



HAL
open science

Tester les isotopes stables de l'azote des matières organiques fossiles terrestres comme marqueur paléoclimatique sur des séries pré-quaternaires

Romain Tramoy

► To cite this version:

Romain Tramoy. Tester les isotopes stables de l'azote des matières organiques fossiles terrestres comme marqueur paléoclimatique sur des séries pré-quaternaires. Géologie appliquée. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066641 . tel-01408071

HAL Id: tel-01408071

<https://theses.hal.science/tel-01408071>

Submitted on 3 Dec 2016

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.

Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie

Spécialité géochimie isotopique et sédimentaire

Ecole doctorale Géosciences, Ressources Naturelles et Environnement (ED 398)

Tester les isotopes stables de l'azote des matières organiques fossiles terrestres comme marqueur paléoclimatique sur des séries pré-quaternaires

Par Romain Tramoy

Thèse de doctorat de Géosciences

Dirigée par Johann Schnyder

Présentée et soutenue publiquement le 1^{er} Décembre 2015

Devant un jury composé de :

Dr. Johann Schnyder	(ISTeP, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6)	Directeur de thèse
Dr. Thanh Thuy Nguyen Tu	(METIS, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6)	Co-directrice de thèse
Dr. Mathieu Sebilo	(IEES, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6)	Co-directeur de thèse
Pr. Hugh Jenkyns	(Oxford University)	Rapporteur
Dr. Valérie Daux	(LSCE, Gif sur Yvette)	Rapporteur
Pr. Jean Broutin	(Université Pierre et Marie Curie, Paris 6)	Examineur
Pr. Johan Yans	(Département de Géologie, Université de Namur)	Examineur
Pr. Philip A. Meyers	(University of Michigan)	Invité

A mes grands-parents.

Pépé, je n'ai pas intégré Polytechnique.

Mais j'espère que tu serais quand même fier de moi...

Remerciements

Pour ceux qui me connaissent, je suis un peu taquin ! Alors, dans cette section, j'ai d'abord pensé à mettre juste MERCI. Mais bon, j'avais peur que ce soit mal pris. J'ai aussi pensé à me moquer de la cérémonie des Oscars, c'est-à-dire remercier mes parents en pleurant, et mon producteur. Mais finalement non, car ces trois années ont été une sacrée aventure ! Que de gens à évoquer, que de rencontres à partager et que de souvenirs !

Je commencerai d'abord par Johann Schnyder, mon directeur de thèse. Quoique j'ai jamais bien compris si c'était lui ou plutôt François officiellement... Bref, Johann, toujours positif, tu as toujours su me remonter le moral ! Tu en as sauvé des bébés que je jetais systématiquement avec l'eau du bain, comme tu dis. Tu as aussi parfaitement su gérer mon caractère ; c'est vrai que je suis têtu comme une mule ! Mais quand même, j'ai aimé travaillé avec toi. Bien sûr, je n'oublie pas François, qui a toujours été là quand j'en avais besoin : relire un truc, donner des bons conseils... Je te remercie pour ta bienveillance. Et enfin, je remercie Florence pour son aide précieuse.

Ensuite, je remercie Thanh Thuy Nguyen Tu (j'espère que je l'ai bien écrit cette fois) pour sa disponibilité et sa bonne humeur. C'est toujours agréable de travailler avec toi. Et on n'a pas fini avec tout ce qu'il reste à dépouiller ! Au passage je remercie tout le labo et Sylvie Derenne qui m'ont chaleureusement accueilli. Merci également à Mathieu pour son expertise sur les isotopes de l'azote et ses conseils éclairés. Dans la même thématique, un très grand merci à Véronique Vaury, sans qui nous n'aurions pas pu résoudre une grande partie des problèmes analytiques rencontrés. Rebondissement après rebondissement, on s'en est quand même sorti. Merci. Je n'oublie pas non plus Valérie Daux du LSCE, sans qui je n'aurais jamais réussi à broyer mes morceaux de bois.

Autre labo, autre équipe. Un grand merci à Jérémy Jacob et à Claude Le Milebeau pour leur accueil chaleureux à l'ISTO. Jérémy, tu m'as appris beaucoup en peu de temps et j'aurais aimé travailler plus avec toi. Là tu me dirais : « Oh non casses toi, je veux pas de toi ! » J'ai adoré les fions qu'on a pu s'envoyer, ça me manque. J'en profite pour remercier Julie, mon ancienne collègue de Master et Hugo qui m'ont permis de travailler sur le Bassin de Rennes, qui est pour moi le meilleur résultat de cette thèse. Paradoxalement, c'est celui qui a demandé le moins de travail, donc des collaborations comme celle-là, j'en veux d'autres !

Je ne peux bien sûr pas passer à côté de mes Belges préférés du département de Géologie de Namur, dirigé par Johan Yans, avec qui j'ai passé des moments formidables. Merci pour les glaces, les restos et autres sorties et l'invitation chez toi. Bonjour à la famille et condoléances aux moutons du voisin. Je salue également toute l'équipe de ce département et surtout Gaëtan et Jean Yves, sans qui rien n'aurait été possible. Gaëtan, on a passé des supers moments sous nos masques, j'espère qu'on aura l'occasion de retravailler ensemble et que tu pourras m'initier à la spéléo ! Quant aux autres : Augu, Ama, Coco, Nico, Raul et tous les autres qu'est-ce qu'on a pu ricaner ! Une coupe du monde inoubliable passée avec vous, de bonnes bières dégustées, hâte de vous retrouver. J'en profite pour remercier également Paula Iacumin qui m'a accueilli dans son labo à Parme pour les premières analyses isotopiques et Isabella qui les a passées.

Je ne peux pas oublier tous ceux qui ont fait de cette thèse une expérience unique dans la vie de tous les jours : Quentin, Marie, Sinbad, Sarah, Laurent, Bruno, Alex, Sylvia, Christian, Delphine, Jérémy, Valentin etc... Je ne peux pas tous les citer. Merci pour les bons moments passés ensemble. Sans oublier Elsa, ma collègue de Bureau à qui je souhaite plein de réussite au Cambodge. On se reverra. Et aussi Sylvain Garel, avec qui on a beaucoup « riz » et débattu aussi. A Kadock ! Merci pour ta relecture et tes bons conseils ;)

En dehors du monde professionnel, ceux qui m'ont permis de tenir bon, ce sont ma famille, mes amis de longue date et mon équipe de hand : En particulier, merci aux copains de fac (et plus) du hangout (Oliv, Mael, Jon, qu'est-ce qu'on ricane chaque jour, ce que vous faites là, c'est bon pour la santé du cigare !). Merci de me faire tant marrer, et pour vos corrections aussi. Vous êtes mes Bros ! J'inclus aussi les pies crevées Bout, Gaume et Boule. Bonjour à Cols aussi qui nous casse les pieds avec son repas de la chasse à chaque hiver. Mais qu'est-ce que ça fait du bien de tous se retrouver là-bas au milieu des pécores ! Vivement Janvier ! Un salut tout spécial à mon Pierrot, ta chambre avec vue sur la Tour Eiffel est toujours prête. Je t'attends pour refaire le monde. Tant d'anecdotes à raconter, mais bon je ne voudrais pas choquer le lecteur... Merci aussi à mes amis d'enfance que, malheureusement, je vois moins. Par ordre d'apparition dans ma vie de la maternité au Lycée : Jérem, Gueugneau, Chapuis, Kozlo, Jordan, Syl-Bismuth et toute la bande. Je vous aime ! Là aussi il y aurait un paquet d'histoires à raconter. En espérant qu'on en écrive de nouvelles mémorables sous peu.

En ce qui concerne ma soupape de décompression physique. Merci au club de hand de Vitry/Seine si si la famille et à ses faiseurs de dingeries qui aiment tant donner et recevoir des

coups ! En particulier, merci à Kéké pour les tranches de rigolade et de saucisson partagées autour de bons verres. Ce sont toujours des moments agréables.

Enfin je terminerai par un des piliers de ma vie qui a fait que j'en suis là aujourd'hui. Ma famille : ma mère, mon père, forcément, qui m'ont élevé et transmis les valeurs que je porte aujourd'hui et qui m'ont permis d'aller aussi loin dans mes études. Je vous aime ! Maman, désolé d'avoir été un p'tit con parfois... Un spécial remerciement à toute la fratrie Julien, Elise, Charlotte (et non pas la friterie) et plus spécialement à Simon et Aurélien, les deux autres éléments des Trois frères. Je suis extrêmement fier d'eux et de leur petite famille. Mes petits finlandais : Tarja, Chloé, Noah la tornade et Lumi (neige en finnois). Tout ça pour Aurélien. Et mon autre belle-sœur, la grande Elise, qui va bientôt mettre bas ! Vous allez être des parents « formidables » et je serai un tonton comblé ! Je n'oublie pas non plus ma belle-mère Isabelle et mon autre mère Dina avec son alcoolique, heu acolyte de mari Jacky. Jacky et Michel également, des discussions toujours enrichissantes et pleines d'humour avec ces deux-là. Un grand merci également à mes oncles et tantes qui ont participé à ma construction intellectuelle et plus particulièrement Michel et Jean François, Henry et Sylviane et mon cousin Coco que je revois avec plaisir pour discuter économie ! Mag également, merci pour tes encouragements. Dans ma famille, j'inclus forcément ma belle-famille, mon gros beau-papa, qui, je l'espère, restera toujours plus gros que moi (c'est pas gagné), ma belle belle-maman, mon Boubou et mon beau-frère et aussi ami JB, sans qui je n'aurais jamais rencontré la femme de ma vie, vous l'aurez compris : sa sœur Mathilde.

C'est la personne la plus importante de toute ma vie jusqu'à présent. Je remercie Mathilde, mon amoureuse, future femme et future maman de mes enfants. Les moments les plus difficiles sont maintenant derrière nous et c'est chaque jour avec plus d'amour pour toi que je me lève. L'épreuve de l'écriture est passée crémeee grâce à toi. Je t'aime.

Accessoirement, je remercie tout ce qui m'a accompagné pendant ces trois ans : Youtube avec la dubstep, metaldubstep, harddubstep, la trance music, la psychedelic trance progressive music, les chants gutturaux, Kaamelott et le hangout !

« Quand on examine un système quelconque, il faut le prendre dans son ensemble, et se rappeler que le fonctionnement du système est déterminé par l'interaction de toutes les parties de l'ensemble. Il n'y a pas de parties inutiles et l'élimination des parties considérées comme inutiles changera beaucoup le système et peut l'amener à ne plus fonctionner. »

Xavier Le Pichon

Et...

« L'anarchie économique de la société capitaliste, telle qu'elle existe aujourd'hui, est, à mon avis, la source réelle du mal. »

Albert Einstein (1949)

« L'avenir appartient à ceux qui ont le veto »

Coluche

Résumé

Des études pionnières ont montré que la composition isotopique de l'azote de matières organiques terrestres ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) est corrélée à des paramètres climatiques tels que les précipitations et la température. Appliqué à la matière organique ancienne, ce concept a permis récemment de reconstituer des cycles humides/secs à la transition Paléocène-Eocène (56 Ma). Dans la continuité de ces travaux, cette thèse vise à tester le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique sur des coupes couvrant d'autres périodes géologiques, marquées par des changements climatiques importants : la coupe de Taskomirsay (Pliensbachien-Toarcien, ~183 Ma), la coupe de Faddeevsky (Paléogène, probablement Eocène inférieur, 53-50 Ma) et une carotte du Bassin de Rennes (Eocène-Oligocène, ~34 Ma). Parallèlement une expérience de diagenèse sur des bois actuels a été menée en laboratoire pour mieux comprendre les effets de la diagenèse sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

L'expérience de diagenèse suggère que la diagenèse précoce homogénéise les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ pour conduire finalement à une valeur moyenne, intégrant les différentes composantes d'un environnement. Les résultats indiquent un changement non-linéaire et rapide qui suggère qu'il s'effectue quasiment de manière instantanée à l'échelle géologique. Néanmoins, les grands changements environnementaux affectant toutes les composantes d'un écosystème pourraient être potentiellement enregistrés par le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Les données paléoclimatiques inférées des isotopes de l'azote organiques sur les coupes étudiées ont été confrontées à d'autres caractéristiques géochimiques des sédiments étudiés (analyses élémentaires du carbone et de l'azote, Rock-Eval, biomarqueurs moléculaires, rapport des isotopes stables du carbone et la composition isotopique en hydrogène de certains biomarqueurs moléculaires), afin (i) de déterminer les sources de la matière organique et son état de préservation, et (ii) d'obtenir un éventail informations paléoenvironnementales/paléoclimatiques sur les coupes.

Le réchauffement climatique documenté au Toarcien inférieur (Taskomirsay) par d'autres méthodes n'a pas eu d'impact sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, qui suggère plutôt une humidité importante et quasiment constante, en accord avec la palynologie et la géochimie moléculaire. Les résultats obtenus sur la coupe principale du Paléogène (Faddeevsky) sont plus contrastés d'un point de vue paléoclimatique avec une réponse du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ différentielle entre la base et le sommet de la coupe. A la transition Eocène-Oligocène (Bassin de Rennes), le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ enregistre une baisse importante de l'humidité, en accord avec l'analyse des minéraux argileux. La baisse concomitante des températures à cette transition n'a probablement pas eu d'effet sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ semble donc être principalement influencée par la disponibilité en eau.

Les limites méthodologiques et analytiques du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sont également discutées. Il apparaît notamment que les échantillons très riches en matière organique (>40%) ne sont pas adaptés au protocole préparation des échantillons qui est actuellement utilisé. Pour les matières organiques pré-quatérnaires, l'analyse directe du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sur les kérogènes pourrait constituer une alternative intéressante.

A terme, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, associé à d'autres outils de reconstruction paléoenvironnementale, pourrait servir à préciser les modifications du cycle de l'azote – principalement *via* la disponibilité en eau et en nutriments – dans les paléoécosystèmes terrestres.

Abstract

Nitrogen isotopes of modern and terrestrial organic matter ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) has been related to precipitations and temperatures. These observations were recently applied to reconstruct humid/dry cycles at the Paleocene-Eocene transition (56 Ma). Following this work, this thesis aims to test the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ as a paleoclimatic marker on field sections encompassing other geological periods, characterized by contrasted climates: the Taskomirsay section (Pliensbachian-Toarcian, ~183 My), the Faddeevsky section (Paleogene, probably Early Eocene in age, 53-50 My) and a drill core from the Rennes Basin (Eocene-Oligocene, ~34 My). In addition, modern wood were incubated to evaluate the effects of early diagenesis on $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ with a paleoenvironmental perspective.

The incubation of modern wood suggests that early diagenesis homogenizes $\delta^{15}\text{N}$ values leading to an average value integrating the different components of an environment. Results showed fast and non-linear effects of early diagenesis on organic matter, suggesting almost instantaneous changes at the geological scale. Thus, major environmental changes affecting all components of an ecosystem may be potentially recorded by the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Paleoclimatic data inferred from the organic nitrogen isotopes of the study sediments were compared to other geochemical features of the latter (carbon and nitrogen elemental analyses, Rock-Eval, molecular biomarkers, carbon and nitrogen isotopes, hydrogen isotopes measured on specific-compound), in order to (i) characterize sources of the organic matter and its preservation state, and (ii) get other paleoenvironmental markers.

Global warming recorded in the Early Toarcian (Taskomirsay) had no impact on the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ that suggests high and almost constant humidity. This is consistent with palynological and molecular data. Results in Faddeevsky (Paleogene) are more difficult to interpret in terms of climate changes, with a contrasted response of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ between the base and the top of the section. At the Eocene-Oligocene transition, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values, in agreement with clay minerals changes, recorded a significant drop in humidity. In addition, the concomitant drop in temperatures, associated with this transition, probably had no effect on the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values. All those results highlight water availability as a first climatic control on $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values.

Methodological and analytical limitations of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ are also discussed. It is concluded that OM-rich samples (> 40%) are most probably not suitable for the protocol of preparation, which is currently used. Alternatively, direct measurements of $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values for organic pre-quaternary sediments are suggested, by analyzing kerogens of the samples.

Eventually, the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, combined with other paleoenvironmental markers, could be used to evaluate the modifications of the nitrogen cycle – mainly *via* water and nutrients availability – in terrestrial paleoecosystems

Sommaire

Remerciements	iii
Sommaire	xiii
Avant-propos	xvii
Chapitre I : Introduction	1
Chapitre II : L'azote, du cycle global actuel à l'archive géologique. Attentes de l'outil isotopique	9
1. Les stocks et les flux d'azote sur Terre	10
1.1. Les stocks	10
1.2. Les flux : le cycle géologique de l'azote	11
1.3. Les flux : atmosphère, hydrosphère, biosphère	11
2. Le cycle biogéochimique de l'azote	13
3. La plante intégrée au sein du cycle de l'azote	15
4. L'outil isotopique	19
4.1. Notion d'abondance isotopique	19
4.2. Notion de fractionnement isotopique	20
4.3. Les fractionnements isotopiques des principales étapes du cycle de l'azote	21
5. Influence du climat sur le $\delta^{15}\text{N}$	24
5.1. En milieu marin	24
5.2. En milieu continental	27
6. Modèles climatiques conceptuels	33
7. Origine de l'azote organique sédimentaire	36
7.1. Le milieu aquatique	36
7.2. Le milieu terrestre	37
8. Evolution des composés azotés organiques sédimentaires	42
8.1. Stabilisation de l'azote organique	42
8.2. Préservation de l'azote organique dans les sédiments anciens	47
9. Impact de la diagenèse sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sédimentaire	51
9.1. La diagenèse précoce : Etat des connaissances	51
9.2. Au-delà de la diagenèse tardive. Jusqu'où préserve-t-on le signal issu de la diagenèse précoce ?	56
Chapitre III : Méthodes d'analyse de la matière organique	61
1. Géochimie de la matière organique totale	62
1.1. Teneur en carbone organique	62
1.2. La pyrolyse Rock-Eval	64
2. Géochimie isotopique de la matière organique totale	66
2.1. Analyses isotopiques du carbone organique ($\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$)	66
2.2. Analyses isotopiques de l'azote organique ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$)	67
3. Géochimie moléculaire	78
3.1. Extraction et séparation des lipides	79
3.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	79
3.3. Géochimie moléculaire isotopique	81
Chapitre IV : Expérience de diagenèse	83
1. Carbon and Nitrogen dynamics in incubated decaying wood: paleoenvironmental implications	84
1.1. Introduction	85
1.2. Experimental section	86

1.3. Results	89
1.4. Discussion	93
1.5. Paleoenvironmental implications	98
1.6. Conclusion.....	100
1.7. Acknowledgement.....	100
2. Commentaires sur l'expérience de diagenèse	101
2.1. Expérience sur les poudres de bois	101
2.2. Dynamique du carbone et de l'azote dans les poudres de bois	101
Chapitre V : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique au Pliensbachien-Toarcien	107
1. La transition Pliensbachien-Toarcien (~183 Ma).....	108
2. Zone d'étude et matériel utilisé.....	110
3. Paleoclimatic changes at the Pliensbachian-Toarcian transition recorded by δD of <i>n</i> -alkanes and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ in a continental section from central Asia (Taskomirsay, South Kazakhstan).....	119
3.1. Introduction	121
3.2. Material and methods	122
3.3. Results	129
3.4. Discussion	142
3.5. Conclusion.....	154
3.6. Acknowledgements	155
4. Précision des sources de la matière organique par l'approche moléculaire.....	156
4.1. Etude d'un tronc/racine fossile bien préservé	156
4.2. Diversité moléculaire le long de la coupe de Taskomirsay.....	159
Chapitre VI : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique au Paléogène (Arctique Russe)	163
.....	163
1. Changements climatiques au Paléogène	164
2. Zones d'études et matériels utilisés.....	165
3. La coupe de Faddeevsky	168
3.1. Caractérisation de la matière organique et de son environnement de dépôt (Yoon, 2013).....	168
3.2. Les données climatiques à Faddeevsky.....	169
3.3. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ à Faddeevsky : une réponse climatique du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$?	171
3.4. La coupe de Belkovsky	181
Chapitre VII : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique à l'Eocène-Oligocène.....	185
1. La transition Eocène-Oligocène (~34 Ma).....	186
2. Zone d'étude et matériel utilisé.....	187
3. Stepwise paleoclimate change across the Eocene-Oligocene Transition recorded in continental NW Europe by mineralogical assemblages and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Rennes Basin, France).	190
.....	190
3.1. Introduction	191
3.2. Geological settings	192
3.3. Methods.....	194
3.4. Results	195
3.5. Discussion	199
3.6. Conclusion.....	202
3.7. Acknowledgments	202
4. Commentaires.....	203
Chapitre VIII : Limites méthodologiques et analytiques du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.....	207
1. Limites méthodologiques	208
1.1. Le traitement KOH-KBr.....	208

1.2. Calcul du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ par bilan de masse.....	211
2. Limites analytiques et perspectives.....	214
2.1. Quantités de carbone et d'azote organique	214
2.2. Préparation améliorée des échantillons	214
3. Vers une mesure directe du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$?	216
Chapitre IX : Conclusion	221
Références	225
Annexes	248
Annexe 1 : Protocole de décarbonatation.....	250
Annexe 2 : Traitement KOH-KBr	252
Annexe 3 : Extraction lipidique	254
Annexe 4 : Extraction lipidique	258
Annexe 5 : Données Leco et Rock-Eval (Taskomirsay)	272
Annexe 6 : Données GDGTs (Taskomirsay)	274
Annexe 7 : Molécules identifiées à Taskomirsay.....	275

Avant-propos

Cette thèse s'est déroulée principalement au sein de l'Institut des Sciences de la Terre de Paris (ISTeP, UMR 7193) et s'inscrit dans le cadre d'un projet EMERGENCE qui finance au sein de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris 6) des orientations scientifiques novatrices telles que le projet « Paleonitrogen » auquel j'ai contribué. Il vise à tester l'utilisation des isotopes stables de l'azote des matières organiques fossiles terrestres comme marqueur paléoclimatique sur des séries pré-quaternaires. Pour tester les isotopes de l'azote en tant qu'éventuels marqueurs climatiques, la variation de leur concentration respective a été comparée à d'autres marqueurs plus classiquement utilisés pour les reconstructions paléoclimatiques. L'acquisition de ces derniers a donc nécessité de nombreuses collaborations dans différentes disciplines.

L'interdisciplinarité est le principal point fort de ce projet qui fait intervenir différents domaines d'études tels que la sédimentologie, la palynologie, la géochimie organique, moléculaire et isotopique. Cette interdisciplinarité a été permise grâce à de nombreuses collaborations associées de près ou de loin au projet avec notamment : les laboratoires METIS-UMR 7619 (géochimie organique moléculaire) et IEES-UFR918 (isotopie du carbone et de l'azote), l'Institut des Sciences de la Terre d'Orléans-ISTO-UMR7327 (isotopie de l'hydrogène sur composés spécifiques), l'Université de Namur (prétraitements pour les analyses isotopiques et instigateurs du projet de départ) et l'Université de Parme (isotopes du carbone).

Ce travail, en synergie avec plusieurs laboratoires, a permis de développer une vision intégrée des problématiques environnementales. L'émergence des études interdisciplinaires marque sans doute un tournant dans les sciences modernes caractérisées aujourd'hui par une approche où la compréhension de phénomènes interconnectés dans un système reste difficile. Des systèmes complexes comme le climat ou le cycle de l'azote, et *a fortiori* la combinaison des deux, illustrent parfaitement cette problématique. Dès lors, la multiplication des outils permettant de décrire les phénomènes en cours dans ces systèmes et leurs liens éventuels, est capitale.

Dans nos sociétés actuelles, soumises à des bouleversements climatiques qui engendrent déjà des drames humains et écologiques, mieux appréhender le système climatique est un enjeu vital. C'est pourquoi il est important de comprendre en premier lieu les changements climatiques passés pour mieux identifier les conséquences de celui en cours. Il existe déjà de très nombreux outils qui permettent la reconstitution des paléoclimats, avec chacun ses spécificités et ses limites. Mais de nouveaux outils émergent pour compléter cette palette. Les isotopes stables de l'azote ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) des matières organiques terrestres en sont un exemple. Les travaux de thèses présentés dans ce mémoire s'inscrivent dans l'effort de mise au point de ce nouveau marqueur paléoclimatique et de la discussion de ses limites éventuelles.

Chapitre I : Introduction

Depuis des millénaires, les civilisations humaines n'ont cessé d'évoluer, de se développer et de se complexifier. Les conditions environnementales relativement stables durant l'Holocène (<12 ka; Dansgaard *et al.*, 1993; Rioual *et al.*, 2001) ont certainement favorisé cette fantastique expansion, si rapide à l'échelle des temps géologiques. Cependant, ces conditions sont menacées et certains systèmes de notre planète seraient même déjà en-dehors des limites considérées comme viables pour nos sociétés humaines. Ceci concerne par ordre d'importance selon Rockström *et al.* (2009) : (i) **la biodiversité**, avec un taux d'extinction de 100 à 1000 fois supérieur à ce qui est considéré comme « normal » (Mace *et al.*, 2005), (ii) **le cycle de l'azote**, où l'homme convertit plus d'azote inerte de l'atmosphère en formes réactives, notamment pour les engrais en agriculture, que tous les processus naturels réunis (e. g. Gruber et Galloway, 2008), et (iii) **le climat** qui, globalement, se réchauffe (Rockström *et al.*, 2009). De plus, ces systèmes complexes sont interconnectés et s'influencent les uns les autres. Par exemple, la disparition d'un grand nombre d'espèces et/ou l'augmentation des rejets d'azote-phosphore suite aux activités humaines (notamment l'agriculture), peut perturber la capacité de résilience des écosystèmes marins en réduisant leur capacité à absorber le CO₂ (Gruber et Galloway, 2008; Rockström *et al.*, 2009). Or, le **CO₂ est un important gaz à effet de serre** depuis des centaines de millions d'années (Hansen *et al.*, 2008; Beerling *et al.*, 2009). Tracer les variations du cycle du carbone, qui piège ou libère du CO₂ dans l'atmosphère, est donc essentiel pour comprendre les changements climatiques.

