dans la solution standard correspond à un nombre de coups Nc(x) pour l'appareil, la teneur apparente Ce(x) de l'échantillon pour laquelle Ne(x) coups sont obtenus est donnée selon la formule :

$$Ce(x) = (Ne(x).Cc(x))/Nc(x) \quad (1)$$

Il existe une dérive entre chaque mesure. Elle est corrigée grâce à l'étalon interne.

La concentration exacte [X] de l'échantillon corrigée de la dérive expérimentale (F) est alors égale à :

$$[X] = Ce(x)/F \quad (2)$$

La technique développée par Barrat et al (1996) utilisant le Tm comme étalon interne a été choisie pour le calcul des concentrations de nos échantillons. Le Tm est ajouté aux échantillons à l'exception du blanc et de l'étalon externe afin de créer une anomalie artificielle en Tm sur le spectre de Terres Rares. Le Tm est un étalon interne judicieux pour les raisons suivantes :

- a)  $^{153}\text{Eu}^{16}\text{O}$  est la seule interférence identifiée contraignante, mais elle est corrigée aisément selon la méthode décrite au paragraphe II-3-3.
- b) Le Tm a un seul isotope stable ( $^{169}\text{Tm}$ ) qui ne produit aucune interférence sur d'autres terres rares.
- c) L'anomalie créée est facilement quantifiable car les trois Terres Rares lourdes (Er, Tm et Yb) sont fractionnées de manière linéaire par les processus naturels. La teneur théorique en Tm de l'échantillon est ainsi évaluée par interpolation entre l'Er et l'Yb.

L'ajout de Tm en étalon interne à nos échantillons permet :

(1) de s'affranchir des pesées intermédiaires car le Tm ajouté (Tm mesuré – Tm vrai échantillon) est un invariant dans tout le protocole de dilution ou transfert : le rapport terre rare lourdes / Tm est fixe.

(2) de recalculer la concentration élémentaire des échantillons, en associant la mesure régulière de l'étalon externe et la mesure des échantillons spikés.

Selon cette méthode la dérive F (facteur de correction) se calcule selon l'expression

$$F = Q(\text{Tm})_{\text{mesuré}} / Q(\text{Tm})_{\text{ajouté}}$$

$Q(\text{Tm})_{\text{mesuré}}$  : quantité de Tm ajouté artificiellement (Tm mesuré – Tm vrai échantillon) estimée par la machine ( $\mu\text{g}$ )

$$Q(\text{Tm})_{\text{mesuré}} = \text{mech} \cdot (\text{Ce}(\text{Tm}) - \text{Ce}(\text{Tm}^*))$$

mech : masse de l'échantillon en g.

$\text{Ce}(\text{Tm}^*)$  : teneur vraie en Tm dans l'échantillon en ppm.

Cette donnée est évaluée en faisant la moyenne géométrique des concentrations normalisées à une référence chondritique de Yb et de Er. Cette approximation se justifie car les distributions en terres rares dans les matériaux naturels sont pour partie héritées de la nucléosynthèse.

$$\text{Ce}(\text{Tm}^*) = 0,02561 \cdot ((\text{Ce}(\text{Er})/0,166) \cdot (\text{Ce}(\text{Yb})/0,1651))^{0,5}$$

$\text{Ce}(\text{Tm})$  : teneur du Tm mesurée dans la solution échantillon en ppm.

$\text{Ce}(\text{Tm})$ ,  $\text{Ce}(\text{Yb})$  et  $\text{Ce}(\text{Er})$  sont obtenus grâce à (1)

$Q(\text{Tm})_{\text{ajouté}}$ : quantité de Tm ajouté ( $\mu\text{g}$ )

$$Q(\text{Tm})_{\text{ajouté}} = [\text{Tm}]_{\text{spike}} \cdot m_{\text{Tm spike}}$$

$[\text{Tm}]_{\text{spike}}$  : concentration de la solution mono-élémentaire en Tm additionné (converti en ppm pour le calcul). Pour notre étude,  $[\text{Tm}]_{\text{spike}} = 77,9\text{ppb}$ .

$m_{\text{Tm spike}}$  : masse de Tm ajouté en g.

$$\Rightarrow F = ((\text{Ce}(\text{Tm}) - \text{Ce}(\text{Tm}^*)) \cdot \text{mech}) / ([\text{Tm}]_{\text{spike}} \cdot m_{\text{Tm spike}})$$

En résumé, le calcul des concentrations dans les échantillons se fait en plusieurs étapes

$\Rightarrow$  Etablir une moyenne glissante entre les deux " solutions filles " encadrant l'échantillon

mesuré afin d'attribuer le bon nombre de coups lors de son passage.

⇒ Retrancher les valeurs (nombre de coups par seconde) obtenues pour le blanc à celles qui sont mesurées pour les échantillons et l'étalon externe déduit.

⇒ Calcul des nombres de coups vrais en Terre rares par application des corrections d'oxydes.

⇒ Utilisation de la "solution-fille" (issue de la 2<sup>ème</sup> étape) pour déterminer les concentrations en solution des échantillons (utilisation des rapports X/Tm en nombre de coups).

⇒ Re-calcul des concentrations vraies grâce aux valeurs de pesée de la masse de matériel minéralisé et la masse de Tm ajouté pour chaque échantillon.

Suite à ces étapes et à des substitutions, la teneur en ppm de l'élément X dans l'échantillon est calculée selon la formule :

$$[X] = \underbrace{\left( \frac{((Ne(x).Cc(x))/Nc(x))}{(mTm\ spike)} \right)}_{\text{Calibration externe}} \cdot \underbrace{\left( \frac{([Tm] spike \cdot mTm\ spike)}{(mech \cdot (Ce(Tm) - Ce(Tm^*)))} \right)}_{\text{Facteur de dérive expérimentale}}$$

$$\Leftrightarrow [X] = (Ce(x) \cdot QTm\ ajouté) / (mech \cdot (Ce(Tm) - Ce(Tm^*)))$$

Pour l'analyse des mollusques, la présence du thulium étant faible comparée à l'anomalie créée Ce(Tm\*) est considérée comme nulle.

La formule se simplifie et devient :

$$[X] = (Ce(x) \cdot QTm\ ajouté) / (mech \cdot Ce(Tm))$$

PS : Dans notre cas spécifique, les concentrations en terres rares dans la solution standard n'ont pas d'abondance chondritique mais artificielle (concentrations de toutes les terres rares égales), les concentrations en erbium et en ytterbium ne sont donc pas normalisées comme pour l'échantillon.

## II-4 Méthodologie d'analyse des coquilles de *Pecten maximus* par LA-ICP-MS

### II-4-1 Généralité sur l'analyse LA-ICP-MS

Comme dans toute mesure ICP-MS, lors de l'utilisation du laser, il faut faire une mesure de blanc. L'acquisition des données est réalisée dans un premier temps sans tir de laser. Ensuite, il faut environ 20 secondes de stabilisation du signal après le début de l'ablation pour obtenir une mesure. Un exemple d'évolution du signal (en coups par seconde) de l'isotope  $^{43}\text{Ca}$  sur un NIST612 et des deux zones considérées pour le traitement des données est présenté sur la Figure 20.

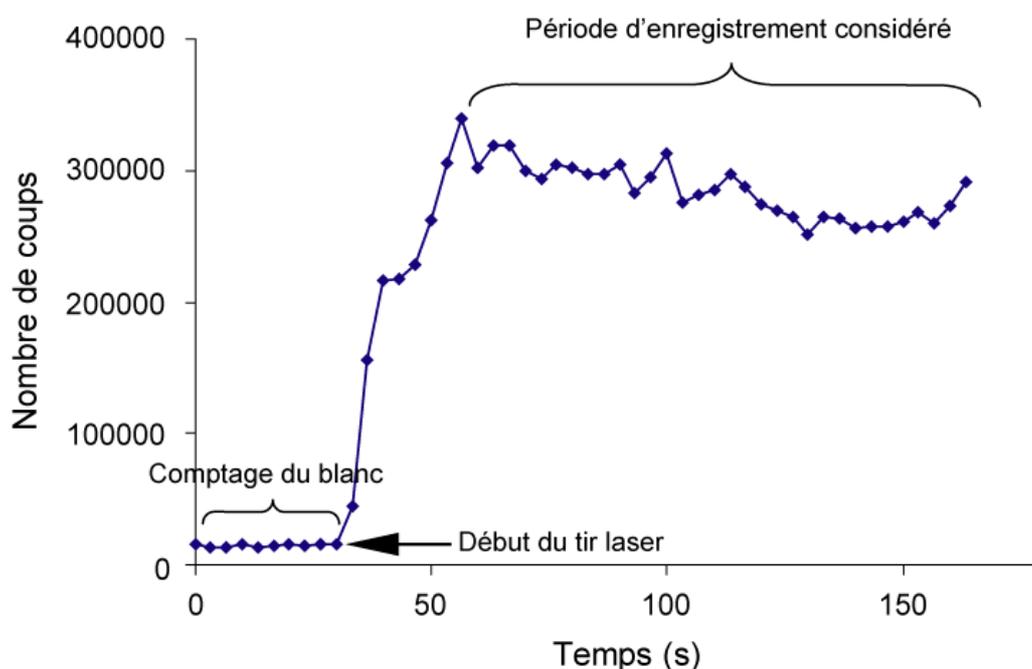


Figure 20 : Exemple de signal en coups par seconde observé lors d'une analyse LA-ICP-MS pour l'isotope  $^{43}\text{Ca}$  sur l'étalon NIST612. L'acquisition dure 160 secondes mais le faisceau laser débute au bout de 30 secondes (mesure du bruit de fond).

Les premières études sur une section de coquille de *Pecten maximus* ont révélé la difficulté de leur analyse élémentaire. La construction de la coquille est particulière (surface non plane, stries construites par recouvrement) et il est difficile de visualiser la zone à ablater par absence de luminosité. De nombreux tests dont certains sont développés ci-dessous ont permis d'acquérir

une méthodologie adaptée pour cet échantillon.

## **II-4-2 Amélioration de l'analyse des coquilles Saint-Jacques via LA-ICP-MS**

### II-4-2-a Choix de l'étalon interne

Les analyses réalisées en microsonde (Paragraphe II-2-a) confirment le calcium comme un élément majoritaire et invariant tout au long de la coquille *Pecten maximus*. Ces résultats permettent de l'utiliser comme étalon interne pour corriger diverses instabilités, dérives induites au cours du temps par le laser et l'ICP-MS. Le calcium possède 5 isotopes stables. Pour la mesure des carbonates biologiques, l'isotope le plus couramment utilisé est le 43 (Price et al., 1997 ; Vander Putten et al., 1999 ; Craig et al., 2000 ; Belloto & Mickleley, 2000 ; Lazareth et al., 2003 ; Barats, 2006 ; Perez Huerta et al., 2008 ; Thébault et al., 2009). D'autres études ont aussi utilisé l'isotope 42 (Stecher et al., 1996) ou l'isotope 44 (Perkins et al., 1991 ; Toland et al., 2000 ; Hendry et al., 2001 ; Pearce & Mann, 2006). Les deux autres isotopes sont soit trop abondants ( $^{40}\text{Ca}$  : 96,45%), soit minoritaire ( $^{46}\text{Ca}$  : 0,004%). Nous avons opté pour l'isotope 43, car les interférences recensées sur cet isotope sont moins élevées comparées à celles qui sont observées sur les deux autres isotopes. En effet, la présence de krypton dans les bouteilles d'argon et de strontium dans les coquilles entraîne l'existence d'interférences potentiellement plus contraignantes pour la mesure de l'isotope 42 et 44 du calcium (Tableau 17).

Tableau 17 : Interférences recensées sur les isotopes 42, 43, 44, 46 du calcium en basse et en moyenne résolution.

<b>Isotope</b>	<b>Abondance (%)</b>	<b>Interférences en BR</b>	<b>Interférences non évitées en MR</b>
$^{42}\text{Ca}$	0,647	$^{40}\text{ArH}_2^+$ , $^{26}\text{Mg}^{16}\text{O}^+$ , $^{24}\text{Mg}^{18}\text{O}^+$	$^{84}\text{Sr}^{2+}$ , $^{84}\text{Kr}^{2+}$
$^{43}\text{Ca}$	0,135	$^{27}\text{Al}^{16}\text{O}^+$ , ( $^{25}\text{Mg}^{18}\text{O}^+$ )	$^{86}\text{Sr}^{2+}$ , $^{86}\text{Kr}^{2+}$
$^{44}\text{Ca}$	2,086	$^4\text{He}^{40}\text{Ar}^+$ , $^{28}\text{Si}^{16}\text{O}^+$ , $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2^+$	$^{88}\text{Sr}^{2+}$
$^{46}\text{Ca}$	0,004	$^{30}\text{S}^{16}\text{O}^+$ , $^{28}\text{Si}^{18}\text{O}^+$ , $^{14}\text{N}^{16}\text{O}_2^+$	$^{46}\text{Ti}$

Le signal mesuré sur l'isotope 44 apparaît aussi trop élevé pour être comparé aux éléments dont les teneurs dans la matrice carbonatée sont très faibles. Ainsi, les variations de signal observées sur l'isotope 43 du calcium vont servir à normaliser les résultats des analyses élémentaires.

#### II-4-2- b Choix de la méthode d'ablation

Différentes méthodes d'analyses (Figure 21) peuvent être choisies : ablation en cratère (spot), en trait (suivi d'un profil établi manuellement) ou en balayage (déplacement continu selon une direction x ou y). Elles dépendent du type d'échantillon ou de l'analyse souhaitée. L'ablation en balayage étant inadaptée pour analyser les valves de *P. maximus*, elle n'a donc pas été utilisée pendant cette étude.

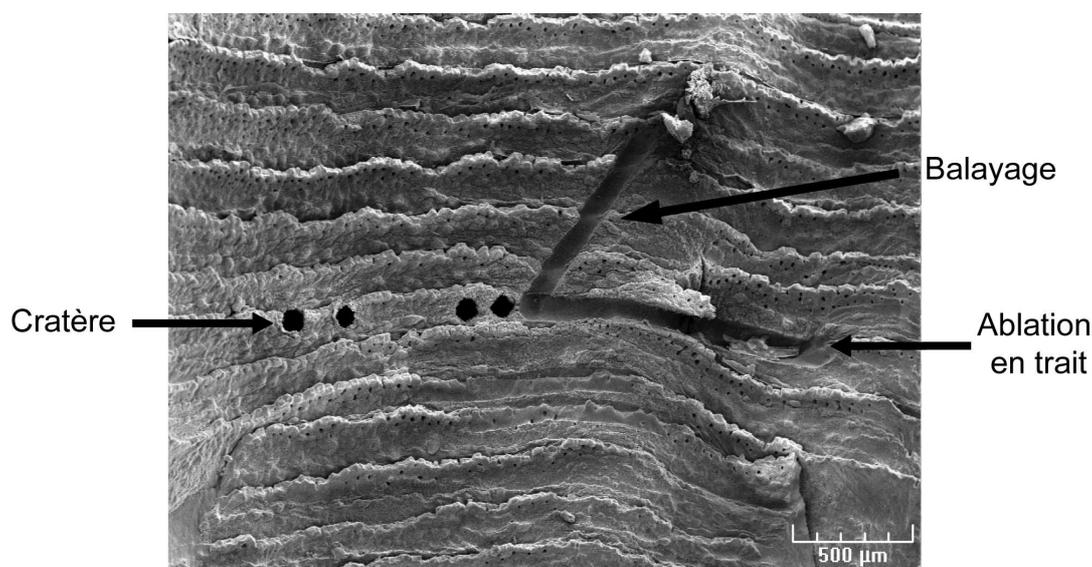


Figure 21 : Visualisation des différentes techniques d'ablation (ablation en cratère, en trait ou en balayage).

Les analyses des mollusques sur LA-ICP-MS utilisent généralement l'ablation sous forme de cratère (Price et al, 1997 ; Van der Putten, 1999 ; Lazareth et al., 2003, 2007 ; Guzman, 2004 ; Gillikin, 2006 ; Thébault et al., soumis). Cependant, des ablations en trait permettent d'échantillonner une surface plus grande et d'obtenir une meilleure stabilité du signal (Lorrain, 2002). Une comparaison d'ablations en trait et en cratère a été réalisée dans des conditions analytiques similaires. La Figure 22 illustre l'évolution du signal observé dans les coquilles de *Pecten maximus* pour les isotopes  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{11}\text{B}$  en basse et en moyenne résolution lors des deux types d'ablation. Leur concentration dans les coquilles de bivalve est suffisamment importante pour que le nombre de coups détectés permette de suivre leur évolution dans les deux modes de résolution.

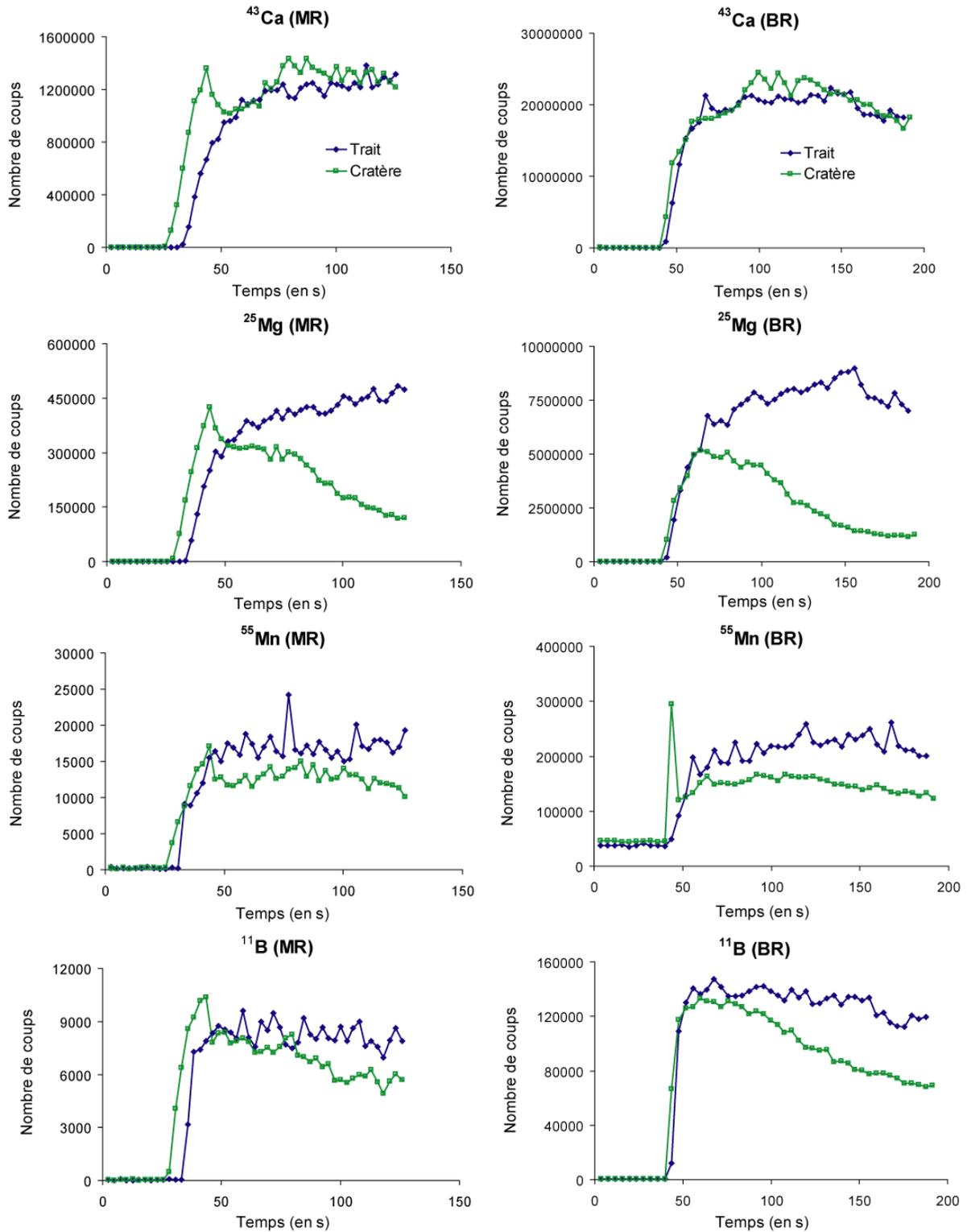


Figure 22 : Evolution du signal (en coups par seconde) des isotopes  $^{11}\text{B}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{55}\text{Mn}$  lors d'une ablation sous forme de trait et sous forme de cratère sur une strie identique de coquille Saint-Jacques à deux modes de résolution (BR : basse résolution et MR : moyenne résolution).

À l'exception du calcium, une hausse de l'intensité du signal a été observée dans le cas d'une ablation en trait. Durant l'acquisition d'une ablation en cratère, le signal apparaît moins stable et en nette décroissance pour le bore et le magnésium. Quel que soit le mode de résolution choisie, les conclusions sont similaires. En complément, la Figure 23 montre que l'évolution du signal en basse résolution d'autres éléments présents dans les coquilles Saint-Jacques est aussi améliorée lors d'une ablation en trait.

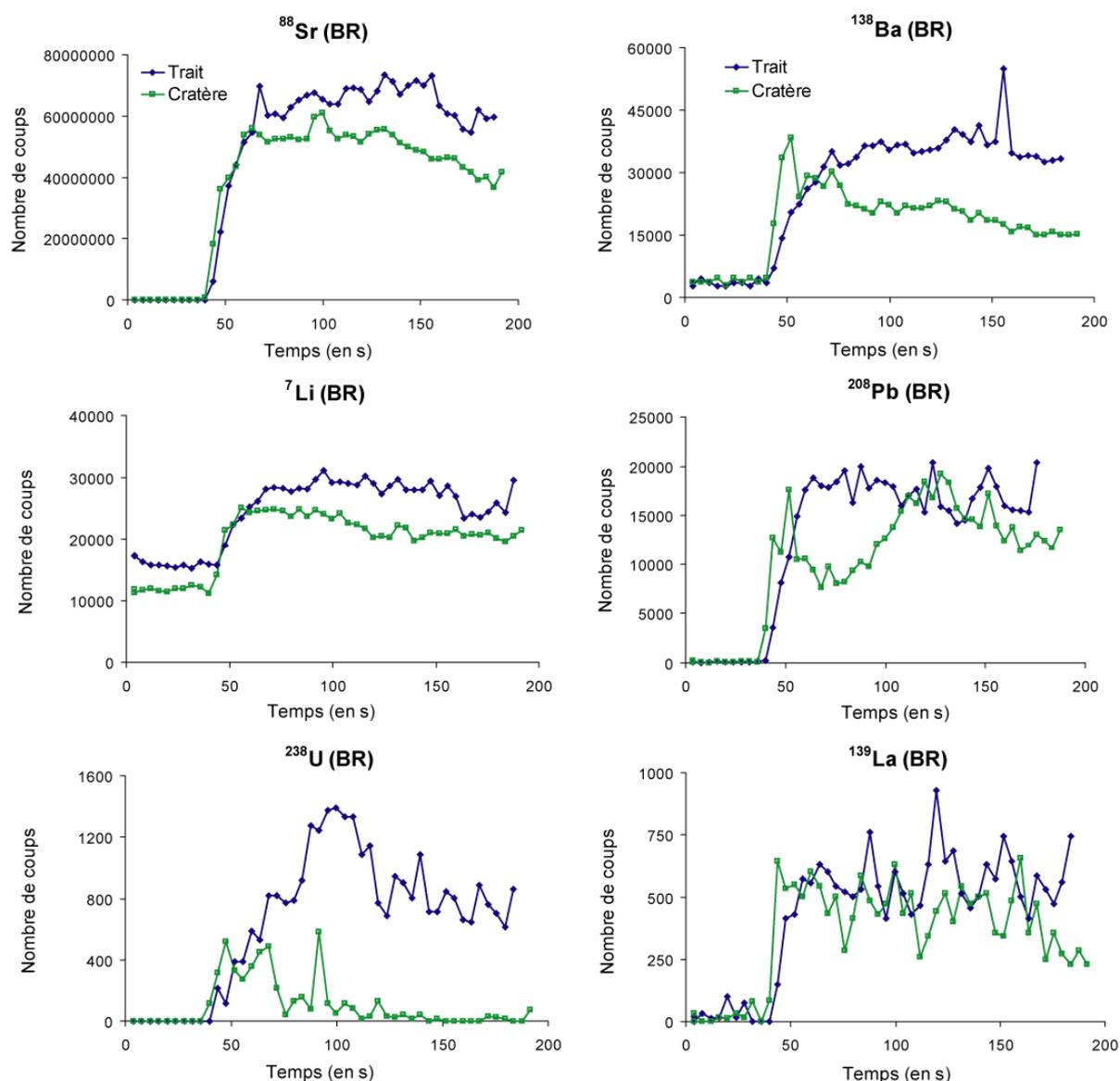


Figure 23 : Evolution du signal (en coups par seconde) de plusieurs isotopes ( $^7\text{Li}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{139}\text{La}$ ,  $^{140}\text{Ce}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{238}\text{U}$ ) au cours d'une ablation sous forme de trait et sous forme de cratère sur une strie identique de coquilles Saint-Jacques.

Chaque élément présente une intensité plus importante et un signal plus homogène lors d'une ablation sous forme de trait. L'instabilité du signal au cours d'une ablation en cratère peut s'expliquer par une éjection moins efficace des particules. Plus le laser assure une ablation en profondeur, plus les aérosols formés au fond du cratère ont du mal à être extraits et donc conduits au plasma. Les propriétés physico-chimiques (volatiles vs réfractaires,...) de certains éléments (Mg, B, U) provoquent une perte de signal plus importante et un comportement différent de celui des autres éléments.

Le Tableau 18 montre que les écarts types relatifs de l'intensité moyenne de coups détectés pour tous les éléments et de leurs rapports rapportés au  $^{43}\text{Ca}$  sont clairement améliorés lors d'une ablation en trait.

Tableau 18 : Valeurs moyenne du signal (en coups par seconde) sur plusieurs isotopes ( $^7\text{Li}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{208}\text{Pb}$  mesurés en basse résolution et  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{55}\text{Mn}$  en moyenne résolution), de leur rapport au  $^{43}\text{Ca}$  et des écarts type relatif associés (en %) lors d'une ablation en cratère et sous forme de trait d'une même strie de coquilles Saint-Jacques.

BR	Cratère		Traversée		MR	Cratère		Traversée	
	Moyenne	RSD	Moyenne	RSD		Moyenne	RSD	Moyenne	RSD
$^7\text{Li}$	22 115	7,9	27 967	7,7	$^{23}\text{Na}$	2 978 480	6,8	3 537 162	10,3
$^{11}\text{B}$	98 090	23,4	130 891	6,8	$^{25}\text{Mg}$	238 277	32,6	420 309	8,6
$^{25}\text{Mg}$	2 878 210	52,6	7 666 665	8,6	$^{31}\text{P}$	38 256	10,1	38 857	6,6
$^{43}\text{Ca}$	20 534 029	11,4	20 106 685	6,2	$^{43}\text{Ca}$	1 247 186	10,1	1 195 306	7,4
$^{55}\text{Mn}$	149 269	8,1	218 982	8,5	$^{55}\text{Mn}$	12 692	8,4	16 945	7,5
$^{88}\text{Sr}$	49 884 076	12,4	64 922 930	7,7					
$^{138}\text{Ba}$	20 426	21,2	35 773	6,6					
$^{208}\text{Pb}$	13 087	23,9	17 308	10,3					
$^7\text{Li}/^{43}\text{Ca}$	0,000512	21,8	0,000594	15,8	$^{23}\text{Na}/^{43}\text{Ca}$	2,26930	12,9	2,77350	6,9
$^{11}\text{B}/^{43}\text{Ca}$	0,004807	26,7	0,006494	5,1	$^{25}\text{Mg}/^{43}\text{Ca}$	0,19653	40,1	0,35141	3,9
$^{25}\text{Mg}/^{43}\text{Ca}$	0,140910	56,6	0,381258	6,7	$^{31}\text{P}/^{43}\text{Ca}$	0,03093	4,7	0,03274	6,4
$^{55}\text{Mn}/^{43}\text{Ca}$	0,005067	9,2	0,009008	9,8	$^{55}\text{Mn}/^{43}\text{Ca}$	0,01007	10,5	0,01406	10,0
$^{88}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	2,440074	11,0	3,227966	2,8					
$^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	0,000811	30,5	0,001609	4,0					
$^{208}\text{Pb}/^{43}\text{Ca}$	0,000629	18,6	0,000854	11,7					

Une autre contrainte apparaît avec l'ablation en cratère. En effet, plus l'acquisition du signal dure longtemps, moins la surface échantillonnée correspond à la strie considérée (Figure 2 : croissance des stries par recouvrement). Ces résultats démontrent que ce mode d'ablation présente des limites et apparaît moins adapté pour ce type de structure. La meilleure stratégie du fait de la disposition des stries consiste à utiliser une pratique similaire aux prélèvements "Micromill" (Paragraphe II-3-1). Il s'agit d'ablater chaque strie dans le sens de la strie.

Pourtant, le fait d'échantillonner en profondeur présente un avantage. La mesure considérée après une dizaine de secondes élimine les contaminations de surface potentielles. Le déplacement continu du laser lors d'une ablation en trait ne peut réaliser une telle correction. Une solution satisfaisante est de réaliser un décapage. Il s'agit de pré-ablater dix fois plus rapidement le profil établi manuellement le long de la strie (déplacement du laser à 50 µm/s au lieu de 5 µm/s). Cette procédure permet de nettoyer la surface du tracé et de ne pas altérer les analyses ultérieures. À l'exception du calcium, la pré-ablation provoque une baisse de l'intensité du signal (Tableau 19). Cependant les écarts types relatifs sont nettement inférieurs après un décapage.

Tableau 19 : Valeurs de l'intensité du signal (coups par seconde) pour les isotopes (<sup>43</sup>Ca, <sup>88</sup>Sr, <sup>55</sup>Mn, <sup>138</sup>Ba, <sup>118</sup>Sn, <sup>208</sup>Pb de leur rapport au <sup>43</sup>Ca et des écarts type relatif associés entre parenthèse (en %) sans décapage ou avec lors de trois répliquats sur des stries de coquilles Saint-Jacques.

Type d'ablation	Ablation sans décapage moyenne (RSD)			Ablation avec décapage moyenne (RSD)		
	1	2	3	1	2	3
<sup>43</sup> Ca	1 515 269 (10)	2 417 528 (9)	2 637 365 (9)	1 477 318 (12)	2 506 136 (6)	2 709 209 (6)
<sup>88</sup> Sr	5 012 467 (10)	8 417 347 (11)	9 087 345 (10)	4 601 568 (11)	7 992 427 (9)	9 019 307 (7)
<sup>55</sup> Mn	36 309 (15)	51 140 (14)	76 358 (22)	28 311 (11)	49 466 (9)	63 056 (18)
<sup>138</sup> Ba	10 539 (17)	14 671 (23)	17 857 (20)	8 562 (10)	12 296 (12)	14 894 (15)
<sup>118</sup> Sn	816 (22)	947 (21)	1 152 (18)	595 (29)	944 (16)	1 050 (17)
<sup>208</sup> Pb	6 096 (31)	6 009 (21)	7 331 (21)	3 448 (21)	4 393 (16)	4 688 (21)
<sup>88</sup> Sr/ <sup>43</sup> Ca	3,34314 (6)	3,37023 (8)	3,42297 (8)	3,23245 (6)	3,12908 (6)	3,36169 (5)
<sup>55</sup> Mn/ <sup>43</sup> Ca	0,01769 (15)	0,0173 (12)	0,02198 (23)	0,0136 (11)	0,01442 (8)	0,01643 (18)
<sup>138</sup> Ba/ <sup>43</sup> Ca	0,00352 (32)	0,00386 (19)	0,00474 (23)	0,00233 (19)	0,00272 (16)	0,0035 (13)
<sup>118</sup> Sn/ <sup>43</sup> Ca	0,00047 (26)	0,00034 (32)	0,0004 (19)	0,00031 (24)	0,00031 (18)	0,00032 (19)
<sup>208</sup> Pb/ <sup>43</sup> Ca	0,00405 (29)	0,00251 (20)	0,00292 (24)	0,00220 (21)	0,00166 (16)	0,00164 (20)

L'ablation préalable, d'une fine couche de la surface analysée implique une évolution du signal plus régulière, reproductible et représentative malgré une perte du signal. Le nettoyage de la surface de la coquille améliore la détection des éléments.

Les rapports élémentaires obtenus lors de ces tests sont tout à fait en adéquation avec ceux qui ont été mesurés par le LCABIE de Pau (Lorrain, 2002). Dans le cadre du programme de recherche ACI-PECTEN (collaboration LEMAR/LCABIE), Anne Lorrain a développé une méthode d'analyse des carbonates biologiques via un couplage ICP-MS X7-Thermo Elemental et un laser LSX 100-Cetac (cristal Nd :YAG opérant à 266 nm). Les tests de mesures rapportées au calcium concernant le baryum et le strontium sur des coquilles de *Pecten maximus*, selon un principe d'échantillonnage similaire (décapage, ablation en trait) sont en accord avec nos résultats:

$^{88}\text{Sr}/^{43}\text{Ca} = 3,423$  pour l'étude de Pau ; 3,241 pour notre étude

$^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca} = 0,00366$  pour l'étude de Pau ; 0,00285 pour notre étude.

L'ensemble de ces tests et de ces résultats préalables nous permet l'utilisation systématique d'une méthodologie appropriée à l'analyse des coquilles Saint-Jacques à partir du système d'ablation laser GeolasPro.

#### II-4-2-c Réglage du système LA-ICP-MS

Les réglages et optimisations de l'ICP-MS sont réalisés en mode liquide et comprennent les deux premières étapes (réglage du plasma, calibration en masse) décrites au paragraphe II-3-3. Le passage en mode laser consiste à remplacer la chambre de nébulisation par un embout standard, dériver le flux d'argon depuis le nébuliseur vers la sortie de la cellule d'ablation, puis installer un tuyau joignant la cellule d'ablation à la torche de l'ICP-MS.

Dès que le couplage est réalisé, les conditions du plasma sont optimisées avec le standard NIST 612. Il s'agit de contrôler les paramètres de gaz, la position de la torche et régler le flux d'hélium dans la cellule d'ablation afin d'obtenir la meilleure sensibilité (sur le lanthane et le calcium) et un taux d'oxyde en thorium minimal ( $\text{ThO}/\text{Th} \approx 1\%$ ).

Les conditions typiques de fonctionnement du laser sont résumées sur la page suivante. Elles s'associent à celles qui sont considérées pour l'ICP-MS-Element 2 (Paragraphe II-3-3). Le matériel analytique utilisé (cônes, injecteur, torche) possède les mêmes caractéristiques (Paragraphe II-3-3).

Conditions analytiques du laser

- Fréquence analyse (Hz) : 4
- Diamètre du spot ( $\mu\text{m}$ ) : 90
- Flux d'hélium (ml/mn) : 119-123
- Puissance ( $\text{J}/\text{cm}^2$ ) : 15
- Durée de l'ablation : 230 s
- Distance ablatée ( $\mu\text{m}$ ) :  $\sim 800$
- Vitesse de balayage ( $\mu\text{m}/\text{s}$ ) : analyse (5), décapage (50)

II-4-2-d Eléments composant la méthode "laser mollusque"

La méthode créée pour l'analyse LA-ICP-MS des coquilles de bivalves est programmée sous le nom "laser mollusque". Les résultats observés en phase liquide permettent de sélectionner les éléments composant cette méthode. Certains éléments trop proches des limites de détection (terres rares lourdes, Rb, Nb, ...) sont donc supprimés. Trois éléments (Hf, Zr, Th) sont ajoutés dans le but de savoir si la technique laser est adaptée à leur détermination (Paragraphe II-3-4). La sélection de l'isotope pour chaque élément se base comme au paragraphe II-3-4 pour la méthode "Ca-Mg réduite" (choix selon l'abondance, présence d'interférence). L'utilisation d'un couplage avec un système d'ablation laser implique une sensibilité de l'appareil moins importante d'où la mesure de nombreux éléments en basse résolution.

Ainsi, les isotopes analysés en basse résolution sont :  $^7\text{Li}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{49}\text{Ti}$ ,  $^{51}\text{V}$ ,  $^{53}\text{Cr}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{85}\text{Rb}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ ,  $^{89}\text{Y}$ ,  $^{91}\text{Zr}$ ,  $^{97}\text{Mo}$ ,  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{118}\text{Sn}$ ,  $^{133}\text{Cs}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{139}\text{La}$ ,  $^{140}\text{Ce}$ ,  $^{141}\text{Pr}$ ,  $^{146}\text{Nd}$ ,  $^{147}\text{Sm}$ ,  $^{151}\text{Eu}$ ,  $^{174}\text{Hf}$ ,  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{238}\text{U}$ .

En moyenne résolution :  $^{10}\text{B}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{56}\text{Fe}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ .

PS : Au cours d'une analyse LA-ICP-MS, le passage à une résolution plus importante ne peut s'enchaîner. Il faut re-effectuer une ablation de l'échantillon. Chaque échantillon est ainsi ablaté trois fois (décapage, ablation pour basse résolution et moyenne résolution).

#### II-4-2-e Conditions opératoires de la méthode "laser mollusque"

- Basse Résolution [m/ $\Delta$ m] : 300
- Moyenne Résolution [m/ $\Delta$ m] : 4000
- Contrôle du décalage en masse en MR :  $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$
- Nombre de runs (réplicats) : 70
- Nombre de pass (passage par réplicats) : 1
- Temps de stabilisation de l'aimant (settling time) (s) : 0,3
- Temps d'acquisition (Sample time) (s) : 0,01
- Fenêtre de Masse (%) : BR : 50 ; MR : 120, 180 pour  $^{10}\text{B}$  et  $^{11}\text{B}$ , 200 pour  $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$
- Fenêtre d'intégration (%) : BR : 50 ; MR : 80
- Nombre de points par pic : BR : 15 ; MR : 10
- Mode de détection : Analogique et comptage

#### **II-4-3 Mesure et traitement des données**

##### II-4-3-a Choix des standards et déroulement d'une séquence de mesure

Les échantillons sont préparés comme décrit au paragraphe II-3-1 (attaque acide acétique, rinçage eau distillée). Seule la taille de la section découpée dans les coquilles est différente. Elle est plus étroite (longueur < 5cm) pour faciliter son installation dans la cellule d'ablation.

Comme pour l'analyse indirecte (Paragraphe II-1), la détermination quantitative des éléments en traces dans les carbonates biologiques par LA-ICP-MS nécessite un étalon de référence. La mesure en parallèle des standards, dits standards externes, permet d'établir la relation entre la réponse instrumentale de l'ICP-MS en terme de signal (nombre de coups par seconde) et les concentrations élémentaires. Aucun standard solide présentant une composition de même nature que les mollusques n'est encore disponible. Deux alternatives sont possibles :

1°) Il est possible d'utiliser des verres certifiées NIST (Raith et al., 1996 ; Stecher et al., 1996 ; Van der Putten et al., 1999, 2000 ; Lazareth et al., 2003 ; Takesue & Van Geen, 2004 ; Thébault et al., soumis) ou de pastilles fabriquées avec des poudres de standards de carbonates certifiés (Toland et al., 2000) ou l'association des deux (Richardson et al., 2001b ; Guzman, 2004 ; Lazareth et al., 2007).

2°) La seconde alternative consiste à fabriquer un standard artificiel de nature solide. Sa matrice doit se rapprocher le plus possible de celle d'une coquille de bivalve. Des travaux précédents ont

déjà choisi cette option en créant des pastilles étalons de carbonate de calcium contenant différentes concentrations en éléments (Belloto and Mickleley, 2000 ; Barats, 2006 ; Guo et al., 2008). La difficulté technique réside à produire des pastilles dont la distribution en éléments en traces est homogène (Van der Putten et al., 1999, Barats et al., 2007).

L'utilisation des verres certifiés peut mener à de mauvaises estimations induites par les effets de matrice entre le verre et les échantillons analysés (Morrison et al., 1995 ; Outridge et al., 1997 ; Van der Putten et al., 1999 ; Belloto & Mickleley, 2000). La quantité de matière ablatée et la taille des particules ablatées sont influencées par la composition de la matrice. Le fractionnement élémentaire peut être important pour certains éléments (Guillong et al., 2003). Toutefois, l'utilisation d'un laser émettant à 193 nm réduit de tels effets (Geertsen et al., 1994 ; Gunther et al., 1995 ; Norman et al., 1996 ; Guillong et al., 2003). De nombreux travaux accréditent et utilisent ces standards pour mesurer des carbonates biologiques (Fallon et al., 2002 ; Lazareth et al., 2003, 2007 ; Eggins et al., 2003 ; Lee et al., 2004 ; Whyndham et al., 2004 ; Carré et al., 2006). Pour notre travail de thèse, nous avons donc opté pour cette méthode et utilisé les standards suivants :

- 1 pastilles de verre : NIST SRM 612 (National Institute of Standards and Technology, USA).
- 2 échantillons de basaltes certifiés BCR2g, BIR1g (U.S Geological Survey, USA).

Au début et à la fin de chaque session analytique, les standards sont analysés pour définir une droite de calibration nécessaire au calcul des concentrations chimiques. Chaque standard est mesuré deux fois pour évaluer la reproductibilité et examiner les paramètres mis en place pour l'analyse. Dans le cadre de ce travail de thèse, les coefficients de corrélation ( $r^2$ ) des droites de calibrations ont tous été supérieurs à 0,96. Le plan d'échantillonnage de la coquille suit la croissance de l'animal (de l'apex vers l'umbo). Le standard NIST 612 est intercalé tous les dix échantillons. Son passage régulier contrôle les dérives instrumentales possibles et le calcul des concentrations élémentaires. Au cours de cette étude, les données acquises sur le NIST 612 lors de l'unique analyse LA-ICP-MS d'une coquille Saint-Jacques sont regroupées dans le Tableau 20. Les résultats sont reproductibles (RSD < 7% pour tous les éléments) et relativement proches des valeurs recommandées. Seul le plomb présente des teneurs nettement supérieures aux valeurs attendues (%VR 120,8). Cette surestimation n'est probablement pas induite par des valeurs incorrectes mais plutôt à des problèmes de fractionnement. Le plomb est l'un des éléments les

plus problématiques à cet égard (Fryer et al., 1995 ; Longerich et al., 1996 ; Gillikin, 2006). Le Tableau 20 présente également les limites de détection (LD) obtenue lors de cette analyse. Elles correspondent pour chaque élément considéré à 3 fois l'écart-type de cinq blancs d'argon. Les valeurs obtenues sont comprises selon les éléments entre une dizaine de ppb et une centaine de ppm. Conformément aux prévisions, elles demeurent nettement plus élevées à celles qui sont obtenues par ICP-MS en mode liquide (entre 100 et 10000 fois pour certains éléments). Cependant, elles se situent à un ordre de grandeur légèrement supérieur à celles qui sont mesurées par le couplage LA-ICP-MS quadripolaire de Pau. Or, la technologie et les performances améliorées du couplage Laser Excimer avec le HR-ICP-MS devraient permettre d'atteindre une meilleure sensibilité. Comme le calcul de ces détections limites tient compte de cinq blancs d'argon pris au cours de la séquence d'analyse, le signal a pu être contaminé. À l'avenir, il serait plus adapté de réaliser leur calcul avant de commencer la session d'analyse.

Tableau 20 : Limites de détection et précision de la méthode LA-ICP-MS mesurées dans nos conditions opératoires. Les limites de détection obtenues par ICP-MS en mode liquide sur l'ICP-MS Element 2 de Brest et par le système LA-ICP-MS de Pau (Barats, 2006) sont ajoutées pour comparaison.

NC : non calculé ; VR : valeurs recommandées ; Brest a : LA-ICP-MS, Brest b : ICP-MS.

Isotope (résolution)	NIST 612 (ppm), N=3			NIST 612 VR (ppm)	% VR	Détection Limite 3σ (ppb)		
	Moyenne	SD	% RSD			Brest a	Brest b	Pau
<sup>7</sup> Li (BR)	45,98	1,405	3,06	41,54	110,69	641	0,107	?
<sup>25</sup> Mg (BR)	67,87	4,293	6,32	aucune	?	7298	3,32 (MR)	?
<sup>51</sup> V (BR)	44,37	2,903	6,54	39,22	113,13	141	0,083	8,4
<sup>55</sup> Mn (BR)	39,04	1,816	4,65	38,43	101,59	762	NC	14
<sup>88</sup> Sr (BR)	77,48	0,181	0,23	76,15	101,75	106	0,52 (MR)	56
<sup>97</sup> Mo (BR)	38,72	2,727	7,04	36,98	104,71	170	0,273	2,6
<sup>118</sup> Sn (BR)	43,93	2,303	5,24	37,96	119,	33,4	1,471	7,4
<sup>138</sup> Ba (BR)	38,67	0,462	1,19	37,74	102,46	214	0,233 ( <sup>135</sup> Ba)	3,3
<sup>139</sup> La (BR)	33,51	1,495	4,46	35,7	93,88	9,1	0,002	?
<sup>140</sup> Ce (BR)	38,69	0,798	2,06	38,35	100,89	7,7	0,004	?
<sup>208</sup> Pb (BR)	47,08	1,836	3,90	38,96	120,85	8	0,081	4
<sup>23</sup> Na (MR)	109720	2567	2,34	103000	106,52	99584	201,39	?
<sup>31</sup> P (MR)	55,68	3,037	5,45	55,16	100,95	3396	14,668	?
<sup>55</sup> Mn (MR)	40,06	0,455	1,14	38,43	104,23	971	0,056	14
<sup>63</sup> Cu (MR)	40,57	1,365	3,36	38,44	105,54	287	0,155	32

### II-4-3-b Traitement des données

Pour chaque mesure, le fichier de données se présente sous forme d'un tableau regroupant les éléments mesurés, le nombre de coups obtenu par seconde pour chaque élément lors de chaque run. Le calcul du rapport moyen  $X/^{43}\text{Ca}$  (X : un élément quelconque) est réalisé selon les étapes suivantes :

1-Identification des deux sessions correspondant à la mesure du blanc et à l'ablation de l'échantillon (Figure 20).

2-Détermination du blanc (nombre de coups par seconde). Calcul de la moyenne des valeurs mesurées durant l'enregistrement du blanc.

3-Correction des données échantillons – il s'agit de retrancher la valeur calculée précédemment à toutes les valeurs mesurées durant l'enregistrement de l'ablation.

4-Normaliser (diviser) toutes ces valeurs à celles qui sont obtenus sur le standard interne  $^{43}\text{Ca}$

5-Calculer la valeur moyenne  $X/^{43}\text{Ca}$  de la surface ablatée (Ms).

Soit :

$$Ms(X / ^{43} \text{Ca}) = \left( \sum_{i=1}^n \left[ S_i(X) - M_b(X) / (S_i(^{43} \text{Ca}) - M_b(^{43} \text{Ca})) \right] \right) / n$$

n : nombre de données considérées pour la surface ablatée.

$S_i(X ; ^{43}\text{Ca})$  : signal (nombre de coups par seconde) mesuré à la donnée i pour l'élément X ou le standard interne.

$M_b(X ; ^{43}\text{Ca})$  : valeur moyenne (nombre de coups par seconde) du blanc (pour l'élément X ou le standard interne  $^{43}\text{Ca}$ ).

La mesure successive des trois standards en début de séquence permet d'établir une droite de calibration pour chaque élément analysé (rapport  $X/^{43}\text{Ca}$  mesuré par l'instrument en fonction des teneurs élémentaires certifiées). Le coefficient directeur déduit de cette droite permet de calculer les rapports réels ( $X/^{43}\text{Ca}$ ) de toutes les stries échantillonnées.

Ensuite pour obtenir des résultats quantitatifs, la concentration du calcium (standard interne) dans les coquilles doit être connue soit par stœchiométrie, soit par une autre technique. Pour notre travail de thèse, nous utilisons la valeur obtenue par microsonde électronique au paragraphe II-2-1 (39,09% soit 390,9 mg/g).

## **II-5 Recalage temporel des prélèvements et calcul du profil de croissance**

### **II-5-1 Recalage temporel des prélèvements**

Les analyses par ICP-MS d'un individu permettent d'établir des profils de concentrations tout au long de la coquille en fonction des numéros des stries prélevées ou ablatées. Afin de visualiser la localisation des zones échantillonnées le long de l'axe de croissance étudiée, la section de coquille est photographiée au microscope électronique à balayage (MEB, collaboration G. Sinquin, Université de Bretagne Occidentale). Les photos (de l'ordre de la dizaine à la vingtaine selon l'âge de la coquille) sont assemblées grâce au logiciel Photoshop (Adobe ®). Une reconstitution complète de la coquille est ainsi établie (Annexe II). Il convient de noter que la majorité des analyses élémentaires privilégie des valves de *Pecten maximus* juvéniles (classe I) en raison de leur vitesse de croissance élevée et une durée de croissance en nombre de jour par an plus importante. Comme la date de prélèvement est connue et que le rythme de formation des stries est déterminé sur les coquilles Saint-Jacques une date calendaire peut être attribuée à chaque ligne de prélèvement. Toutes ces opérations permettent un recalage temporel précis des échantillons et l'élaboration des profils de teneur en éléments.

### **II-5-2 Calcul des profils de croissance**

Sachant que la croissance coquillière de *Pecten maximus* constitue à elle seule un traceur des conditions environnementales rencontrées par l'animal au cours de son développement, il apparaît judicieux de la calculer en vue de la comparer à nos analyses élémentaires. Cette opération peut s'accomplir après le prélèvement de poudre, puisqu'une portion des stries prélevées est laissée intacte. Il semble plus propice de l'effectuer au préalable par aspect pratique. La méthode de détermination des distances inter-stries est empruntée à Chauvaud (1998). Elle est réalisée grâce au logiciel Visilog 5.3 (Noesis ®). Toutes les crêtes des stries sont pointées permettant l'enregistrement des coordonnées des points. La distance entre deux stries (taille des incréments de croissance) est calculée en pixel selon la formule suivante.

$$D_{AB} = \sqrt{(X_A - X_B)^2 + (Y_A - Y_B)^2}$$

Un rapide calcul permet de la convertir en micromètres aboutissant à définir des mesures de croissance journalière en  $\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$ .

## II-6 Présentation des sites d'études

### II-6-1 La rade de Brest

La majorité des individus étudiés au cours de ce travail de thèse provient de la rade de Brest. Cette baie est un site référence pour notre groupe de travail car de nombreux paramètres hydrologiques (température, salinité, ...), biologiques (détermination taxonomique et comptage des espèces phytoplanctoniques, chlorophylle a) et chimiques (nitrates, phosphates, ....) sont suivis régulièrement par l'IUEM (OSU/IUEM) (Lorrain, 2002). Il s'agit d'un vaste bassin semi-fermé de 180 km<sup>2</sup> peu profond (profondeur moyenne de 8 m) situé à l'extrême pointe de la Bretagne (48°10- 48°25 N, 4°10-4°35 W). Cette baie communique avec la mer d'Iroise par un goulet profond (40 m) et étroit (1,2 km), assurant un fort brassage des eaux à chaque cycle de marée. La rade subit également l'influence continentale de deux rivières l'Aulne (débit : 28 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) et l'Elorn (débit 7 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) qui fournissent plus de 80% des apports d'eau douce et jouent donc un rôle majeur dans les apports en sels nutritifs. La Rade de Brest présente un caractère fortement marin tant au niveau physique que chimique et biologique. Le marnage important permet le renouvellement de 40% du volume d'eau de la Rade à chaque marée, c'est-à-dire l'équivalent des apports annuels d'eau douce par les deux fleuves. Les marées suivent un cycle semi-diurne et un cycle de vive-eau/morte-eau de 14 jours. Roscanvel est le lieu principal de prélèvement des coquilles de *Pecten maximus* car d'une part, il occupe une position centrale dans la rade de Brest et d'autre part il est caractéristique de l'évolution générale de la baie (Figure 24 (b)). Ce site est une station de référence pour la mesure de plusieurs paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne depuis 1977. De plus, il sert de monitoring de la croissance journalière de l'espèce depuis 1986 (Chauvaud et al., 1998, 2000). Notons que les données en sels nutritifs pour les années 1999 et 2001 proviennent uniquement de la station SOMLIT (Saint-Anne du Portzic, Figure 24).

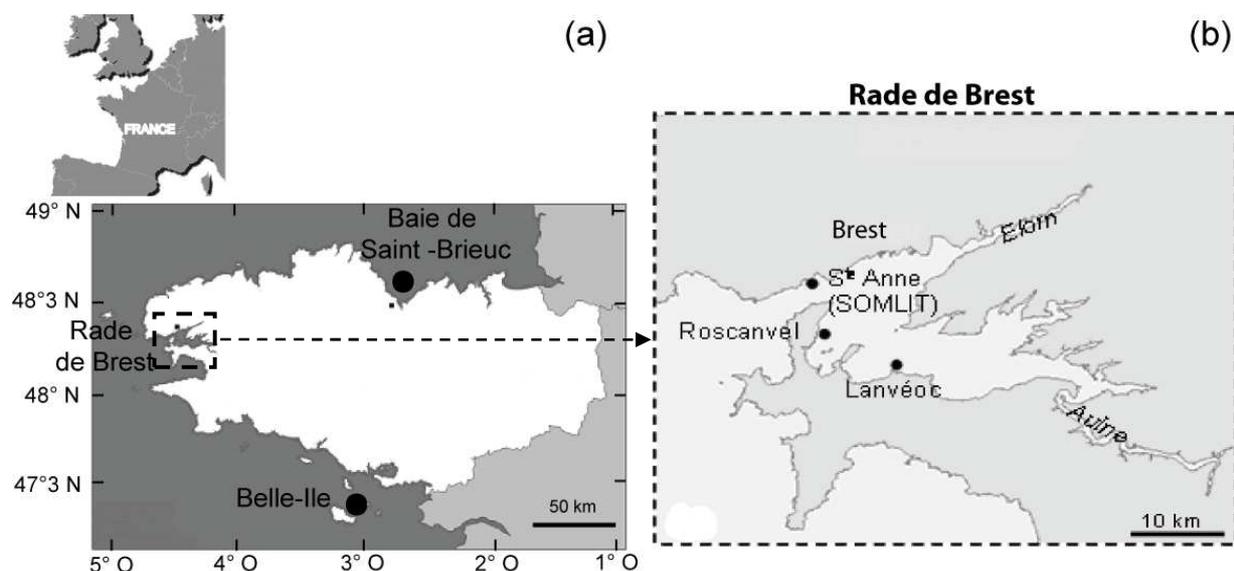


Figure 24 : localisation des sites étudiés en Bretagne et des prélèvements en rade de Brest.

### II-6-2 Belle-Ile en mer et la baie de Saint-Brieuc

Le long de la façade atlantique européenne, les coquilles Saint-Jacques sont présentes dans des environnements variés (fjords norvégiens, côtes bretonnes, marocaines, méditerranéennes...). En complément du site référence (Roscanvel), nous avons étudié des populations d'individus provenant de deux autres sites bretons (Belle-Ile en mer et baie de Saint-Brieuc, Figure 24). Ces deux écosystèmes côtiers semblent présenter des caractéristiques hydro-biologiques relativement proches du site référence. L'analyse de populations de coquilles Saint-Jacques issues de ces deux écosystèmes élargit à l'échelle régionale notre base de données concernant *Pecten maximus*.



### **III Etude comparative des méthodes d'analyse des carbonates de** **Pecten maximus**

#### **III-1 Comparaison entre une analyse LA-ICP-MS et ICP-MS**

L'ICP-MS Element 2 dont nous disposons permet d'analyser les coquilles Saint-Jacques selon deux modes : (1) couplage avec un système d'ablation laser ou (2) analyse de prélèvements (poudre) obtenus par micro-forage (micromill), minéralisation puis analyse en phase liquide. Une comparaison des résultats obtenus par ces deux méthodes sur des échantillons prélevés le long d'axes de croissance différents d'un même individu (valve gauche supérieure d'une coquille juvénile prélevée le 21 novembre 2001) a donc été réalisée. Notons que dix mesures du couplage LA-ICP-MS ont été réalisées en moyenne résolution afin, d'une part, de réduire la durée de la séquence d'analyse et, d'autre part, d'accomplir une mesure complète en basse résolution de la section de coquille. Comme certains éléments (sodium, phosphore) sont seulement analysés en moyenne résolution, ces quelques valeurs permettent tout de même d'estimer un ordre de grandeur de la concentration valvaire de ces éléments dans les coquilles Saint-Jacques via cette méthodologie. Avant de commencer l'interprétation des résultats, il apparaît pertinent de souligner que parmi le nombre important d'éléments analysés (Paragraphe II-3-4), peu d'entre eux apparaissent réellement quantifiables dans les coquilles Saint-Jacques. Le Tableau 21 regroupe ceux dont les teneurs sont suffisamment élevées pour être mesurées de façon satisfaisante par l'une ou l'autre des deux méthodes.

#### **III-1-1 Les constituants majeurs des coquilles Saint-Jacques**

La comparaison des deux méthodes mises en place sur l'ICP-MS Element 2 s'est tout d'abord focalisée sur les éléments présentant les plus fortes concentrations dans les valves de *Pecten maximus*. Ces éléments, du fait de leur abondance élevée dans la matrice carbonatée, sont les plus aisés à quantifier et les plus étudiés dans la littérature. Chaque méthode analytique indique que trois éléments ont des concentrations coquillières dépassant les 1000 ppm : le sodium, le strontium et le magnésium. Rappelons qu'avant notre étude, il n'existait pas de donnée quantitative de la teneur en sodium dans les valves de *Pecten maximus*.

Tableau 21 : Teneur moyenne (ppm), écart type relatif (%), minimum et maximum de la concentration mesurés sur une coquille de *Pecten maximus* de la Rade de Brest selon les deux méthodes d'analyses développées sur l'ICP-MS Element 2.

NQ : non quantifié ; <LD : la valeur se trouve en dessous des limites de détection.

Elément	LA-ICP-MS				ICP-MS			
	Moyenne	%RSD	min	max	Moyenne	%RSD	min	max
<b>Na</b>	3754	8,2	3510	4228	4255	11,7	3656	5201
<b>Mg</b>	2871	11,5	2345	4115	2320	25,0	1238	4067
<b>Sr</b>	1340	7,5	1136	1608	1422	15,1	842	1775
<b>P</b>	275	6,3	247	311	NQ	NQ	NQ	NQ
<b>B</b>	13,06	18,6	10,2	21,1	NQ	NQ	NQ	NQ
<b>Mn</b>	4,54	34,4	1,96	8,86	4,96	30,4	2,18	8,96
<b>Li</b>	2,38	31,6	1,02	3,48	2,20	21,9	1,38	3,36
<b>Pb</b>	0,802	57,2	0,19	1,91	0,951	33,7	0,33	1,6
<b>Ba</b>	0,797	20,1	0,44	1,15	0,798	23,1	0,59	1,16
<b>Y</b>	0,017	19,8	<LD	0,026	0,030	23,8	0,017	0,037
<b>La</b>	0,0077	27,2	<LD	0,0142	0,0122	53,3	0,0042	0,0294
<b>Ce</b>	0,0074	31,2	<LD	0,0142	0,0159	47,8	0,0082	0,0359
<b>U</b>	0,0084	82,6	<LD	0,036	0,0058	52,7	0,0017	0,0167

Nos résultats démontrent que le sodium est bien un constituant majoritairement présent dans la matrice biocarbonatée. Les deux méthodes conduisent aux mêmes conclusions :

-Le sodium est plus abondant que le magnésium et le strontium.

-La concentration coquillière en magnésium est 2 fois plus élevée que celle du strontium.

Cette dernière constatation confirme que le magnésium s'incorpore plus facilement dans des bivalves dont le squelette est calcitique (voir Introduction). L'ordre de grandeur des concentrations mesurées est conforme aux estimations (Paragraphe II-2) et aux résultats qui ont été obtenus précédemment par notre groupe de recherche (Tableau 4). Les deux méthodes de quantification retrouvent ces trois éléments dans une même gamme de concentrations. Les teneurs moyennes en strontium sont clairement comparables (1340 ppm par LA-ICP-MS, 1422 ppm par ICP-MS). Toutefois, pour les deux autres éléments, nous constatons que les concentrations mesurées sont dépendantes de la méthode utilisée. La teneur moyenne en sodium mesurée par le couplage LA-ICP-MS est de 500 ppm moins élevée que celle trouvée en mode liquide. À l'inverse, la concentration en magnésium est plus élevée de 500 ppm en LA-ICP-MS.

La Figure 25 compare les variations temporelles des concentrations coquillières en strontium et

en magnésium mesurées sur le même individu selon les deux méthodologies développées sur le HR-ICP-MS. Les deux courbes montrent que la concentration coquillière en magnésium présente un enrichissement à la fin du printemps de l'année 2001 (1 juin, 3339 ppm par ICP-MS et 3356 ppm par LA-ICP-MS). Ce pic apparaît lorsque l'animal subit un net ralentissement de croissance (Figure 26).

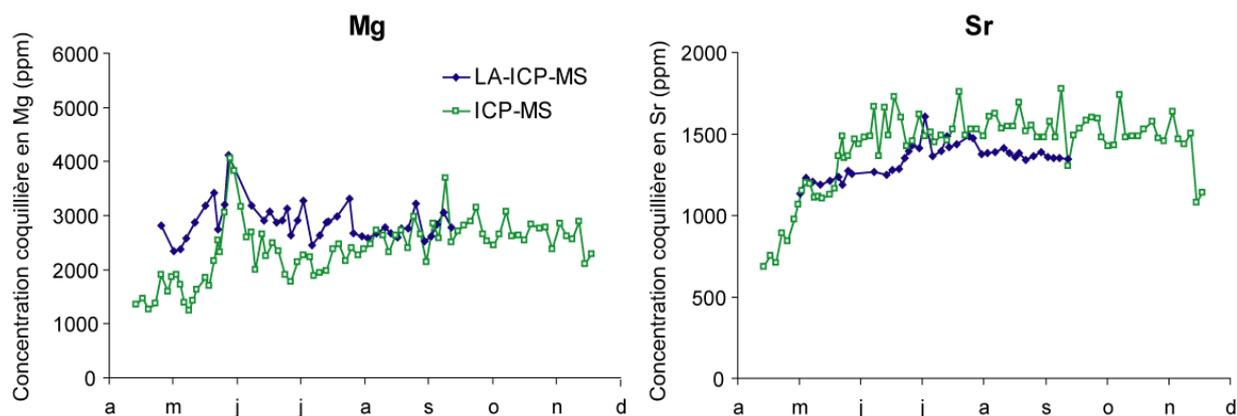


Figure 25 : Variations temporelles des concentrations en magnésium et en strontium dans une coquille de *P. maximus* mesurées à partir des deux méthodologies employées sur le HR-ICP-MS (noire : LA-ICP-MS, grise : ICP-MS).

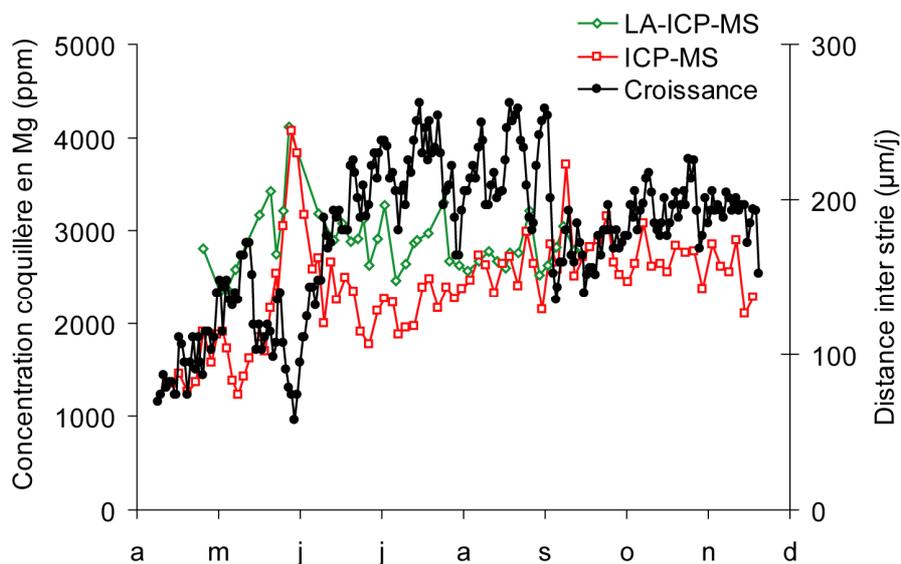


Figure 26 : Relations entre la croissance journalière d'un individu de *P. maximus* et la concentration coquillière en magnésium mesurée par les 2 techniques d'analyses du HR-ICP-MS en 2001.

En écartant cette période d'enrichissement en magnésium, le signal mesuré en analyse indirecte tend à augmenter de façon linéaire au cours de l'année 2001, de 1350 ppm fin avril à 2850 ppm début novembre. En revanche, cette augmentation linéaire n'est pas observée en « LA-ICP-MS ». Avec cette dernière méthode, les concentrations obtenues pour le Mg sont stables puisqu'elles oscillent entre 2345 ppm et 3306 ppm. Les concentrations coquillières en magnésium sont nettement différentes d'avril à août entre les deux méthodes d'analyse. À partir d'août, cette différence se réduit et les valeurs deviennent comparables. De façon générale, les valeurs obtenues en LA-ICP-MS restent plus élevées d'environ 500 ppm. Une étude sur le bivalve *Saxidomus giganteus* mentionne également des résultats en magnésium différents entre une analyse LA-ICP-MS et ICP-MS (Gillikin, 2006). L'utilisation de LA-ICP-MS conduit à des valeurs plus faibles. Gillikin (2006) considère que cette sous-évaluation est probablement due à une teneur en magnésium inappropriée dans le standard MACS1. La quantification du magnésium se base uniquement sur la teneur en magnésium du standard de verre NIST610. Comme un laser émettant à 266 nm est utilisé, les effets de matrices entre les verres et la calcite mènent à des estimations erronées. Ce n'est en revanche pas le cas pour la méthode développée dans ce travail de thèse. Le fait d'utiliser trois standards certifiés (verre NIST612, poudres BCR2g, BIR1g) contenant diverses concentrations en magnésium et un laser émettant à 193 nm permettent respectivement d'encadrer celle des coquilles de bivalves et de réduire les effets de matrice. L'hypothèse émise par Gillikin est donc à rejeter ici. Foster et al (2008) constatent chez *Arctica islandica*, des accroissements de la teneur en magnésium au sein de la coquille lors des arrêts de croissance hivernaux. Ces auteurs suggèrent que le magnésium ne s'incorpore pas dans le carbonate de calcium, mais plutôt dans une autre matrice qui constitue les coquilles. D'autre part, une récente étude souligne qu'après élimination de la matière organique dans les coquilles aragonitiques du bivalve *Corbula amurensis* dont la teneur est estimée à 19%, la concentration coquillière en magnésium diminue de 33% (Takesue et al., 2008). Les auteurs estiment que la microanalyse élémentaire par les techniques à microfaisceaux (microsonde protonique, électronique, LA-ICP-MS...), mobilise toutes les matières organiques et inorganiques constituant les coquilles des bivalves (carbonate de calcium, phase organique). L'ensemble de ces résultats nous amène à supposer que les différences de concentrations en magnésium observées lors de la mise en œuvre de nos deux systèmes analytiques trouvent leur origine dans la matière organique présente dans la coquille. La matière organique des coquilles de bivalves se compose d'une

matrice organique soluble associée à de la chitine insoluble (sucre aminé, polysaccharide (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>O<sub>5</sub>N)<sub>n</sub>). Cette phase insoluble peut contenir du magnésium et être sollicitée par la technique LA-ICP-MS, d'où cette surestimation. De plus, il semble que la teneur en matière organique au sein des valves de mollusques soit variable puisqu'elle augmente lors des ralentissements de croissance (Richardson et al., 2001a). Une telle influence doit probablement expliquer la présence de l'enrichissement en magnésium du 1 juin et ceux durant les arrêts de croissance hivernaux (Figure 26).