Le changement climatique actuel est un challenge pour les générations à venir. L'un des scénarii les plus pessimistes (RCP8.5) prévoit des augmentations de températures pouvant atteindre 8°C aux pôles d'ici la fin du siècle, alors qu'une hausse globale moyenne de 2°C semble être privilégiée (5^e Rapport du GIEC, 2013 ; **Figure I.1**). Il est donc important de comprendre les mécanismes de ce changement en cours qui, par sa vitesse, n'a pas d'équivalent connu dans l'histoire géologique de la Terre, hormis le Paléocène Eocène Thermal Maximum (PETM) qui s'en rapproche (Zachos *et al.*, 2008; McInerney et Wing, 2011). Dès lors, l'étude des changements climatiques passés nous donne des clés pour comprendre les changements climatiques à venir, tout en s'appuyant sur des observations présentes. Les approches pluridisciplinaires sont les plus à même d'assurer une certaine robustesse aux interprétations et permettent de s'approcher au plus près de la réalité de systèmes extrêmement complexes comme le climat, en incrémentant les différentes échelles spatiales et temporelles.

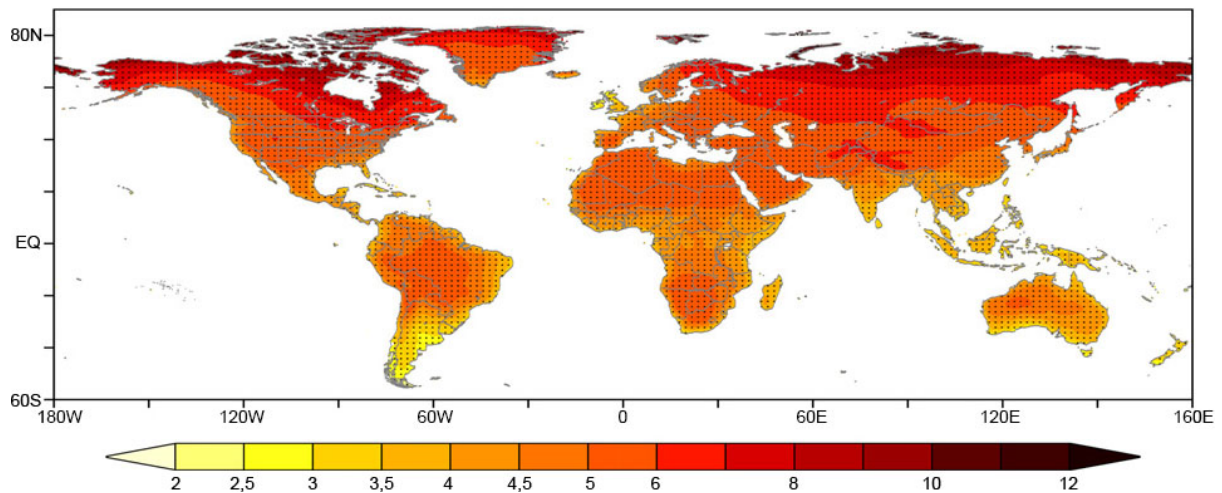


Figure I.1 : Distribution spatiale des prévisions des changements de température annuelles (°C) durant la période 2071-2100 par rapport à la période 1961-1990 d'après le scénario RCP8.5 (Feng *et al.*, 2014).

L'outil isotopique est depuis longtemps utilisé pour reconstruire les variations du cycle du carbone à différentes périodes géologiques. Il a souvent permis d'identifier des périodes contrastées d'un point de vue climatique *via* le stockage du CO₂ atmosphérique dans la matière organique et les carbonates, ou son relargage dans l'atmosphère (e. g. Eichmann et Schidlowski, 1975; Jenkyns, 1988; Hesselbo *et al.*, 2000; Zachos, 2001; Zachos *et al.*, 2005; Littler *et al.*, 2010; Suan *et al.*, 2010; Hermoso *et al.*, 2012). L'atmosphère, où se concentre aujourd'hui très rapidement ce gaz (~400 ppm de CO₂ dans l'atmosphère), est un des réservoirs majeurs de carbone, moins par ce qu'il représente en volume, que par sa réactivité (court temps de résidence). A titre d'exemple, la concentration de CO₂ a augmenté de +1,1 ppm/an sur la période 1958-1983, et de +1,8 ppm/an sur la période 1984-2013, passant de ~315 ppm à ~400 ppm. Cela représente une accélération de plus de 60% entre seulement deux périodes climatiques, et le rythme s'accélère encore (**Figure I.2**; Données US Department of Commerce, 2014, NOAA). On voit bien dès lors l'intérêt de comprendre comment le système climatique fonctionne et la nécessité d'étudier les changements environnementaux passés.

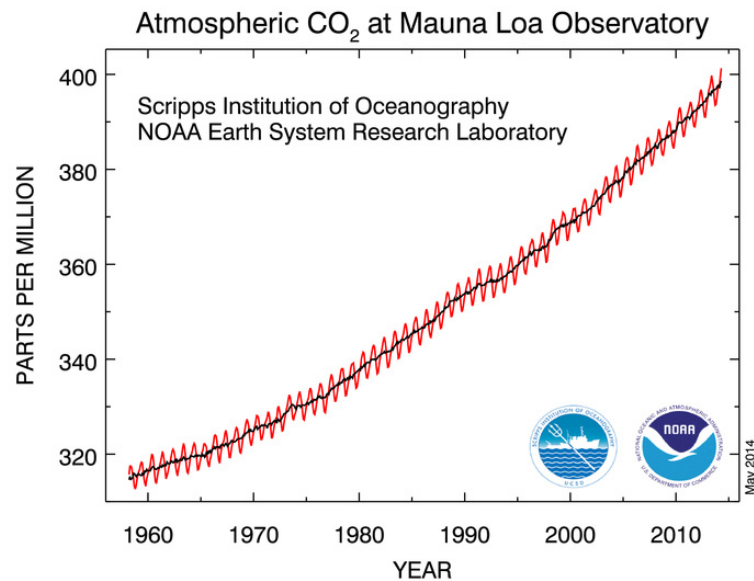


Figure 1.2 : Moyennes mensuelles de la concentration en CO₂ mesurées à l'observatoire du Mauna Loa, Hawaii. La courbe noire représente les données corrigées saisonnières (US Department of Commerce, 2014).

A l'inverse du cycle du carbone, principalement contrôlé par des processus géologiques (i.e. Volcanisme, roches carbonatées) et biologiques (i.e. la production primaire ; Baudin *et al.*, 2007), **le cycle de l'azote est dominé par des processus microbiens** qui fixent l'azote atmosphérique (N₂) et le rendent disponible pour les organismes vivants (Killops et Killops, 2005; Thamdrup, 2012). On parle alors d'**azote réactif** en opposition à l'**azote non réactif** (ou inerte) de l'atmosphère (Galloway *et al.*, 2003). L'azote réactif est susceptible de se présenter sous de multiples formes à travers différents environnements. L'ensemble des transformations de l'azote réactif et de ses effets sur les écosystèmes qu'il traverse, constitue ce que l'on appelle la « **cascade de l'azote** » (Galloway *et al.*, 2003). Cette dernière rend extrêmement complexe le cycle de l'azote. Malgré la complexité du cycle de l'azote, en particulier au sein du système sol/plante (Szpak, 2014), il a été montré qu'il était influencé par des variables climatiques. Ces variables entraînent des changements de composition isotopique de l'azote de la matière organique et peuvent donc être tracées (e. g. Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004; Liu et Wang, 2008).

Hypothèses de départ et objectifs

A l'échelle globale, l'estimation des flux et des stocks d'azote souffre de grandes incertitudes (jusqu'à 50 %), particulièrement dans le domaine continental (Gruber et Galloway, 2008). Malgré ces incertitudes, les isotopes de l'azote sont beaucoup utilisés dans les sédiments marins et lacustres, souvent dominés par une production organique algo-bactérienne, pour reconstituer les processus impliqués dans le cycle biogéochimique de l'azote : utilisation de l'azote par les organismes, variabilité de ses sources, processus de dénitrification et de diagenèse (e. g. Meyers et Ishiwatari, 1993; Altabet *et al.*, 1995; Meyers, 1997; Hodell et Schelske, 1998; Sebilo *et al.*, 2003; Thunell et Kepple, 2004; Gälman *et al.*, 2009; Mayor *et al.*, 2012; Teodoru *et al.*, 2012). Dans le **domaine marin**, l'azote réactif est majoritairement présent sous forme de **nitrates** (Johnson et Goldblatt, 2015). Sa signature isotopique est largement dominée par les processus de **dénitrification** et la **production primaire** qui, au mieux, retracent de manière indirecte le climat (e. g. Altabet *et al.*, 1995; Kienast, 2000; Jenkyns *et al.*, 2001; Thunell et Kepple, 2004; Paris *et al.*, 2010). Au contraire, dans le **domaine continental**, il a été montré que la composition isotopique de l'azote des plantes terrestres et des sols modernes était, à l'échelle globale, négativement corrélée avec les **précipitations** et positivement avec les **températures** (e. g. Austin et Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004; Liu et Wang, 2008). Toutefois, que ce soit dans le domaine marin ou continental, les variations de composition isotopique de l'azote sont souvent **complexes et difficiles à décrypter** (Robinson *et al.*, 2012; Szpak, 2014; Craine *et al.*, 2015; Gibson *et al.*, 2015).

Récemment, des résultats prometteurs ont été obtenus sur des lignites du Bassin de Dieppe-Hampshire à la limite Paléocène-Eocène (Storme *et al.*, 2012). Pour la première fois sur une période pré-quadernaire, les changements de composition isotopique de l'azote organique ont été interprétés en termes de variations d'humidité, en accord avec les données sédimentologiques de terrain (Storme *et al.*, 2012). Sur la base de ces travaux et d'**observations actualistes**, le but de cette thèse est de tester, de manière plus systématique et avec les mêmes méthodes, l'utilisation des isotopes de l'azote organique comme marqueur paléoclimatique dans des séries sédimentaires **pré-quadernaires**.

Deux questions centrales se posent alors :

- 1. Les isotopes de l'azote organique sont-ils un indicateur des conditions d'humidité/température dans le passé et, par conséquent, sont-ils un outil fiable pour les reconstitutions paléoclimatiques ?**
- 2. Quelles sont les limites et les biais méthodologiques éventuels de cet outil, notamment diagénétiques ou liés aux sources organiques?**

Ces questions sont discutées dans ce mémoire autour de VII chapitres au sein d'une structure mixte entre manuscrit de thèse et articles en préparation ou soumis :

- **Chapitre II :** En premier lieu, un état résumé des connaissances est avancé sur l'azote en général : les différents réservoirs impliqués au sein de la planète, les flux entre les réservoirs, le cycle général de l'azote. Ensuite, les concepts qui sous-tendent l'utilisation des isotopes de l'azote organique comme marqueur paléoclimatique seront discutés à la lumière des interactions entre le système sol/plante et le cycle de l'azote. En second lieu, l'origine de l'azote organique sédimentaire est détaillée pour comprendre d'où provient l'azote organique que l'on analyse dans des périodes pré-quaternaires. Enfin, les effets éventuels de la diagenèse sur les isotopes de l'azote sont discutés dans différents environnements.
- **Chapitre III :** Les méthodes d'analyses utilisées pour mesurer la composition isotopique de l'azote sont présentées, ainsi que les méthodes qui ont permis d'acquérir d'autres données essentielles pour reconstruire les environnements passés (LECO, Rock-Eval, géochimie moléculaire, isotopie du carbone, isotopie de l'hydrogène sur composés spécifique).
- **Chapitre IV :** Dans la continuité de l'évaluation des effets de la diagenèse sur les isotopes de l'azote, une expérience de diagenèse a été réalisée en laboratoire (METIS et IEES) durant plus de 18 mois. Cette expérience, menée en milieu aquatique contrôlé, présente une approche nouvelle qui vise à appréhender l'influence de la diagenèse précoce sur la signature isotopique de bois actuels. Ce genre d'expérience crée des liens entre l'approche actualiste et les reconstructions paléoenvironnementales. Elle est un préalable indispensable à l'interprétation des variations de la composition isotopique de l'azote organique en terme climatique. Les résultats principaux sont présentés sous forme d'article en préparation pour

***Environmental Chemistry* intitulé « Carbon and Nitrogen dynamics in incubated decaying wood: paleoenvironmental implications ».**

Les isotopes de l'azote sont ensuite confrontés à d'autres marqueurs paléoclimatiques sur des périodes que l'on sait très contrastées d'un point de vue climatique. Certains marqueurs climatiques ont pu être acquis par ailleurs et regroupent, par exemple, les minéraux argileux (Salpin, 2013), la palynologie (D. Pons, J.P. Suc), des données complémentaires en géochimie ou en palynofaciès (Yoon, 2013) Les sources de la matière organique ainsi que sa diagenèse sont contraintes pour chaque période, par la pyrolyse Rock-Eval, la géochimie moléculaire ou encore les palynofaciès. Le but est de s'assurer que les variations enregistrées de la composition isotopique de l'azote sont bien d'origine climatique. Les périodes étudiées couvrent une large gamme de temps et des changements climatiques variés :

- **Chapitre V** : La limite Pliensbachien-Toarcien (~183 Ma). Cette limite est caractérisée par un refroidissement suivi d'un réchauffement, accompagné d'une anoxie des fonds marins, sur une période de l'ordre du million d'années (Jenkyns *et al.*, 1985; Jenkyns, 1988; Hesselbo *et al.*, 2000; Bailey *et al.*, 2003; Morard *et al.*, 2003; Rosales *et al.*, 2004; Hesselbo *et al.*, 2007; Suan *et al.*, 2008a, 2008b, 2010; Littler *et al.*, 2010; Hermoso *et al.*, 2012).

Pour cette période, les travaux se sont concentrés sur une nouvelle coupe continentale échantillonnée en 2011 à Taskomirsay (Sud Kazakhstan) par J. Schnyder et F. T. Fürsich. Les résultats acquis ont abouti à deux articles. Le premier présente le calage stratigraphique de la coupe de Taskomirsay et définit une zone de transition entre le Pliensbachien et le Toarcien, sur la base d'assemblages polliniques et des isotopes du carbone organique. Il sera inclut dans un volume spécial de la ***Geological Society of London***. Il n'est pas inclut dans cette thèse, mais les résultats principaux sont discutés.

Un second article s'oriente sur les changements paléoclimatiques enregistrés à Taskomirsay à la transition Pliensbachien-Toarcien *via* notamment les isotopes de l'azote organique. Il s'intitule : « **Paleoclimatic changes at the Pliensbachian-Toarcian transition recorded by δD of *n*-alkanes and $\delta^{15}N_{org}$ in a continental section from central Asia (Taskomirsay, South Kazakhstan)** ». Il est en préparation pour ***Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*** et constitue la majeure contribution de ce chapitre.

- **Chapitre VI** : Le Paléogène (~66 à ~23 Ma). Cette période est caractérisée par des évènements climatiques rapides et intenses comme l'ETM-1 (Eocene Thermal Maximum, aussi appelé, Paleocene-Eocene Thermal Maximum pour PETM) ou l'ETM-2. Le PETM (~56 Ma) est particulièrement intense et rapide avec une durée de l'ordre de quelques milliers d'années (e. g. Kennett et Stott, 1991; Dickens *et al.*, 1997; Bowen *et al.*, 2004; Zachos *et al.*, 2005; Pagani *et al.*, 2006; Sluijs *et al.*, 2006; McInerney et Wing, 2011; Storme *et al.*, 2012; Garel *et al.*, 2013).

Pour cette période, la composition isotopique de l'azote organique a été mesurée sur deux coupes de l'antarctique où d'autres données paléoclimatiques ont été acquises par ailleurs (Yoon, 2013; Suan *et al.* in prep.). Bien que n'enregistrant pas d'évènements hyper thermaux comme le PETM, ces deux coupes présentent des changements climatiques relativement importants.

- **Chapitre VII** : La transition Eocène-Oligocène (~34 Ma). Cet autre évènement du Paléogène contraste avec les précédents, car il correspond à un refroidissement majeur qui marque le passage d'un climat global de type « greenhouse » vers un climat plus froid de type « icehouse » (e. g. Kennett, 1977; Ivany *et al.*, 2000; Lear *et al.*, 2004, 2008; Coxall *et al.*, 2005; Mosbrugger *et al.*, 2005; Dupont-Nivet *et al.*, 2007; Zanazzi *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 1991, 2008, 2009; Eldrett *et al.*, 2009; Bohaty *et al.*, 2012; Hren *et al.*, 2013).

Le matériel utilisé consiste en une carotte de sédiments lacustre prélevé en 2010 (BRGM) et largement étudiée depuis (Bauer *et al.*, 2010; Saint-Marc, 2011; Salpin, 2013; Ghirardi *et al.*, 2013, 2014; Bauer *et al.*, submitted; Boulila *et al.* in prep.). Des mesures de la composition isotopique de l'azote organique effectuées sur cette carotte sont comparées aux minéraux argileux. Ces travaux font l'objet d'un article soumis à ***Terra Nova : Stepwise paleoclimatic change across the Eocene-Oligocene Transition recorded in continental NW Europe by mineralogical assemblages and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Rennes Basin, France)***.

- **Chapitre VIII** : Les limites méthodologiques et analytiques de l'utilisation des isotopes de l'azote organique comme marqueur paléoclimatique sont discutées au regard des résultats obtenus. Notamment, la faible teneur en azote de certains échantillons est actuellement un frein à l'utilisation de cet outil. Dès lors, de nouvelles directions méthodologiques et analytiques sont proposées pour élargir le champ d'utilisation de cet outil.

Chapitre II : L'azote, du cycle global actuel à l'archive géologique. Attentes de l'outil isotopique

Ce chapitre fait état des connaissances actuelles en ce qui concerne :

- Les stocks et les flux d'azote au niveau global dans le domaine marin et continental (**Chapitre II.1**).
- Le cycle biogéochimique de l'azote est introduit de manière simplifiée, puis il est détaillé à l'interface sol/plante. L'accent est mis sur cette interface car l'influence du climat sur les isotopes de l'azote organique y a été démontrée (**Chapitre II.2 et II.3**).
- Les notions d'abondance et de fractionnement isotopique sont définies. La notation « δ », base de l'outil isotopique, est également définie (**Chapitre II.4**).
- Sur cette base, les interactions entre le climat et les isotopes de l'azote organique sont présentées dans le milieu marin et terrestre. Puis, les modèles conceptuels liant paramètres environnementaux (climat, nutriments) et composition isotopique de l'azote sont présentés (**Chapitre II.5 et II.6**).
- L'origine de l'azote organique sédimentaire **Chapitre II.7**, ainsi que ses modes de préservation sont discutés pour différents environnements. L'objectif est de mettre en perspective le matériel réellement analysé dans des sédiments anciens. Est-il comparable au matériel actuel (**Chapitre II.8**) ?
- Enfin, l'accent est mis sur l'évolution diagénétique de l'azote organique à l'échelle moléculaire et isotopique à différents stades de la diagenèse. En effet, de telles connaissances sont capitales pour les reconstructions paléoenvironnementales, basées sur une vision actualiste. Elles permettent d'évaluer dans quelle mesure la diagenèse, précoce ou tardive, affecte le signal primaire environnemental (**Chapitre II.9**).

1. Les stocks et les flux d'azote sur Terre

1.1. Les stocks

L'azote est un élément majeur de notre planète et le 5^e élément le plus fréquent du système solaire. De toutes récentes estimations des quantités d'azote sur Terre ont conclu que notre planète lors de sa formation contenait entre 200 et 330.10⁹ Tg ($\pm 35\%$) d'azote (Johnson et Goldblatt, 2015). De 180 à 300.10⁹ Tg ($\pm 60\%$) d'azote aurait été séquestré dans le noyau au moment de la différenciation de la Terre grâce au caractère sidérophile (soluble dans les métaux ferreux) de l'azote (**Figure II.1**; Johnson et Goldblatt, 2015). Les roches silicatées comprenant le manteau et la croûte sont le 2^e plus grand réservoir sur Terre avec $27 \pm 60\%$.10⁹ Tg, alors que l'atmosphère n'en compte « que » ~ 4 .10⁹ Tg (Johnson et Goldblatt, 2015). Dès lors, sur Terre, plus de 98% de l'azote est concentré dans les roches et les minéraux (**Figure II.1** ; Gobat *et al.*, 2010; Johnson et Goldblatt, 2015).

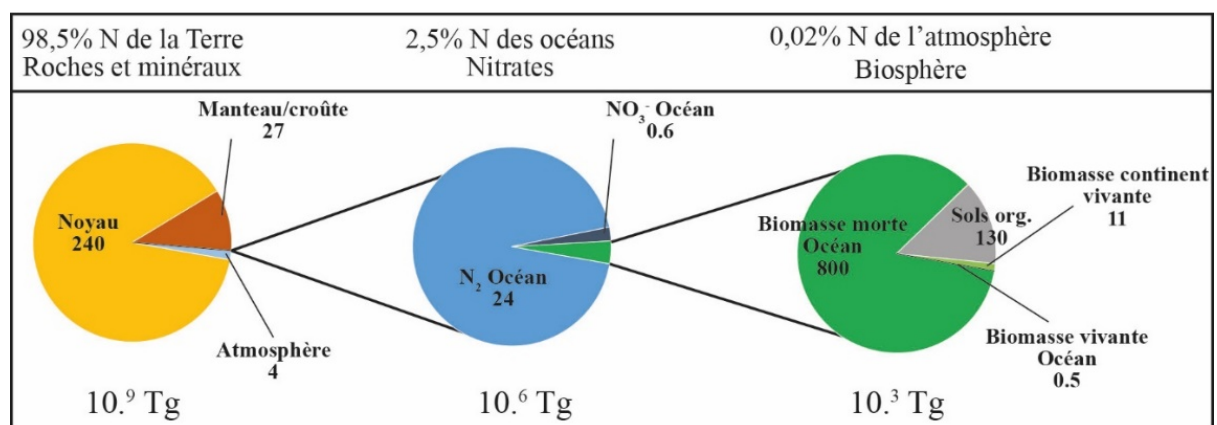


Figure II.1 : Taille des différents réservoirs d'azote sur Terre exprimée en Tg (données d'après Johnson et Goldblatt, 2015)

Pratiquement l'ensemble de l'azote restant se situe dans **l'atmosphère** qui est constitué à près de **80% d'azote** inerte (N₂), considéré comme non réactif (Galloway *et al.*, 2003). L'atmosphère est donc le réservoir d'azote des couches superficielles le plus important, suivi par l'océan et la biomasse (**Figure II.1** ; Canfield *et al.*, 2010; Johnson et Goldblatt, 2015). Dans l'océan, la majeure partie de l'azote est également sous forme N₂ et seulement 2,5% de l'azote des océans, soit 6.10⁵ Tg, est contenu dans les nitrates (NO₃⁻), ce qui est comparable à l'ensemble de l'azote contenu dans la biomasse ($\sim 9.10^5$ Tg ; **Figure II.1** ; Canfield *et al.*, 2010; Johnson et Goldblatt, 2015). A titre de comparaison, l'azote contenu dans la biomasse ne

représente que 0,02% de l'azote de l'atmosphère et cet azote est majoritairement présent dans la biomasse morte des océans et des sols (**Figure II.1** ; Johnson et Goldblatt, 2015).

1.2. Les flux : le cycle géologique de l'azote

L'azote du noyau terrestre est considéré comme séquestré et isolé en son sein et, par conséquent, n'intervient dans aucun échange avec les autres réservoirs comme le manteau (Johnson et Goldblatt, 2015). C'est d'ailleurs la raison pour laquelle ce réservoir est souvent omis dans la littérature (e. g. Berner, 2006; Canfield *et al.*, 2010). Plus près de la surface, des échanges d'azote ont lieu entre la lithosphère (croûte + une partie du manteau) et l'atmosphère, et reposent sur trois mécanismes principaux : (i) l'enfouissement des sédiments qui peuvent contenir de l'azote sous forme d'ammonium (NH_4^+) qui se substitue au potassium (K^+) dans l'espace interfoliaire des argiles (Müller, 1977), (ii) l'érosion des matières organiques avec libération d'azote dans le système biologique et (iii) l'émission de N_2 ou autres gaz azotés (N_2O par exemple) par le volcanisme ou le dégazage lors du métamorphisme (Berner, 2006). Le protoxyde d'azote (N_2O) est par ailleurs un gaz à effet de serre puissant qui contribue au réchauffement climatique actuel, mais également à la diminution de la couche d'ozone (Ravishankara *et al.*, 2009). Cependant, les échanges associés aux mécanismes cités précédemment sont extrêmement lents, de l'ordre du milliard d'années (Berner, 2006). Ils s'inscrivent dans ce que l'on appelle le **cycle géologique de l'azote**. Compte tenu de ces flux extrêmement lents, ce cycle peut être négligé.