Les variations temporelles de la concentration coquillière en strontium suivent approximativement la même évolution. Les courbes se caractérisent par une phase ascendante lors de la reprise de croissance printanière de l'animal. Puis un plateau est atteint à des dates variables selon la méthodologie utilisée (21 mai en ICP-MS ; 20 juin en LA-ICP-MS). Il convient toutefois de noter que les concentrations coquillières en strontium sont indépendantes de la méthode d'analyse utilisée, exception faites des valeurs mesurées entre le 21 mai et le 20 juin. Les valeurs obtenues par le couplage LA-ICP-MS sont plus faibles de 200 ppm. Cette fenêtre temporelle correspond à la période où l'individu étudié montre un ralentissement de croissance. Comme cette zone comprend des stries moins écartées les unes des autres, la haute résolution spatiale de l'ablation laser pourrait expliquer la différence entre les deux méthodes mises en place sur l'ICP-MS Element 2. L'augmentation de la teneur en strontium lors de la reprise de croissance de l'animal (avril-juin) est clairement mise en évidence par analyse indirecte. L'échantillonnage complet de cette période n'a pu être réalisé en LA-ICP-MS. En effet, les objets étudiés pouvant s'installer dans la cellule d'ablation ne doivent pas dépasser 5 cm en longueur.

### **III-1-2 Les éléments en traces**

Les éléments en traces dont le signal est suffisamment élevé pour être déterminé sur toute la coquille par les deux méthodes d'analyses du HR-ICP-MS, sont ceux référencés dans le Tableau 21. La Figure 27 illustre les variations temporelles des teneurs coquillières de ces éléments en traces obtenues à partir des deux techniques analytiques employées dans le cadre de cette thèse. De manière générale, les profils élémentaires demeurent reproductibles quelle que soit la méthodologie utilisée. Singulièrement, les deux méthodes d'analyses détectent du lithium chez *P. maximus* (teneur moyenne : 2,38 ppm en LA-ICP-MS, 2,2 ppm par ICP-MS).

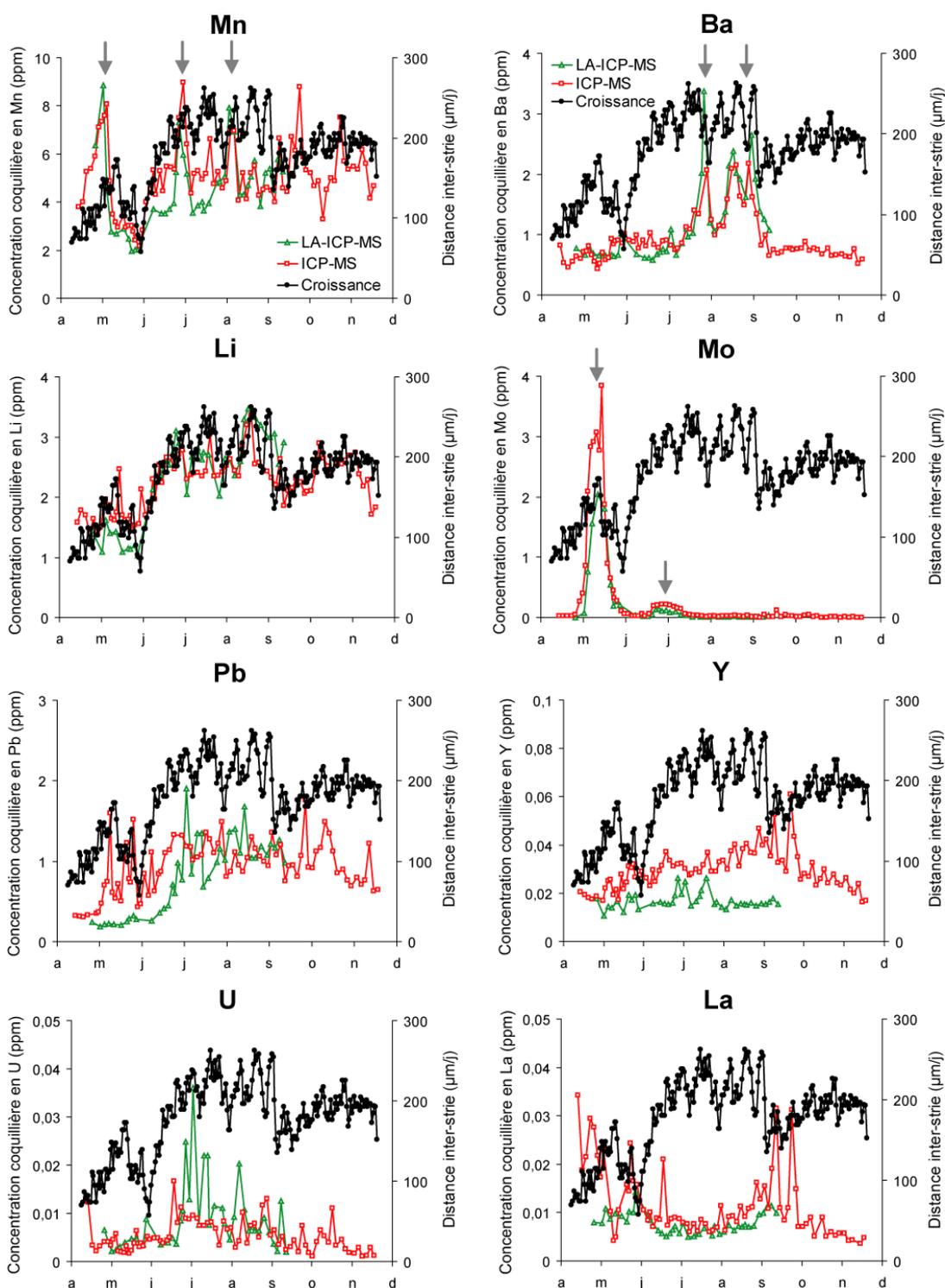


Figure 27 : Evolution des teneurs en éléments en traces au sein d'une coquille de *P. maximus* obtenues à partir des deux méthodologies employées au cours de ce travail de thèse confrontée à la croissance coquillière de cet individu. Les flèches grises désignent des enrichissements élevés de la teneur coquillière en Ba ou en Mo ou en Mn.

Une récente étude sur une autre espèce (*Arctica islandica*) met en lumière une relation linéaire entre le rapport Li/Ca des valves et la vitesse de croissance de l'animal (Thébault et al., soumis). Ces auteurs suggèrent que la concentration valvaire en cet élément pourrait être un éventuel traceur de la croissance coquillière des bivalves. Les variations ontogéniques de la teneur en lithium dans cette valve de *P. maximus* semblent aussi corrélées avec le taux de croissance de l'animal. Le chapitre IV-2 détaillera plus amplement cette évolution particulière du lithium dans les coquilles Saint-Jacques. Dans ce chapitre, nous nous concentrerons essentiellement sur l'aspect reproductible des variations temporelles acquises par les deux méthodes analytiques mises en place sur le HR-ICP-MS. Les deux méthodes d'analyse employées pour cette étude montrent des évolutions de la teneur coquillière en lithium clairement comparables. Chaque courbe montre une légère augmentation de 0,5 ppm à la reprise de croissance printanière (avril-mai), à laquelle succède une chute au moment du ralentissement de croissance (2 à 1,5 ppm par ICP-MS ; 1,6 à 1,02 ppm par LA-ICP-MS). Ensuite, la concentration en lithium croît à nouveau pour finalement atteindre des valeurs variant entre 2,3 et 3 ppm le reste de l'année.

Les phénomènes d'enrichissements épisodiques en baryum, en manganèse et en molybdène constatés chez plusieurs espèces de bivalve, dont *Pecten maximus* (Paragraphe I-5-1), se retrouvent aussi lorsque nos deux méthodes d'analyse sont appliquées. Ces accroissements s'observent à des périodes identiques et présentent des teneurs moyennes similaires (Tableau 22).

Tableau 22 : Comparaison des enrichissements en molybdène, en baryum, et en manganèse (teneur moyenne, écart type, date) mesurés sur une coquille Saint-Jacques prélevée en rade de Brest à partir des 2 modes d'analyses développées sur l'ICP-MS Element 2. Chaque pic est indiqué par des flèches grises sur la Figure 27.

Elément / pic	ICP-MS		LA-ICP-MS		
	Moyenne / SD (ppm)	Date	Moyenne / SD (ppm)	Date	
<b>Mo</b>	pic 1	1,34 ± 0,65	12 mai	1,88 ± 1,2	13 mai
	pic 2	0,12 ± 0,026	30 juin	0,14 ± 0,073	1 juillet
<b>Ba</b>	pic 1	1,51 ± 0,37	26 juillet	2,2 ± 1,1	28 juillet
	pic 2	1,76 ± 0,33	22 aout	1,9 ± 0,46	23 aout
<b>Mn</b>	pic 1	6,44 ± 1,22	29 avril	6,57 ± 2,2	30 avril
	pic 2	7,63 ± 1,27	30 juin	5,93 ± 0,99	29 juin
	pic 3	6,3 ± 1,22	4 aout	6,63 ± 1,46	3 aout

Pour chaque technique analytique, les teneurs en plomb augmentent progressivement, d'un facteur 4 (de 0,3 à 1,2 ppm), de mai à juillet pour ensuite rester relativement stables. Toutefois, cet accroissement apparaît plus tard (2 à 3 semaines) lorsque l'ablation laser est utilisée. Comme cet enrichissement en plomb se produit après un ralentissement de croissance (distances interstries plus faibles), la haute résolution spatiale de l'ablation laser pourrait expliquer la différence entre les deux méthodes développées sur l'ICP-MS Element 2. Les concentrations coquillières des autres éléments en traces apparaissent constantes sur les deux sections de croissance étudiées. Les deux méthodes permettent d'obtenir des résultats comparables excepté pour l'yttrium. Les concentrations, pour cet élément, sont deux fois plus élevées lorsque l'analyse en phase liquide est réalisée (teneur moyenne : 17 ppb en LA-ICP-MS ; 30 ppb en ICP-MS). Le signal mesuré par la technique LA-ICP-MS semble insuffisant et trop proche des limites de détection (7,6 ppb). La validité des concentrations mesurées de cet élément dans cette coquille Saint-Jacques lorsque la technique LA-ICP-MS est appliquée doit donc être considérée avec réserve.

Les variations ontogéniques des concentrations coquillières de certains éléments en traces (La, Ce...) obtenues par analyse indirecte se distinguent par un nombre plus important de données bruitées associés à des erreurs plus importantes. L'existence d'une telle variabilité est probablement liée aux problèmes de contaminations aléatoires des échantillons imputés soit à la technique de prélèvement, soit à la préparation chimique, soit aux réactifs ou au matériel utilisé. En complément, un test de comparaison (coefficients de corrélations de Pearson) entre les variations temporelles de la concentration élémentaire mesurée par les deux méthodes d'analyses est présenté ci-dessous (Tableau 23).

Tableau 23 : Coefficients de corrélation de Pearson (r) calculés pour plusieurs éléments avec les deux méthodes d'analyses. \*p < 0,0001, \*\*p < 0,05.

<b>Coefficient de corrélation de Pearson (ICP-MS vs LA-ICP-MS)</b>									
Li	Mg	Sr	Mn	Y	Pb	U	Ba	La	Ce
0,868	0,569*	0,664*	0,791*	0,177**	0,501*	0,364*	0,896*	0,529*	0,637*

Cette approche statistique de nos résultats confirme les précédentes interprétations. Les coefficients de corrélation sont dans l'ensemble majoritairement forts (valeur minimale  $r = 0,177$ ) et statistiquement significatifs ( $p < 0,0001$  excepté pour l'yttrium). Pour certains éléments (Li, Ba, Mn), il existe une nette corrélation entre les deux techniques analytiques ( $r \geq 0,8$ ). Il est

intéressant de constater que les éléments concernés sont ceux qui présentent des périodes d'enrichissements suscitant donc le plus d'intérêt. Les éléments comme l'yttrium et l'uranium ont des valeurs plus faibles car le nombre de coups mesuré avec la technique LA-ICP-MS est trop proche des limites de détection de l'appareil de mesure.

### III-1-3 Un échantillonnage différent

Les deux méthodologies analytiques développées sur l'ICP-MS Element 2 se distinguent par des surfaces échantillonnées différentes. Le prélèvement par micro-forage "micromill" est nettement plus destructeur (Figure 28).

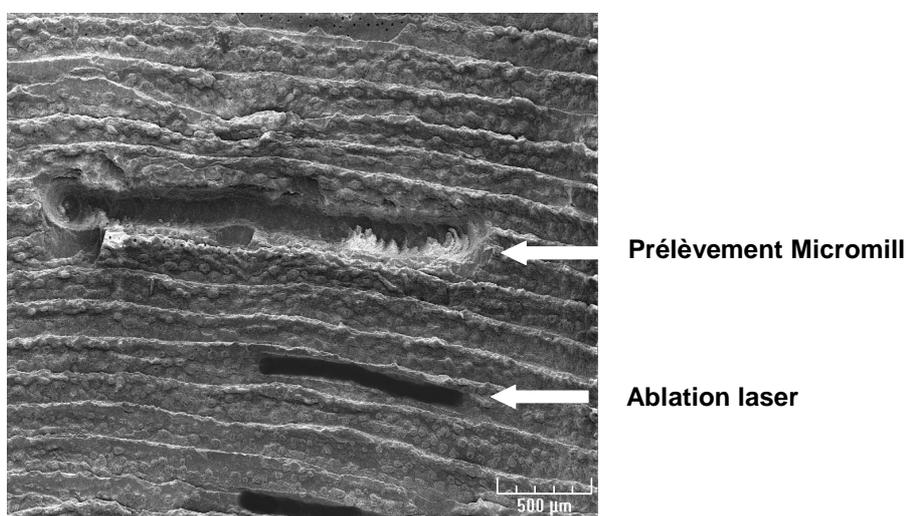


Figure 28 : Illustration des prélèvements par micro-foreuse "micromill" et ablation laser sur la valve gauche d'une coquille Saint-Jacques.

La nécessité d'obtenir une quantité suffisante de matière lors du dosage implique à la fois une profondeur de creusement et une surface de prélèvement plus importantes comparativement à la technique d'ablation laser (Tableau 24).

Tableau 24 : Comparaison des caractéristiques de la surface échantillonnée entre un prélèvement "micromill" et une ablation laser.

Surface échantillonnée	Profondeur (μm)	Longueur (μm)	Largeur (μm)
LA-ICP-MS	~20	800	90 possibilité <
Micro-foreuse "micromill"	100	2100	180

L'utilisation d'un faisceau laser a pour avantage, outre une préparation minimale des échantillons, la possibilité qu'il offre de pouvoir détecter un signal stable (concentration élémentaire) en ne transférant qu'une infime partie de la surface de la coquille vers le spectromètre de masse.

#### **III-1-4 Discussion**

Les deux méthodes d'analyse développées sur l'ICP-MS Element 2 ont permis d'obtenir des résultats similaires de concentrations élémentaires des valves de *P. maximus*. Chaque technique ayant permis d'analyser une section de croissance différente d'un même individu, l'aspect reproductible des profils élémentaires renforce l'hypothèse d'une distribution élémentaire homogène dans les différentes stries radiales d'une coquille Saint-Jacques. Notons dès à présent que cette hypothèse sera confirmée ultérieurement (Paragraphe III-4).

Les interprétations de cette étude aussi pertinentes soient-elles doivent être considérées avec précaution. Tout d'abord, un seul spécimen a été étudié. Les résultats observés sont-ils donc propres à cet individu ou bien peuvent-ils être généralisables à l'espèce ? Il conviendra donc dans l'avenir de confirmer les résultats de ce travail en effectuant une étude similaire sur plusieurs individus de plusieurs populations. Ensuite, une certaine réserve s'impose également quant à la fiabilité des dosages de plusieurs éléments. En effet, l'ablation laser permet un échantillonnage moins destructeur, plus précis et autorise la réalisation de prélèvements à une très haute résolution spatiale (une strie analysée = 1 jour de croissance). En revanche, l'échantillonnage par micro-foreuse contient au minimum l'information de 3 stries pour les zones où la distance inter-strie est importante. Cette dernière méthode moyenne donc dans le temps les variations de concentrations élémentaires au sein des valves de *P. maximus*.

La limite de quantification (LQ) d'une technique analytique est considérée comme étant 5 à 10 fois supérieure à la limite de détection. En dessous de cette valeur, il est difficile de quantifier avec une incertitude acceptable. De ce fait, la fiabilité des mesures avec la technique LA-ICP-MS peut-être remise en question pour les éléments dont les valeurs mesurées sont très proches des limites de détection. Ceci concerne les éléments comme l'yttrium, le lanthane, le cérium et l'uranium. À l'inverse, l'analyse en phase liquide produit des limites de détection significativement inférieures pour ces éléments. Les résultats acquis avec cette méthode sont donc moins contestables.

### **III-2 Comparaison avec les résultats antérieurs obtenus chez *Pecten maximus***

Dans le cadre du programme de recherche ACI-PECTEN, le LEMAR a collaboré avec le LCABIE pour réaliser des analyses élémentaires dans les valves de *P. maximus* (Lorrain, 2002 ; Barats, 2006) et de *Comptopallium radula* (Thébault, 2005), deux pectinidés, tempéré et tropical respectivement. Ces études ont utilisé un système LA-ICP-MS associant un ICP-MS X7-Thermo Elemental et un laser LSX 100-Cetac. Il s'agit d'un couplage entre un laser solide constitué d'un cristal Nd:YAG opérant à 266 nm (UV) et un ICP-MS quadripolaire. Anne Lorrain a tout d'abord initié le développement méthodologique et procédé à quelques tests de mesures rapportées au calcium. Ensuite, Aurélie Barats a complété puis utilisé en routine ce protocole d'analyse. Elle a ainsi pu suivre l'évolution quantitative de multiples éléments dans les valves de *P. maximus* prélevées dans divers écosystèmes côtiers. Cette technique instrumentale possède des propriétés et des caractéristiques différentes (faisceau laser avec une longueur d'onde plus élevée, résolution unitaire...) que celles utilisées au cours de ce travail de thèse.

Des individus provenant d'un site analogue (Rade de Brest, prélèvement à Roscanvel) et vivant à des périodes identiques sont analysés avec la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS Element 2. Notre intention est de retrouver et de valider les résultats antérieurs obtenus avec l'ICP-MS quadripolaire. Notre objectif est donc (1) de vérifier l'ordre de grandeur et les évolutions des concentrations coquillières en éléments mineurs et en traces et (2) de contrôler les dates d'apparition des enrichissements épisodiques en éléments en traces (Ba et Mo) décrits par Barats (2006) puis de comparer leurs dynamiques.

Les travaux antérieurs (Barats, 2006) ont permis d'établir des profils annuels de concentrations élémentaires dans des coquilles juvéniles sur une période de sept ans (1998 à 2004). Seules trois années (1999, 2001 et 2004) ont été re-étudiées selon la nouvelle méthode d'analyse. La variabilité individuelle des concentrations coquillières a pu être calculée pour chaque élément. Elle correspond à l'écart type relatif (RSD) moyen sur les trois coquilles de chaque année. Ce calcul nécessite au préalable l'interpolation linéaire des données de concentrations coquillières élémentaires afin de disposer de valeurs journalières. Pour chaque année et chaque technique, trois coquilles ont été analysées. Par ailleurs pour l'année 2001 une section supplémentaire, un autre axe de croissance d'une des trois coquilles a été analysé avec la technique LA-ICP-MS mise en place dans le cadre de ce travail de thèse.

III-2-1 Comparaison des « bruits de fond »

Sur l'ensemble des éléments analysés par Barats (Barats, 2006), huit d'entre eux (Mn, Co, Cu, Sr, Sn, Pb, Ba et Mg) ont des teneurs suffisamment élevées pour être déterminés correctement sur toute la coquille. La concentration de ces éléments reste stable au sein des carbonates, lorsqu'au printemps l'animal débute sa croissance après une pause hivernale. Le baryum fait ici exception car il montre des enrichissements épisodiques. Le magnésium sort également de ce schéma général puisque sa concentration augmente régulièrement tout au long de l'année. Ces évolutions ont également été observées par Lorrain lors de son travail de thèse (Lorrain, 2002). En tous points nos résultats sont comparables à ceux déjà publiés sur cette même espèce (Figure 29).

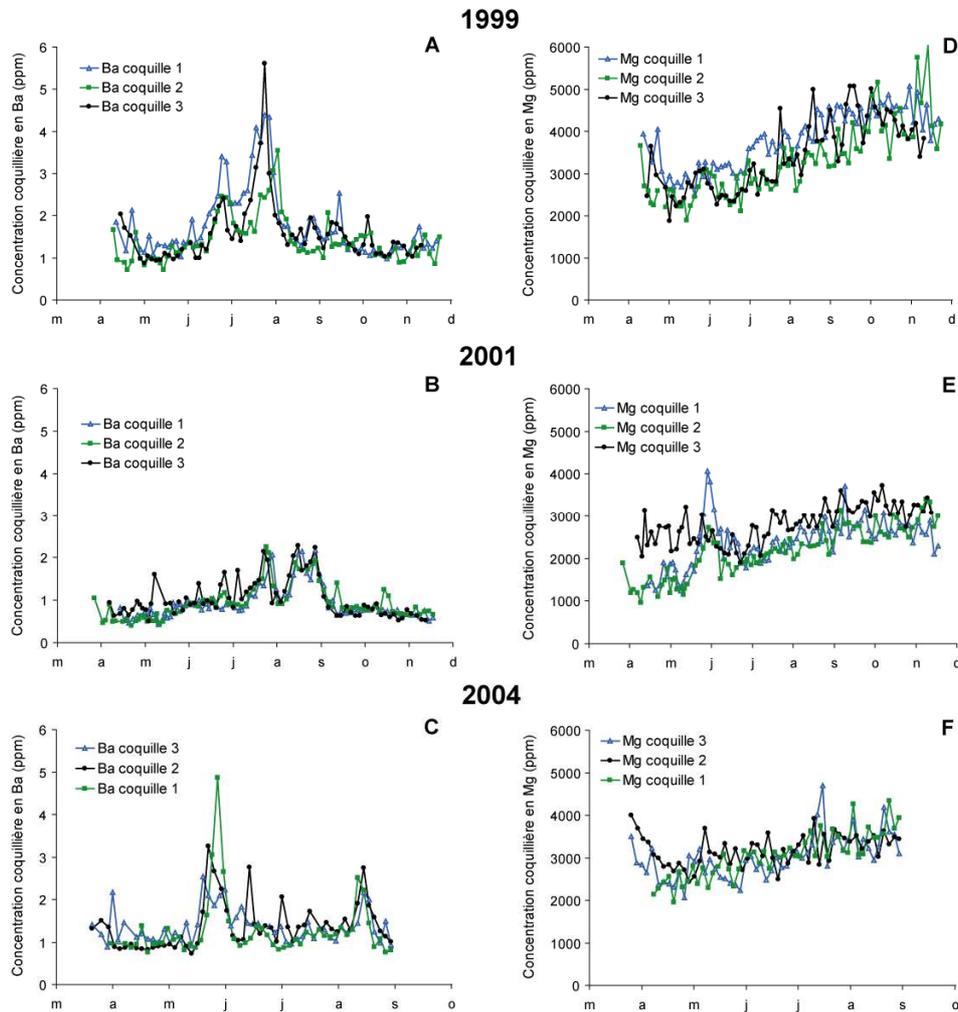


Figure 29 : Evolution de la concentration en magnésium (A-B-C) et en baryum (D-E-F) au sein de trois coquilles de *P. maximus* au cours de l'année 1999, 2001 et 2004 (cette étude).

Il convient de noter que nos résultats, obtenus sur trois individus d'une même population (âge, site), soulignent une nouvelle fois la bonne reproductibilité inter-individuelle des profils de concentrations en baryum et en magnésium. L'ensemble des résultats obtenus par les deux laboratoires (ordre de grandeur, RSD, teneur moyenne) sont reportés dans le Tableau 25 et doivent être associés à ceux qui ont été présentés dans le paragraphe précédent (Tableau 21).

Tableau 25 : Teneur coquillière moyenne (ppm), écart type relatif (%), minimum et maximum de la concentration en Mn, en Co, en Cu, en Sr, en Pb, en Mg et en Ba dans des valves gauches de *P. maximus* prélevées en rade de Brest pour trois années différentes obtenues par deux laboratoires (LCABIE / Domaines Océaniques). La teneur coquillière moyenne en baryum ne tient pas compte des enrichissements épisodiques. LD : limite de détection de l'appareil utilisé.

<b>Elément</b>	<b>Mn</b>	<b>Co</b>	<b>Cu</b>	<b>Sr</b>	<b>Pb</b>	<b>Mg</b>	<b>« fond » Ba</b>
<b>Etude de Pau / LA-ICP-MS quadripolaire (Barats, 2006)</b>							
<b>Année</b>	<b>1999</b>						
Moyenne	3,38	0,91	0,75	1337	0,63	6687	0,53
%RSD	36	8	22	6	16	33	23
min	1,76	0,80	0,52	1160	0,37	3228	0,37
max	6,21	1,12	1,30	1466	0,88	11797	3,81
<b>Année</b>	<b>2001</b>						
Moyenne	3,44	0,94	0,53	1416	0,55	7499	0,55
%RSD	29	4	20	8	25	19	11
min	0,99	0,83	0,32	1117	0,18	4199	0,39
max	6,30	1,08	0,73	1656	0,77	11013	1,88
<b>Année</b>	<b>2004</b>						
Moyenne	4,91	1,22	0,69	1304	0,93	4501	0,61
%RSD	18	21	45	5	31	8	19
min	2,28	0,92	0,03	976	0,26	2508	0,38
max	12,60	1,85	1,69	1539	2,15	8226	3,59
<b>Etude Brest / HR-ICP-MS (phase liquide)</b>							
<b>Année</b>	<b>1999</b>						
Moyenne	7,96	0,16	0,82	1369	1,96	3499	1,31
%RSD	26	99	41	7	53	23	21
min	3,90	<LD	0,27	1076	0,77	1881	0,71
max	14,73	0,90	2,1	1679	6,22	6032	2,14
<b>Année</b>	<b>2001</b>						
Moyenne	5,11	0,11	0,53	1323	0,89	2411	0,78
%RSD	29	148	65	12	41	24	24
min	2,18	<LD	<LD	944	0,28	952	0,40
max	10,83	0,96	1,84	1775	2,5	3730	1,38
<b>Année</b>	<b>2004</b>						
Moyenne	5,37	0,07	2,61	1327	0,99	3051	1,14
%RSD	45	81	46	8	54	16	20
min	2,14	<LD	0,78	1067	0,4	1961	0,75
max	12,03	0,29	6,78	1602	3,60	4695	1,83

De manière générale, les teneurs en éléments mineurs (Mg, Sr) et en traces (Mn, Ba, Co, Cu, Pb) obtenus par les deux laboratoires sont dans une même gamme de concentration : Mg, Sr > 1000 ppm ; Mn > 2 ppm, Ba : 0,5-1,5 ppm ; Co, Cu, Pb < 1 ppm. Seules les teneurs en magnésium diffèrent nettement (Tableau 25). En complément, la Figure 30 et la Figure 31 comparent les variations temporelles des teneurs coquillières en strontium, en manganèse, en plomb et en cuivre mesurées dans trois valves de *P. maximus* au cours des trois années étudiées (1999, 2001, 2004) avec la méthode d'analyse indirecte mise en place sur l'ICP-MS Element 2.

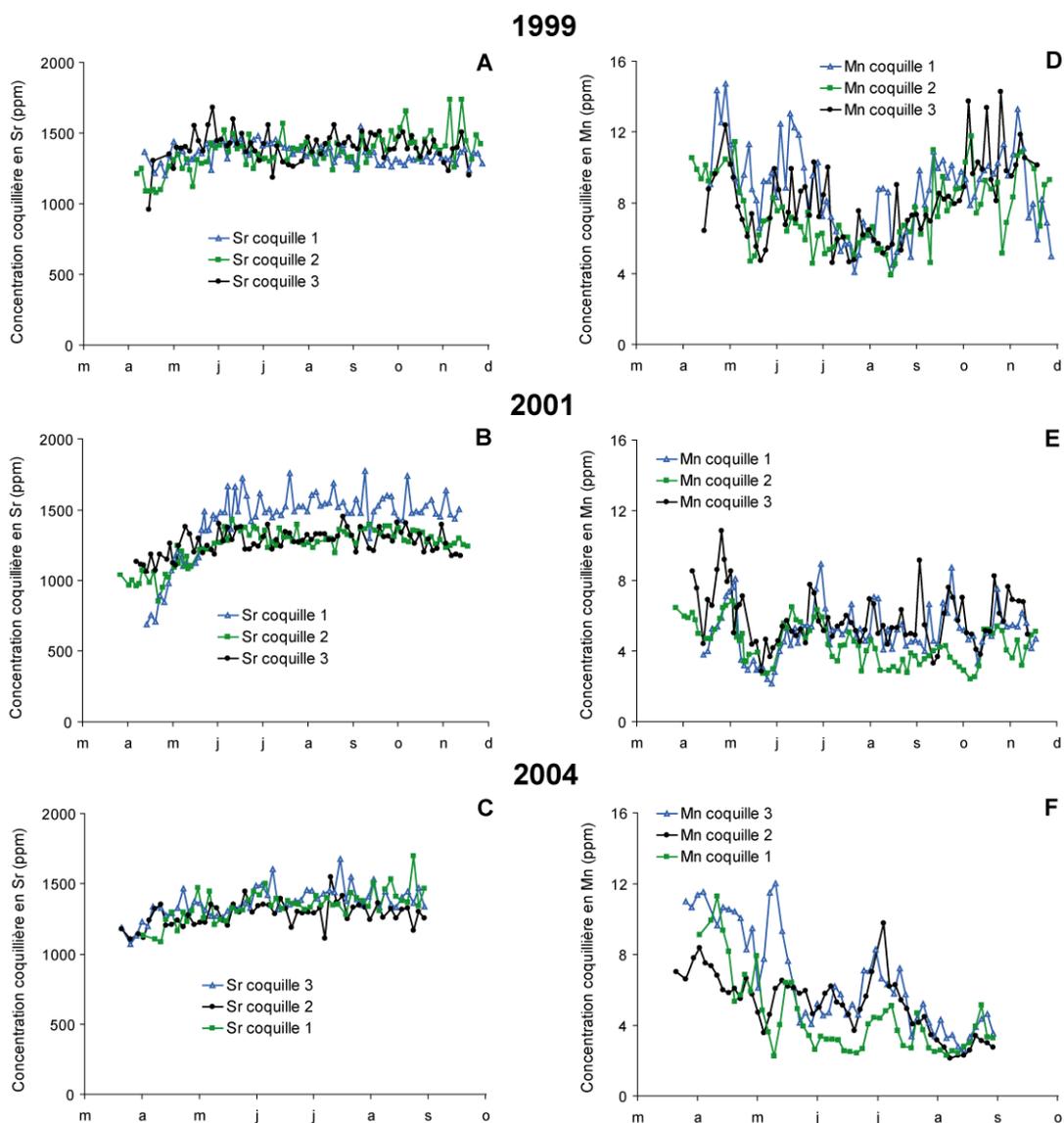


Figure 30 : Evolution de la concentration en strontium (A-B-C) et en manganèse (D-E-F) au sein de trois valves de *P. maximus* pendant l'année 1999, 2001 et 2004 (ce travail).

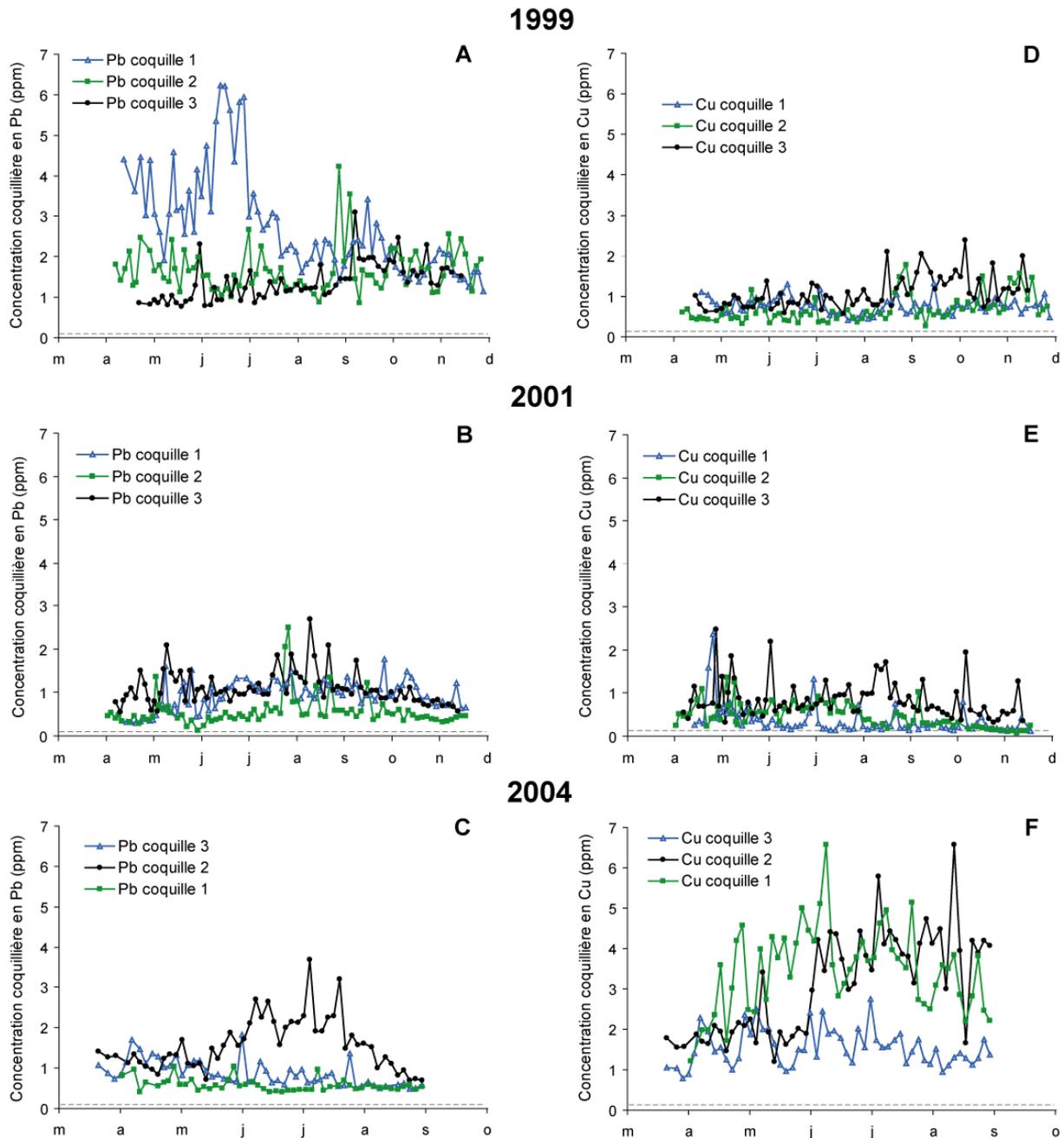


Figure 31 : Evolution de la concentration en plomb (A-B-C) et en cuivre (D-E-F) au sein de trois valves de *P. maximus* au cours de l'année 1999, 2001 et 2004 (ce travail). Les lignes pointillées grises représentent la limite de détection de la méthode pour le plomb et le cuivre.

Par ailleurs, cette comparaison permet de faire émerger deux informations intéressantes sur les capacités des deux techniques instrumentales (le couplage LA-ICP-MS et l'analyse en mode liquide) à déterminer certains éléments faiblement présents dans les valves de *P. maximus* :

a°) premièrement, la méthodologie analysant les coquilles de bivalve par ICP-MS en mode liquide n'a pas pu mesurer correctement l'étain. A l'inverse, les deux techniques LA-ICP-MS détectent cet élément tout au long de la croissance des coquilles dans des gammes de teneurs comparables. Toutefois, les concentrations moyennes diffèrent de moitié selon les laboratoires (teneur moyenne : 0,154 ppm, %RSD : 37 pour Pau ; 0,079 ppm, %RSD : 21 pour Brest). Le profil en étain obtenu en 2001 sur un seul individu à partir du couplage LA-ICP-MS haute résolution varie entre 0,044 et 0,106 ppm (Figure 32). Les valeurs sont légèrement supérieures à la limite de détection de l'appareil de mesure (33,4 ppb).

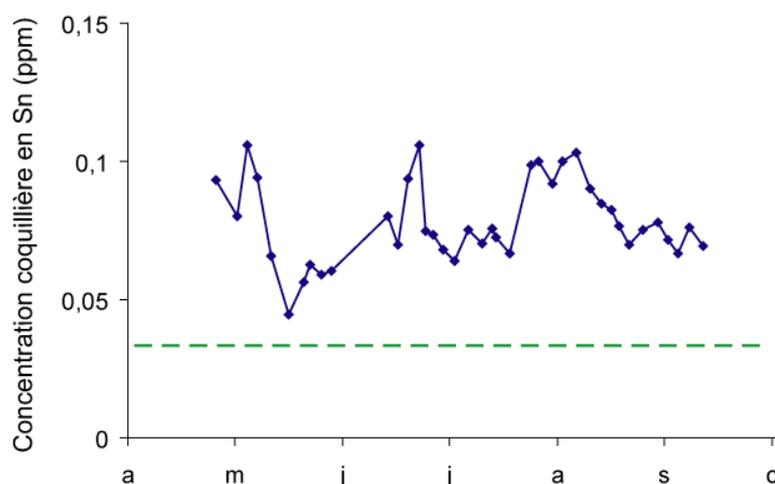


Figure 32 : Evolution temporelle des concentrations en étain dans une valve gauche de *P. maximus* prélevée en Rade de Brest obtenues par LA-ICP-MS haute-résolution (ce travail). La ligne pointillée verte représente la limite de détection de la méthode pour l'étain.

Pour cet élément aucune tendance saisonnière n'est clairement identifiable. Ces résultats sont en accord avec ceux de Barats (2006) sur des coquilles analysées par la technique LA-ICP-MS quadripolaire. De légers enrichissements sont néanmoins notés, mais cet auteur constate qu'ils ne sont pas reproductibles sur les trois coquilles étudiées. Cette variabilité s'explique par la faible teneur en Sn dans les coquilles Saint-Jacques. Le signal très proche des limites de détection induit systématiquement des erreurs importantes (%RSD > 25). Pour cet élément, la capacité du couplage LA-ICP-MS à doser correctement l'étain contrairement à l'analyse indirecte pourrait être expliquée par deux raisons : (1) Cet élément est, en première hypothèse, fortement instable dans les solutions HNO<sub>3</sub>. Une astuce technique permettant de résoudre cette difficulté serait

d'augmenter la normalité ou d'utiliser un mélange ( $\text{HNO}_3/\text{HF}$ ) permettant ainsi de mieux solubiliser cet élément ou d'empêcher les réactions telles que la précipitation, l'adsorption ou la complexation ; (2) deuxième hypothèse, cet élément s'incorpore comme le magnésium dans la matière organique insoluble. L'étain est présent dans l'eau de mer préférentiellement sous la forme anionique  $\text{SnO}_3^{2-}$  (Brown et al, 1989). Il est possible que cet anion puisse se substituer aux carbonates et précipiter avec  $\text{Ca}^{2+}$  sous la forme  $\text{CaSnO}_3(\text{s})$  dans une organisation cristalline de type pérovskite (système orthorhombique). Ce mécanisme semble le plus probable pour expliquer l'incorporation de l'étain dans la matrice biocarbonatée (Barats, 2006).

b°) La fiabilité de nos résultats concernant le cobalt peut sérieusement être mise en doute. En effet, nos concentrations en cobalt sont nettement plus faibles (facteur 10) que celles mesurées à Pau. De plus, les RSD moyens dépassent aisément 80%. Nous rencontrons des difficultés analytiques pour mesurer correctement cet élément avec les deux méthodologies développées à l'IUEM sur l'ICP-MS Element 2. Le cobalt étant un élément mono-isotopique, seul l'isotope  $^{59}\text{Co}$  peut être analysé. Pour la technique LA-ICP-MS, cet élément est analysé en basse résolution. Or, la présence majoritaire du sodium et du calcium dans la matrice carbonatée produit des interférences ( $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}$  et  $^{23}\text{Na}^{36}\text{Ar}$  sur  $^{59}\text{Co}$  ; Tableau 14) qui empêche la quantification du cobalt à cette résolution. Une solution serait de mesurer cet élément en moyenne résolution pour s'affranchir de ces interférences. Cependant, la sensibilité moins performante du couplage LA-ICP-MS, associée aux faibles teneurs en cobalt dans les coquilles Saint-Jacques, empêche une détermination correcte à cette résolution. De ce fait, notre méthodologie LA-ICP-MS ne peut doser correctement le cobalt dans les valves de *P. maximus*. Pour l'analyse en mode liquide, le choix de mesurer cet élément en moyenne résolution n'améliore pas sa quantification chez *P. maximus*. En effet, le nombre de coups divisé par 10 à cette résolution, associé à la faible teneur en cobalt dans les coquilles, induit un signal trop faible atteignant les limites de détection de l'appareil de mesure (0,099 ppb). Il serait plus adapté à l'avenir de mesurer le cobalt en basse résolution ou avec un ICP optique. Si les interférences sont toujours trop contraignantes, plusieurs alternatives sont possibles avec l'analyse indirecte : (1) utiliser un facteur de dilution moins important de nos solutions-échantillons ou (2) séparer cet élément des constituants majoritairement présents dans la matrice carbonatée (Na, Ca).

Nous allons à présent comparer en détails les résultats obtenus par les deux laboratoires (LCABIE/Domaines océaniques).

-le magnésium

L'analyse en solution par HR-ICP-MS aboutit à la mesure de concentrations coquillières en magnésium significativement moins élevées que celles obtenues par Barats (2006) avec la technique LA-ICP-MS quadripolaire. Cette différence de concentration est présente chez toutes les populations d'individus étudiés mais reste néanmoins variable d'une année sur l'autre (3190 ppm en 1999 ; 5088 ppm en 2001 ; 1500 ppm en 2004). Ces résultats rejoignent les interprétations énoncées au paragraphe III-1-1. En effet, nous avons observé que les deux méthodes d'analyses mises en place sur l'ICP-MS Element 2 permettent d'obtenir des mesures montrant des concentrations coquillières en magnésium différentes lorsque les analyses sont faites sur un même individu. Le couplage LA-ICP-MS permet de « tenir compte » de la matrice organique insoluble et mesure donc des teneurs coquillières en magnésium supérieures. Or, la technique LA-ICP-MS a été utilisée par les deux laboratoires pour analyser des coquilles couvrant l'année 2001. Les teneurs coquillières en magnésium obtenues avec l'ICP-MS quadripolaire sont aussi supérieures à celles qui sont acquises par le HR-ICP-MS (ICP-MS quadripolaire : 7499 ppm ; HR-ICP-MS : 2871 ppm). Il est possible que les conditions opératoires (fréquence de tir, énergie) et caractéristiques (longueur d'onde) des lasers puissent expliquer cette différence dans les concentrations mesurées selon les deux techniques.

Par contre, l'augmentation linéaire des teneurs en magnésium est retrouvée au sein de toutes les coquilles étudiées. Cette augmentation apparaît plus forte dans le cas des travaux de Barats. En outre, la Figure 29 souligne une brusque baisse de la teneur en magnésium (de 4000 à 2000 ppm) lors de la reprise de croissance de l'animal. Nos mesures démontrent une hausse de la teneur en magnésium chez *P. maximus* durant chaque arrêt de croissance hivernal.

-le strontium

Les deux laboratoires (LCABIE/Domaines Océaniques) obtiennent des résultats homogènes vis-à-vis du strontium et cela pour l'ensemble des années étudiées. La concentration en strontium dans les carbonates des valves de coquilles Saint-Jacques atteint en moyenne 1350 ppm quelle que soit l'année et quelle que soit la technique d'analyse. Les teneurs coquillières en strontium

chez *P. maximus* se caractérisent par une faible variabilité interindividuelle annuelle, exception faite des périodes couvrant les reprises de croissance printanières (Figure 30 (A) et (B)). L'écart type relatif (RSD) demeure chaque année inférieur à 12% et reste le plus bas parmi les éléments analysés. En résumé, le strontium est un élément qui est facilement dosable quelle que soit la méthode analytique utilisée.

#### - le manganèse

En Rade de Brest, la concentration moyenne en manganèse dépasse chaque année trois ppm dans les coquilles de *P. maximus*. Les valeurs (teneur, RSD) restent comparables entre les deux laboratoires. Toutefois, la teneur coquillière annuelle en manganèse obtenue avec le HR-ICP-MS Element 2 est légèrement plus élevée que celles mesurée par Barats (2006) avec l'ICP-MS quadripolaire. Plusieurs hypothèses peuvent-être avancées afin d'expliquer cette différence de résultat. Tout d'abord, il convient de noter que la plupart des individus analysés à Pau ont vu leurs prélèvements débiter plusieurs stries après le premier arrêt de croissance hivernal car la cellule d'ablation implique une longueur maximale d'échantillon (Barats, comm pers). À l'inverse, la méthodologie mise en œuvre et l'équipement utilisé à Brest avec une cellule d'ablation plus grande nous permettent d'obtenir des résultats qui couvrent cette reprise de croissance printanière. Or à cette période, les teneurs coquillières en manganèse apparaissent élevées (Figure 30). Par ailleurs, le manganèse se mesure en moyenne résolution avec la méthode ICP-MS en phase liquide. Cette propriété permet ainsi de s'affranchir des nombreuses interférences contraignantes (Tableau 14). Il est possible que l'ICP-MS quadripolaire lié à une résolution plus réduite tienne compte de ces interférences dans sa mesure. Enfin, les performances améliorées de l'ICP-MS Element 2 rendent évidente la forte variabilité du manganèse au cours de l'année.

D'après Barats (2006), l'évolution de la concentration coquillière en manganèse peut être considérée comme constante chez *P. maximus*. Toutefois, cet auteur observe des périodes d'enrichissement en manganèse sur quelques coquilles. Ces pics ont une amplitude plus faible comparés à ceux qui sont obtenus pour le baryum et le molybdène. De ce fait, la variabilité des concentrations coquillières est elle plus forte et le RSD moyen atteint des valeurs assez élevées (18-36%). Les coquilles analysées lors de la présente étude montrent aussi ces accroissements en manganèse à diverses périodes. En revanche, ces augmentations aux amplitudes plus ou moins

élevées certaines années sont visibles sur les trois individus d'une même population (Figure 30). De ce fait, nos résultats indiquent que la teneur coquillière en manganèse chez *P. maximus* ne peut être considérée comme constante à Roscanvel.

Toutes les coquilles analysées avec l'ICP-MS haute résolution montrent des concentrations valvaires en manganèse très élevées au début du printemps. Or, des travaux démontrent que la présence de matière organique s'accroît lors des ralentissements de croissance et qu'après élimination de celle-ci dans les coquilles aragonitiques du bivalve *Corbula amurensis* la concentration coquillière en manganèse diminue de 78%. (Richardson et al, 2001a ; Takesue et al 2008). Il est donc possible que cette phase organique soit à l'origine de cette hausse en manganèse constatée chez *P. maximus* durant l'arrêt de croissance hivernal. Cet élément semble aussi s'incorporer dans la matière organique. Précédemment, nous avons suggéré que les différences observées entre les concentrations en magnésium mesurées par les deux méthodes d'analyses du HR-ICP-MS pouvaient être induites par cette matière organique. A l'inverse, les résultats et les profils en manganèse demeurent clairement reproductibles (Figure 27).

#### - le baryum

Le profil annuel de la concentration coquillière en baryum est caractérisé par une évolution régulière ponctuée par deux ou trois pics épisodiques plus ou moins élevés. Ces enrichissements surviennent à des périodes différentes selon l'année. Cet aspect particulier du baryum sera décrit et comparé plus amplement dans le paragraphe suivant. La concentration valvaire moyenne en baryum est calculée sans tenir compte des enrichissements épisodiques. Les concentrations mesurées sont deux fois plus élevées pour les années 1999 et 2004.

#### - le plomb et le cuivre

Les résultats issus des travaux de dosage des deux laboratoires permettent d'affirmer que le plomb et le cuivre sont deux éléments dont la teneur annuelle dans les coquilles se situe en dessous de la ppm. Ces éléments se distinguent des autres éléments analysés par une forte variabilité des concentrations. Cette variabilité est vraisemblablement induite par la faible teneur en Pb et en Cu dans les carbonates des valves. Le signal parfois proche des limites de détection (Pb : 0,081 ppb ; Cu : 0,155 ppb par HR-ICP-MS Element 2 en mode liquide : Annexe 3) implique systématiquement des pourcentages d'erreurs importants (%RSD : 16-65). Les teneurs

moyennes en cuivre et en plomb obtenues par les deux laboratoires sont comparables excepté en 1999 pour le plomb et en 2004 pour le cuivre (Tableau 25). En 1999, la teneur coquillière en plomb d'un individu mesurée avec le HR-ICP-MS augmente d'un facteur 3 voire 4 de mai à août vis-à-vis celle obtenue pour les deux autres individus (Figure 31(A)). À cette période, la teneur en Pb dans cette valve atteint des valeurs supérieures à 5 ppm induisant une concentration moyenne annuelle plus élevée (1,96 ppm) que celle obtenue par Barats sur l'ICP-MS quadripolaire (0,63 ppm). En 2004, les trois individus mesurés avec la méthode d'analyse indirecte ont des concentrations valvaires en cuivre nettement plus élevées que celles obtenues par Barats sur des individus issus de la même population (teneur coquillière en Cu varie entre 0,78 et 5,78 ppm pour notre étude, entre 0,03 et 1,69 ppm pour l'étude de Pau). Barats constate une reproductibilité de la teneur annuelle en Pb et en Cu dans les valves de *P. maximus* prélevées en rade de Brest. En revanche, nos résultats ne confirment pas cette reproductibilité suite aux importantes teneurs coquillières obtenues pour le plomb en 1999 et pour le cuivre en 2004. En général, les variations temporelles des concentrations en Pb et en Cu montrent une forte variabilité inter-individuelle (Figure 31, Barats, 2006). Ces résultats rejoignent les interprétations des études réalisées chez les bivalves *Comptopallium radula* (Thébault, 2005) et *Merceneria merceneria* (Gillikin, 2006). Ces auteurs suggèrent que les concentrations coquillières en métaux reflètent probablement plus les flux benthiques de métaux dissous que les apports pélagiques. En effet, Thébault (2005) observe que les concentrations moyennes en métaux (dont le plomb et le cuivre) dans les coquilles de *Comptopallium radula* sont plus élevées dans les coquilles que dans la masse d'eau environnante (concentration en métaux dissous à 15 cm au dessus du sédiment). L'hypothèse d'une origine benthique des métaux incorporés dans les valves de *P. maximus* pourrait expliquer les différentes teneurs en plomb et en cuivre obtenues pour trois individus d'une même population. Par ailleurs, les RSD sont légèrement plus élevés avec la méthode ICP-MS en mode liquide. Plusieurs raisons sont à envisager :

Premièrement, l'un des principaux inconvénients de la méthode d'analyse indirecte reste la mise en solution de l'échantillon solide qui peut conduire à d'éventuelles contaminations et interférences dues aux réactifs, aux flaconnages et à la technique de prélèvement. De ce fait, le « signal » se distingue par un nombre plus important de données bruitées.

Deuxièmement, la haute sensibilité de l'ICP-MS Element 2 peut mieux mettre en évidence la variabilité de ces éléments au cours de l'année.

### III-2-2 Comparaison des enrichissements épisodiques

#### III-2-2-a Comparaison des profils pour une saison équivalente

Des phénomènes d'enrichissements épisodiques du baryum et du molybdène ont clairement été mis en évidence par nos deux méthodes d'analyses (Figure 27 et Figure 29). Il est important de vérifier si ces accroissements correspondent à ceux qui sont obtenus par les analyses de Pau. La Figure 33 montre que les profils des teneurs coquillères en baryum et en molybdène au cours de l'année 2001 restent comparables et reproductibles quelle que soit la méthode analytique choisie et quel que soit le laboratoire à l'origine de la mesure.

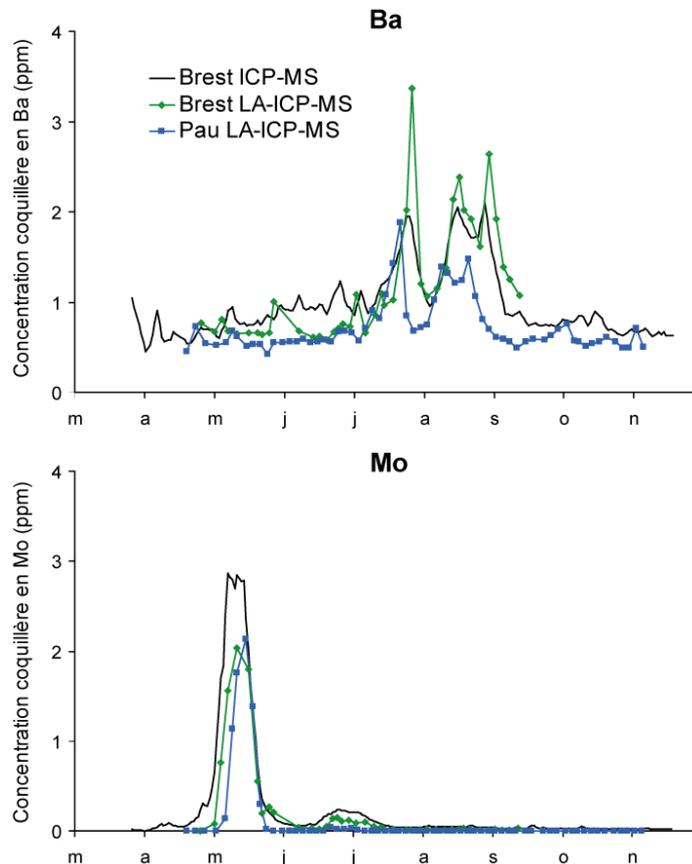


Figure 33 : Comparaison des variations temporelles (mars-novembre 2001) des concentrations coquillères en Mo et en Ba d'individus de même âge issus d'une même population (Baie de Roscanvel) mesurées avec l'ICP-MS quadripolaire et les deux modes d'analyse du HR-ICP-MS.

#### -le molybdène :

Quelle que soit la technique utilisée pour le dosage, l'évolution de la concentration coquillière en

molybdène au cours de l'année 2001 varie à un niveau proche voire inférieur aux limites de détection (LA-ICP-MS : 0,17 ppm). Chaque courbe obtenue montre deux enrichissements drastiques qui ont lieu entre le printemps et le milieu de l'été. En résumé, *P. maximus* incorpore du molybdène dans ses valves durant de très courtes périodes uniquement. La première augmentation observée durant le printemps (~13 mai), est élevée. À cette période, la teneur du molybdène dans les coquilles augmente brutalement d'un facteur 20 pour atteindre une valeur supérieure à 2 ppm. La concentration moyenne maximale mesurée lors de ce pic par le LCABIE de Pau ( $1,46 \pm 0,6$  ppm) est proche de celle obtenue lors de la présente étude et cela quelle que soit la méthode utilisée ( $1,63 \pm 1,21$  ppm par ICP-MS et  $1,34 \pm 0,65$  ppm par LA-ICP-MS). Toutefois notons que les pics obtenus en LA-ICP-MS se révèlent plus courts (10 jours) et inférieurs (1,2 ppm) comparés à ceux mesurés par la technique d'analyse indirecte. Rappelons que l'analyse par ablation laser se distingue par un échantillonnage à haute résolution spatiale jusqu'à alors impossible avec la micro-foreuse. Cette spécificité permet d'acquérir un enregistrement des changements élémentaires plus détaillé qualitativement et temporellement (Paragraphe III-1).

Le deuxième enrichissement en molybdène mesuré durant l'été (26 juin) est considérablement moins élevé que le précédent. Il apparaît un mois après le premier accroissement et fait suite à un ralentissement de croissance (Figure 27). Cet enrichissement est difficile à visualiser car l'augmentation des teneurs en molybdène se situe à proximité des limites de détection des appareils de mesure. Une question se pose. Ce pic peut-il être assimilé à une augmentation naturelle du molybdène dans les coquilles de *P. maximus* ? Barats et al. (soumis) décident de l'écartier de leur étude (Tableau 26). Notre travail démontre toutefois que les performances du HR-ICP-MS améliorent sa détermination surtout par analyse indirecte (Figure 33). Nous constaterons au paragraphe IV-1 que l'amplitude et la reproductibilité de cet enrichissement en Mo chez tous les individus d'une même population suggèrent l'existence d'un forçage environnemental. De ce fait, ces observations nous invitent à le considérer.

#### -le baryum :

Chaque technique analytique présente des profils de la concentration coquillière en baryum qui se caractérise par une évolution régulière ponctuée par deux voire trois pics épisodiques plus ou moins élevés. Ces enrichissements situés après ceux du molybdène et séparés d'une dizaine de

jours se développent durant l'été (24 juillet et 23 août). Le second enrichissement qui dure deux fois plus longtemps que le premier, présente deux maxima (16 et 28 août). Le « bruit de fond » de la concentration coquillière en baryum est reproductible quelle que soit la méthode utilisée sur le HR-ICP-MS (0,78 ppm par ICP-MS ; 0,76 ppm par LA-ICP-MS). Ces valeurs légèrement supérieures restent comparables avec les résultats obtenus sur l'ICP-MS quadripolaire du LCABIE de Pau (0,55 ppm). Une interprétation identique est observée pour les teneurs moyennes des enrichissements (Tableau 22 et Tableau 26). Toutefois, les deux courbes figurant les variations temporelles de la teneur coquillière en baryum obtenues par les deux laboratoires montrent un léger décalage (5 jours). Les raisons possibles de cette divergence de résultats sont multiples : a) une difficulté technique à recaler chronologiquement les stries analysées. Cette erreur s'accroît lorsque l'échantillonnage se fait à partir de la micro-foreuse (Paragraphe III-1) ; b) la technique de pêche peut dégrader le bord externe des coquilles Saint-Jacques. La détérioration diffère selon la technique d'échantillonnage (soit dragage ou prélèvement en plongée) et les individus. Ceci entraîne une perte d'un nombre variable et inconnu de stries et donc de « jours » ; c) une variabilité naturelle inter-individu de croissance. Chaque individu possède ses propres capacités à croître (potentiel génétique) et ses propres limites de tolérance aux variations des paramètres environnementaux (Thébault, 2006) ; d) un bref ralentissement de croissance provoqué par l'attaque d'un prédateur qui n'affecte qu'une proie. Cette hypothèse ne peut concerner que l'individu analysé par le laboratoire de Pau, car aucune des coquilles étudiées ne présente une telle anomalie.

En résumé, les profils en baryum et en molybdène de 2001 obtenus à partir des deux méthodes d'analyses développées sur le HR-ICP-MS Element 2 s'accordent avec ceux qui ont été mesurés sur LA-ICP-MS quadripolaire du LCABIE de Pau.

#### III-2-2-b Reproductibilité sur les 3 années étudiées

Le Tableau 26 regroupe les divers résultats des enrichissements en molybdène et baryum des 3 années examinées par les deux laboratoires (1999, 2001 et 2004).

Les individus couvrant les années 1999 et 2001 présentent des résultats comparables temporellement et quantitativement. Un enrichissement supplémentaire en molybdène est observé durant l'année 1999. Ce pic montre une amplitude modeste et il est donc difficile à mettre en évidence ( $0,13 \pm 0,027$  ppm par HR-ICP-MS). Toutes les coquilles étudiées en 2004 ont un

nombre identique d'enrichissements en baryum pour des valeurs de concentrations moyennes semblables. Cependant, tous nos pics sont datés 23 jours plus tôt que ceux mesurés par Barats et al. (2009). L'origine de cet important décalage ne peut être expliquée par les considérations énoncées plus haut.

Tableau 26 : Comparaison des enrichissements en molybdène et en baryum (teneur moyenne, écart type, date) obtenus avec l'ICP-MS quadripolaire et la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS (ablation laser et prélèvement par micro-foreuse "Micromill") sur des coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus* juvéniles prélevées à Roscanvel (rade de Brest). M : teneur moyenne ; SD : écart type.

Etude Pau (Barats et al., 2009, soumis)		Molybdène		Baryum	
Année, date de prélèvement, âge	Pic	M ± SD (ppm)	Date	M ± SD (ppm)	Date
1999 (n=3) 23 jan 2000 ; classe 1	pic 1	0,186 ± 0,121	07-mai	1,27 ± 0,48	18-juin
	pic 2			2,12 ± 0,84	19-juil
2001 (n=3) 20 jan 2002 ; classe 1	pic 1	1,46 ± 0,6	15-mai	0,971 ± 0,43	22-juil
	pic 2	0,035 ± 0,030	21-juin	1,39 ± 0,91	18-août
2004 (n=2) mars 2005 ; classe 1	pic 1	0,059 ± 0,049	09-mai	2,25 ± 0,99	18-juin
	pic 2			1,26 ± 0,38	05-sept

Etude Brest		Molybdène		Baryum	
Année, date de prélèvement, âge	Pic	M ± SD (ppm)	Date	M ± SD (ppm)	Date
1999 (n=3) 23 mars 2001 ; classe 2	pic 1	0,41 ± 0,12	07-mai	2,08 ± 0,49	22-juin
	pic 2	0,13 ± 0,027	12-juin	2,78 ± 0,96	22-juil
2001 (n=3) 21 nov 2001 ; classe 1	pic 1	1,63 ± 1,21	12-mai	1,58 ± 0,4	24-juil
	pic 2	0,21 ± 0,032	26-juin	1,75 ± 0,31	21-août
2004 (n=2) 3 sept 2004 ; classe 1	pic 1	0,20 ± 0,053	13-avr	2,36 ± 0,8	26-mai
	pic 2	0,08 ± 0,013	21-juil	2,1 ± 0,39	14-août

### III-2-2-c Nécessité de prélever pendant la période de croissance pour un enregistrement à haute résolution

Des précédents travaux effectués par notre groupe de recherche constatent que la variabilité inter-individuelle des profils de croissance coquillière chez *P. maximus* est très faible. Les variations du taux de croissance sont contrôlées par des paramètres environnementaux parmi lesquels la température, la disponibilité en nourriture, l'apparition de floraisons phytoplanctoniques toxiques ... (Chauvaud et al., 1998 ; Lorrain et al., 2000). L'influence de ces paramètres est identique pour toutes les coquilles issues d'une même population (taille, localité). Nous remarquons que les coquilles étudiées par les deux laboratoires présentent des dates de prélèvement différentes (5

septembre 2004, mars 2005). Cette différence implique que les coquilles analysées par Pau ont bénéficié d'une durée supplémentaire de croissance. Durant cette période, les individus auraient pu subir une perturbation de croissance entraînant une datation imprécise des profils élémentaires. Or, aucune anomalie du rythme de croissance des stries chez des individus juvéniles de *Pecten maximus* n'a été observée en rade de Brest au cours de l'automne 2004 (Chauvaud, comm pers). De plus, il convient de noter que la période de croissance de *P. maximus* s'échelonne typiquement d'avril à novembre-décembre en rade de Brest. La reprise de croissance des individus juvéniles (classe d'âge 1 an) a lieu lors de la première semaine du mois d'avril et cela tous les ans depuis 1989. Par contre la date d'arrêt de croissance n'est pas clairement définie. Elle varie selon les années et semble dépendre de divers paramètres environnementaux (baisse de température...) et physiologiques. Des individus prélevés le 5 novembre d'une année ont probablement déjà arrêté leur croissance alors que d'autres spécimens récupérés à la même date l'année suivante seront encore en phase de croissance. De ce fait, la dernière strie sur le bord externe de la valve gauche des coquilles ne correspond plus à la date de pêche. Nos individus ont été prélevés le 5 septembre, c'est-à-dire en pleine période de croissance. Cette caractéristique atteste la précision du recalage temporel de nos profils élémentaires. Par contre, les individus analysés par Pau ont été prélevés lors de la période d'arrêt de croissance hivernal (mars 2005). Les dernières stries de ces coquilles ont été déposées en novembre de l'année précédente à une date exacte inconnue. La date attribuée à la dernière strie visible de ces individus doit être surestimée d'où le probable décalage de 23 jours observé avec nos pics en molybdène et en baryum.

À titre d'exemple, nous analysons deux séries de trois coquilles d'une même population (Roscanvel, classe I) prélevées en plongée à deux dates différentes au cours de l'année 2007 (29 juin, 5 novembre). L'échantillonnage en plongée permet de préserver le bord externe des coquilles, évitant de perdre un grand nombre d'informations jours. Si nous assimilons la date de pêche à la dernière strie visible sur chaque coquille, les évolutions des concentrations coquillères en molybdène et en magnésium se retrouvent décalées (Figure 34). L'écartement entre les pics de molybdène et le début d'augmentation de la teneur coquillière en magnésium au début du printemps est identique et correspond à la moitié d'un mois.

L'étude des croissances coquillères des individus étudiés montre clairement que les courbes moyennes de chaque série se ressemblent, mais apparaissent décalées (Figure 35(I)).

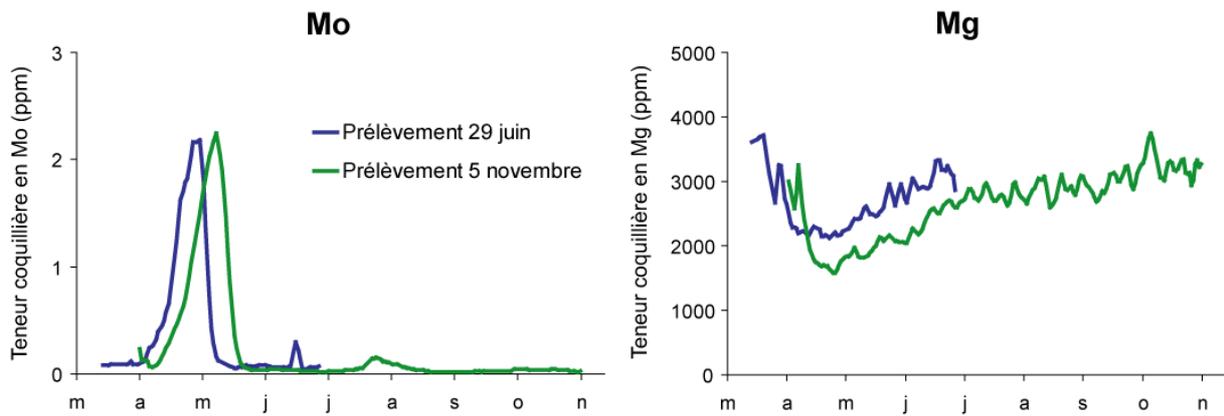


Figure 34: Comparaison des profils des teneurs coquillères en molybdène et en magnésium de 2 lots de trois individus de *P. maximus* issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007). Recalage chronologique établi sur la date de pêche.

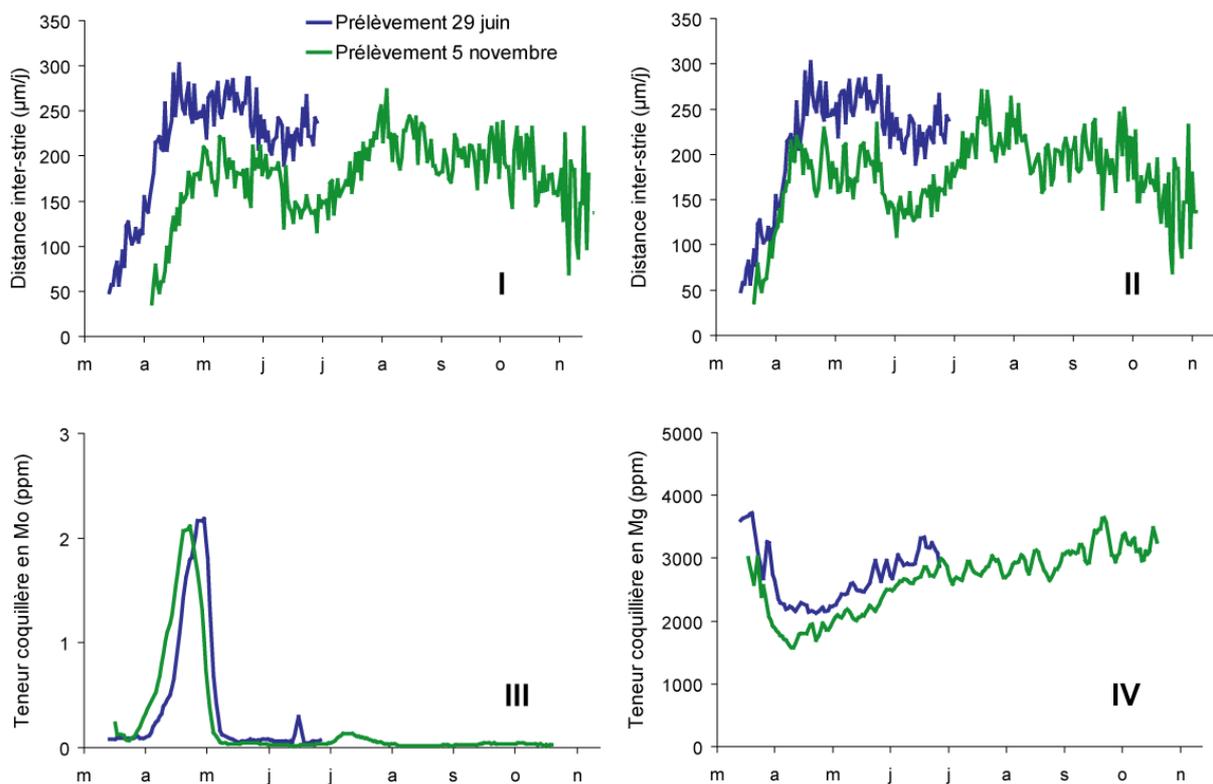


Figure 35 : Variabilité saisonnière de la croissance journalière moyenne et des concentrations coquillères en molybdène et en magnésium de 2 lots de trois individus de *P. maximus* issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007) I : recalage chronologique établi sur la date de pêche ; II,III, IV : courbes des individus du 5 novembre décalées de 15 jours.

Nous dénombrons en moyenne 92 stries pour les individus prélevés le 29 juin et 206 stries pour ceux pêchés le 5 novembre. Ceci implique que les 114 stries de croissance supplémentaires des coquilles plus âgées ne correspondent pas aux 129 jours ayant séparé la pêche des deux lots d'individus. Comme toutes les coquilles étudiées ne présentent aucune perturbation de croissance, les coquilles prélevées le 5 novembre ont donc déjà arrêté leur croissance. L'arrêt de croissance hivernal de 2007 se situe deux semaines avant le 5 novembre. En décalant de 15 jours les profils obtenus pour les individus du 5 novembre, les courbes moyennes de croissance journalière des deux séries de coquilles se synchronisent (Figure 35(II)).

Les variations temporelles des concentrations coquillères en magnésium et en molybdène deviennent nettement reproductibles (Figures 35(III), (IV)). En résumé, afin d'assurer un recalage calendaire précis des profils élémentaires dans les coquilles de *P. maximus*, il apparaît nécessaire de prélever des individus juvéniles avant l'arrêt de croissance hivernal (avant le mois de novembre).

### **III-3 Comparaison des abondances élémentaires obtenues le long des coquilles de *Pecten maximus* par ICP-MS et microsonde**

L'utilisation de la microsonde électronique pour déterminer et vérifier l'abondance du calcium le long de trois coquilles de *P. maximus*, ainsi qu'à l'échelle de la strie, (Paragraphe II-2-1) permet de réaliser une comparaison des résultats obtenus avec la technique ICP-MS. Afin de comparer ces deux méthodes analytiques, les résultats d'analyses sont donnés en abondance de l'élément chimique dans les valves de *P. maximus*.

#### **III-3-1 Le calcium**

Le Tableau 27 présente l'ensemble des résultats acquis sur les teneurs en calcium de l'ensemble des coquilles analysées durant cette étude avec l'ICP-MS Element 2 (via la méthodologie d'analyse indirecte décrite au chapitre II). Les trois valves C1, C2, C3 de l'année 2004 proviennent des mêmes individus que celles analysées à la microsonde (Paragraphe II-2-1), mais sur une autre strie radiaire. Les deux techniques conduisent à la même conclusion : C3 est la coquille dont la teneur en calcium est la plus élevée. Globalement, sur les 25 coquilles analysées par ICP-MS, quel que soit le site, l'âge ou la période, les résultats demeurent reproductibles. La moyenne de l'abondance en calcium avoisine 41%, pour un RSD proche de 3%.

Tableau 27 : Enoncé de tous les résultats obtenus à partir de l'ICP-MS Element 2 sur l'abondance du calcium dans *P. maximus* au cours de cette étude.

<b>Site étudié; nom de coquille ; âge</b>	<b>Période analysée, date de prélèvement</b>	<b>Date d'analyse</b>	<b>Nb d'analyses</b>	<b>Abondance du Ca (%)</b>	<b>RSD</b>
Rade de Brest C103 ; classe II	03/1999 à 11/2000 ; 7/3/2001	07/03/2007	105	41,8	5,6
Rade de Brest ; C105 ; classe II	03/1999 à 11/2000 ; 7/3/2001	14/03/2007	97	42,95	7,9
Rade de Brest ; C106 ; classe II	03/1999 à 11/2000 ; 7/3/2001	21/03/2007	129	41,95	6,8
Rade de Brest ; C5 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 21/11/2001	29/11/2007	80	42,43	5,0
Rade de Brest ; C10 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 21/11/2001	20/04/2007	72	43,44	6,7
Rade de Brest ; C11 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 21/11/2001	11/04/2007	59	42,31	7,5
Rade de Brest ; C12 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 21/11/2001	23/01/2008	74	40,44	5,9
Rade de Brest ; C1 ; classe I	03/2004 à 09/2004 ; 3/09/2004	09/08/2007	52	41,86	5,8
Rade de Brest ; C2 ; classe I	03/2004 à 09/2004 ; 3/09/2004	16/08/2007	56	40,67	6,7
Rade de Brest ; C3 ; classe I	03/2004 à 09/2004 ; 3/09/2004	17/08/2007	55	42,64	4,8
Rade de Brest ; C11 ; classe I	03/2007 à 06/2007 ; 3/07/2007	21/11/2007	34	40,91	3,7
Rade de Brest ; C22 ; classe I	03/2007 à 06/2007 ; 3/07/2007	22/08/2007	38	43,10	3,9
Rade de Brest ; C33 ; classe I	03/2007 à 06/2007 ; 3/07/2007	24/08/2007	30	43,53	5
Rade de Brest ; C6d ; classe I	03/2007 à 11/2007 ; 5/11/2007	20/05/2008	68	40,43	4,4
Rade de Brest ; C6g ; classe I	03/2007 à 11/2007 ; 5/11/2007	09/05/2008	72	40,14	5,7
Rade de Brest ; C6c ; classe I	03/2007 à 11/2007 ; 5/11/2007	19/06/2008	73	40,96	4,1
Rade de Brest ; C666 ; classe I	03/2007 à 11/2007 ; 5/11/2007	29/07/2008	73	41,73	3,9
Rade de Brest ; C7 ; classe I	03/2007 à 11/2007 ; 5/11/2007	31/07/2008	66	41,5	2,5
Rade de Brest ; C5 ; classe I	03/2007 à 11/2007 ; 5/11/2007	06/08/2008	69	41,61	3
Belle-Ile en mer ; C5 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 13/11/2001	06/03/2008	57	38,76	3,6
Belle-Ile en mer ; C23 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 13/11/2001	13/03/2008	67	38,41	5,6
Belle-Ile en mer ; C28 ; classe I	03/2001 à 11/2001 ; 13/11/2001	27/03/2008	66	41,19	5
Baie de Saint Briec ; C16 ; classe II	03/2002 à 11/2002 ; 13/11/2003	26/06/2008	70	40,56	6,1
Baie de Saint Briec ; C18 ; classe II	03/2002 à 11/2002 ; 13/11/2003	18/07/2008	75	40,68	4,4
Baie de Saint Briec ; C21 ; classe II	03/2002 à 11/2002 ; 13/11/2003	24/06/2008	80	40,88	4,3
<b>moyenne de toutes les coquilles</b>			1717	41,395	3,12

Pour certains individus (exemple C33), la technique ICP-MS obtient une abondance en calcium légèrement plus élevée que celle autorisée dans le carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>).

Pour chaque coquille, le calcium reste l'élément détecté majoritaire et sa concentration est stable au sein de cette matrice. Une légère différence se remarque entre les deux techniques d'analyse (41% pour l'ICP-MS, 39% pour la microsonde électronique), mais l'ordre de grandeur est respecté. L'estimation de 40% faite pour notre standard de calcite artificiel apparaît donc comme correcte. Finalement que ce soit à l'échelle de la strie ou le long de la coquille, deux techniques analytiques différentes permettent de conclure que l'abondance en calcium dans les coquilles (40% de la masse) est indépendante de l'âge, du site et de la technique de mesure.

### **III-3-2 Les autres éléments**

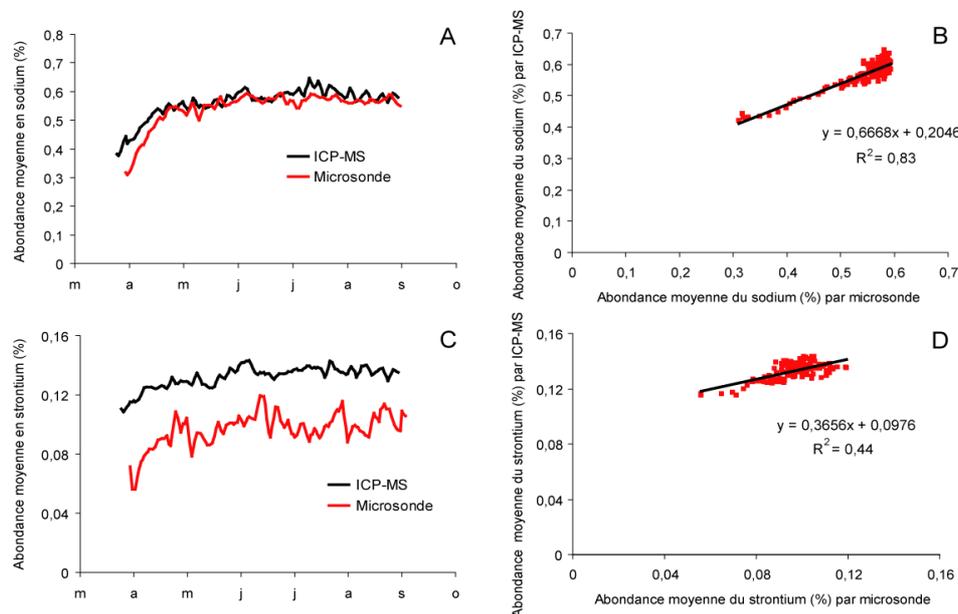
Au sein de la littérature, la microsonde électronique a essentiellement été utilisée pour déterminer la teneur en calcium dans les coquilles de mollusques (Larvor, 1996 ; Van der Putten et al., 1999 ; Guzman, 2004 ; Lazareth et al., 2007). Cet instrument permet de mesurer au maximum cinq éléments simultanément, les faibles limites de détection de l'appareil imposant l'analyse d'éléments majoritairement présents dans les coquilles. De ce fait, cet outil a été utilisé pour analyser en complément du calcium, le strontium et le magnésium dans les coquilles de *Concholepas concholepas* (Guzman, 2004) et d'*Arctica islandica* (Eplé, 2004). Ces études ont pu démontrer que la microsonde électronique fournissait des résultats comparables à ceux de l'analyse par LA-ICP-MS. Toutefois, les travaux d'Eplé (2004) observent que la teneur moyenne en strontium est 14% plus élevée en microsonde. Cet auteur estime que cette surestimation est probablement due soit à une composition inappropriée du standard SrF<sub>2</sub> utilisée en microsonde ou soit à des surfaces échantillonnées différentes entre ces deux techniques.

Dans la présente étude, les analyses réalisées par microsonde électronique afin de vérifier l'abondance du calcium, au cours de la croissance de trois individus de *P. maximus* (Classe I ; 2004), ont également permis d'analyser le sodium, le strontium, et le soufre. Les valves utilisées ici ont également été analysées sur une autre section de croissance par HR-ICP-MS en mode liquide. En conséquence, nous proposons de réaliser une comparaison des résultats obtenus sur ces trois éléments par les deux techniques. Les trois individus étudiés ont des abondances moyennes en strontium et en sodium qui sont indépendantes de la méthode analytique employée (Tableau 28). Ces résultats attestent de la reproductibilité des deux méthodes analytiques.

Tableau 28 : Valeurs moyennes en strontium et en sodium (en %) et écarts types relatifs (RSD en %) par analyse microsonde électronique et HR-ICP-MS de trois valves de *P. maximus* classe I prélevées à Roscanvel (rade de Brest) le 03/09/2004.

Elément	Coquille n°1	Coquille n°2	Coquille n°3	Ensemble des 3	Technique
Sr (% ; RSD)	0,098 ; 21,75	0,09 ; 22,97	0,094 ; 15,15	0,094 ; 19,96	microsonde
Sr (% ; RSD)	0,134 ; 7,53	0,127 ; 7,25	0,135 ; 7,93	0,132 ; 7,57	HR-ICP-MS
Na (% ; RSD)	0,584 ; 10,15	0,578 ; 14,59	0,48 ; 7,94	0,547 ; 10,89	microsonde
Na (% ; RSD)	0,557 ; 11	0,561 ; 9,6	0,583 ; 9,03	0,567 ; 9,88	HR-ICP-MS

Chez *P. maximus*, la teneur coquillière en sodium apparait 5 fois plus élevée que celle du strontium. Les deux instruments indiquent que la teneur en sodium représente 0,55% de la masse dans les valves de *P. maximus*. Concernant le strontium, les résultats sont légèrement différents entre les deux techniques d'analyses (~0,038%). Pour chaque valve échantillonnée, la variabilité des concentrations en strontium est trois fois plus importante avec la microsonde. Le RSD atteint 20% et semble attribué à des teneurs coquillères en strontium qui sont trop proches de la limite de détection de l'appareil de mesure. Les profils en sodium et en strontium au cours de l'année 2004 sont comparables pour les deux techniques (Figure 36).



Pour les deux techniques, l'abondance moyenne en sodium varie entre 0,3% et 0,65%. Au cours de l'année 2004, la concentration en sodium s'accroît d'abord rapidement puis de façon plus lente.

La méthode mise en place dans le cadre de cette étude pour analyser les coquilles de bivalve par ICP-MS en mode liquide ne peut quantifier le soufre. Le nombre de coups du bruit de fond trop élevé et la faible teneur du soufre dans les solutions-filles de la calcite artificielle empêchent sa détermination exacte dans les matrices carbonatées (Paragraphe III-2-3). Toutefois, le signal mesuré dans les solutions échantillons est relativement élevé. Les résultats obtenus par microsonde électronique confortent cette observation (Tableau 29).

Tableau 29 : Abondances et écarts types relatifs en soufre mesurés par microsonde électronique de 3 coquilles Saint-Jacques classe I de la rade de Brest prélevées le 03/09/2004.

Moyenne	Coquille n°1	Coquille n°2	Coquille n°3	Ensemble des 3
Abondance en S (%)	0,183	0,169	0,204	0,185
RSD	15,454	18,134	17,361	16,983

La moyenne des trois coquilles indique que la teneur en soufre représente 0,185% de la masse dans les valves de *P. maximus* la situant entre celles du sodium et du strontium. Nous pouvons donc estimer la teneur du soufre proche de 1800 ppm dans la coquille de *P. maximus*. Comme mentionné dans le paragraphe ci-dessus, un résultat quantitatif n'a pu être obtenu via la technique ICP-MS. Cependant, nous avons tout de même comparé sur la totalité des sections de croissance des trois valves l'abondance en soufre obtenue en microsonde électronique avec le signal mesuré par ICP-MS (rapport nombre de coups détectés pour le soufre sur celui du calcium) (Figure 37). Nous estimons que les diverses dérives et instabilités de l'instrument au cours du temps sont corrigées en rapportant le signal du soufre au calcium. Dans le chapitre II-2-1, nous avons constaté que le calcium peut être utilisé comme étalon interne, car il est invariant et majoritaire dans la matrice bio-carbonatée. Les évolutions saisonnières sont relativement similaires quelle que soit la coquille analysée ou la technique analytique utilisée. La présence du soufre diminue fortement au début de la croissance pour ensuite rester quasi-stable à partir de début mai. En effet, la présence du soufre sur deux valves étudiées tend à croître à partir de début juin (régression linéaire microsonde ( $p < 0,01$ ) coquille n°2 :  $r^2 = 0,22$  ; coquille n°3 :  $r^2 = 0,31$  ; HR-ICP-MS ( $p < 0,001$ ) coquille n°2 :  $r^2 = 0,40$  ; coquille n°3 :  $r^2 = 0,47$ ). La concentration

coquillière en soufre est donc plus élevée pendant la période d'arrêt de croissance hivernal.

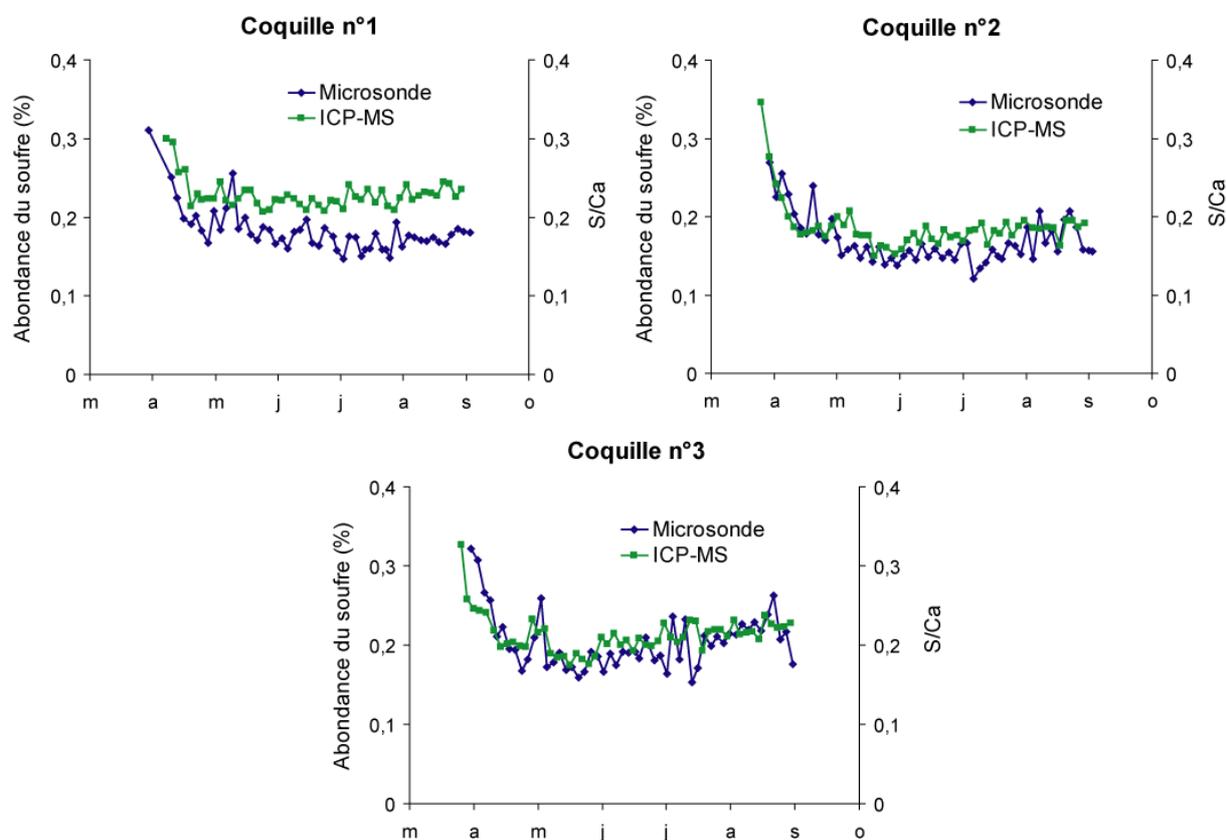


Figure 37 : Evolution de l'abondance du soufre au cours de l'année 2004 sur trois coquilles de *P. maximus* obtenue par microsonde électronique (en %) et du rapport soufre sur calcium mesuré selon la méthode ICP-MS en mode dosage.

### III-3-3 Analyse microsonde à l'échelle de la strie

Les analyses réalisées en microsonde électronique pour vérifier l'homogénéité du calcium à l'échelle d'une strie (Paragraphe II-2-1-d), ont également permis de mesurer le sodium, le strontium, et le soufre. Les points échantillonnés sont identiques et débutent à la pointe de la strie pour atteindre la base de la couche calcitique (Figure 16 (I)). La Figure 38 illustre le profil d'abondance mesurée pour ces trois éléments.

L'abondance du sodium apparaît très homogène tout au long de la strie (Abondance = 0,6% ; RSD = 5,2% ; n=59). La présence du strontium varie de 0,017 à 0,147% et tend à croître entre la pointe de la strie et l'intérieur de la couche calcitique (régression linéaire : n = 59 ;  $r^2 = 0,306$  ;  $p < 0,001$ ). Par contre, le soufre se caractérise par une évolution particulière et semblable à celle

qui est observée durant la croissance de la coquille. Le soufre est significativement plus abondant à l'extrémité de la strie (0,3%). Ensuite, sa teneur décroît de moitié avant de se stabiliser au bout de 50  $\mu\text{m}$ , aux alentours de 0,15%.

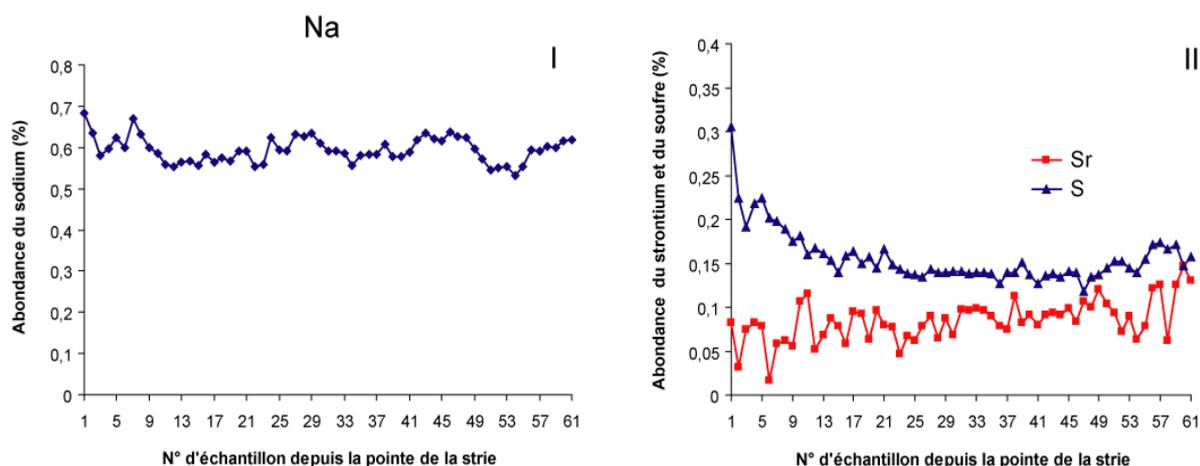


Figure 38 : Evolution de l'abondance en sodium (I) et en soufre associé au strontium (II) sur une strie.

La cartographie de répartition élémentaire réalisée pour le calcium (Figure 39) permet d'obtenir celles du soufre, du sodium et du strontium. Elle apporte des informations supplémentaires.

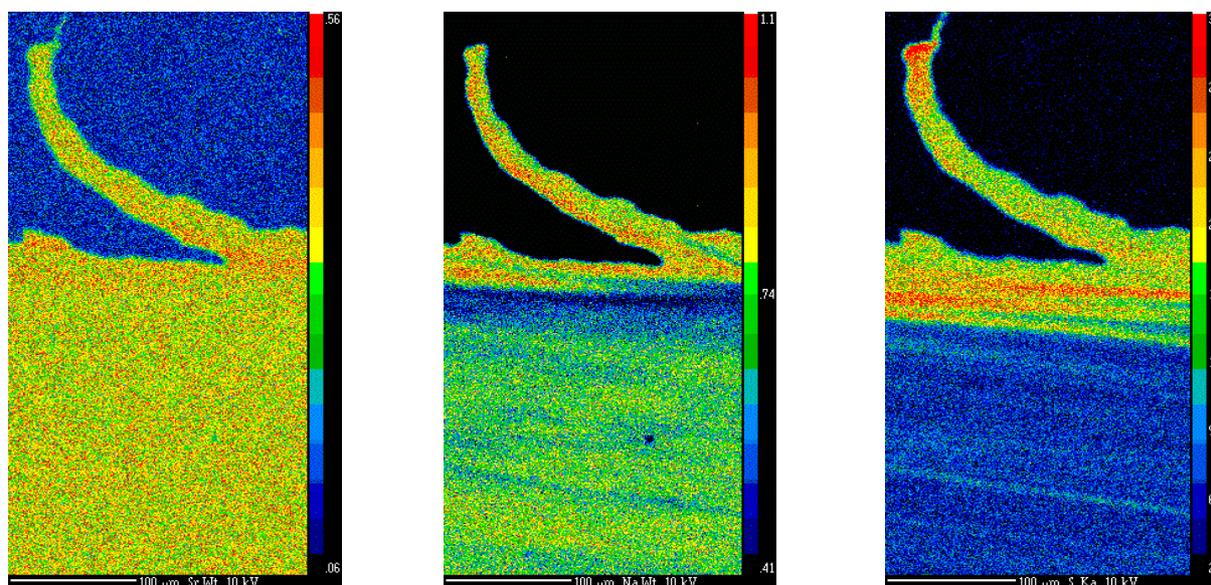


Figure 39 : Cartographie de répartition du strontium, du sodium et du soufre pour une strie de *P. maximus* en coupe longitudinale (lame mince).

De manière générale, la répartition du strontium apparaît homogène sur toute la surface cartographiée. La légère augmentation observée lors des analyses ponctuelles le long de la strie est moins visible sur la Figure 39.

Les répartitions du soufre et du sodium sont en accord avec les analyses ponctuelles faites le long de la strie (Figure 38 (I et II)). La distribution de ces deux éléments est homogène dans la strie à l'exception pour le soufre de la zone située à l'extrémité de la strie. La teneur en soufre est plus élevée. Par ailleurs, deux parties se distinguent dans la coquille. La première incluant la strie et le début de la couche calcitique où le sodium et le soufre sont plus abondants, la seconde relative au reste de la couche interne de la coquille plus pauvre en ces deux éléments. Ces deux parties sont délimitées par une large bande (30  $\mu\text{m}$ ) ayant des zones plus enrichies en soufre tandis que le sodium apparaît nettement moins abondant. De plus, il est possible que les fines couches moins enrichies en sodium et en soufre visibles dans la couche calcitique correspondent aux délimitations des accrétions journalières de carbonate de calcium.

En résumé, la répartition du soufre et du sodium est plus importante dans la strie que dans la couche interne de la coquille.

#### **III-3-4 Mode d'incorporation de certains éléments dans la matrice organique**

Notre étude permet d'apporter des informations supplémentaires sur le mode d'incorporation de certains éléments dans les coquilles de *P. maximus*. Des travaux antérieurs ont démontré que la matière organique influence la formation et le taux de croissance des carbonates biogéniques (Lutz and Rhoads, 1977 ; Gordon and Carricker, 1978). De plus, d'autres auteurs ont observé que la présence de cette matière organique augmente lors des ralentissements de croissance (Richardson et al, 2001a ; Foster et al, 2008). Or, un grand nombre de travaux estiment que le soufre peut fournir des indications sur la présence de la matière organique dans les coquilles de mollusques (Lorens and Bender 1980 ; Rosenberg, 1980 ; Van der Putten et al, 2000). Cet élément est identifié principalement dans les poly-saccharides sulfatés et les acides aminés soufrés formant les structures inter et intra-cristallines de la matrice organique des coquilles de mollusques (Hare, 1963 ; Cuif et al., 2003 ; Dauphin et al., 2003a, 2003b, 2005). Son abondance est plus élevée dans les bivalves à structure calcitique qu'aragonitique (Dauphin et al, 1999). Au cours de cette étude chez *P. maximus*, deux techniques d'analyse ont clairement démontré une augmentation d'un facteur deux de la concentration coquillière en soufre chez *P. maximus*

pendant la période d'arrêt de croissance hivernal. Par ailleurs, cet accroissement en soufre se retrouve sur les 25 coquilles analysées par ICP-MS (quel que soit le site, l'âge ou la période). Ces résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle la teneur en soufre et la teneur en matière organique au sein des coquilles de bivalves covarient. De plus, nos travaux permettent de mieux comprendre l'incorporation du magnésium. En effet, nous avons constaté au paragraphe III-2 que les concentrations en magnésium chez *P. maximus* augmentaient régulièrement lors des arrêts de croissance hivernaux. Or, une corrélation des variations des rapports Mg/Ca et S/Ca a déjà été mise en lumière dans des coquilles de moules *Mytilus edulis* (Lorens and Bender 1980 ; Rosenberg et al., 2001). Ces auteurs suggèrent une incorporation de ces deux éléments dans la matière organique des valves. De récentes études sur les bivalves *Corbula amurensis* et *Arctica islandica* semblent aboutir aux mêmes conclusions (Foster et al., 2008, Takesue et al., 2008).

Aucune des études antérieures n'indiquent comment la matière organique évolue en termes de concentration et de composition à l'intérieur et le long de la coquille. La cartographie réalisée montre que la présence du soufre diminue nettement dans la couche interne de la coquille. Ces résultats peuvent être associés à ceux du paragraphe II-2-1-d où il est souligné une teneur en calcium légèrement plus forte dans la couche calcitique. En outre, ces observations peuvent fournir une explication supplémentaire à la différence de quantification du magnésium entre le couplage LA-ICP-MS et l'analyse indirecte. En effet, la surface analysée diffère nettement entre les deux méthodes (voir Paragraphe III-1-3). L'échantillonnage par ablation laser est moins profond et moins destructeur. Comme la présence du soufre semble plus élevée dans la strie que dans la couche interne, il est envisageable qu'il en soit de même pour la matière organique et donc le magnésium. Ceci pourrait expliquer la surestimation de la teneur en magnésium obtenue par couplage LA-ICP-MS.

En résumé, le concept évoqué par Dauphin et al. (1999) selon lequel la composante minérale et la composante organique des biominéraux ne sont pas seulement deux phases dont la seconde sert de simple substrat au développement initial de la première, est vérifiée aussi pour notre étude. Certains éléments s'incorporent dans la matrice organique.

### **III-4 Reproductibilité et homogénéité des teneurs élémentaires sur la valve gauche de *Pecten maximus***

A ce stade de l'étude, un autre aspect apparaît essentiel: confirmer la reproductibilité du profil élémentaire quel que soit le transect étudié (l'axe de croissance). En effet, les études analytiques sur les bivalves se concentrent habituellement le long de l'axe de croissance maximal de la coquille (axe n°6 sur la Figure 40) tout comme les études de croissance journalière qui visent à attribuer une date calendaire à chacun des prélèvements. L'axe maximal de croissance a été choisi car la lecture des stries y est aisée car les incréments de croissance sont plus larges.

Une étude menée sur deux spécimens de *Saxidomus gigantea* (Kingston et al., 2008) s'est intéressée à analyser les variations isotopiques intra- et inter-spécimens selon plusieurs axes de croissance. Les résultats montrent des variations saisonnières analogues lorsque c'est le  $\delta^{18}\text{O}$  qui est analysé mais de fortes disparités lorsque c'est le  $\delta^{13}\text{C}$  qui est considéré ; correspondant à des différences d'activités métaboliques entre individus. Une question se pose : la distribution élémentaire est-elle homogène dans la matrice d'une coquille Saint-Jacques ?

Afin de répondre à cette question, trois sections d'une même coquille de classe I, provenant du banc de Roscanvel de la rade de Brest, prélevée le 5/11/2007 ont été analysées par ICP-MS. La Figure 40 montre les trois sections de croissance choisies pour représenter l'ensemble de la coquille.

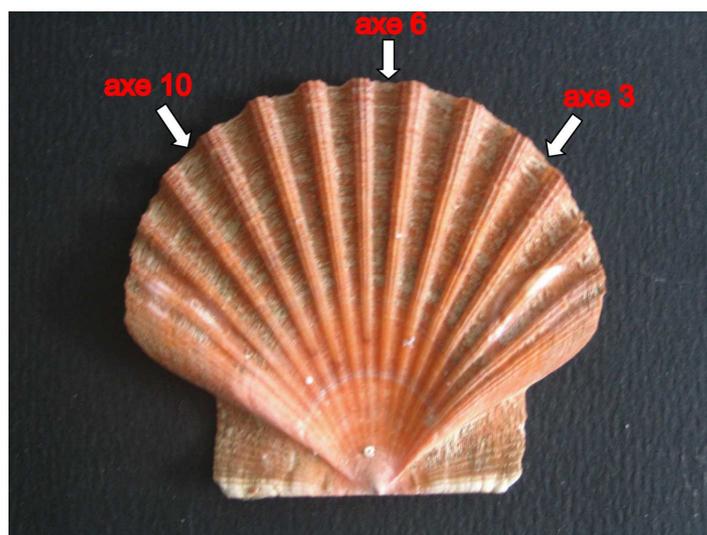


Figure 40 : Visualisation des trois axes de croissances analysées par ICP-MS qui représentent l'ensemble de la coquille nommée C6.

La Figure 41 illustre les profils temporels des teneurs de plusieurs éléments (mineurs ou en traces) dans la valve gauche du bivalve. Les éléments en traces sont le Pb, l'Y et le Ce (le nombre de coups détectés était tout à fait suffisant pour suivre leur évolution le long de l'axe de croissance).

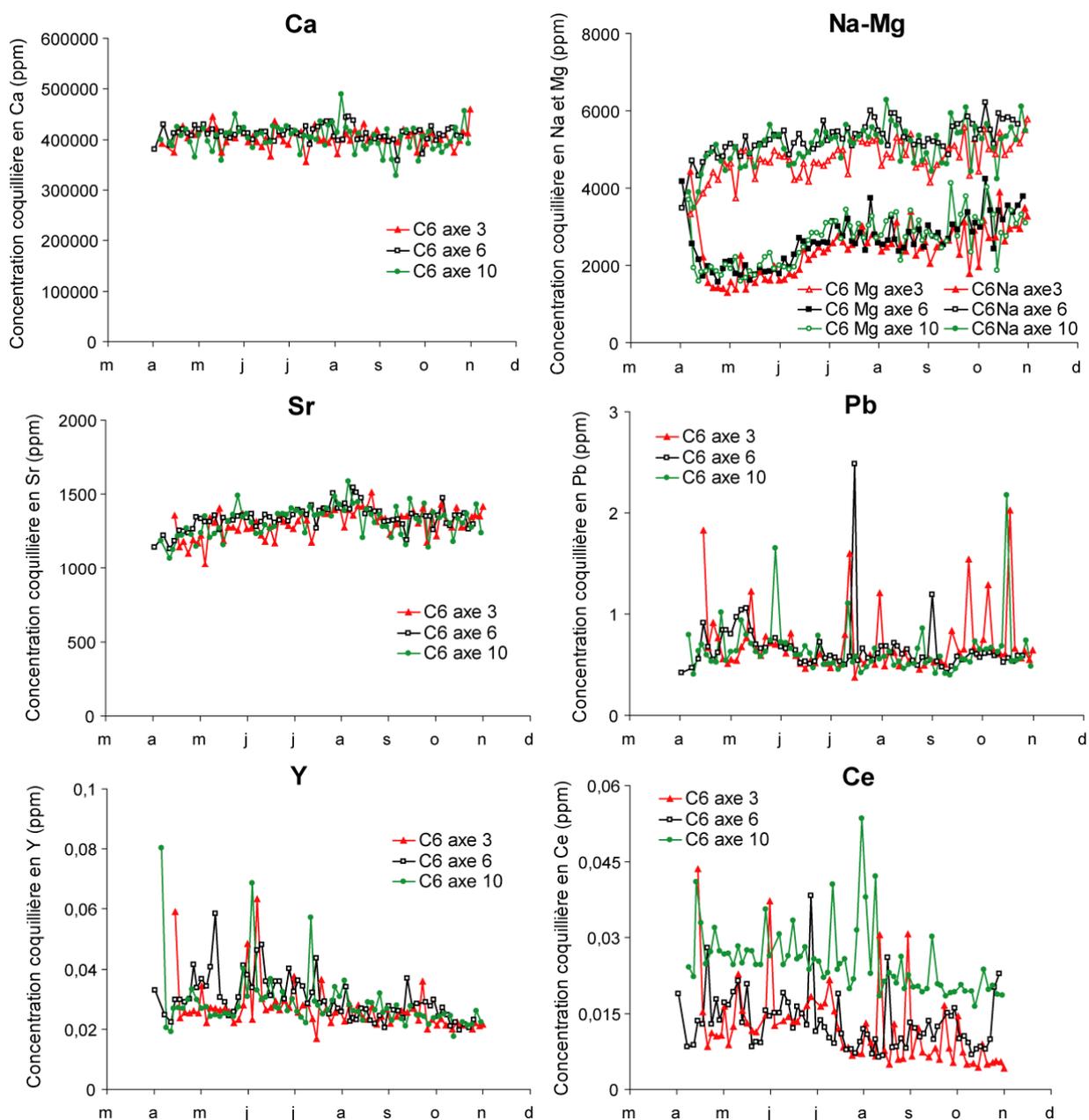


Figure 41 : Evolution des teneurs en Ca, en Na, en Mg, en Sr, en Pb, en Y et en Ce au cours de l'année 2007 au sein de trois sections d'une même valve gauche de *P. maximus* (prélevée à Roscanvel en Rade de Brest).

Le « signal » en Pb, en Ce et en Y se distingue par un nombre plus important de données bruitées vis-à-vis de celui obtenu pour les éléments majeurs (Ca, Na, Mg, Sr) suite à la faible teneur en Pb, en Ce et en Y dans les coquilles Saint-Jacques. Les profils élémentaires restent comparables et reproductibles quel que soit le transect choisi, l'élément considéré et sa teneur dans le squelette carbonaté. Le calcium reste invariant aux alentours de 400 mg/g, ce qui représente en moyenne 40% de la masse de la coquille. Cette observation soutient les interprétations précédentes (Paragraphe II-2-1) sur la valeur et l'homogénéité du calcium dans toute la valve. Pour les éléments majeurs, les variations sont quasi-identiques sur l'ensemble des portions de coquille analysée. Les évolutions saisonnières sont relativement similaires quelle que soit la section étudiée.

Les variations ontogéniques de la teneur coquillière en certains éléments en traces sont marquées par de brusques augmentations, apparaissant à diverses périodes de l'année. Nous nous sommes demandés si ces accroissements transitoires se produisaient quelle que soit la section considérée.

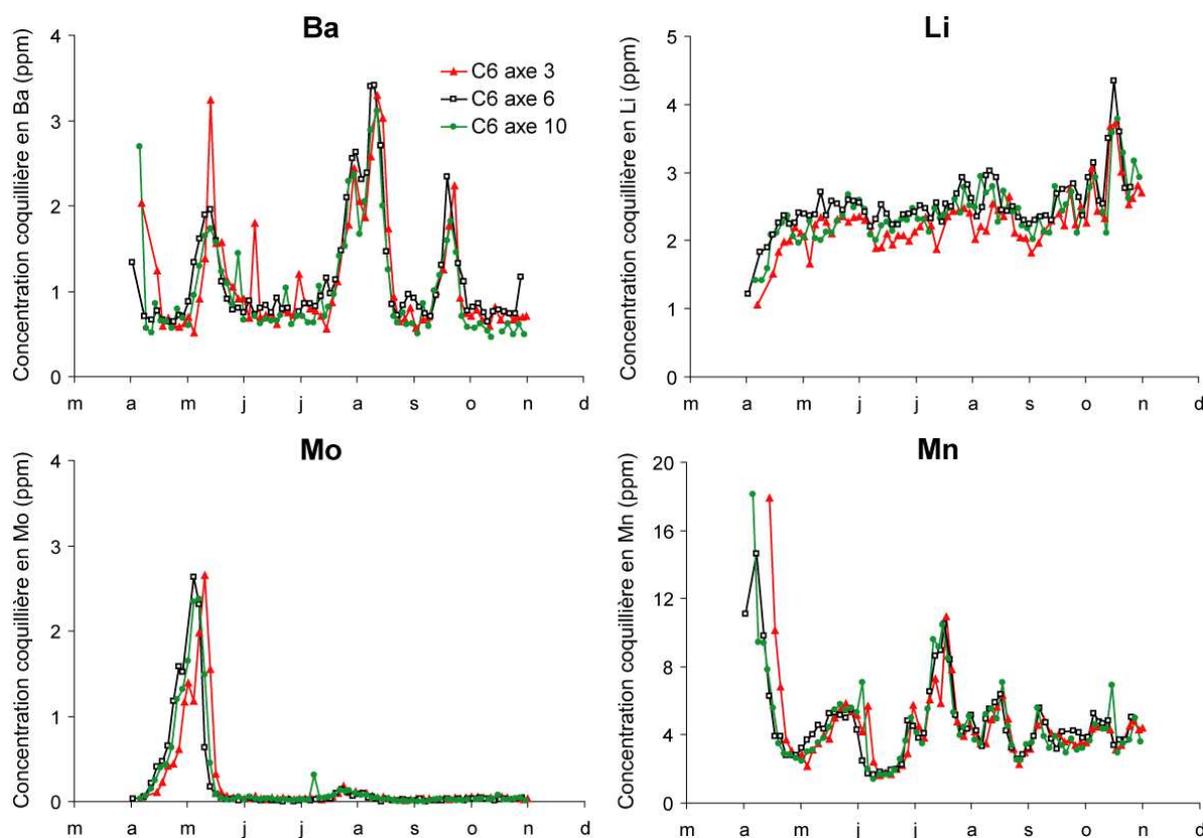


Figure 42 : Evolution des teneurs en Mo, en Li, en Ba, et en Mn) au sein de trois sections de calcite d'une même valve de *P. maximus* (pêchée à Roscanvel en Rade de Brest le 05/11/2007).

Il était surtout important de vérifier si ces événements (pics) apparaissaient à des périodes identiques. L'interprétation de l'origine de ces variations pour Mo et Li suscitera de plus amples développements dans le chapitre suivant. Pour l'instant nous nous concentrons essentiellement sur l'aspect reproductible des profils élémentaires. La Figure 42 montre que les 4 éléments (Mn, Ba, Mo, Li) sont reproductibles temporellement et quantitativement sur chaque section analysée et cela malgré les variations singulières identifiées dans cette coquille.





## **IV Variations des concentrations en éléments en traces dans les valves de *Pecten maximus***

De nombreux travaux ont mis en lumière la variabilité étonnante de la teneur de plusieurs éléments le long de l'axe ontogénique du squelette externe des mollusques (paragraphe I-5-1). L'incorporation de ces éléments dans les coquilles semble modulée par les variations spatiales ou temporelles du milieu ambiant. Cependant, les interprétations de variations observées au sein des carbonates se contredisent souvent et les relations établies, souvent spécifiques, sont très rarement généralisables. Parmi ces éléments, le baryum est sans doute l'un des plus étudiés. À titre d'exemple, des accroissements de la teneur coquillière en baryum s'observent pour de multiples espèces de bivalves telles *Merceneria merceneria*, *Spisula solidissima* (Stecher et al., 1996), *Pecten maximus* (Lorrain, 2002 ; Barats et al., 2009), *Isognomon ephippium* (Lazareth et al., 2003), *Arctica islandica* (Epplé, 2004), *Comptopallium radula* et *Argopecten purpuratus* (Thébault, 2005 ; Thébault et al., 2009), *Mytilus edulis* (Van der Putten et al., 2000 ; Gillikin et al., 2006), *Ensis siliqua* (Pearce and Mann, 2006), *Chino subrugosa* et *Mesodesma donacium* (Carré et al., 2006). Si l'ensemble de ces travaux suppose que l'incorporation du baryum dans le squelette carbonaté est contrôlée par un facteur environnemental, aucun lien direct, non ambigu, avec un paramètre environnemental n'a pu être clairement mis en évidence. De manière générale, même s'il semble que le baryum puisse être utilisé comme outil paléoenvironnemental, des recherches supplémentaires s'avèrent nécessaires afin de mieux comprendre l'origine de ces enrichissements épisodiques. En outre, les technologies évoluant sans cesse et rendant possible une mesure rapide d'un grand nombre d'éléments simultanément, la probabilité de découvrir des traceurs paléocéanographiques a augmenté considérablement.

Deux méthodologies analytiques spécifiques pour quantifier simultanément un nombre important d'éléments présents dans les coquilles de bivalves ont été mises en place sur le HR-ICP-MS Element 2 de l'IUEM (Chapitre II). Dans le chapitre précédent, nous avons démontré que ces deux méthodes d'analyse fournissent des résultats similaires sur une même valve gauche de *P. maximus*. De manière générale, les profils élémentaires demeurent reproductibles quelle que soit la méthode utilisée, quelles que soient les concentrations rencontrées et quel que soit le transect choisi sur la valve. Nous avons également démontré que les concentrations mesurées sur l'ICP-MS Element 2 sont en accord avec les valeurs mesurées précédemment sur la même

population et la même année de croissance lorsque l'on utilise la microsonde électronique (Microsonde Ouest IFREMER Brest) ou lorsque l'on se réfère aux résultats pionniers acquis par le laboratoire de Pau (LA-ICP-MS quadripolaire).

L'objectif de ce nouveau chapitre est de présenter et de déchiffrer les variations de quelques éléments en traces mesurés pendant cette étude. Ce chapitre sera articulé autour de deux parties : Dans la première partie, nous démontrerons que chaque valve échantillonnée présente des enrichissements épisodiques printaniers en molybdène. Un comparatif détaillé entre les variations coquillères en molybdène et le suivi de diverses variables environnementales de la colonne d'eau obtenues en rade de Brest permettra de proposer une explication aux phénomènes observés. Dans la deuxième partie, nous analyserons les résultats obtenus pour le lithium. L'incorporation du lithium dans les valves de *P. maximus* semble influencée par un, voire plusieurs paramètres dont nous essaierons de cerner l'origine.

#### **IV-1 Le molybdène : un traceur de l'assimilation de nitrates par la biomasse phytoplanctonique dans les écosystèmes côtiers ?**

Notre groupe de travail (LEMAR, LCABIE) est le premier à observer des variations temporelles du molybdène dans des matériaux biocarbonatés dont la dynamique rappelle celle de la production primaire pélagique. En effet, nous avons observé des enrichissements épisodiques de la teneur coquillière en molybdène chez deux espèces de Pectinidae vivant dans deux environnements contrastés : (1) *Pecten maximus* en environnements côtiers tempérés européens (Barats et al., soumis) et (2) *Comptopalium radula* pour un milieu côtier tropical au sud-ouest de la Nouvelle Calédonie (Thébault et al., 2009).

Ces deux études récentes montrent que les variations ontogéniques de la concentration coquillière en molybdène présentent des similitudes avec celles des concentrations coquillières en baryum et supposent un lien avec les efflorescences phytoplanctoniques. Deux hypothèses ont été proposées afin d'expliquer ces variations. Chez *P. maximus*, Barats et al. (soumis) ont observé que les brusques augmentations de la teneur coquillière en molybdène sont synchrones avec le développement printanier de la diatomée *Pseudo-nitzschia*. L'accroissement de la teneur coquillière en molybdène pourrait indiquer la forte hausse de cet élément dans les phases dissoutes et particulaires de l'eau du fond, liée à la sédimentation d'agrégats de *Pseudo-nitzschia* enrichis en molybdène. Chez *Comptopalium radula*, l'ingestion de cellules phytoplanctoniques

ayant concentré du molybdène lorsque les nitrates sont la source d'azote pour le phytoplancton pourrait expliquer ces enrichissements (Thébault et al, 2009). Selon les auteurs de cette dernière étude, le molybdène pourrait alors être un traceur de l'uptake de nitrate par le phytoplancton et être ainsi un traceur de la production nouvelle. Ces différentes interprétations, formulées à partir de résultats similaires mais obtenues sur deux animaux se développant dans des environnements contrastés, nous ont conduit à proposer une nouvelle étude afin de mieux cerner l'origine de ces enrichissements.

#### **IV-1-1 Reproductibilité inter-individuelles et variations annuelles de la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus* : cas de la rade de Brest.**

Un grand nombre de valves de coquilles Saint-Jacques (*P. maximus*) a été analysé avec le HR-ICP-MS Element 2. L'objectif ici est, outre la validation des résultats antérieurs sur le molybdène obtenus avec l'ICP-MS quadripolaire, de mieux comprendre son incorporation dans la matrice carbonatée. Au moins trois individus d'une même population sont analysés pour élaborer une courbe moyenne annuelle. Ces individus ont vécu évidemment dans les mêmes conditions environnementales (écosystème, âge, année). Nos travaux se sont principalement focalisés sur des coquilles Saint-Jacques provenant de la Baie de Roscanvel (site référence de la rade de Brest, Paragraphe II-6-1). À chaque fois, l'année de croissance comprise entre le premier et le deuxième hiver de la vie de l'animal a été analysée. Cette fenêtre temporelle correspond à la période juvénile des individus. Ce choix est justifié par le fait que les individus de cet âge ont une durée de croissance en nombre de jour par an plus élevée et un taux de croissance plus important. En Rade de Brest, la teneur valvaire en molybdène a été déterminée sur cinq années en analysant des individus juvéniles de classe 1 (2001, 2004, 2007) et des valves d'animaux âgés de trois ans (Classe 2 ; 1999, 2000).

La Figure 43 montre que la variabilité inter-individuelle des concentrations coquillières en molybdène est faible lorsque la même classe d'âge est considérée la même année au sein d'une même population. Les coefficients de corrélation de Pearson entre trois individus d'une même population sont majoritairement très élevés ( $r > 0,75$ ) et toujours statistiquement significatifs ( $p < 0,0001$ ) (Tableau 30). Ces résultats statistiques confirment la bonne reproductibilité des variations ontogéniques des concentrations coquillières en molybdène mesurées au sein des valves de *P. maximus*.

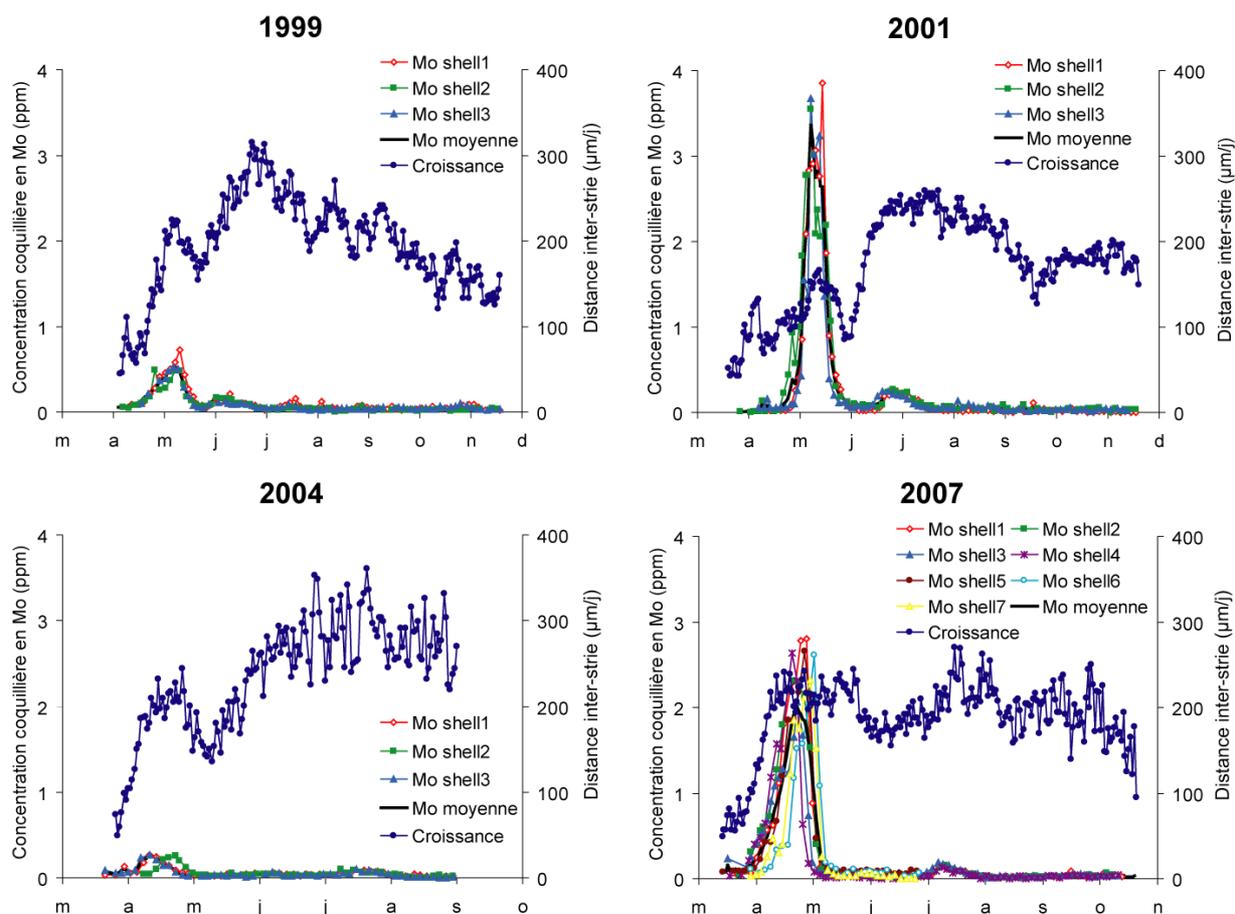


Figure 43: Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène obtenues par HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) chez des individus de *P. maximus* prélevés en Baie de Roscanvel (Rade de Brest) et mises en relation avec la croissance journalière moyenne de ces individus.

Tableau 30 : Coefficients de corrélation de Pearson ( $r$ ) calculés pour le molybdène entre trois individus de différentes populations ( $p < 0,0001$ ).

\*un individu de cette population a probablement subi l'attaque d'un prédateur début mai.

\*\* analyse de 3 sections de croissance différentes d'une même valve.

Critère de population		Coefficient de corrélation		
Site d'étude	Année ; date de prélèvement ; âge	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
Roscanvel, rade de Brest	1999 ; 23 mars 2001 ; classe 3	0,95	0,95	0,87
	2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,93	0,94	0,91
	2004 ; 3 sept 2004 ; classe 1	0,51*	0,39*	0,91
	2007 ; 29 juin ; classe 1	0,75	0,93	0,91
	2007 ; 5 nov ; classe 1	0,98	0,93	0,96
	2007** ; 5 nov ; classe 1	0,55	0,97	0,67
Belle-Ile en mer	2001 ; 13 nov 2001 ; classe 1	0,90	0,97	0,90

À Roscanvel, l'évolution temporelle de la teneur coquillière en molybdène chez *P. maximus* tend à suivre la même dynamique chaque année. Elle varie à un niveau voisin des limites de détection de l'appareil de mesure, mais est ponctuée par un ou deux enrichissements épisodiques situés entre le printemps et l'été. Ces résultats sont en accord avec les observations effectuées par Barats et al., (soumis) sur la même espèce dans le même écosystème. En effet, les travaux de Barats qui ont établi de 1998 à 2004 des profils annuels de concentration coquillière en molybdène en échantillonnant des individus juvéniles de *P. maximus* observent également ces enrichissements en Mo (seule l'année 2003 est atypique car cinq pics en molybdène aux amplitudes variables sont dénombrés). Lors de la présente étude, le premier enrichissement en molybdène se produit régulièrement au printemps au cours des mois d'avril-mai (Tableau 31). La teneur en molybdène dans les valves augmente brutalement pour atteindre des valeurs très variables d'une année à l'autre. Parmi tous les individus échantillonnés, la valeur maximale mesurée est 3,63 ppm pour 2001 et la plus faible 0,20 ppm pour 2004. Le deuxième enrichissement en molybdène apparaît en période printanière ou durant l'été (Tableau 31).

Tableau 31 : Comparaison des enrichissements en molybdène (teneur moyenne, écart type, date) obtenus avec la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) sur différentes populations de valves gauches de *P. maximus* prélevées en Baie de Roscanvel (Rade de Brest), à Belle-Ile en mer (cf. IV-1-2) et en Baie de Saint-Brieuc (cf. IV-1-2).

\* 4 individus ont été analysés pour cette population.

\*\* analyse de 3 sections de croissance différentes d'une même valve.

Critère de population		Enrichissement en Mo		
Site d'étude	Année, date de prélèvement, âge	Pic	Moyenne $\pm$ SD (ppm)	Date ( $\pm$ 3jours)
Rade de Brest	1999 ; 23 mars ; classe 3	pic 1	0,41 $\pm$ 0,12	07-mai
		pic 2	0,13 $\pm$ 0,027	12-juin
	2001 ; 21 nov ; classe 1	pic 1	1,63 $\pm$ 1,21	12-mai
		pic 2	0,21 $\pm$ 0,032	26-juin
	2004 ; 3 sept ; classe 1	pic 1	0,20 $\pm$ 0,053	13-avril
		pic 2	0,08 $\pm$ 0,013	21-juil
	2007 ; 29 juin ; classe 1	pic 1	1,28 $\pm$ 0,72	21-avr
	2007* ; 5 nov ; classe 1	pic 1	1,23 $\pm$ 0,66	16-avr
		pic 2	0,13 $\pm$ 0,023	12-juil
	2007** ; 5 nov ; classe 1	pic 1	1,19 $\pm$ 0,78	18-avr
		pic 2	0,107 $\pm$ 0,014	13-juil
	Belle-Ile en mer	2001 ; 13 nov ; classe 1	pic 1	0,2 $\pm$ 0,059
pic 2			0,44 $\pm$ 0,25	26-juin
Baie de Saint-Brieuc	2004 ; 7 déc ; classe 3	pic 1	0,19 $\pm$ 0,063	non déterminé
		pic 2	0,1 $\pm$ 0,035	non déterminé

Cette seconde augmentation transitoire apparaît après un (1999, 2001) et jusqu'à trois mois (2004, 2007) le premier pic printanier. En rade de Brest, cette augmentation est faible, difficilement détectable voire non « prise en compte » lors des études pionnières réalisées par le LCABIE (voir Barats et al., soumis ; Tableau 31). Il convient ici de noter une nouvelle fois que les performances du HR-ICP-MS abaissent la limite de détection d'évènements de faibles amplitudes. Nos résultats indiquent que ces accroissements en molybdène atteignent, selon les années, des valeurs de concentration maximale variant entre 80 et 150 ppb. Ainsi les concentrations rencontrées dépassent souvent les limites de détection de la méthode d'analyse indirecte mise en place sur le HR-ICP-MS (0,273 ppb). L'aspect reproductible et l'amplitude de ces pics suggèrent l'existence d'un forçage environnemental. Notons enfin que ces deux enrichissements en molybdène encadrent le ralentissement de croissance printanier des coquilles Saint-Jacques (Figure 43). Des travaux précédents observent annuellement, en rade de Brest, l'existence de ralentissement, plus ou moins intense, de la croissance journalière chez *P. maximus* (Chauvaud, 1998 ; Lorrain, 2002 ; Patry, 2009). Ceux qui surviennent au printemps sont systématiquement liés aux efflorescences phytoplanctoniques. D'après Chauvaud et al. (1998), ces cellules phytoplanctoniques sédimenteraient massivement, à la suite d'une carence en acide orthosilicique, sous la forme d'agrégats entourés d'une matrice gélatineuse. Ceci entraînerait un colmatage des branchies de la coquille Saint-Jacques et des ralentissements de l'activité alimentaire et/ou de la respiration se répercutant ensuite sur la croissance.

L'analyse des trois valves prélevées le 3 septembre 2004 montre l'existence de deux enrichissements en molybdène (moyennes comparables). Par contre, le premier pic d'un individu est daté 10 jours après ceux des deux autres individus (Figure 44 (I)). En revanche, le deuxième pic demeure synchrone. L'étude du profil de croissance coquillière de cet individu indique un net ralentissement de croissance début mai (Figure 44 (II)). Nous observons également à cette période à la surface de cette valve la cicatrice d'une petite cassure mais sur un autre transect de croissance. Il est probable que cet animal ait subi l'attaque d'un prédateur (crabe, étoile de mer...). Ces attaques de prédateurs perturbent la croissance. En effet, l'animal doit impérativement réparer cette cassure dans son squelette externe avant de reprendre une croissance normale. Lorsque la croissance journalière est observée sur un transect différent de celui ayant subi l'entaille, plusieurs stries sont absentes et leur nombre correspond à la durée de la

cicatrisation. Ce phénomène entraîne, du fait de l'apparente anomalie de croissance, une datation erronée des « lignes » de prélèvements. Nous expliquons ici l'origine à la fois du décalage du premier enrichissement en molybdène et des coefficients de corrélation moins élevés ( $r = 0,39$  ;  $0,51$ , Tableau 31).

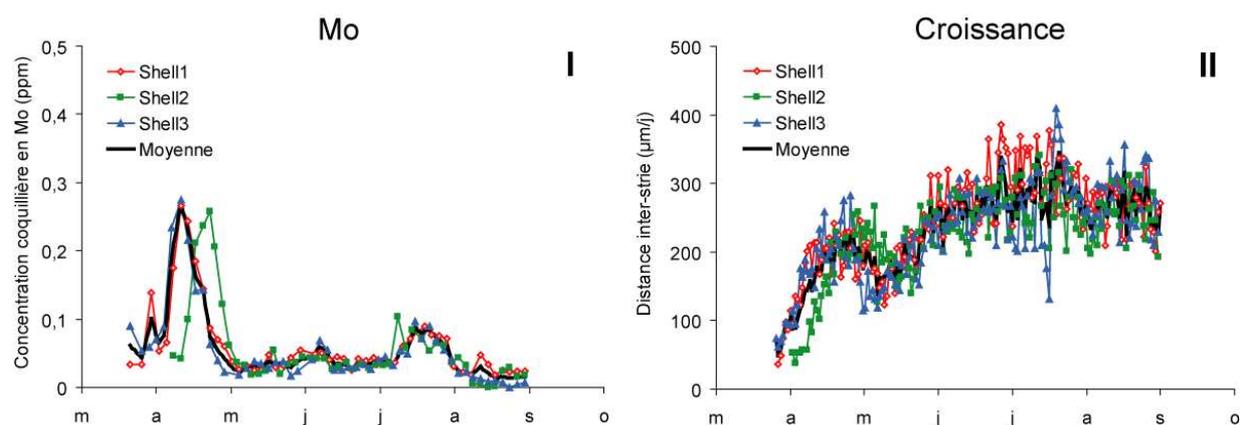


Figure 44: (I) Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène dans trois valves de *P. maximus* classe I prélevées en rade de Brest le 03/09/2004 et (II) évolution de la vitesse de croissance de ces individus.

Les trois coquilles Saint-Jacques âgées de trois ans (classe II ; prélevées le 5 mars 2001) sont analysées sur la totalité de leur axe de croissance à partir du premier hiver. Cet échantillonnage permet d'obtenir une mesure de la concentration coquillière en molybdène pendant la deuxième et la troisième année de croissance des valves : c'est-à-dire un suivi temporel de deux années (1999, 2000) (Figure 45). Les variations ontogéniques des concentrations coquillières en molybdène dans ces trois valves de *P. maximus* se ressemblent. Les trois coquilles montrent un nombre identique d'enrichissements en molybdène pour des teneurs moyennes semblables. Chaque courbe met en évidence la présence de deux pics durant l'année 1999, et un seul durant l'année 2000. Chaque individu a des augmentations en molybdène d'amplitude moins élevée en 1999 que pour l'année 2000. Ces résultats démontrent que les enrichissements en molybdène se reproduisent quel que soit l'âge de l'individu. De la même façon que les travaux antérieurs (Barats et al., soumis), cette étude confirme que l'incorporation épisodique du molybdène dans les valves de *P. maximus* n'est pas imputable à la physiologie du stade juvénile de ce bivalve. Les concentrations moyennes maximales de ces enrichissements en molybdène sont en accord avec

celles de Barats et al. (soumis) pour des coquilles juvéniles couvrant ces mêmes périodes. (teneur moyenne (ppm) du premier pic en Mo pour l'année 1999 : 0,41 pour notre étude, 0,186 pour l'étude de Pau ; pour l'année 2000 : 1,26 pour notre étude, 1,05 pour l'étude de Pau).