Les enjeux du cycle de l'azote se situent donc dans les couches superficielles entre l'atmosphère, l'hydrosphère (océans, rivières), les sols et la biosphère.

1.3. Les flux : atmosphère, hydrosphère, biosphère

Alors que l'azote de l'atmosphère et de l'hydrosphère est majoritairement non réactif (N_2), il est principalement sous forme organique dans la biomasse morte des sols et des océans (**Figure II.1 et Figure II.2** ; Ramade, 2012; Johnson et Goldblatt, 2015). Les formes organiques principales de l'azote dans les sols et les sédiments seront détaillées dans les §7. et §8. A l'interface entre l'atmosphère, l'hydrosphère et les sols se trouve la biosphère qui représente l'ensemble des êtres vivants et leur milieu. Elle est responsable des plus grands flux d'azote entre ces réservoirs en fixant l'azote de l'atmosphère à hauteur de 110-140 Tg.an⁻¹ sur

les continents et 70-140 Tg.an⁻¹ dans les océans. La foudre est également responsable de la fixation d'azote dans l'atmosphère, mais son impact est limité avec « seulement » ~5 Tg. an⁻¹ (Borucki et Chameides, 1984; Gruber et Galloway, 2008; Ramade, 2012). A la mort des organismes composant la biosphère, l'azote est minéralisé et recyclé ou réinjecté dans l'atmosphère. Les rejets se font principalement par des processus de dénitrification (réduction du NO₃⁻ en N₂) à hauteur de 100-130 Tg.an⁻¹ sur les continents et de 100-160 Tg.an⁻¹ dans les océans (**Figure II.2**). Ainsi, l'atmosphère, l'hydrosphère et les sols font parties intégrante du **cycle biogéochimique de l'azote** et la biosphère sert de relais entre ces réservoirs en rendant l'azote de l'atmosphère réactif (Thamdrup, 2012).

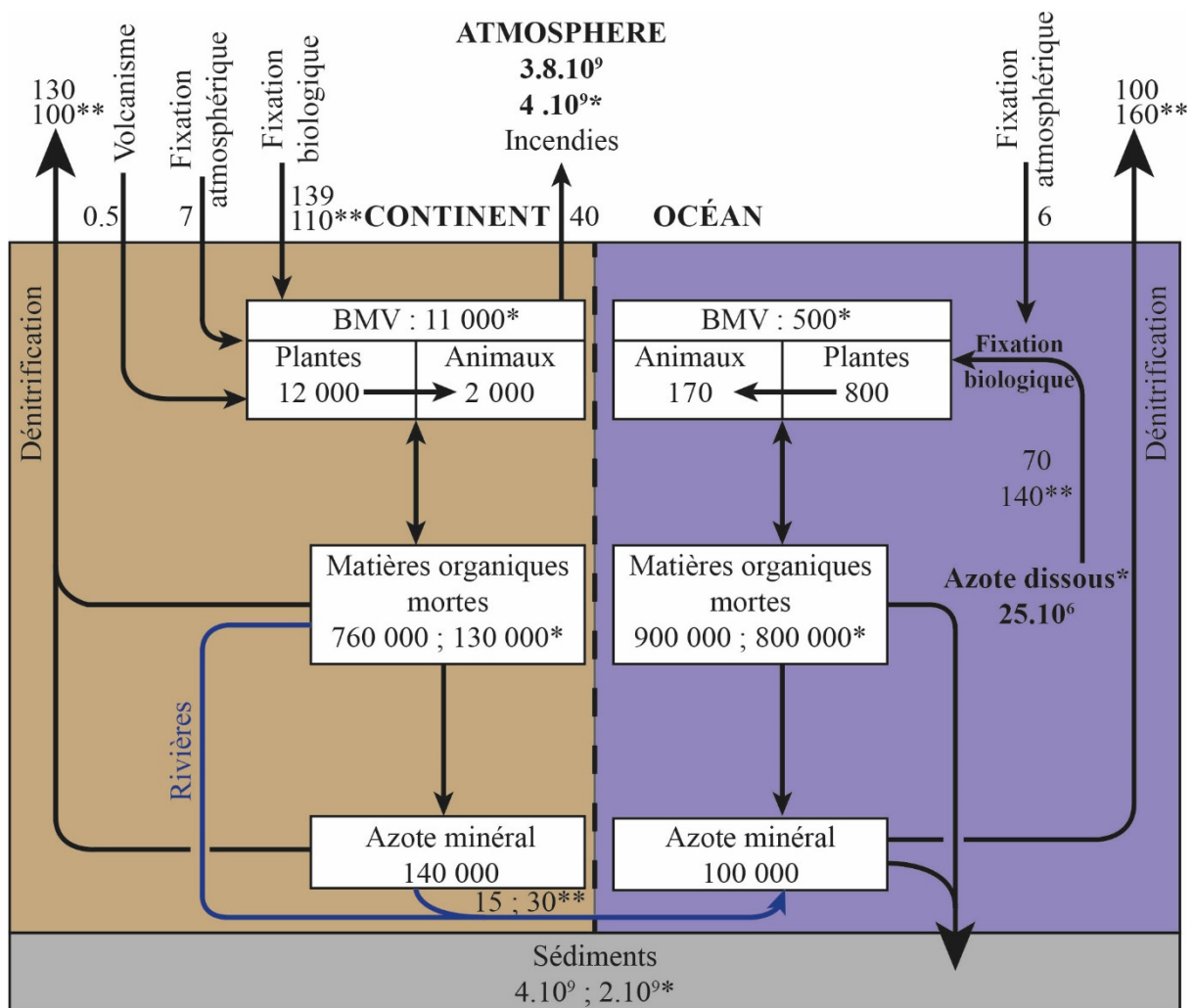


Figure II.2 : Flux entre différents réservoirs d'azote impliqués dans le cycle dynamique de l'azote. Les stocks sont exprimés en Tg et les flux en Tg.an⁻¹. Modifié d'après Ramade (2012). BMV, Biomasse Vivante. *Estimation récente des stocks d'après Johnson et Goldblatt (2015). ** Estimation des flux d'après Gruber et Galloway (2008).

2. Le cycle biogéochimique de l'azote

Le rôle primaire du cycle de l'azote repose sur sa capacité à **réguler la disponibilité de l'azote réactif** (ou fixé) pour le vivant (Thamdrup, 2012). Seuls certains organismes, exclusivement des **procaryotes**, sont capables de **fixer le N₂** atmosphérique afin de le rendre disponible pour l'ensemble des organismes vivants (Shridhar, 2012 ; **Figure II.3**). L'azote étant trivalent, cette limite est liée à l'énergie nécessaire qu'il faut déployer pour casser la triple liaison entre deux atomes d'azote (Galloway *et al.*, 2003). Parmi les organismes fixateurs, les **cyanobactéries** représentent les organismes fixateurs majeurs sur Terre dans tout type d'environnement, même les plus extrêmes (Shridhar, 2012). Les bactéries *Rhizobia* associées aux racines des plantes (e. g. légumineuses) ou les bactéries *Azolla Anabaena Azollae* associées aux algues *Azolla*, sont également des fixatrices d'azote importantes (Shridhar, 2012). L'azote atmosphérique est fixé par l'ensemble de ces microorganismes qui le réduisent en NH₄⁺ et l'incorporent dans la biomasse (**Figure II.3**; Thamdrup, 2012).

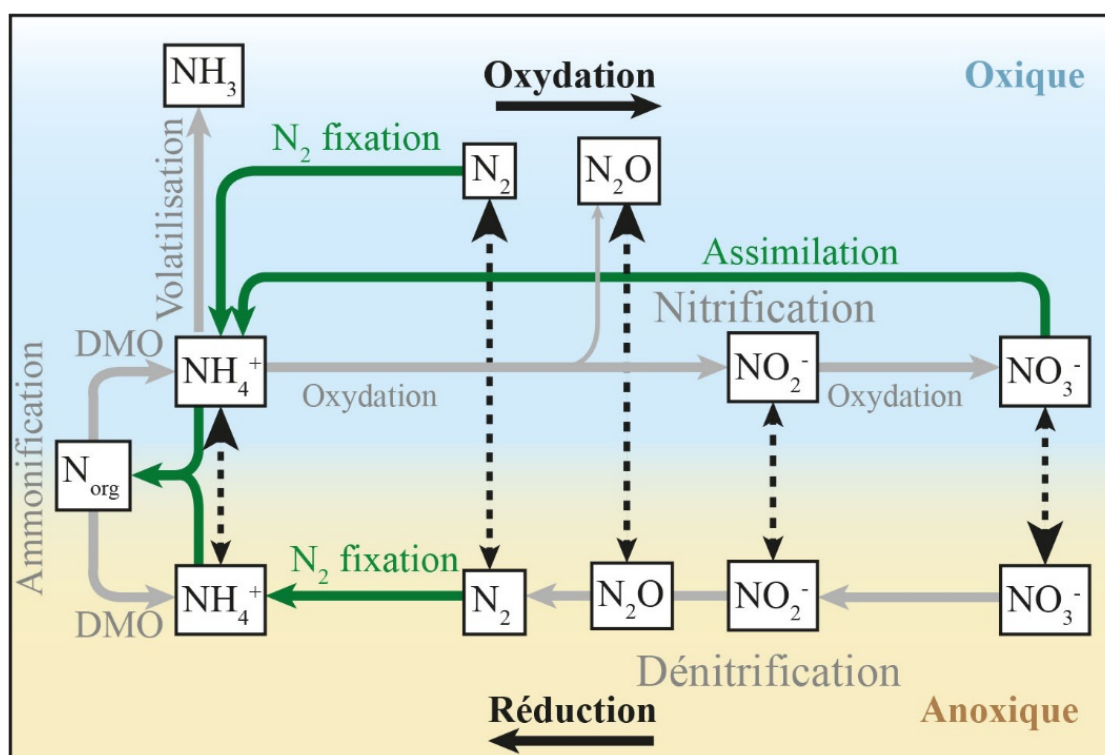


Figure II.3 : Représentation simplifiée du cycle de l'azote sans les formes intermédiaires de l'azote les plus complexes (modifiée d'après Thamdrup, 2012). Les processus classiques d'assimilation (vert) et de dissociation (gris) sont indiqués. Les processus aérobies et anaérobies sont séparés (Oxydation vs Réduction). Les flèches en pointillées soulignent les échanges entre les environnements oxiqes et anoxiques. Leur taille relative indique la direction de transport dominante. DMO, Décomposition de la Matière Organique.

La biomasse utilise cet azote lors de la synthèse de leurs **acides aminés et protéines** (Peters *et al.*, 2005; Ramade, 2012). Ces molécules sont particulièrement riches en azote avec de 8 à 26 % d'azote dans les acides aminés (Miller et Houghton, 1945) et ~16 % dans les protéines (Chibnall *et al.*, 1943; Miller et Houghton, 1945). Elles représentent jusqu'à 95% de l'azote organique, généralement non assimilable directement par les organismes vivants qui lui préfèrent sa forme minérale dissoute comme NH_4^+ ou NO_3^- (Canfield *et al.*, 2010). En dehors de l'azote fixé, ces deux composés sont en premier lieu issus de la **décomposition** de la matière organique et de sa **minéralisation** (**Figure II.3**).

La décomposition et la minéralisation de la matière organique retransforme l'azote de la biomasse en NH_4^+ (**ammonification** ; **Figure II.3**). En milieu oxygène, l'ammonium peut être transformé en NO_3^- par des communautés microbiennes nitrifiantes (**nitrification**) et être réassimilé par la biomasse. Au cours de la nitrification, une partie de l'azote peut être perdue sous forme de N_2O et retourner dans l'atmosphère. En milieu anoxique, NO_3^- est susceptible de retourner à l'atmosphère sous forme de N_2 ou de N_2O par des processus de dénitrification assurés par des communautés microbiennes dénitrifiantes (**Figure II.3**). Le retour de l'azote dans l'atmosphère clôt le cycle biogéochimique de l'azote qui devient non réactif et doit donc à nouveau être fixé pour redevenir disponible. La **volatilisation** de l'ammonium en ammoniaque (NH_3) est également un mécanisme de retour de l'azote dans l'atmosphère, principalement dans l'agriculture avec des pertes d'azote assez faibles de 1 à 3% (Jantalia *et al.*, 2012 ; **Figure II.3**). Il existe donc trois mécanismes principaux, responsables des pertes d'azote dans les écosystèmes : (i) la dénitrification, (ii) la volatilisation et (iii) la nitrification.

Il apparaît que le cycle biogéochimique de l'azote, dominé par des **processus microbiens**, est en réalité très complexe. Il ne doit donc pas être vu comme un véritable cycle, mais plutôt comme un réseau de processus qui entraîne des réactions en chaîne (Thamdrup, 2012). Une même molécule de diazote peut, au travers de cette réaction en chaîne, prendre différentes formes moléculaires et induire des effets variés sur les écosystèmes qu'elle traverse. Ce phénomène est appelé la **cascade l'azote** (Galloway *et al.*, 2003). Il est très important dans les écosystèmes actuels étant donné que la fixation industrielle de l'azote atmosphérique (e. g. engrais) est équivalente à celle liée aux processus naturels (Galloway *et al.*, 2003; Gruber et Galloway, 2008). Par exemple, les engrais, issus de la fixation industrielle de l'azote, sont introduits dans les terres arables pour l'agriculture. Une fois dans les sols, l'azote réactif entre dans la cascade de l'azote. Une partie est transférée dans l'atmosphère sous forme de NH_3 , NO , N_2O ou N_2 et peut aboutir à des pluies acides. Une autre partie est transférée dans l'hydrosphère, souvent sous forme de NO_3^- et peut aboutir à l'eutrophisation des milieux

aquatiques (Galloway *et al.*, 2003). Par conséquent, la principale difficulté de la vision actualiste, base de toute reconstruction paléoenvironnementale, réside dans le fait que le cycle biogéochimique de l'azote est aujourd'hui très largement **anthropisé** (Gruber et Galloway, 2008).

Néanmoins, l'**azote réactif** de la biosphère ne représente pour l'instant que **~0,02% du N₂ total de l'atmosphère**. Il **limite la production primaire**, à la fois dans les environnements marins et terrestres (Vitousek et Howarth, 1991; Canfield *et al.*, 2010). Ceci implique un lien très fort entre le cycle de l'azote et celui du carbone (Gruber et Galloway, 2008). Ce lien s'exprime au travers du **rapport C/N** qui varie remarquablement peu au sein de la production primaire (e. g. organismes autotrophes, C/N~8). Par conséquent, la biosphère, en particulier les communautés autotrophes, lie les cycles du carbone et de l'azote, mais aussi des autres nutriments comme le phosphore, *via* la synthèse des molécules nécessaires à la vie (Gruber et Galloway, 2008). Le **couplage** des différents cycles biogéochimiques est si fin que l'accélération ou la décélération d'un des cycles entraîne tous les autres, ce qui au final régule la production primaire. Or, le cycle du carbone est intimement lié au climat en raison de sa capacité à injecter ou extraire du CO₂ de l'atmosphère *via* notamment la production primaire (Baudin *et al.*, 2007). La perturbation des autres cycles et de la productivité primaire aurait donc nécessairement des conséquences sur le climat (Gruber et Galloway, 2008).

Dans le milieu continental, l'**interface sol/plante** joue un rôle crucial au sein du cycle biogéochimique de l'azote car c'est à cette interface que se fixe l'azote de l'atmosphère. La plus grande part de la fixation de l'azote est assurée par les communautés microbiennes du sol qui le rendent disponible pour les plantes.

3. La plante intégrée au sein du cycle de l'azote

Les plantes font parties intégrante du cycle de l'azote car elles ont besoin de cet élément pour synthétiser des acides aminés, des protéines et de la chlorophylle. Les protéines présentes dans une plante interviennent majoritairement dans le cycle de Calvin et dans les thylakoïdes – ensemble de membranes où se déroule la photosynthèse – qui régissent la capacité photosynthétique des plantes (Evans, 1989). Les plantes sont susceptibles d'assimiler de l'azote sous de multiples formes. Elles peuvent l'assimiler de manière **directe** sous forme de NH₄⁺, NO₃⁻ avant de le réduire en azote organique, ou directement sous forme d'acides aminés

(**Figure II.4** ; Lipson et Näsholm, 2001). Elles peuvent l'assimiler de manière **indirecte** via des associations mycorhiziennes. Ce sont des associations symbiotiques avec les racines des plantes qui forment les mycorhizes (symbiose racinaire). Plus de 80 % des plantes sont capable d'établir de telles associations. Dans ce mode d'assimilation, les champignons pourvoient l'azote environnant (et d'autres nutriments) au sein de la plante, principalement sous forme d'acides aminés et d'ammoniaque (**Figure II.4** ; Hobbie et Hobbie, 2008; Lambers *et al.*, 2009; Gobat *et al.*, 2010; Bebber *et al.*, 2011; Hobbie et Högberg, 2012). En échange, la plante fournit du carbone issu de la photosynthèse aux champignons.

Il existe trois types d'associations mycorhizienne (**Figure II.5**) :

- **Les mycorhizes à arbuscules (MA)** : elles sont adaptées à des écosystèmes à fort taux de recyclage de l'azote et sont les plus courantes. Les MA se présentent sous forme de petits arbustes qui se collent à la paroi cellulaire des racines.
- **Les mycorhizes à éricoïdes (ME)** : elles sont adaptées à des écosystèmes riches en matière organique et pauvres en azote. Elles forment des vésicules au sein de la racine.
- **Les ectomycorhizes (EM)** : elles concernent sur les plantes ligneuses. Elles entourent les racines avec leur mycélium pour former une sorte de gaine.

Ce modèle (**Figure II.4**) montre bien l'importance du processus de fixation qui rend l'azote disponible pour les plantes. Il incorpore également les notions de flux (§1) et de processus liés au cycle biogéochimique de l'azote (§2). Dans chaque réservoir (e. g. sols, rivières, océans), l'azote est susceptible de subir un cycle biogéochimique complet (N_2 — NH_4^+ — NO_3^- — N_2), symbolisé par les cycles verts fermés. Généralement, l'assimilation de NH_4^+ est préférée par les plantes car moins coûteuse en énergie, alors que celle de NO_3^- s'opèrerait à plus grande profondeur de sol où l'azote est minéralisé (**Figure II.4** ; Lipson et Näsholm, 2001; Boudsocq *et al.*, 2012; Hobbie et Högberg, 2012). Toutefois, cette vision simplifiée est sujette à débat avec notamment la notion de compétition entre les différentes espèces de plantes, le rôle des mycorhizes dans la disponibilité de l'azote, les dispositions génétiques des plantes ou encore l'environnement (pH, température, précipitation ; Boudsocq *et al.* 2012). Ces auteurs ont conclu que la majorité des espèces exerçaient une relative **plasticité physiologique et métabolique**, jusqu'ici sous-estimé, quant à leur préférence dans l'assimilation de telle ou telle forme d'azote.

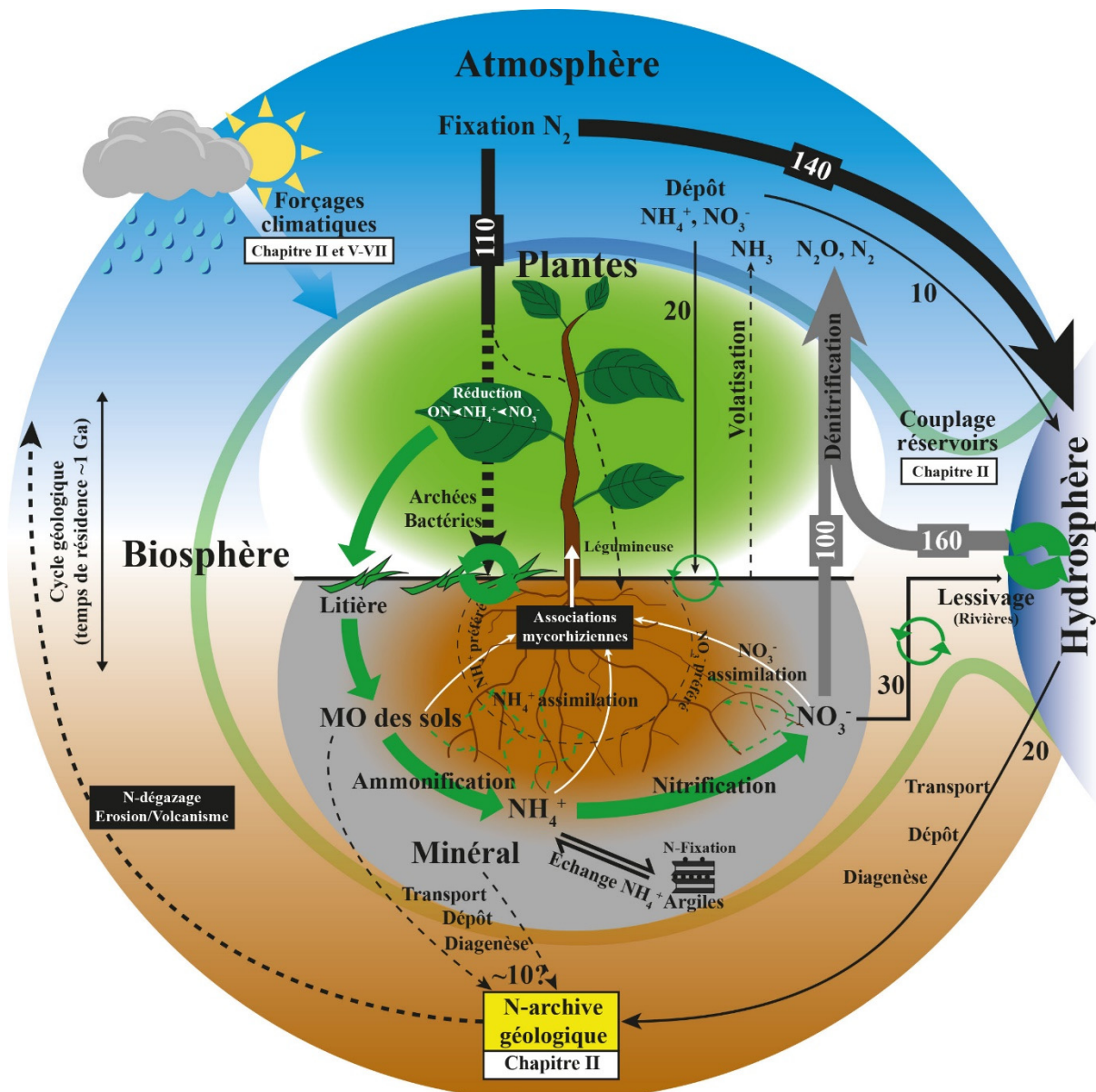


Figure II.4 : Modèle intégré du cycle de l'azote focalisé sur le système sol/plante. Les principaux processus de transfert d'azote entre différents réservoirs sont représentés. Les flèches pleines (excepté celle du forçage climatique) sont proportionnées par rapport à la quantité d'azote concernée (en Tg N par an) indiquée en chiffre arabe avec une erreur de $\pm 50\%$ d'après Gruber et Galloway (2008). Les flèches en pointillées ne sont pas proportionnées. La flèche grise indique des conditions de dysoxie/anoxie nécessaires au processus de dénitrification. Les flèches vertes font références au cycle biogéochimique de l'azote du système sol/plante et sont également proportionnées à la quantité potentielle d'azote concernée. Les flèches blanches font référence aux associations mycorhiziennes. **Les chapitres de la thèse traitant des différentes thématiques sont également représentés.**

Enfin ce modèle souligne la très faible part de l'azote $\sim 20 \text{ Tg}\cdot\text{an}^{-1}$ (Gruber et Galloway, 2008) qui finit effectivement dans les archives géologiques *via* l'enfouissement des sédiments. Récemment, le flux de carbone organique et inorganique séquestré dans les écosystèmes terrestres a été estimé après avoir été longtemps considéré comme négligeable au regard de ce qui est transporté par les rivières dans les océans avant d'y être enfoui (Cole *et al.*, 2007). Ces

auteurs ont conclu que 200 Tg.an⁻¹ étaient enfouis dans les systèmes aquatiques terrestres. Considérant un rapport atomique C/N minimum de 20, typique de la matière organique terrestre (Tyson, 1995; Meyers, 1997), on peut estimer à ~10 Tg la quantité d'azote organique enfoui dans les écosystèmes continentaux chaque année, ce qui n'est pas négligeable (**Figure II.4**). C'est une estimation haute car (i) le carbone inorganique est compté dans le flux de carbone total (Cole *et al.*, 2007), (ii) les flux anthropiques de carbone ne sont pas séparés des flux naturels (Cole *et al.*, 2007), (iii) les pertes d'azote tout au long de la diagenèse ne sont pas prises en compte et (iv) la matière organique terrestre, comme le bois, peut avoir un C/N>200 (Tyson, 1995). L'estimation haute représente donc **~10% de l'azote** atmosphérique fixé entrant dans les écosystèmes continentaux, comparable à la préservation du carbone organique dans les écosystèmes terrestres les plus conservateurs (Baudin *et al.*, 2007). Dans les kérogènes immatures, l'azote représente généralement <3 % de l'ensemble des kérogènes (Tyson, 1995), ce qui pourrait constituer une estimation basse de la proportion d'azote enfouie. Par ailleurs, il est important de noter que les estimations de flux d'azote dans le domaine continental sont très mal contraintes avec des erreurs jusqu'à ±50 % (Gruber et Galloway, 2008).