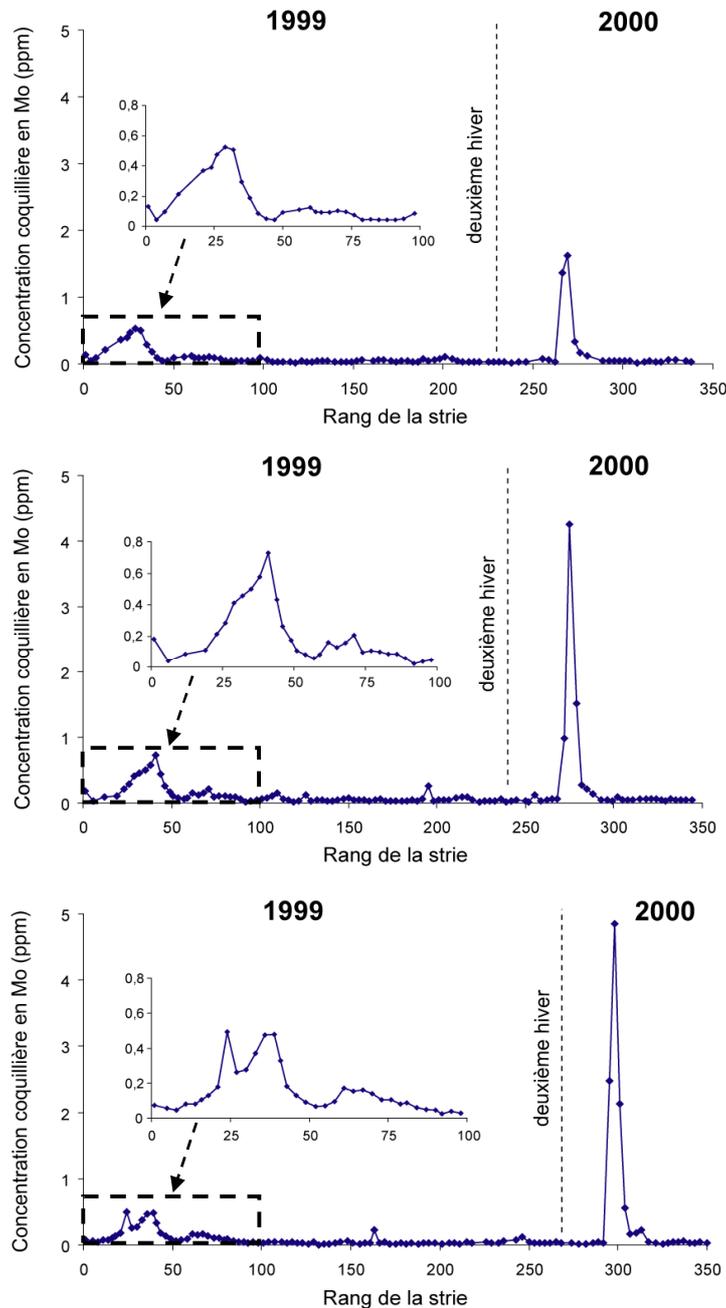


Figure 45 : Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène obtenues sur trois individus de *P. maximus* de classe II issus du banc de Roscanvel en rade de Brest (nés en 1998 et prélevés le 5/03/2001 i.e. durant le 3<sup>ème</sup> arrêt de croissance hivernal).

Finalement, entre deux événements (pics) la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus* provenant de la baie de Roscanvel (Rade de Brest) reste proche de zéro.

#### **IV-1-2 Variabilité spatiale des profils de concentration coquillière en Mo (Belle-Ile en mer et Baie de Saint-Brieuc)**

Les coquilles Saint-Jacques se répartissent tout au long des côtes bretonnes. Nous proposons à présent de vérifier si les variations de la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus* se généralisent à l'échelle régionale. Barats et al. (soumis) stipulent que des enrichissements en molybdène sont enregistrés annuellement au sein des valves de *P. maximus* prélevées en Bretagne Sud (Quiberon et Belle-Ile en mer). Les résultats acquis lors d'études des valves de *P. maximus* provenant d'un site analogue en Bretagne Sud (Belle-Ile en mer) et d'un nouveau site en Bretagne Nord (Baie de Saint-Brieuc) sont présentés ici. Par ailleurs, les individus de Belle-Ile en mer ont été prélevés un an après le naufrage de l'Erika qui a eu lieu en décembre 1999. Leur analyse peut, accessoirement, déterminer si cette catastrophe a eu un impact sur l'incorporation du molybdène dans les coquilles Saint-Jacques.

Les trois coquilles juvéniles pêchées sur le site de Belle-Ile en mer présentent des variations de la concentration en molybdène comparables entre elles ( $r > 0,9$  ;  $p < 0,0001$ ) (Figure 46 (I)). Par ailleurs, les variations ontogéniques de la concentration coquillière en molybdène des valves de Belle-Ile en mer présentent une forte similitude avec celles obtenues en rade de Brest. En effet, la présence du molybdène dans les trois coquilles de Belle-Ile en mer est très faible la majeure partie de l'année mais s'accroît brutalement sur deux courtes périodes mi mai et fin juin 2001. Ces deux enrichissements en molybdène s'observent aussi avant et après un accident de croissance (Figure 46 (II)). En revanche, c'est le deuxième pic qui apparaît plus élevé à Belle-Ile en mer (Tableau 31).

Il convient de noter que notre groupe de travail a remarqué qu'à la différence de la population de la rade de Brest, le net ralentissement de croissance observé régulièrement début juin au sein de la population de Belle-Ile en mer est systématiquement synchrone à des efflorescences toxiques de dinoflagellés (*Dinophysis/Alexandrium*) et non à des blooms de diatomées (Chauvaud et al., 2004). Cette prolifération d'algues phytoplanctoniques non siliceuses fait suite à une dessalure liée à une crue de la Loire et ou de la Vilaine (Chauvaud. Comm pers). Cet événement pourrait

également expliquer l'amplitude plus importante du deuxième pic mesuré dans les valves de *P. maximus* pêchées sur le site de Belle-Ile en mer.

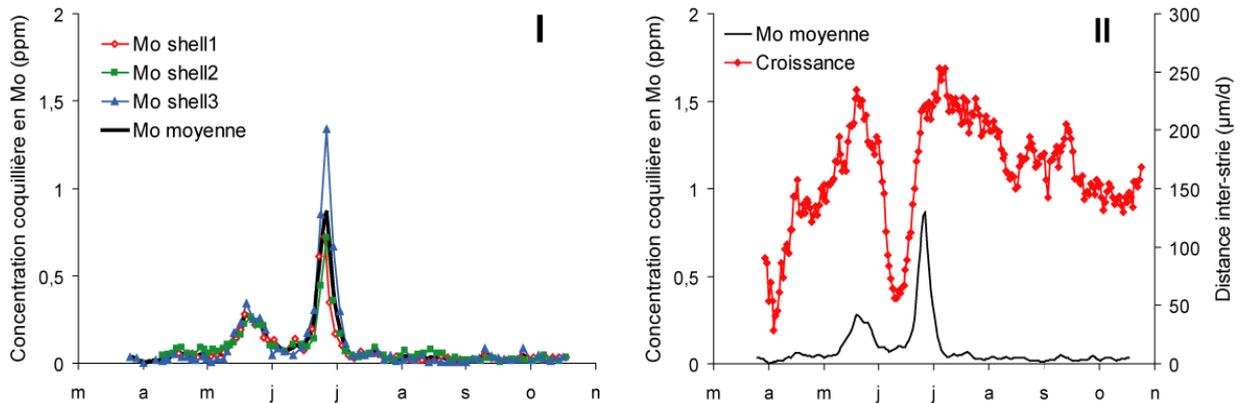


Figure 46 : (I) Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène dans trois valves de *P. maximus* classe I prélevées à Belle-Ile en mer le 13/11/2001 (II) relations entre la croissance journalière moyenne et la concentration coquillière moyenne en molybdène obtenues pour les trois individus.

Nos résultats montrent que les arrivées d'hydrocarbures dans l'environnement de *P. maximus* ne semblent pas empêcher l'incorporation du molybdène dans leurs valves. Des précédents travaux ont déjà souligné que la croissance post-naufage présentait les mêmes caractéristiques que la croissance pré-naufage (Chauvaud et al., 2004). Les résultats de cette étude confirment que la catastrophe de l'Erika n'a probablement pas perturbé la biologie (facteur de stress) des coquilles Saint-Jacques.

Avant cette étude, la Baie de Saint-Brieuc était un site breton pour lequel aucune analyse élémentaire n'avait été réalisée sur des valves de *P. maximus*. L'absence de lot ayant au minimum trois individus de classe I ou II implique d'analyser trois valves de *P. maximus* âgées de quatre ans (classe III, prélevées le 7 décembre 2004). De ce fait, nous obtenons une mesure de la concentration coquillière en molybdène d'avril à novembre 2002. Toutefois, les lignes de prélèvements n'ont pas pu être recalées temporellement car nous n'avons aucune information sur la date de reprise et de fin de croissance pour ce site. La Figure 47 montre que les variations ontogéniques de la teneur en molybdène dans ces trois valves sont comparables. Chaque courbe indique un, voire deux enrichissements en molybdène au cours de cette période. Le deuxième pic est d'amplitude modeste, et n'est pas observé pour un individu. Les augmentations de la

concentration en molybdène semblent apparaître à des périodes identiques. Les concentrations moyennes de ces accroissements en molybdène ont des valeurs comparables à celles mesurées au sein des coquilles provenant de la Baie de Roscanvel (année 2004) et des maximums comparables à ceux mesurés au sein des valves de coquilles Saint-Jacques prélevées à Belle-Ile en mer (Tableau 31).

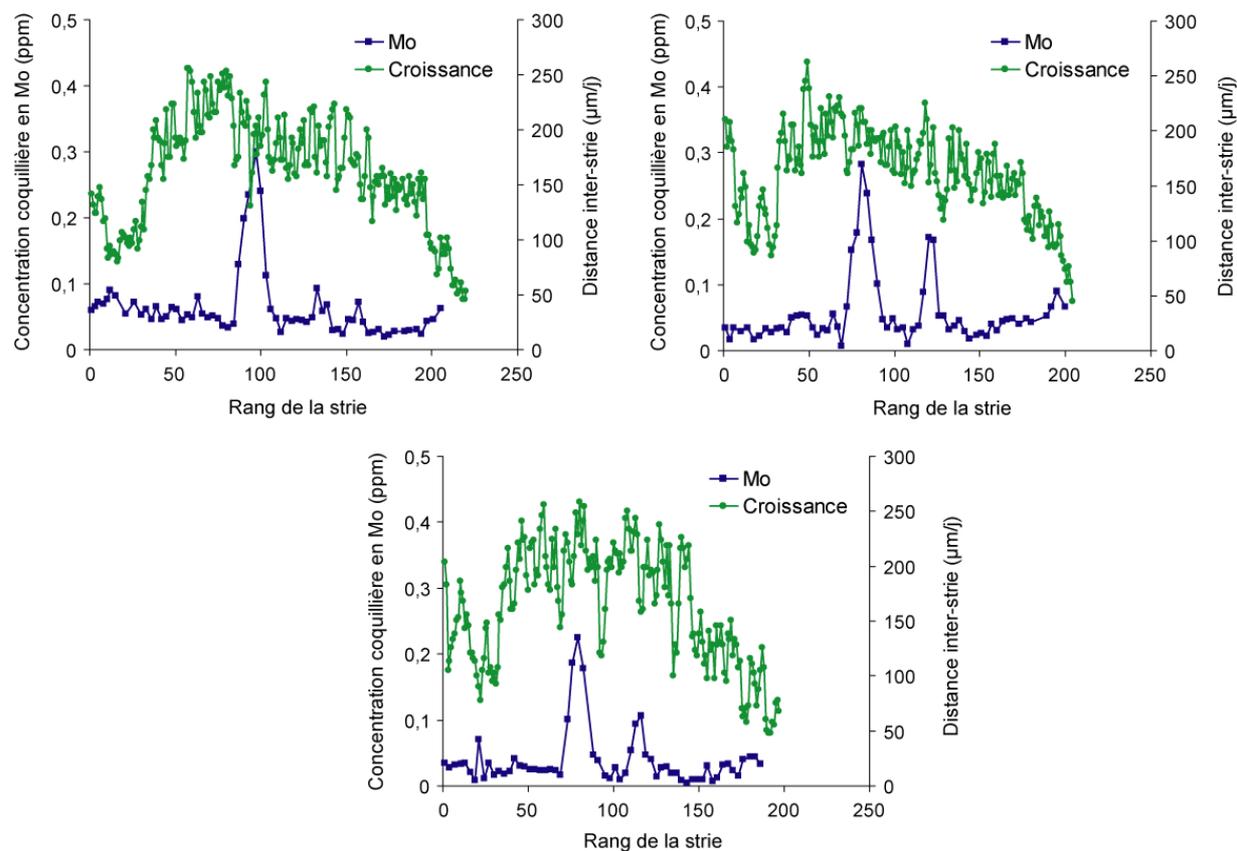


Figure 47: Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène dans 3 valves de *Pecten maximus* classe III prélevées en Baie de Saint-Brieuc le 7/12/2004 mises en relation avec la croissance journalière de ces trois individus

Pour conclure, l'augmentation brutale de la concentration coquillière en molybdène dans les valves de *P. maximus*, qui s'observe annuellement en Rade de Brest est aussi présente, sur les sites de Belle-Ile en mer et de Saint-Brieuc. En Bretagne, la coquille Saint-Jacques semble incorporer du molybdène sur une, voire plusieurs courtes périodes, entre le printemps et l'été. Toutefois, l'intensité de ces enrichissements en molybdène est différente selon les années. Tous

les résultats de cette étude sont en accord avec les travaux antérieurs réalisés sur cette même espèce (Barats et al., soumis). La très bonne reproductibilité intra-site, intra-annuelle et inter-individu de ces hausses en molybdène suggère fortement une origine environnementale des variations de cette concentration élémentaire si l'impact de l'environnement est le même dans les différents sites. En effet, cet élément étant absent dans les valves de *P. maximus* pendant la majeure partie de la période de croissance, ces enrichissements semblent à priori liés à des augmentations éphémères de la disponibilité de Mo dans l'environnement direct de la coquille Saint-Jacques (interface eau-sédiment).

Notons que le premier pic apparaît toujours quelques semaines après la reprise de croissance printanière de l'animal pendant les floraisons printanières des écosystèmes côtiers bretons. C'est donc dans l'objectif de mieux comprendre les processus bio-géochimiques qui génèrent ces enrichissements en molybdène chez *P. maximus* que nous proposons à présent de les mettre en relation avec les diverses variables environnementales suivies régulièrement en rade de Brest par l'IUEM (OSU/IUEM) (Paragraphe II-6-1).

#### **IV-1-3 Concentrations valvaires en molybdène : importance des paramètres environnementaux avec l'exemple de la population brestoïse.**

Les Figures 48, 49, 50 et 51 superposent les variations ontogéniques de la concentration coquillière moyenne en molybdène chez *P. maximus* de quatre années (1999, 2001, 2004, 2007) avec celles de différents paramètres environnementaux (température, salinité, débits des fleuves ...). La majeure partie des variables environnementales mesurées pour ces quatre années montre des évolutions classiquement observées en rade de Brest.

Nous avons déjà noté précédemment que les deux pics en molybdène apparaissent régulièrement avant et après le ralentissement de croissance printanier. Ces hausses de la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus* semblent être synchrones avec les maximums de croissances coquillières observés avant et après le ralentissement de croissance printanier (Figure 48, Figure 49, Figure 50 et Figure 51).

IV Variations des concentrations en molybdène dans les valves de *Pecten maximus*

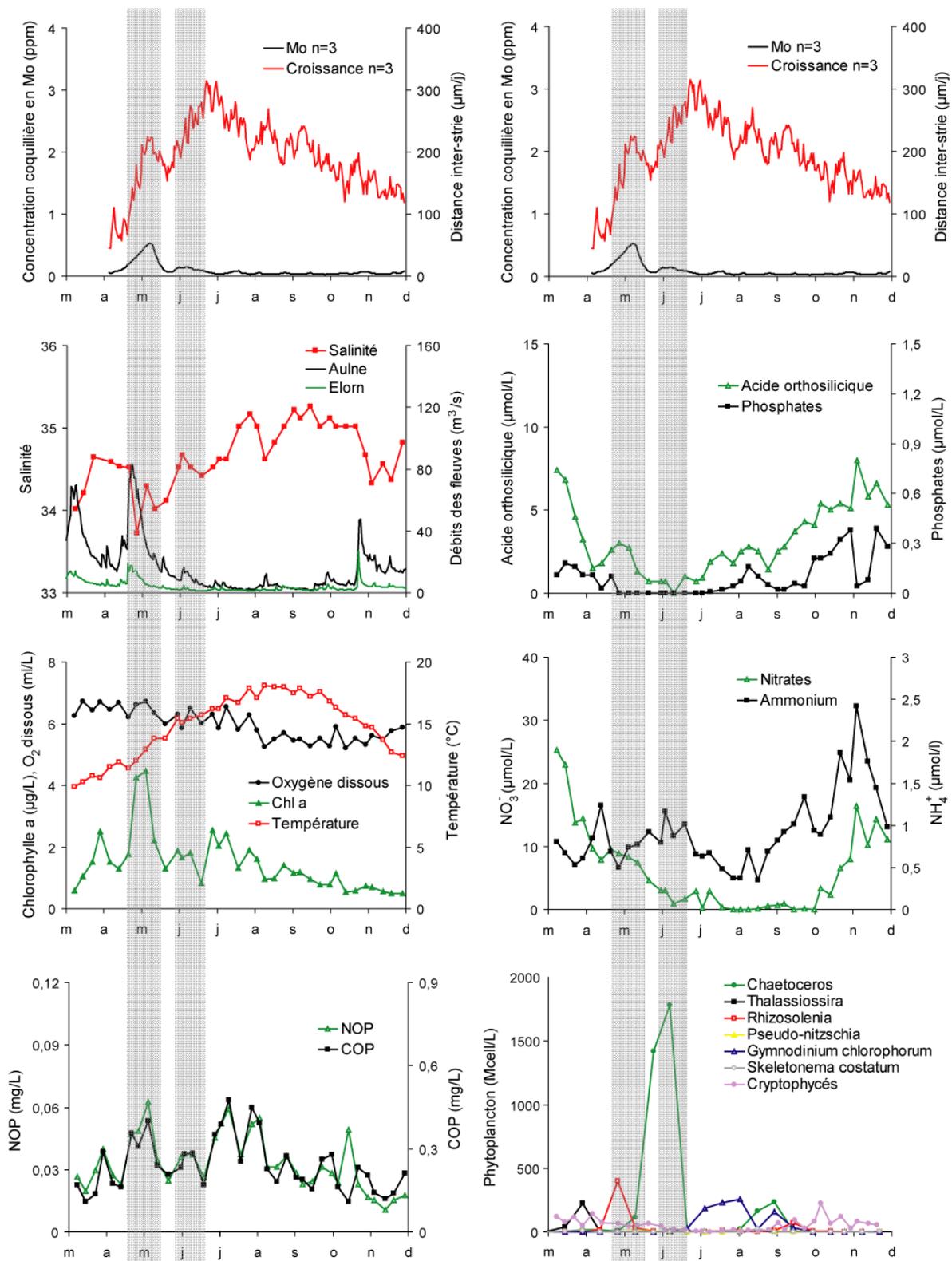


Figure 48: Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour trois individus de *P. maximus* et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 1999.

IV Variations des concentrations en molybdène dans les valves de *Pecten maximus*

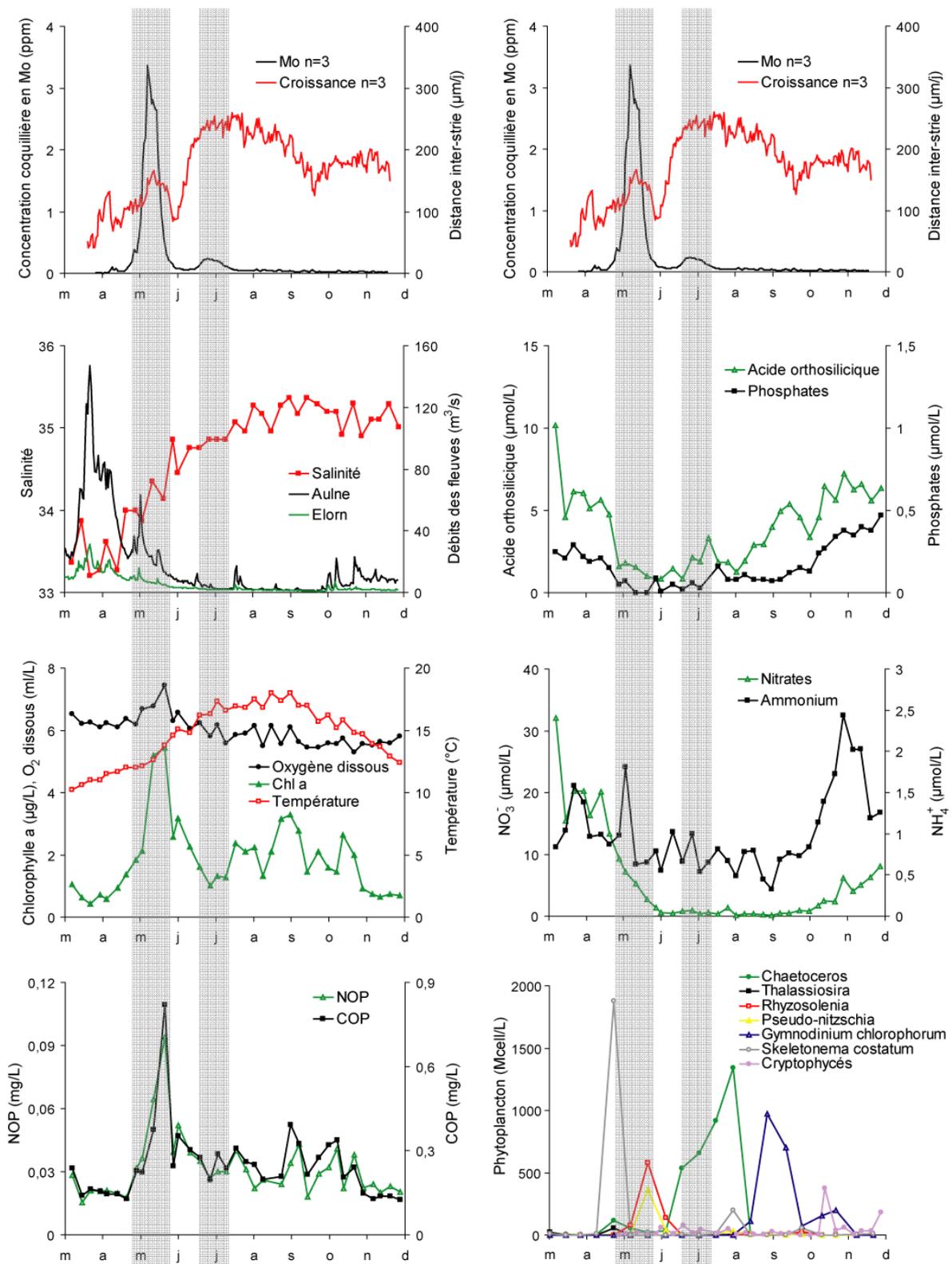


Figure 49 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour trois individus de *P. maximus* et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest pendant l'année 2001.

IV Variations des concentrations en molybdène dans les valves de *Pecten maximus*

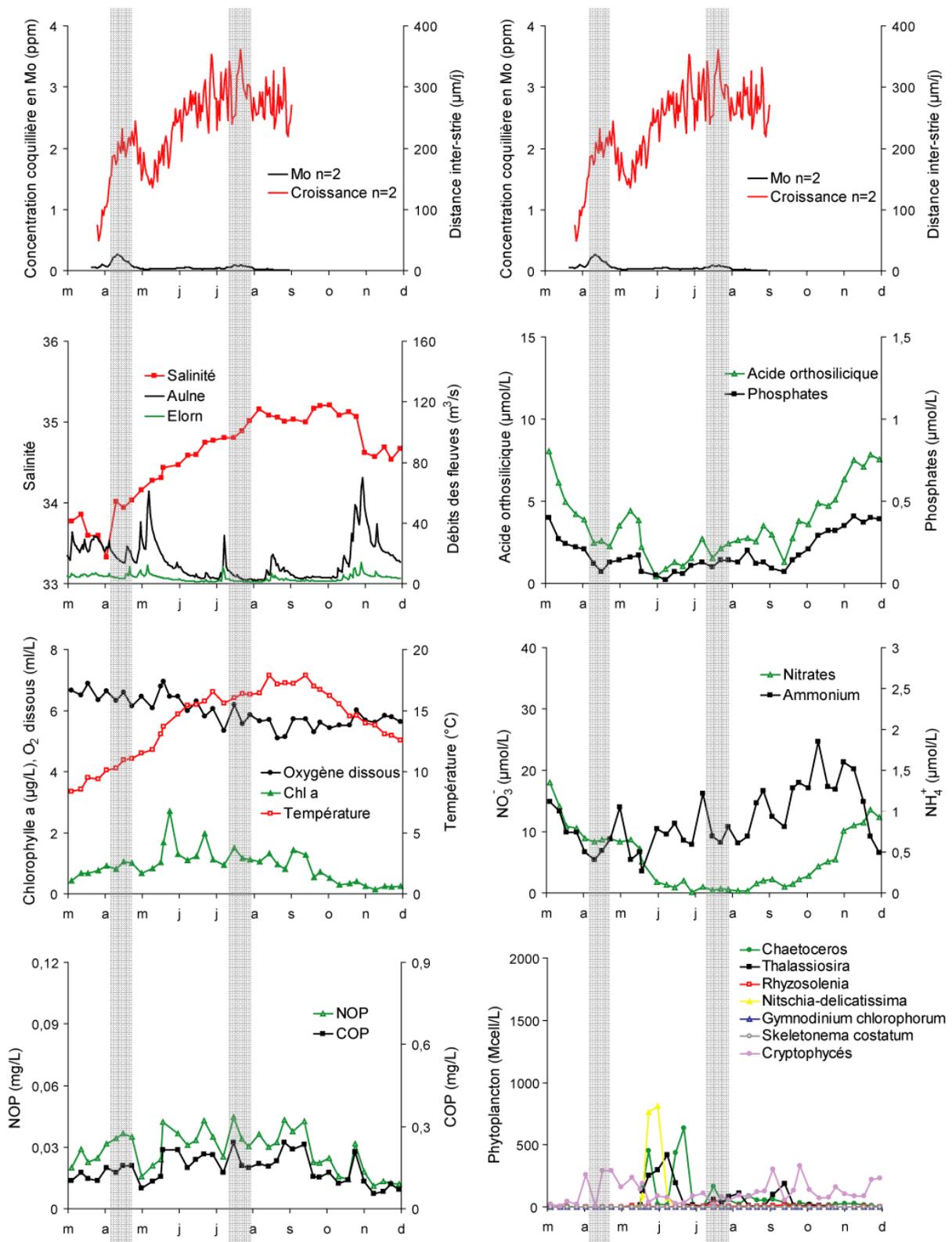


Figure 50 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour deux individus de *P. maximus* et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest pendant l'année 2004.

IV Variations des concentrations en molybdène dans les valves de *Pecten maximus*

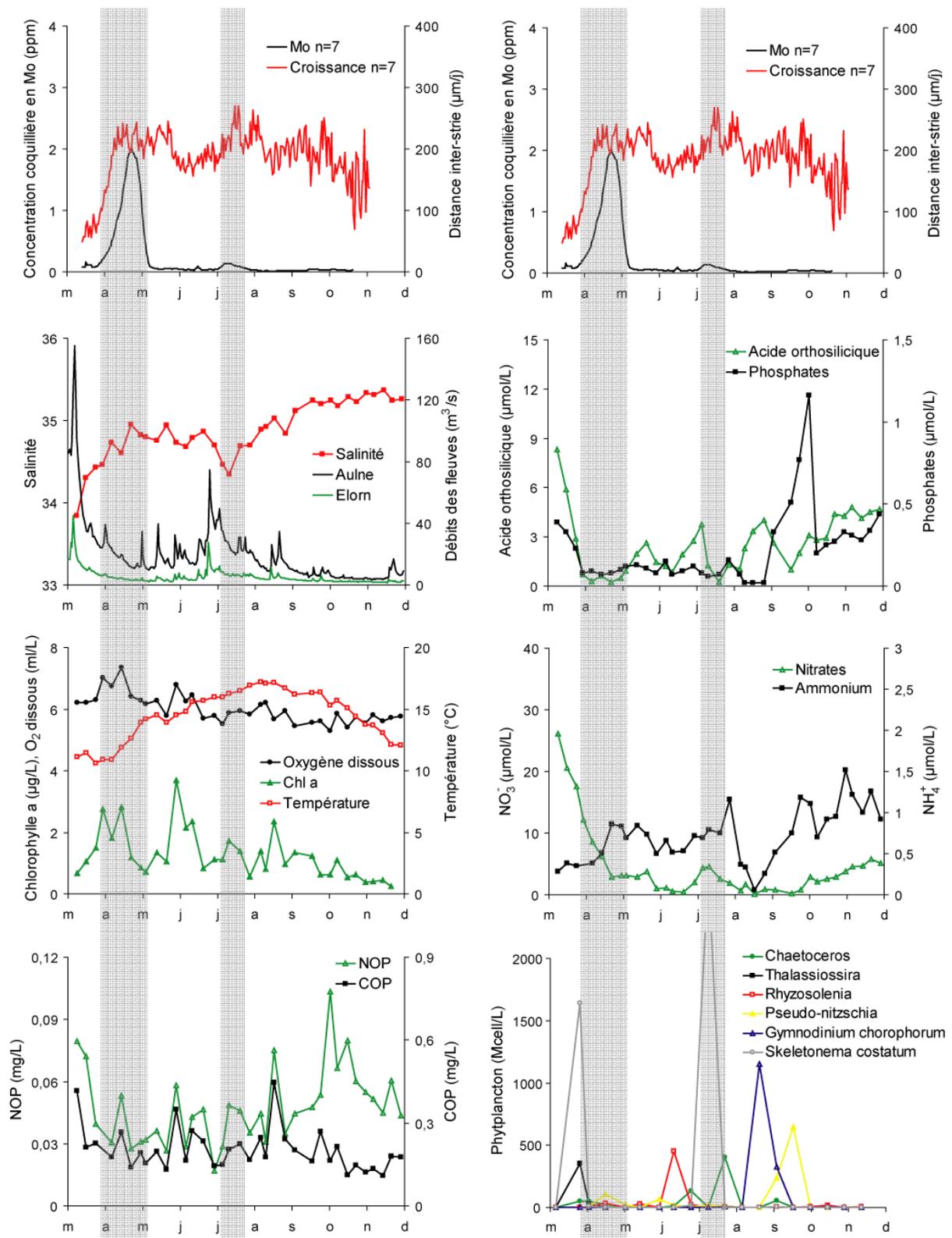


Figure 51 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour sept individus de *P. maximus* et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 2007.

Deux principaux cours d'eau (l'Aulne et l'Elorn) se déversent dans la rade de Brest. Ces deux rivières alternent des périodes de crues hivernales (octobre-mars) où les débits atteignent des valeurs élevées ( $> 100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  pour l'Aulne) et des périodes estivales dites d'étiages (débits faibles). Les enrichissements en molybdène chez *P. maximus* apparaissent après les périodes de crues hivernales. La première augmentation en molybdène se produit régulièrement quand les débits des rivières diminuent nettement et que les valeurs de la température et de la salinité augmentent dans la masse d'eau. Les fortes hausses en molybdène de 2001 et 2007 correspondent aux années où il a été observé de plus fortes précipitations durant l'hiver engendrant des débits plus élevés. En conséquence, ceci aurait entraîné des apports plus importants en sels nutritifs.

La disponibilité des éléments nutritifs tels l'azote (nitrates, nitrites, ammonium), le silicium (acide orthosilicique), et le phosphore (phosphates) détermine le développement des cellules phytoplanctoniques. En rade de Brest, les variations des teneurs en nutriments sont influencées par des processus « physiques » (apport des fleuves, eau de mer) mais également par des processus biologiques (production primaire, régénération in situ) (Lorrain, 2002). Les évolutions saisonnières des concentrations en sels nutritifs sont semblables pour les quatre années étudiées. Leurs teneurs chutent brutalement au début du printemps pour être faibles voire quasi-nulles de début mai jusqu'à octobre, période à partir de laquelle elles augmentent à nouveau progressivement. Ces faibles valeurs printanières et estivales sont liées à une forte production primaire associée à de faibles apports des fleuves (Del Amo, 1997). Notons que le premier accroissement en molybdène chez *P. maximus* se produit lorsque les concentrations en sels nutritifs diminuent nettement dans la colonne d'eau.

La dynamique des sels nutritifs influence le développement des cellules phytoplanctoniques. Nous admettons en première hypothèse que les efflorescences de phytoplancton peuvent aussi être à l'origine de l'augmentation brutale du molybdène dans les valves. En rade de Brest, le développement du phytoplancton débute mi-mars lorsque la température atteint le seuil de  $10^\circ\text{C}$  (Ragueneau, 1994). La production primaire phytoplanctonique est dominée majoritairement par les diatomées (algues à frustules siliceux). Les concentrations en sels nutritifs suffisamment élevées dans la colonne d'eau (nitrates, acide orthosilicique) du fait des apports par l'Aulne et l'Elorn durant l'hiver autorisent le développement important de diatomées (Ragueneau et al., 2002). Les quatre années étudiées dans ce travail de thèse n'échappent pas à cette règle. Toutefois, les évolutions de la biomasse chlorophyllienne et de la composition du phytoplancton

différent selon les années. L'année 2004 présente une évolution atypique car les floraisons de diatomées débutent plus tardivement (mi-mai).

Notre étude montre que les hausses printanières en molybdène chez *P. maximus* semblent synchrones (1999, 2001) ou succéder (2007) à une nette augmentation de certains paramètres environnementaux (chlorophylle a, concentration en azote et carbone organique particulaire (NOP et COP) et d'oxygène dissous dans la masse d'eau). Il convient de noter qu'en 1999 et 2001, l'enrichissement printanier de la teneur coquillière en Mo chez *P. maximus* est associé aux maxima annuels de concentration en chlorophylle a, alors qu'en 2004 et 2007, ils ne le sont pas. Le faible enrichissement en molybdène mesuré au printemps 2004 dans les valves de *P. maximus* semble en accord avec le fait que la biomasse chlorophyllienne à cette période était moins intense.

De la même façon que les travaux de Barats et al. (soumis), nous observons que les augmentations printanières de la teneur en molybdène dans les valves des coquilles Saint-Jacques se produisent lorsque les débits en eau douce sont faibles et lorsque les cellules phytoplanctoniques consomment largement les nutriments apportés par les fleuves. Ces conditions supposeraient que les enrichissements en molybdène sont probablement produits par un processus biogénique d'origine pélagique. Barats et al. estiment que les augmentations en molybdène sont synchrones avec une période de bloom printanier induit par un développement d'espèces de diatomées *Pseudo-nitzschia*. En revanche, nos résultats nous invitent à émettre quelques réserves sur la validité de cette hypothèse:

1) Nous avons remarqué au chapitre III que les dates des enrichissements en molybdène pour l'année 2004 différaient de 23 jours entre les deux études (LEMAR Brest/LCABIE Pau). Les individus étudiés par Pau ont été prélevés lors de la période d'arrêt de croissance hivernal. La datation de la dernière strie visible de ces valves a dû être surestimée entraînant un décalage de 23 jours avec nos résultats. De ce fait, en considérant nos données, le premier enrichissement en molybdène n'est plus synchrone d'une floraison de *Pseudo-nitzschia* ni d'une espèce de diatomées (Figure 50).

2) En 2004, l'efflorescence de *Pseudo-nitzschia* est la plus intense des quatre années étudiées. Si un lien étroit existait entre l'accroissement de la teneur en molybdène dans les valves et le développement de l'espèce *Pseudo-nitzschia*, il impliquerait une augmentation plus importante que celui de l'année 2001. D'autre part, nous observons une efflorescence élevée de *Pseudo-*

*nitzschia* en septembre 2007 ( $700.10^3$  cell/L), mais aucun accroissement de la teneur en molybdène chez *P. maximus* n'est visible à cette période.

De ce fait, les résultats de cette étude indiquent que les enrichissements en molybdène ne sont pas liés principalement au développement de l'espèce de diatomées *Pseudo-nitzschia* mais également à d'autres espèces phytoplanctoniques et pas nécessairement des diatomées (1999 : *Rhizosolemia delicatula* ; 2001 : *Pseudo-nitzschia*, *Skeletonema costatum* 2004 : *Cryptophicées* ; 2007 : *Thalassosiera*, *Skeletonema costatum*). Cette diversité démontre l'absence de lien spécifique des enrichissements en molybdène chez *P. maximus* avec des cellules phytoplanctoniques.

Thébault et al. (2009) travaillant sur un pectinidae se développant dans le lagon sud-ouest de la Nouvelle Calédonie proposent cinq hypothèses pouvant expliquer les enrichissements en molybdène dans les valves d'un pétoncle tropical. Nous proposons à présent de les détailler l'une après l'autre pour identifier celle qui pourrait le mieux correspondre à « notre espèce ».

Notons que *P. maximus* est considéré comme un capteur de l'environnement benthopélagique. C'est-à-dire que cette espèce suspensivore<sup>8</sup> épigée<sup>9</sup> peut incorporer des éléments en traces à la fois sous forme dissoute et sous forme particulaire, issus des « compartiments » benthique et pélagique. De ce fait, les augmentations brutales de la teneur en molybdène dans ses valves ont quatre causes possibles: 2 pour le compartiment pélagique (la phase dissoute et particulaire), 2 pour le compartiment benthique (sédiment, eau interstitielle).

#### **IV-1-4 Origine des enrichissements de la teneur coquillière en molybdène chez *P. maximus***

Les différentes hypothèses pouvant expliquer l'enrichissement en Mo des valves de *P. maximus* vont être présentées et discutées dans les cinq sous-paragraphes suivants.

##### IV-1-4-a Augmentation éphémère en molybdène dans la colonne d'eau liée aux apports en eaux douces ?

Le molybdène est présent majoritairement sous la forme soluble ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) dans les océans. C'est le métal de transition dont la teneur dans les océans est la plus élevée ( $10,7 \mu\text{g/L} \Leftrightarrow 12,7 \text{ ppb}$  dans la zone Nord Est de l'Océan Atlantique, source : Morris, 1975). Collier (1989) estime que cet élément chimique se comporte de manière conservative dans l'eau de mer, c'est-à-dire qu'il ne participe ni à des réactions chimiques ni à des réactions biologiques. Deux études ont démontré que le mélange eau de mer / eau douce a une influence sur l'abondance et la disponibilité en

molybdène dissous dans les estuaires (Head and Burton, 1970 ; Dalai et al., 2005). L'écosystème "rade de Brest" est considéré comme ayant un caractère fortement marin. Toutefois, ce bassin est receveur des apports en sels nutritifs, métaux et matières organiques provenant de deux rivières (l'Aulne et l'Elorn, Paragraphe II-6-1). Il est donc possible, en première hypothèse, de considérer les brusques augmentations de la teneur coquillière en molybdène dans les valves de *P. maximus* comme étant le résultat de hausses éphémères de la concentration en molybdène dans la colonne d'eau associées aux crues des rivières. En effet, les enrichissements en molybdène dans les valves de *P. maximus* apparaissent toujours après les crues hivernales. L'augmentation de la teneur en molybdène dans les coquilles Saint-Jacques est plus élevée au cours des années où il a été enregistré, des valeurs plus importantes de débit des rivières pendant l'hiver. Morford et Emerson (1999) ont observé que la concentration en Mo dans les fleuves est 20 fois plus réduite que dans l'eau de mer. Ces données indiqueraient que les eaux fluviales ont une faible influence sur le budget de Mo dans les estuaires ou les écosystèmes côtiers.

Par ailleurs, des travaux antérieurs menés par le LEMAR et le LCABIE (Barats et al., soumis) ont permis d'établir pour l'année 2000 (à un mètre au dessus du fond marin) le profil de la teneur en molybdène dissous en Baie de Roscanvel. La concentration en molybdène dissous apparaît stable (12,7 µg/L  $\Leftrightarrow$  12,7 ppb) excepté sur une courte période printanière (8-12 mai) où les valeurs augmentent brusquement d'un facteur 4 (Figure 52).

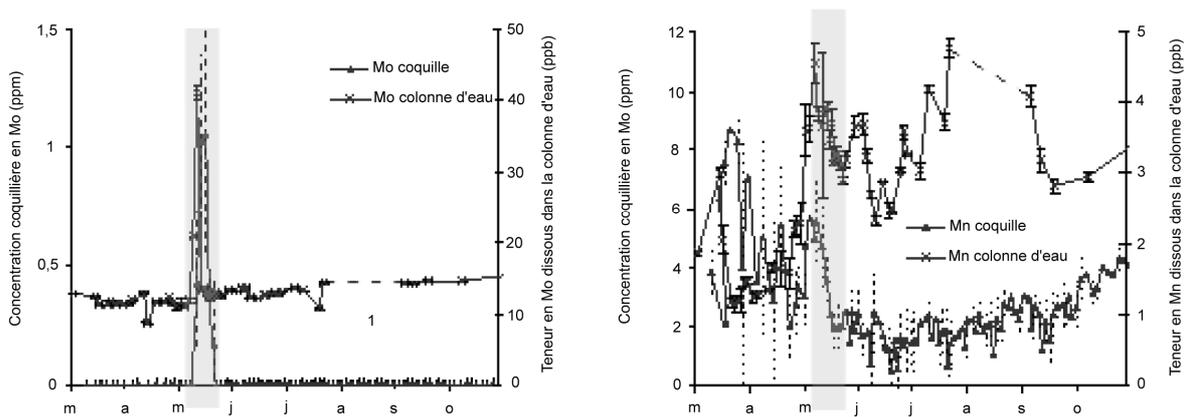


Figure 52 : Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène et en manganèse dans les valves de *P. maximus* classe I prélevées en Baie de Roscanvel pendant l'année 2000 et la concentration en molybdène et en manganèse dissous dans la colonne d'eau (à un mètre au dessus de la couche du fond) d'après Barats et al. soumis.

Cet enrichissement en molybdène dissous dans la colonne d'eau apparaît cinq jours avant celui qui a été mesuré dans les valves de *P. maximus*, mais est 400 fois plus faible. Les résultats de Barats et al. permettent d'une part, de montrer un comportement non conservatif du molybdène en rade de Brest, et, d'autre part, de constater que cet enrichissement en molybdène dissous dans la masse d'eau était insuffisant pour expliquer les teneurs importantes mesurées dans les valves de *P. maximus*. Barats et al. (soumis) supposent que cet enrichissement n'est pas associé à un apport des eaux fluviales mais plutôt à un enrichissement en molybdène des eaux du fond suite à la formation d'agrégats<sup>10</sup> de diatomées (Paragraphe IV-1-4-c).

Finalement, le mélange eau douce/eau de mer de l'écosystème rade de Brest ne semble pas expliquer les enrichissements en molybdène dans les valves de *P. maximus*.

#### IV-1-4-b Relargage du molybdène des sédiments induit par les conditions réductrices à l'interface eau/sédiment ?

Afin de définir si cette hypothèse peut expliquer les enrichissements en molybdène chez *P. maximus*, il est nécessaire au préalable d'expliquer que le « compartiment benthique » où se déposent et s'accumulent des particules de matière, représente une zone d'intenses variations chimiques et biologiques. Les particules de matière subissent d'importantes transformations avant d'être enfouies en profondeur mais peuvent également être transférées aux organismes qui vivent en relation étroite avec ce milieu (exemple les invertébrés). Par ailleurs, il existe, à l'interface eau/sédiment, une couche intermédiaire entre l'eau de fond bien homogénéisée, et les sédiments. Les échanges au niveau de cette couche limite de fond, dont l'épaisseur varie de 0,2 à 1,2 mm dans les océans, dépendent à la fois de la vitesse de sédimentation dans la colonne d'eau, de la remise en suspension, de la bioturbation<sup>11</sup> du sédiment par les organismes fouisseurs et de l'adsorption<sup>12</sup>. Dans ces conditions, il existe donc un fort gradient de concentration en éléments dissous (Zhang et al., 1995 ; Figure 53). La distribution des éléments en traces dans les sédiments est également contrôlée par divers mécanismes (réaction d'oxydo-réduction, processus d'absorption<sup>13</sup> et d'adsorption, diffusion depuis l'interface eau-sédiment) et implique un taux de diffusion en éléments dissous dépendant de la profondeur d'infiltration des sulfates et du potentiel d'oxydo-réduction à la surface eau/sédiment (Friedl et al., 2002). Thébault (2006) a représenté schématiquement l'évolution probable des concentrations en métaux dissous dans l'environnement direct de *Comptopallium radula* (d'après Zhang et al., 1995). La Figure 53 en

est l'adaptation pour *P. maximus*.

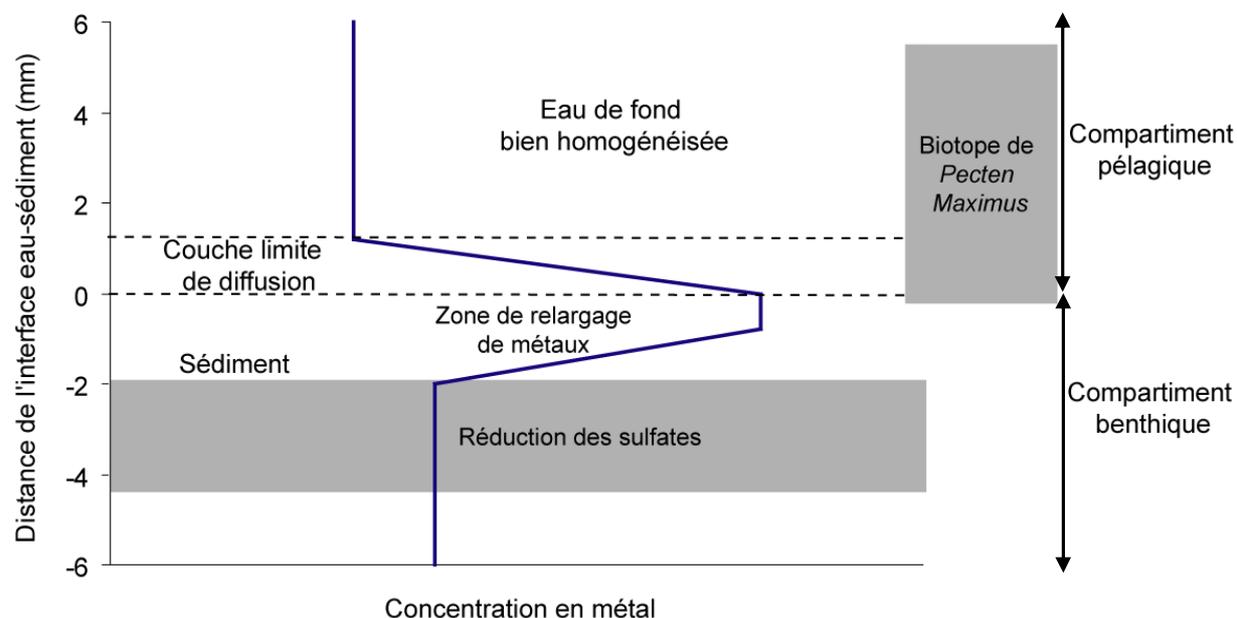


Figure 53 : Représentation schématique des concentrations en métaux dissous à proximité de l'interface eau-sédiment (d'après Zhang et al., 1995).

Le molybdène passe par diffusion des eaux de fond au sédiment où il est réduit et s'accumule. Comme cet élément chimique est sensible aux variations d'oxydo-réduction du milieu environnant (Crusius et al., 1996), il se trouve sous une forme dissoute dans un milieu oxygène, mais précipite dans les environnements dépourvus d'oxygène dissous (anoxique) tels les sédiments réduits.

Dans la zone oxygène des sédiments, les ions molybdate ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) s'adsorbent fortement sur les particules d'oxydes de manganèse ou de fer (majoritairement  $\text{MnO}_2$ ) (Schimmield & Price, 1986 ; Calvert & Pederson, 1993). Récemment, des travaux ont mis en évidence de fortes concentrations en molybdène dissous dans les sédiments réduits (Zheng et al., 2000 ; Chaillou et al. 2002 ; Morford et al, 2003, 2005). La réduction dissolutive bactérienne des oxydes de manganèse permet de libérer du molybdène sous forme dissoute dans l'eau interstitielle, entraînant une teneur en Mo plus élevée à l'interface eau/sédiment (Chaillou et al., 2002). Ce processus est contrôlé par la bioturbation et le gradient de concentration dans l'eau interstitielle à proximité de l'interface eau/sédiment (Dalai et al., 2005). L'activité biologique des organismes fouisseurs qui se manifestent de différentes façons (construction de galeries, production de fécès,

circulation d'eaux dans les galeries...), a des conséquences directes à l'interface eau/sédiment. Elles peuvent créer d'importantes modifications physiques, biologiques et chimiques dans des sédiments (~ 25 premiers centimètres) et accroître l'apport d'eau interstitielle riche en molybdène dissous au niveau de l'eau du fond.

Une forte productivité primaire dans la zone photique engendre une accumulation de matière organique à l'interface eau/sédiment. Dans cette zone, la matière organique se décompose sous l'action des bactéries. Dalai et al. (2005) ont montré que l'accroissement de matière organique accélère les fluctuations du potentiel d'oxydo-réduction des sédiments. De ce fait, une augmentation épisodique de la concentration en molybdène dissous dans l'eau de fond peut se produire. Les ions molybdates disponibles dans l'environnement direct de *P. maximus* peuvent donc être absorbés au travers de ses branchies et de ses membranes biologiques puis s'incorporer dans son exosquelette calcifié.

Barats et al. (2008) ont déjà supposé que ce mécanisme pouvait expliquer les enrichissements en manganèse observés dans les valves de *P. maximus* prélevées en baie de Seine. Selon les travaux de Barats et al. (soumis), cette hypothèse semblerait peu adaptée pour le molybdène. Les concentrations en manganèse et en molybdène dissous mesurées à Roscanvel (à un mètre au-dessus du sédiment) montrent, pour chaque élément, un enrichissement printanier dans la colonne d'eau. L'accroissement de la teneur en manganèse dans la colonne d'eau est synchrone à une augmentation de la concentration en manganèse dans les valves de *P. maximus*. En revanche, le relargage de Mn dans l'eau de fond est faible et se produit une à deux semaines avant les enrichissements en molybdène obtenus dans la colonne d'eau et dans les valves (Figure 52). Barats et al. supposent donc que l'accroissement printanier de la teneur coquillière en molybdène chez *P. maximus* ne peut pas être associé à un relargage de Mo des sédiments.

Par ailleurs, nos résultats invitent également à émettre quelques réserves sur la validité de cette hypothèse. En effet, nous observons, pendant la période de croissance de l'animal, des efflorescences phytoplanctoniques estivales ou automnales qui sont parfois plus intenses que celles apparaissant au cours du printemps. Ainsi, ces proliférations phytoplanctoniques devraient également mener à une augmentation de la teneur en molybdène à l'interface eau/sédiment suite aux conditions suboxiques<sup>14</sup> des sédiments. Pourtant, aucun accroissement de la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus* n'est visible à ces périodes. À titre d'exemple, les

fortes présences estivales et automnales en 2007 de respectivement *Gymnodinium chlorophorum* ( $1153.10^3$  cell/L) et *Pseudo-nitzschia* ( $641.10^3$  cell/L) ne produisent aucun pic en molybdène chez *P. maximus* (Figure 51).

Il est possible que l'hydrodynamisme du site (cycle des marées, débits des fleuves) ait modulé les perturbations sédimentaires. Dans ces conditions, *P. maximus* aurait, d'une part, ingéré des sédiments enrichis en molybdène particulaire déposés ou remis en suspension, et, d'autre part, absorbé de l'eau interstitielle contenant de fortes concentrations en molybdène dissous. Toutefois, l'écosystème "rade de Brest" (particulièrement la baie de Roscanvel : 25 m de profondeur) considéré à caractère fortement marin, subit peu l'action de la houle. De plus, le débit des rivières restant toujours faible en période printanière pendant les enrichissements en molybdène ne peut pas faire décroître la salinité de la couche d'eau de fond. Rappelons que les fortes augmentations printanières de la teneur en molybdène dans les valves de coquilles Saint-Jacques en 2001 et 2007 apparaissent lorsque les apports en eaux douces diminuent et lorsque la salinité augmente progressivement dans la colonne d'eau.

L'hypothèse supposant une origine benthique (Mo particulaire ou dissous) aux enrichissements printaniers de la teneur en molybdène chez *P. maximus* semble à écarter. Par ailleurs, Bustamante et al. (2005) remarquent que le molybdène est majoritairement concentré dans la glande digestive chez le pectinidé *Chlamys varia* (42 à 56% du Mo total). Ces auteurs suggèrent une incorporation préférentielle du molybdène par voie trophique chez les bivalves (ingestion de proies enrichies en molybdène).

#### IV-1-4-c Ingestion d'agrégats enrichis en molybdène issus de l'effondrement de bloom des cellules phytoplanctoniques ?

Nous avons noté précédemment (Paragraphe IV-1-2) que les augmentations en molybdène dans les valves de *P. maximus* apparaissaient majoritairement pendant les floraisons printanières des écosystèmes bretons. Cette caractéristique suppose un lien avec des processus biogéniques d'origine pélagique associé au phytoplancton. De plus, les travaux de Barats et al. (soumis) mettent en évidence un comportement non conservateur du molybdène en rade de Brest. En mer de Wadden, Dellwigg et al. (2007) ont également observé, à certaines périodes de l'année, un comportement non conservatif du molybdène. Ces auteurs ont montré que cet événement (enrichissement en Mo) était relié à une prolifération phytoplanctonique et une activité

bactérienne plus importante dans la masse d'eau.

Les effondrements de blooms phytoplanctoniques récurrents suite à diverses situations (carence en sels nutritifs, excrétion de substances inhibitrices par les algues elles-mêmes...) entraînent souvent une dégradation ou une décomposition du phytoplancton. Cette lyse cellulaire (mort) du phytoplancton provoque un accroissement de matière organique qui accélère l'activité bactérienne et la formation d'agrégats. Comme la dégradation bactérienne du matériel phytoplanctonique produit des conditions favorables à la formation de micro-zones d'hypoxies<sup>15</sup> à la surface des cellules phytoplanctoniques (Ploug et al., 1997), cela pourrait induire l'absorption d'ions molybdates dans les agrégats (Dellwig et al., 2007). Ces agrégats de cellules phytoplanctoniques enrichis en molybdène sédimenteraient rapidement et deviendrait donc des sources potentielles de nourriture pour *P. maximus*. La production primaire est largement dominée par les diatomées dans l'écosystème "rade de Brest". De nombreuses études ont mis en évidence la capacité des diatomées à s'agréger puis à sédimenter (Smetacek, 1985 ; Alldredge & Gotschalk ; 1989 ; Riebesell, 1991). Un grand nombre de travaux (Chauvaud et al., 1998 ; Lorrain., 2002, Amice et Chauvaud- obs en plongée) ont observé, surtout au printemps, la formation de tels agrégats dans l'écosystème "rade de Brest". Barats et al. (soumis) estiment que ce phénomène est à l'origine des accroissements de la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus*. En effet, ces auteurs suggèrent que les efflorescences printanières des espèces de diatomées *Pseudo-nitzschia* entraîneraient une sédimentation massive de ces cellules phytoplanctoniques, à la suite d'une carence en acide orthosilicique, sous la forme d'agrégats enrichis en molybdène. Ceci engendrerait des enrichissements en molybdène dans les phases dissoutes et particulaires de l'eau du fond et expliquerait également l'enrichissement printanier en molybdène dissous dans la colonne d'eau obtenu en 2000.

Toutefois, nous émettons certaines réserves à valider cette hypothèse. Nous avons en effet démontré précédemment que les enrichissements printaniers en molybdène chez *P. maximus* ne sont pas directement reliés à l'espèce phytoplanctonique *Pseudo-nitzschia*.

Les travaux de Lorrain (1998) et Chauvaud et al. (2001) indiquent que la sédimentation massive des diatomées, consécutive à la formation d'agrégats, induirait également des ralentissements de croissance chez *P. maximus* (Paragraphe IV-1-2). De ce fait, les hausses de la teneur en molybdène dans les valves de *P. maximus* devraient succéder ou apparaître pendant ces ralentissements de croissance suite à l'éventuelle ingestion d'agrégats de cellules

phytoplanctoniques enrichis en molybdène. Or, nos résultats montrent que les enrichissements printaniers de la teneur coquillière en molybdène chez *P. maximus* précèdent de 20 à 30 jours les ralentissements de croissance.

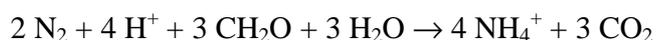
De plus, en rade de Brest, les enrichissements printaniers en molybdène sont synchrones d'efflorescences phytoplanctoniques autres que des diatomées (2004 : *Cryptophycées*). Ces espèces sont alors peu abondantes ( $200.10^3$  cell/L) et l'on admet dans la littérature leur faible aptitude (propension) à former des agrégats. De ce fait, une faible biomasse phytoplanctonique semble pouvoir induire une augmentation sensible de la concentration calcitique en Mo chez les coquilles Saint-Jacques.

À l'inverse de fortes biomasses phytoplanctoniques n'entraînent pas systématiquement l'apparition d'un enrichissement de la teneur en Mo dans les valves de *P. maximus*. En effet, certaines années sont marquées par d'importantes efflorescences de diatomées en périodes estivales (1999 : *Chaetoceros*  $1800.10^3$  cell/L ; 2004 : *Pseudo-nitzschia*  $811.10^3$  cell/L, *Chaetoceros*  $634.10^3$  cell/L, *Thalassosira*  $410.10^3$  cell/L ; 2007 : *Rhizosolenia*  $450.10^3$  cell/L) et automnales (2007 : *Pseudo-Nitzschia*  $647.10^3$  cell/L) sans que celles-ci n'entraînent aucun enrichissement en molybdène chez *P. maximus*.

#### IV-1-4-d Ingestion de cyanobactéries ayant fixé du di-azote ?

L'azote est un élément nutritif essentiel pour les organismes vivants. Cet élément se trouve sous différentes formes dans l'eau de mer : gazeuse dissoute ( $N_2$ ,  $NH_3$ ,  $N_2O$ ,  $NO_2$ ), minérale ( $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ) et organique. Les formes d'azote majoritairement ingérées par le phytoplancton sont les ions nitrates, nitrites et ammonium.

Le molybdène est un composant essentiel pour l'activité de deux enzymes responsables de la réduction d'azote pour les organismes marins : la nitrate reductase (NR) et la nitrogénase (Collier, 1985). Cette dernière intervient chez les procaryotes<sup>16</sup> photosynthétiques (essentiellement les cyanobactéries<sup>17</sup>) pour fixer le di-azote ( $N_2$ ). La fixation biologique de l'azote est un processus qui permet de transformer le di-azote en ammonium ( $NH_4^+$ ) pouvant alors être assimilé biologiquement par les organismes marins.



Cette fixation rend la croissance des diazotrophes possibles dans des milieux où les teneurs en azote inorganique (nitrates, nitrites, ammonium) sont très faibles. Cette famille d'enzyme est la

seule qui permette d'accomplir ce processus. Un nombre important de cyanobactéries est capable de fixer le diazote. Les espèces *Trichodesmium* et *Richelia intracellularis* sont les plus abondantes en milieu marin (Sellner et al., 1997). En rade de Brest, cette hypothèse se révèle inadaptée pour expliquer les enrichissements en molybdène dans les valves de *P. maximus* :

(1) aucune prolifération de cyanobactéries ne s'observe dans la colonne d'eau lorsque la teneur coquillière en molybdène dans les valves de *P. maximus* s'accroît régulièrement au printemps (Chauvaud, comm pers).

(2) l'activité de la nitrogénase est contrôlée par la concentration du milieu en oxygène mais également par la concentration en azote inorganique. L'activité de cette enzyme décroît jusqu'à l'inhibition totale quand nitrates, nitrites ou ammonium sont disponibles dans l'eau (Cheng et al., 1999).

Dans l'écosystème "rade de Brest", les enrichissements en molybdène chez *P. maximus* apparaissent lorsque les teneurs en azote inorganique (surtout  $\text{NH}_4^+$ ) se maintiennent à des concentrations suffisantes pour satisfaire la demande du phytoplancton en azote. Par ailleurs, les teneurs en azote inorganique sont quasi-nulles mi-août 2007, mais aucun pic en molybdène n'apparaît à cette période dans les valves de *P. maximus* (Figure 51). Toutes ces remarques démontrent que cette hypothèse est également à écarter pour expliquer les enrichissements de la teneur en Mo dans les coquilles Saint-Jacques.

#### IV-1-4-e Ingestion de cellules phytoplanctoniques enrichies en molybdène lorsque les nitrates sont source d'azote ?

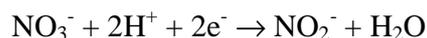
Rappelons que depuis quelques décennies, l'écosystème "rade de Brest", comme d'autres écosystèmes côtiers, enregistre un enrichissement croissant en nutriments d'origine anthropique (nitrates, phosphates). En effet, les concentrations en nitrates dans les eaux fluviales ont doublées principalement à cause du développement de l'agriculture sur les versants de l'Aulne et de l'Elorn (Del amo, 1997). Ces accroissements en nutriments ont déjà entraîné d'importantes modifications, telle la colonisation d'une espèce invasive (la crépidule), une eutrophisation benthique, une saisonnalité modifiée des efflorescences phytoplanctoniques (Chauvaud et al., 1998 ; Grall & Chauvaud, 2002 ; Ragueneau et al., 2002).

Il convient de noter que les nitrates absorbés par les algues sont réduits selon les différentes

étapes chimiques énoncées ci dessous.



Ainsi, la première étape d'assimilation du nitrate par les cellules phytoplanctoniques consiste à le réduire en nitrite. Cette réduction nécessite la présence de Nitrate Reductase (NR) (complexe enzymatique).



Le molybdène est un composant essentiel pour l'activité de cette enzyme. En effet, Marino et al., (2003) ont observé que l'activité de NR est contrôlée par la présence des nitrates dans l'environnement mais également par l'uptake du molybdène par les cellules phytoplanctoniques. L'activité de cette enzyme et la présence du molybdène dans les cellules phytoplanctoniques pourrait dépendre de la teneur en nitrates du milieu ambiant.

Plusieurs faits supposeraient que les enrichissements printaniers en molybdène dans les valves de *P. maximus* soient associés à l'ingestion de cellules phytoplanctoniques enrichies en Mo suite à l'utilisation des nitrates comme source d'azote.

(1) En rade de Brest, la brusque augmentation printanière de la teneur coquillière en molybdène dans les valves de *P. maximus* semble succéder ou être synchrone de la diminution des teneurs en nitrates dans la masse d'eau à cette période (Figure 48, Figure 49, Figure 50 et Figure 51). Les variations annuelles de la concentration en nitrates dans l'écosystème "rade de Brest" suggèrent que l'activité de NR serait réalisée essentiellement pendant les floraisons printanières. Ainsi, un uptake du molybdène par les cellules phytoplanctoniques présentes à cette période pourrait se réaliser.

En effet, contrairement à l'ammonium dont la présence dans la colonne d'eau est renouvelée suite aux excréments des organismes hétérotrophes, les nitrates ne se régénèrent pas. La teneur en nitrates est donc sous la double dépendance des apports des rivières et de la production primaire. Notons que la concentration en nitrates dans l'écosystème "rade de Brest" augmente à nouveau progressivement à partir d'octobre suite à l'augmentation du débit des rivières (apport de nitrates). Aucun pic en molybdène ne s'observe dans les valves de *P. maximus* car, d'une part, les efflorescences phytoplanctoniques sont moins importantes, et d'autre part, les coquilles Saint-Jacques entament leur arrêt de croissance hivernal.

(2) Notre étude montre que les enrichissements printaniers de la teneur en molybdène dans les

valves de *P. maximus* collectées en Baie de Roscanvel sont synchrones aux efflorescences de diverses espèces phytoplanctoniques. Toutes les communautés phytoplanctoniques identifiées à cette période (1999 : *Rhizosolemia delicatula* ; 2001 : *Pseudo-nitzschia*, *Skeletonema costatum* 2004 : *Cryptophicées* ; 2007 : *Thalassossiera*, *Skeletonema costatum*) semblent avoir le potentiel de réduire les nitrates en nitrite.

(3) Les enrichissements en molybdène plus ou moins élevés selon les années s'associent avec les variations des débits des rivières entre ces différentes années. En 2001 et en 2007, suite à de plus fortes précipitations, les crues hivernales plus élevées, ont entraîné d'importants apports en nitrates dans l'écosystème "rade de Brest". De ce fait, les forts enrichissements en molybdène mesurés au printemps 2001 et 2007 dans les valves de *P. maximus* supposent une activité de NR plus intense et une présence plus importante de phytoplancton enrichi en molybdène dans la masse d'eau.

(4) Les variations ontogéniques de la concentration en molybdène des trois valves de *P. maximus* prélevées à Belle-Ile en mer se caractérisent par un deuxième enrichissement plus élevé que le premier (Tableau 31). Ces deux pics en molybdène encadrent un accident de croissance (Figure 46(II)). Chauvaud et al., (2004) ayant observé que ce net ralentissement de croissance était systématiquement synchrone à des efflorescences toxiques de dinoflagellées (*Dinophysis/Alexandrium*) suite à une dessalure liée à une crue de la Loire et ou de la Vilaine. Cette caractéristique pourrait également expliquer l'amplitude plus importante du deuxième pic en Mo à Belle-Ile en mer contrairement aux populations de Roscanvel. La concentration des nitrates pourrait augmenter suite à la crue des fleuves. En effet, les nitrates ne devaient pas être totalement consommés par la biomasse phytoplanctonique avant cet événement (ralentissement de croissance).

(5) la Figure 51 montre une augmentation des débits de l'Aulne et de l'Elorn de mi-juin à fin juillet en 2007. Cet événement provoque un enrichissement en nitrates dans la colonne d'eau pendant le mois de juillet (5  $\mu\text{mol/L}$ ). La teneur en nitrates chute brutalement pour devenir quasi-nulle début août. Cette observation suppose une consommation des nitrates par la biomasse phytoplanctonique. Or, un accroissement de la concentration valvaire en molybdène dans les coquilles Saint-Jacques apparaît pendant cette fenêtre temporelle. L'amplitude modeste de ce pic est en accord avec la faible concentration en nitrates mesurée dans la colonne d'eau.

(6) En 2001, l'UMR CNRS/UPMC 7144 Station Biologique de Roscoff a établi, à la surface de la

colonne d'eau à Roscanvel, des profils des taux d'assimilation du nitrate (production nouvelle) et de l'ammonium (production régénérée<sup>18</sup>) par les différentes classes de phytoplancton. La Figure 54 montre que le profil temporel de l'assimilation du nitrate par la biomasse phytoplanctonique, à la surface de la colonne d'eau, se caractérise par un maxima le 17 mai (1,2  $\mu\text{molN/L/j}$ ). Le reste de l'année ce taux oscille autour de 0,140  $\mu\text{molN/L/j}$ . Les valeurs de l'assimilation de l'ammonium sont toujours supérieures à celles de l'assimilation du nitrate excepté le 17 mai. À cette période, la forte valeur d'assimilation du nitrate indique que la production primaire nouvelle surpasse la production régénérée. Ces résultats supposent que les floraisons printanières dans la zone photique se développent en utilisant les nitrates comme source d'azote. À partir de juillet, l'ammonium devient la forme azotée préférentiellement absorbée par les cellules phytoplanctoniques suite à l'épuisement des nitrates dans la colonne d'eau et aux faibles apports des fleuves.

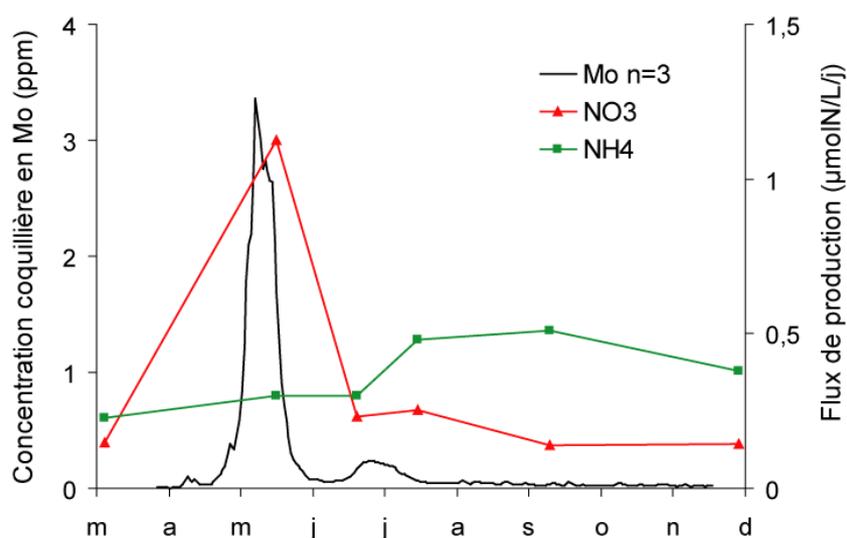


Figure 54 : Relations entre les variations ontogéniques moyennes en molybdène dans les valves de *P. maximus* prélevées à Roscanvel le 21/11/2001 et les taux d'assimilation du nitrate et de l'ammonium mesurés en surface de la colonne d'eau à Roscanvel (données l'Helguen, non publiées).

La Figure 54 montre que le premier enrichissement en molybdène est synchrone avec le maxima d'assimilation du nitrate. Ces mesures suggèrent une relation entre l'assimilation des nitrates par les cellules phytoplanctoniques et l'apparition d'un enrichissement en molybdène dans les valves de *P. maximus* au printemps.

#### **IV-1-5 Conclusion sur les enrichissements de la teneur en molybdène chez *Pecten maximus***

L'hypothèse d'une ingestion de cellules phytoplanctoniques ayant concentré du molybdène lorsque les nitrates sont la source d'azote pour la biomasse phytoplanctonique pourrait expliquer les enrichissements printaniers en molybdène dans les valves de *P. maximus*.

Nos résultats mènent aux mêmes conclusions que Thébault et al. (2009) pour l'espèce *Comptopallium radula*. Ces deux études supposent que la teneur coquillière en molybdène de deux espèces différentes de bivalves, vivant dans deux écosystèmes contrastés, semble être "un témoin" de l'uptake du nitrate par le phytoplancton et donc un traceur de la production nouvelle.

Toutefois, en rade de Brest, les variations ontogéniques de la teneur coquillière en molybdène chez *P. maximus* sont ponctuées par deux enrichissements entre le printemps et l'été. Le deuxième pic en Mo qui apparaît entre un mois (1999, 2001) et trois mois (2004, 2007) après le premier enrichissement se caractérise par une amplitude plus modeste. Si, une relation avec l'uptake de nitrate par les cellules phytoplanctoniques semble exister pour 1999 et 2007, en revanche pour 2001 et 2004 ce n'est pas le cas. En effet, ces accroissements de la concentration en Mo se produisent à des périodes où la teneur des nitrates est quasi-nulle dans la colonne d'eau. De plus, en 2004, le pic en Mo apparaît à une période durant laquelle aucun bloom de la biomasse phytoplanctonique n'est visible. L'origine de ces accroissements semble plus complexe à identifier.



## **IV-2 Le lithium : un traceur biologique et environnemental potentiel dans les coquilles Saint-Jacques ?**

Plusieurs études scientifiques ont observé l'existence d'une relation entre la température et le rapport Li/Ca chez les foraminifères benthiques et pélagiques (Hall et Chan, 2004 ; Marriott et al. 2004b), les coraux (Marriott et al., 2004a), les brachiopodes (Delaney et al., 1989), les carbonates inorganiques (tuf calcaire, spéléothèmes,...) (Marriott et al., 2004a), et récemment chez les bivalves (Thébault et al., soumis). Toutefois, ces travaux suggèrent que l'incorporation du lithium dans les carbonates marins n'est pas totalement contrôlée par la température. Chez les foraminifères, Delaney et al. (1985) estiment que le rapport Li/Ca des carbonates serait principalement relié au rapport Li/Ca de l'environnement dans lequel ces organismes se développent. Toutefois, Hall et Chan (2004) et Marriott et al. (2004b) émettent des réserves sur cette hypothèse et supposent que les variations de la concentration en lithium dans la matrice carbonatée sont majoritairement influencées par le taux de croissance des foraminifères. Ce dernier étant associé à la concentration en  $\text{CO}_3^{2-}$  dans les océans, Hall et Chan (2004) suggèrent que la teneur en lithium dans ces organismes pourrait être un traceur de la concentration en  $\text{CO}_2$  atmosphérique. Par ailleurs, Marriott et al. (2004b) ont démontré que l'augmentation de la salinité entraînait un rapport Li/Ca plus élevé dans les carbonates inorganiques à structure calcite. Chez le bivalve *Arctica islandica*, Thébault et al. (soumis) constatent également une relation étroite entre le rapport Li/Ca des valves et le taux de croissance de l'animal. Par ailleurs, ces auteurs ne remarquent aucune influence de la salinité sur l'incorporation du lithium dans l'exosquelette aragonite de ces organismes. De ce fait, Thébault et al. suggèrent que la teneur coquillière en Li chez les bivalves serait un traceur de la croissance coquillière de ces organismes. Cette étude préliminaire sur les bivalves est pertinente et mérite d'être développée plus amplement.

Nous avons constaté au chapitre III que le lithium est présent à l'état de traces dans l'exosquelette calcifié de *Pecten maximus*. En effet, les deux méthodes d'analyse mises en place sur le HR-ICP-MS détectent cet élément sur toute la coquille (teneur moyenne = 2,2 ppm). Nous avons également démontré que les variations ontogéniques de la concentration en lithium d'une même valve gauche sont reproductibles quelle que soit la méthode utilisée et quel que soit le transect choisi sur la valve. Nous avons observé d'une part un profil temporel de la teneur coquillière en

lithium d'un individu semblant suivre celui de la croissance journalière (Roscanvel, année 2001 ; Paragraphe III-1), et d'autre part, la présence d'un enrichissement automnal en lithium chez un individu d'une autre population (Roscanvel, année 2007 ; Paragraphe III-4).

Ces différentes observations supposent que la variabilité de la teneur en lithium au sein des valves de *P. maximus* est influencée par plusieurs paramètres (physiologiques et / ou environnementaux). Nous proposons à présent de détailler les résultats obtenus pendant ce travail de thèse afin de mieux comprendre l'incorporation du lithium dans les coquilles Saint-Jacques.

#### **IV-2-1 Reproductibilité inter-individuelle et variations annuelles de la teneur en lithium dans les valves de *Pecten maximus* : cas de la rade de Brest**

Les deux méthodes analytiques mises en place sur le HR-ICP-MS permettent de quantifier simultanément un grand nombre d'éléments présents dans les coquilles de bivalve (dont le molybdène et le lithium voir Paragraphe II-3). De ce fait, les valves de *P. maximus* échantillonnées correspondent à celles qui sont décrites au chapitre IV-1. La Figure 55 montre que la variabilité inter-individuelle des concentrations coquillières en lithium est faible lorsque la même classe d'âge est considérée la même année au sein d'une même population. En complément, les coefficients de corrélation de Pearson entre trois individus d'une même population sont calculés (Tableau 32). Cette approche statistique de nos résultats confirme les précédentes interprétations. Les coefficients de corrélation parfois faibles restent statistiquement significatifs ( $p < 0,001$  pour toutes les séries d'individus étudiés).

Tableau 32 : Coefficients de corrélation de Pearson (r) calculés pour le lithium entre trois individus de différentes populations (\* :  $p < 0,0001$  ; \*\* :  $p < 0,001$ ).

<b>Critère de population</b>		<b>Coefficient de corrélation</b>		
<b>Site d'étude</b>	<b>Année ; date de prélèvement ; âge</b>	<b>1 vs 2</b>	<b>1 vs 3</b>	<b>2 vs 3</b>
<b>Roscanvel, rade de Brest</b>	1999 ; 23 mars 2001 ; classe 2	0,92*	0,82*	0,93*
	2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,74*	0,44*	0,54*
	2004 ; 3 sept 2004 ; classe 1	0,95*	0,98*	0,94*
	2007 ; 29 juin ; classe 1	0,35**	0,35**	0,70*
	2007 ; 5 nov ; classe 1	0,86*	0,87*	0,94*
<b>Belle-Ile en mer</b>	2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,95*	0,94*	0,84*

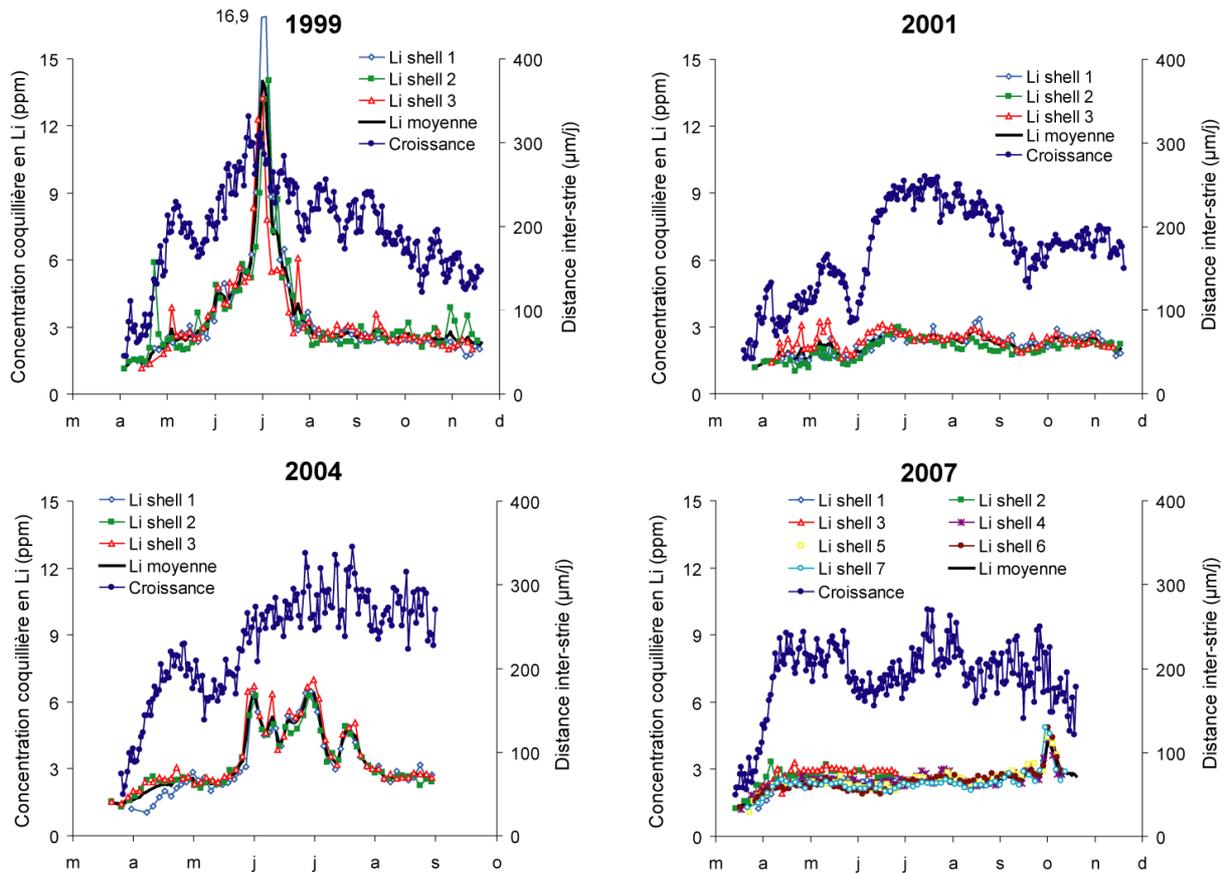


Figure 55: Variations temporelles de la teneur coquillière en Li obtenues par HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) sur des individus *P. maximus* prélevés à Roscanvel (rade de Brest) mises en relation avec la croissance journalière moyenne de ces individus.

En rade de Brest, la teneur coquillière en lithium de chaque valve échantillonnée pendant cette étude tend à augmenter de 0,5 à 1 ppm à la reprise de croissance printanière (avril-mai). Ensuite, les variations ontogéniques de la concentration valvaire en lithium dans les coquilles Saint-Jacques suivent deux dynamiques selon l'année étudiée : soit la teneur en Li dans les valves de *P. maximus* varie entre 2 et 3 ppm pendant toute la saison de croissance de l'animal (2001), soit celle-ci est ponctuée par un ou deux enrichissements épisodiques (1999, 2004 et 2007) et les concentrations atteignent 9 à 15 ppm. En effet, les séries de valves qui ont permis d'établir un profil annuel de ces trois années mettent en évidence la présence de deux pics en 2004 et un seul en 1999 et 2007. La teneur en lithium dans ces coquilles augmente brusquement pour atteindre des valeurs variables d'une année à l'autre. Ces enrichissements en lithium sont importants en amplitude, car la teneur augmente d'un facteur 2 à 9. La valeur minimale mesurée est de 4 ppm

en 2007 et la plus élevée 17 ppm en 1999. Par contre, ces accroissements en lithium surviennent à différentes périodes de l'année (Tableau 33) et ont des durées variables. En effet, la durée de l'augmentation transitoire de la teneur coquillière en lithium dans les valves de *P. maximus* varie entre 10 jours (en 2007) et un mois et demi (en 2004). Le premier pic de 2004 qui a une durée nettement plus importante à celle des autres accroissements en Li détectés pendant cette étude, présente deux maxima (1 et 29 juin). Il convient de noter que les pics de lithium apparaissent à des périodes différentes des pics mesurés pour le molybdène (Tableau 31). L'aspect reproductible et l'amplitude de ces enrichissements au sein d'une même population suggèrent l'existence d'un forçage environnemental.

Tableau 33 : Comparaison des enrichissements en lithium (teneur moyenne, écart type, date) obtenus avec la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) sur différentes populations de valves gauches de *P. maximus* prélevées en Baie de Roscanvel (Rade de Brest) et à Belle-Ile en mer (cf. chapitre IV-2-2).

Critère de population		Enrichissement en Li		
Site d'étude	Année ; date de prélèvement ; âge	Pic	Moyenne $\pm$ SD (ppm)	Date ( $\pm$ 3 jours)
Rade de Brest	1999 ; 23 mars 2001 ; classe 2	pic 1	6,36 $\pm$ 3,24	22-juin
	2004 ; 3 sept 2004 ; classe 1	pic 1	5,02 $\pm$ 1,08	16-juin
		pic 2	4,14 $\pm$ 0,64	20-juil
	2007 ; 5 nov ; classe 1	pic 1	3,79 $\pm$ 0,48	03-oct
Belle-Ile en mer	2001 ; 13 nov 2001 ; classe 1	pic 1	4,9 $\pm$ 1,68	12-mai
		pic 2	7,27 $\pm$ 4,36	27-juil

L'année 2001 se distingue des autres années par une absence d'enrichissement de la teneur coquillière en lithium dans les coquilles Saint-Jacques (Roscanvel). Par ailleurs, la croissance coquillière a été particulièrement accidentée en 2001. En effet, le ralentissement de croissance qui survient au printemps comme en 1999, 2004, et 2007, a une amplitude beaucoup plus marquée en 2001 (80  $\mu\text{m}/\text{j}$ ). Or, la concentration coquillière moyenne en lithium obtenue pour les 3 valves juvéniles de *P. maximus* (prélevées le 21/11/2001) diminue pendant ce ralentissement de croissance (0,6 ppm) (Figure 56 (I)). De plus, les variations temporelles de la concentration coquillière moyenne en lithium et de la croissance journalière obtenue pour ces trois individus présentent de fortes similitudes. La Figure 56 (II) met en évidence l'existence d'une relation linéaire entre ces deux variables ( $r^2 = 0,74$  ;  $p < 0,0001$ ).

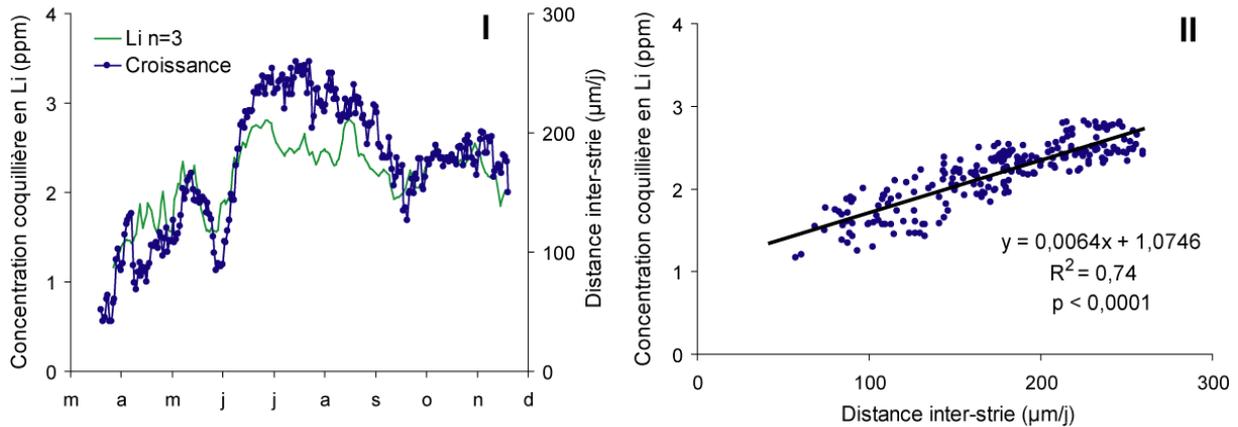


Figure 56 : (I) Variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en lithium et de la croissance journalière moyenne obtenues pour les trois individus de *P. maximus* classe I prélevées à Roscanvel le 21/11/2001 et (II) relation entre les valeurs de la concentration valvaire moyenne en Li et le taux de croissance des trois individus.

L'échantillonnage des trois coquilles Saint-Jacques âgées de trois ans (classe II ; prélevées le 7 mars 2001) sur la totalité de leur axe de croissance à partir du premier hiver, permet de suivre temporellement la concentration coquillière en lithium pendant deux années (1999, 2000) (Figure 57). Les variations ontogéniques des concentrations coquillières en lithium dans ces trois valves de *P. maximus* sont très similaires. Les trois coquilles ont un nombre identique d'enrichissements (pics) en lithium pour des teneurs moyennes semblables. Chaque courbe met en évidence la présence d'un pic principal de Li chaque année plus important en 1999 qu'en 2000. Ces résultats indiquent que des accroissements de la teneur coquillière en lithium apparaissent quel que soit l'âge (la taille) de l'individu. Cette étude comparative suggère que les enrichissements en lithium dans les valves de *P. maximus* ne sont pas imputables à la physiologie du stade juvénile de ce bivalve. Par ailleurs, nous observons que la concentration coquillière en lithium chez deux individus diminue nettement pendant le deuxième arrêt de croissance hivernal (1999-2000).

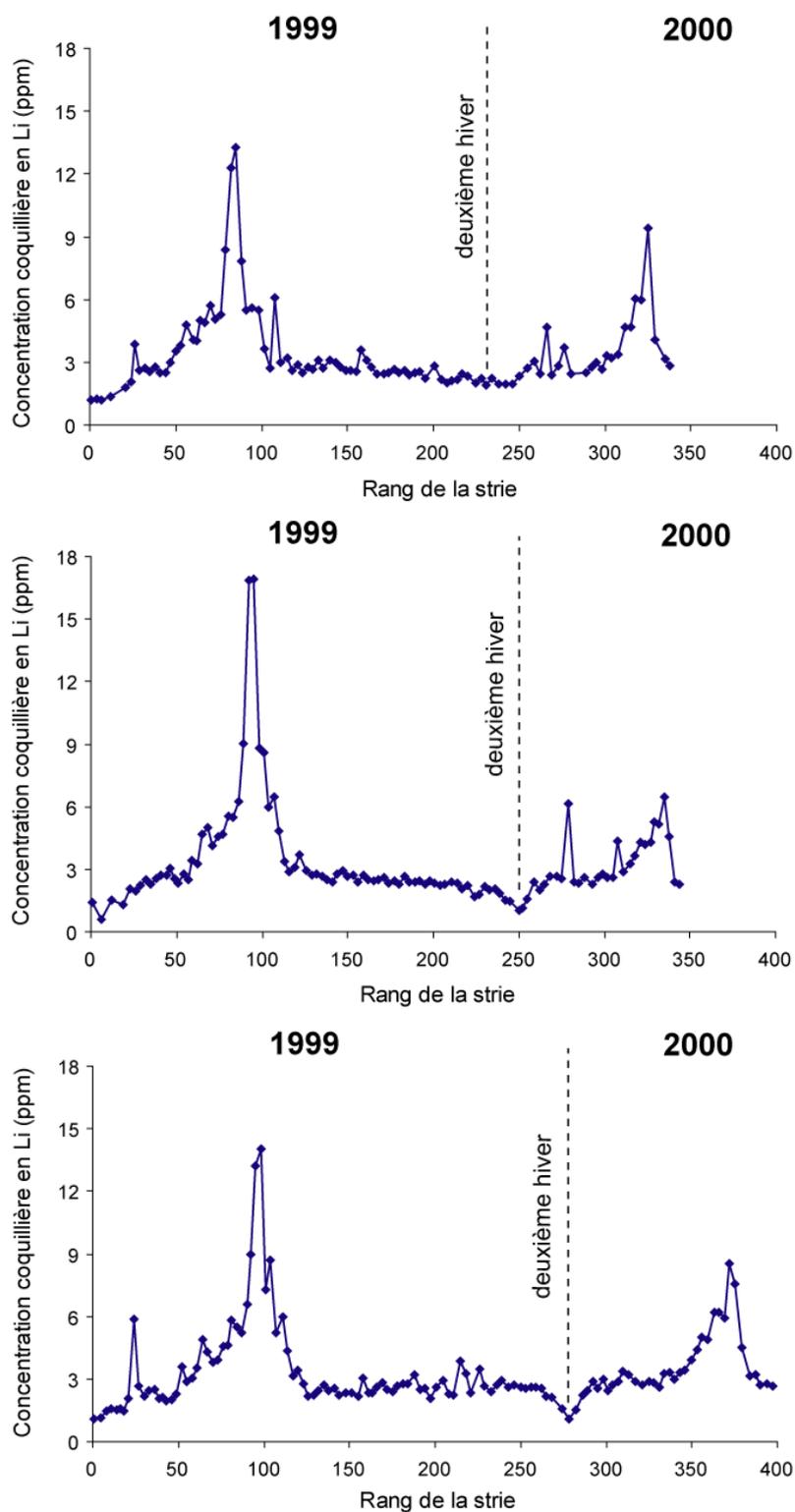


Figure 57 : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium obtenues sur trois individus de *P. maximus* de classe II issus de Roscanvel en rade de Brest (nés en 1998 et prélevés le 5/03/2001 i.e durant le 3<sup>ème</sup> arrêt de croissance hivernal).

Finalement, l'incorporation du lithium dans les coquilles Saint-Jacques de la population de Roscanvel diffère selon l'année étudiée : en 2001, les variations ontogéniques de la concentration coquillière en lithium semblent corrélées avec le taux de croissance. En 1999, 2004, 2007, le profil temporel de la teneur coquillière en lithium est marqué par des augmentations épisodiques d'amplitude et de durée variables, apparaissant à diverses périodes selon l'année étudiée. Toutefois, le caractère reproductible et l'amplitude de ces accroissements au sein d'une même population supposent un lien avec un (voire plusieurs) paramètre (s) environnemental (aux). Les pics en Li apparaissant à des périodes différentes de celles des pics de Mo, une autre origine doit être envisagée.

#### **IV-2-2 Variabilité spatiale des profils de concentration coquillière en lithium (Baie de Saint-Brieuc, Belle-Ile en mer)**

Dans ce sous-chapitre, nous allons vérifier si les variations ontogéniques de la teneur coquillière en lithium dans les coquilles Saint-Jacques pêchées dans d'autres écosystèmes littoraux bretons présentent la même dynamique à celle mesurée dans des valves d'animaux prélevées en rade de Brest. Les résultats acquis lors de l'étude des valves d'individus provenant de Belle-Ile en mer et de la Baie de Saint-Brieuc sont donc présentés ici.

Les trois coquilles juvéniles collectées sur le site de Belle-Ile en mer montrent une nouvelle fois que les variations ontogéniques de la concentration coquillière en lithium chez *P. maximus* sont comparables au sein d'une même population ( $r > 0,8$  ;  $p < 0,0001$ ) (Figure 58 (I)). L'évolution temporelle de la teneur en lithium des trois valves juvéniles de Belle-Ile en mer prélevées le 13/11/2001 présente des similitudes avec celle obtenue en rade de Brest. En effet, les trois individus mettent en évidence une augmentation de la teneur coquillière en lithium à la reprise de croissance printanière. Chez les trois valves, la concentration en lithium diminue nettement pendant l'accident de croissance printanier (Figure 58 (I)). Ce ralentissement de croissance est systématiquement synchrone d'une efflorescence toxique de dinoflagellés (Paragraphe IV-1 ; Chauvaud et al., 2004). Par ailleurs, la teneur en lithium dans les trois valves de Belle-Ile en mer s'accroît brusquement sur deux courtes périodes début mai et fin juillet 2001. Ces deux pics en lithium encadrent ceux qui sont obtenus pour le molybdène mais également le ralentissement de croissance printanier (Figure 58 (II)). Nous constatons que le premier pic en lithium des valves de

Belle-Ile en mer apparaît au printemps quelques semaines après la reprise de croissance contrairement à ce qui est observé pour les populations de Roscanvel.

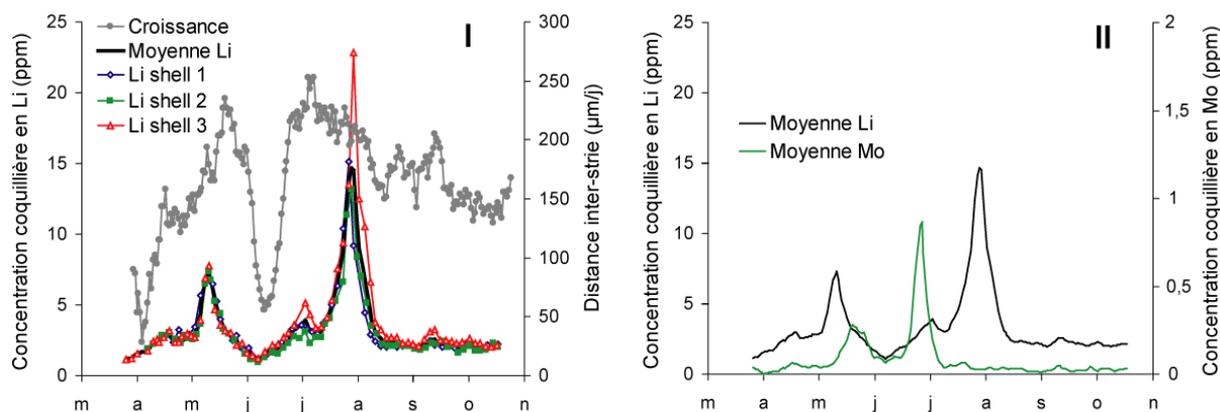


Figure 58 : (I) Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière en lithium dans trois valves de *P. maximus* classe I prélevées à Belle-Ile en mer le 13/11/2001 et la croissance journalière moyenne pour ces trois individus (II) relation entre la concentration coquillière moyenne en molybdène et celle en lithium obtenues pour les trois individus.

La Figure 59 illustre les variations ontogéniques de la teneur coquillière en lithium des trois valves de *P. maximus* âgées de quatre ans issues de la Baie de Saint-Brieuc (classe III, prélevées le 7 décembre 2004). L'échantillonnage a été réalisé plusieurs stries avant le premier arrêt de croissance hivernal et s'arrête au deuxième arrêt de croissance hivernal (suivi de l'année 2002 comme mentionné au paragraphe IV-1-2). Les évolutions saisonnières de la teneur en lithium semblent similaires quelle que soit la coquille échantillonnée. En effet, la concentration en lithium dans chaque valve varie entre 1,5 et 2,5 ppm et ne présente pas d'enrichissement épisodique. Chaque individu présente une diminution de la concentration coquillière en lithium pendant le premier arrêt de croissance hivernal. Le profil temporel de la teneur en lithium de chaque valve semble suivre le taux de croissance de l'animal. Si une corrélation est décelable entre le taux de croissance et la teneur en Li des valves pour deux individus ( $r^2 = 0,16$  et  $0,448$  ;  $p < 0,01$ ), elle est extrêmement faible pour un individu ( $r^2 = 0,04$  ;  $p = 0,1082$ ). La corrélation entre la concentration valvaire en lithium et le taux de croissance apparaît donc moins évidente à celle qui est observée pour la population d'individus juvéniles prélevés en rade de Brest (année 2001). Il est possible que cette différence soit liée aux difficultés analytiques rencontrées pendant

l'analyse de ces valves (nébulizer bouché, problème d'aspiration des solutions échantillons) ou à la nature des stries moins marquées en début de croissance (entraînant d'éventuelles erreurs de comptage de stries).

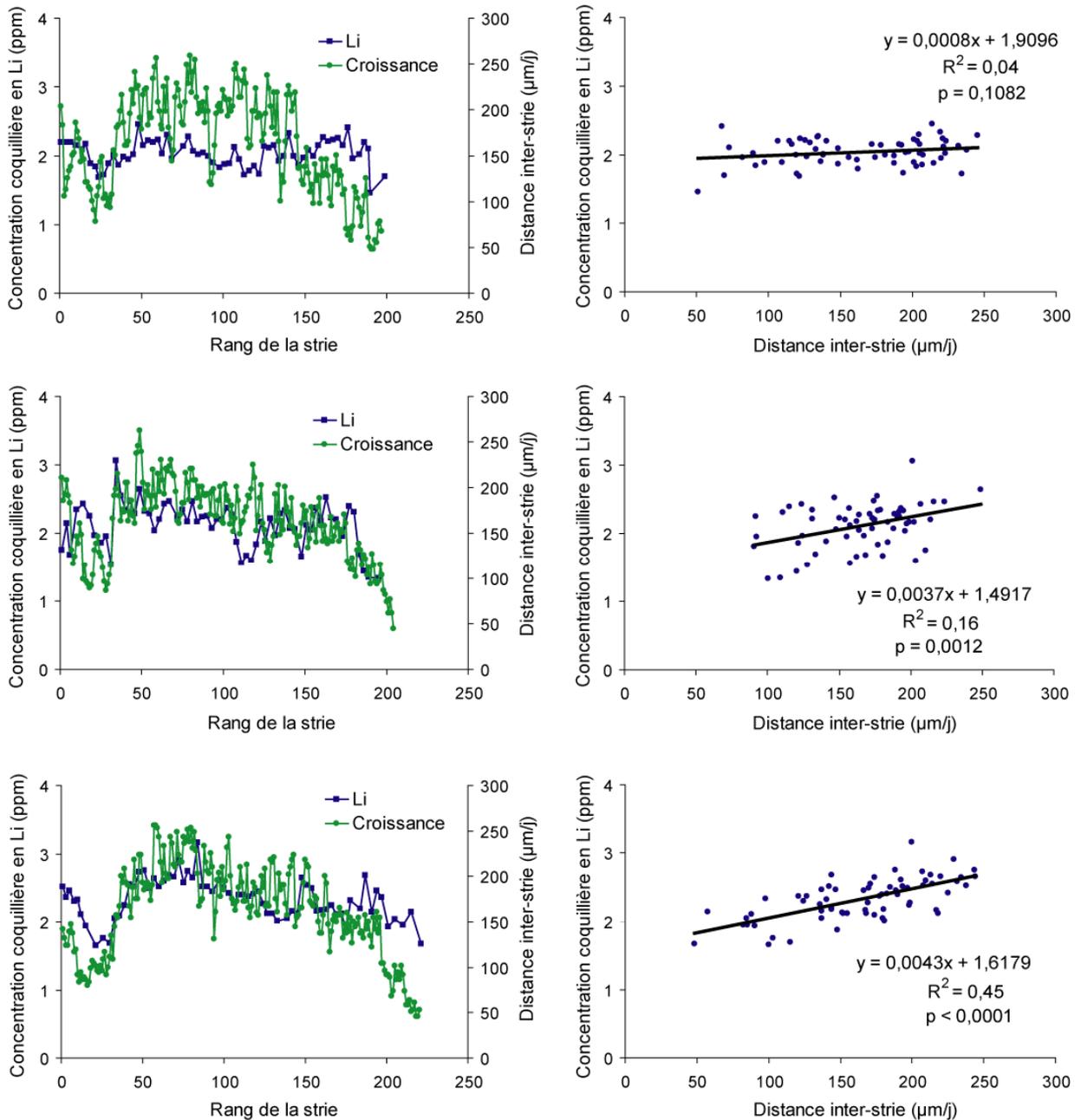


Figure 59 : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière pour trois valves de *P. maximus* de classe III prélevées à Saint-Brieuc le 07/12/2004 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et du taux de croissance des trois individus.

L'augmentation brutale de la concentration coquillière en lithium dans les coquilles Saint-Jacques, visible pendant quatre années en rade de Brest (1999, 2000, 2004, 2007), apparaît également dans les coquilles de Belle-Ile en mer en 2001. Par ailleurs, nos résultats démontrent également que cet événement ne s'observe pas tous les ans et n'est pas détecté au sein de toutes les populations étudiées. En effet, deux populations d'individus provenant de deux sites différents (Roscanvel, 2001 ; Baie de Saint-Brieuc, 2002) ne présentent aucun enrichissement transitoire de la teneur coquillière en lithium pendant leur croissance. Toutefois, nos résultats montrent que les évolutions temporelles de la concentration coquillière en lithium et de la croissance journalière apparaissent comparables pour la série d'individus juvéniles prélevés à Roscanvel en 2001 et pour deux spécimens de classe III pêchées la même année en Baie de Saint-Brieuc. Par ailleurs, toute coquille échantillonnée pendant ce travail de thèse met en évidence une légère hausse de la teneur en lithium (0,5 ou 1 ppm) lors de la reprise de croissance printanière. De plus, deux coquilles Saint-Jacques de classe II prélevées à Roscanvel (07/03/2001) montrent clairement une diminution des teneurs coquillières en Li pendant le ralentissement de croissance hivernal (1999-2000). Finalement, les variations temporelles de la concentration coquillière en lithium mesurées dans les valves de *P. maximus* permettent de scinder les individus étudiés en deux sous-ensembles.

(1) Le premier se compose des coquilles dont la concentration valvaire en Li suit un cycle saisonnier et montre un fort « bruit de fond ». Ces variations semblent suivre la croissance journalière de *P. maximus*. Ces résultats nous conduisent aux mêmes conclusions que les travaux de Thébault et al. sur le bivalve *Arctica islandica* (Thébault et al., soumis). Des résultats similaires sont également obtenus sur d'autres carbonates biogéniques marins par Hall et Chan, (2004) et Marriott et al. (2004b).

(2) Le second groupe de coquilles met en évidence de brusques augmentations de la teneur coquillière en lithium. Ces enrichissements apparaissent entre le printemps et l'automne à des périodes variables selon les années et les sites. La bonne reproductibilité inter-individuelle de ces hausses en lithium laisse supposer une origine environnementale des variations de cette concentration élémentaire.

### IV-2-3 Relation lithium - croissance journalière de *Pecten maximus*

Nous considérons, en première hypothèse, que les brusques augmentations épisodiques observées sur certaines séries d'individus sont indépendantes du « bruit de fond » et associées à un autre facteur (l'origine de ces accroissements en Li sera discutée dans le sous-chapitre suivant).

Dans la littérature, de nombreux travaux proposent des hypothèses susceptibles d'expliquer l'incorporation du lithium dans les matériaux carbonatés : concentration en lithium dans le milieu environnant, température, salinité ou taux de croissance de l'animal.

Un test de comparaison (coefficients de détermination  $r^2$ ) a été réalisé entre les variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en Li pour différentes populations d'individus échantillonnées et les variables environnementales considérées (température, taux de croissance, salinité et débit des fleuves) (Tableau 34). Chez tous les individus étudiés (excepté la baie de St-Brieuc), la vitesse de croissance de l'animal semble le meilleur facteur explicatif des variations de la teneur en Li dans l'exosquelette externe de *P. maximus*. Les coefficients de détermination chez toutes les populations étudiées (excepté Saint-Brieuc) sont assez élevés ( $r^2$  varie entre 0,45 et 0,74). De plus, la probabilité qu'il existe un lien entre la teneur coquillière en Li et le taux de croissance de l'animal apparaît statistiquement significative quelle que soit la population étudiée ( $p < 0,0001$ ).

Tableau 34 : Coefficients de détermination ( $r^2$ ) calculés pour identifier des relations entre la teneur coquillière moyenne en lithium chez différentes populations de *P. maximus* ( $n = 3$  valves pour chaque population) et différents paramètres (taux de croissance, température, salinité et débit des fleuves).

Notons que les fleuves considérés sont en rade de Brest : Aulne et Elorn, à Belle-Ile en mer : Loire.

\* 4 valves ont été échantillonnées pour cette population. ND : Non Déterminé.

\*  $p < 0,0001$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; <sup>NS</sup>  $p > 0,05$ .

Critère de population		Coefficient de détermination			
Site d'étude	Année ; date de prélèvement ; âge	Croissance	Débit fleuve	Température	Salinité
Roscanvel	1999 ; 23 mars 2001 ; classe 2	0,566*	0,100*/0,092*	0,325*	0,051**
	2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,737*	0,511*/0,499*	0,542*	0,457*
	2004 ; 3 sept 2004 ; classe 1	0,609*	0,176*/0,238*	0,560*	0,697*
	2007 ; 29 juin/5nov* ; classe 1	0,523*	0,230*/0,311*	0,405*	0,502*
Belle-Ile	2001 ; 13 nov 2001 ; classe 1	0,452*	0,0528 <sup>NS</sup>	0,049 <sup>NS</sup>	0,122*
Saint-Brieuc	2001 ; 7 dec 2004 ; classe 3	0,164*	ND	ND	ND

Ces résultats statistiques renforcent les observations faites au paragraphe précédent (1) toute valve échantillonnée pendant cette étude met en évidence une augmentation de la teneur coquillière en Li à la reprise de croissance printanière (2) la concentration valvaire en lithium tend à diminuer pendant les ralentissements de croissance et (3) il existe une faible corrélation entre la teneur coquillière en Li et le taux de croissance pour la population de la Baie de Saint-Brieuc (1999).

Nous proposons à présent d'évaluer à l'échelon individuel la relation entre la concentration valvaire en Li mesurée par HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) et la croissance journalière. Cette dernière correspond pour chaque surface échantillonnée à la moyenne de la distance inter-strie des stries prélevées (3 ou 5) avec la micro-foreuse "Micromill".

La Figure 60 confirme les résultats obtenus à l'échelle globale pour la population d'individus prélevés le 21/11/2001 en Baie de Roscanvel. Le profil temporel de la teneur en lithium de chaque valve varie conjointement avec la croissance journalière de chaque individu. Pour chaque individu, l'accident de croissance printanier est synchrone avec une diminution de la teneur coquillière en Li dans les coquilles Saint-Jacques. Les coefficients de détermination sont assez élevés ( $r^2$  varie entre 0,34 et 0,66) et les regressions linéaires liant la croissance coquillière à la teneur coquillière en Li sont très significatives ( $p < 0,0001$ ).

En 2007, une brusque augmentation de la teneur coquillière en lithium survient en période automnale (Figure 55). Comme deux séries de trois coquilles juvéniles prélevées à deux dates différentes au cours de cette année (29 juin, 5 novembre) ont été échantillonnées, les trois coquilles Saint-Jacques collectées le 29 juin ne mettent pas en évidence d'accroissement de la concentration valvaire en Li pendant leur période de croissance. Chez les trois individus, les variations ontogéniques de la teneur en lithium dans la matrice carbonatée ressemblent nettement à celles de la croissance journalière de l'animal (Figure 61). Par ailleurs, le ralentissement de croissance qui apparaît mi-avril pour un individu, est synchrone avec une diminution de la teneur en Li dans ses valves. Cet accident de croissance semble dû à l'attaque d'un prédateur (crabe, étoile de mer...), car nous observons également à cette période à la surface de cette valve la cicatrice d'une petite cassure mais sur un autre transect de croissance. Finalement, ces résultats indiquent que l'incorporation du lithium dans les valves de *P. maximus* prélevées en Baie de Roscanvel (ne présentant aucun enrichissement en Li (pic)) semble principalement contrôlée par la croissance journalière de l'animal ( $r^2$  varie entre 0,34 et 0,86).

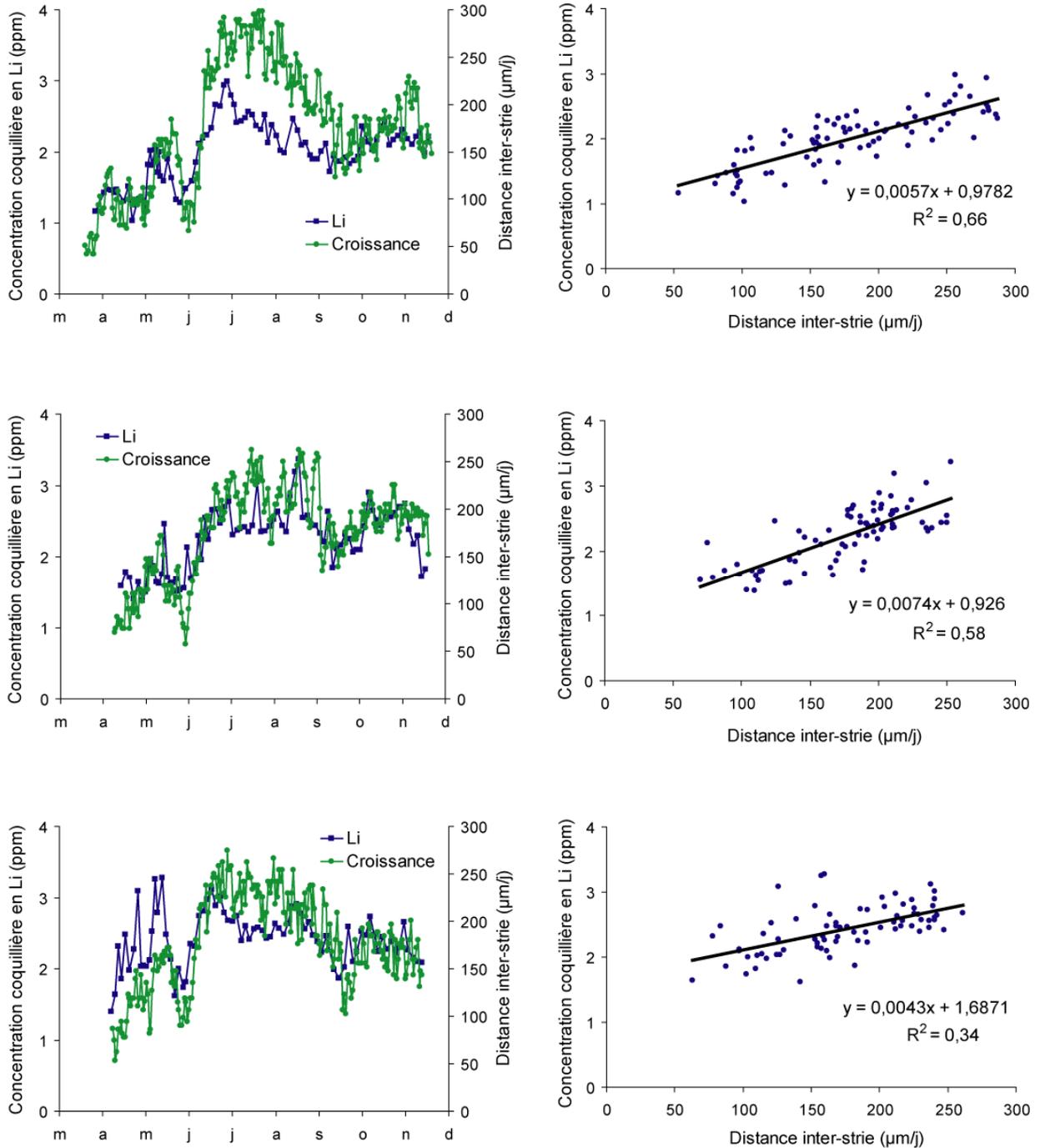


Figure 60 : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de *P. maximus* classe I prélevées à Roscanvel le 21/11/2001 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus ( $p < 0,0001$ ).

IV Variations des concentrations en lithium dans les valves de *Pecten maximus*

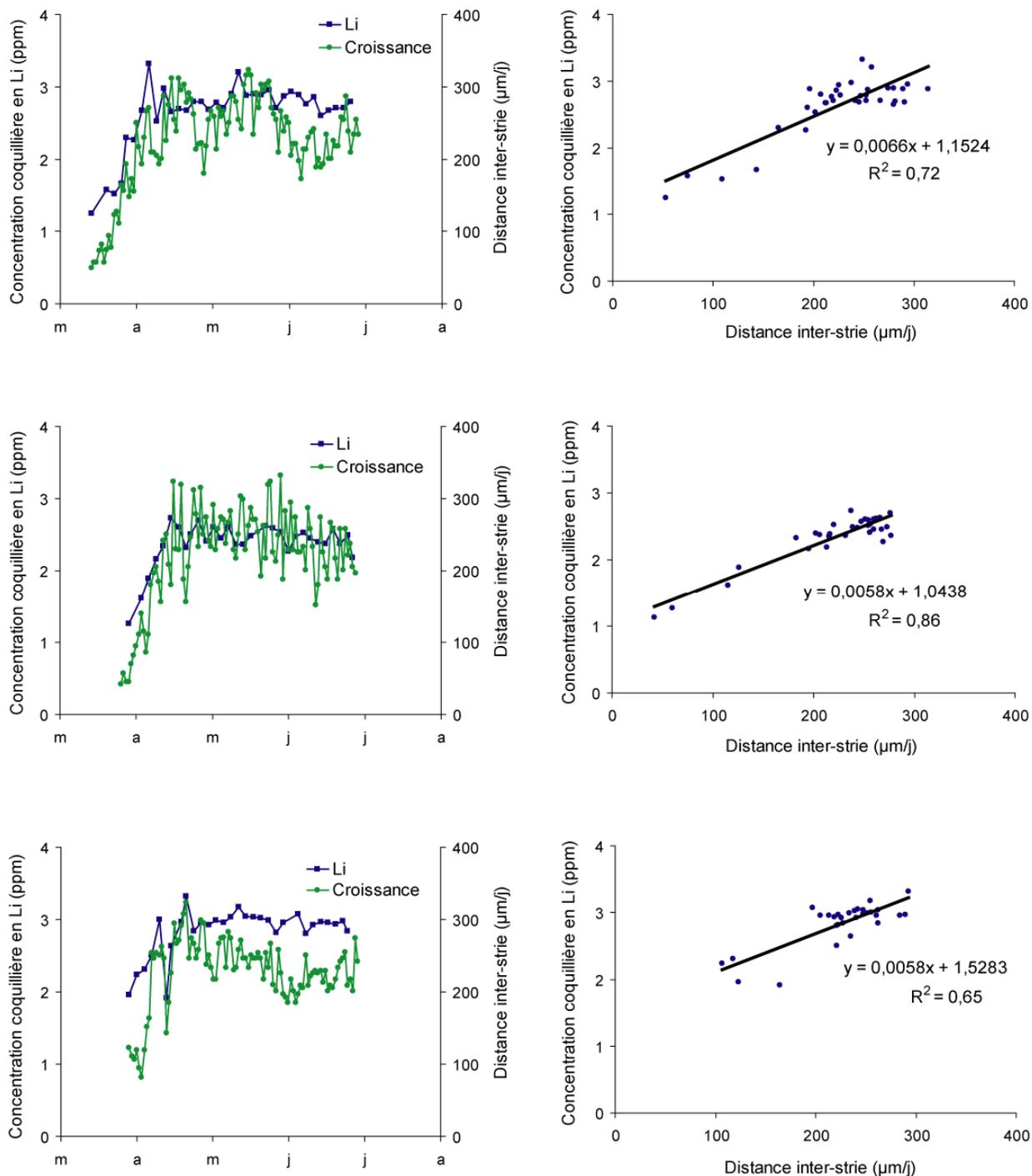


Figure 61 : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de *P. maximus* classe I prélevées en Baie de Roscanvel le 29/06/2007 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et le taux de croissance des trois individus ( $p < 0,0001$ ).

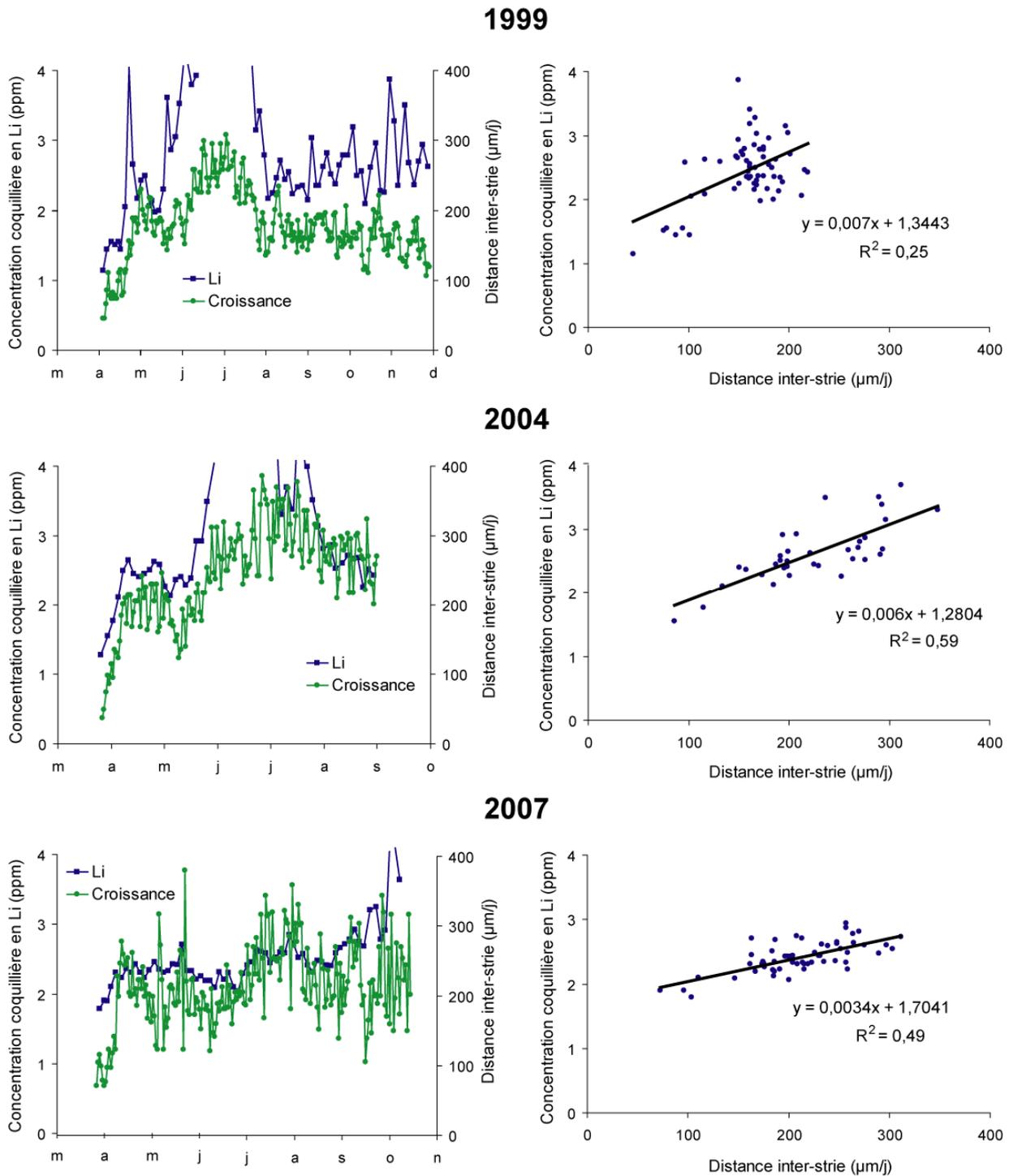


Figure 62 : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de *P. maximus* prélevées en Baie de Roscanvel au cours de trois années (classe II : 1999 ; classe I : 2004, 2007) et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus ( $p < 0,0001$ ).

La Figure 62 illustre la relation entre les variations temporelles du « bruit de fond » (teneur en Li située entre 1 et 4 ppm) d'un individu des autres séries de valves échantillonnées en rade de Brest (classe II : 7 mars 2001 ; classe I : 3 septembre 2004, 5 novembre 2007) avec la croissance journalière. Ainsi, à l'exception des périodes de fort accroissement de la concentration en lithium, les variations temporelles de la croissance journalière et de la concentration valvaire en Li de *P. maximus* sont comparables. Une corrélation entre le « bruit de fond » de la teneur en Li et la croissance coquillière pour ces 3 populations d'individus de *P. maximus* existe également. Toutefois, les trois valves couvrant l'année 1999 présentent des coefficients de détermination plus faibles ( $r^2$  entre 0,25 et 0,54 ;  $p < 0,001$ ). Finalement, l'influence du taux de croissance sur la teneur en Li dans les valves de *P. maximus* prélevées en Baie de Roscanvel apparaît quelles que soient l'année et la classe d'âge des individus.

Pour les individus prélevés dans l'écosystème « rade de Brest », une autre observation renforce l'hypothèse du contrôle de l'incorporation du lithium dans la calcite par la croissance. Au sein d'une même population, le profil temporel de la teneur coquillière en Li chez *P. maximus* est spécifique à chaque individu. À titre d'exemple, nous comparons les teneurs valvaires moyennes en Li et la croissance journalière des deux séries de trois coquilles juvéniles d'une même population prélevées à deux dates différentes au cours de l'année 2007 (classe I : 29 juin, 5 novembre). La Figure 63 illustre clairement que les courbes de la concentration coquillière en Li et de la croissance journalière des individus de chaque série présentent la même dynamique.

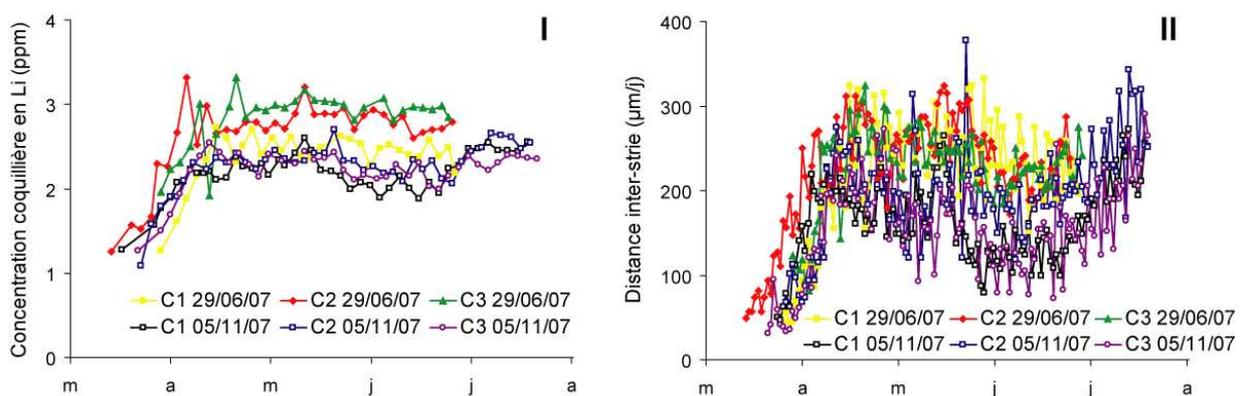


Figure 63 : Variabilité saisonnière (I) des concentrations coquillières en Li et (II) de la croissance journalière de six individus de *P. maximus* classe I issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007).

Toutefois, les coquilles prélevées le 29 juin ont une croissance journalière printanière plus importante que celles collectées le 5 novembre soit 245  $\mu\text{m}/\text{j}$  et 169  $\mu\text{m}/\text{j}$  respectivement (Figure 64). Or, la teneur en lithium dans ces valves est également plus élevée ( $\sim 2,74$  ppm pour individus collectés le 29 juin ;  $\sim 2,26$  ppm pour individus collectés le 5 novembre). Seul un effet cinétique peut expliquer cette différence d'incorporation du lithium dans des valves juvéniles de *P. maximus* prélevées la même année en Baie de Roscanvel. On peut donc supposer que l'incorporation du lithium dans les coquilles Saint-Jacques prélevées en Baie de Roscanvel est liée, au moins en partie, à des facteurs physiologiques et non environnementaux.

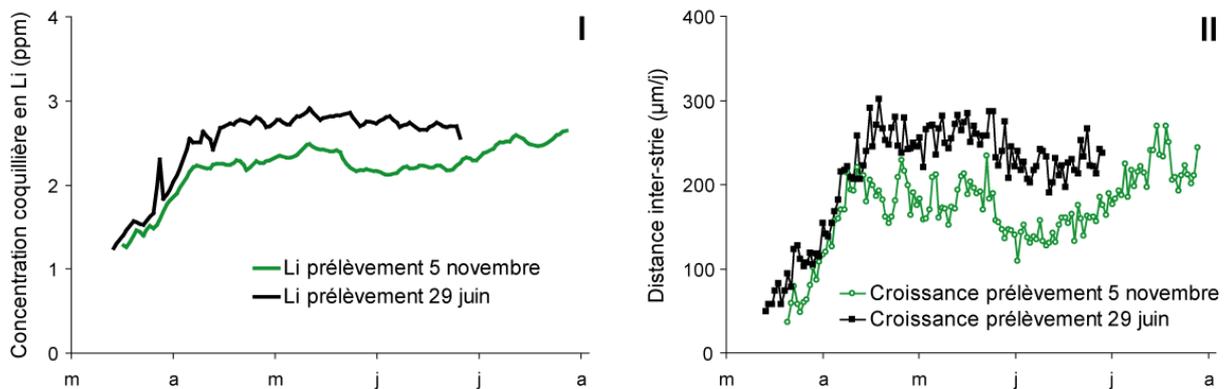


Figure 64 : Variabilité saisonnière (I) des concentrations coquillières en Li et (II) de la croissance journalière moyenne des deux lots de trois individus de *P. maximus* issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007).

Par ailleurs, Buseberg & Plummer (1984) ont suggéré que la quantité d'ions  $\text{Na}^+$  incorporés dans les matrices calcitiques biogéniques marines était contrôlée par le taux de croissance. En effet, un taux de précipitation des carbonates plus important augmenterait la quantité de défauts structuraux dans la calcite et entraînerait une intercalation des ions  $\text{Na}^+$  plus élevée. Il est donc possible que cette hypothèse puisse expliquer la relation entre la croissance journalière de *P. maximus* et la quantité de lithium incorporée dans sa coquille. En effet, l'ion alcalin  $\text{Li}^+$  s'intercale également dans une organisation cristalline calcitique (Okumura et al., 1984) et le lithium a des propriétés chimiques très proches du sodium (dans la classification périodique de Mendeleiev, il se place en colonne 1A juste au dessus du sodium).

### Belle-Ile en mer

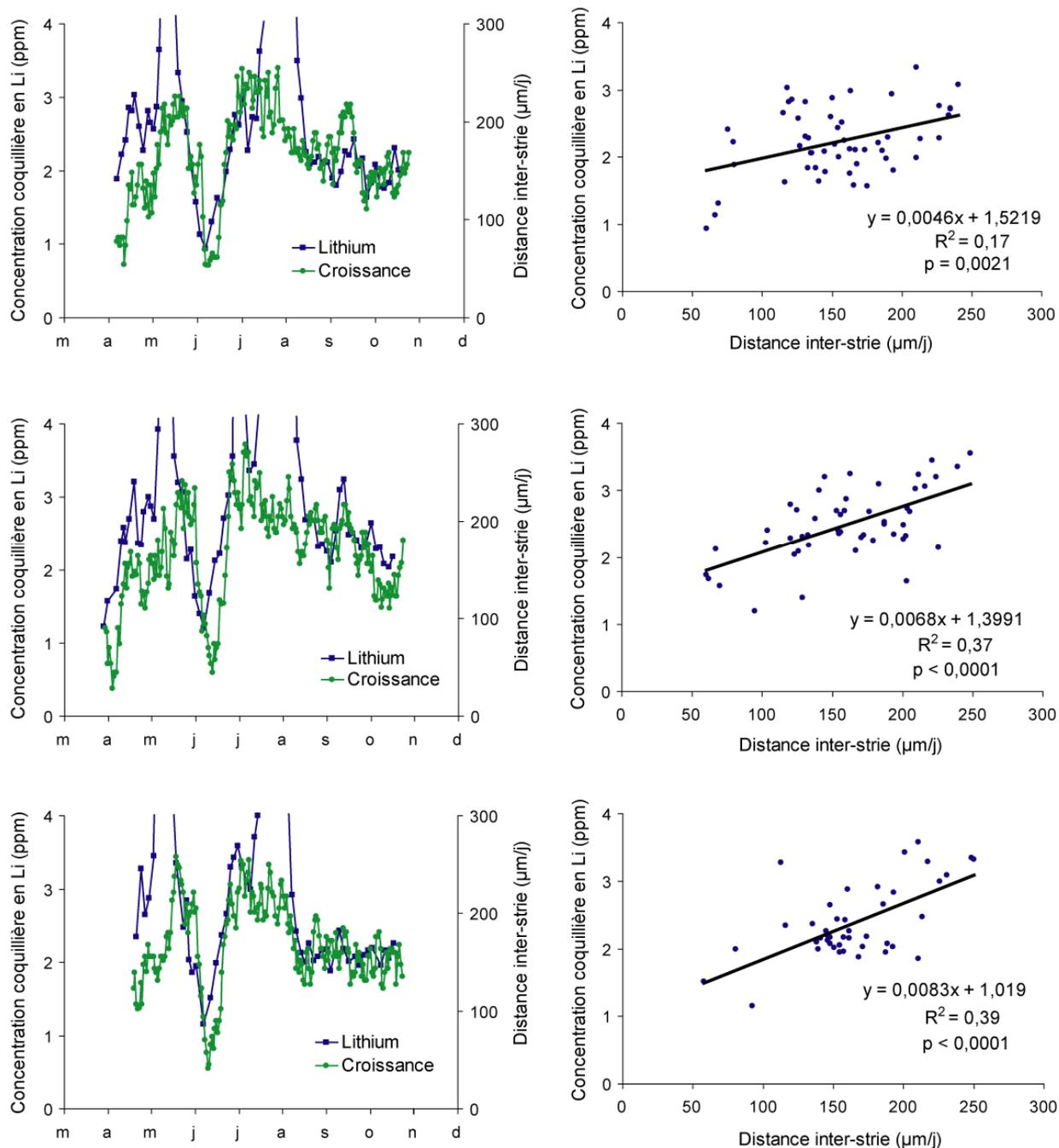


Figure 65 : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de *P. maximus* classe I prélevées à Belle-Ile en mer (13 novembre 2001) et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus.

A ce stade du raisonnement, il convenait de vérifier si la relation entre la teneur coquillière en Li et la croissance journalière dans les coquilles Saint-Jacques existait dans d'autres environnements côtiers bretons (Belle-Ile en mer : Figure 65 ; Baie de Saint Brieuc : Figure 59).

Nous avons noté dans le paragraphe précédent que la corrélation entre la teneur en lithium et le taux de croissance de l'animal était moins évidente pour des individus de *P. maximus* pêchées en Baie de Saint-Brieuc. Pour la série de valves issues de Belle-Ile en mer, les variations temporelles du « bruit de fond » en Li et du taux de croissance apparaissent similaires. Toutefois, la relation entre ces deux paramètres est moins élevée qu'en rade de Brest ( $r^2$  varie entre 0,17 et 0,38 ;  $p < 0,01$ ). Ces observations supposent qu'un deuxième paramètre doit contrôler l'incorporation du lithium dans la calcite des coquilles Saint-Jacques et son influence semblerait plus significative chez les individus prélevés en Baie de Saint-Brieuc. Toutefois, aucune donnée environnementale (salinité, température, débit des fleuves) n'est disponible pour ce site.