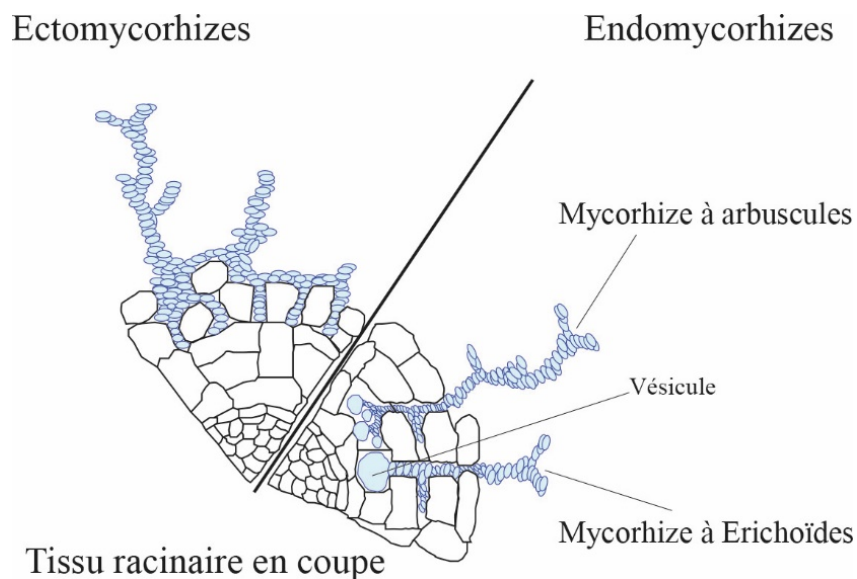


Figure II.5 : Illustration des différents types de mycorhizes.

Les différents processus qui ont lieu au sein du cycle biogéochimique de l'azote sont accompagnés **de fractionnements isotopiques** qui partagent les isotopes de l'azote entre un substrat et un produit. L'azote organique, qui est potentiellement enfoui et préservé dans les sédiments, intègre l'ensemble de ces fractionnements.

4. L'outil isotopique

4.1. Notion d'abondance isotopique

Dans la nature, l'azote est présent sous deux formes isotopiques stables : ^{14}N et ^{15}N . Les isotopes ont les mêmes propriétés chimiques, mais diffèrent par leur nombre de neutrons. Dans le cas de l'azote, le ^{14}N possède 7 protons et 7 neutrons et représente 99,64 % des isotopes, alors que le ^{15}N possède 7 protons et 8 neutrons et ne représente que 0,36% des isotopes. La **spectrométrie de masse** permet de mesurer un **rapport isotopique**, noté R, qui exprime la proportion des deux isotopes d'un élément. Par convention, l'isotope le plus abondant est toujours placé au dénominateur. On exprime ainsi la proportion de l'isotope lourd (^{15}N) par rapport au plus léger (^{14}N), tel que :

$$R = [^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}]$$

Du fait de la très grande quantité de l'isotope abondant, la **justesse** de la mesure de R par la spectrométrie de masse n'est pas stable au cours du temps et ne permet pas une bonne **reproductibilité** des mesures. Par contre, la **précision** est en général très bonne. C'est pourquoi, le rapport isotopique d'un élément dans un échantillon est toujours mesuré par rapport à une **référence internationale** (étalon). Ainsi, la différence observée entre l'échantillon et la référence restera constante au cours du temps, puisque les fluctuations instrumentales affectent de la même manière l'échantillon et la référence. Par conséquent, on exprime les variations de la composition isotopique d'un échantillon de manière relative, par la **notation** « δ », que l'on multiplie par 1000 car ces variations sont souvent très petites. Le « δ » s'exprime donc en ‰ tel que :

$$\delta_{\text{échantillon}}(\text{‰}) = \frac{R_{\text{échantillon}} - R_{\text{étalon}}}{R_{\text{étalon}}} \times 1000$$

Où R est le rapport isotopique $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ dans le cas de l'azote. La référence internationale pour les mesures de $\delta^{15}\text{N}$ est l'azote de l'air (N_2) avec une valeur conventionnelle de 0‰ (Mariotti, 1983).

4.2. Notion de fractionnement isotopique

Les processus biogéochimiques qui assurent les transferts d'azote entre les différents réservoirs au cours du cycle de l'azote, entraînent un fractionnement isotopique qui favorise le plus souvent le ^{14}N et enrichit le produit résiduel en ^{15}N . Il existe deux types principaux de fractionnement isotopique qui peuvent intervenir de concert lors d'une réaction chimique ou d'un changement de phase : (i) le fractionnement isotopique cinétique et (ii) le fractionnement isotopique à l'équilibre.

- **Le fractionnement isotopique cinétique** provient d'une différence de vitesse de réaction entre les isotopes en fonction de leur masse. Lors de celle-ci, l'isotope léger, plus réactif, réagit plus vite que l'isotope lourd entraînant un enrichissement du substrat en isotopes lourds par rapport au produit de la réaction (Sebilo, 2003; Hobbie et Högberg, 2012).
- **Le fractionnement isotopique à l'équilibre** s'opère lors d'un changement de phase ou d'une réaction chimique. Lors d'un fractionnement isotopique à l'équilibre, l'isotope lourd est concentré dans la phase la plus dense, dans le cas d'un changement de phase, ou dans les molécules dont les liaisons sont les plus stables, dans le cas d'une réaction chimique (Bigeleisen, 1965; Hobbie et Högberg, 2012). Dans le cas du fractionnement à l'équilibre, la réaction inverse (produit-substrat) s'opère également. Par conséquent, le fractionnement isotopique à l'équilibre lors d'une réaction est égal à la « somme » des fractionnements isotopiques cinétiques substrat-produit et produit-substrat (Hobbie et Högberg, 2012).

Dans la littérature, le fractionnement isotopique (α) entre un substrat et un produit est le plus souvent exprimé sous la forme d'un **facteur d'enrichissement**, noté ϵ (Robinson, 2001; Sebilo, 2003; Sachse *et al.*, 2006, 2012) tel que :

$$\epsilon = (\alpha - 1) \times 1000$$

où α est le quotient des rapport isotopiques du produit (R_p) et du substrat (R_s ; Robinson, 2001), tel que :

$$\alpha = R_p/R_s$$

Lorsque α vaut 1, il n'y a pas de fractionnement isotopique entre le substrat et le produit. Lorsqu'il est >1 , le substrat est enrichi en ^{15}N et inversement. La notation ε a également l'avantage de multiplier par 1000 les très petites variations de α . Elle revient par ailleurs à la différence en $\delta^{15}\text{N}$ entre le substrat et le produit.

4.3. Les fractionnements isotopiques des principales étapes du cycle de l'azote

La **Figure II.6** est très représentative de la complexité de la dynamique de l'azote dans les écosystèmes continentaux où les processus de fractionnements sont nombreux et d'amplitude variable (Handley *et al.*, 1999; Robinson, 2001). Les différents facteurs d'enrichissement impliqués dans le cycle de l'azote (Sebilo, 2003) sont reportés sur cette figure, listés et décrits dans le **Tableau II.1**. Ils favorisent tous l'isotope léger au détriment du lourd ce qui justifie un ε négatif, c'est-à-dire que le produit de la réaction aura un $\delta^{15}\text{N}$ plus faible que le résidu. Bien que les fractionnements isotopiques favorisent l'isotope léger, ils aboutissent *in fine* à des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes comprises en général entre -3 et +7 ‰ (Gerhart et McLauchlan, 2014). **La composition isotopique des plantes est influencée par de multiples facteurs** (Szpak, 2014).

Tableau II.1 : Principaux processus liés au cycle biogéochimique de l'azote et leur facteur d'enrichissement isotopique ε (d'après Robinson, 2001).

Processus	ε en ‰	Description
Fixation	-6 à 0	S'opère <i>via</i> une enzyme, la nitrogénase, que l'on retrouve dans certaines archées et bactéries, parfois associées aux légumineuses (e. g. Shridhar, 2012).
Ammonification	-5 à 0	Réalisée par les microorganismes qui minéralisent la matière organique en transformant l'azote organique en ammonium.
Volatilisation	-60 à -40	Transformation de l'ammonium (NH_4^+ solution) en ammoniac (NH_3 gaz) par évaporation.
Nitrification	-35 et -15	Réaction d'oxydation de l'ammonium par l'intermédiaire de bactéries nitrosantes qui aboutissent à la formation de nitrite (NO_2^-), puis, par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes, qui aboutissent à la formation de nitrates (NO_3^-).
Dénitrification	-30 à -11	S'opère en milieu anoxique à suboxique. Correspond à la réduction des nitrates en N_2 ou N_2O par des organismes organotrophes ou chimiotrophes comme les bactéries ou les archées.

En premier lieu, ce sont **les sources** d'azote qui influencent le $\delta^{15}\text{N}$ des plantes (Szapak, 2014). Ces sources sont principalement du NO_3^- et du NH_4^+ , mais aussi des acides aminés (Lipson et Näsholm, 2001). Par ailleurs, ces sources peuvent être des **produits de réactions** appauvris en ^{15}N ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$) ou des **produits résiduels** enrichis en ^{15}N ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$). Ce sont donc les processus de nitrification, volatilisation et de dénitrification qui contrôlent la composition isotopique de l'azote du NO_3^- et du NH_4^+ et par extension celle des plantes (e. g. Houlton *et al.*, 2007).

Le(s) mode(s) d'assimilation de l'azote peuvent également avoir un impact important sur la composition isotopique de l'azote des plantes. Le fractionnement isotopique lié à l'**assimilation directe** *via* les racines dans les sols est très variable, d'environ -20 à 0 ‰ (**Figure II.6** ; Robinson, 2001). Un fractionnement supplémentaire s'opère lorsque l'azote est assimilé par l'intermédiaire d'**associations mycorhiziennes**. Une compilation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de plus de 11 000 plantes a montré que les plantes mycorhiziennes du type MA, EM et ME (*cf.* **Chap. II. 3.** sont respectivement appauvris en ^{15}N à hauteur de -2 ‰, -3,2 ‰ et -5,9 ‰ par rapport aux plantes non mycorhiziennes (Craine *et al.*, 2009). Enfin, la **symbiose microbienne** permet aux légumineuses de fixer l'azote de l'atmosphère et induit des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ dans la plante proche de 0 ‰ (Aranibar *et al.*, 2004; Shridhar, 2012).

La profondeur d'assimilation de l'azote par les plantes peut également influencer sa composition isotopique. En effet, dans les sols, l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ avec la profondeur est un motif récurrent attribué à la discrimination du ^{15}N lors de la dégradation de la matière organique par les microorganismes, c'est-à-dire lors la minéralisation (**Figure II.6** ; Gebauer et Schulze, 1991; Andersson *et al.*, 2012; Andreeva *et al.*, 2013).

D'autres fractionnements, internes à la plante, peuvent influencer la composition isotopique de l'azote de la plante tels que : (i) la **zone d'allocation** de l'azote dans la plante (e. g. feuilles, bois, fruits) ou encore (ii) **l'âge et le stade de croissance** de la plante qui contrôlent les phénomènes de translocation *via* l'activité métabolique (Gebauer et Schulze, 1991; Szpak, 2014).

L'ensemble des facteurs discutés plus haut concernent l'individu, mais il existe également un réseau de **facteurs spatiaux et temporels** qui nous intéressent plus particulièrement pour les reconstructions paléoenvironnementales tels que (i) **les types d'associations mycorhiziennes** (Craine *et al.*, 2009; Hobbie et Högberg, 2012), (ii) **le climat** (e. g. Austin et Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004) et (iii) **la disponibilité des nutriments** (Fogel *et al.*, 2008), les trois étant intimement liés.

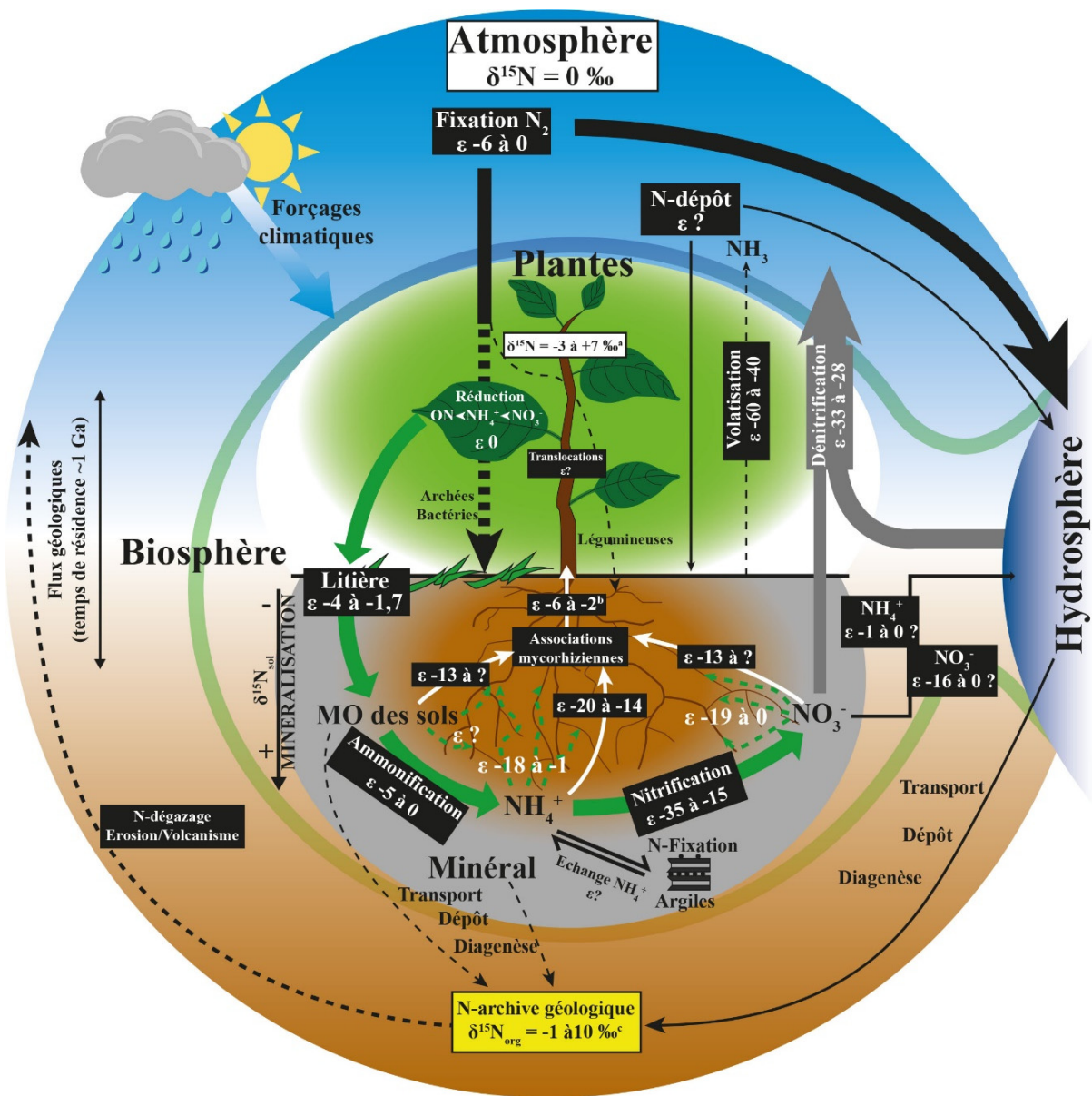


Figure II.6 : Figure I.4 rééditée avec les facteurs d'enrichissement (ε) impliqués dans les processus majeurs du cycle de l'azote du système plante/sol exprimé en ‰ d'après Handley *et al.* (1999) et Robinson (2001). Les valeurs typiques de δ¹⁵N des plantes et de la lithosphère sont également représentées. ^aValeurs compilées par Gerhart et McLauchlan (2014), ^bCraine *et al.* (2009) et ^cvaleurs de kérogènes du Dévonien au Tertiaire d'après Ader *et al.* (1998), Boudou *et al.* (2008), Storme *et al.* (2012), Rivera *et al.* (2015)

5. Influence du climat sur le $\delta^{15}\text{N}$

Plusieurs études ont mis en évidence des liens directs entre le climat et le $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols en **domaine continental**, alors que de tels liens n'ont pas pu être clairement démontrés dans le **domaine marin**. Ici, les raisons de cette différence entre le milieu marin et continental sont discutées sur la base d'exemples concrets.

5.1. En milieu marin

Le $\delta^{15}\text{N}$ a longtemps été utilisé dans les environnements marins pour retracer les **conditions d'oxydo-réduction** (occurrence de la dénitrification ou non) et/ou de la production primaire (Altabet *et al.*, 1995; Jenkyns *et al.*, 2001; Thunell et Kepple, 2004; Paris *et al.*, 2010). Ces approches ont ainsi permis de reconstruire les conditions climatiques de manière indirecte (**Tableau II.2**). Par exemple, Jenkyns *et al.* (2001) ont suggéré que l'augmentation de la production primaire à la base du Toarcien a eu pour conséquence une dénitrification massive des sédiments marins à la faveur de conditions dysoxiques/anoxiques. L'augmentation de la production primaire aurait résulté d'un réchauffement climatique engendrant une accélération du cycle de l'eau et donc un apport accru de nutriments vers les océans par lessivage des continents (Weissert et Mohr, 1996; Jenkyns *et al.*, 2001).

D'autres auteurs ont montré que les périodes de dénitrification intenses étaient reliées aux **cycles de Milankovitch** dans le Quaternaire où les valeurs maximales de $\delta^{15}\text{N}$ sont enregistrées durant les optimums climatiques (interstadias) et les minimales durant les maxima glaciaires (stadias) dans une gamme de 3 à > 14 ‰ (Altabet *et al.*, 1995; Pride *et al.*, 1999; Thunell et Kepple, 2004; Gibson *et al.*, 2015). Ces auteurs suggèrent que les excursions positives durant les optima climatiques seraient liées au développement d'une importante zone d'oxygénation minimum favorisant la dénitrification des nitrates et donc leur enrichissement en ^{15}N . De plus, la dénitrification délivre du N_2O dans l'atmosphère, qui est un gaz à effet de serre, et contribue au réchauffement climatique lors des interstadias (Altabet *et al.*, 1995; Thunell *et al.*, 2004; Ravishankara *et al.*, 2009).

Dans d'autres cas, le $\delta^{15}\text{N}$ n'a été relié à aucune variable climatique. C'est le cas lorsque, par exemple, les nitrates sont totalement consommés par la production primaire, en équilibre avec ses apports (Kienast, 2000). Par conséquent, la signature isotopique issue de la production primaire, incorporée dans les sédiments, est proche de celle des nitrates sources du

domaine marin moyen, c'est-à-dire $\sim +5$ à $+6$ ‰ (Wada *et al.*, 1975; Kienast, 2000). D'autres exemples sont brièvement décrits dans le **Tableau II.2**.

Pour conclure, le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments marins peut être dans certains cas un marqueur paléoclimatique indirect et dans d'autre ne refléter qu'un équilibre entre production primaire et consommation des nitrates. En outre, les différentes études ne sont pas homogènes quant au matériel utilisé. Certaines études prennent en compte le sédiment total (e. g. Altabet *et al.*, 1995; Kienast, 2000; Jenkyns *et al.*, 2001), d'autres s'intéressent à la matière organique seule, soit obtenu par traitement chimique (e. g. Paris *et al.*, 2010), soit déduite de l'absence d'azote inorganique et donc également mesuré sur le sédiment total (e. g. Pride *et al.*, 1999; Thunell et Kepple, 2004).

Tableau II.2 : Quelques études sur le $\delta^{15}\text{N}$ comme marqueur paléoclimatique en domaine marin et leurs principaux résultats. Le $\delta^{15}\text{N}$ peut retracer les conditions paléoclimatiques de manière indirecte. En jaune, une relation au minimum indirecte avec le climat. En rouge, pas de relation avec le climat.

Références	Domaine d'étude	Région étudiée	Période étudiée	Proxy utilisé	Principaux résultats
Gibson <i>et al.</i> (2015)	Paléoclim./Marin	Bassin Cariaco/Amérique du Sud	35-55 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$	- $\uparrow \delta^{15}\text{N}$ (moyenne à 5,1‰) durant stadiaires - $\downarrow \delta^{15}\text{N}$ durant interstadiiaires <i>via</i> \downarrow dénitrification et \uparrow N-fixation - Réponse rapide du $\delta^{15}\text{N}$ à l'échelle du millénaire
Rafter et Charles (2012)	Modélisation Clim./ Marin	Pacifique équatorial	<1,2 Ma	$\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$	- Forte relation entre utilisation des nitrates et insolation saisonnière sur le dernier million d'années
Paris <i>et al.</i> (2010)	Paléoclim./Marin	Doniford, Angleterre	Trias/Jurassique	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ Kérogène	- \uparrow Productivité et $\downarrow \delta^{15}\text{N}$ (tend vers ~0‰) - Contrôle orbital suggéré
Thunell et Kepple (2004)	Paléoclim./Marin	Golfe de Tehuantepec, Mexique	<23 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ Sédiments	- \downarrow Dénitrification ($\delta^{15}\text{N}$ 6,5 à 8,6 ‰) durant la dernière glaciation → Bonne oxygénation des eaux - \uparrow Dénitrification ($\delta^{15}\text{N}$ jusqu'à ~10 ‰) durant la déglaciation → Eaux stratifiées - Impacts sur le climat <i>via</i> émission de N_2O (Rétroaction positive)
Jenkyns <i>et al.</i> (2001)	Dynamique de l'azote/Marin	Sud, Ouest et Nord de l'Angleterre	Toarcien inférieur (~185 Ma)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$	- -2 ‰ < $\delta^{15}\text{N}$ < +3‰ - \uparrow Dénitrification au Toarcien inférieur (Excursions positive du $\delta^{15}\text{N}$) - Lié aux conditions climatiques et à \uparrow production primaire
Altabet <i>et al.</i> (1995)	Paléoclim./Marin	Mer d'Arabie	<430 000 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$	- $\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$ reflète le $\delta^{15}\text{N}$ des nitrates (nutriments), influencé par les processus de dénitrification reliés aux cycles de Milankovitch - Processus de dénitrification limités (faibles valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des nitrates) en période glaciaire
Pride <i>et al.</i> (1999)	Paléoclim./Marin	Golfe de Californie	<20 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sédiments	- $\uparrow \delta^{15}\text{N}$ (>14‰) durant déglaciations - $\downarrow \delta^{15}\text{N}$ durant glaciation <i>via</i> réduction de la dénitrification - $\delta^{15}\text{N}$ guidé par dénitrification et intensité upwellings
Kienast (2000)	Paléoclim./Marin	Mer de Chine méridionale	20-200 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{total}}$	- $\delta^{15}\text{N}$ pas corrélé avec les changements climatiques Quaternaire → Consommation totale des nitrates par la production primaire

5.2. En milieu continental

Les valeurs du $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) des sols varient de -7,8 ‰ à +22 ‰ et couvrent donc une gamme de l'ordre de 30 ‰ (Bret-Harte *et al.*, 2008; Craine *et al.*, 2015). La plus forte valeur a été répertoriée en Afrique du Sud, en bordure de côte (+22 ‰ ; Cramer, non publié ; dans Craine *et al.*, 2015). Pour les écosystèmes éloignés de la côte, la plus forte valeur est de +17,7 ‰ et a été collectée en Ethiopie en plaine aride (Terwilliger *et al.*, 2008), alors que la plus faible valeur provient d'un sol de toundra humide (-7,8 ‰ ; Bret-Harte *et al.*, 2008). Parmi l'ensemble des sols répertoriés, sans influence marine, **95 % des valeurs du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sont comprises entre -5,0 et +10,5 ‰** (Craine *et al.*, 2015).

5.2.1. Utilisation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique. Travaux fondateurs

Ce n'est que récemment que le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a été proposé comme marqueur paléoclimatique sur des sédiments continentaux pré-Quaternaires (Storme *et al.*, 2012). Alors qu'aucun lien avec le climat n'a été reconnu dans des plantes fossiles du Dévonien (Wan, 2012), Storme *et al.* (2012) ont mis en évidence, en mesurant le $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique totale ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$), des **cycles humide/sec** à la transition Paléocène-Eocène, en accord avec les données sédimentologiques de terrain. Cette étude est d'ailleurs le point de départ de cette thèse. Elle repose sur la mise en évidence de liens directs entre le $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols modernes, d'une part, et des paramètres climatiques (précipitation et température), d'autre part. **En effet, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols sont négativement corrélées avec les précipitations et positivement avec les températures à l'échelle globale** (Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003).