#### **IV-2-4 Influence d'un ou plusieurs paramètres environnementaux sur l'incorporation du lithium chez *Pecten maximus* ?**

Notre étude est la première à observer des accroissements transitoires de la teneur coquillière en lithium dans des matériaux biocarbonatés. Chez *P. maximus*, notre groupe de travail (LEMAR/LCABIE) a déjà retrouvé une dynamique semblable pour d'autres éléments (Ba, Mo, Mn, Tableau 2). En effet, un paramètre environnemental semble entraîner, à certaines périodes de l'année, une incorporation plus importante de Ba, de Mn et de Mo dans l'exosquelette carbonaté (Barats et al. 2007, 2009, Paragraphe IV-1). Il convenait donc de vérifier si les enrichissements de la concentration valvaire en Li dans les coquilles Saint-Jacques étaient synchrones à ceux mesurés pour le Mo, le Ba et le Mn. Nous avons montré dans le paragraphe précédent que les pics en lithium apparaissent à des périodes différentes à ceux obtenus pour le molybdène. En rade de Brest, c'est également le cas pour le baryum et le manganèse (Figure 66). Une autre origine semble donc expliquer les brusques augmentations de la teneur coquillière en Li chez *P. maximus*. Nous proposons, à présent d'essayer d'une part de comprendre comment ces évènements (pics en Li) peuvent apparaître, et d'autre part, d'identifier le paramètre environnemental qui semble contrôler l'incorporation du lithium dans les valves de *P. maximus*.

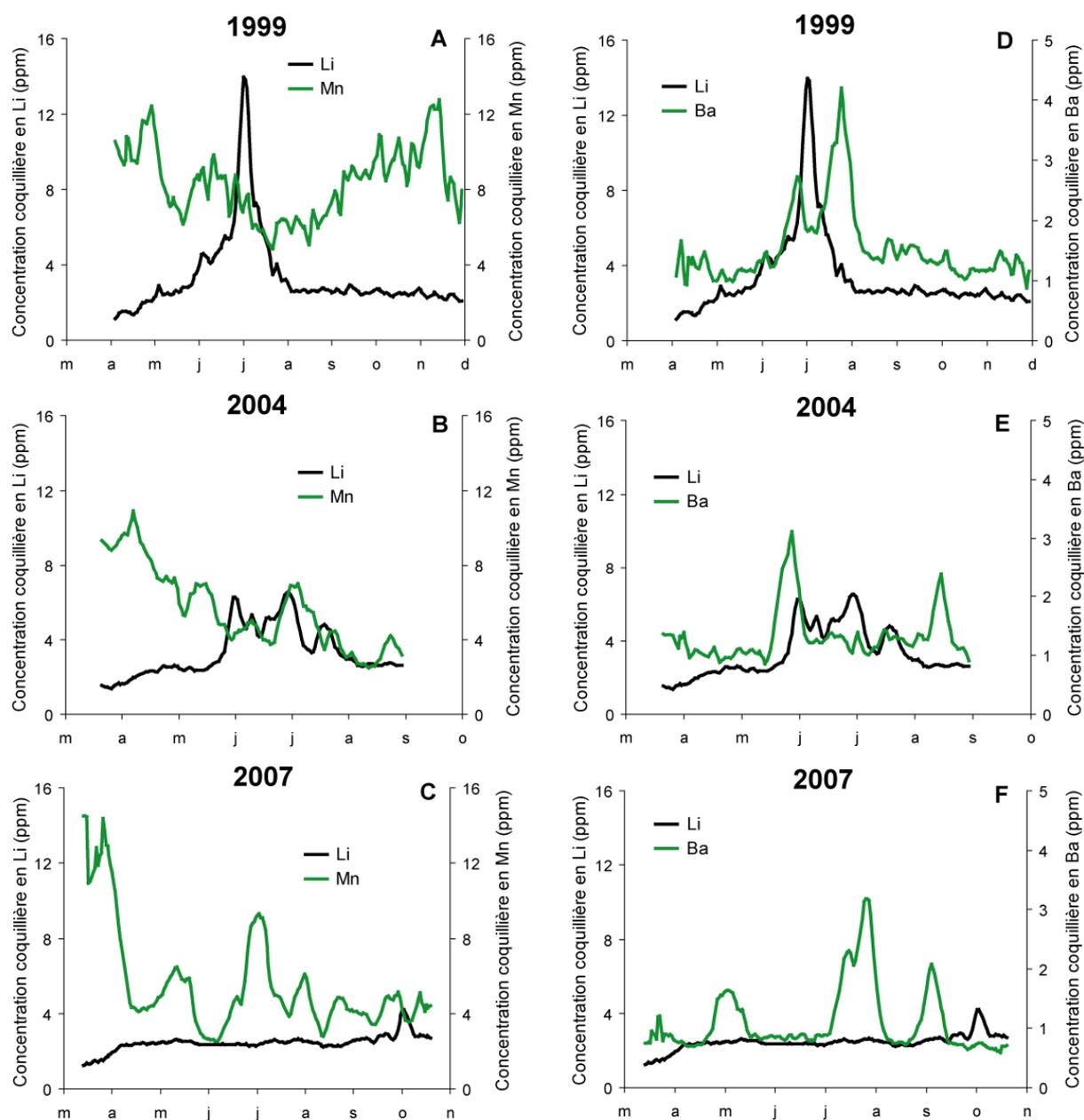


Figure 66 : Comparaison des variations ontogéniques des concentrations valvaires moyennes en lithium avec celles en manganèse (A, B, C) et avec celles en baryum (D, E, F) chez des individus ( $n = 3$ ) de *P. maximus* prélevées à Roscanvel (classe II : 1999 ; classe I : 2004, 2007).

Deux séries d'individus prélevés en baie de Roscanvel (21/11/2001 ; 29/06/2007) ne présentent aucun pic de concentration en Li pendant leur période de croissance (Paragraphe IV-2-3). L'utilisation de ces données permet d'établir une relation linéaire liant la concentration valvaire en Li des coquilles Saint-Jacques à la croissance journalière (Figure 67).

L'équation empirique croissance/teneur Li calculée est la suivante :

$$\text{Li(coquille en ppm)} = 0,0061 * \text{croissance } (\mu\text{m/j}) + 1,1626$$

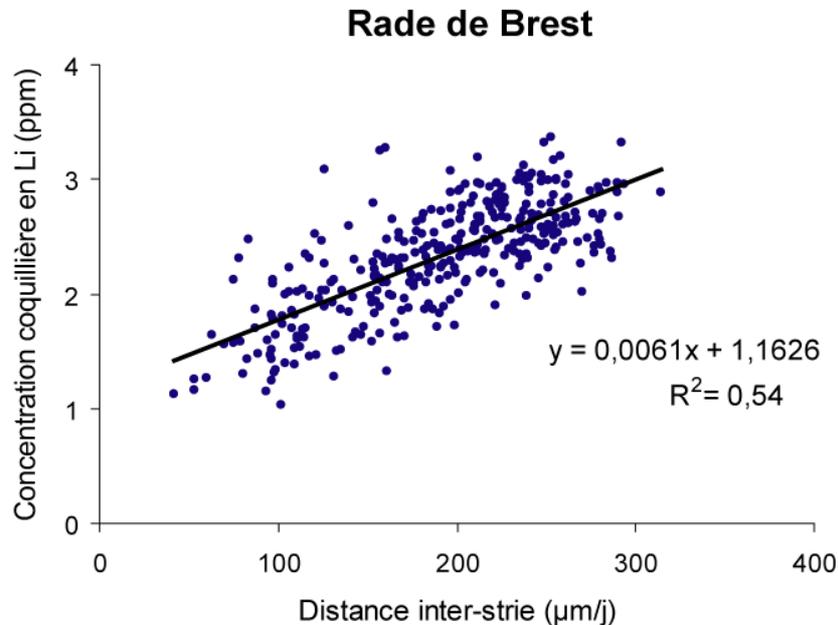


Figure 67 : Relation liant la teneur coquillière en Li avec la croissance journalière chez des individus juvéniles de *P. maximus* prélevés sur le site de Roscanvel (21/11/2001 et 29/06/2007). Ces individus ne présentent pas d'enrichissement épisodique de la concentration valvaire en Li pendant leur croissance.

Cette équation est donc appliquée aux trois séries d'individus de *P. maximus* pêchés à Roscanvel (classe II : 07/03/2001 ; classe I : 03/09/2004, 05/11/2007) et à un autre lot d'individus de *P. maximus* prélevés à Belle-Ile en mer (classe I : 13/11/2001) qui mettent en évidence de brusques augmentations de la teneur coquillière en Li pendant leur croissance. Comme le profil de croissance a été calculé pour chaque individu, cette équation permet d'estimer la quantité de lithium incorporée dans la matrice carbonatée liée à la croissance journalière. Rappelons qu'en 2007 deux séries de coquilles d'une même population (Roscanvel, classe I) ont été échantillonnées pendant cette étude, seuls les individus pêchés le 5 novembre présentent un pic en Li pendant leur période de croissance. Après cette opération, la Figure 68 illustre clairement que le signal résiduel de la teneur moyenne en lithium dans les valves de *P. maximus* reste voisine de zéro. Seules les périodes pendant lesquelles apparaissent des hausses transitoires de la teneur coquillière en Li se détachent du niveau de base.

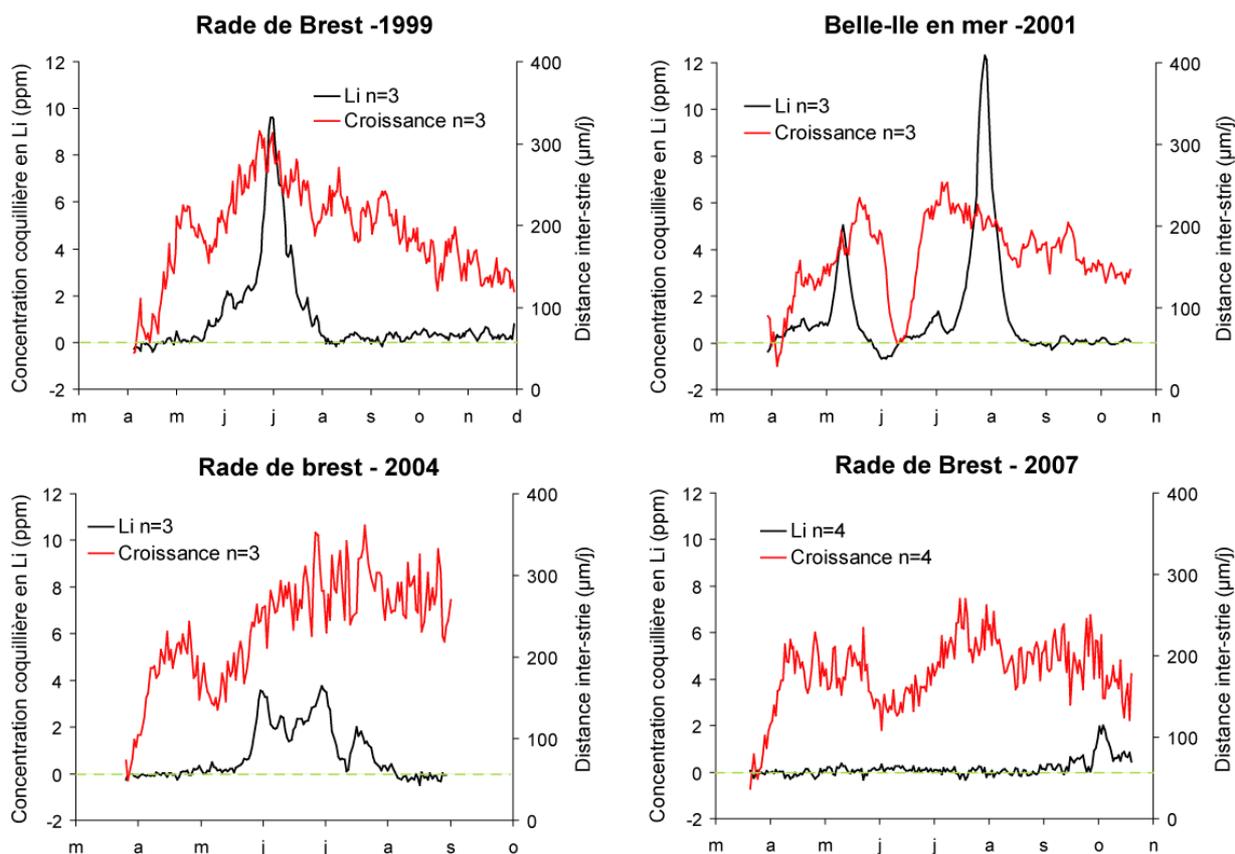


Figure 68 : Variations résiduelles de la concentration coquillière en Li après soustraction de l'influence de la croissance coquillière (Roscanvel, 1999, 2004, 2007 ; Belle-Ile en mer 2001).

Si les enrichissements de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus* se synchronisent avec les fortes périodes de croissance coquillière en 1999 et en 2004 à Roscanvel ce n'est en revanche pas le cas en 2007 à Roscanvel et en 2001 à Belle-Ile en mer. Cette observation écarte un éventuel lien entre les pics en lithium dans les coquilles Saint-Jacques et la vitesse de croissance de l'animal (Figure 68).

Nous proposons de mettre en relation les nouveaux profils saisonniers de la teneur coquillière en Li déconvolués de l'influence de la croissance coquillière avec les diverses variables environnementales suivies régulièrement en rade de Brest par l'IUEM (OSU/IUEM) (Paragraphe II-6-1). L'objectif est de mieux comprendre les processus bio-géochimiques qui génèrent ces accroissements de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus*.

IV Variations des concentrations en lithium dans les valves de *Pecten maximus*

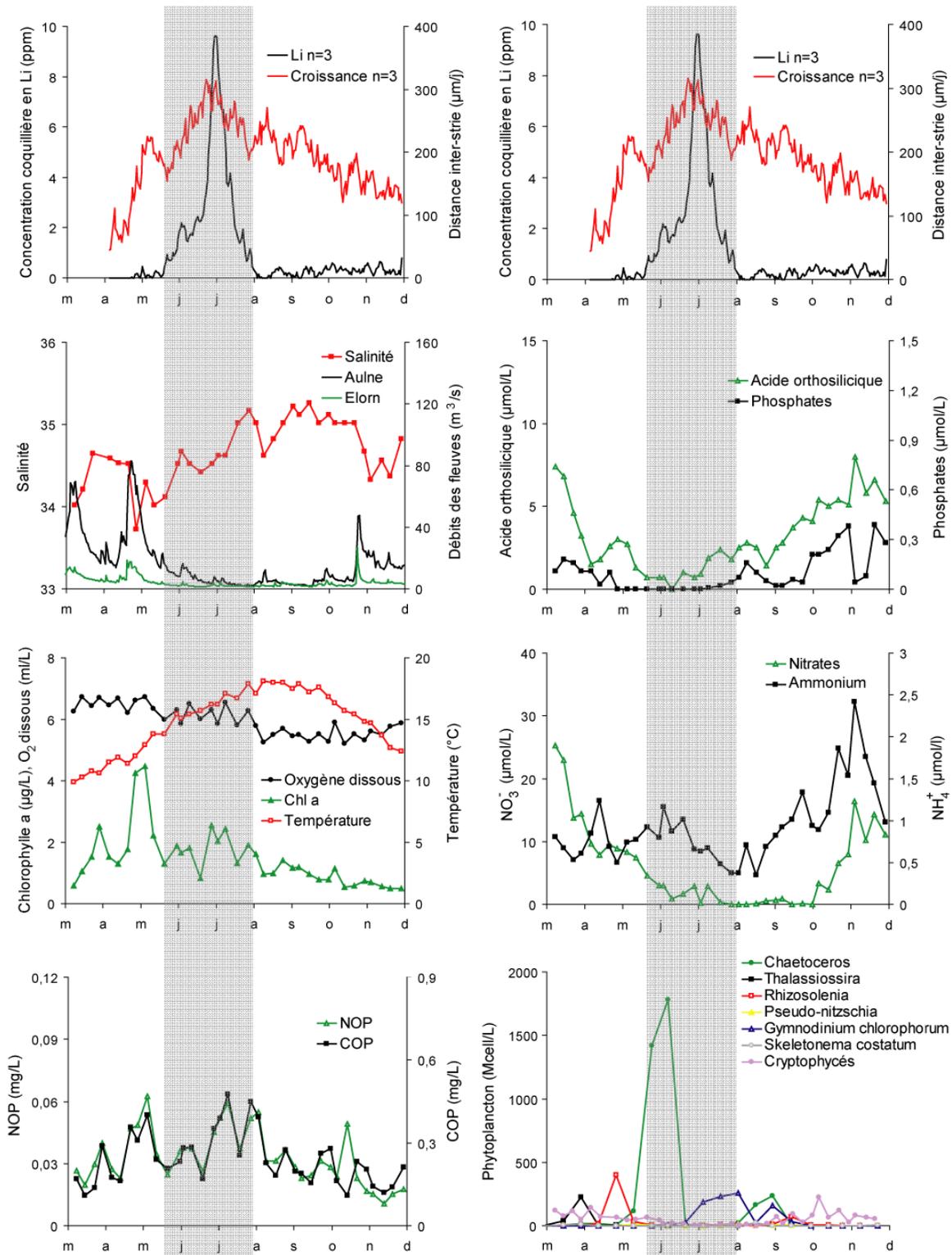


Figure 69 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour trois individus de *P. maximus* soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 1999.

IV Variations des concentrations en lithium dans les valves de *Pecten maximus*

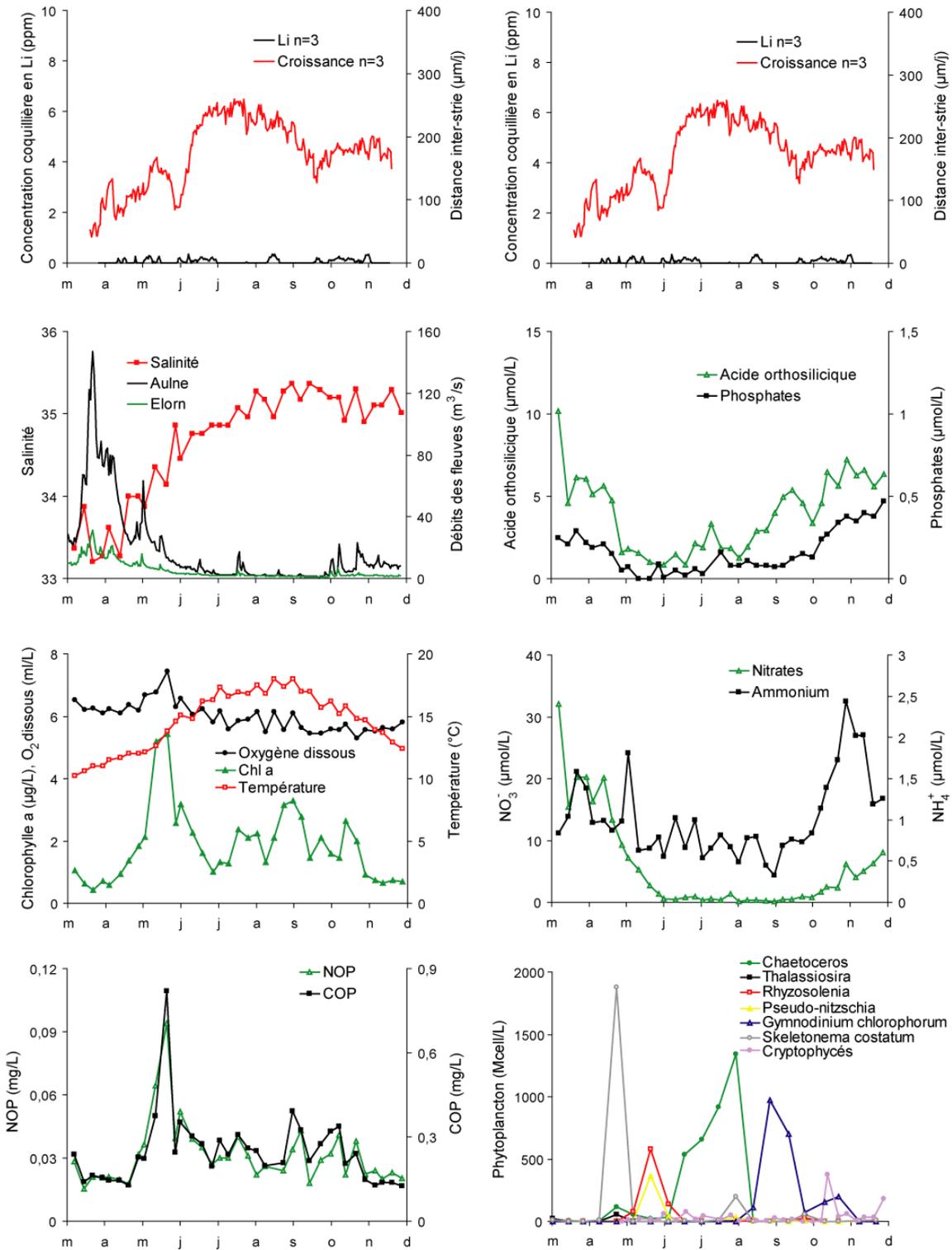


Figure 70 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour trois individus de *P. maximus* soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés au cours de l'année 2001.

IV Variations des concentrations en lithium dans les valves de *Pecten maximus*

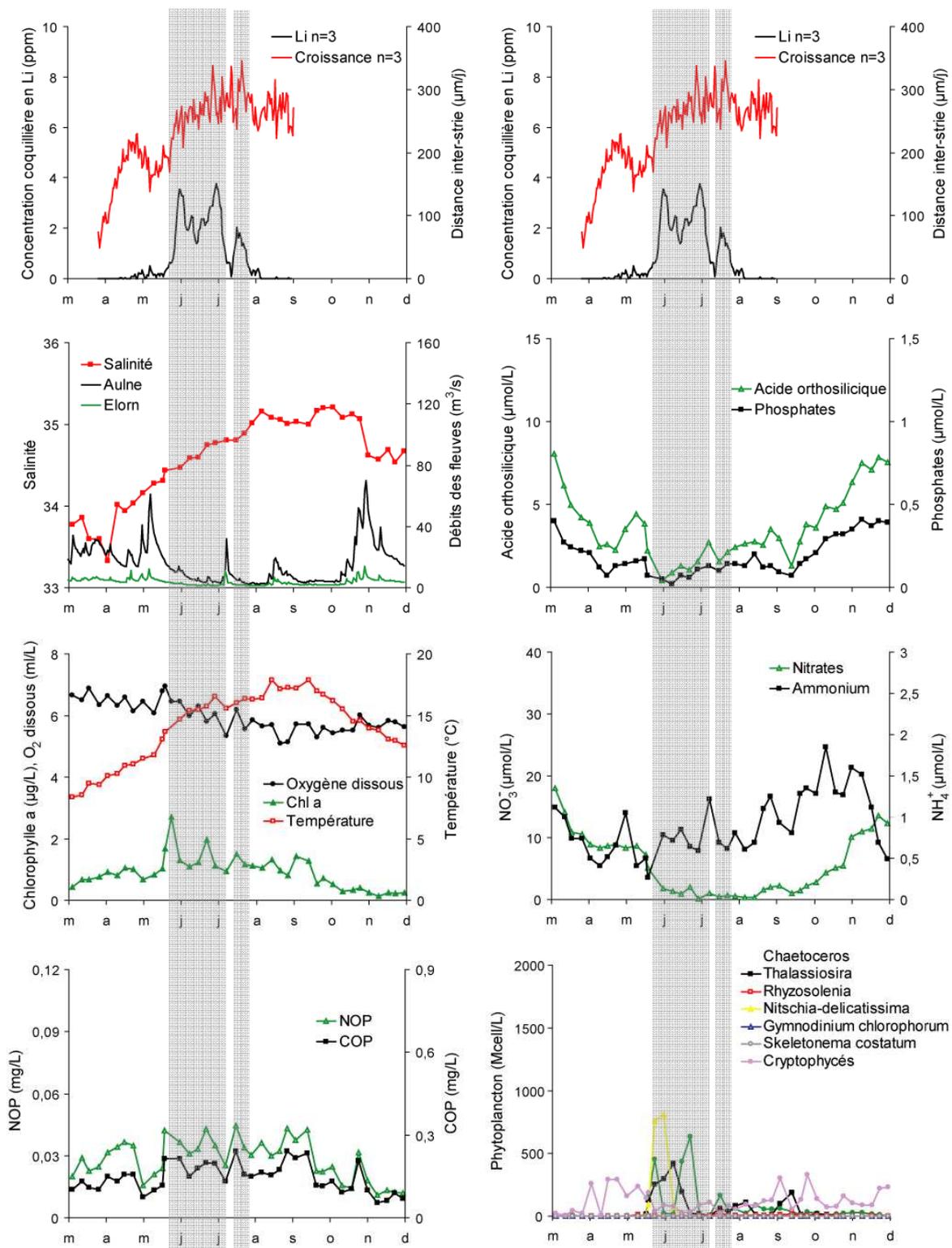


Figure 71 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour trois individus de *P. maximus* soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés au cours de l'année 2004.

IV Variations des concentrations en lithium dans les valves de *Pecten maximus*

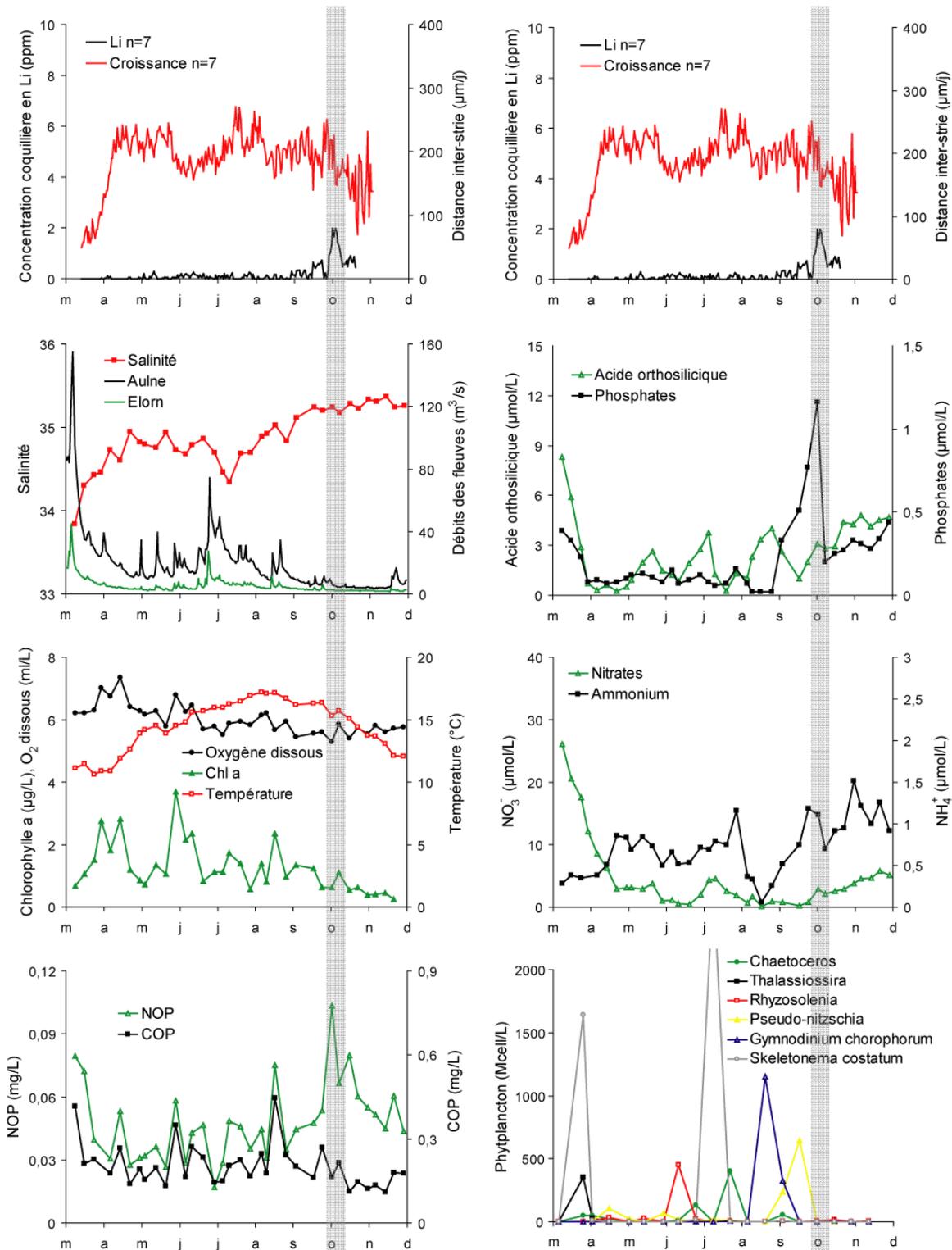


Figure 72 : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour sept individus de *P. maximus* soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés au cours de l'année 2007.

Delaney et al. (1985) suggèrent que le rapport Li/Ca des foraminifères serait principalement contrôlé par le rapport Li/Ca du milieu environnant. À l'heure actuelle, il n'existe pas de suivi temporel ou de données de la concentration en lithium des écosystèmes littoraux bretons étudiés au cours de ce travail de thèse. Huh et al. (1998) estiment que le temps de résidence moyen du lithium dissous dans l'océan est de 1,5 à 3 Ma. Ce temps suffisamment long suppose une homogénéisation de la concentration en Li (0,2 ppm) et de son rapport isotopique dans les océans (Chan and Edmond, 1988 ; You et al., 1996 ; Bryant et al., 2003). Par ailleurs, les sources majeures du lithium dans les océans viennent de deux processus différents : (1) les fleuves et (2) des réactions d'altération de la croûte océanique (Stoffyn-Egli and Mackenzie, 1984). Edmond et al. (1979) considèrent que les réactions d'altération ont des apports 5 à 10 fois plus importants que les fleuves. La concentration moyenne en lithium dans les fleuves varie, à l'échelle du globe : Li (dissous) entre 0,23 et 81 ppb ; Li (particulaire) entre 30 et 60 ppm (Huh et al., 1998 ; 2001). Ces données révèlent que les eaux fluviales peuvent nettement influencer le budget de Li dans les estuaires ou les écosystèmes côtiers. L'aspect reproductible des enrichissements en lithium entre individus d'une même population suggère l'hypothèse d'une hausse éphémère de la concentration en lithium dans la colonne d'eau. Or, la corrélation entre la concentration valvaire en lithium dans les valves de *P. maximus* et les débits des fleuves est faible voire inexistante ( $r^2$  entre 0,09 et 0,51 pour les individus prélevés en rade de Brest ;  $r^2 = 0,06$ ,  $p > 0,05$  pour le site de Belle-Ile en mer). De plus, les brusques augmentations de la concentration valvaire en lithium des coquilles Saint-Jacques prélevées dans la Baie de Roscanvel apparaissent toujours quand les débits de l'Aulne et de l'Elorn sont faibles (Figure 69, Figure 71 et Figure 72). Ces observations écartent l'hypothèse que ces événements (pics en Li) soient directement reliés aux apports des eaux fluviales. Par ailleurs, la variabilité de cet élément dans la masse d'eau environnante associée aux crues des fleuves ne semble pas influencée la teneur en Li dans les valves de *P. maximus*. Toutefois, il est possible que les eaux fluviales, suite aux crues hivernales et à leur probable teneur élevée en Li, aient un apport non négligeable en lithium dans les écosystèmes côtiers. Il conviendrait donc dans l'avenir de mesurer la variabilité temporelle de la concentration en lithium dans la colonne d'eau et à l'interface eau-sédiment.

Plusieurs études ont observé l'existence d'une relation inverse entre la température de la masse d'eau et le rapport Li/Ca chez les brachiopodes (Delaney et al., 1989), les coraux (Marriott et al., 2004a), les foraminifères (Marriott et al., 2004b ; Hall and Chan, 2004) et les carbonates

inorganiques à structure calcite (Marriott et al., 2004a). En revanche, Thébault et al. (soumis) constatent que la quantité de lithium incorporée dans l'exosquelette externe du bivalve *Arctica islandica* est plus importante quand la température augmente. Ces auteurs indiquent que la relation positive entre le rapport Li/Ca des valves d'*Arctica islandica* et la température est en accord avec les lois de la thermodynamique qui prévoit une diminution de la solubilité du carbonate de lithium ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ) quand la température augmente. Cela signifie que la formation des cristaux  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  dans le fluide extra-palléal est facilitée par des températures élevées. La concentration en lithium dans les valves de *P. maximus* augmente régulièrement au printemps lorsque la masse d'eau se réchauffe. Nos résultats concernant les individus pêchées dans l'écosystème "rade de Brest" (Tableau 34) indiquent qu'il existe une relation linéaire positive entre la température et la teneur en Li dans les coquilles Saint-Jacques ( $r^2$  varie entre 0,32 et 0,56 ;  $p < 0,0001$ ). Toutefois, nous ne remarquons pas d'anomalie thermique pendant l'accident de croissance printanier en 2001 (Figure 73). Or, la teneur coquillière en lithium dans les coquilles Saint-Jacques diminue de 0,6 ppm à cette période. D'autre part, le profil saisonnier de la température en Baie de Roscanvel ne ressemble pas à celui de la concentration valvaire en lithium dans les coquilles Saint-Jacques. À titre d'exemple, la hausse progressive de la température d'avril à mi-août 2007 n'apparaît pas dans les variations ontogéniques de la teneur en Li dans les valves de *P. maximus*. Nos résultats sont en accord avec l'ensemble des travaux réalisés sur les biocarbonates marins (Delaney et al., 1989 ; Hall et Chan, 2004 ; Marriott et al., 2004b ; Thébault et al., soumis). La température du milieu dans lequel croît *P. maximus* semble avoir une faible influence sur l'incorporation du lithium dans la coquille.

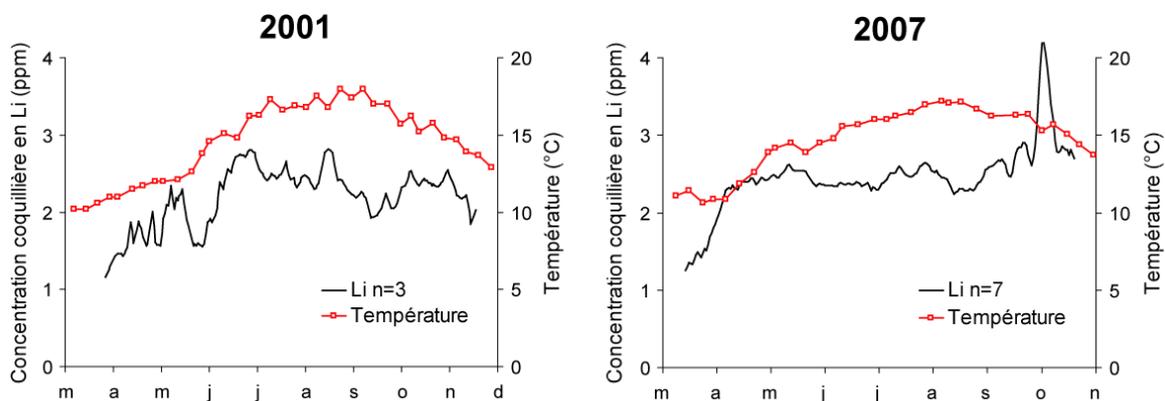


Figure 73 : Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en lithium dans les valves de *P. maximus* classe I prélevées en Baie de Roscanvel (2001, 2007) et la température.

Marriott et al. (2004b) ont observé une augmentation d'un facteur 4 du rapport Li/Ca dans des carbonates inorganiques à structure calcitique lorsque la salinité variait de 10 à 50. En revanche, ces auteurs n'ont pas mis en évidence de variations significatives pour le rapport Li/Ca des carbonates inorganiques à structure aragonitique dans les mêmes conditions. Selon Marriott et al. (2004), cette disparité serait liée au processus d'incorporation du lithium dans la matrice carbonatée qui diffère selon l'organisation cristalline. L'ion alcalin  $\text{Li}^+$  s'intercale en induisant des ruptures de liaisons faibles dans la calcite alors qu'il substitue totalement le cation  $\text{Ca}^{2+}$  dans l'aragonite (Onuma et al., 1979 ; Okumura & Kitano, 1986). De ce fait, la teneur en lithium dans un biocarbonate aragonitique serait surtout contrôlée par le rapport Li/Ca dans la masse d'eau environnante suite à la rivalité des ions  $\text{Li}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  pour précipiter avec les ions carbonates. Par contre, l'incorporation du lithium dans un biocarbonate calcitique dépendrait de la teneur en lithium dans le milieu ambiant. Par ailleurs, les travaux de Ishikawa and Ichikuni (1984) ont montré que l'ion alcalin  $\text{Na}^+$  s'intercale également dans des biocarbonates calcitiques et qu'une augmentation de la salinité entraînait également un rapport Na/Ca plus élevé. Ces résultats supposent que l'influence de la salinité s'appliquerait pour tous les métaux alcalins (K, Rb, Cs) (Marriott et al., 2004b). Notons que les coquilles Saint-Jacques sont en calcite excepté la partie située sous le muscle adducteur qui se compose d'aragonite (Roux et al. 2000 ; Lorrain, 2002). Les surfaces échantillonnées le long de l'axe de croissance des coquilles Saint-Jacques sont donc entièrement en calcite. La salinité pourrait contrôler l'incorporation du lithium dans les valves de *P. maximus*. Toutefois, Marriott et al. (2004b) ont remarqué que la faible variabilité de la salinité dans l'eau de mer (1 unité) ne pouvait pas expliquer les variations importantes du rapport Li/Ca obtenues chez les foraminifères. Ces auteurs supposent que la salinité peut influencer l'incorporation du lithium dans les biocarbonates marins calcitiques si ces organismes se développent dans des écosystèmes subissant des modifications brutales de ce paramètre (tels les estuaires). *Pecten maximus*, étant une espèce sténohaline<sup>19</sup>, cet organisme est surtout présent dans des écosystèmes où la variabilité de la salinité est faible (33 à 35,5 à Roscanvel et de 30 à 36 à Belle-Ile en mer). Dans l'écosystème "rade de Brest", la salinité oscille autour de 33 pendant l'hiver puis augmente progressivement au début du printemps pour atteindre une valeur voisine de 35 entre avril et juin jusqu'à décembre. La Figure 74 montre que les variations saisonnières de la salinité et de la concentration en lithium dans les valves de *P. maximus* se ressemblent pour l'année 2007. Si les coefficients de détermination sont assez élevées pour trois populations

d'individus (Roscanvel : 2001, 2004, 2007  $r^2$  varie entre 0,45 et 0,7 ;  $p < 0,0001$ ), ils apparaissent très faibles pour les deux autres séries d'individus échantillonnées pendant cette étude (Roscanvel 1999  $r^2 = 0,05$   $p < 0,01$ , Belle-Ile en mer 2001  $r^2 = 0,12$   $p < 0,0001$ ). Il est possible que la faible corrélation obtenue pour Belle-Ile en mer soit liée à des données de salinité non représentatives du site. En effet, les profils de salinité ont été enregistrés au site de Quiberon (distant de 4 km du lieu de prélèvement des valves). Par ailleurs, de la même façon que pour la température, il ne se produit pas de grande variation de salinité pendant l'accident de croissance printanier en 2001, période pendant laquelle la teneur en Li chez *P. maximus* chute brutalement de 0,6 ppm. En 2001, l'augmentation de la teneur coquillière en lithium dans les coquilles Saint-Jacques à la reprise de croissance printanière apparaît avant celle de la salinité. Enfin, la légère dessalure observée en juillet 2007 suite à une augmentation des débits de l'Aulne et de l'Elorn, n'entraîne aucune diminution de la concentration valvaire en Li de *P. maximus*. En rade de Brest, la salinité semble avoir un faible effet sur l'incorporation du lithium dans les valves des coquilles Saint-Jacques. Etant donnée l'organisation cristalline de la coquille de *P. maximus* et les interprétations de Mariott et al. (2004b), une influence de la salinité ne peut pas être totalement écartée pour l'ensemble des populations de *P. maximus* qui, ubiquitiste, se répartissent dans des écosystèmes contrastés le long de la façade atlantique européenne.

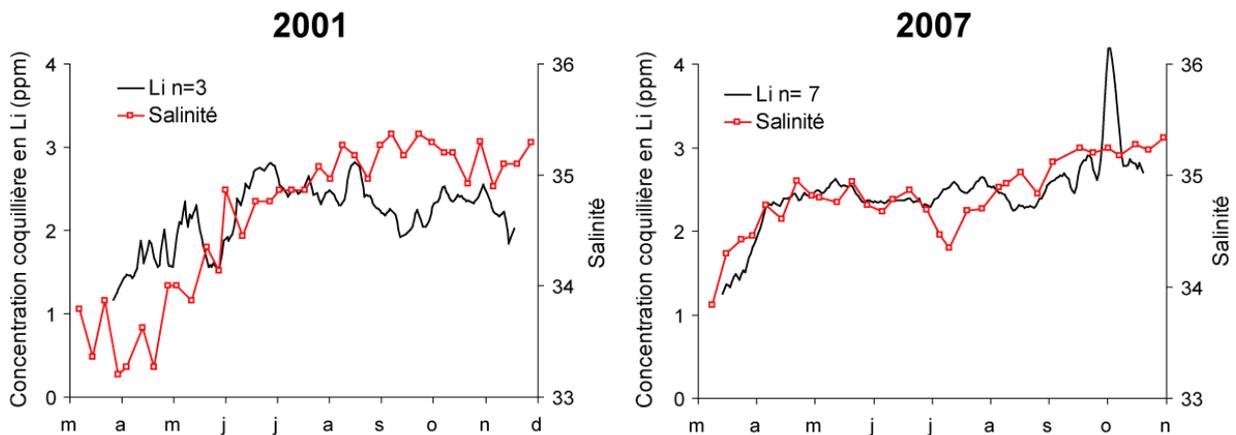


Figure 74 : Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en lithium dans les valves de *P. maximus* classe I prélevées en Baie de Roscanvel (2001, 2007) et la salinité.

À ce stade du raisonnement, nos résultats indiquent que la variabilité du « bruit de fond » de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus* semble principalement contrôlée par le taux de

croissance mais aussi à une moindre mesure par la température de l'eau et par la salinité. Rappelons que des précédents travaux réalisés par Chauvaud (1998) et Lorrain (2002) ont observé que la croissance de *P. maximus* co-varie avec la salinité et la température de l'eau environnante. Nous proposons de réaliser une régression linéaire multiple entre les variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en Li pour différentes populations de *P. maximus* et ces trois variables environnementales (température, salinité, taux de croissance). Le Tableau 35 regroupe les résultats statistiques obtenus en écartant les périodes d'enrichissements en Li puis en les considérant.

Tableau 35 : Coefficients de détermination ( $r^2$ ) calculés après une régression linéaire multiple entre la teneur coquillière moyenne du lithium chez différentes populations de *P. maximus* (n=3 valves pour chaque population) et trois variables environnementales (taux de croissance, température, salinité et débit des fleuves). a : taux de croissance de l'animal, b : température de l'eau, c : salinité.

•Rappelons que les individus couvrant l'année 2001 ne mettent en évidence aucun pic de Li.

\* 4 valves ont été échantillonnées pour cette population. \*\*  $p < 0,01$ .

Critère de population		Coefficients de détermination $r^2$ ( $p < 0,001$ )				
Site d'étude	Année ; date de prélèvement ; âge	a	a + b	a + c	b + c	a + b + c
<b>les périodes d'enrichissements de la teneur valvaire en Li sont écartées</b>						
<b>Roscanvel, rade de Brest</b>	1999 ; 23 mars 2001 ; classe 2	0,566	0,577	0,570	0,468	0,578
	•2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,737	0,744	0,747	0,553	0,747
	2004 ; 3 sept 2004 ; classe 1	0,609	0,645	0,715	0,757	0,775
	2007 ; 29 juin/5nov* ; classe 1	0,523	0,618	0,768	0,620	0,786
<b>Belle-Ile en mer</b>	2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,452	0,540	0,452	0,062**	0,550
<b>les périodes d'enrichissements de la teneur valvaire en Li sont considérées</b>						
<b>Roscanvel, rade de Brest</b>	1999 ; 23 mars 2001 ; classe 2	0,439	0,481	0,456	0,190	0,485
	2004 ; 3 sept 2004 ; classe 1	0,369	0,373	0,380	0,394	0,502
	2007 ; 29 juin/5nov* ; classe 1	0,259	0,346	0,596	0,543	0,602
<b>Belle-Ile en mer</b>	2001 ; 21 nov 2001 ; classe 1	0,195	0,197	0,197	0,048**	0,203

Les coefficients de détermination sont légèrement plus élevés en considérant les trois variables environnementales à ceux obtenus uniquement avec la vitesse de croissance de l'animal. Les résultats statistiques sont en accord avec les observations faites précédemment. L'incorporation du lithium dans les valves de *P. maximus* apparaît principalement contrôlée par le taux de croissance. Nos résultats montrent que la teneur coquillière en lithium chez certaines populations de *P. maximus* varie conjointement avec la salinité et la température du milieu ambiant.

Par ailleurs, la salinité ou la température pourrait expliquer les brusques hausses de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus*. Au-delà d'une valeur seuil de salinité ou de température, l'incorporation du lithium dans la calcite des coquilles Saint-Jacques deviendrait plus importante. En rade de Brest, les pics en lithium ne se synchronisent pas aux maxima de la salinité ou de la température (Figure 75). De plus, les coefficients de détermination sont moins élevés (Tableau 35). Les accroissements de la concentration valvaire en lithium chez *P. maximus* ne sont donc pas liés à une augmentation de la salinité ou de la température dans l'eau.

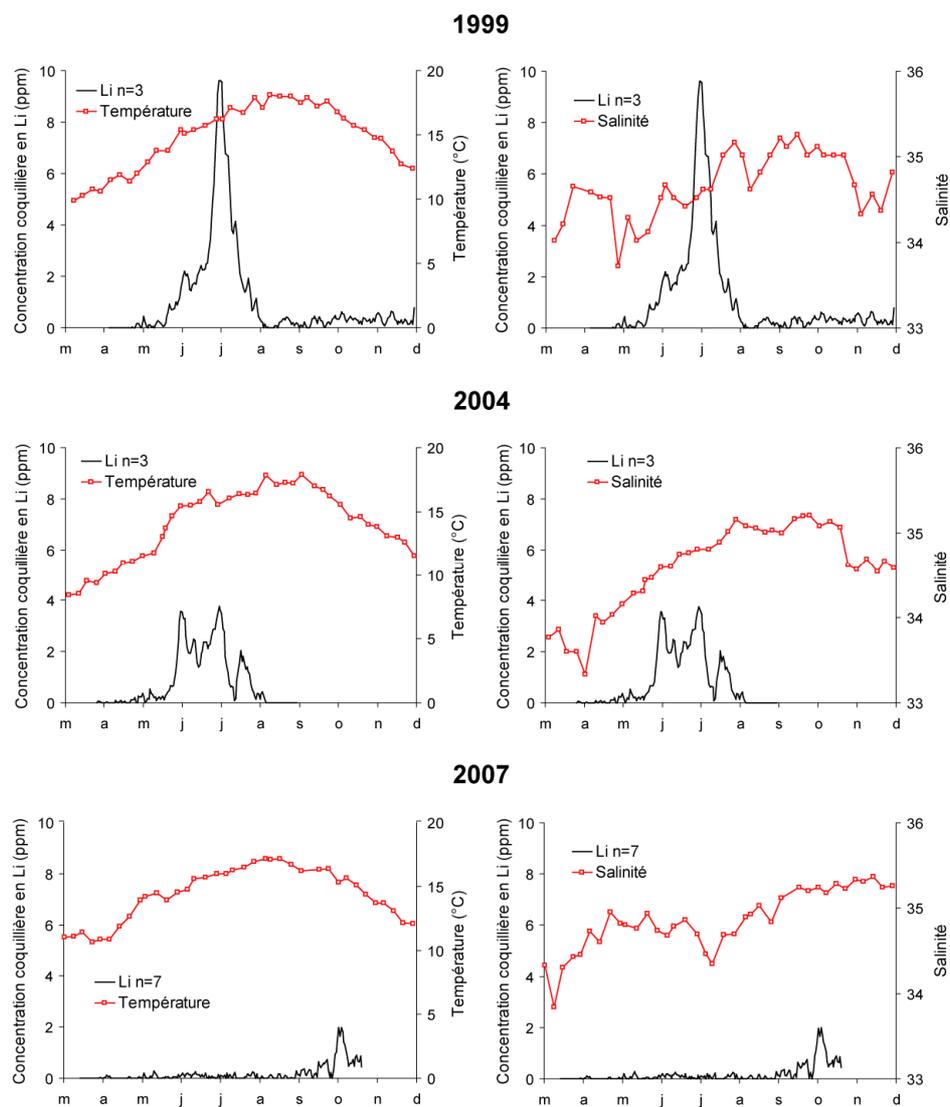


Figure 75 : Relation entre les variations résiduelles de la concentration coquillière en Li après soustraction de l'influence théorique de la croissance coquillière (Roscanvel, 1999, 2004, 2007) avec la salinité et la température de l'eau.

En 2007, l'enrichissement en lithium succède à une augmentation importante des phosphates dans la masse d'eau ( $1,2 \mu\text{mol/L}$ ). En revanche les pics en Li de 1999 et de 2004 apparaissent lorsque les concentrations en sels nutritifs (nitrates, phosphates, silicates) sont quasi-nulles dans la colonne d'eau. Les brusques augmentations de la concentration valvaire en lithium dans les valves de *P. maximus* ne semblent donc pas principalement dépendre de la présence des sels nutritifs dans le milieu ambiant.

Les hausses estivales ou automnales de la concentration valvaire en lithium chez *P. maximus* semblent succéder ou se synchroniser à une augmentation de certains paramètres environnementaux (chlorophylle a, concentration en azote et carbone organique particulaire (NOP et COP)). En 2004, il existerait une relation entre les concentrations en chlorophylle a et les accroissements de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus*. En effet, la Figure 76 illustre clairement que les pics en Li succèdent systématiquement à une augmentation des concentrations de la chlorophylle a. Notons que l'année 2004 se distingue des autres années étudiées, car les floraisons de diatomées débutent à la fin du printemps (mi-mai). En 1999 et 2007, les enrichissements en Li ne sont pas associés aux maxima annuels des concentrations en chlorophylle a.

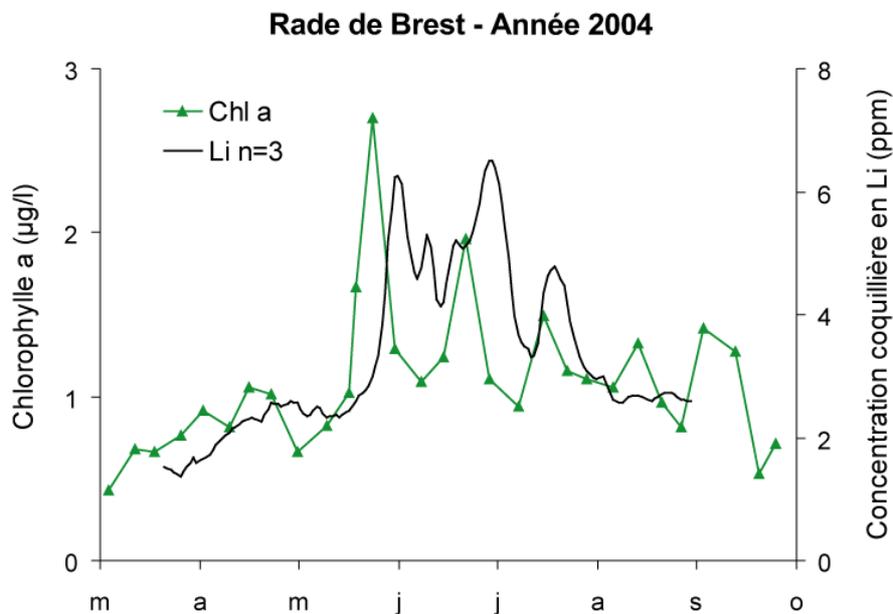


Figure 76 : Relation entre les variations ontogéniques de la concentration valvaire moyenne en Li et l'évolution temporelle des concentrations en chlorophylle a en surface (en Baie de Roscanvel pendant l'année 2004).

Les enrichissements en lithium apparaissent quelques jours après certains blooms phytoplanctoniques. Le Tableau 36 indique que plusieurs espèces de diatomées pourraient être associées à ces événements (pics en Li). En revanche, tous les blooms de ces espèces de diatomées ne précèdent pas systématiquement un enrichissement en lithium dans les valves de *P. maximus*. En 2001, nous observons des efflorescences élevées de *Pseudo-nitzschia* spp (364.10<sup>6</sup> cell/L le 21 mai) et de *Chaetoceros curvisetus* + *C. debilis* (470.10<sup>6</sup> cell/L le 18 juin, 632.10<sup>6</sup> cell/L le 2 juillet), mais aucun accroissement de la teneur coquillière en lithium chez *P. maximus* n'est visible pendant cette année. De plus, le développement des cellules phytoplanctoniques *Chaetoceros* spp le 23 juillet 2007 (403.10<sup>6</sup> cell/L) ne produit pas de hausse de la concentration valvaire en lithium dans les coquilles Saint-Jacques à cette période.

Tableau 36 : Nature et abondance des espèces phytoplanctoniques observées à Roscanvel avant les périodes d'enrichissements de la concentration valvaire en Li chez *P. maximus* (1999, 2004, 2007).

Année	Pic	Moyenne (ppm) ; date	Espèces phytoplanctoniques : (abondance : 10 <sup>3</sup> cell/L) date
1999	pic 1	6,36 ; 22/06	<i>Chaetoceros curvisetus</i> + <i>C. debilis</i> : (1520) le 07/06
	pic 1a	4,87 ; 3/06	<i>Nitzschia delicatissima</i> : (763) le 24/05 ; (812) le 31/05 <i>Rhizosolenia fragilissima</i> : (167) le 24/05 ; (297) le 31/05
2004	pic 1b	5,28 ; 27/06	<i>Rhizosolenia fragilissima</i> : (403) le 08/06 ; (195) le 15/06 <i>Chaetoceros</i> spp : (436) le 22/06 ; (635) le 29/06
	pic 2	4,14 ; 20/07	<i>Chaetoceros</i> spp : (168) le 16/07
2007	pic 1	3,79 ; 03/10	<i>Pseudo-nitzschia</i> spp : (231) le 3/09 ; (640) le 17/09

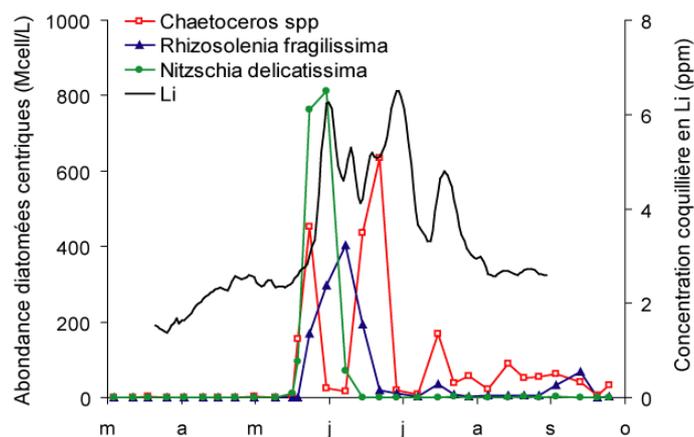


Figure 77 : Relation entre les variations ontogéniques de la concentration valvaire moyenne en Li obtenue pour trois individus *P. maximus* et l'abondance des espèces de diatomées *Nitzschia delicatissima*, *Rhizosolenia fragilissima* et *Chaetoceros* spp (en Baie de Roscanvel pendant l'année 2004).

En 2004, il existe un synchronisme assez marqué entre les enrichissements en lithium et les efflorescences de diatomées *Nitzschia delicatissima*, *Rhizosolenia fragilissima* et *Chaetoceros* spp (Figure 77). Ces observations suggéreraient une incorporation de Li par voie trophique suite à l'ingestion de ces espèces de diatomées probablement enrichies en Li.

De ce fait, les hausses de la concentration valvaire en lithium chez *P. maximus* pourraient être associées à l'absorption ou l'adsorption de cet élément par ce type spécifique de phytoplancton. Plusieurs faits peuvent supporter cette hypothèse :

-L'amplitude des enrichissements en Li est en accord avec l'abondance des floraisons de diatomées incluant *Rhizosolenia fragilissima*, *Pseudo-nitzschia* spp et *Chaetoceros* spp (Figure 78).

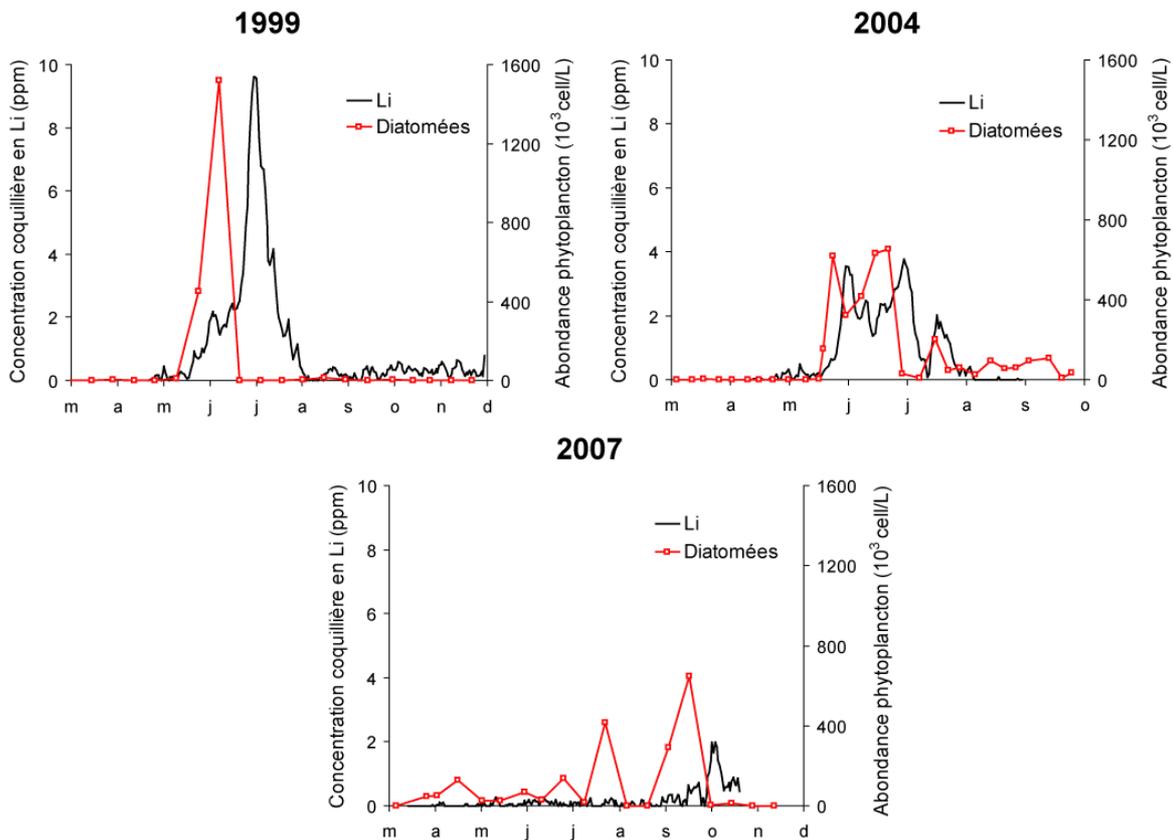


Figure 78 : Relation entre les variations ontogéniques de la concentration valvaire moyenne en Li obtenue pour trois individus de *P. maximus* avec l'évolution de l'abondance des espèces de diatomées *Pseudo-nitzschia* spp, *Rhizosolenia fragilissima*, *Chaetoceros* spp en Baie de Roscanvel pendant 3 années (1999, 2004 et 2007). En 1999, seules les espèces *Chaetoceros curvisetus* + *C. debilis* représentent *Chaetoceros* spp.

-Le lithium possède un seul électron de valence qui est facilement perdu pour former le cation  $\text{Li}^+$ . Ces caractéristiques expliquent sa faible électronégativité et sa forte affinité pour former un grand nombre de complexes tels des sels (le phosphure de lithium), des agrégats de polymères qui peuvent jouer un rôle biochimique ou physiologique chez des cellules animales (Sapse et Schleyer, 1995). De ce fait, une hausse de lithium particulière associée aux efflorescences de diatomées *Rhizosolenia fragilissima*, *Pseudo-nitzschia* spp et *Chaetoceros* spp pourrait se produire dans l'environnement direct des coquilles Saint-Jacques. *P. maximus* pourrait donc ingérer ces particules riches en lithium, et ce lithium une fois métabolisé s'incorporerait dans la coquille.

-Le lithium stimule l'activité de l'AMP cyclique responsable de la phosphorylation chez les organismes marins dont l'espèce *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Peters et al., 1992 ; Subba Rao et al., 1998).

Par ailleurs, l'absence d'accroissement de la concentration valvaire en lithium dans les coquilles Saint-Jacques à des périodes pendant lesquelles les espèces de diatomées *Pseudo-nitzschia* spp et *Chaetoceros* spp se développent dans la masse d'eau pourrait être induite par la production d'acide domoïque dans le milieu ambiant :

Des travaux antérieurs (Subba Rao et al., 1998) ont observé que le lithium stimule de façon significative la production d'acide domoïque (AD) chez *Pseudo-nitzschia multiseriis*. Or, l'AD est un neurotoxique responsable de mortalité massive chez les oiseaux et les mammifères marins dont *P. maximus* (Pan et al., 2001 ; Liu et al., 2007). En 2001, l'efflorescence de *Pseudo-nitzschia* spp est synchrone à une période de ralentissement de la croissance (Figure 70). Or, les travaux de Chauvaud et al. (2001) mettent en évidence une diminution de la prise de nourriture pendant ces accidents de croissance. Il est donc possible que la production d'AD dans l'environnement des coquilles Saint-Jacques ait entraîné ce net ralentissement de croissance printanier de 2001. En réaction à ce stress (intoxication), une prise de nourriture limitée de *P. maximus* pourrait donc expliquer l'absence de pic en Li à cette période.

Des blooms de *Pseudo-nitzschia* spp se remarquent en 2007 (Tableau 36). Ces blooms précèdent un enrichissement de la teneur coquillière en lithium mais n'engendrent aucun ralentissement de croissance chez *P. maximus* (Figure 72). Des travaux (Pan et al., 1996a, b ; Stewart & Subba Rao, 1998) indiquent que la production d'AD par les cellules *Pseudo-nitzschia multiseriis* est influencée par plusieurs paramètres (teneur en lithium, phosphates, silicates...). Stewart & Subba

Rao (1998) observent qu'une présence plus élevée de phosphates dans le milieu limite la production d'acide domoïque. La production d'AD semble se produire lorsque l'efflorescence des cellules *Pseudo-nitzschia multiseriata* est dans une phase stationnaire (période de stress physiologique). Cette phase apparaîtrait quand la concentration en nutriments (silice, phosphore) nécessaire au développement de ces cellules phytoplanctoniques est faible. Or, la Figure 72 montre que l'efflorescence de *Pseudo-nitzschia* spp succède à une augmentation importante de la concentration en phosphates dans le milieu environnant. Cet afflux épisodique en phosphates aurait donc inhibé la production d'AD par les diatomées *Pseudo-nitzschia* spp dans le milieu ambiant. Ainsi, *P. maximus* n'aurait pas réduit son activité alimentaire pendant cette période.

En 2001 et en 2007, l'absence de pic en Li dans les valves de *P. maximus* suite aux efflorescences de *Chaetoceros* spp apparaissent plus complexes à expliquer.

Ces interprétations restent toutefois hypothétiques. Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour comprendre les raisons qui engendrent l'apparition de ces pics en Li dans les valves de *P. maximus* à certaines périodes de l'année (Perspective).

#### **IV-2-5 Conclusion sur l'incorporation du lithium chez *Pecten maximus***

Cette étude a permis de détailler les variations ontogéniques de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus*. Ces profils présentent deux dynamiques selon l'année et le site étudié. La première inclut le « bruit de fond » de la concentration valvaire en lithium qui apparaît principalement reliée à la croissance journalière chez des individus prélevés en rade de Brest. Notre étude confirme les résultats réalisés par Thébault et al. (soumis) chez le bivalve *Arctica islandica* à structure aragonitique. La teneur coquillière en lithium dans les bivalves pourrait donc être un nouveau traceur paléocéologique de la croissance coquillière quelle que soit l'organisation cristalline de la coquille. Cependant, cette corrélation semble moins évidente dans d'autres écosystèmes littoraux bretons (Belle-Ile en mer, Baie de Saint-Brieuc). Dans ces écosystèmes, la salinité pourrait également contrôler l'incorporation du lithium étant donné la structure calcitique des valves de *P. maximus*.

Le deuxième type de profil observé chez certains individus met en évidence de brusques augmentations épisodiques de la concentration valvaire en lithium. Ces variations de la teneur en lithium sont complexes à expliquer. Notre étude n'a pas pu démontrer un lien direct avec les

données environnementales disponibles. Toutefois, ces événements semblent apparaître quelques jours après des floraisons phytoplanctoniques des diatomées *Rhizosolenia fragilissima*, *Pseudo-nitzschia* spp et *Chaetoceros* spp.





## **Synthèse - Perspective**

### **Synthèse**

L'objectif de ce travail de thèse était, d'une part, de développer des méthodologies analytiques sur l'ICP-MS Element 2 de l'IUEM, et, d'autre part, de consolider et d'accroître les connaissances sur le mode d'incorporation des éléments mineurs et en traces dans les valves de *Pecten maximus*. Il s'agissait en particulier de savoir si certains éléments sont de bons indicateurs des modifications spatiales ou temporelles du milieu ambiant.

La première partie de ce travail a donc consisté à développer sur le HR-ICP-MS Element 2 de l'IUEM deux méthodologies adaptées à l'analyse des matrices carbonatées ; l'analyse en mode liquide et le couplage LA-ICP-MS.

Pour l'analyse en mode liquide, l'absence d'étalon de référence pour déterminer quantitativement les éléments en traces dans les calcites biologiques nous a conduit à préparer et à calibrer un standard de calcite artificiel liquide dont la matrice est la plus proche de celle d'une coquille Saint-Jacques mise en solution. Ensuite, un processus analytique adapté a été établi afin d'obtenir un suivi temporel haute résolution de la teneur élémentaire dans les stries de croissance (prélèvement des échantillons de poudre à l'aide d'un Micromill, minéralisation chimique en salle blanche, ajout d'un étalon interne, conditions opératoires spécifiques de l'ICP-MS...).

Pour l'analyse LA-ICP-MS, l'absence d'étalon de référence solide pour les carbonates biologiques nous a conduit à utiliser plusieurs standards référencés (verre NIST SRM 612 et basaltes certifiés BIR1g, BCR2g). Leur passage en début de séquence nous a permis de définir une droite de calibration nécessaire au calcul des concentrations chimiques. L'utilisation du laser Excimer COMPexPro™ 102 opérant dans l'ultra-violet (193 nm) permet de réduire les effets de fractionnement induits par la différence de composition entre les standards et les échantillons de coquilles Saint-Jacques. Par ailleurs, de nombreux tests méthodiques ont permis de concevoir la méthodologie adéquate pour analyser in situ les valves de *P. maximus* (décapage, ablation en trait).

Les résultats d'analyses obtenus sur une même valve gauche de *P. maximus* par les deux méthodes mises en places, montrent que les profils élémentaires demeurent reproductibles quelle

que soit la méthode utilisée, les concentrations rencontrées et le transect choisi sur la valve. L'utilisation comparée des deux méthodes d'analyse nous a permis de mettre en évidence les avantages et les inconvénients de chaque méthodologie analytique. D'un point de vue méthodologique, l'ablation laser permet un échantillonnage moins destructeur, plus précis et autorise la réalisation de prélèvements à une très haute résolution spatiale (une strie analysée = 1 jour de croissance). En revanche, l'échantillonnage par micro-foreuse contient au minimum l'information de 3 stries pour les zones où la distance inter-strie est importante. Cette dernière méthode moyenne donc dans le temps les variations de concentrations élémentaires au sein des valves de *Pecten maximus*. D'autres points différencient le couplage LA-ICP-MS de l'analyse indirecte : la rapidité d'analyse et la préparation minimale des échantillons. En effet, une section de croissance complète d'un individu juvénile est échantillonnée en 2 jours maximum. L'analyse en mode liquide nécessite un délai plus long (1 à 2 semaines pour chaque valve). Par ailleurs, les profils élémentaires présentent plus de variabilité (données bruitées) en lien avec soit une contamination aléatoire des échantillons depuis le prélèvement jusqu'au terme de l'analyse, soit à cause d'interférences induites par les réactifs utilisés. La méthode SB-ICP-MS (Solution Based) présente un avantage par rapport à la technique LA-ICP-MS. En effet, les limites de détection nettement inférieures en SB-ICP-MS permettent de quantifier avec une incertitude acceptable des éléments en traces (La, Ce, Y, U...) dont la teneur dans les coquilles Saint-Jacques est voisine de la ppb.

Chez *P. maximus*, seuls les résultats de la concentration valvaire en magnésium diffèrent nettement entre les deux méthodes. L'utilisation de LA-ICP-MS conduit à des valeurs plus élevées pour cet élément (500 ppm). Cette différence semble liée à la matière organique constituant les valves de *P. maximus* qui est plus considérée par le couplage LA-ICP-MS. Cette observation indiquerait qu'une partie du magnésium s'incorpore dans la matrice organique des valves de *P. maximus*.

Les concentrations valvaires de Sr, Mg, Mn, Ba, Pb, Mo et Cu chez *P. maximus* mesurées sur l'ICP-MS Element 2 sont en accord avec les valeurs obtenues précédemment sur la même population et la même année de croissance lorsque l'on se réfère aux résultats pionniers acquis par le laboratoire de Pau (LA-ICP-MS quadripolaire). Cette étude comparative a permis également de constater que les individus juvéniles doivent être prélevés avant l'arrêt de croissance hivernal (avant le mois de novembre) afin d'assurer un recalage calendaire précis des

profils élémentaires dans les coquilles de *Pecten maximus*. Enfin, l'analyse en mode liquide de trois transects de croissance d'une même valve démontre que la distribution élémentaire est homogène dans la matrice carbonatée de la coquille Saint-Jacques.

Les méthodes mises en place sur l'ICP-MS Element 2 fournissent des résultats comparables à ceux obtenus avec la microsonde électronique du laboratoire de l'IFREMER. Cet aspect comparatif indique que la microsonde électronique peut être un outil complémentaire de la technique ICP-MS pour mesurer des éléments majoritairement présents dans les valves de *P. maximus* (teneur supérieure à 1000 ppm) ou difficile à mesurer par ICP-MS (i.e le soufre).

Les cartographies de répartition élémentaire obtenues pour trois individus apportent des informations supplémentaires sur le mode d'incorporation des éléments dans les valves de *P. maximus*. Ces cartes montrent qu'il existe une différence de répartition pour Na, Ca et S entre la couche interne de la coquille et la strie. La présence du soufre et du sodium est nettement plus faible dans la couche interne de la coquille alors que la teneur en calcium augmente légèrement. De nombreux travaux ayant observé une corrélation entre la teneur en soufre et la matrice organique dans les coquilles (Lorens and Bender, 1980 ; Rosenberg, 1980 ; Van der Putten et al., 2000), ces résultats suggèrent que la phase organique est moins abondante dans la couche interne des coquilles Saint-Jacques. De plus, les variations ontogéniques de la teneur en soufre le long des trois valves mesurées en microsonde mettent en évidence des teneurs en soufre plus élevées lors des arrêts de croissance hivernaux. Comme des résultats identiques sont observés pour le magnésium, ceci renforce l'hypothèse d'une incorporation du magnésium dans la matrice organique des valves de *P. maximus*. Cette étude rejoint les interprétations de Dauphin et al. (1999) sur les carbonates biogéniques. La phase organique des valves de *P. maximus* ne serait pas un simple substrat, mais influencerait les teneurs des éléments incorporés dans la matrice carbonatée.

Depuis plusieurs années, un ensemble de travaux scientifiques estiment que les carbonates bioconstruits offrent des potentiels biogéochimiques et écologiques forts. Chez *P. maximus*, ces caractéristiques ont déjà été mises en évidence par notre groupe de travail (LCABIE/LEMAR) (Lorrain, 2002 ; Lorrain et al., 2005 ; Barats, 2006 ; Barats et al., 2007, 2008, 2009). Les deux méthodes analytiques du HR-ICP-MS mises en œuvre par le biais de ce travail montrent que la

teneur coquillière de quatre éléments en traces (Li, Mn, Mo, Ba) dans les valves de *P. maximus* présentent des enrichissements épisodiques pendant l'année. La deuxième partie de ce travail de thèse s'est donc consacrée à déterminer la modalité d'incorporation de Mo et de Li dans la matrice carbonatée.

Notre groupe de travail (LEMAR/LCABIE) avait mis en lumière la présence d'accroissements épisodiques de la teneur coquillière en molybdène chez deux espèces de pectinidae vivant dans deux écosystèmes contrastés (*Pecten maximus* : littoraux tempérés européens (Barats et al. soumis); *Comptopallium radula* : milieu côtier tropical (Thébault et al., 2009)). Toutefois, les auteurs suggéraient deux interprétations différentes pour expliquer l'apparition de ces augmentations transitoires de la concentration valvaire en Mo chez ces deux animaux. Notre étude avait pour objectif de mieux comprendre l'origine de ces pics en Mo chez *P. maximus*. L'hypothèse d'une ingestion de cellules phytoplanctoniques ayant concentré du molybdène lorsque les nitrates sont la source d'azote pour la biomasse phytoplanctonique pourrait expliquer les enrichissements printaniers en molybdène dans les valves de *P. maximus*. Ces résultats rejoignent les travaux réalisés par Thébault et al. (2009) sur le bivalve *Comptopallium radula*. Finalement, la concentration valvaire en molybdène chez ces deux espèces de Pectinidae pourrait être un « témoin » de l'uptake de nitrate par le phytoplancton et un traceur de la production nouvelle.

Ensuite, notre étude s'est intéressée à détailler les variations ontogéniques de la teneur en lithium dans les valves de *P. maximus*. En rade de Brest, le « bruit de fond » de la concentration valvaire en lithium dans les coquilles Saint-Jacques semble contrôlé principalement par le taux de croissance de l'animal. Cette corrélation apparaît moins évidente dans d'autres écosystèmes littoraux bretons (Belle-Ile et particulièrement en Baie de Saint-Brieuc). Pour les individus prélevés dans ces écosystèmes, il est possible qu'un facteur supplémentaire (telle la salinité) influence l'incorporation du lithium dans la matrice carbonatée.

Finalement, la teneur coquillière en lithium chez *P. maximus* pourrait donc être un nouveau traceur paléoécologique de la croissance coquillière de cet animal dans des écosystèmes subissant peu de variations de la salinité. Nos travaux aboutissent aux mêmes conclusions que celles faites par Thébault et al. (soumis) sur *Arctica Islandica* dont l'organisation cristalline est différente (structure aragonite).

Par ailleurs, certaines valves présentent de brusques augmentations transitoires de la teneur en lithium. À l'heure actuelle, nous ne pouvons pas expliquer l'origine de ces accroissements en Li, car nous n'avons pas pu mettre en évidence un lien généralisable entre ces événements (pics en Li) et un paramètre environnemental (nutriments, débits des fleuves, température, ...).

Finalement, cette étude confirme les travaux antérieurs réalisés sur *P. maximus* (Lorrain, 2002, Barats, 2006) et renforce l'idée d'utiliser ce modèle biologique comme archive haute fréquence des variations du milieu ambiant.

Ce travail de thèse permet donc d'ouvrir de nouvelles perspectives autant d'un point de vue analytique que d'un point de vue environnemental. Certaines de ces perspectives sont développées dans le paragraphe suivant.

## **Perspectives**

### analytiques

-La comparaison entre une analyse LA-ICP-MS et ICP-MS a été réalisée sur une seule valve de *P. maximus*. D'autres coquilles Saint-Jacques devront être analysées par les deux méthodes afin de généraliser la reproductibilité des résultats obtenus.

-Les résultats de la microsonde indiquent qu'il existe une différence de répartition pour Na, Ca et S entre la couche interne de la coquille et la strie. Une question se pose : La distribution des autres éléments présents dans les valves de *P. maximus* est elle homogène le long d'une strie ? L'analyse de lames minces avec la technique LA-ICP-MS permettrait d'y répondre. En effet, les variations de la teneur d'un ensemble d'éléments pourraient être déterminées le long d'une strie grâce à la haute résolution spatiale du couplage LA-ICP-MS.

-La détection de certains éléments en traces incorporés dans les matrices carbonatées est un concept à encore développer.

Notre étude a confirmé que la faible présence des éléments métalliques (Co, Cu, Ni) dans les valves de *P. maximus* rend difficile leur quantification avec nos méthodes. Or, ces éléments en traces dans les valves de *P. maximus* doivent être mesurés avec une incertitude correcte afin de détecter la présence de pollutions ou de contaminations anthropogéniques. En analyse directe,

plusieurs astuces techniques pourraient être testées :

(1) réduire le facteur de dilution de nos solutions échantillons et supprimer de la méthode d'analyse les éléments majoritairement présents dans les coquilles Saint-Jacques ;

(2) séparer les constituants majoritairement présents dans la matrice carbonatée (Na, Ca) afin de s'affranchir de leur interférence ;

(3) utiliser des matériaux analytiques qui améliorent la détection telle le système d'introduction "Apex". L'Apex permet d'augmenter le signal et d'éliminer une grande partie des oxydes. Des études préliminaires réalisées avec ce dispositif ont montré que le nombre de coups détecté sur  $^{139}\text{La}$  augmente d'un facteur 5 comparé à une analyse utilisant une chambre effet Peltier PC3 (matériel utilisé pendant cette étude).

Ces développements techniques permettraient de doser un plus grand nombre d'éléments, notamment les terres rares. En effet, nos deux méthodes quantifient certaines terres rares légères (La, Ce), mais nous ne pouvons pas encore obtenir un spectre complet des terres rares dans les biocarbonates.

-D'autres améliorations techniques peuvent être envisagées : Pour les éléments fortement instables (Hf, Zr, Sn, Cs) dans les solutions  $\text{HNO}_3$ , l'augmentation de la normalité ou l'utilisation d'un mélange ( $\text{HNO}_3/\text{HF}$ ) pourrait améliorer leur détection. Pour les éléments qui présentent des « effets mémoires » (tel le bore), il faudrait tester l'utilisation de matériel analytique différent (injecteur en céramique, chambre de nébulisation en téflon).

-Un autre point à développer concerne les éléments dont la présence est importante dans les valves de *P. maximus* (B, P, K). En effet, le signal mesuré pour ces trois éléments dans les solutions échantillons est relativement élevé. Toutefois, la méthode mise en place dans le cadre de cette étude pour analyser les coquilles de bivalve par ICP-MS en mode liquide ne peut les quantifier. Le nombre de coups du bruit de fond trop élevé (pour le bore) et la faible teneur de ces éléments dans les solutions-filles de la calcite artificielle pour la résolution choisie (moyenne résolution pour P et haute résolution pour K) empêchent leur détermination exacte dans les matrices carbonatées. Une solution serait de passer en début de séquence trois solutions de calibration (fabriquées à partir de solutions mono-élémentaires) encadrant la concentration valvaire de ces éléments dans les coquilles Saint-Jacques. La mesure successive de ces trois solutions permettrait d'établir une droite de calibration pour chaque élément (K, P, B). Des tests

réalisés sur les deux dernières valves étudiées pendant cette étude démontrent que cette méthodologie semble adéquate.

-Enfin, des analyses dans toutes les parties de l'animal (fluide extrapalléal, glande digestive,...) ainsi que des eaux environnantes sont également à approfondir. Elles permettraient de comprendre le transfert et la voie d'incorporation des éléments mineurs et en traces dans l'exosquelette calcifié de *P. maximus*.

### *P. maximus*

-Nous remarquons que des éléments (S, Mg, Mn) s'incorporent dans la matrice organique constituant les valves de *P. maximus*. Ces observations nous invitent à identifier les phases organiques présentes au sein des coquilles Saint-Jacques afin de mieux comprendre les processus de bio-minéralisation. Par ailleurs, Klein et al. (1996b) ont observé, après élimination de la matière organique chez deux individus *Mytilus trossulus*, une forte corrélation ( $r^2 = 0,75$ ) entre la température de l'eau et le rapport Mg/Ca des valves. Nous suggérons d'éliminer également cette phase organique avant de mesurer les variations de la concentration valvaire en magnésium dans les coquilles Saint-Jacques. Nous pourrions donc déterminer si le magnésium qui s'incorpore dans les cristaux de carbonate de calcium, est principalement contrôlé par la température de l'eau.

-Les cartographies de répartition élémentaire réalisées avec la microsonde électronique de l'IFREMER ont apporté des résultats intéressants. Des cartes supplémentaires pourraient être réalisées sur d'autres stries (à différentes périodes de la croissance de l'animal) et sur des individus issus de différents écosystèmes. Il serait également intéressant de mesurer le magnésium avec cet appareil analytique (carte de répartition, abondance le long d'un axe de croissance).

-Nous supposons que l'apparition d'enrichissement de la concentration valvaire en Mo dans les coquilles Saint-Jacques au printemps serait liée à l'utilisation des nitrates par les cellules phytoplanctoniques. Nous envisageons donc de confirmer cette relation en réalisant pendant plusieurs années, en rade de Brest, un suivi de la concentration valvaire en Mo chez des individus juvéniles de *P. maximus*, en y associant la mesure des taux d'assimilation du nitrate et de l'ammonium par les différentes classes de phytoplancton. Ces expériences pourraient être

élargies dans des écosystèmes différents (fjords norvégiens, côte méditerranéenne...) afin de généraliser cette hypothèse.

-Afin de vérifier les hypothèses suggérées pour le lithium, deux perspectives de recherche sont proposées.

(1) En rade de Brest, le lien entre le bruit de fond de la teneur coquillière en Li chez *P. maximus* et la croissance de l'animal mis en évidence par cette étude devra être confirmé sur un intervalle de plusieurs années.

Etant donné que cette relation semble moins évidente chez des individus prélevés à Belle-Ile, et particulièrement en Baie de Saint-Brieuc, il conviendrait de réaliser des mesures complémentaires sur ces sites. Nous conseillons également de suivre régulièrement plusieurs paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne. En effet, l'étude des réponses de la concentration valvaire en Li de *P. maximus* aux fluctuations environnementales pourrait permettre de mettre en évidence un éventuel lien entre la concentration valvaire en Li dans les coquilles Saint-Jacques et une variable environnementale.

(2) Notre incapacité à déterminer l'origine des enrichissements de la teneur coquillière en Li détectés chez certains individus implique de nouvelles études. Nous envisageons donc de mesurer régulièrement les variations de la teneur en lithium (dissous, particulaire) dans l'environnement direct de *P. maximus* (pleine eau, couche de fond et interface eau/sédiment) et en complément la teneur du lithium dans chaque partie de l'animal (valve, fluide extrapalléal, glande digestive). De ce fait, nous pourrions mieux comprendre l'origine de ces enrichissements (influence environnementale ou biologique).

- Les résultats prometteurs du lithium suggèrent d'étudier d'autres éléments alcalins (sodium, potassium). En effet, les travaux de Ishikawa et Ichikuni, (1984) ont constaté que les ions alcalins  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  s'intercalent également dans la calcite de matériaux bio-carbonatés. De plus, les variations ontogéniques de la concentration valvaire en Na dans les coquilles Saint-Jacques ressemblent à celles mesurées pour le lithium (Paragraphe III-3-2). En effet, toute coquille échantillonnée pendant ce travail de thèse met en évidence une augmentation de la teneur en Na lors de la reprise de croissance printanière. Pour le sodium, il conviendrait donc de détailler les résultats en Na mesurés pendant ce travail de thèse afin de savoir si un ou plusieurs facteur(s)

(taux de croissance, salinité...) contrôle(nt) l'incorporation de Na dans les valves de *P. maximus*. Pour le potassium, des coquilles Saint-Jacques devront être analysées en utilisant la méthode détaillée ci-dessus (passage de trois solutions de calibration en K) afin d'obtenir une quantification correcte de la concentration valvaire en K dans les coquilles Saint-Jacques.

-En 2007, l'IFREMER a acquis un spectromètre de masse multi-collecteur couplée à une source plasma (MC-ICP-MS Neptune) de Thermo Electron<sup>TM</sup>. Nous préconisons de mesurer avec cet instrument les rapports isotopiques de plusieurs éléments mineurs ou en traces (<sup>44</sup>Ca/<sup>42</sup>Ca, <sup>43</sup>Ca/<sup>42</sup>Ca, <sup>26</sup>Mg/<sup>24</sup>Mg, <sup>25</sup>Mg/<sup>24</sup>Mg; <sup>88</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr; <sup>11</sup>B/<sup>10</sup>B; <sup>7</sup>Li/<sup>6</sup>Li...) présents dans l'exosquelette carbonaté de *P. maximus*. À titre d'exemple, la mesure du  $\delta$ Li pendant la croissance des coquilles Saint-Jacques pourrait mettre en évidence un contrôle biologique (taux de croissance) de l'incorporation du lithium dans l'exosquelette calcifié.

-Enfin, le développement analytique mis en place et les résultats obtenus dans cette étude encouragent de nombreux projets analytiques concernant les pectinidés (sites différents : Antarctique, Mauritanie, hauturiers...), voire d'autres carbonates biologiques (otolithes, autres espèces de bivalves). Les hypothèses apportées par le lithium et le molybdène chez *P. maximus* présentent un potentiel considérable en termes paléoécologiques et permettent d'envisager des perspectives dont de nombreux domaines (archéologie, biologie, chimie...) pourraient bénéficier.



## **Références BIBLIOGRAPHIQUES**

- Alibert C., Kinsley L., Fallon S. J., McCulloch M. T., Berkelmans R., and McAllister F. (2003) Source of trace element variability in Great Barrier Reef corals affected by the Burdekin flood plumes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**(2), 231-246.
- Allredge A. L. and Gotschalk C. C. (1989) Direct observations of the mass flocculation of diatom blooms: characteristics, settling velocities and formation of diatom aggregates. *Deep-Sea Research*. **36**, 159-171.
- Al-Rousan S. A., Al-Shloul R. N., Al-Horani F. A., and Abu-Hilal A. H. (2007) Heavy metal contents in growth bands of Porites corals: Record of anthropogenic and human developments from the Jordanian Gulf of Aqaba. *Marine Pollution Bulletin* **54**(12), 1912-1922.
- Arjan J. G. and Mason P. R. D. (1999) A critical assesment of laser ablation ICP-MS as an analytical tool for depth analysis in silica based glass samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14**, 1143-1153.
- Barats A. (2006) 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. Thèse de doctorat. Université de Pau et des Pays de l'Adour. 289pp.
- Barats A., Pécheyran C., Amouroux D., Dubascoux S., Chauvaud L., and Donard O. F. X. (2007) Matrix-matched quantitative analysis of trace-elements in calcium carbonate shells by laser-ablation ICP-MS: application to the determination of daily scale profiles in scallop shell (*Pecten maximus*). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **387**(3), 1131-1140.
- Barats A., Amouroux D., Pécheyran C., Chauvaud L., and Donard O. F. X. (2008) High-frequency archives of manganese inputs to coastal waters (Bay of Seine, France) resolved by the LA-ICP-MS analysis of calcitic growth layers along scallop shells (*Pecten maximus*). *Environmental Science and Technology* **42**(1), 86-92.
- Barats A., Amouroux D., Chauvaud L., Pécheyran C., Lorrain A., Thébault J., Church T. M., and Donard O. F. X. (2009) High frequency Barium profiles in shells of the Great Scallop *Pecten maximus*: a methodical long-term and multi-site survey in Western Europe. *Biogeosciences*. **6**(2), 157-170.
- Barats A., Amouroux D., Pécheyran C., Chauvaud L., Thébault J., Siquin G., and Donard O. F. X. (soumis) Periodic molybdenum concentrations maximum in the shell growth layers of *Pecten maximus* from temperate coastal environments: an annual record of molybdenum non conservative behaviour influenced by spring time diatom dominated bloom event. *Limnology and Oceanography*.
- Barrat J., Keller F., Amossé J., Taylor R., Nesbitt R., and Hirata T. (1996) Determination of rare earth elements in sixteen silicate reference samples by ICP-MS after Tm addition and ion exchange separation. *Geostandards Newsletter* **20**, 133-139.
- Barbante C., Schwikowski M., Dörling T., Gâggeler H. W., Schotterer U., Tobler L., Van de Velde K., Ferrari C., Cozzi G., Turetta A., Rosman K., Bolshov M., Capodaglio G., Cescon P., and Boutron C. (2004) Historical record of European Emissions of Heavy Metals to the Atmosphere Since the 1650s from alpine Snow/Ice cores Drilled near Monte Rosa.. *Environmental Science & Technology* **38**(15), 4085-4090.
- Baruthio F. and Ducros V. (1992) Contaminations et pollutions. 4 : 35-58 : Assurance de la qualité de l'analyse des éléments traces en biologie. Ed. Lavoisier Tec & Doc. 176p.
- Bath G. E., Thorrold S. R., Jones C. M., Campana S. E., McLaren J. W., and Lam J. W. H. (2000) Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **64**(10), 1705.

- Bath Martin G. and Thorrold S. R. (2005) Temperature and salinity effects on magnesium, manganese, and barium incorporation in otoliths of larval and early juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. *Marine Ecology Progress Series* **293**, 223-232.
- Beck J. W., Edwards L., Ito E., Taylor F. W., Recy J., Rougerie F., Joannot P., and Henin C. (1992) Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratios. *Science* **257**, 644-647.
- Bellotto V. R. and Miekeley N. (2000) Improvements 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**(7), 635-640.
- Billups K. (2002) Late Miocene through early Pliocene deep water circulation and climate change viewed from the sub-Antarctic South Atlantic. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **185** (3-4), 287-307.
- Bohm F., Joachimski M. M., Lehnert H., Morgenroth G., Kretschmer W., Vacelet J., and Dullo W.-C. (1996) Carbon isotope records from extant Caribbean and South Pacific sponges: Evolution of  $[\delta^{13}C]$  in surface water DIC. *Earth and Planetary Science Letters* **139**(1-2), 291-303.
- Boss C. B. and Freedman K. J. (1997) *Concepts, instrumentation and techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*. Perkin-Elmer Corporation.
- Boudouresque C. F. and Verlaque M. (2002) Biological pollution in the Mediterranean Sea: invasive versus introduced macrophytes. *Marine Pollution Bulletin* **44**(1), 32-38.
- Bourgoin B. P. (1990) *Mytilus edulis* shell as a bioindicator of lead pollution: Considerations on bioavailability and variability. *Marine Ecology Progress Series* **61**, 253-262.
- Brooks R. R. and Rumsby M. G. (1965) The biogeochemistry of trace element uptake by some New Zealand bivalves. *Limnology and Oceanography* **10**(4), 521-527.
- Bryant C. J., T. M. M., and Bennett V. (2003) Impact of matrix effects on the accurate measurement of Li isotope ratios by inductively coupled plasma mass spectrometry (MC-ICP-MS) under "cold" plasma conditions. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **18**, 734-737.
- Burke L., Kura Y., Kasem K., Revenga C., Spalding M., and McAllister D. (2001) *Coastal Ecosystems*. Washington DC World Resources Institute, 93pp.
- Burkett V., Codignotto J. O., Forbes D. L., Mimura N., Beamish R. J., and Ittekkot V. (2001) Coastal zones and marine ecosystems. In *Climate change 2001: Impacts, adaptation and vulnerability* (ed. J. J. McCarthy, O. F. Canziani, N. A. Leary, D. J. Dokken, and K. S. White), pp. 343-379. Cambridge University Press.
- Busenberg E. and Niel Plummer L. (1985) Kinetic and thermodynamic factors controlling the distribution of  $SO_3^{2-}$  and  $Na^+$  in calcites and selected aragonites. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **49**(3), 713-725.
- Bustamante P. and Miramand P. (2005) Evaluation of the variegated scallop *Chlamys varia* as a biomonitor of temporal trends of Cd, Cu, and Zn in the field. *Environmental Pollution* **138**(1), 109-120.
- Calvert S. E. and Pedersen T. F. (1993) Geochemistry of Recent oxic and anoxic marine sediments: Implications for the geological record. *Marine Geology* **113**(1-2), 67-88.
- Cardinal D., Hamelin B., Bard E., and Pötzold J. r. (2001) Sr/Ca, U/Ca and  $\delta^{18}O$  records in recent massive corals from Bermuda: relationships with sea surface temperature. *Chemical Geology* **176**(1-4), 213-233.
- Carpenter S. J., Erickson J. M., and Holland F. D. (2003) Migration of a late cretaceous fish. *Nature* **423**, 70-74.
- Carré M., Bentaleb I., Bruguier O., Ordinola E., Barrett N. T., and Fontugne M. (2006) Calcification rate influence on trace element concentrations in aragonitic bivalve shells: Evidences and mechanisms. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**(19), 4906-4920.
- Carriker M. R., Palmer R. E., Sick L. V., and Johnson C. C. (1980) Interactions 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., Swann C. P., and Ewart J. W. (1982) An exploratory study with the proton microprobe of the ontogenic distribution of 16 elements in the shell of living oysters. *Marine Biology* **69**, 235-246.
- Carriker M. R., Swann C. P., Prezant R. S., and Counts C. L. (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.
- Carroll M., Romanek C., and Paddock L. (2006) The relationship between the hydrogen and oxygen isotopes of freshwater bivalve shells and their home streams. *Chemical Geology* **234**(3-4), 211-222.
- Chaillou G., Anschutz P., Lavaux G., Schafer J., and Blanc G. (2002) The distribution of Mo, U, and Cd in relation to major redox species in muddy sediments of the Bay of Biscay. *Marine Chemistry* **80**(1), 41-59.
- Chamley H. (2002) *Environnements géologiques et activités humaines*. Editions Vuibert. 512pp.
- Chan L. H. and Edmond J. M. (1988) Variation of lithium isotope composition in the marine environment. A preliminary report. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **52**(6), 1711-1717.
- 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. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 266pp.
- Chauvaud L., Thouzeau G., and Paulet Y.-M. (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**(1), 83-111.
- Chauvaud L., Jean F., Ragueneau O., and Thouzeau G. (2000) Long-term variation of the Bay of Brest ecosystem : benthic-pelagic coupling revisited. *Marine Ecology Progress Series* **200**, 35-48.
- Chauvaud L., Donval A., Thouzeau G., Paulet Y.-M., and Nezan E. (2001) Variations in food intake of *Pecten maximus* (L.) from the Bay of Brest (France): Influence of environmental factors and phytoplankton species composition. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* **324**(8), 743-755.
- Chauvaud L., Amouroux D., Barats A., Peycheran D., Le Duff M., Le Mercier A., and Amice E. (2004) Rapport final d'activité, Projet n°13 PETROPECTEN. (ed. CNRS-INERIS).
- Chauvaud L., Lorrain A., Dunbar R. B., Paulet Y.-M., Thouzeau G., Jean F., Guarini J.-M., and Mucciarone D. (2005) Shell of the Great Scallop *Pecten maximus* as a high-frequency archive of paleoenvironmental changes. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **6**(Q08001), doi:10.1029/2004GC000890.
- Cheng J., Hipkin C. R., and Gallon J. R. (1999) Effects of inorganic nitrogen compounds on the activity and synthesis of nitrogenase in *Gloeotheca* (Nägeli) sp. ATCC 27152. *New Phytologist* **141**(1), 61-70.
- Chiffolleau J.-F., Chauvaud L., Amouroux D., Barats A., Dufour A., Pécheyran C., and Roux N. (2004) Nickel and vanadium contamination of benthic invertebrates following the "Erika" wreck. *Aquatic Living Resources* **17**, 273-280.
- Chillrud S. N., Bopp R. F., Simpson J. H., Ross J. M., Shuster E. L., Chin Choy C., Tolley L.-R., and Yarme A. (1999) Twentieth Century Atmospheric Metal Fluxes into Central Park Lake New York City. *Environmental Science and Technology* **33**(5), 657-662.
- Chow T. J. and Patterson C. C. (1962) The occurrence and significance of lead isotopes in pelagic sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **26**(2), 263-308.
- Chow T. J., Earl J. L., Reed J. H., Hansen N., and Orphan V. (1978) Barium content of marine sediments near drilling sites: A potential pollutant indicator. *Marine Pollution Bulletin* **9**(4), 97-99.
- Cloern J. E. (2001) Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* **210**, 223-253.
- Cohen J. E., Small C., Mellinger A., Gallup J., and Sachs J. (1997) Estimates of coastal populations. *Science* **278**, 1211-1212.

- Cohen A. L. and McConnaughey T. A. (2003) Geochemical Perspectives on Coral Mineralization. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* **54**(1), 151-187.
- Collier R. W. (1985) Molybdenum in the Northeast Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* **30**(6), 1351-1354.
- Craig C.-A., Jarvis K. E., and Clarke L. J. (2000) An assessment of calibration strategies for the quantitative and semi-quantitative analysis of calcium carbonate matrices by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **15**(8), 1001-1008.
- Cravo A., Foster P., and Bebianno M. J. (2002) Minor and trace elements in the shell of *Patella aspera* (Roding 1798). *Environment International* **28**(4), 295-302.
- Cravo A., Foster P., Almeida C., Company R., Cosson R. P., and Bebianno M. J. (2007) Metals in the shell of *Bathymodiolus azoricus* from a hydrothermal vent site on the Mid-Atlantic Ridge. *Environment International* **33**(5), 609-615.
- Crusius J., Calvert S., Pedersen T., and Sage D. (1996) Rhenium and molybdenum enrichments in sediments as indicators of oxic, suboxic and sulfidic conditions of deposition. *Earth and Planetary Science Letters* **145**(1-4), 65-78.
- Cuif J.-P., Dauphin Y., Doucet J., Salomé M., and Susini J. (2003) XANES mapping of organic sulfate in three scleractinian coral skeletons. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**(1), 75-83.
- Dalai T. K., Nishimura K., and Nozaki Y. (2005) Geochemistry of molybdenum in the Chao Phraya River estuary, Thailand: Role of suboxic diagenesis and porewater transport. *Chemical Geology* **218**(3-4), 189-202.
- Dauphin Y. and Cuif J.-P. (1999) Relation entre les teneurs en soufre des biominéraux calcaires et leurs caractéristiques minéralogiques. *Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale* **20**(2), 73-85.
- Dauphin Y., Cuif J.-P., Doucet J., Salomé M., Susini J., and Terry Williams C. (2003a) In situ chemical speciation of sulfur in calcitic biominerals and the simple prism concept. *Journal of Structural Biology* **142**(2), 272-280.
- Dauphin Y., Cuif J. P., Doucet J., Salomé M., Susini J., and Williams C. T. (2003b) In situ mapping of growth lines in the calcitic prismatic layers of mollusc shells using X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy at the sulphur K-edge. *Marine Biology* **142**, 299-304.
- Dauphin Y., Cuif J. P., Salomé M., and Susini J. (2005) Speciation and distribution of sulfur in a mollusk shell as revealed by in situ maps using X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy at the S K-edge. *American Mineralogist* **90**, 1748-1758.
- Davenport C. B. (1938) Growth lines in fossil pectens as indicators of past climates. *Journal of Paleontology* **12**, 514-515.
- Del Amo Y., Le Pape O., Tréguer P., Quéguiner B., Ménesguen A., and Aminot A. (1997) Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. I. Seasonal evolution of nutrient limitation for the diatom dominated phytoplankton of the bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress Series* **161**, 213-224.
- Delaney M. L., Bé A. W. H., and Boyle E. A. (1985) Li, Sr, Mg, and Na in foraminiferal calcite shells from laboratory culture, sediment traps, and sediment cores. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **49**, 1327-1341.
- Delaney M. L., Popp B. N., Lepzelter C. G., and Anderson T. F. (1989) Lithium-to-calcium ratios in modern cenozoic, and paleozoic articulate brachiopod shells. *Palaeogeography* **4**(6), 681-691.
- Dellwig O., Beck M., Lemke A., Lunau M., Kolditz K., Schnetger B., and Brumsack H.-J. r. (2007) Non-conservative behaviour of molybdenum in coastal waters: Coupling geochemical, biological, and sedimentological processes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**(11), 2745-2761.
- Dennison W. C. (2008) Environmental problem solving in coastal ecosystems: A paradigm shift to sustainability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **77**(2), 185-196.

- Dettman D. L., Reische A. K., and Lohmann K. C. (1999) Controls on the stable isotope composition of seasonal growth bands in aragonitic fresh-water bivalves (unionidae). *Geochimica et Cosmochimica Acta* **63**(7-8), 1049-1057.
- De Vives A. E. S., Moreira S., Brienza S. M. B., Medeiros J. G. S., Filho M. r. T., Zucchi O. L. A. j. D., and Filho V. F. d. N. (2006) Monitoring of the environmental pollution by trace element analysis in tree-rings using synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **61**(10-11), 1170-1174.
- Diouf K., Panfili J., Labonne M., Aliaume C., Tomàs J., and Do Chi T. (2006) Effects of salinity on strontium:calcium ratios in the otoliths of the West african black-chinned tilipia *Sarotherodon melanotheron* in a hypersaline estuary. *Environmental Biology of Fishes* **77**, 9-20.
- Dodge R. E. and Gilbert T. R. (1984) Chronology of lead pollution contained in banded coral skeletons. *Marine Biology* **82**, 9-13.
- Dodd J. R. (1965) Environmental control of strontium and magnesium in *Mytilus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **29**, 385-398.
- Druffel E. R. M. and Benavides L. M. (1986) Input of excess CO<sub>2</sub> to the surface ocean based on <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratios in a banded Jamaican sclerosponge. *Nature* **321**, 58-61.
- Edmond J. M., Measures C., McDuff R. E., Chan L. H., Collier R., Grant B., Gordon L. I., and Corliss J. B. (1979) Ridge crest hydrothermal activity and the balances of the major and minor elements in the ocean: The Galapagos data. *Earth and Planetary Science Letters* **46**(1), 1-18.
- Eggins S., De Deckker P., and Marshall J. (2003) Mg/Ca variation in planktonic foraminifera tests: implications for reconstructing palaeo-seawater temperature and habitat migration. *Earth and Planetary Science Letters* **212**(3-4), 291-306.
- Eggins S. M., Sadekov A., and De Deckker P. (2004) Modulation and daily banding of Mg/Ca in *Orbulina universa* tests by symbiont photosynthesis and respiration: a complication for seawater thermometry? *Earth and Planetary Science Letters* **225**(3-4), 411-419.
- Elliot M., deMenocal P. B., Linsley B. K., and Howe S. S. (2003) Environmental controls on the stable isotopic composition of *Mercenaria mercenaria*: Potential application to paleoenvironmental studies. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **4**(7), 1056, doi:10.1029/2002GC000425.
- Emiliani C. (1954) Depth habitats of some species of pelagic foraminifera as indicated by oxygen isotope ratios. *American Journal of Science* **252**, 149-158.
- Epplé V. M. (2004) High-resolution climate reconstruction for the Holocene based on growth chronologies of the bivalve *Arctica islandica* from the North Sea. PhD thesis, University of Bremen, Bremen, Germany, 101pp.
- Epstein S., Buchsbaum R., Lowenstam H. A., and Urey H. C. (1953) Revised carbonate-water isotopic temperature scale. *Bulletin of the Geological Society of America* **64**, 1315-1326.
- Esslemont G., Russell R. A., and Maher W. A. (2004) Coral record of harbour dredging: Townsville, Australia. *Journal of Marine Systems* **52**(1-4), 51-64.
- Fairbanks R. G. and Dodge R. E. (1979) Annual periodicity of the O<sup>18</sup>/O<sup>16</sup> and C<sup>13</sup>/C<sup>12</sup> ratios in the coral *Montastrea annularis*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **43**, 1009-1020.
- Fallon S. J., White J. C., and McCulloch M. T. (2002) Porites corals as recorders of mining and environmental impacts: Misima Island, Papua New Guinea. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **66**(1), 45-62.
- Fallon S. J., McCulloch M. T., and Alibert C. (2003) Examining water temperature proxies in Porites corals from the Great Barrier Reef: a cross-shelf comparison. *Coral Reefs* **22**(4), 389-404.
- Ferguson J. E., Henderson G. M., Kucera M., and Rickaby R. E. M. (2008) Systematic change of foraminiferal Mg/Ca ratios across a strong salinity gradient. *Earth and Planetary Science Letters* **265**(1-2), 153-166.
- Finch A. A., Shaw P. A., Weedon G. P., and Holmgren K. (2001) Trace element variation in speleothem aragonite: potential for palaeoenvironmental reconstruction. *Earth and Planetary Science Letters* **186**(2), 255-267.

- Foster P. and Chacko J. (1995) Minor and trace elements in the shell of *Patella vulgata* (L.). *Marine Environmental Research* **40**(1), 55-76.
- Foster L. C., Finch A. A., Allison N., Andersson C., and Clarke L. J. (2008) Mg in aragonitic bivalve shells: Seasonal variations and mode of incorporation in *Arctica islandica*. *Chemical Geology* **254**(1-2), 113-119.
- Freitas P. S., Clarke L. J., Kennedy H., Richardson C. A., and Abrantes F. t. (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**(20), 5119.
- Freitas P. S., Clarke L. J., Kennedy H. A., and Richardson C. A. (2008) inter and intra specimen variability masks reliable temperature control on shell Mg/Ca ratios in laboratory and field cultured *Mytilus edulis* and *Pecten maximus* (bivalvia). *Biogeosciences* **5**, 1245-1258.
- Friedl G. (2002) L'argent : Nouveau traceur pour l'étude de la production de diatomées. EAWAG news 52f. [www.eawag.ch/publications/eawagnews/www\\_en52/en52f\\_pdf/en52f\\_friedl.pdf](http://www.eawag.ch/publications/eawagnews/www_en52/en52f_pdf/en52f_friedl.pdf).
- Fritts H. C., Blasing T. J., Hayden B. P., and Kutzbach J. E. (1971) Multivariate techniques for specifying tree-growth and climate relationships and for reconstructing anomalies in paleoclimate. *Journal of Applied Meteorology* **10**, 845-864.
- Fryer B. J., Jackson S. E., and Longerich H. P. (1995) Design, operation and role of the laser ablation microprobe coupled with an inductively coupled plasma-mass spectrometer (LAM-ICP-MS) in the earth-sciences. *The Canadian Mineralogist* **33**, 303-312.
- Fuge R., Palmer T. J., Pearce N. J. G., and Perkins W. T. (1993) Minor and trace element chemistry of modern shells : a laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry study. *Applied Geochemistry* **8**, **Suppl. Issue No. 2**, 111-116.
- Fukue M., Nakamura T., Kato Y., and Yamasaki S. (1999) Degree of pollution for marine sediments. *Engineering Geology* **53**(2), 131-137.
- Gall J.-C. Terre et Vie: des histoires imbriquées. (2009) *Comptes Rendus Palevol* **8**(2-3), 105-117.
- Geertsen C. (1994) Comparison between Infrared and Ultraviolet Laser Ablation at atmospheric pressure- Implications for solid sampling Inductively Coupled Plasma Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **9**, 17-22.
- Gill I., Olson J. J., and Hubbard D. K. (1995) Corals, paleotemperature records, and the aragonite-calcite transformation. *Geology* **23**(4), 333-336.
- Gillikin D. P. (2005) Geochemistry of marine bivalve shells: the potential for paleoenvironmental reconstruction. PhD thesis, Vrije Universiteit Brussel, Brussel, Belgium, 258pp.
- Gillikin D. P., De Ridder F., Ulens H., Elskens M., Keppens E., Baeyens W., and Dehairs F. (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**(1-2), 70-85.
- Gillikin D. P., Lorrain A., Navez J., Taylor J. W., André L., Keppens E., Baeyens W., and Dehairs F. (2005b) Strong biological controls on Sr/Ca ratios in aragonitic marine bivalve shells. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **6**(Q05009), doi:10.1029/2004GC000874.
- Gillikin D. P., Dehairs F., Baeyens W., Navez J., Lorrain A., and André L. (2005c) Inter- and intra-annual variations of Pb/Ca ratios in clam shells (*Mercenaria mercenaria*): A record of anthropogenic lead pollution? *Marine Pollution Bulletin* **50**(12), 1530-1540.
- Gillikin D. P., Dehairs F., Lorrain A., Steenmans D., Baeyens W., and André L. (2006) Barium uptake into the shells of the common mussel (*Mytilus edulis*) and the potential for estuarine paleochemistry reconstruction. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**(2), 395-407.
- Giusti L., Williamson A. C., and Mistry A. (1999) Biologically available trace metals in *Mytilus edulis* from the coast of Northeast England. *Environment International* **25**(8), 969-981.
- Goolsby D. A. (2000) Mississippi Basin nitrogen flux believed to cause gulf hypoxia. *Eos, Transactions of the American Geophysical Union* **81**, 321-326.
- Gordon J. and Carriker M. R. (1978) Growth lines in a Bivalve Mollusk: Subdaily Patterns and Dissolution of the Shell. *Science* **202**(4367), 519-521.

- Grall J. and Chauvaud L. (2002) Marine eutrophication and benthos: the need for new approaches and concepts. *Global Change Biology* **8**(9), 813-830.
- Gray A. L. (1985) Solid sample introduction by laser ablation for inductively coupled plasma source mass spectrometry. *The Analyst* **110**(5), 551-556.
- Guillong M., Horn I., and Gunther D. (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. *JAAS (Journal of Analytical Atomic Spectrometry)* **18**(10), 1224-1230.
- Gunther D., Longerich H. P., Forsythe L., and Jackson S. E. (1995) Laser ablation microprobe-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *American Laboratory* **27**(9), 24-29.
- Guo L., Hunt B. J., Santschi P. H., and Ray S. M. (2001) Effect of dissolved organic matter on the uptake of trace metals by American oysters. *Environmental Science and Technology* **35**(5), 885-893.
- Guo W., Hu S., and Peng Y. (2008) High Resolution Trace Element Profiles in Calcium Carbonate Shells using LA-ICP-MS: an Environmental Proxy and Biogeochemical Cycling? *Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 4480-4483.
- Guzman N. (2004) Validation d'une approche scléroclimatologique sur la côte du Chili et du Pérou par l'analyse microstructurale et biogéochimique des coquilles du gastéropode *Concholepas concholepas* [Bruguière, 1789]. Thèse de doctorat, Université de Paris Sud, Orsay, France, 220pp
- Hall J. M. and Chan L. H. (2004) Li/Ca in multiple species of benthic and planktonic foraminifera: thermocline, latitudinal, and glacial-interglacial variation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**(3), 529-545.
- Hallam A. and Price N. B. (1968) Environmental and biochemical control of strontium in shells of *Cardium edule*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **32**(3), 319-328.
- Hare P. E. (1963) Amino-acids in the proteins from aragonite and calcite in the shells of *Mytilus californianus*. *Science* **139**, 216-217.
- Hart S. R. and Blusztajn J. (1998) Clams as recorders of ocean ridge volcanism and hydrothermal vent field activity. *Science* **280**, 883-886.
- Havach S. M., Chandler G. T., Wilson-Finelli A., and Shaw T. J. (2001) Experimental determination of trace element partition coefficients in cultured benthic foraminifera. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **65**(8), 1277-1283.
- Head P. C. and Burton J. D. (1970) Molybdenum in some ocean and estuarine waters. *Journal Marine Biological Assoc. U.K.* **50**, 439-448.
- Henderson N. and Kracek F. (1927) the fractional precipitation of barium and radium chromates. *Journal of the american chemical Society* **49**, 739-749.
- Hendry J. P., Perkins W. T., and Bane T. (2001) Short term environmental change in a Jurassic lagoon deduced from geochemical trends in aragonite bivalve shells. *GSA Bulletin* **113**(6), 790-798.
- Hickson J. A., Johnson A. L. A., Heaton T. H. E., and Balson P. S. (1999) The shell of the Queen Scallop *Aequipecten opercularis* (L.) as a promising tool for palaeoenvironmental reconstruction: evidence and reasons for equilibrium stable-isotope incorporation. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **154**(4), 325-337.
- Hintz C. J., Shaw T. J., Chandler G. T., Bernhard J. M., McCorkle D. C., and Blanks J. K. (2006a) Trace/minor element:calcium ratios in cultured benthic foraminifera. Part I: Inter-species and inter-individual variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**(8), 1952-1963.
- Hintz C. J., Shaw T. J., Bernhard J. M., Chandler G. T., McCorkle D. C., and Blanks J. K. (2006b) Trace/minor element:calcium ratios in cultured benthic foraminifera. Part II: Ontogenetic variation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**(8), 1964-1976.
- Houk R. S., Fassel V. A., Flesch G. D., Gray A. L., and E. T. (1980) Inductively Coupled Argon Plasma as an Ion source for Mass Spectrometric Determination of Trace Elements. *Analytical Chemistry* **52**(14), 2283-2289.
- Huh Y., Chan L.-H., Zhang L., and Edmond J. M. (1998) Lithium and its isotopes in major world rivers: implications for weathering and the oceanic budget. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**(12), 2039-2051.

- Huh Y., Chan L.-H., and Edmond J. M. (2001) Lithium isotopes as a probe of weathering processes: Orinoco River. *Earth and Planetary Science Letters* **194**(1-2), 189-199.
- Imai N. (1992) Microprobe analysis of geological materials by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **269**(2), 263-268.
- Imbrie J., Boyle E. A., Clemens S. C., Duffy A., Howard W. R., Kukla G., Kutzbach J., Martinson D. G., McIntyre A., Mix A. C., Molino B., Morley J. J., Peterson L. C., Pisias N. G., Prell W. L., Raymo M. E., Shackleton N. J., and Toggweiler J. R. (1992) On the structure and origin of major glaciation cycles. I. Linear responses to Milankovitch forcing. *Paleoceanography* **7**, 701-738.
- Ishikawa M. and Ichikuni M. (1984) Uptake of sodium and potassium by calcite. *Chemical Geology* **42**(1-4), 137-146.
- Jarvis K. E., Gray A. L., and Houk R. S. (1992) *Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry*. Blackie & Sin Ltd.
- Jones D. S., Williams D. F., and Arthur M. A. (1983) Growth history and ecology of the Atlantic surf clam, *Spisula solidissima* (Dillwyn), as revealed by stable isotopes and annual shell increments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **73**(3), 225-242.
- Jones D. S. (1989) Sclerochronological records of temperature and growth from shells of *Merceneria merceneria* from Narragansett Bay, Rhode Island. *Marine Biology* **102**, 225-234.
- Kadar E. and Costa V. (2006) First report on the micro-essential metal concentrations in bivalve shells from deep-sea hydrothermal vents. *Journal of Sea Research* **56**(1), 37-44.
- Keller C. F. (2004) 1000 Years of climate change. *Advances in Space Research* **34** (2), 315-322.
- Klein R. T., Lohmann K. C., and Thayer C. W. (1996a) Sr/Ca and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios in skeletal calcite of *Mytilus trossulus*: Covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**(21), 4207-4221.
- Klein R. T., Lohmann K. C., and Thayer C. W. (1996b) Bivalve skeletons record sea-surface temperature and  $\delta^{18}\text{O}$  via Mg/Ca and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  ratios. *Geology* **24**(5), 415-418.
- Kingston A. W., Gröcke D. R., and Burchell M. (2008) A multiaxial growth analysis of stable isotopes in the modern shell of *Saxidomus gigantea* : Implications for sclerochronology studies. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **9**(1) Q01007, doi:10.1029/2007GC001807.
- Kremer H. H., Tissier M. D. A. L., Burbridge P. R., Talaue-McManus L., Rabalais N. N., Parslow J., Crossland C. J., and Young B. (2005) *Land–Ocean Interactions in the Coastal Zone. Science plan and implementation strategy. IGBP Report 51 / IHDP Report 18*. IGBP Secretariat.
- Labonne M., Morize E., Kulbicki M., Ponton D., and Marec L. (2008) Otolith chemical signature and growth of *Chaetodon speculum* in coastal areas of New Caledonia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **78**(3), 493-504.
- Larvor H. (1996) La biominéralisation de *Pecten maximus* : anomalies liées aux perturbations du milieu - Volume 1. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 185pp.
- Lazareth C. E., Willenz P., Navez J., Keppens E., Dehairs F., and André L. (2000) Sclerosponges as a new potential recorder of environmental changes: Lead in *Ceratoporella nicholsoni*. *Geology* **28**(6), 515-518.
- Lazareth C. E., Putten E. V., Andre L., and Dehairs F. (2003) High-resolution trace element profiles in shells of the mangrove bivalve *Isognomon ehippium*: a record of environmental spatio-temporal variations? *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **57**(5-6), 1103-1114.
- Lazareth C. E., Guzman N., Poitrasson F., Candaudap F., and Ortlieb L. (2007) Nyctemeral variations of magnesium intake in the calcitic layer of a Chilean mollusk shell (*Concholepas concholepas*, Gastropoda). *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**(22), 5369-5383.
- Lea D. W. and Boyle E. (1989) Barium content of benthic foraminifera controlled by bottom-water composition. *Nature* **338**(6218), 751-753.
- Lea D. W. and Boyle E. A. (1993) Determination of carbonate-bound barium in foraminifera and corals by isotope dilution plasma-mass spectrometry. *Chemical Geology* **103**(1-4), 73-84.

- Lea D. W. and Martin P. A. (1996) A rapid mass spectrometric method for the simultaneous analysis of barium, cadmium, and strontium in foraminifera shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**(16), 3143-3149.
- Lea D. W., Mashiotto T. A., and Spero H. J. (1999) Controls on magnesium and strontium uptake in planktonic foraminifera determined by live culturing. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **63**(16), 2369-2379.
- Lee X., Hu R., Brand U., Zhou H., Liu X., Yuan H., Yan C., and Cheng H. (2004) Ontogenetic trace element distribution in brachiopod shells: an indicator of original seawater chemistry. *Chemical Geology* **209**(1-2), 49-65.
- Lewis P. N., Hewitt C. L., Riddle M., and McMinn A. (2003) Marine introductions in the Southern Ocean: an unrecognised hazard to biodiversity. *Marine Pollution Bulletin* **46**(2), 213-223.
- Liehr G. A., Zettler M. L., Leipe T., and Witt G. (2005) The ocean quahog *Arctica islandica* L.: a bioindicator for contaminated sediments. *Marine Biology* **147**(3), 671-679.
- Lisiecki L. E. and Raymo M. E. (2005) A pliocene-pleistocene stack of 57 globally distributed benthic  $d^{18}O$  records. *Paleoceanography* **20**, 1003.
- Liu H., Kelly M. S., Campbell D. A., Dong S. L., Zhu J. X., and Wang S. F. (2007) Exposure to domoic acid affects larval development of king scallop *Pecten maximus* (Linnaeus, 1758). *Aquatic Toxicology* **81**(2), 152-158.
- Longerich H. P., Gunther D., and Jackson S. E. (1996) Elemental fractionation in laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius 'Journal of Analytical Chemistry'* **355**(5-6), 538-542.
- Lorens R. B. and Bender M. L. (1980) The impact of solution chemistry on *Mytilus edulis* calcite and aragonite. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **44**(9), 1265-1278.
- Lorrain A., Paulet Y. M., Chauvaud L., Savoye N., Nezan E., and Guérin L. (2000) Growth anomalies in *Pecten maximus* from coastal waters (Bay of Brest, France) : relationship with diatom blooms. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **80**, 667-673.
- Lorrain A. (2002) Utilisation de la coquille Saint-Jacques comme traceur environnemental : approches biologique et biogéochimique. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 289pp.
- Lorrain A., Paulet Y.-M., Chauvaud L., Savoye N., Donval A., and Saout C. (2002) Differential  $\delta^{13}C$  and  $\delta^{15}N$  signatures among scallop tissues: implications for ecology and physiology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **275**(1), 47-61.
- Lorrain A., Paulet Y.-M., Chauvaud L., Dunbar R. B., Mucciarone D., and Fontugne M. (2004)  $\delta^{13}C$  variation in scallop shells: Increasing metabolic carbon contribution with body size? *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**(17), 3509-3519.
- Lorrain A., Gillikin D. P., Paulet Y.-M., Chauvaud L., Navez J., Le Mercier A., and André L. (2005) Strong kinetic effects on Sr/Ca ratios in the calcitic bivalve *Pecten maximus*. *Geology* **33**(12), 965-968.
- Luoma S. N. and Rainbow P. S. (2005) Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environmental Science and Technology* **39** (7), 1921 -1931.
- Lutz R. A. and Rhoads D. C. (1977) Anaerobiosis and a Theory of Growth Line Formation. *Science* **198**(4323), 1222-1227.
- Marino R., Howarth R. W., Chan F., Cole J. J., and Likens G. E. (2003) sulfate inhibition of molybdenum-dependent nitrogen fixation by planktonic cyanobacteria under seawater conditions: a non reversible effect. *Hydrobiologia* **500**, 277-293.
- Marriott C. S., Henderson G. M., Belshaw N. S., and Tudhope A. W. (2004a) Temperature dependence of  $\delta^7Li$ ,  $\delta^{44}Ca$  and Li/Ca during growth of calcium carbonate. *Earth and Planetary Science Letters* **222**(2), 615-624.
- Marriott C. S., Henderson G. M., Crompton R., Staubwasser M., and Shaw S. (2004b) Effect of mineralogy, salinity, and temperature on Li/Ca and Li isotope composition of calcium carbonate. *Chemical Geology* **212**(1-2), 5-15.

- Marteel A., Boutron C. F., Barbante C., Gabrielli P., Cozzi G., Gaspari V., Cescon P., Ferrari C. P., Dommergue A., Rosman K., Hong S., and Hur S. D. (2008) Changes in atmospheric heavy metals and metalloids in Dome C (East Antarctica) ice back to 672.0±kyr BP (Marine Isotopic Stages 16.2). *Earth and Planetary Science Letters* **272**(3-4), 579-590.
- Martinez M. L., Intralawan A., Vazquez G., Perez-Maqueo O., Sutton P., and Landgrave R. (2007) The coasts of our world: Ecological, economic and social importance. *Ecological Economics* **63**(2-3), 254-272.
- Mermet J.M. (1989) Fundamental principles of Inductively Coupled Plasmas. In *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Application* (ed. S. J. Hill), p27-60.
- Milliman J. D. (1974) *Marine carbonates*. Springer Verlag, Heidelberg. 375pp.
- Mitsuguchi T., Matsumoto E., Abe O., Uchida T., and Isdale P. J. (1996) Mg/Ca Thermometry in coral skeletons. *Science* **274**, 961-962.
- Montaggioni L. F., Le Cornec F., Correge T., and Cabioch G. (2006) Coral barium/calcium record of mid-Holocene upwelling activity in New Caledonia, South-West Pacific. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **237**(2-4), 436-455.
- Morford J. L. and Emerson S. (1999) The geochemistry of redox sensitive trace metals in sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **63**(11-12), 1735-1750.
- Morford J., Kalnejais L., Martin W., Francois R., and Karle I.-M. (2003) Sampling marine pore waters for Mn, Fe, U, Re and Mo: modifications on diffusional equilibration thin film gel probes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **285-286**, 85-103.
- Morford J. L., Emerson S. R., Breckel E. J., and Kim S. H. (2005) Diagenesis of oxyanions (V, U, Re, and Mo) in pore waters and sediments from a continental margin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69**(21), 5021-5032.
- Morris A. W. (1975) Dissolved molybdenum and vanadium in the northeast Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res.* **22**, 49-54.
- Morrison C. A., Lambert D. D., Morrison R. J. S., Ahlers W. W., and Nicholls I. A. (1995) Laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry: an investigation of elemental responses and matrix effects in the analysis of geostandard materials. *Chemical Geology* **119**(1-4), 13-29.
- Murozumi M., Chow T. J., and Patterson C. (1969) Chemical concentrations of pollutant lead aerosols, terrestrial dusts and sea salts in Greenland and Antarctic snow strata. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **33**(10), 1247-1294.
- Myers R. A. and Worm B. (2003) Rapid worldwide depletion of predatory fish communities. *Nature* **423**, 280-283.
- Nicholls R. J. (2004) Coastal flooding and wetland loss in the 21st century: changes under the SRES climate and socio-economic scenarios. *Global Environmental Change* **14**(1), 69-86.
- Norman M. D., Pearson N. J., Sharma A., and Griffin W. L. (1996) Quantitative analysis of trace elements in geological materials by laser ablation ICPMS: instrumental operating conditions and calibration values of NIST glasses. *Geostandards Newsletters* **20**, 247-261.
- Okumura M. and Kitano Y. (1986) Coprecipitation of alkali metal ions with calcium carbonate. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **50**(1), 49-58.
- Onuma N., Masuda F., Hirano M., and Wada K. (1979) Crystal structure control on trace element partition in molluscan shell formation. *Geochemical Journal* **13**, 187-189.
- Otto-Bliesner B. L., Marshall S. J., Overpeck j. T., Miller G. H., Hu A., and members. C. L. I. P. (2006) Simulating Arctic Climate Warmth and Icefield Retreat in the Last Interglaciation. *Science* **311**(5768), 1751-1753.
- Outridge P. M., Doherty W., and Gregoire D. C. (1997) Ablative and transport fractionation of trace elements during laser sampling of glass and copper. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **52**(14), 2093-2102.
- Overpeck j. T., Otto-Bliesner B. L., Miller G. H., Muhs D. R., Alley R. B., and Kiehl J. T. (2006) Paleoclimatic Evidence for Future Ice-sheet instability and Rapid Sea-Level Rise. *Science* **311**, 1747-1750.

- Owen R., Kennedy H., and Richardson C. (2002) Experimental investigation into partitioning of stable isotopes between scallop (*Pecten maximus*) shell calcite and sea water. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **185**(1-2), 163-174.
- Padilla K. L. and Anderson K. A. (2002) Trace element concentration in tree-rings biomonitoring centuries of environmental change. *Chemosphere* **49**(6), 575-585.
- Pan Y., Subba Rao D. V., Mann K. H., Li W. K. W., and Harrison C. G. A. (1996a) Effects of silicate limitation on production of domoic acid, a neurotoxin, by the diatom *Pseudo-nitzschia multiseries* I. Batch culture studies. *Marine ecology progress series* **131**, 225-233.
- Pan Y., Subba Rao D. V., Mann K. H., Li W. K. W., and Harrison C. G. A. (1996b) Effects of silicate limitation on production of domoic acid, a neurotoxin, by the diatom *Pseudo-nitzschia multiseries* II. Continuous culture studies. *Marine ecology progress series* **131**, 235-243.
- Pan Y., Parsons M. L., Busman M., Moeller P. D. R., Dortch Q., Powell C. L., and Doucette G. J. (2001) *Pseudo-nitzschia* sp cf. *pseudodelicatissima*. - a confirmed producer of domoic acid from the northern Gulf of Mexico. *Marine ecology progress series* **220**, 83-92.
- Patry Y. (2009) Variations de la croissance journalière et de la forme chez *Pecten maximus* : impact de l'environnement, depuis l'échelle saisonnière à celle de la vie, le long de gradients latitudinaux et bathymétriques. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 289pp.
- Pearce N. J. G., Perkins W. T., and Fuge R. (1992b) Developments in the Quantitative and Semiquantitative Determination of Trace Elements in carbonates by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **7**, 595-598.
- Pearce N. J. G. and Mann V. L. (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**(7), 739-755.
- Pérez-Huerta A., Cusack M., Jeffries T. E., and Williams C. T. (2008) High resolution distribution of magnesium and strontium and the evaluation of Mg/Ca thermometry in Recent brachiopod shells. *Chemical Geology* **247**(1-2), 229-241.
- Perkins W. T., Fuge R., and Pearce N. J. G. (1991) Quantitative Analysis of Trace Elements in Carbonates using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **6**, 445-450.
- Peters D. J. M., Snaar-Jagalska B. E., Haastert P. J. M., and Schaap P. (1992) Lithium, an inhibitor of cAMP-induced inositol 1,4,5-triphosphate accumulation in *Dictyostelium discoideum*, inhibits activation of guanine-nucleotide-binding regulatory proteins, reduces activation of adenylyl cyclase, but potentiates activation of guanylyl cyclase by cAMP. *European Journal of Biochemistry* **209**, 299-304.
- Petit J. R., Jouzel J., Raynaud D., Barkov N. I., Barnola J. M., Basile I., Bender M., Chappellaz J., Davis M., Delaygue G., Delmotte M., Kotlyakov V. M., Legrand M., Lipenkov V. Y., Lorius C., Pépin L., Ritz C., Saltzman E., and Stievenard M. (1999) Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature* **399**, 429-436.
- Pilkey O. H. and Goodell H. G. (1963) Trace elements in recent mollusk shells. *Limnology and Oceanography* **8**(2), 137-148.
- Pilkey O. H. and Harriss R. C. (1966) The effect of intertidal environment on the composition of calcareous skeletal material. *Limnology and Oceanography* **11**(3), 381-385.
- Pitts L. C. and Wallace G. T. (1994) Lead Deposition in the Shell of the Bivalve, *Mya arenaria*: an Indicator of Dissolved Lead in Seawater. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **39**(1), 93-104.
- Ploug H., Kulh M., Buccholz-Cleven B., and Jorgensen B. B. (1997) Anoxic aggregates-an ephemeral phenomenon in the pelagic environment? *Aquatic Microbial Ecology* **13**, 285-294.
- Price G. D. and Pearce N. J. G. (1997) Biomonitoring of pollution by *Cerastoderma edule* from the British Isles: a Laser Ablation ICP-MS study. *Marine Pollution Bulletin* **34**(12), 1025-1031.
- Puente X., Villares R., Carral E., and Carballeira A. (1996) Nacreous shell of *Mytilus galloprovincialis* as a biomonitor of heavy metal pollution in Galiza (NW Spain). *The Science of The Total Environment* **183**(3), 205-211.

- Ragueneau O. (1994) La dynamique du phytoplancton en écosystèmes macrotidaux: couplage avec l'hydrodynamique et le cycle biogéochimique du silicium. Thèse de doctorat, Université de Brest Occidentale. Brest, France. 334p.
- Ragueneau O., Chauvaud L., Leynaert A., Thouzeau G., Paulet Y. M., Bonnet S., Lorrain A., Grall J., Corvaisier R., Le Hir M., Jean F., and Clavier J. (2002) Direct evidence of a biologically active coastal silicate pump: ecological implications. *Limnology and Oceanography* **47**(6), 1849-1854.
- Ramos A. A., Inoue Y., and Ohde S. (2004) Metal contents in Porites corals: Anthropogenic input of river run-off into a coral reef from an urbanized area, Okinawa. *Marine Pollution Bulletin* **48**(3-4), 281-294.
- Raith A., Perkins W. T., Pearce N. J. G., and Jeffries T. E. (1996) Environmental monitoring on shellfish using UV laser ablation ICP-MS. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **355**(7/8), 789-792.
- Rauch S., Hemond H. F., and Brabander D. J. (2006) High spatial resolution analysis of lake sediments cores by laser ablation -inductively coupled plasma -mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Limnology and Oceanography : Methods*. **4**, 268-274.
- Reuer M. K., Boyle E. A., and Cole J. E. (2003) A mid-twentieth century reduction in tropical upwelling inferred from coralline trace element proxies. *Earth and Planetary Science Letters* **210**(3-4), 437-452.
- Richardson C. A. (2001a) Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* **39**, 103-164.
- Richardson C. A., Chenery S. R. N., and Cook J. M. (2001b) 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., Peharda M., Kennedy H., Kennedy P., and Onofri V. (2004) Age, growth rate and season of recruitment of *Pinna nobilis* (L) in the Croatian Adriatic determined from Mg:Ca and Sr:Ca shell profiles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **299**(1), 1-16.
- Richardson C. A., Saurel C., Barroso C. M., and Thain J. (2005) Evaluation of the age of the red whelk *Neptunea antiqua* using statoliths, opercula and element ratios in the shell. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **325**(1), 55-64.
- Riebesell U. (1991) Particle aggregation during a diatom bloom. II. Biological aspect. *Marine Ecology Progress Series* **69**, 281-291.
- Roditi H. A., Fisher N. S., and Sanudo-Wilhelmy S. A. (2000) Uptake of dissolved organic carbon and trace elements by zebra mussels. *Nature* **407**(6800), 78-80.
- Rong Min G., Lawrence Edwards R., Taylor F. W., Recy J., Gallup C. D., and Warren Beck J. (1995) Annual cycles of U/Ca in coral skeletons and U/Ca thermometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **59**(10), 2025-2042.
- Rosenberg G. D. (1980) An ontogenetic approach to the environmental significance of bivalve shell chemistry, 1. In *Skeletal Growth of Aquatic Organisms: Biological Records of Environmental*, 133-168.
- Rosenberg G. D., Hughes W. W., Parker D. L., and Ray B. D. (2001) The geometry of bivalve shell chemistry and mantle metabolism. *American Malacological Bulletin* **16**, 251-261.
- Rosenheim B. E., Swart P. K., Thorrold S. R., Willenz P., Berry L., and Latkoczy C. (2004) High-resolution Sr/Ca records in sclerosponges calibrated to temperature in situ *Geology* **32**, 145-148.
- Rosenheim B. E., Swart P. K., and Thorrold S. R. (2005) Minor and trace elements in sclerosponge *Ceratoporella nicholsoni*: Biogenic aragonite near the inorganic endmember? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **228**(1-2), 109-129.
- Rosenthal Y., Lear C. H., Oppo D. W., and Linsley B. K. (2006) Temperature and carbonate ion effects on Mg/Ca and Sr/Ca ratios in benthic foraminifera : Aragonitic species *Hoeglundina elegans* *Paleoceanography* **21**, PA1007, doi:10.1029/2005PA001158.
- Rosenzweig C., Karoly D., Vicarelli M., Neofotis P., Wu Q., Casassa G., Menzel A., Root T., L., Estrella N., Seguin B., Tryjanowski P., Liu C., Rawlins S., and Imeson A. (2008) Attributing physical and biological impacts to anthropogenic climate change. *Nature* **453**, 353-357.