Les corrélations entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols et les paramètres climatiques (température et précipitation) ont été établies à l'**échelle globale** à partir de données intégrant des gradients de précipitation et de température dans des zones montagneuses (Amundson *et al.*, 2003). Ces auteurs ont extrait ces gradients pour former ce qu'ils ont appelé une « **climoséquence** », ou séquence climatique. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de cette séquence climatique, mesurées sur les plantes et les 50 premiers centimètres de sols, sont effectivement corrélées aux précipitations et aux températures avec un r^2 de 0,36 (Amundson *et al.*, 2003). Ces corrélations appliquées sur l'ensemble des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des sols répertoriés ont un r^2 de 0,16 (Amundson *et al.*, 2003; Hobbie et Högberg, 2012). Bien que la corrélation soit significative,

seulement 16% de la variance peuvent être expliqués par les variables climatiques (précipitation et température) à l'échelle globale. L'influence des associations mycorhiziennes, entraînant un fractionnement isotopique différent en fonction de leur type (Craine *et al.*, 2009), a été invoquée comme facteur pouvant expliquer une partie des 84 % de la variance restante (Hobbie et Högberg, 2012). Ainsi, ces auteurs ont nettement amélioré la corrélation entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ et les paramètres climatiques en rajoutant l'influence des associations mycorhiziennes (r^2 de 0,53 pour la climoséquence et de 0,27 pour l'ensemble des données). Un certain nombre d'études traitant du $\delta^{15}\text{N}$ en milieu continental et de ses liens éventuels avec le climat sont répertoriées dans le **Tableau II.3**.

A l'échelle régionale, souvent le long de gradients climatiques, de nombreuses études attestent de la corrélation négative entre les précipitations et les valeur de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols (Heaton, 1987; Austin et Vitousek, 1998; Aranibar *et al.*, 2004; Swap *et al.*, 2004; Liu et Wang, 2008; Terwilliger *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2012; Andersson *et al.*, 2012; Andreeva *et al.*, 2013). Par contre, dans les écosystèmes chauds et humides, l'interprétation du $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols semble plus complexe. Ainsi, Liu et Wang (2008) ont observé des valeurs plutôt faibles sous un régime de mousson entre -5,1‰ et +1,9‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et entre -1,2‰ et +5,8‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$ des sols. Ils ont conclu que la **température n'était pas corrélée aux valeurs de $\delta^{15}\text{N}$** . Au contraire, dans les milieux tropicaux, la valeur moyenne du $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols oscille autour de $+3,7 \pm 3,5$ ‰, soit 6,5 ‰ de plus qu'en milieux tempérés ($-2,8 \pm 3,5$ ‰ ; Martinelli *et al.*, 1999). Ces derniers auteurs ont obtenu une corrélation positive entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ et la concentration en azote des plantes, suggérant que l'azote n'est pas limitant dans les sites qui montrent les plus fortes valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ (*cf.* 6.). Ainsi, **la disponibilité de l'azote**, en tant que nutriment, semble être un facteur de contrôle supplémentaire des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ du système sol/plante.

Plus récemment, Houlton *et al.* (2007) ont illustré cette hypothèse grâce à l'analyse du $\delta^{15}\text{N}$ de différentes formes d'azote, notamment $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ et $\delta^{15}\text{N}\text{-NH}_4^+$, le long d'un gradient climatique en régime tropical. Ils ont suggéré que les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des sols et des plantes étaient contrôlées par **l'assimilation préférentielle de l'ammonium ou du nitrate** par ces dernières, en fonction de la disponibilité de l'une ou l'autre forme d'azote. Dans les sites moins humides (< 3 500 mm/an), les nitrates dominent, et leur dénitrification enrichit les sols en ^{15}N menant à des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes comprises entre -1 et +2 ‰ (Houlton *et al.*, 2007). A partir de 3 500 mm/an de précipitation par an, la dénitrification est probablement favorisée par la prépondérance de conditions anoxiques liées à l'importante quantité d'eau dans les sols. Ce processus mène à la consommation totale du nitrate du sol au fur et à mesure qu'il est produit

par les microorganismes nitrifiants. Cela empêche l'enrichissement en ^{15}N des sols et favorise l'utilisation de l'ammonium (appauvri en ^{15}N) par les plantes, menant à des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ jusqu'à -6 ‰ (Houlton *et al.*, 2007). **La relation entre $\delta^{15}\text{N}$ et précipitation et/ou température est donc extrêmement complexe en milieu tropical.**

5.2.2. Lacs et tourbières : lieux de préservation préférentielle de la matière organique

Dans le milieu continental, **les lacs et les tourbières** représentent les environnements les plus propices à la préservation de la matière organique (Baudin *et al.*, 2007). Ce sont donc ces milieux de sédimentation qui sont susceptibles d'enregistrer un signal environnemental ($\delta^{15}\text{N}$) acquis à l'interface sol/plante.

La plupart des études montrent que les liens entre $\delta^{15}\text{N}$ et paramètres climatiques sont plus forts dans les matières organiques terrestres issues des plantes que dans le sol total (Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Craine *et al.*, 2009; Hobbie et Högberg, 2012). Cela provient probablement de l'hétérogénéité des formes d'azote dans les sols (e. g. azote minéral et organique ; Houlton *et al.*, 2007). C'est pourquoi, Storme *et al.* (2012) se sont concentrés sur l'analyse du $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique totale. Ceci pose une première limite à cet outil : **le type de matière organique**. Les interprétations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ en terme climatique sont basées sur le système sol/plante, dominé par **une matière organique de terrestre**. Les reconstitutions paléoclimatiques doivent donc également être effectuées sur de la matière organique terrestre. Les tourbières présentent souvent ce type de matière organique qui se développe *in situ* et sont donc, *a priori*, des milieux propices à ce genre d'étude.

Par contre, les lacs diffèrent des tourbières par le type de matière organique produite. En effet, les **écosystèmes lacustres** profonds sont souvent dominés par la **production primaire algale** (Baudin *et al.*, 2007; Moss *et al.*, 2012). Dans ce cas, le $\delta^{15}\text{N}$ est contrôlé par des caractéristiques internes au lac : (i) la signature isotopique des nutriments (e. g. NO_3^-), (ii) les processus de nitrification-volatilisation-dénitrification liés aux conditions d'oxydo-réduction, ou encore (iii) l'intensité de la production primaire (e. g. Talbot et Johannessen, 1992; Teranes et Bernasconi, 2000; Janbu *et al.*, 2011).

Par ces aspects, l'environnement lacustre peut être analogue aux océans et peut donc répondre de manière indirecte au climat (e. g. Talbot et Johannessen, 1992; Fenaux, 2014). Par exemple, l'étude de dépôts lacustres d'âge Crétacé à Bernissart (Belgique) a montré que l'augmentation de la production primaire, favorisée par des apports de nutriments, se traduisait

par une augmentation concomitante des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ de ~ 0 ‰ à $\sim 2,5$ ‰ (Schnyder *et al.*, 2009; Fenaux, 2014). Pour que les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ des sédiments lacustres soient interprétables en termes de précipitation/température, la matière organique **allochtone** ou **autochtone** terrestre doit être prépondérante.

Dans le cas des **tourbières**, la matière organique est préférentiellement **autochtone** et généralement dominée par les plantes terrestres (Tyson, 1995). Par ailleurs, près de 95 % de l'azote est d'origine organique dans les tourbières (Andersson *et al.*, 2012). Une étude s'est penchée sur l'influence de la mise en place du permafrost sur le $\delta^{15}\text{N}$ des sols dans des tourbières (Andersson *et al.*, 2012). Les conditions plus sèches, suite à la mise en place du permafrost, ont eu pour conséquence l'augmentation du $\delta^{15}\text{N}$ des sols de ~ 4 ‰ (Andersson *et al.*, 2012). Ces auteurs ont conclu que l'aggradation du permafrost avait aéré la tourbière sous-jacente et amélioré la dénitrification causant un enrichissement en ^{15}N des nitrates restants. Toutefois, des conditions oxydiques paraissent incompatibles avec les processus de dénitrification et une autre interprétation est nécessaire. Elle fait appel à la notion d'**ouverture/fermeture** du cycle de l'azote et est discuté dans la partie qui suit.

Tableau II.3 : Utilisation du $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols comme marqueur climatique. En vert, les études qui montrent clairement un lien entre le climat et le $\delta^{15}\text{N}$. En rouge, les études qui ont échoué par rapport à cet aspect. En jaune, une situation intermédiaire. MAP, Mean Annual Precipitation. MAT, Mean Annual Temperatures.

Références	Type/Domaine d'étude	Région étudiée	Période étudiée	Proxy utilisé	Principaux résultats
Andreeva <i>et al.</i> (2013)	Biogéochimie/Paléoclimatologie/ Sols	Nord Mongolie	<40 ka	$\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$	- $\uparrow \delta^{15}\text{N}$ et $\uparrow \delta^{13}\text{C}$ avec la profondeur du sol (Zone organique \rightarrow Zone minérale) - $\downarrow \delta^{15}\text{N}$ diminue avec \uparrow altitude \rightarrow cycle fermé
Andersson <i>et al.</i> (2012)	Paléoenvironnement/ Tourbière	Russie Est	<10 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{sols}}$ entre autres	- $\uparrow \delta^{15}\text{N}$ avec la mise en place du permafrost (conditions plus sèches) $\rightarrow \uparrow$ minéralisation <i>via</i> nitrification
Hobbie et Högberg (2012)	Review Paléoclim./ plantes, associations mycorhiziennes	Global	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sols}}$	- Reprends les données d'Amundson <i>et al.</i> (2003) en ajoutant les types d'associations mycorhiziennes en variable. $r^2 = 0.36 \rightarrow 0.52$ pour la climoséquence. - MAP et associations mycorhiziennes : principaux facteurs expliquant la variance
Ma <i>et al.</i> (2012)	Gradient Clim./ Plantes et sols	Chine Nord	Présent	$\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$	- Corrélation négative entre $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$ des plantes C_3 et C_4 et les MAP. - Pas de différences significatives entre les espèces - Pas de corrélation entre $\delta^{15}\text{N}$ des sols et MAP.
Craine <i>et al.</i> (2009)	Compilation Climatique/ Feuillages	Global	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{feuilles}}$	- Plantes associées à des mycorhizes arbusculaires, ectomycorhizes et mycorhizes ericoïdes systématiquement appauvris en ^{15}N de 2%, 3,2% et 5,9%, par rapport aux plantes sans mycorhizes - Corrélation négative entre $\delta^{15}\text{N}$ et MAP et positive avec MAT.
Liu et Wang (2008)	Gradient Clim./ Racines et sols	Nord-Ouest Chine, Plateau de Loess	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{racine}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sols}}$	- $-5,1\% < \delta^{15}\text{N}_{\text{racine}} < +1,9\%$; $-1,2\% < \delta^{15}\text{N}_{\text{sols}} < +5,8\%$ - $\delta^{15}\text{N}$ des plantes/sols négativement corrélé avec les MAP. MAP facteur dominant par rapport aux MAT
Terwilliger <i>et al.</i> (2008)	Environnement/ Sols	Afrique de l'Est	Présent	$\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$	- Corrélation négative avec MAP et positive avec MAT
Houlton <i>et al.</i> (2007)	Environnement/ Sols et plantes	Hawaii	Présent	$\delta^{15}\text{N}$	- Changement de source d'azote des plantes de manière brutale à ~ 3500 mm de précipitation enregistré par le $\delta^{15}\text{N}$ - < 3500 mm \rightarrow Nitrates enrichis en ^{15}N - > 3500 mm \rightarrow Ammonium appauvri en ^{15}N , absence des nitrates
(Swap <i>et al.</i> , 2004)	Gradient Clim./ Plantes	Afrique du Sud	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{feuille}}$	- Corrélation négative avec MAP pour les plantes en C_3 . Pas pour les plantes en C_4 . - Disponibilité des nutriments inversement proportionnelle à la disponibilité en eau \rightarrow Ouverture du cycle de l'azote dans un environnement limité en eau $\rightarrow \uparrow \delta^{15}\text{N}$ du système plante/sol
Aranibar <i>et al.</i> (2004)	Gradient Clim./ Plantes et sols	Kalahari	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sols}}$	- $\uparrow \delta^{15}\text{N}$ plantes/sols les zones arides par rapport aux humides - $\uparrow \text{NO}$ en fonction de la température
Amundson <i>et al.</i> , 2003	Compilation Climatique/ Plantes et sols	Global	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sols}}$	- Corrélation négative avec le $\delta^{15}\text{N}$ et les MAP et positive avec MAT. $r^2 = 0.36$ pour la séquence climatique (voir texte)

Chapitre II : L'azote, du cycle global actuel à l'archive géologique. Attentes de l'outil isotopique

					- Création d'une carte globale avec des valeurs prédictives de $\delta^{15}\text{N}$ en fonction des précipitations et des températures
Bassirad <i>et al.</i> (2003)	Exp. Terrain/ Plantes et sols	Etats-Unis	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{feuille}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sol}}$	- Corrélation négative avec le $\delta^{15}\text{N}$ et la $p\text{CO}_2$ indépendamment des espèces de plantes et du $\delta^{15}\text{N}$ du sol
Austin et Vitousek (1998)	Gradient Clim./ Plantes et sols	Hawai	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sol}}$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{feuille}}$	- $\delta^{15}\text{N}$ des plantes/sols, $\delta^{13}\text{C}$ des feuilles, NO_3^- , PO_4^- , Ca, Mg et K négativement corrélés avec MAP
Heaton (1987)	Environnement/ Plantes	Afrique du Sud/Namibie	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$	- $-1\text{‰} < \delta^{15}\text{N}_{\text{plante}} < +6\text{‰}$ - Pas de différence significative entre plantes C_3 et C_4 - Corrélation positive entre $\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$ et aridité
Sun <i>et al.</i> (in press)	Paléoclim./ Domaine lacustre	Japon Nord	<400 a	$\delta^{15}\text{N}_{\text{sédiments}}$	- $\delta^{15}\text{N}$ utilisé comme marqueur de précipitation - Mais la pollution des eaux et la dénitrification semblerait mieux expliquer les tendances du $\delta^{15}\text{N}$
Storme <i>et al.</i> (2012)	Paléoclim./ Domaine continental	Vasterival, Normandie (France)	Paléocène-Eocène	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$	- Cycles humides/secs mis en évidence à la transition Paleocène-Eocène, en accord avec les données sédimentologiques. - Signaux en contradiction avec le δD des n -alcanes. → Intégration spatiale et temporelle \neq entre les deux signaux (Garel <i>et al.</i> , 2013) ?
Martinelli <i>et al.</i> (1999)	Comparaison forêts tropicales et tempérées/ Plantes et sols	Global	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sol}}$	- Les forêts tropicales ont un $\delta^{15}\text{N}$ significativement plus élevé que les forêts tempérées (+6 ‰) - $\uparrow \delta^{15}\text{N}$ dans les sites où l'azote est en excès avec forts entrées/sorties (cycle ouvert) - Beaucoup de forêts tropicales fonctionnent en cycle ouvert avec de l'azote non limitant (cf. §5.2)
Handley <i>et al.</i> (1999)	Compilation / Plantes et sols	Global	Présent	$\delta^{15}\text{N}_{\text{feuille}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{sol}}$	- A l'échelle globale, $\delta^{15}\text{N}_{\text{feuilles}}$ mieux corrélé aux MAP que le $\delta^{15}\text{N}_{\text{sol}}$ - A l'échelle d'un paysage, absence de corrélation négative entre $\delta^{15}\text{N}_{\text{sol}}$ / $\delta^{15}\text{N}_{\text{plante}}$ et les MAP (les plus fortes valeurs sont dans les points les plus humides des sites relativement plus secs → \uparrow dénitrification ?)
Talbot et Johannessen (1992)	Paléoclim./ Domaine lacustre	Afrique de l'Ouest tropicale (Ghana)	<27 500 ka	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$	- $\delta^{15}\text{N}$ très variable de ~ 0 à 20‰ avec les plus fortes valeurs aux périodes sèches - Volatilisation de l'ammoniaque invoquée
Fenaux (2014)	Paléoclim./ Domaine lacustre	Bernissart, Belgique	Barrémien/Aptien	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$	- $\uparrow \delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ avec \uparrow productivité du lac
Kranabetter <i>et al.</i> (2012)	Paléoclim./ Bois et cernes de bois	Canada Ouest	Présent-100 ans	$\delta^{15}\text{N}_{\text{bois}}$	- Validation du $\delta^{15}\text{N}$ du bois come traceur de la disponibilité en azote du sol. - Pas de corrélations entre le $\delta^{15}\text{N}$ du bois (cernes) et les MAT ou MAP. - Biais méthodologiques ? Variation des sources d'azote ? Translocation ?
Wan (2012)	Paléoclim./ plantes fossiles	Chine, Allemagne, Groenland, etc.	Dévonien	$\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$	-Pas de tendances séculaires au cours du Dévonien dans le $\delta^{15}\text{N}$, au contraire du $\delta^{13}\text{C}$ -Pas de potentiel climatique du $\delta^{15}\text{N}$ ou trop affecté par la diagenèse d'enfouissement
Janbu <i>et al.</i> (2011)	Paléoclim./ Domaine lacustre	Norvège Arctique	<15 ka	$\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, susceptibilité magnétique	- $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$ peu reliés au climat → Méthanogenèse et couverture de glace saisonnière - MO principalement composée de matériel <i>in situ</i> (algo-bactérien)

6. Modèles climatiques conceptuels

Bien qu'il soit impossible d'évaluer l'incidence de chaque processus sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dans le passé, il est raisonnable de penser que derrière quasiment chaque processus, un lien direct ou indirect peut être établi avec le climat ou plus généralement l'environnement puisqu'il agit sur la biosphère tout entière (**Figure II.4** et **Figure II.6**). A partir des quelques exemples décrits dans la partie précédente, il apparaît que la disponibilité en eau et en nutriment sont les facteurs principaux contrôlant le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ **via l'ouverture relative du cycle de l'azote** au sein du système plante/sol (Austin et Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Martinelli *et al.*, 1999; Aranibar *et al.*, 2004 ; Swap *et al.*, 2004; Liu et Wang, 2008; Ma *et al.*, 2012). Ces différents auteurs ont proposé et affiné au fil du temps les mécanismes responsables d'enrichissement et d'appauvrissement en ^{15}N du système pour expliquer les tendances climatiques observées dans le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. On peut extraire de leurs recherches les principes suivants, modélisés dans les **Figure II.7** **Figure II.8** (modèles affinés de Storme *et al.* 2012) :

En milieu humide (Figure II.7 A), la végétation n'est pas limitée par la disponibilité en eau, mais elle l'est par la disponibilité des nutriments dont l'azote. Dans un système à l'équilibre, la matière organique (MO) vivante et morte concentre la majeure partie de l'azote du système où le réservoir minéral – source d'azote facilement assimilable par les plantes – est très limité (Handley *et al.*, 1999). L'azote de la MO morte est réassimilé rapidement par les organismes vivants, soit directement (Lipson et Näsholm, 2001), soit à la suite de sa minéralisation par des processus microbiens. On parle alors de **recyclage de l'azote** entre les organismes morts et les organismes vivants au sein d'un **cycle fermé**, c'est-à-dire avec des pertes d'azote très limitées. Le recyclage de l'azote conduit à un appauvrissement en ^{15}N du système (faible $\delta^{15}\text{N}$). Bien que l'origine de cet appauvrissement soit mal connue, le lessivage des produits organiques dégradés (enrichis en ^{15}N) sous forme dissoute a été suggéré (Handley *et al.*, 1999). Parallèlement, le lessivage des nitrates (potentiellement appauvris en ^{15}N) est limité par la faible taille du réservoir minéral. En outre, ce dernier subit un renouvellement rapide de son azote par la succession des processus de minéralisation-assimilation-MO morte-reminéralisation. Ainsi, le temps de résidence de l'azote dans le réservoir minéral et la faible taille de ce réservoir, ne permettent pas un enrichissement en ^{15}N important par des processus de dégazage. Les pertes en azote sont donc limitées et l'azote est dit immobilisé, c'est pourquoi on parle d'un cycle de l'azote fermé avec recyclage interne de l'azote organique (Austin et Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Swap *et al.*, 2004; Liu et Wang, 2008; Ma *et al.*, 2012).

En milieu aride/semi-aride (Figure II.7 B), la faible disponibilité en eau est un facteur limitant pour les plantes. Le couvert végétal ainsi que l'activité microbienne des sols diminue, ce qui ralentit drastiquement le recyclage de l'azote et par conséquent augmente la proportion d'azote qui est minéralisé (Handley *et al.*, 1999; Swap *et al.*, 2004). Le réservoir minéral croît et son renouvellement ralentit, l'exposant à d'importantes pertes d'azote par dégazage de produits appauvris en ^{15}N (e. g. volatilisation de l'ammonium ; Talbot et Johannessen, 1992). Il y a donc perte d'azote. On parle ici d'**ouverture du cycle de l'azote**. Aranibar *et al.* (2004) ont par ailleurs montré que les émissions de NO étaient maximales avec des températures élevées (30-40°C) et une humidité des sols faibles (10-23%) ; ce qui contribue à l'enrichissement des sols en ^{15}N et donc à une hausse du $\delta^{15}\text{N}$ du système. Les plantes ont alors à disposition un réservoir d'azote inorganique en excès avec une signature isotopique élevée.

Pour conclure, l'ouverture du cycle de l'azote au sein d'un écosystème se définit par « l'importance relative du recyclage interne de l'azote par l'écosystème *versus* l'importance relative des entrées/sorties d'azote dans l'écosystème » (Handley *et al.*, 1999).

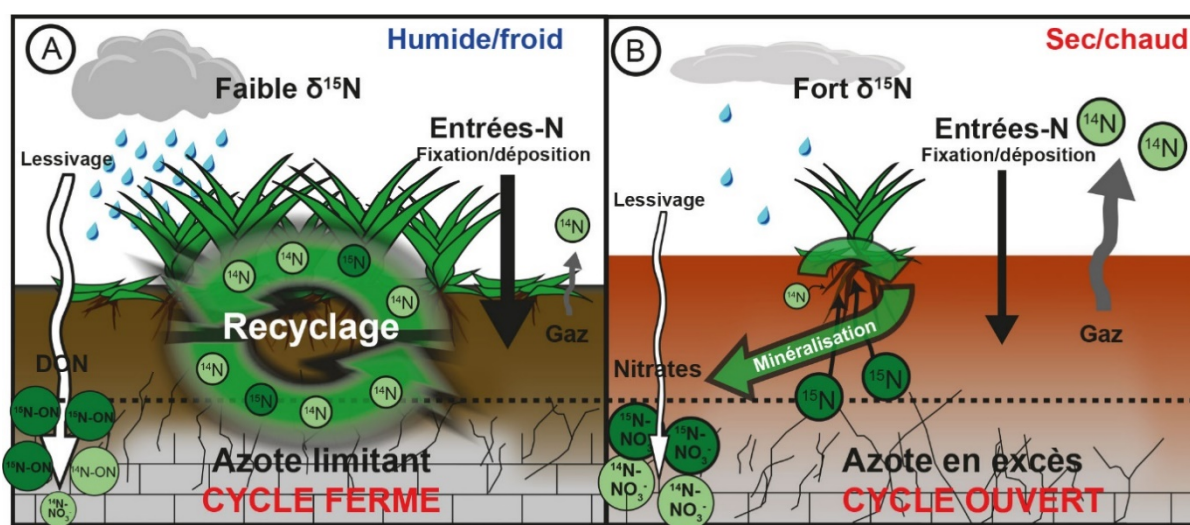


Figure II.7 : Modèle amélioré des effets de (A) l'humidité et de (B) l'aridité sur le $\delta^{15}\text{N}$ du système plantes/sol d'après Storme *et al.* (2012). Dans ce modèle, (A) c'est le recyclage rapide de l'azote et le lessivage de l'azote organique qui est principalement responsable des faibles valeurs de $\delta^{15}\text{N}$. Inversement, (B) le faible recyclage de l'azote entraîne une hausse des valeurs du $\delta^{15}\text{N}$ par dégazage de l'azote du réservoir minéral. DON : Dissolved Organic Nitrogen (Azote Organique Dissous).

Des données acquises en Afrique du Sud montrent clairement l'influence de l'aridité sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, par l'accumulation d'azote dans le système (Swap *et al.*, 2004). Les réservoirs sont alors soumis aux **processus microbiens** à deux niveaux : (i) une activité constante et lente pendant une longue période d'aridité (cycle ouvert, enrichissement en ^{15}N)

et (ii) une activité intense et rapide pendant une courte saison des pluies (cycle fermé, appauvrissement en ^{15}N), qui ne suffit pas à recycler l'ensemble de l'azote accumulé durant la saison sèche et donc à contrebalancer l'enrichissement accumulé en ^{15}N du système (Swap *et al.*, 2004).

Par ailleurs, l'interprétation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ se complique dans les **environnements tropicaux**, certes humides, mais très riches en azote, avec des entrées/sorties très supérieures à la capacité de recyclage interne de l'écosystème (Martinelli *et al.*, 1999). Les pertes en azote sont donc importantes. L'écosystème fonctionne alors en cycle ouvert et les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ du système augmentent, d'où des valeurs plus élevées en moyenne de 6,5 ‰ dans les forêts tropicales, comparées aux forêts tempérées (**Figure II.8** ; Martinelli *et al.*, 1999). Les travaux d'Houlton *et al.* (2007) à Hawaï confirment ce raisonnement avec une augmentation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ qui est fonction de la baisse de la concentration en nitrate dans les sols. Plus leur concentration diminue, par dénitrification, plus leur signature isotopique augmente. En revanche, ces auteurs ont suggéré une limite (> 3 500 mm de précipitation) au-delà de laquelle les nitrates sont totalement dénitrifiés, ce qui inhibe l'enrichissement en ^{15}N des sols (Houlton *et al.*, 2007). Les pertes excédant les apports, l'azote devient limitant et le système s'appauvrit en ^{15}N en consommant de l'ammonium (appauvri par nitrification) en cycle fermé.

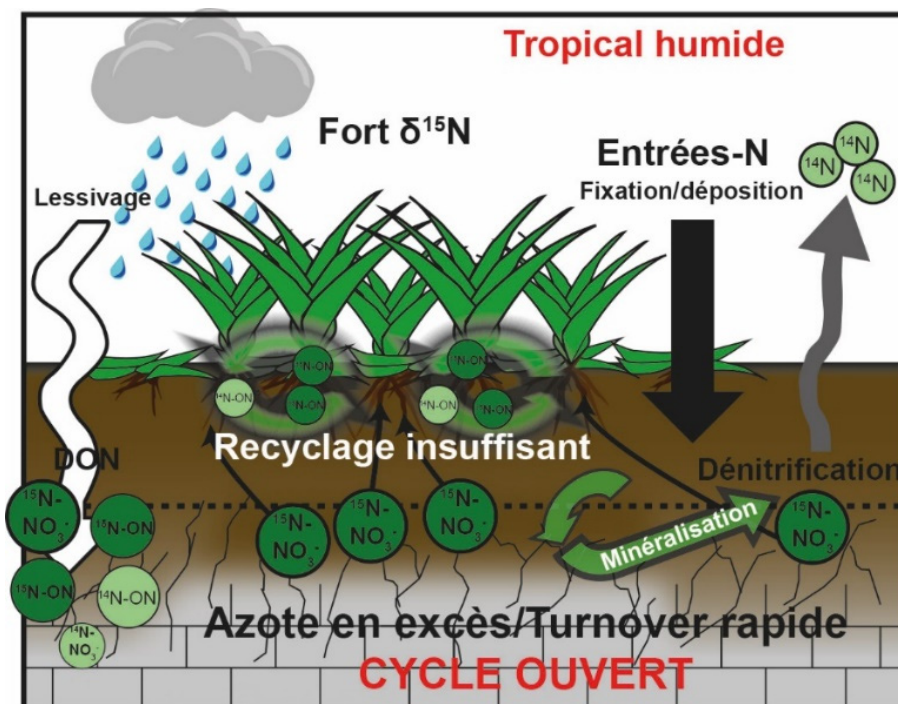


Figure II.8 : Modèle montrant l'influence de l'ouverture du cycle de l'azote causé par l'excès d'apport et de perte d'azote sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$. L'azote, non limitant, est rapidement minéralisé et dénitrifié. Le réservoir minéral s'accroît et s'enrichit en ^{15}N par dénitrification. Le recyclage interne de l'azote et le lessivage ne suffisent pas à contrebalancer l'enrichissement du système.

Bien que les mécanismes d'enrichissement ou d'appauvrissement en ^{15}N des écosystèmes terrestres ne soient pas encore très bien compris (Handley *et al.*, 1999; Craine *et al.*, 2015), les nombreuses études sur le sujet tendent à montrer que **la disponibilité en eau, en azote et dans une moindre mesure la température**, sont les principaux facteurs influençant le $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols. Surimposé à ces facteurs, certains auteurs ont proposé que les associations mycorrhiziennes, dépendantes des conditions climatiques, expliquaient également une part importante de la variance des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols (Craine *et al.*, 2009; Hobbie et Högberg, 2012).

Les questions essentielles qui se posent maintenant pour utiliser le $\delta^{15}\text{N}$ des matières organiques terrestres comme marqueur paléoclimatique sont : (i) l'origine de l'azote organique sédimentaire et (ii) l'influence de la diagenèse (précoce et/ou tardive) sur le signal isotopique primaire.

7. Origine de l'azote organique sédimentaire

7.1. Le milieu aquatique

Les principaux producteurs de matière organique et donc d'azote organique dans les lacs et les océans sont les cyanobactéries, les algues vertes, les diatomées et les dinoflagellés (Knicker, 2004). La faible proportion de composés non azotés, est à l'origine de leur très faible rapport C/N (6-8), diagnostique de l'influence des algues dans les sédiments marins et lacustre (Meyers, 1997). Ces organismes contiennent (en masse) entre 24 % et 50 % de **protéines**, jusqu'à 40 % de carbohydrates (sucres) et 2 % à 10 % de lipides (Tissot et Welte, 1984). Les bactéries et le zooplancton sont également des sources importantes d'azote organique. On peut en effet compter jusqu'à 10^8 - 10^{10} cellules bactériennes dans un 1 g de sédiment sec, équivalent à ce que l'on peut trouver dans les sols, bien que leur nombre diminue d'un ordre de grandeur dans les 10 premiers centimètres de dépôt (Deming et Baross, 1993; Gobat *et al.*, 2010). De plus, les copépodes constituent la plus grande part du zooplancton dans la plupart des milieux aquatiques et sont composé à 71-77 % de **protéines**, de 5 % à 19 % de lipides et de 0-4 % de carbohydrates (Deming et Baross, 1993). Enfin, les pollens, les spores et autres éléments issus des végétaux supérieurs peuvent contribuer à l'apport de matière organique dans le domaine aquatique en tant que source organique allochtone. La combinaison de leur rapport C/N (>20)

et de leur composition isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ de -30 à -25 ‰) est d'ailleurs un très bon indicateur de leur présence dans les sédiments (Meyers, 1997).

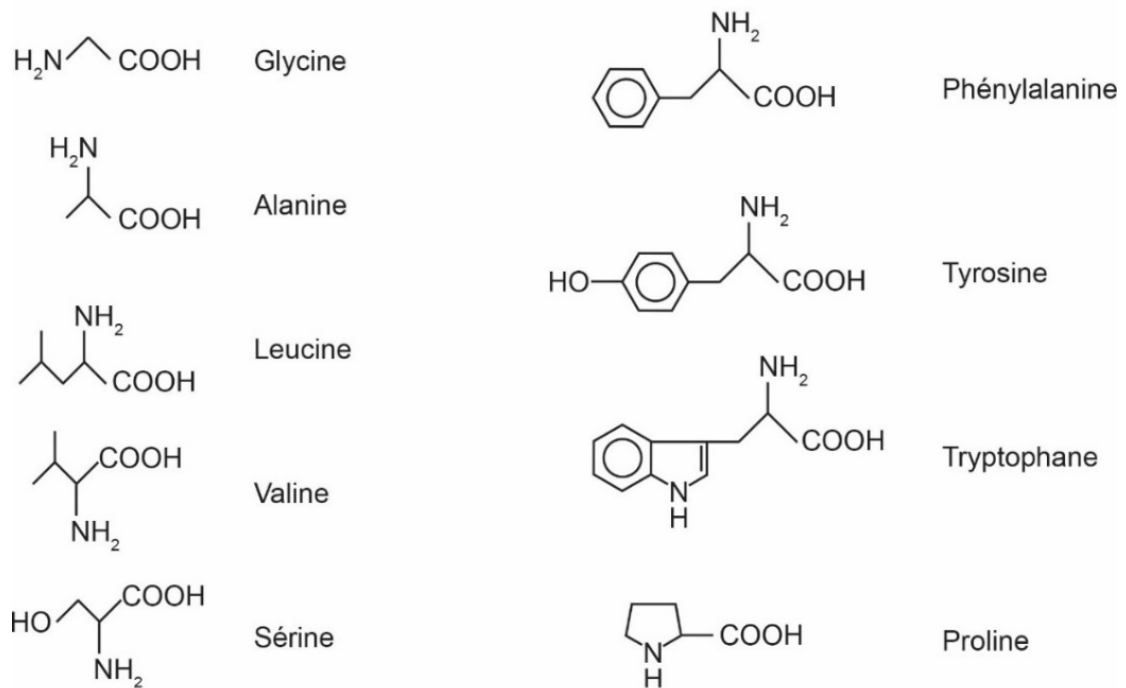
La production organique des lacs n'est pas forcément dominée par la production primaire. C'est le cas des lacs à faible tranche d'eau qui représentent la plus grande partie des lacs à travers la planète et sont mêmes souvent plus productifs que les lacs profonds (Moss *et al.*, 2012). Ces lacs sont, en général, caractérisés par la prédominance de **macrophytes** enracinées dans les sédiments d'où elles tirent tout ou partie de leurs nutriments (Moss *et al.*, 2012). Les macrophytes lacustres sont composées de 66-77 % de carbohydrates, de 4-22 % de protéines et de <2 % de lipides (Boyd, 1970; Schneider et Rubio, 1999). Par conséquent, elles possèdent le plus souvent un rapport C/N comparable à celui des plantes terrestres (>20 ; Tyson, 1995).

7.2. Le milieu terrestre

Les sols et les tourbières constituent les écosystèmes terrestres à plus forte accumulation de matière organique (excepté les lacs discutés plus haut). Dans ces écosystèmes, une grande majorité des composés organiques provient de la dégradation des tissus végétaux, apportés aux sols par la litière et les racines (Knicker, 2004). Les plantes vasculaires contiennent en moyenne de 15 % à 60 % de cellulose, entre 10 % et 30 % d'hémicellulose, et de 5 % à 30 % de lignine, principaux composants de leurs parois cellulaires (Haider, 1991; Kögel-Knabner, 2002). Les plantes vasculaires contiennent également des lipides, des résines, des tanins ou encore des pigments (Kögel-Knabner, 2002). Ces macromolécules sont composées très majoritairement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et contribuent donc peu à l'apport d'azote organique dans les sols (Kögel-Knabner, 2002). C'est la raison pour laquelle le rapport C/N des plantes vasculaires est >20 (Meyers, 1997).

Seulement 2 % à 15 % de la masse des plantes est associée à des molécules contenant de l'azote comme les acides aminés (**Figure II.9**), les sucres aminés (**Figure II.10 A**), les structures pyrimidiques et puriques des acides nucléiques (**Figure II.11**) ou les structures porphyriques qui constituent la *chlorophylle* (**Figure II.12** ; Tissot et Welte, 1984; Haider, 1991). L'ensemble de ces structures sont les plus à même d'être pourvoyeuses d'azote dans les environnements dominés par des débris de végétaux vasculaires, comme les tourbières ou les lacs peu profonds (Tissot et Welte, 1984; Moss *et al.*, 2012).

Acides aminés neutres



Acides aminés acides



Acides aminés basiques

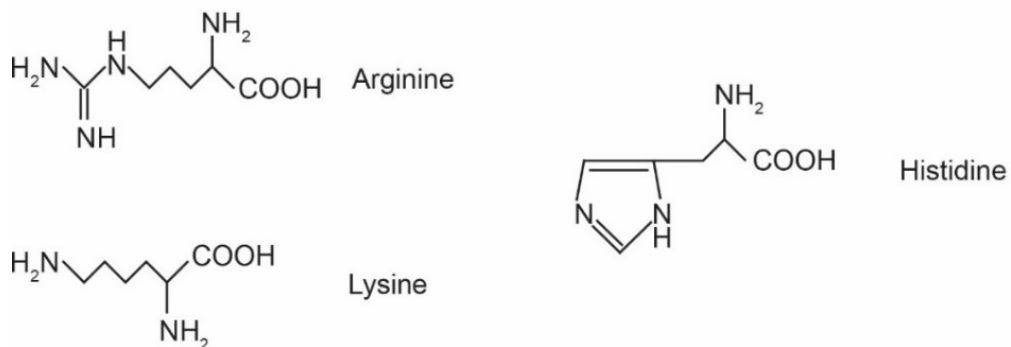


Figure II.9 : Structure chimique de quelques acides aminés naturels (modifié d'après Knicker, 2004)

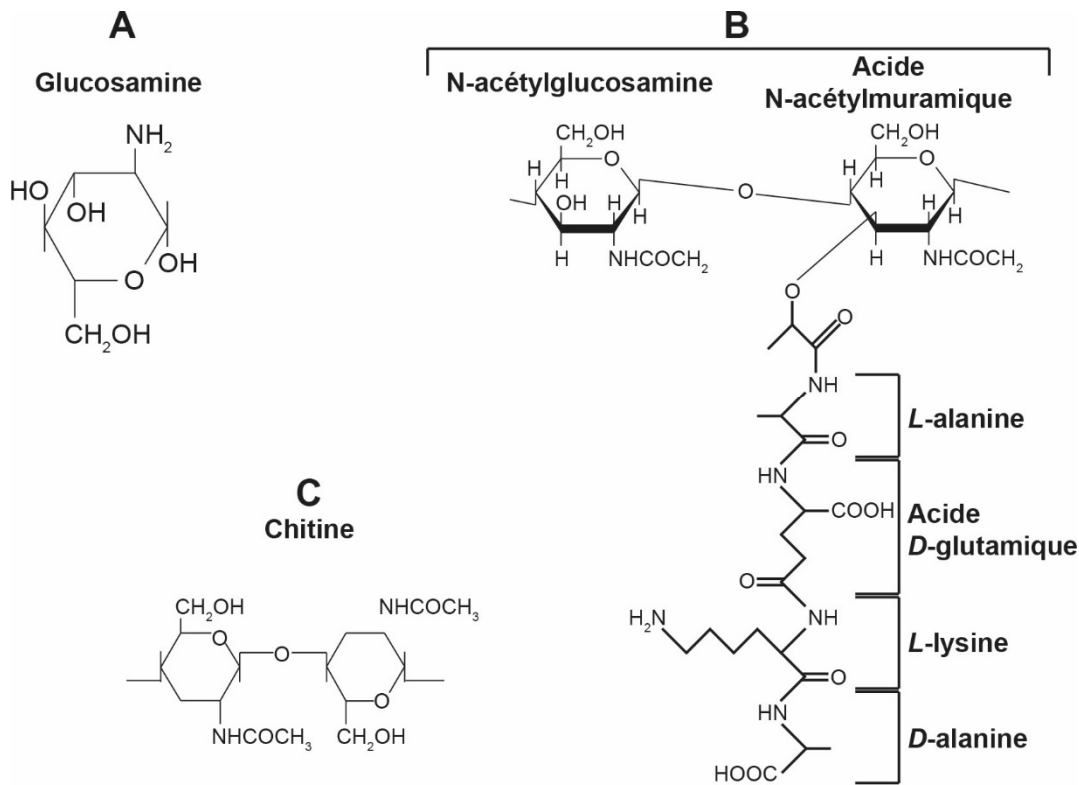


Figure II.10 : Structure chimique du (A) glucosamine que l'on retrouve dans les unités redondantes du (B) peptidoglycane et dans la (C) chitine (modifié d'après Knicker, 2004).

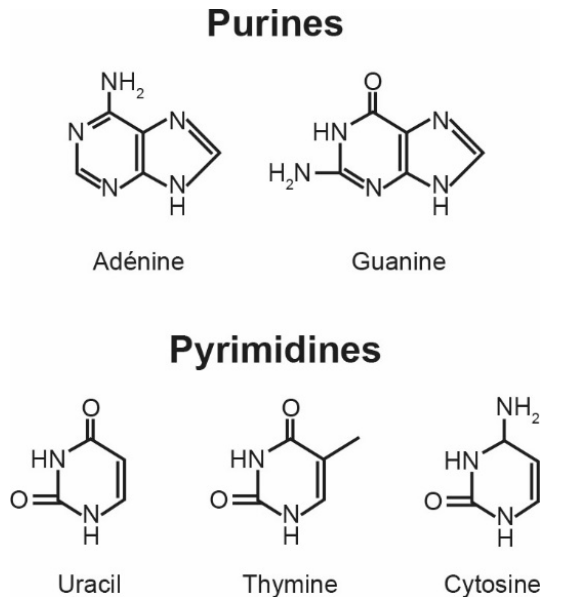


Figure II.11 : Structure chimique des purines et des pyrimidines contenus dans les acides nucléiques (modifié d'après Knicker, 2004).

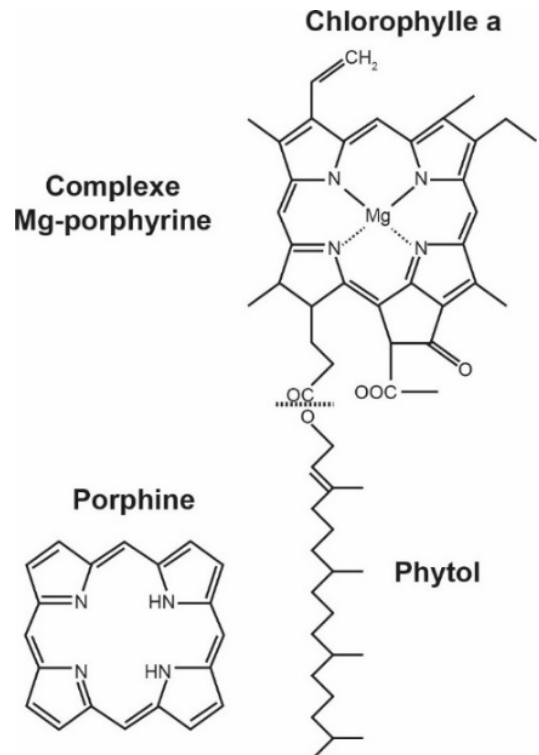


Figure II.12 : Unité de base des porphyrines (porphine) et structure chimique de la chlorophylle a (modifié d'après Knicker, 2004).

Dans les sols, les racines représentent la biomasse la plus importante avec ~6000 kg/ha sur une profondeur de 20 cm de sol (Gobat *et al.*, 2010). La proportion d'azote dans les racines est de l'ordre de 1 % (McClaugherty *et al.*, 1982). La **biomasse microbienne**, qui regroupe les champignons et les bactéries, est la seconde source d'azote dans les sols. **Les champignons** représentent ~60% de la biomasse microbienne totale des sols avec ~3500 kg/ha (Knicker, 2004; Gobat *et al.*, 2010). Ils contiennent 14-52 % de composés azotés, 1-42 % de lipides et 8-60 % de carbohydrates (Swift *et al.*, 1979). Le principal composé azoté est la **chitine** : un polysaccharide qui compose les parois cellulaires des champignons (**Figure II.10 C** ; Swift *et al.*, 1979; Gobat *et al.*, 2010). Ces parois cellulaires peuvent représenter 2-15 % de la biomasse des champignons (Swift *et al.*, 1979). Dans certains d'entre eux, de la mélanine, un pigment noir, a été répertoriée, mais sa structure exacte fait débat et serait un assemblage complexe de polysaccharides, protéines, lipides, dérivés d'acides nucléiques et autres composés aromatiques (Knicker, 2004). Ce polymère est d'importance car suspecté de promouvoir les conditions de préservation de la matière organique en apportant une protection enzymatique contre la dégradation microbienne et les radiations solaires (Knicker, 2004).

La **biomasse bactérienne** est composée de 14 % d'azote, la plupart sous forme de protéines, peptides et acides aminés, avec comme conséquence un rapport C/N faible de 5 à 8 (Knicker, 2004; Gobat *et al.*, 2010). Les peptides, sont des polymères d'acides aminés combinés à des groupements carbonyles. Par perte d'eau, ils peuvent former des amides dont sont composées les protéines (**Figure II.13**). Le matériel protéique, terme utilisé par la suite, fait référence à l'une ou plusieurs de ces structures. Les polysaccharides des bactéries sont intégrés dans une membrane lipidique et jouent le rôle de colonne vertébrale en sucres aminés de la structure du peptidoglycane (muréine) liée par réticulation des chaînes peptidiques (**Figure II.10 B** ; Knicker, 2004). Les proportions d'azote dans les différentes molécules citées plus haut sont répertoriées dans le **Tableau II.4**.

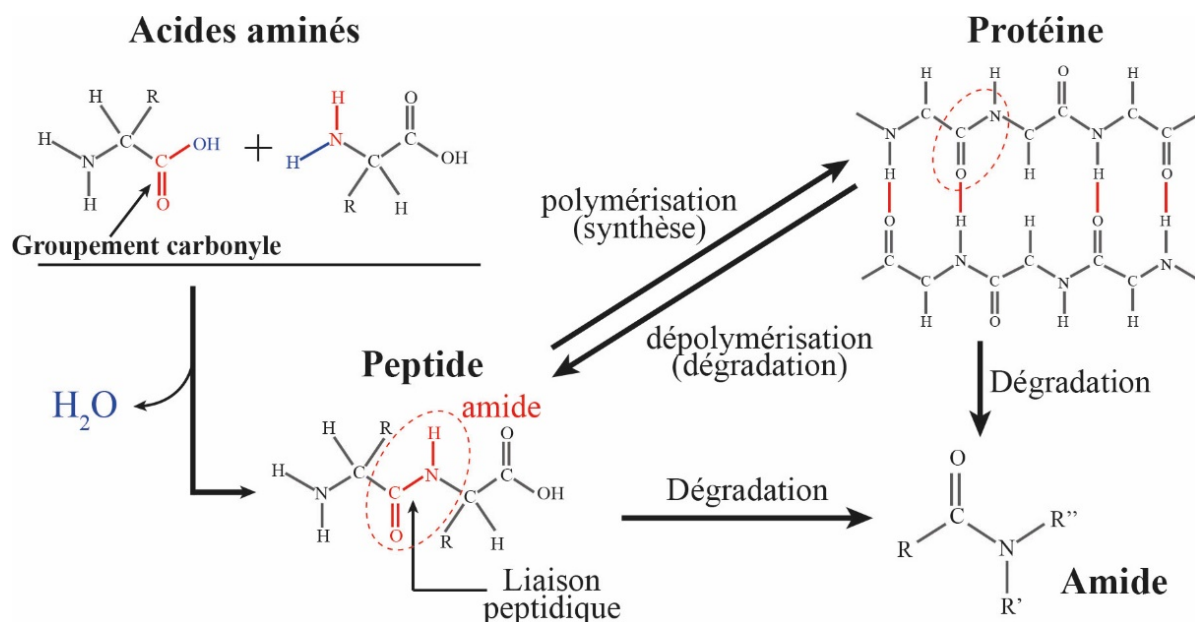


Figure II.13 : Relations entre acides aminés, peptides et protéines.

Tableau II.4 : Molécules organiques azotées avec leur proportion d'azote ainsi que leurs contributeurs principaux, compilées d'après Chibnall *et al.* (1943), Miller et Houghton (1945), Peters *et al.* (2005), Gobat *et al.* (2010) et les formules chimiques des différentes structures.

Composés azotée	Proportion d'azote (%)	Occurrences principales	Formule chimique
Protéines	16	Ubiquiste	Variable
Acides aminés	8-26	Protéines	Variable
Glucosamine	8	Polysaccharides	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5$
Chitine	7	Champignons, insectes	$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5$
Peptidoglycane	10	Bactéries	Masse Mol. Tot. =986 ; Masse Mol. N =98
Purines	46-52	Acides nucléiques (ADN/ARN)	Guanine : $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$ Adénine : $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5$
Pyrimidines	22-38	Acides nucléiques (ADN/ARN)	Uracile : $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$ Thymine : $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$ Cytosine : $\text{C}_4\text{H}_5\text{N}_3\text{O}$
Porphine	18	<i>Chlorophylle</i>	$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4$
<i>Chlorophylle a</i>	6	Tout organisme photosynthétique	$\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$
<i>Chlorophylle b</i>	6	Plantes vertes, algues vertes	$\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$
<i>Chlorophylle c₁</i>	9	Algues brunes	$\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$
<i>Chlorophylle c₂</i>	9	Algues brunes	$\text{C}_{35}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$
<i>Chlorophylle d</i>	6	cyanobactéries	$\text{C}_{54}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$
<i>Chlorophylle f</i>	6	cyanobactéries	$\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$

8. Evolution des composés azotés organiques sédimentaires

Bien que la composition chimique de la matière organique soit assez aisée à analyser dans sa globalité (i. e. analyses élémentaires), sa caractérisation à l'échelle moléculaire reste difficile du fait de sa diversité et de son hétérogénéité (Derenne et Nguyen Tu, 2014). Cette problématique concerne à la fois le carbone et l'azote organique. Cependant, l'analyse par spectroscopie XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy), Résonance Magnétique Nucléaire sur l'azote 15 (RMN- ^{15}N), ou par pyrolyse couplée à la spectrométrie de masse, apporte des informations sur les formes d'azote contenues dans la matière organique (Almendros *et al.*, 1991; Pels *et al.*, 1995; Knicker, 2004; Kelemen *et al.*, 2006; Templier *et al.*, 2012). Les différentes structures contenant l'azote ainsi que leur évolution au cours de la diagenèse sont discutées dans cette partie. Une attention particulière est portée sur les modes de préservation de l'azote organique car c'est ce dernier qui nous intéresse pour les reconstructions paléoenvironnementales.

8.1. Stabilisation de l'azote organique

Comme évoqué dans la partie 3., l'azote organique est rapidement minéralisé dans les sols, le rendant disponible sous forme de nutriment pour être réutilisé par les organismes. A la surface d'un sol ou d'un sédiment, la majorité des biomolécules (carbonées et azotées) est dégradée dans les 10^5 années qui suivent leur incorporation (Bada, 1998; Knicker, 2004). Cependant, une petite fraction est sujette au **processus d'humification** (Baudin *et al.*, 2007; Vandenbroucke et Largeau, 2007). A travers ce processus, les molécules organiques labiles sont converties en molécules organiques réfractaires. Cela les rend résistantes à la dégradation que ce soit pendant le développement du sol ou la diagenèse (Tissot et Welte, 1984; Tyson, 1995; Baudin *et al.*, 2007). Cette résistance s'exprime également en laboratoire lors de traitements acides violents (Almendros *et al.*, 1991).