- Roux, M., Schein, E., Rio, M., Davanzo, F., Filly, A. 1990. Enregistrement des paramètres du milieu et des phases de croissance par les rapports  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  et  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  dans la coquille de *Pecten maximus* Pectinidae, Bivalvia). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris. **310**, 385-390.
- Ruiz-Fernández A. C., Páez-Osuna F., Urrutia-Fucugauchi J., Preda M., and Rehault I. (2004) Historical trace metal fluxes in the Mexico City Metropolitan Zone as evidenced by a sedimentary record from the Espejo de los Lirios lake. *Journal of Environmental Monitoring* **6**, 473-480.
- Sapse A. M. and Schleyer P. von R. (1995) Lithium chemistry, a theoretical and experimental overview. John Wiley & Sons, Inc., New-York, 595pp.
- Schettler G. and Pearce N. J. G. (1996) Metal pollution recorded in extinct *Dreissena polymorpha* communities, Lake Breitling, Havel Lakes system, Germany: A laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry study. *Hydrobiologia* **317**(1), 1-11.
- Schiedek D., Sundelin B., Readman J. W., and Macdonald R. W. (2007) Interactions between climate change and contaminants. *Marine Pollution Bulletin* **54**(12), 1845-1856.
- Schimmield G. B. and Price N. B. (1986) The behaviour of molybdenum and manganese during early sediment diagenesis-offshore Baja California, Mexico. *Marine Chemistry* **19**, 261-280.
- Sellner K. G. (1997) Physiology, ecology, and toxic properties of marine cyanobacteria blooms. *Limnology and Oceanography* **42**(5 (part 2)), 1089-1104.
- Shen G. T. and Boyle E. A. (1987) Lead in corals: reconstruction of historical industrial fluxes to the surface ocean. *Earth and Planetary Science Letters* **82**(3-4), 289-304.
- Sinclair D. J., Kinsley L. P. J., and McCulloch M. T. (1998) High resolution analysis of trace elements in corals by laser ablation ICP-MS. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62**(11), 1889-1901.
- Smetacek V. (1985) Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Marine Biology* **84**, 239-251.
- Smith S. V. (1978) Coral reef area and contributions of reefs to processes and resource of the world's oceans. *Nature* **273**(5659), 225-226.
- Smith S. V., Buddemeier R. W., Redalje R. C., and Houck J. E. (1979) Strontium-calcium thermometry in coral skeletons. *Science* **204**, 404-407.
- Smith C. L., Fairchild I. J., Spötl C., Frisia S., Borsato A., Moreton S. G., and Wynn P. M. (2009) Chronology building using objective identification of annual signals in trace element profiles of stalagmites. *Quaternary Geochronology* **4**(1), 11-21.
- Stecher III H. A., Krantz D. E., Lord III C. J., Luther III G. W., and Bock K. W. (1996) Profiles of strontium and barium in *Mercenaria mercenaria* and *Spisula solidissima* shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**(18), 3445-3456.
- Stewart J. E. and Subba Rao D. V. (1998) Les phycotoxines : physiologie et production. 49-55. [www.mar.dfo-mpo.gc.ca/science/review/.../phycotoxins-f.pdf](http://www.mar.dfo-mpo.gc.ca/science/review/.../phycotoxins-f.pdf).
- Stoffynegli P. and Mackenzie F. T. (1984) Mass balance of dissolved lithium in the oceans. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **48**(4), 859-872.
- Strasser C. A., Mullineaux L. S., and Walther B. D. (2008) Growth rate and age effects on *Mya arenaria* shell chemistry: Implications for biogeochemical studies. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **355**(2), 153-163.
- Su T., Shu S., Shi H., Wang J., Adams C., and Witt E. C. (2008) Distribution of toxic trace elements in soil/sediment in post-Katrina New Orleans and the Louisiana Delta. *Environmental Pollution* **156**(3), 944-950.
- Subba Rao D. V., Pan Y., and Mukhida K. (1998) Production of Domoic Acid by *Pseudo-nitzschia* multiseriales Hasle, affected by Lithium. *Marine Ecology* **19**(1), 31-36.
- Swart P. K. (1982) Uranium in coral skeletons. *Coral Reefs* **1**, 13-19.
- Swart P. K., Cross T. S., and Cross B. W. (1984) U, Sr, and Mg in Holocene and Pleistocene corals ; discussion and reply. *Journal of Sedimentary Research* **54**(1), 326-329.
- Swart P. K., Healy G., Greer L., Lutz M., Saied A., Anderegg D., Dodge R. E., and Rudnick D. (1999) The use of proxy chemical records in coral skeletons to ascertain past environmental conditions in Florida Bay. *Estuaries* **22**, 384-397.

- Swart P. K., Thorrold S., Rosenheim B., Eisenhauer A., Harrison C. G.A., Crammer M., and Latkoczy C. (2002a) Intra-annual variation in the stable oxygen and carbon and trace element composition of sclerosponges. *Palaeogeography* **17**(3), 1-12.
- Swart P. K., Elderfield H., and Greaves M. J. (2002b) A high-resolution calibration of Sr/Ca thermometry using the Caribbean coral *Montastraea annularis*. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **3**(11), 8402, doi:10.1029/2002GC000306.
- Swart P. K. and Grottoli A. (2003) Proxy indicators of climate in coral skeletons: a perspective. *Coral Reefs* **22**(4), 313-315.
- Szefer P. and Skwarzec B. (1988) Distribution and possible sources of some elements in the sediment cores of the Southern Baltic. *Marine Chemistry* **23**(1-2), 109-129.
- Szefer P., Frelek K., Szefer K., Lee C.-B., Kim B.-S., Warzocha J., Zdrojewska I., and Ciesielski T. (2002) Distribution and relationships of trace metals in soft tissue, byssus and shells of *Mytilus edulis trossulus* from the southern Baltic. *Environmental Pollution* **120**(2), 423-444.
- Taborin Y. (1993) *La parrure en coquillage au Paléolithique*. C.N.R.S. (Supplément à *Gallia préhistoire* ; XXIX<sup>ème</sup>). Paris. 329pp.
- Takesue R. K. and van Geen A. (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* **68**(19), 3845-3861.
- Takesue R. K., Bacon C. R., and Thompson J. K. (2008) Influences of organic matter and calcification rate on trace elements in aragonitic estuarine bivalve shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **72**(22), 5431-5445.
- Thébault J. (2005) La coquille de *Comptopallium Radula* (Bivalvia; Pectinidae), archive eulérienne haute fréquence de la variabilité de l'environnement côtier tropical (océan pacifique). Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 342pp.
- Thébault J., Chauvaud L., Clavier J., Fichez R., and Morize E. (2006) Evidence of a 2-day periodicity of striae formation in the tropical scallop *Comptopallium radula* using calcein marking. *Marine Biology* **149**(2), 257-267.
- Thébault J., Thouzeau G., Chauvaud L., Cantillanez M., and Avendano M. (2008) Growth of *Argopecten purpuratus* (Mollusca ; Bivalvia) on a natural bank in Northern Chile : sclerochronological record and environmental controls. *Aquatic Living Resources* **21**(1), 45-55.
- Thébault J., Chauvaud L., L'Helguen S., Clavier J., Barats A., Jacquet S., Pécheyran C., and Amouroux D. (2009) Barium and molybdenum records in bivalve shells: Geochemical proxies for phytoplankton dynamics in coastal environments? *Limnology and Oceanography* **54**(4).
- Thébault J., Schone B. R., Hallmann N., and Barth M. (soumis) Could Li/Ca in bivalve shells be used as a new paleoceanographic proxy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*.
- Thompson L. G., Mosley-Thompson E. D., Davis M. E., Henderson K. A., Brecher H. H., Zagorodnov V. S., Mashiotta T. A., Lin P. N., Mikhailenko V. N., Hardy D. R., and Beer J. (2002) Kilimandjaro ice core records : evidence of Holocene climate change in tropical Africa. *Science* **298**, 589-593.
- Toland H., Perkins B., Pearce N., Keenan F., and Leng M. J. (2000) A study of sclerochronology by laser ablation ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **15**, 1143-1148.
- Valiela I. (1995) *Marine Ecological Processes*. Second ed. Springer Verlag, 686pp.
- Vander Putten E., Dehairs F., Andre L., and Baeyens W. (1999) Quantitative in situ microanalysis of minor and trace elements in biogenic calcite using infrared laser ablation - inductively coupled plasma mass spectrometry: a critical evaluation. *Analytica Chimica Acta* **378**(1-3), 261-272.
- Vander Putten E., Dehairs F., Keppens E., and Baeyens W. (2000) High resolution distribution of trace elements in the calcite shell layer of modern *Mytilus edulis*: environmental and biological controls. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **64**(6), 997-1011.
- Wanamaker Jr A. D., Kreutz K. J., Wilson T., Borns Jr H. W., Introne D. S., and Feindel S. (2008) Experimentally determined Mg/Ca and Sr/Ca ratios in juvenile bivalve calcite for *Mytilus edulis*: implications for paleotemperature reconstructions. *Geo-Marine Letters* **28**(5-6), 359-368.

- Wang W.-X. & Fisher N. S. (1999) Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *The Science of The Total Environment* **237-238**, 459-472.
- Weber J. N. and Whoodhead P. M. J. (1970) Carbon and oxygen isotope fractionation in the skeletal carbonate of reef-building corals. *Chemical Geology* **6**, 93-117.
- Weber J. N. (1973) Incorporation of strontium into reef coral skeletal carbonate. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **37**, 2173-2190.
- Wefer G. & Berger W. H. (1991) Isotope paleontology : growth and composition of extant calcareous species. *Marine Geology* **100**, 207-248.
- Wefer G., Berger W. H., Bijma J., and Fischer G. (1999) Clues to ocean history: a brief overview of proxies. In *Use of proxies in paleoceanography: examples from the South Atlantic* (ed. G. Fischer and G. Wefer), pp. 1-68. Springer-Verlag.
- Wilbur K. M. & Saleuddin A. S. M. (1983) Shell formation. In : Saleuddin ASM & Wilbur KM *The Mollusca - Volume 4 : Physiology - Part 1*, Academic Press, Inc., pp. 235-287.
- Wilson R. C. L. and Drury S. A. (2000) *The Great Ice Age : climate change and life*. Taylor and Francis Group London. 267pp.
- Winograd I. J., Coplen T. B., Landwehr J. M., Riggs A. C., Ludwig K. R., Szabo B. J., Kolesar P. T., and Revesz K. M. (1992) Continuous 500,000 year climate record from vein calcite in devils hole, Nevada. *Science* **258**, 255-260.
- Wyndham T., McCulloch M., Fallon S., and Alibert C. (2004) High-resolution coral records of rare earth elements in coastal seawater: biogeochemical cycling and a new environmental proxy. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**(9), 2067-2080.
- You C.-F. and Chan L.-H. (1996) Precise determination of lithium isotopic composition in low concentration natural samples. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**(5), 909-915.
- Yu K.-F., Kamber B. S., Lawrence M. G., Greig A., and Zhao J.-X. (2007) High-precision analysis on annual variations of heavy metals, lead isotopes and rare earth elements in mangrove tree rings by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **255**(2), 399-408.
- Zhang H., Davison W., Miller S., and Tych W. (1995) In situ high resolution measurements of fluxes of Ni, Cu, Fe, and Mn and concentrations of Zn and Cd in porewaters by DGT. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **59**(20), 4181-4192.
- Zheng Y., Anderson R. F., van Geen A., and Kuwabara J. (2000) Authigenic molybdenum formation in marine sediments: a link to pore water sulfide in the Santa Barbara Basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **64**(24), 4165-4178.
- Zwolsman J. J. G., Berger G. W., and Van Eck G. T. M. (1993) Sediment accumulation rates, historical input, postdepositional mobility and retention of major elements and trace metals in salt marsh sediments of the Scheldt estuary, SW Netherlands. *Marine Chemistry* **44**(1), 73-94.



## **Glossaire**

- <sup>1</sup> IUEM : Institut Universitaire Européen de la Mer.
- <sup>2</sup> LEMAR : Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin
- <sup>3</sup> Spéléothèmes: concrétions calcaires dans une grotte.
- <sup>4</sup> Production nouvelle : production primaire (croissance du phytoplancton) qui résulte de l'apport de sels nutritifs dans le milieu ambiant.
- <sup>5</sup> AAS : Spectrométrie d'Absorption Atomique.
- <sup>6</sup> SHRIMPRG : microsonde ionique haute résolution sensible (Sensitive High Resolution Ion MicroProbe with Reverse Geometry).
- <sup>7</sup> Interférence isobarique : Une interférence isobarique correspond à la superposition à la même masse mesurée des signaux de deux éléments partageant un isotope.
- <sup>8</sup> Espèce suspensivore : se nourrit de matière en suspension dans l'eau.
- <sup>9</sup> Espèce épigée : espèce vivant en surface du sol ou d'un substrat naturel (sable, sédiments émergés...).
- <sup>10</sup> Bioturbation : Remaniement de particules de sédiments dans l'eau par l'activité mécanique d'organismes vivants.
- <sup>11</sup> Agrégat : type de distribution spatiale d'une population caractérisé par le rassemblement d'individus en groupes.
- <sup>12</sup> Adsorption : phénomène physique et/ou chimique par lequel une substance gazeuse, liquide ou dissoute, se fixe sur les parois d'un solide.
- <sup>13</sup> Absorption : phénomène par lequel une substance est incorporée par un organisme au travers de processus physico-chimiques ou biologiques
- <sup>14</sup> Conditions suboxiques : définit l'absence d'oxygène et de sulfures dans un milieu.
- <sup>15</sup> Zone d'hypoxie : zone pauvre ou amoindrie en oxygène.
- <sup>16</sup> Procaryote : Organisme (bactéries, cyanophycées) dont la cellule ne possède pas de noyau.
- <sup>17</sup> Cyanobactéries : procaryotes photosynthétiques qui utilisent comme source d'énergie, l'énergie lumineuse.
- <sup>18</sup> Production régénérée : production primaire (croissance du phytoplancton) qui résulte de la matière organique minéralisée en surface par l'activité des bactéries et du zooplancton.
- <sup>19</sup> Sténohaline : définit les organismes qui ne tolèrent que de faibles variations de salinité.



## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Récapitulatif des études menées sur les mollusques via ICP-MS et des suggestions émises concernant l'incorporation des traceurs dans leur coquille.....	39
<b>Tableau 2</b> : Etudes menées par ICP-MS sur l'espèce <i>Pecten maximus</i> dont la collaboration LEMAR/LCABIE.....	40
<b>Tableau 3</b> : Enoncé des hypothèses constatées sur l'assimilation de certains éléments au sein de coquilles de divers mollusques selon différentes techniques analytiques.....	40
<b>Tableau 4</b> : Ordre de grandeur des teneurs élémentaires dans des coquilles de mollusques déterminées via LA-ICP-MS lors de précédents travaux selon l'espèce.....	46
<b>Tableau 5</b> : Ordre de grandeur des teneurs élémentaires dans des matrices bio-carbonatées recensées dans la littérature scientifique selon l'instrument analytique et l'espèce de mollusque.....	46
<b>Tableau 6</b> : Facteur de dilution de la solution standard et quantités prélevées.....	48
<b>Tableau 7</b> : Abondances et écarts types relatifs à 3 coquilles Saint Jacques classe I de la rade de Brest prélevées le 03/09/2004.....	52
<b>Tableau 8</b> : Dosages et solutions mono-élémentaires utilisés dans le protocole de préparation du standard "Calcite Brest".....	54
<b>Tableau 9</b> : Exemple de teneur estimée pour quelques éléments dans le standard artificiel .....	55
<b>Tableau 10</b> : Récapitulatif des solutions utilisées et des éléments en traces qui composent le standard "Calcite Brest".....	56
<b>Tableau 11</b> : Solutions choisies pour améliorer l'estimation de certains éléments du standard "Calcite Brest".....	57
<b>Tableau 12</b> : Interférences et isotopes examinés pour corriger l'estimation des terres rares lourdes.....	63
<b>Tableau 13</b> : Eléments composants la méthode "Ca-Mg réduite" et les informations attendues.....	66
<b>Tableau 14</b> : Liste des éléments ayant des interférences contraignantes en basse résolution (BR) conduisant à leur analyse en moyenne résolution (MR). Entre parenthèses figurent des interférences qui apparaissent négligeables pour notre analyse.....	67
<b>Tableau 15</b> : Liste des interférences recensées en moyenne et basse résolution pour l'arsenic et le potassium entraînant leur analyse à haute résolution (HR). Entre parenthèses figurent des interférences qui apparaissent négligeables pour notre analyse.....	68
<b>Tableau 16</b> : Interférences pour les éléments analysés en moyenne et basse résolution pour la méthode "Ca-Mg réduite". (en gris les isotopes sélectionnés pour notre méthode).....	68
<b>Tableau 17</b> : Interférences recensées sur les isotopes 42, 43, 44, 46 du calcium en basse et en moyenne résolution.....	74
<b>Tableau 18</b> : Valeurs moyenne du signal (en coups par seconde) sur plusieurs isotopes ( <sup>7</sup> Li, <sup>11</sup> B, <sup>25</sup> Mg, <sup>55</sup> Mn, <sup>88</sup> Sr, <sup>138</sup> Ba, <sup>208</sup> Pb mesurés en basse résolution et <sup>23</sup> Na, <sup>31</sup> P, <sup>25</sup> Mg, <sup>55</sup> Mn en moyenne résolution), de leur rapport au <sup>43</sup> Ca et des écarts type relatif associés (en %) lors d'une ablation en cratère et sous forme de trait sur une strie identique de coquilles Saint-Jacques.....	78
<b>Tableau 19</b> : Valeurs de l'intensité du signal (coups par seconde) pour les isotopes <sup>43</sup> Ca, <sup>88</sup> Sr, <sup>55</sup> Mn, <sup>138</sup> Ba, <sup>118</sup> Sn, <sup>208</sup> Pb, de leurs rapports au <sup>43</sup> Ca et des écarts type relatifs associés entre parenthèse (en %) sans décapage ou avec lors de trois répliques sur des stries de coquilles Saint-Jacques.....	79
<b>Tableau 20</b> : Limites de détection et précision de la méthode LA-ICP-MS mesurées dans nos conditions opératoires. Les limites de détection obtenues par ICP-MS en mode liquide sur l'ICP-MS Element 2 de Brest et par le système LA-ICP-MS de Pau (Barats, 2006) sont ajoutées pour comparaison. NC : non calculé ; VR : valeurs recommandées ; Brest a : LA-ICP-MS, Brest b : ICP-MS.....	84
<b>Tableau 21</b> : Teneur moyenne (ppm), écart type relatif (%), minimum et maximum de la concentration mesurés sur une coquille de <i>Pecten maximus</i> de la Rade de Brest selon les deux méthodes d'analyses développées sur l'ICP-MS Element 2. NQ : non quantifié ; <LD : la valeur se trouve en dessous des limites de détection).....	90
<b>Tableau 22</b> : Comparaison des enrichissements en molybdène, baryum, et manganèse (teneur moyenne, écart type, date) mesurés sur une coquille Saint-Jacques prélevée en rade de Brest à partir des 2 modes d'analyses développées sur l'ICP-MS Element 2. Chaque pic est indiqué par des flèches grises sur la Figure 27.....	95

<b>Tableau 23</b> : Coefficients de corrélation de Pearson (r) calculés pour plusieurs éléments avec les deux méthodes d’analyses.....	96
<b>Tableau 24</b> : Comparaison des caractéristiques de la surface échantillonnée entre un prélèvement “micromill” et une ablation laser.....	97
<b>Tableau 25</b> : Teneur coquillière moyenne (ppm), écart type relatif (%), minimum et maximum de la concentration en Mn, en Co, en Cu, en Sr, en Pb, en Mg et en Ba dans des valves gauches de <i>P. maximus</i> prélevées en rade de Brest pour trois années différentes obtenues par deux laboratoires (LCABIE / Domaines Océaniques). La teneur coquillière moyenne en baryum ne tient pas compte des enrichissements épisodiques. LD : limite de détection de l’appareil utilisé.....	101
<b>Tableau 26</b> : Comparaison des enrichissements en molybdène et en baryum (teneur moyenne, écart type, date) obtenus avec l’ICP-MS quadripolaire et la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS (ablation laser et prélèvement par micro-foreuse “Micromill”) sur des coquilles Saint-Jacques <i>Pecten maximus</i> juvéniles prélevées à Roscanvel (rade de Brest). M : teneur moyenne ; SD : écart type.....	113
<b>Tableau 27</b> : Enoncé de tous les résultats obtenus à partir de l’ICP-MS Element 2 sur l’abondance du calcium dans <i>Pecten maximus</i> au cours de cette étude.....	117
<b>Tableau 28</b> : Valeurs moyennes en strontium et en sodium (en %) et écarts types relatifs (RSD en %) par analyse microsonde électronique et HR-ICP-MS de trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Roscanvel (rade de Brest) le 03/09/2004. ....	119
<b>Tableau 29</b> : Abondances et écarts types relatifs en soufre mesuré en microsonde électronique de 3 coquilles Saint-Jacques classe I de la rade de Brest prélevées le 03/09/2004.....	120
<b>Tableau 30</b> : Coefficients de corrélation de Pearson (r) calculés pour le molybdène entre trois individus de différentes populations ( $p < 0,0001$ ) * un individu de cette population a probablement subi l’attaque d’un prédateur début mai ** analyse de 3 sections de croissance différentes d’une même valve.....	132
<b>Tableau 31</b> : Comparaison des enrichissements en molybdène (teneur moyenne, écart type, date) obtenus avec la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) sur différentes populations de valves gauches de <i>P. maximus</i> prélevées à Roscanvel (rade de Brest), à Belle-Ile en mer (cf. IV-1-2) et en baie de Saint-Brieuc (cf. IV-1-2). * 4 individus ont été analysés pour cette population. ** analyse de 3 sections de croissance différentes d’une même valve.....	133
<b>Tableau 32</b> : Coefficients de corrélation de Pearson (r) calculés pour le lithium entre trois individus de différentes populations (* : $p < 0,0001$ ; ** : $p < 0,001$ ).....	161
<b>Tableau 33</b> : Comparaison des enrichissements en lithium (teneur moyenne, écart type, date) obtenus avec la nouvelle approche technologique utilisant le HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) sur différentes populations de valves gauches de <i>P. maximus</i> prélevées en Baie de Roscanvel (Rade de Brest) et à Belle-Ile en mer (cf. chapitre IV-2-2).....	163
<b>Tableau 34</b> : Coefficients de détermination ( $r^2$ ) calculés pour identifier des relations entre la teneur coquillière moyenne en lithium chez différentes populations de <i>P. maximus</i> ( $n = 3$ valves pour chaque population) et différents paramètres (taux de croissance, température, salinité et débit des fleuves). Notons que les fleuves considérés sont en rade de Brest : Aulne et Elorn, à Belle-Ile : Loire. * 4 valves ont été échantillonnées pour cette population. ND : Non Déterminé. * $p < 0,0001$ ; ** $p < 0,01$ ; <sup>NS</sup> $p > 0,05$ .....	170
<b>Tableau 35</b> : Coefficients de détermination ( $r^2$ ) calculés après une régression linéaire multiple entre la teneur coquillière moyenne du lithium chez différentes populations de <i>P. maximus</i> ( $n=3$ valves pour chaque population) et trois variables environnementales (taux de croissance, température, salinité et débit des fleuves). a : taux de croissance de l’animal, b : température de l’eau, c : salinité *Rappelons que les individus couvrant l’année 2001 ne mettent en évidence aucun pic de Li. * 4 valves ont été échantillonnées pour cette population. ** $p < 0,01$ .....	190
<b>Tableau 36</b> : Nature et abondance des espèces phytoplanctoniques observées à Roscanvel avant les périodes d’enrichissements de la concentration valvaire en Li chez <i>P. maximus</i> (1999, 2004, 2007).....	193





## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Schéma illustrant les divers compartiments constitutifs des coquilles de mollusques (source Klein et al. 1998). Il convient de noter que les valves de <i>Pecten maximus</i> ne contiennent pas la structure aragonite (Roux et al. 2000 ; Lorrain, 2002).....	9
<b>Figure 2</b> : Illustration, caractéristique de l'espèce <i>Pecten maximus</i> et représentation schématique de sa croissance coquillière.....	17
<b>Figure 3</b> : Décryptage de l'allumage d'un plasma sous ICP (d'après Boss et Freedon, 1997).....	23
<b>Figure 4</b> : Représentation des régions de température du plasma (d'après Boss et Freedon, 1997).....	24
<b>Figure 5</b> : Schéma de la trajectoire stable d'un ion traversant le quadripôle.....	26
<b>Figure 6</b> : Schéma descriptif d'un Thermo Electron™ HR ICP-MS Element 2.....	28
<b>Figure 7</b> : Agrandissement de la zone interface.....	30
<b>Figure 8</b> : Evolution de la forme du pic et de la perte en signal lors du passage basse-moyenne et haute résolution pour l'isotope $^{115}\text{In}$ .....	31
<b>Figure 9</b> : Résolution requise pour résoudre les interférences dues aux oxydes.....	33
<b>Figure 10</b> : Représentation de la cellule d'ablation laser Geolas™Pro.....	34
<b>Figure 11</b> : Exemple de cratère à fond plat et bord verticaux effectué avec le Laser Geolas Pro dans la résine (diamètre 100 $\mu\text{m}$ , énergie $F = 10\text{J}/\text{cm}^2$ photographie du site Coherent).....	35
<b>Figure 12</b> : Exemples de profils élémentaires du Mo sur une période de 7 ans obtenus dans les valves de <i>Pecten maximus</i> comparés avec la croissance et différents paramètres environnementaux (température, salinité, chlorophylle a,...) (Barats et al., soumis).....	41
<b>Figure 13</b> : Exemples de profils élémentaires du Ba pour l'année 2003 obtenus dans les coquilles de <i>Pecten maximus</i> (source Barats et al., 2009).....	42
<b>Figure 14</b> : Processus d'échantillonnage pour analyser les lames minces de <i>Pecten maximus</i> avec la microsonde (les points d'impacts sont grossis en rouge pour une meilleure visualisation).....	50
<b>Figure 15</b> : Variations temporelles de l'abondance du calcium au cours de l'année 2004 au sein de 3 coquilles St Jacques prélevées en rade de Brest (Banc de Roscanvel).....	51
<b>Figure 16</b> : (I) Visualisation du parcours échantillonné (de la pointe à la base de la strie) et (II) évolution de l'abondance du calcium au sein d'une strie de coquille Saint-Jacques.....	52
<b>Figure 17</b> : Cartographie de répartition du calcium et du carbone pour une strie de <i>Pecten maximus</i> .....	53
<b>Figure 18</b> : Section découpée comportant l'axe maximal de croissance d'une coquille Saint-Jacques classe I incluse dans la résine et prête à subir des prélèvements par "Micromill".....	58
<b>Figure 19</b> : Photos présentant les différentes étapes permettant de recueillir un échantillon de poudre de carbonate de calcium sur une coquille Saint-Jacques par micro-prélèvement de type "Micromill".....	59
<b>Figure 20</b> : Exemple de signal en coups par seconde observé lors d'une analyse LA-ICP-MS pour l'isotope $^{43}\text{Ca}$ sur l'étalon NIST612. L'acquisition dure 160 secondes mais le faisceau laser débute au bout de 30 secondes (mesure du bruit de fond).....	73
<b>Figure 21</b> : Visualisation des différentes techniques d'ablation (ablation en cratère, en trait ou en balayage).....	75
<b>Figure 22</b> : Evolution du signal (en coups par seconde) des isotopes $^{11}\text{B}$ , $^{43}\text{Ca}$ , $^{25}\text{Mg}$ , $^{55}\text{Mn}$ lors d'une ablation sous forme de trait et sous forme de cratère sur une strie identique de coquille Saint-Jacques à deux modes de résolution (BR : basse résolution et MR : moyenne résolution).....	76
<b>Figure 23</b> : Evolution du signal (en coups par seconde) de plusieurs isotopes ( $^7\text{Li}$ , $^{138}\text{Ba}$ , $^{139}\text{La}$ , $^{140}\text{Ce}$ , $^{208}\text{Pb}$ , $^{238}\text{U}$ ) au cours d'une ablation sous forme de trait et sous forme de cratère sur une strie identique de coquilles Saint-Jacques.....	77
<b>Figure 24</b> : Localisation des sites étudiés en Bretagne et des prélèvements en rade de Brest.....	88
<b>Figure 25</b> : Variations temporelles des concentrations en magnésium et en strontium dans une coquille de <i>P. maximus</i> mesurées à partir des deux méthodologies employées sur le HR-ICP-MS (noire : LA-ICP-MS, grise : ICP-MS).....	91
<b>Figure 26</b> : Relations entre la croissance journalière d'un individu de <i>P. maximus</i> et la concentration coquillière en magnésium mesurés par les 2 techniques d'analyses du HR-ICP-MS en 2001.....	91

<b>Figure 27</b> : Evolution des teneurs en éléments en traces au sein d'une coquille de <i>P. maximus</i> obtenues à partir des deux méthodologies employées au cours de ce travail de thèse confrontée à la croissance coquillière de cet individu. Les flèches grises désignent des enrichissements élevés de la teneur coquillière en certains éléments.....	94
<b>Figure 28</b> : Illustration des prélèvements par micro-foreuse "Micromill" et ablation laser sur la valve gauche d'une coquille Saint-Jacques.....	97
<b>Figure 29</b> : Evolution de la concentration en magnésium (A-B-C) et en baryum (D-E-F) au sein de trois coquilles de <i>P. maximus</i> au cours de l'année 1999, 2001 et 2004 (cette étude).....	100
<b>Figure 30</b> : Evolution de la concentration en strontium (A-B-C) et en manganèse (D-E-F) au sein de trois valves de <i>P. maximus</i> pendant l'année 1999, 2001 et 2004 (ce travail).....	102
<b>Figure 31</b> : Evolution de la concentration en plomb (A-B-C) et en cuivre (D-E-F) au sein de 3 valves de <i>P. maximus</i> au cours de l'année 1999, 2001 et 2004 (ce travail). Les lignes pointillées grises représentent la limite de détection de la méthode pour le plomb et le cuivre.....	103
<b>Figure 32</b> : Evolution temporelle des concentrations en étain dans une valve gauche de <i>Pecten maximus</i> prélevée en Rade de Brest obtenues par LA-ICP-MS haute-résolution (ce travail). La ligne pointillée grise représente la limite de détection de la méthode pour l'étain.....	104
<b>Figure 33</b> : Comparaison des variations temporelles (mars-novembre 2001) des concentrations coquillières en Mo et en Ba d'individus de même âge issus d'une même population (Baie de Roscanvel) mesurées avec l'ICP-MS quadripolaire et les deux modes d'analyse du HR-ICP-MS.	110
<b>Figure 34</b> : Comparaison des profils des teneurs coquillières en molybdène et en magnésium de 2 lots de trois individus de <i>P. maximus</i> issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007). Recalage chronologique établi sur la date de pêche.....	115
<b>Figure 35</b> : Variabilité saisonnière de la croissance journalière moyenne et des concentrations coquillières en molybdène et en magnésium de 2 lots de trois individus de <i>P. maximus</i> issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007) I : recalage chronologique établi sur la date de pêche ; II,III, IV : courbes des individus du 5 novembre décalées de 15 jours.....	115
<b>Figure 36</b> : Variations temporelles (mars-novembre 2004) de l'abondance moyenne du sodium et du strontium des trois coquilles Saint-Jacques prélevées en Rade de Brest lorsque ces éléments sont mesurés par microsonde électronique et HR-ICP-MS (A, C) et corrélation des valeurs obtenues selon les deux techniques (B, D). $p < 0,001$ pour les deux éléments.....	119
<b>Figure 37</b> : Evolution de l'abondance du soufre au cours de l'année 2004 sur trois coquilles de <i>P. maximus</i> obtenue par microsonde électronique (en %) et du rapport soufre sur calcium mesuré selon la méthode ICP-MS en mode dosage.....	121
<b>Figure 38</b> : Evolution de l'abondance du sodium (I) et du soufre associé au strontium (II) sur une strie.....	122
<b>Figure 39</b> : Cartographie de répartition du strontium, du sodium et du soufre pour une strie de <i>P. maximus</i> en coupe longitudinale (lame mince).....	122
<b>Figure 40</b> : Visualisation des trois axes de croissances analysées par ICP-MS qui représentent l'ensemble de la coquille nommée C6.....	125
<b>Figure 41</b> : Evolution des teneurs en Ca, en Na, en Mg, en Sr, en Pb, en Y et en Ce au cours de l'année 2007 au sein de trois sections de calcite d'une même valve gauche de <i>P. maximus</i> (prélevée à Roscanvel en Rade de Brest).....	126
<b>Figure 42</b> : Evolution des teneurs en Mo, en Li, en Ba, et en Mn au sein de trois sections de calcite d'une même valve de <i>P. maximus</i> (pêchée à Roscanvel en Rade de Brest le 5/11/2007).....	127
<b>Figure 43</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène obtenues par HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) chez des individus de <i>P. maximus</i> prélevés en Baie de Roscanvel (rade de Brest) et mises en relation avec la croissance journalière moyenne de ces individus .....	132
<b>Figure 44</b> : (I) Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène dans trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées en rade de Brest le 03/09/2004 et (II)° évolution de la vitesse de croissance de ces individus.....	135
<b>Figure 45</b> : (I) Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène obtenue sur trois individus de <i>P. maximus</i> de classe II issus du banc de Roscanvel en rade de Brest (nés en 1998 et prélevés le 05/03/2001 i.e durant le 3 <sup>ème</sup> arrêt de croissance hivernal.....	136

<b>Figure 46</b> : (I) Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène dans trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Belle-Ile en mer le 13/11/2001 (II) relations entre la croissance journalière moyenne et la concentration coquillière moyenne en molybdène obtenues pour les trois individus.....	138
<b>Figure 47</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène dans trois valves de <i>P. maximus</i> classe III prélevées en Baie de Saint-Brieuc le 7/12/2004 mises en relation avec la croissance journalière moyenne de ces trois individus.....	139
<b>Figure 48</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour trois individus de <i>P. maximus</i> et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 1999.....	141
<b>Figure 49</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour trois individus de <i>P. maximus</i> et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest pendant l'année 2001.....	142
<b>Figure 50</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour deux individus de <i>P. maximus</i> et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest pendant l'année 2004.....	143
<b>Figure 51</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Mo obtenue pour sept individus <i>P. maximus</i> et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 2007.....	144
<b>Figure 52</b> : Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière en molybdène et en manganèse dans les valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées en Baie de Roscanvel pendant l'année 2000 et la concentration en molybdène et en manganèse dissous dans la colonne d'eau (à un mètre au dessus de la couche du fond) d'après Barats et al. soumis.....	148
<b>Figure 53</b> : Représentation schématique des concentrations en métaux dissous à proximité de l'interface eau-sédiment (d'après Zhang et al.1995).....	150
<b>Figure 54</b> : Relations entre les variations ontogéniques moyennes en molybdène dans les valves de <i>P. maximus</i> prélevées à Roscanvel le 21/11/2001 et les taux d'assimilation du nitrate et de l'ammonium mesurés en surface de la colonne d'eau à Roscanvel (données l'Helguen, non publiées).....	158
<b>Figure 55</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en Li obtenues par HR-ICP-MS (analyse en mode liquide) sur des individus de <i>P. maximus</i> prélevés à Roscanvel (rade de Brest) mises en relation avec la croissance journalière moyenne de ces individus.....	162
<b>Figure 56</b> : (I) Variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en lithium et de la croissance journalière obtenues pour les trois individus de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Roscanvel le 21/11/2001 et (II) relation entre les valeurs de la concentration valvaire moyenne en Li et le taux de croissance de ces individus.....	164
<b>Figure 57</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium obtenues sur trois individus de <i>P. maximus</i> de classe II issus de Roscanvel en Rade de Brest (nés en 1998 et prélevés le 5/03/2001 i.e durant le 3 <sup>ème</sup> arrêt de croissance hivernal).....	165
<b>Figure 58</b> : (I) Relations entre les variations temporelles de la teneur coquillière en lithium dans trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Belle-Ile en mer le 13/11/2001 et la croissance journalière moyenne pour ces trois individus (II) relation entre la concentration coquillière moyenne en molybdène et celle en lithium obtenues pour les trois individus.....	167
<b>Figure 59</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière pour trois valves de <i>P. maximus</i> de classe III prélevées à Saint-Brieuc le 07/12/2004 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et du taux de croissance des trois individus.....	168
<b>Figure 60</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Roscanvel le 21/11/2001 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus (p<0,0001)....	172
<b>Figure 61</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Roscanvel le 29/06/2007 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus (p<0,0001)....	173

<b>Figure 62</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Roscanvel au cours de trois années (classe II : 1999 ; classe I : 2004, 2007 et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus ( $p < 0,0001$ )).....	174
<b>Figure 63</b> : Variabilité saisonnière (I) des concentrations coquillières en Li et (II) de la croissance journalière de six individus de <i>P. maximus</i> classe I issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007).....	175
<b>Figure 64</b> : Variabilité saisonnière (I) des concentrations coquillières en Li et (II) de la croissance journalière moyenne des deux lots de trois individus de <i>P. maximus</i> classe I issus d'une même population pêchée à deux dates différentes (29 juin et 5 novembre 2007).....	176
<b>Figure 65</b> : Variations temporelles de la teneur coquillière en lithium et de la croissance journalière de trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées à Belle-Ile en mer (13 novembre 2001) et relation entre les valeurs de la teneur coquillière en Li et la vitesse de croissance des trois individus.....	177
<b>Figure 66</b> : Comparaison des variations ontogéniques des concentrations valvaires moyennes en lithium avec celles en manganèse (A, B, C) et avec celles en baryum (D, E, F) chez des individus ( $n = 3$ ) de <i>P. maximus</i> prélevées à Roscanvel (classe II : 1999 ; classe I : 2004, 2007).....	179
<b>Figure 67</b> : Relation liant la teneur coquillière en Li avec la croissance journalière chez des individus juvéniles de <i>P. maximus</i> prélevés sur le site de Roscanvel (21/11/2001 et 29/06/2007). Aucun accroissement de la concentration valvaire en Li n'est visible pendant la croissance de ces individus.....	180
<b>Figure 68</b> : Variations résiduelles de la concentration coquillière en Li après soustraction de l'influence de la croissance coquillière (Roscanvel, 1999, 2004, 2007 ; Belle-Ile en mer 2001).....	181
<b>Figure 69</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour trois individus de <i>P. maximus</i> soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 1999.....	182
<b>Figure 70</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour trois individus de <i>P. maximus</i> soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 2001.....	183
<b>Figure 71</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour trois individus de <i>P. maximus</i> soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 2004.....	184
<b>Figure 72</b> : Relation entre la concentration coquillière moyenne en Li obtenue pour sept individus de <i>P. maximus</i> soustraite du contrôle théorique de la croissance journalière et plusieurs paramètres environnementaux mesurés en rade de Brest au cours de l'année 2007.....	185
<b>Figure 73</b> : Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en lithium dans trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées en Baie de Roscanvel (2001, 2007) et la température.....	187
<b>Figure 74</b> : Relation entre les variations temporelles de la teneur coquillière moyenne en lithium dans trois valves de <i>P. maximus</i> classe I prélevées en Baie de Roscanvel (2001, 2007) et la salinité....	189
<b>Figure 75</b> : Relation entre les variations résiduelles de la concentration coquillière en Li après soustraction de l'influence de la croissance coquillière (Roscanvel, 1999, 2004, 2007) avec la salinité et la température de l'eau.....	191
<b>Figure 76</b> : Relation entre les variations ontogéniques de la concentration valvaire moyenne en lithium et l'évolution temporelle des concentrations en chlorophylle a en surface (en Baie de Roscanvel pendant l'année 2004).....	192
<b>Figure 77</b> : Relation entre les variations ontogéniques de la concentration valvaire moyenne en Li obtenue pour trois individus <i>P. maximus</i> et l'abondance des espèces de diatomées <i>Nitzschia delicatissima</i> , <i>Rhizosolenia fragilissima</i> et <i>Chaetoceros</i> spp (en Baie de Roscanvel pendant l'année 2004).....	193
<b>Figure 78</b> : Relation entre les variations résiduelles de la concentration valvaire moyenne en Li obtenue pour trois individus de <i>P. maximus</i> avec l'évolution de l'abondance des espèces de diatomées <i>Pseudo-nitzschia</i> spp, <i>Rhizosolenia fragilissima</i> , <i>Chaetoceros</i> spp en Baie de Roscanvel pendant 3 années (1999, 2004 et 2007). En 1999, seules les espèces <i>Chaetoceros curvisetus</i> + <i>C. debilis</i> représentent <i>Chaetoceros</i> spp.....	194

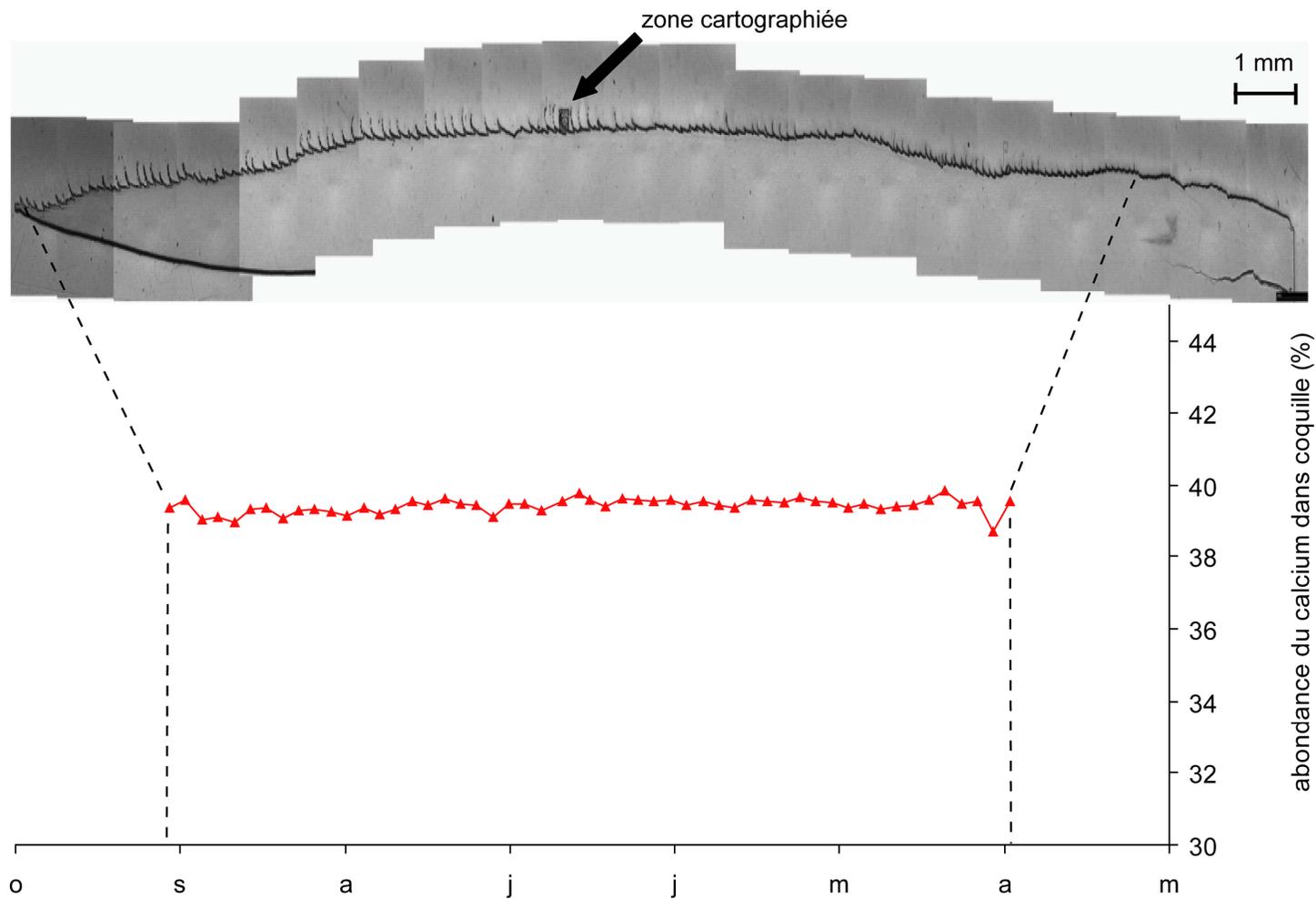




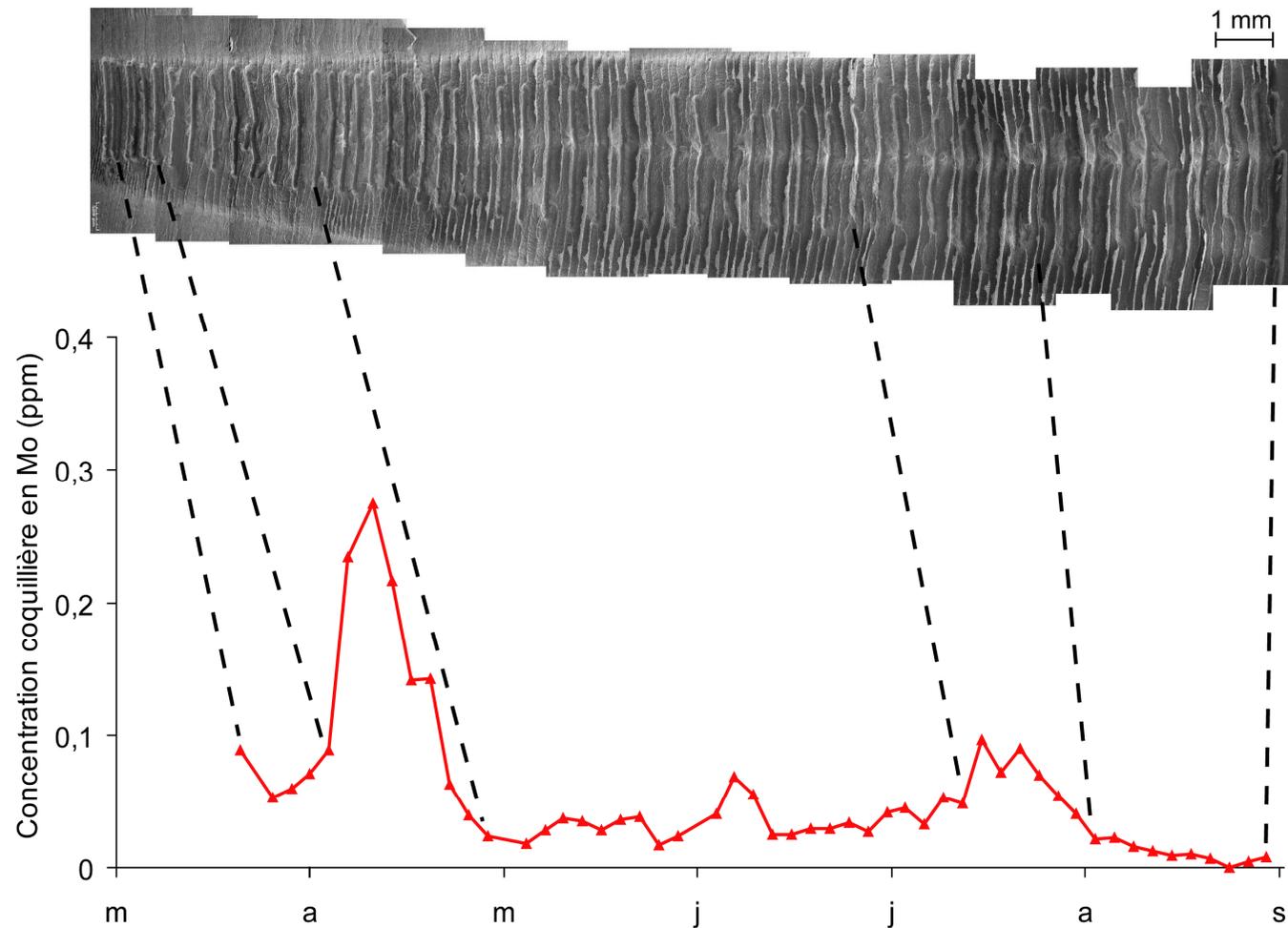
# **ANNEXES**



**ANNEXE 1 :** Reconstitution complète d'une lame mince d'une valve de *P. maximus* après superposition de plusieurs images obtenus en microscope (Olympus BX 41). Ceci permet de recaler temporellement (mars-octobre 2004) les variations ontogéniques de l'abondance en calcium obtenues par microsonde électronique sur cette même valve.



**ANNEXE 2 :** Section complète d'une valve gauche de *P. maximus* ayant subie des prélèvements « micromill » après superposition de plusieurs images obtenu en MEB (coll. G. Sinquin) et permettant à titre d'exemple de recaler temporellement (mars-septembre 2004) les variations ontogéniques de la teneur coquillière en molybdène obtenues par HR-ICP-MS en mode liquide sur cette même valve.



**ANNEXE 3 :** Teneurs élémentaires, intervalle de confiance, écart type, et RSD (éléments majeurs en ppm et éléments en traces en ppb) mesurées par HR-ICP-MS Element 2 selon l'isotope considéré pour le standard artificiel de carbonate de calcium. En complément, les valeurs théoriques attendues et les limites de détection de la méthode.

\* la détermination de ces teneurs a été obtenue sans tenir compte du blanc. Celui-ci étant du même ordre de grandeur, il rendait impossible la quantification de l'élément considéré.

NQ : non quantifié.

#### Les majeurs

Isotope mesuré (résolution)	Teneur mesurée moyenne en ppm	Intervalle de confiance en ppm	Ecart type en ppm	RSD en %	Valeur théorique en ppm	Limite de Detection en ppb
<sup>43</sup> Ca (MR)	3044,63	38,11	159,15	5,23	3004,53	240,25
<sup>86</sup> Sr (MR)	6,31	0,14	0,45	7,10	5,01	1,27
<sup>88</sup> Sr (MR)	6,22	0,04	0,27	4,27	5,01	0,52
<sup>23</sup> Na (MR)	17,12	0,29	1,11	6,50	16,42	201,39
<sup>25</sup> Mg (MR)	10,97	0,15	0,83	7,57	9,52	3,32

#### Les éléments en traces

Isotope mesuré (résolution)	Teneur mesurée moyenne en ppb	Intervalle de confiance en ppb	Ecart type en ppb	RSD en %	Valeur théorique en ppb	Limite de Detection en ppb
<sup>7</sup> Li (BR)	12,209	0,069	0,431	3,53	11,952	0,107
<sup>9</sup> Be (BR)	11,628	0,116	0,629	5,41	11,934	0,074
<sup>10</sup> B (BR)	7,060	0,477	1,032	14,61	5,867	1,050
<sup>11</sup> B (BR)	6,967	0,358	0,774	11,11	5,867	0,840
<sup>27</sup> Al (BR)	13,076	0,356	1,685	12,89	11,952	1,464
<sup>66</sup> Zn (BR)	14,839	0,661	2,134	14,38	11,946	1,687
<sup>77</sup> Se (BR)*	25,609	5,360	13,396	52,31	11,952	2,965
<sup>85</sup> Rb (BR)	6,198	0,037	0,181	2,92	5,982	0,148
<sup>89</sup> Y (BR)	6,237	0,029	0,176	2,82	6,012	0,027
<sup>90</sup> Zr (BR)	6,208	0,110	0,541	8,71	5,867	0,366
<sup>93</sup> Nb (BR)	5,785	0,080	0,216	3,73	5,867	0,094
<sup>97</sup> Mo (BR)	7,261	0,083	0,407	5,61	5,867	0,273
<sup>103</sup> Rh (BR)	5,878	0,076	0,191	3,25	5,744	NQ
<sup>109</sup> Ag (BR)	11,495	0,064	0,379	3,30	11,934	0,038
<sup>111</sup> Cd (BR)	11,626	0,101	0,553	4,76	11,970	0,043
<sup>115</sup> In (BR)	5,939	0,037	0,079	1,33	5,982	0,110
<sup>118</sup> Sn (BR)	6,069	0,072	0,223	3,68	5,744	1,471
<sup>121</sup> Sb (BR)	5,706	0,071	0,192	3,36	5,744	0,076
<sup>133</sup> Cs (BR)	6,130	0,030	0,174	2,84	5,982	NQ
<sup>135</sup> Ba (BR)	110,579	0,627	3,800	3,44	70,650	0,233

Isotope mesuré (résolution)	Teneur mesurée moyenne en ppb	Intervalle de confiance en ppb	Ecart type en ppb	RSD en %	Valeur théorique en ppb	Limite de Detection en ppb
<sup>139</sup> La (BR)	6,160	0,026	0,138	2,245	6,012	0,002
<sup>140</sup> Ce (BR)	6,150	0,028	0,148	2,399	6,012	0,004
<sup>141</sup> Pr (BR)	6,116	0,029	0,155	2,541	6,012	0,011
<sup>143</sup> Nd (BR)	6,142	0,032	0,160	2,612	6,012	0,035
<sup>146</sup> Nd (BR)	6,137	0,028	0,138	2,256	6,012	0,038
<sup>147</sup> Sm (BR)	6,164	0,031	0,152	2,464	6,012	0,009
<sup>149</sup> Sm (BR)	6,151	0,030	0,151	2,451	6,012	0,006
<sup>151</sup> Eu (BR)	6,105	0,026	0,129	2,108	6,012	0,004
<sup>157</sup> Gd (BR)	6,212	0,044	0,254	4,096	6,012	0,023
<sup>159</sup> Tb (BR)	6,231	0,034	0,169	2,712	6,012	0,002
<sup>163</sup> Dy (BR)	6,251	0,033	0,162	2,587	6,012	0,007
<sup>165</sup> Ho (BR)	6,229	0,029	0,146	2,337	6,012	0,001
<sup>167</sup> Er (BR)	6,240	0,030	0,148	2,375	6,012	0,005
<sup>169</sup> Tm (BR)	6,190	0,027	0,134	2,170	6,012	spike
<sup>174</sup> Yb (BR)	6,144	0,026	0,131	2,134	6,012	0,002
<sup>175</sup> Lu (BR)	6,184	0,024	0,119	1,926	6,012	0,002
<sup>177</sup> Hf (BR)	5,863	0,063	0,205	3,496	5,744	0,056
<sup>178</sup> Hf (BR)	5,868	0,058	0,191	3,250	5,744	0,045
<sup>181</sup> Ta (BR)	0,588	0,036	0,070	11,972	5,867	NQ
<sup>182</sup> W (BR)	5,464	0,141	0,270	4,933	5,867	NQ
<sup>205</sup> Tl (BR)	11,853	0,100	0,269	2,271	11,970	0,060
<sup>208</sup> Pb (BR)	12,505	0,068	0,405	3,242	11,916	0,081
<sup>232</sup> Th (BR)	6,137	0,031	0,153	2,489	6,012	0,033
<sup>238</sup> U (BR)	6,125	0,025	0,135	2,198	5,982	0,001
<sup>7</sup> Li (MR)	12,301	0,337	0,842	6,846	11,952	0,210
<sup>31</sup> P (MR)	8,489	0,406	1,758	20,713	5,867	14,668
<sup>32</sup> S (MR)*	13,530	1,237	7,059	52,175	5,867	0,945
<sup>45</sup> Sc (MR)	6,269	0,062	0,309	4,930	6,012	0,036
<sup>47</sup> Ti (MR)	5,934	0,154	0,915	15,426	5,867	4,465
<sup>51</sup> V (MR)	12,300	0,080	0,499	4,060	11,934	0,083
<sup>52</sup> Cr (MR)	13,545	0,106	0,527	3,892	11,946	0,117
<sup>55</sup> Mn (MR)	26,349	0,132	0,788	2,989	11,964	0,056
<sup>56</sup> Fe (MR)	19,225	0,421	1,991	10,359	11,958	1,473
<sup>59</sup> Co (MR)	12,025	0,081	0,434	3,610	11,916	0,099
<sup>60</sup> Ni (MR)	12,751	0,163	0,764	5,988	11,934	0,354
<sup>63</sup> Cu (MR)	11,852	0,137	0,616	5,200	11,958	0,155
<sup>66</sup> Zn (MR)	13,946	0,918	3,107	22,279	11,946	0,970
<sup>69</sup> Ga (MR)	11,903	0,226	0,365	3,063	11,934	0,044
<sup>72</sup> Ge (MR)	5,824	0,211	0,340	5,837	5,867	NQ
<sup>97</sup> Mo (MR)	7,105	0,175	0,830	11,679	5,867	0,352
<sup>209</sup> Bi (MR)	11,364	0,090	0,448	3,944	12,000	0,030
<sup>39</sup> K (HR)	14,045	0,758	2,118	15,077	11,958	12,409
<sup>75</sup> As (HR)	12,472	0,536	1,312	10,521	11,946	0,409

**ANNEXE 4:** Participation à un congrès international : AGU Fall meeting (15-19 décembre 2008) ; Session : **Paleoceanography and Paleoclimatology**, Sous-Session : **Chemical and Isotopic Composition of Carbonate Skeletons: Seasonal Environmental and Climate Records-Part I**. Poster.

### QUANTITATIVE ANALYSES OF TRACE ELEMENTS WITH HR-ICP-MS ELEMENT2 : AN EXAMPLE OF APPLICATION IN SHELLS OF THE GREAT SCALLOP *PECTEN MAXIMUS*

Manuel RICHARD<sup>1\*</sup>, Laurent CHAUVAUD<sup>2</sup>, Mathieu BENOIT<sup>3</sup>, Julien THEBAULT<sup>2</sup>, Stéphane L'HELGUEN<sup>4</sup>, Jean-François MAGUER<sup>4</sup>, Christophe HEMOND<sup>1</sup>, Arnaud AGRANIER<sup>1</sup>, Claire BASSOULLET<sup>1</sup>, Gérard SINQUIN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>IUEM, UMR CNRS 6538, Technopole Brest Iroise, Plouzané, France ; <sup>2</sup>IUEM, UMR CNRS 6539, Technopole Brest Iroise, Plouzané, France ; <sup>3</sup>OMP, UMR CNRS 5562 Dynamique Terrestre et Planétaire, Toulouse, France ; <sup>4</sup>UMR CNRS/IFPMEC 7144, Station Biologique de Roscoff, Roscoff, France ; <sup>5</sup>Groupe de Microscopie Electronique, UFR des Sciences & Techniques Université de Bretagne Occidentale (USTO) Brest, France  
\*Corresponding author. Email: manuel.richard@univ-brest.fr

#### CONTEXT

Geochemical composition (elemental concentrations, stable isotopes) of mollusc shells has long been recognized as a promising tool for the reconstruction of paleoenvironmental conditions (e.g., temperature, phytoplankton dynamics, heavy metal contamination). However, variations in elemental concentrations within shells are known to be species-dependant and are influenced by a complex network of environmental interactions. In this context, a mechanistic understanding of the incorporation of elements from seawater to biogenic carbonates is necessary to get an accurate calibration of these proxies and to generalize their use. The calcitic shell of *Pecten maximus* (Mollusca; Bivalvia) is textured with fine concentric striae formed with a daily periodicity which can be used to assign a calendar date to each subsequent sample of calcium carbonate. Extensive analytical development was carried out by our consortium with a high-resolution inductively coupled plasma-mass spectrometer (HR-ICP-MS Element2 Thermo Electron). This method led to a quantitative detection of trace elements in bio-carbonates and to the accurate reconstruction of ontogenetic profiles of elemental concentrations with a 3-day temporal resolution.

#### METHODOLOGY

##### ICP-MS

**Method**

- Micromill drillings (diameter: 140 µm)
- drilled striae: ~2100 µm long; 100 µm deep
- acid digestion (HNO<sub>3</sub>)

**Quantification**

- external calibration with an artificial standard
- pure carbonate powder mineralized and doped with trace elements

##### LA-ICP-MS: *in situ* analysis

**Equipment** : Coupling with Laser Eximer (ArF: 193 nm) Compex Pro 102 (COHERENT)

**Laser Condition** > power: 15 J cm<sup>-2</sup>

- frequency: 4 Hz
- ablation mode: line, crater size 90 µm
- scanning speed: cleaning step (50 µm s<sup>-1</sup>), analysis (5 µm s<sup>-1</sup>)
- length of ablated striae: ~800 µm

**Quantification**: NIST SRM 612 (glass standard); BIR1, BCR2 (basalt standard)

**Study area**: specimens of the Great Scallop *Pecten maximus* studied were sampled in the Bay of Brest (Western Brittany, France).

Good agreement between both methods with a same specimen. Profiles of these 3 elements are highly reproducible. The difference of Mg quantification is likely influenced by the organic matter content in the shell.

Inter-individual variability of elemental concentrations was very low for Mg, Mo, Sr, and Ba. On the other hand, Pb concentration presented significant differences between specimens.

Analyses performed on different radial ribs of the same valve showed that trace elements are homogeneously distributed along the shell.



## **Abstract**

The elemental composition of bivalve shells has been already considered by international scientific community a promising tool to record environmental parameters like sea surface temperature, salinity and primary productivity. However, some works have been evidenced that trace elements variation within shells can be species dependant or change in a complex network of environmental interactions. As a result, a better understanding of the incorporation of elements from seawater into biogenic carbonate has been studied to generalize the use of these proxies. The aim of this work was to develop an analytical method on the high-resolution inductively coupled plasma–mass spectrometry (HR-ICP-MS, Finnigan Element 2) to demonstrate a quantitative detection of trace element in biocarbonates matrices (CaCO<sub>3</sub>). Two methods (LA-ICP-MS, Solution Based-ICP-MS) have been developed and performed to the accurate reconstruction of ontogenetic profiles of elemental concentrations with a 3-day temporal resolution.

Element profiles obtained on the same left valve of *P. maximus* by the two methods were reproducible whatever the concentrations and whatever the ribs selected on the valve. The concentrations of the different elements within *P. maximus* shells measured on the ICP-MS Element 2 were in agreement with the values obtained in literature, on the same population and the same year of growth. Systematic analyses of different growth layer sections on the same valve have showed that the element traces are homogeneously distributed along the shell.

The variations of two specific element traces (Mo, Li) in *P. maximus* shells are discussed.

Mo concentration was reproducible for several scallop individuals from the same location over different years and different Brittany coastal temperate environments (Bay of Brest, Saint-Brieuc, Belle-Ile en mer). Each profile is characterised by a background level within sharp episodic peaks occurring in spring (may). Explanation hypothesis are discussed but the most probable is the ingestion of phytoplankton cells grown upon NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (which have a large concentration of Mo associated to the activity of nitrate reductase).

The low inter-individual variability of Li concentration in several scallops from same population indicates an environmental and/or physiological control on the incorporation of this element within shells. However, the ontogenetic variations of Li concentration in *P. maximus* were different according to the years of growth because some populations present sharp episodic peaks in the growth period. This study illustrate that there is no direct relationship between environmental parameters (salinity, temperature, water composition of Li, nitrates...) and Li peaks, but Li enrichment still may be related to blooms of specific species of phytoplankton (diatoms). In addition, we found that the background profile of Li seems to be mainly controlled by the growth rate.



## Résumé

La composition élémentaire des coquilles de bivalves pourrait, selon la communauté scientifique internationale, être modulée par les variations spatiales ou temporelles du milieu ambiant tel la température, la salinité, la productivité primaire.... Toutefois, un ensemble de travaux ont mis en évidence que la présence des éléments mineurs et en traces dans les coquilles sont souvent spécifiques aux espèces considérées ou dépendent de plusieurs paramètres environnementaux. En conséquence, des recherches supplémentaires s'avèrent nécessaires afin de mieux comprendre la modalité d'incorporation de ces potentiels traceurs dans la matrice carbonatée. L'objectif de ce travail de thèse était de développer des méthodologies analytiques sur un spectromètre de masse haute-résolution couplée à une source plasma (HR-ICP-MS Element 2 de Finigan) pour déterminer quantitativement un nombre important d'éléments en traces dans des matrices de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>). Deux méthodes (le couplage LA-ICP-MS et l'analyse en mode liquide) ont été développées afin de placer sur une échelle calendaire ( $\pm 3$  jours) les variations ontogéniques des teneurs élémentaires dans les valves de *P. maximus*.

Les résultats d'analyses obtenus sur une même valve gauche par les deux méthodes, montrent que les profils élémentaires demeurent reproductibles quels que soient les concentrations rencontrées et le transect choisi sur la valve. Les teneurs élémentaires dans les valves de *P. maximus* mesurées sur l'ICP-MS Element 2 sont en accord avec les valeurs obtenues précédemment sur la même population et la même année de croissance lorsque l'on se réfère aux résultats pionniers acquis par le laboratoire de Pau (LA-ICP-MS quadripolaire) L'analyse en mode liquide de trois transects de croissance d'une même valve démontre que la distribution élémentaire est homogène dans la matrice carbonatée de la coquille Saint-Jacques.

Les résultats d'analyses de deux éléments en traces (Mo et Li) dans les valves de *P. maximus* ont été détaillés.

Les variations de la concentration valvaire en molybdène sont reproductibles entre plusieurs individus issus d'une même population pendant différentes années et lorsque différents écosystèmes côtiers bretons sont étudiés (Rade de Brest, baie de Saint-Brieuc et Belle-Ile en mer). Chaque profil varie à un niveau voisin des limites de détection de l'appareil de mesure, mais est ponctué par un voire deux enrichissements épisodiques printaniers (mai). Parmi toutes les hypothèses discutées pour expliquer ces événements (pics en Mo), l'ingestion de cellules phytoplanctoniques ayant utilisées les nitrates comme source d'azote apparaît la plus vraisemblable (ces cellules présenteraient une concentration forte en Mo suite au rôle de Mo lors de l'activité enzymatique de la nitrate réductase)

La faible variabilité inter-individuelle des concentrations valvaires en Li d'une même population suggère l'influence d'un paramètre environnemental ou physiologique pour expliquer l'incorporation du lithium au sein des valves. Toutefois, les variations ontogéniques de la teneur coquillière en lithium chez *P. maximus* diffèrent selon l'année étudiée. Certaines populations de *P. maximus* présentent de brusques augmentations transitoires de la teneur en Li pendant leur période de croissance. Notre étude n'a pas pu mettre en évidence un lien généralisable entre ces pics en Li et un paramètre environnemental. Cependant, ces enrichissements en Li semblent apparaître quelques jours après des floraisons phytoplanctoniques de diatomées. En outre, nous constatons que le bruit de fond de la teneur en Li serait majoritairement lié à la vitesse de croissance de l'animal.