Des expériences de compostage de résidus de plantes à 30°C ont montré qu'en l'espace de deux années, jusqu'à 80 % de l'azote était perdu par volatilisation. Malgré cette perte importante d'azote, pratiquement l'ensemble de l'azote restant était lié à du matériel protéique, dont une partie a montré de fortes résistances à une hydrolyse acide poussée (Almendros *et al.*, 1991). Les plantes contiennent donc potentiellement du matériel protéique très résistant, protégé de la dégradation bactérienne et chimique (Knicker *et al.*, 2001; Knicker, 2004). L'étude comparative d'algues modernes, anciennes (~4000 ans) et fossiles (Torbanite ;

Knicker *et al.*, 1996a), de la matière organique des sols (Knicker *et al.*, 1993), de résidus de plantes dégradés (Knicker et Lüdemann, 1995), ou encore de tourbes (Knicker *et al.*, 2002), suggèrent que **l'occurrence d'amides résistantes est un phénomène ubiquiste** (Knicker, 2004). Les différents mécanismes menant à cette résistance sont les suivants :

- (i) **La sélection préférentielle de biopolymères résistant** à la dégradation (appelés aussi biopolymères réfractaires) contenant du matériel protéique (Derenne *et al.*, 1993; Knicker *et al.*, 2001; Knicker, 2004).
- (ii) **La dépolymérisation-recondensation** (Baudin *et al.*, 2007) de macromolécules organiques dont différents modes d'expression sont détaillés dans Knicker (2004) et qui aboutit notamment à la formation de composés hétérocycliques (Knicker *et al.*, 1996a, 1996b, 2002; Knicker, 2004; Kelemen *et al.*, 2006).
- (iii) **L'interaction avec la matrice minérale** (Knicker *et al.*, 1993; Mayer, 1994; Sollins *et al.*, 1996; Knicker, 2004).

8.1.1. Les biopolymères réfractaires

Les biopolymères réfractaires sont issus de macromolécules organiques résistantes à la dégradation microbienne. Ils proviennent par exemple (i) des cuticules de plantes vasculaires (Nip *et al.*, 1987), (ii) des parois cellulaires de plantes comme l'alginate pour les algues (Derenne *et al.*, 1993; Knicker *et al.*, 1996a; Briggs, 1999) ou la lignine pour les plantes vasculaires (Knicker, 2004), ou bien (iii) de la mélanine des champignons (Knicker *et al.*, 1995; Knicker, 2004).

Dans les algues, **l'alginate** est typiquement un biopolymère réfractaire (Briggs, 1999), constitué de très longues chaînes aliphatiques. L'analyse en RMN-¹⁵N sur des alginates issues d'algues élevées en culture, a révélé la présence d'amides probablement piégés dans le réseau moléculaire des alginates (Derenne *et al.*, 1993). La présence d'amides a été confirmée plus tard (Knicker *et al.*, 1996a) et le modèle de **l'encapsulation** du matériel protéique au sein de l'alginate a été développée (**Figure II.14**; Knicker, 2004). Selon ce modèle, les amides dériveraient de matériel protéique lié à des biopolymères réfractaires par des liaisons covalentes. Pendant la dégradation, du matériel protéique se retrouve entouré de structures réfractaires et devient encapsulé dans leur réseau, tandis que d'autre matériel protéique, plus accessible, est digéré par les microorganismes (« **mode jonction** », **Figure II.14**). De manière alternative, le matériel protéique peut intégrer des parties des parois cellulaires des algues et

être pris en sandwich entre les couches d'alginate, ce qui aboutit à un **encombrement stérique**¹ (« **mode sandwich** », **Figure II.14** ; Knicker, 2004). Dans ce dernier mode, la nature hydrophobe de l'alginate empêche les enzymes hydrophiles d'accéder au matériel protéique, qui ne peut donc pas être dégradé.

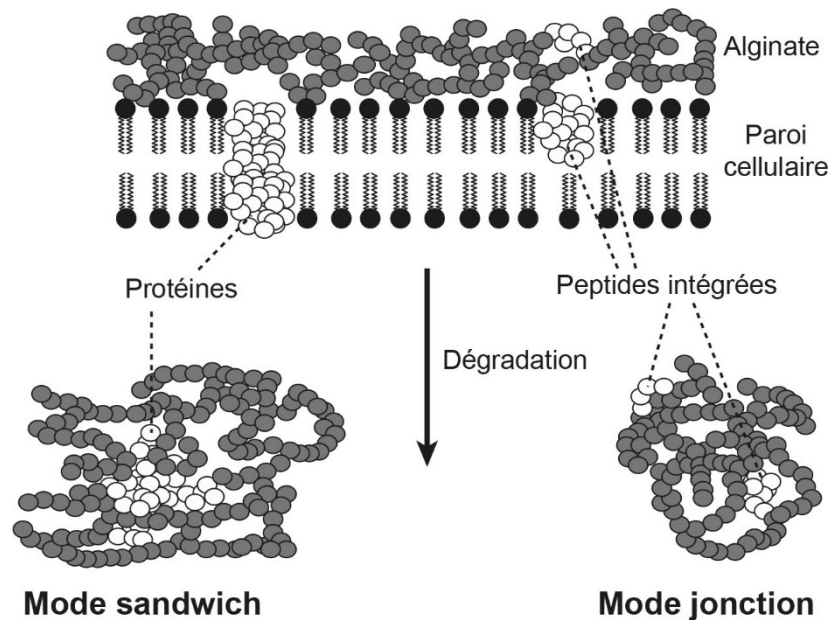


Figure II.14 : Schéma conceptuel illustrant la préservation du matériel protéique dans l'alginate, matière organique dérivée d'algues (modifié d'après Knicker, 2004).

L'origine des biopolymères pouvant être variée, le modèle d'encapsulation des protéines dans de la matière organique réfractaire n'est sans doute pas limité aux algues. Il peut s'appliquer à tout type de biopolymères réfractaires (Briggs, 1999; Knicker, 2004). En ce sens, l'analyse en RMN-¹⁵N de la **mélanine** de champignons a montré que les amides contribuaient à plus de 70 % de l'azote total (Knicker *et al.*, 1995). En outre, cette contribution ne diminuait que très peu en faveur de composés hétérocycliques au cours de la diagenèse, ce qui suggère qu'une partie importante du matériel protéique était réfractaire (Knicker *et al.*, 1995). La mélanine des champignons est donc un précurseur possible de biopolymères réfractaires ayant la capacité d'**encapsuler/piéger du matériel protéique** sous forme d'amides (Knicker *et al.*, 1995; Knicker, 2004). Par ailleurs, des expériences d'incubation de sol mélangé à du compost ont montré que plus de 80 % de l'azote était encore présent sous forme peptidique capable de résister à des attaques à l'HCl 6N (Siebert *et al.*, 1998). L'absence d'algues dans le compost

¹L'encombrement stérique renvoie au volume occupé par une partie d'une molécule gênant l'approche d'un réactif ou d'une autre partie de molécule. On peut l'assimiler à la condensation des molécules dans un espace.

utilisé exclut l'alginate comme source de biopolymère réfractaire au profit d'autres polymères issus de la lignine, des cuticules de plantes et/ou de la mélanine des champignons (Nip *et al.*, 1987; Siebert *et al.*, 1998; Knicker, 2004).

8.1.2. La dépolymérisation-recondensation

Ce mécanisme implique une protection de la matière organique par une **baisse de l'accessibilité microbienne et enzymatique envers les composés labiles** (Knicker, 2004; Vandembroucke et Largeau, 2007). Les macromolécules telles que la lignine, les polysaccharides et les protéines sont dégradées en oligomères et monomères (dépolymérisation) dont la plupart sont minéralisés (Knicker *et al.*, 2002). Une partie de ces « petites briques du vivant » sont cependant susceptibles de se recombinaison par **condensation aléatoire ou réarrangement** pour former un **complexe macromoléculaire** de composés hétérocycliques azotés (Knicker *et al.*, 2002; Knicker, 2004; Vandembroucke et Largeau, 2007). C'est ce complexe qui devient insoluble et réfractaire.

La formation de **complexes protéines-tanins**, en particulier dans le domaine terrestre est un mécanisme potentiel supplémentaire pour la stabilisation du matériel protéique (Knicker, 2004). Les tanins sont des substances poly-phénoliques que l'on retrouve dans les plantes au sein du feuillage, du bois, de l'écorce, ou des racines, et représentent en moyenne de 1 % à 35 % de la masse sèche totale des plantes (Kraus *et al.*, 2003). Ils se divisent en deux classes : (i) les tanins condensés et (ii) les tanins hydrolysables (Kraus *et al.*, 2003). La formation de complexes protéines-tanins par liaisons hydrogènes peut s'opérer avant même la chute des feuilles, ou dans les sols *in situ* (Kraus *et al.*, 2003). Cependant, le caractère réfractaire des tanins condensés n'a pas pu être clairement démontré dans la nature et seules des expériences en laboratoire attestent de phénomènes de stabilisation de l'azote par dépolymérisation-recondensation (Knicker, 2004).

Toutefois, il semblerait que des **composés hétérocycliques** puissent être formés dans des environnements où les processus biotiques sont remplacés par les processus abiotiques, par exemple, la température et/ou la pression. Des plantes traitées thermiquement ont montré dans les étapes finales de leur pyrolyse une conversion par réarrangement/cyclisation de leurs structures amides en structures hétérocycliques (Knicker *et al.*, 1996c). Parmi ces dernières, des pyrroles, imidazoles et indoles, ainsi que des traces de pyridine et de phénazine ont été détectées (**Figure II.15**).

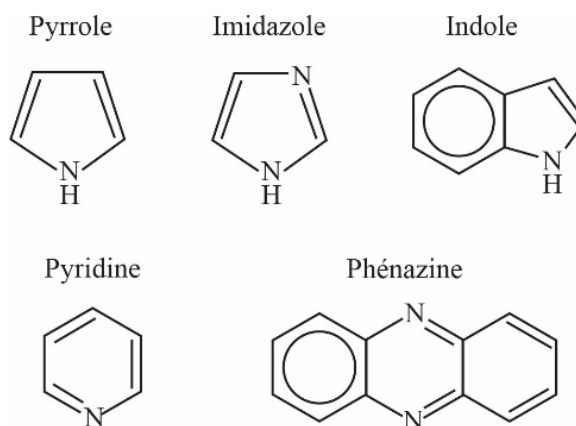


Figure II.15 : Structure des composés hétérocycliques identifiés dans des végétaux après traitement thermique (350 °C ; Knicker *et al.*, 1996c).

La formation de composés hétérocycliques par des **processus abiotiques** est également suggérée par l'occurrence de ces composés au cours de la fossilisation dans les lignites (Knicker *et al.*, 1996b, 2002). Des expériences de fossilisation artificielles comparées à des matières organiques à différents stades de maturation vont également dans ce sens (Kelemen *et al.*, 2006) et sont discutées dans le §8.2. Deux processus de formation des composés hétérocycliques ont été suggérés : (i) l'interaction de l'ammoniaque, libéré par hydrolyse, avec des fonctions réactives de composés organiques menant à leur polymérisation et/ou (ii) la cyclisation de chaînes aliphatiques contenant des amides ou des structures peptidiques (Knicker, 2004).

8.1.3. L'interaction avec la matrice minérale

Dans les sols et les sédiments, la matière organique peut être préservée au sein de la matrice minérale (Mayer, 1994; Sollins *et al.*, 1996; Knicker, 2004). Dans les sols, la majorité de l'azote organique est fixée sous formes d'amides/peptides (70-90%), alors que les composés hétérocycliques ne sont présents qu'en très faible proportion (Knicker *et al.*, 1993). Cette large prédominance est très probablement le résultat de la **réutilisation des chaînes peptidiques par les organismes dégradants** lors de la synthèse de leurs protéines. A leur mort, l'azote peptidique réintègre la matière organique avant d'être à son tour réutilisé par la génération suivante d'organismes dégradants (Knicker *et al.*, 1993, 1995; Knicker et Lüdemann, 1995; Knicker, 2004). Lorsque la fraction minérale est importante, la stabilisation de l'azote ne peut pas être expliquée par l'encapsulation/piégeage du matériel protéique du fait de la relativement

faible quantité de matière organique. Ainsi, la matrice minérale est également susceptible de stabiliser l'azote organique par (i) **adsorption sur la surface des minéraux** (Knicker, 2004), (ii) **complexation avec des cations polyvalents** (e. g. Fe^{3+} ou Al^{3+} ; Sollins *et al.*, 1996), ou (iii) en s'incorporant dans des **micropores**, trop petits pour être accessible aux enzymes dégradantes (Mayer, 1994).

8.2. Préservation de l'azote organique dans les sédiments anciens

Les différents modes de stabilisation de l'azote évoqués précédemment sont susceptibles de contribuer à la préservation de la matière organique dans les sédiments anciens. Cette préservation aboutit à la formation du **kérogène**, la fraction insoluble (dans les solvants organiques) et principale de la matière organique (Baudin *et al.*, 2007; Vandenbroucke et Largeau, 2007). Les analyses effectuées sur la matière organique totale reviennent donc grossièrement à l'analyse du kérogène, surtout si des traitements chimiques sont effectués (e. g. perte de composés hydrolysable ; Tissot et Welte, 1984). L'analyse de sédiments riches en matière organique le long d'une **séquence diagénétique** permet d'appréhender les modalités de préservation de la matière organique et plus particulièrement de l'azote organique. Ainsi, les **tourbes**, les **lignites** et les **charbons** fournissent cette opportunité.

Dans les tourbières, la décomposition anaérobie des plantes est sélective. Les carbohydrates (cellulose, hémicellulose) sont dégradés préférentiellement par rapport à la lignine (e. g. Bates *et al.*, 1991). Pour l'azote, il a été montré qu'il subsistait sous forme d'**amides/peptides** tout au long de la **diagenèse précoce**, probablement par **encapsulation/piégeage** dans des biopolymères réfractaires, étant donné la faible proportion de minéraux dans les tourbières (Knicker *et al.*, 2002; Knicker, 2004). Mais à un stade plus avancé, probablement à la transition **diagenèse/catagenèse**, des composés aromatiques hétérocycliques (e. g. pyrroles) sont détectés en RMN- ^{15}N (Knicker *et al.*, 2002). Ces structures sont détectées également dans les algues fossiles (Knicker *et al.*, 1996a). Deux mécanismes sont proposés pour expliquer « l'apparition » de composés hétérocycliques dans les sédiments anciens :

- (i) **La préservation préférentielle de composés hétérocycliques** déjà présents dans les sédiments (Knicker *et al.*, 1996a; Knicker, 2004).
- (ii) **La transformation abiotique des amides/peptides** en composés hétérocycliques par cyclisation et/ou réarrangements lors de la fossilisation (Knicker, 2004).

Le premier mécanisme est appuyé par la présence de **porphyrine** (**Figure II.12**), constituant de la chlorophylle, dans les sédiments anciens. Or la porphyrine est un précurseur de composés hétérocycliques comme les pyrroles (**Figure II.16** ; Knicker *et al.*, 1996a; Knicker, 2004).

Le deuxième mécanisme est quant à lui fortement appuyé par des expériences de maturation artificielles (par pyrolyse) comparées à des matières organiques à différents stades de maturation (Kelemen *et al.*, 2006). Ces expériences ont montré par XPS/RMN-¹⁵N que dans les **tourbes**, la grande majorité de l'azote (82 à 89 %) se trouve sous forme d'**amides** (**Figure II.16 A** ; Kelemen *et al.*, 2006). Les deux autres formes principales sont l'**azote quaternaire** (7 à 13 %) et **pyridinique** (4 à 9 % ; Kelemen *et al.*, 2006). L'azote quaternaire est en général associé à des structures pyridiniques protonées (Pels *et al.*, 1995), dont la formation résulte de la création d'espèces azotées basiques et de fonctions acides, et de leur interaction durant le processus de lignification (Kelemen *et al.*, 2006). La **stabilisation/préservation** de l'azote organique dans les tourbières est mieux expliquée par le rôle des biopolymères réfractaires que par la présence de composés hétérocycliques puisque ces derniers ne représentent que ~20 % des structures azotées (Knicker, 2004). En outre, les sédiments et les sols, même de plusieurs milliers d'années ne contiennent pas non plus, ou peu, de structures pyridiniques, pyrroliques ou d'azote quaternaire (**Figure II.16 A** ; Almendros *et al.*, 1991; Knicker *et al.*, 1993, 1996a; Knicker et Lüdemann, 1995; Knicker, 2004). Par conséquent, la formation de molécules hétérocycliques n'est pas un mécanisme majeur de stabilisation de l'azote organique durant les premiers stades de fossilisation, *a priori* durant toute la phase de diagenèse (**Figure II.16 A** ; Knicker, 2004).

Lors de la **pyrolyse de tourbes fraîches**, à 350 °C/5 min, la proportion d'azote sous forme quaternaire n'a pas augmenté (8 à 10 %), alors que celle sous forme pyridinique a considérablement augmenté (de <9 % à 29-40 %). Mais la majorité de l'azote est resté sous forme de pyrroles et d'amides (52 à 65 % ; **Figure II.16 B** ; Kelemen *et al.*, 2006). L'estimation de la proportion entre amides et structures pyrroliques n'est pas évidente car ces deux formes d'azote sont caractérisées par un signal similaire en XPS. Seule l'analyse couplée en RMN-¹⁵N permet d'identifier un changement des structures amides (-240 à -305 ppm) vers des structures pyrroliques (-200 à -270 ppm), par un élargissement du pic et un glissement de son apex de -260 ppm à -240 ppm (**Figure II.17** ; Kelemen *et al.*, 2006).

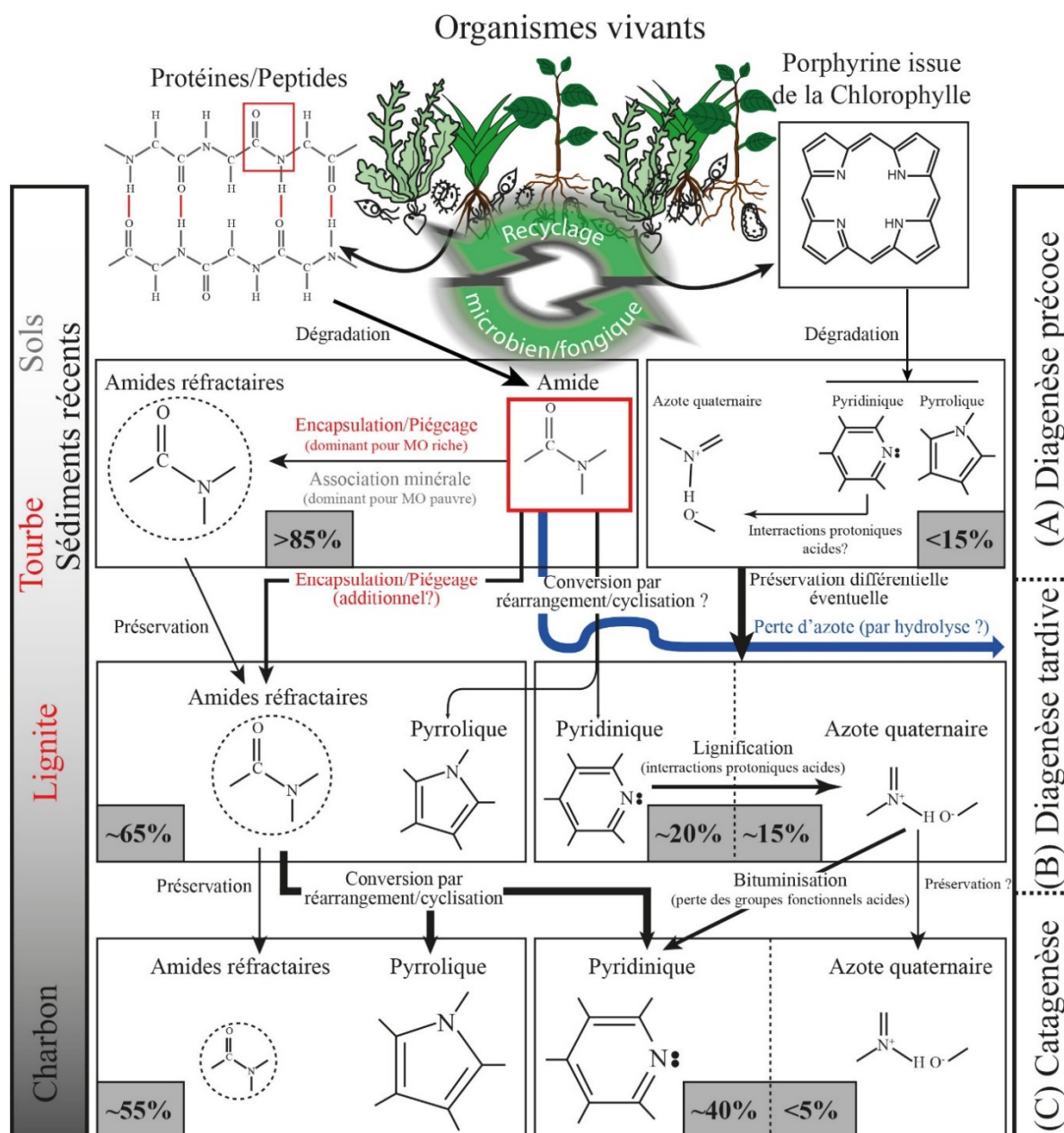


Figure II.16 : Evolution conceptuelle des structures principales azotées au sein des roches sédimentaires d'après les travaux de Knicker *et al.* (1996b, 2002), Knicker (2004) et Kelemen *et al.* (2006). Les pourcentages font référence à la proportion des types de structures représentés dans chaque cadre durant (A) la diagenèse précoce, (B) la diagenèse tardive et (C) la catagenèse. La taille des flèches est relative à l'importance des processus. MO, matière organique.

Dans les lignites naturels, la proportion de structures pyridiniques est également plus forte (16-21 %) que dans les tourbes fraîches (4 à 9 %) et la majorité de l'azote est encore sous forme pyrrolique et d'amides (65 à 67 % ; Kelemen *et al.*, 2006). Par contre, la proportion d'azote quaternaire est la plus forte (15-19 %), comparée aux tourbes fraîches (7-13 %), aux tourbes traitées thermiquement (2-10 %) et aux charbons (<10 %; Kelemen *et al.*, 2006). La formation d'azote quaternaire nécessite des conditions acides (Pels *et al.*, 1995), que l'on trouve dans les

dépôts tourbeux naturels. La prédominance de cette structure dans les lignites et son absence dans les tourbes traitées thermiquement reflètent probablement la perte des fonctions acides des tourbes fraîches durant la pyrolyse (Kelemen *et al.*, 2006). Enfin, les concentrations d'azote sont plus importantes dans les tourbes fraîches et dans les tourbes traitées thermiquement, comparées aux lignites et charbons naturels. Cela suggère une perte d'amides par hydrolyse au cours de la lignification à l'état naturel (**Figure II.16 B** ; Kelemen *et al.*, 2006).

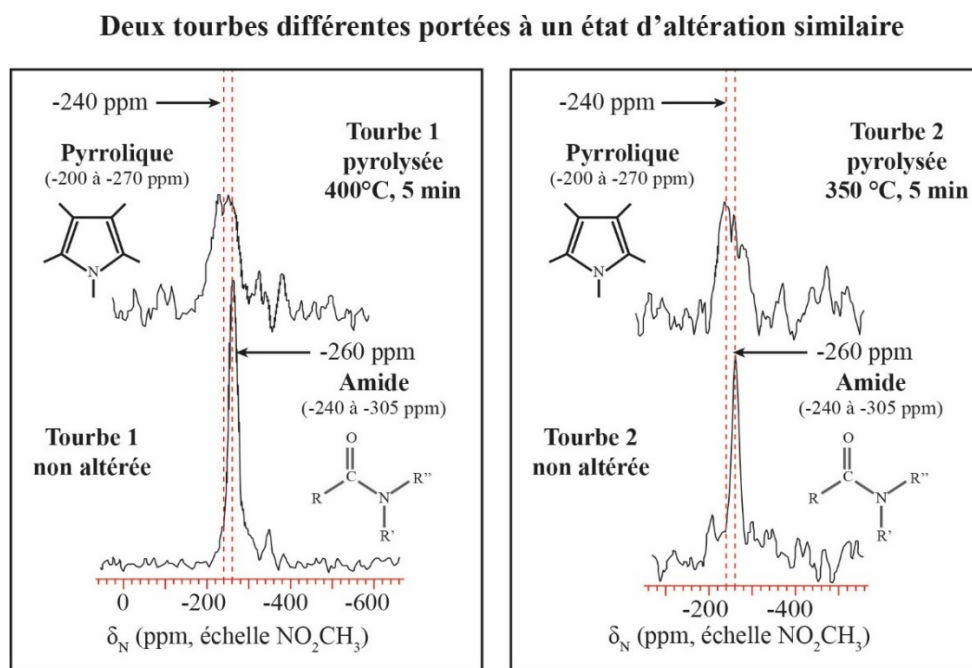


Figure II.17 : Spectres ^{15}N -RMN de deux tourbes non altérées, puis après pyrolyse. Tourbe 1, Lox. Nym. Tourbe 2, Oke. Tax. (modifié d'après Kelemen *et al.* 2006).

Dans les charbons, correspondant à un stade de maturité plus avancé que les lignites, les structures pyridiniques atteignent les niveaux les plus élevés (30-40 %) comparées aux stades tourbes et lignites (**Figure II.16 C** ; Kelemen *et al.*, 2006). Par contre, les structures pyridiniques n'ont pas pu être mises en évidence par RMN- ^{15}N dans les charbons (Knicker *et al.*, 1995, 1996b; Kelemen *et al.*, 2006). Un problème de sensibilité des instruments pour ce genre de structures a été suggéré. Pour les autres structures, la combinaison de l'XPS et de la RMN- ^{15}N a permis d'attribuer la majeure partie du signal (400,2 eV) aux structures pyrroliques (Kelemen *et al.*, 2006). Ces structures seraient issues de (i) la perte de groupes fonctionnels acides durant la bituminisation et/ou (ii) la conversion d'amides en structures pyrroliques ou pyridiniques par réarrangement/cyclisation (**Figure II.16 C** ; Kelemen *et al.*, 2006). Le premier mécanisme pourrait expliquer la très faible concentration en azote quaternaire (<5 %), voir son inexistence dans les échantillons à haut rang de maturation (Kelemen *et al.*, 2006).

9. Impact de la diagenèse sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sédimentaire

9.1. La diagenèse précoce : Etat des connaissances

De nos jours, il n'existe que peu d'études sur d'éventuels liens entre les modifications des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et le type de structures contenant l'azote (Templier *et al.*, 2012). Ces auteurs ont montré une grande hétérogénéité des structures azotées détectées dans différentes fractions extraites de l'azote organique dissous de deux rivières (Loire et Gartempe). Notamment, ils ont détecté jusqu'à 72 % de structures pyrroliques dans la fraction hydrophobe de la Loire, dont l'origine n'est pas encore bien comprise. Par ailleurs, la diminution de la contribution des pyrroles dans les différentes fractions a été corrélée avec une augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ (Templier *et al.*, 2012). Cela suggère que les **amides sont enrichis en ^{15}N par rapport aux pyrroles**. Par conséquent, la **préservation/dégradation préférentielle** de l'un ou l'autre de ces composés peut potentiellement entraîner des modifications des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de l'ensemble de la matière organique.

Malgré le manque d'études couplant analyses isotopiques de l'azote et RMN- ^{15}N , les effets de la diagenèse sur le $\delta^{15}\text{N}$ ont été assez bien étudiés. C'est le cas dans le domaine marin qui offre la possibilité d'appréhender ces effets dans des environnements homogènes en terme de sources organiques, conditions de température, d'oxygénation ou taux de sédimentation (Robinson *et al.*, 2012). Au contraire, l'hétérogénéité des écosystèmes continentaux rend l'estimation des effets de la diagenèse plus difficile.

9.1.1. En milieu marin

Il est communément admis que le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments de surface dans des zones de **forte sédimentation/productivité** reflète le $\delta^{15}\text{N}$ des flux de particules. Ceci suggère donc qu'aucune (ou très peu) altération du signal primaire n'a lieu (Altabet *et al.*, 1999; Thunell *et al.*, 2004; Prokopenko *et al.*, 2006). Or, jusqu'à 24 % de l'azote organique est perdu lors de la diagenèse précoce, dès la descente des particules au sein de la colonne d'eau (Prokopenko *et al.*, 2006). L'absence de modification significative du $\delta^{15}\text{N}$ suggérerait que la perte en azote s'opère sans la perte préférentielle d'une fraction spécifique de l'azote. Ou alors, que les différents processus microbiens se compensent entre eux (Robinson *et al.*, 2012).

A l'inverse, les zones à **faible sédimentation/productivité** montrent une augmentation de 3-6 ‰ du $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments de surface par rapport aux particules en suspension (Robinson

et al., 2012). Logiquement, la perte préférentielle de composés appauvris en ^{15}N a été suggérée, mais les processus responsables de ces variations restent mal connus (Freudenthal *et al.*, 2001; Robinson *et al.*, 2012). Des expériences en laboratoire sur des cultures microbiennes ont montré que la **déamination génère du NH_4^+ appauvri en ^{15}N** (Macko et Estep, 1984). L'enrichissement en ^{15}N du sédiment résiduel pourrait résulter de la fuite de $^{14}\text{NH}_4^+$ dans les eaux de pores. Ce serait particulièrement le cas pour des sédiments oxiques où l'ammonium est rapidement oxydé en NO_3^- , et/ou où la proportion d'argiles adsorbant est faible (Robinson *et al.*, 2012). Ainsi, l'ammonium appauvri n'est pas conservé dans la matrice qui s'enrichit en ^{15}N . Toutefois, la mesure du $\delta^{15}\text{N}$ sur la fraction organique et inorganique de sédiments marins a montré que l'effet de la **diagenèse précoce était <1 ‰ sur le $\delta^{15}\text{N}$ total** (Freudenthal *et al.*, 2001). Ce faible effet diagénétique a été attribué à des **phénomènes de compensation** entre un appauvrissement en ^{15}N via l'ammonium fixé dans les argiles (produit de dégradation de l'azote organique) et un enrichissement via la perte d'azote organique par désamination (Freudenthal *et al.*, 2001). En d'autres termes, il y a un échange par vases communiquant entre la matrice minérale et organique, et l'ensemble garde à peu près la même composition isotopique. C'est pourquoi Robinson *et al.* (2012) ont conclu que l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}$ du sédiment total était souvent suffisante pour les reconstructions paléoenvironnementales en milieu marin.

Une compilation de données présentant des mesures du $\delta^{15}\text{N}$ des particules (piège à particules, $\delta^{15}\text{N}_p$) en suspension dans la colonne d'eau de mer et leur équivalent dans les sédiments de surface (piège à sédiment ; $\delta^{15}\text{N}_s$) a été réalisée par Robinson *et al.* (2012). Ils montrent que **plus l'écart isotopique entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_p$ et celles de $\delta^{15}\text{N}_s$ ($\Delta\delta^{15}\text{N}_{s-p}$) est important, plus le signal primaire est altéré**. Les données actuelles sont principalement concentrées sur les marges continentales avec des milieux dont la productivité et la préservation de la matière organique diffèrent (Robinson *et al.*, 2012). Malgré cette hétérogénéité dans les données, un écart isotopique systématique entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_p$ et celles de $\delta^{15}\text{N}_s$ a été noté. Seulement quelques points, correspondant à des zones très productives, ne montrent pas d'écart et donc pas de modification du signal primaire (Robinson *et al.*, 2012). Les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}_{s-p}$ augmentent avec la profondeur de la colonne d'eau de +0,5 ‰/km à +1 ‰/km si on omet les sites de fosses océaniques (Robinson *et al.*, 2012). Ces auteurs ont suggéré différentes causes à cette différence :

- Des sources différentes de matière organique ; les deux pièges n'enregistrent pas le signal à la même échelle de temps où des perturbations événementielles (i.e. bloom algaire) peuvent influencer fortement le signal des pièges à particules à un moment précis.

- L'influence de transports horizontaux à la surface des fonds marins qui importeraient un signal allochtone dans les pièges à sédiments.
- Le fractionnement des particules en fonction de leur taille lors du transport de celles-ci.

Malgré ces influences spécifiques aux sites, les tendances observées sont quand même significatives et doivent être expliquées (Robinson *et al.*, 2012).

La préservation de la matière organique, dans les sédiments marins, est fonction de la concentration en oxygène des eaux de fond. Elle est également fonction du taux de sédimentation, car la préservation de la matière organique dépend du temps d'exposition à l'oxygène des eaux interstitielles (Robinson *et al.*, 2012). Ainsi, Robinson *et al.* (2012) ont montré qu'il existait une corrélation positive (linéaire) entre les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{s-p}}$ et la concentration en O_2 des eaux de fond, et négative (logarithmique) entre les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{s-p}}$ et le taux de sédimentation. Or, taux de concentration en O_2 et taux de sédimentation sont corrélés à la profondeur d'eau de manière linéaire. Les valeurs de $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{s-p}}$ sont le mieux corrélé à la profondeur d'eau ($r^2 = 0,46$), ce qui suggère que le $\Delta\delta^{15}\text{N}_{\text{s-p}}$ est bien fonction du temps d'exposition à l'oxygène (Robinson *et al.*, 2012), car les processus microbiens sont plus actifs en milieu oxygéné (Baudin *et al.*, 2007). Par exemple, la matière organique à grande profondeur est beaucoup plus exposée à la dégradation du fait du faible taux de sédimentation. En moyenne, sur cette base de données, **l'influence de la diagenèse précoce augmente de 2,3 ‰ le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments de surface**, ce qui est assez faible au regard de la fourchette de 15 ‰ de l'ensemble des valeurs répertoriées (Robinson *et al.*, 2012).

9.1.2. En milieu continental

Dans le milieu continental, il existe un nombre restreint d'études traitant de l'influence de la diagenèse précoce sur le $\delta^{15}\text{N}$. Elles concernent majoritairement des environnements lacustres et d'eau douce (Hodell et Schelske, 1998; Teranes et Bernasconi, 2000; Lehmann *et al.*, 2002; Gälman *et al.*, 2009) et montrent des résultats contradictoires avec **une baisse, pas d'effet, ou une augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$** (Gälman *et al.*, 2009). Quant aux sols, la diagenèse précoce est souvent traitée par des expériences de dégradation en sacs de litières mis à décomposer sur le sol (Melillo *et al.*, 1989; Benner *et al.*, 1991; Fogel et Tuross, 1999; Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005; Bragazza *et al.*, 2010).

Le rôle des **conditions d'oxygénation**, ainsi que son influence sur les communautés microbiennes qui minéralisent l'azote, a été suggéré pour expliquer l'amplitude et le sens des

modifications isotopiques dans les **sédiments lacustres** (Lehmann *et al.*, 2002; Gälman *et al.*, 2009). Des expériences de dégradation ont été menées sur de la biomasse algale incubée sous condition oxic ou anoxique durant 111 jours (Lehmann *et al.*, 2002). Les particules organiques ont été analysées à intervalle régulier après avoir été filtrées. En milieu anoxique, une diminution de 3 ‰ des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ a été observée, alors qu'en milieu oxic les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ ont d'abord augmenté de 3-4 ‰ en ~30 jours avant de retrouver leur valeur initiale (Lehmann *et al.*, 2002). La biosynthèse bactérienne de composés appauvris en ^{15}N (e. g. par excrétion d'ammonium riche en ^{15}N) et leur incorporation dans l'azote organique particulaire a été invoquée pour expliquer la diminution des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ (Macko et Estep, 1984; Lehmann *et al.*, 2002; Gälman *et al.*, 2009). Au contraire, l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$, associée à l'augmentation du rapport C/N, marque une perte préférentielle d'azote appauvri en ^{15}N (Lehmann *et al.*, 2002). La différence de réponse du $\delta^{15}\text{N}$ entre les milieux oxiques et anoxiques marque probablement une **disparité dans l'activité métabolique** des bactéries responsables de la dégradation (Lehmann *et al.*, 2002).

Dans les **écosystèmes terrestres**, beaucoup d'études ont montré une augmentation du $\delta^{15}\text{N}$ au cours de la dégradation de la matière organique (Melillo *et al.*, 1989; Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005; Bragazza *et al.*, 2010; Lerch *et al.*, 2010). Cependant, une des premières expériences de dégradation de litières dans les sols a montré deux phases distinctes de dégradation (Melillo *et al.*, 1989). Cette expérience a été menée sur des aiguilles de pin. La première phase de dégradation marque une importante perte de masse de la matière organique jusqu'à 80 %, dominée par la perte des carbohydrates et autres composés labiles (Melillo *et al.*, 1989). La deuxième phase marque une stabilisation de la perte de masse. La concentration en azote augmente de près de 50 % durant la première phase (**phase d'immobilisation** de l'azote), et le $\delta^{15}\text{N}$ diminue de 2 ‰. Durant la seconde phase, dite de **minéralisation**, la concentration en azote diminue de façon importante pour atteindre 59% de sa concentration initiale. Cette perte d'azote s'accompagne d'une augmentation de 1 ‰ des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ (Melillo *et al.*, 1989). Par ailleurs, l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ avec la profondeur du sol est régulièrement répertoriée. Elle correspond à la perte préférentielle de ^{14}N durant la phase de minéralisation de l'azote (Gebauer et Schulze, 1991; Andersson *et al.*, 2012; Andreeva *et al.*, 2013).

Durant la phase d'immobilisation de l'azote, le $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique peut augmenter ou diminuer (Craine *et al.*, 2015), à l'image des expériences d'incubation de Lehmann *et al.* (2002) sous conditions oxiques et anoxiques. Une expérience d'incubation de sphagnes d'une tourbière, exposées à des niveaux d'oxygénation variés, a montré une

augmentation du $\delta^{15}\text{N}$ plus importante en condition oxygène (de -4 à +1 ‰) qu'en condition anoxique (de -4 à -1 ‰ ; Asada *et al.*, 2005). L'expérience d'incubation a été menée sur 2 ans, mais une carotte couvrant >220 ans a été prélevée dans la tourbière d'origine. Le $\delta^{15}\text{N}$ s'enrichit continuellement à un rythme de 0,15 ‰/an sur 28 cm (de -6 à 0 ‰), avant de se stabiliser avec une augmentation limitée de 0,01 ‰/an sur 10 cm (de 0 à 1 ‰ ; Asada *et al.*, 2005). Cette phase est associée à une chute drastique du C/N (~200 à ~20) et à une augmentation de la concentration en carbone et en azote, de 40 à 60 % et de 0,5 à 2 %, respectivement (Asada *et al.*, 2005). Sur 220 ans, la hausse des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ approche donc les +7 ‰ et a été reliée à des processus de fractionnement microbien et/ou à la préservation préférentielle de composés enrichis en ^{15}N (Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005). D'autres expériences de dégradation ont obtenu des résultats très hétérogènes :

- **Une augmentation** de 1-3 ‰ sur 5 ans pour des sacs de litières composés de racines d'herbes ou d'arbres, contrôlée par des « processus de fractionnement microbien » (Connin *et al.*, 2001)
- **Pas de changements significatifs** sur les sphaignes d'une tourbière alpine après 3 ans d'incubation, alors que deux plantes vasculaires, placées dans les mêmes conditions, ont vu leur $\delta^{15}\text{N}$ baisser de près de 1 ‰ (Bragazza *et al.*, 2010)
- **Une baisse** d'environ 2 ‰ du $\delta^{15}\text{N}$ de la biomasse de *Spartina* lors de sa dégradation dans des marécages salés anoxiques, sur 18 mois, avant d'augmenter de 3 ‰ dans les trois derniers mois (Benner *et al.*, 1991).

A l'instar des sédiments lacustres, le sens et l'amplitude des variations isotopiques de l'azote lors de la décomposition des litières semble dépendre du degré de décomposition et des conditions d'oxygénation du milieu, mais aussi de la disponibilité des nutriments (Craine *et al.*, 2015). Les différents processus microbiens influençant le signal isotopique originel sont donc fonction de l'environnement de dépôt. Par conséquent, pour certains auteurs, « l'effet de la décomposition (de la matière organique) sur la composition isotopique (...) de l'azote pourrait cacher les changements environnementaux passés dans la tourbière » (Asada *et al.*, 2005), ou encore, « ces changements (isotopiques) pourraient exclure l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique des plantes fossiles ou sédimentaires pour reconstruire les paléoenvironnements » (Fogel et Tuross, 1999).

Ceci illustre la nécessité de tester le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoenvironnemental dans le plus de cas de figure possibles. De plus, il est nécessaire de mieux appréhender les impacts de la diagenèse précoce sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Dans quelle mesure impacte-t-elle le signal primaire ? Est-elle un frein aux reconstitutions paléoenvironnementales ? Ces

questions ont été traitées par l'approche expérimentale et font l'objet d'un article en préparation (*cf.* **Chapitre IV.**). Mais pour les matières organiques très anciennes, l'impact de la diagenèse tardive est-il significatif ?

9.2. Au-delà de la diagenèse tardive. Jusqu'où préserve-t-on le signal issu de la diagenèse précoce ?

Au cours de la diagenèse thermique, ou diagenèse tardive, les températures varient d'une dizaine de degrés à 80 °C (Baudin *et al.*, 2007). Cette phase est caractérisée par la perte de fonctions de la matière organique *via* la perte de O, N et S (Tissot et Welte, 1984; Baudin *et al.*, 2007). Cette phase est suivie de la **catagenèse** entre 80°C et 120°C, puis de la **métagenèse** durant laquelle le carbone devient progressivement le seul élément restant. Or, la perte d'éléments est souvent synonyme de fractionnement isotopique.

C'est par exemple au cours de la diagenèse tardive que se forment les lignites, puis les charbons durant la catagenèse (*cf.* **Figure II.16**), l'antracite durant la métagenèse et enfin le graphite à son stade ultime. Les études à propos des conséquences sur le $\delta^{15}\text{N}$ des sédiments matures portent à la fois sur des expériences en laboratoire et sur des sédiments naturels, et aboutissent à des résultats contradictoires (Williams *et al.*, 1995; Ader *et al.*, 1998; Boudou *et al.*, 2008; Jurisch et Krooss, 2008; Schimmelmann et Lis, 2010; Rivera *et al.*, 2015). Cependant, ces études concluent toutes que **la teneur en azote diminue** lors de la maturation thermique. Williams *et al.* (1995) ont mené une étude très complète à propos de l'influence de la maturation thermique sur le $\delta^{15}\text{N}$ de différentes fractions dans des réservoirs d'hydrocarbures, notamment sur (i) le kérogène, (ii) le bitume, (iii) l'huile, (iv) l'eau du réservoir et (v) l'ammonium extrait des argilites. Ces auteurs ont montré que le $\delta^{15}\text{N}$ du kérogène était invariant ($3,1 \pm 0,3$ ‰), alors que celui du bitume augmentait avec la profondeur de 3,5 ‰ à 5,1 ‰. Cela résulte de la perte préférentielle de composés azotés labiles appauvris en ^{15}N issus de la fraction bitumineuse (Williams *et al.*, 1995). Cette fraction soluble se retrouve dans les fluides qui deviennent appauvris en ^{15}N . Par contre, à la suite de leur migration, ils peuvent s'enrichir à nouveau en interagissant avec les argiles (surtout les illites/smectites) qu'ils traversent, par exemple le long de failles guides (Williams *et al.*, 1995). Ce fractionnement est alors fonction de l'interaction avec la matrice argileuse. Ainsi, l'azote des eaux (ammonium) issues de la formation des huiles ont en général des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de 4 à 7 ‰ inférieures à l'huile associée. **Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ de l'ensemble de la matière organique n'est**

donc potentiellement pas affecté par la perte progressive de la fraction bitumineuse qui s'enrichit seulement lors de sa migration.

Cette hypothèse a été confirmée par l'analyse parallèle de **charbons naturels** et **artificiellement diagénétisés** du stade anthracite au stade méta-anthracite (Ader *et al.*, 1998). Bien que la concentration en azote organique diminue de moitié avec l'élévation du rang de maturation, **aucun changement isotopique n'a été répertorié** ($\delta^{15}\text{N} = 4,5 \pm 1 \text{ ‰}$), que ce soit dans les anthracites et méta-anthracites naturels ou dans les anthracites expérimentalement transformées (Ader *et al.*, 1998). Plus récemment des résultats similaires ont été obtenus dans les domaines marins et terrestres à la fois à travers la mesure du $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (Rivera *et al.*, 2015) et du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Boudou *et al.*, 2008). Ces études ont toutes deux conclu que, malgré la perte en azote au cours de la diagenèse tardive, il n'y avait pas de changements significatifs des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$, de la catagenèse à la graphitisation. L'élimination de l'azote organique, principalement sous forme NH_3 et N_2 , se ferait donc **sans fractionnement isotopique** significatif, possiblement, **par diffusion** à travers un front de réaction entre la matière organique non réactive et des fluides chauds chargés en O et H (Boudou *et al.*, 2008). Boudou *et al.* (2008) ont en outre pu confirmer les travaux de Knicker *et al.* (1996b) en montrant que l'azote organique (analysé en XPS) se trouve à près de 90% **sous forme pyrrolique et pyridinique** en fin de catagenèse. Ils ont également montré que l'azote issu des pyrroles et des pyridines se substituait au carbone dans des macromolécules partiellement aromatiques de type N-C₃ (Azote de type Cyclazine/Quaternaire ; **Figure II.18**). Ces molécules, plus stables thermiquement tendent à être les seuls contenant de l'azote à la fin de la graphitisation (Pels *et al.*, 1995; Boudou *et al.*, 2008).

Au contraire, des **expériences de laboratoire** ont montré un comportement très différent du $\delta^{15}\text{N}$ lors de la maturation (Jurisch et Krooss, 2008; Schimmelmann et Lis, 2010). La pyrolyse de shales du Carbonifère a montré que la valeur isotopique des composés azotés, libérés lors de la déstabilisation thermique, était fonction de la température de pyrolyse, suggérant **différents précurseurs d'azote à différentes stabilités thermiques** (Jurisch et Krooss, 2008). En outre, une maturation contrôlée sur des roches immatures de type I (lacustre), II (marin), IIS (marin soufré) et III (terrestre), dans un environnement contenant des solutions enrichies en ammonium, a montré un échange actif entre l'azote en solution et l'azote des matières organiques (Schimmelmann et Lis, 2010). L'extrapolation de leurs résultats sur les temps géologiques les a amenés à conclure que l'échange d'azote, entre la fraction inorganique dans les fluides et la matière organique des kérogènes, pendant la maturation, menait à une homogénéisation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de l'ensemble. Ils concluent que ce genre

d'**homogénéisation** peut être importante dès 40-50°C, c'est-à-dire avant même la phase de catagenèse, excluant ainsi l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ comme marqueur paléoenvironnemental (Schimmelmann et Lis, 2010). Cependant ces résultats, bien que justifiant d'une faible variabilité des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des kérogènes à travers les temps géologiques (+2 à +6 ‰ ; Williams *et al.*, 1995; Ader *et al.*, 1998; Boudou *et al.*, 2008), sont pour l'heure difficilement conciliables avec les données de terrain où les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ou de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ ne sont corrélés à aucun marqueur de maturité (Boudou *et al.*, 2008; Rivera *et al.*, 2015)

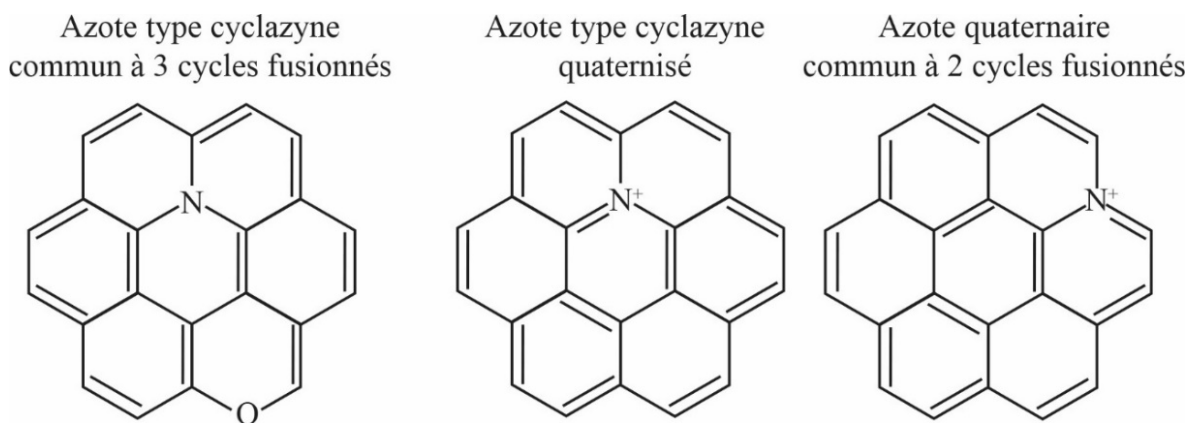


Figure II.18 : Exemples d'azote de type N-C₃. Le minimum de 3 liaisons covalentes entre un atome de carbone et d'azote rend ce dernier très stable thermiquement, alors que les atomes d'azote situés en bord de structure (voir pyrroles et pyridines, **Figure II.15**) sont plus disposés à être « arrachés » (d'après Boudou *et al.*, 2008).

Pour conclure, l'influence de la maturation thermique sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ou de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ fait beaucoup débat entre les expériences de terrain et celles de laboratoire qui montrent, pour la première école, **aucune influence**, et pour la seconde, une **homogénéisation des valeurs** isotopiques (Schimmelmann et Lis, 2010). Dans cette thèse, l'ensemble des échantillons traités l'ont été sur des **sédiments immatures**, ce qui limite un potentiel impact de la diagenèse due à la maturation de la matière organique.

Tableau II.5 : Synthèse des modèles climatiques décrits dans ce chapitre. En vert, les processus prédominants pour la composition isotopique de l'écosystème.

	Humide/froid	Tropical humide	Sec/chaud
Emissions gaz	Limité	++	+++ (¹⁴ N-NO, ¹⁴ N-N ₂ O)
Lessivage	++ (¹⁵ N-ON ?)	+++ (¹⁵ N-ON, ¹⁵ N-NO ₃)	Limité
Recyclage-N	+++	+	Limité
Minéralisation	+	++	+++
Entrées/Sorties-N	+	+++	++
δ ¹⁵ N _{org}	↓	↑	↑

Conclusion du Chapitre II

Bien que présent en très grande quantité dans l'atmosphère, l'azote disponible pour la biosphère est limité (0,02%). Cet azote, dit réactif, découle de la fixation de l'azote non réactif de l'atmosphère par des groupes restreints de microorganismes procaryotes. Le cycle biogéochimique de l'azote est très complexe et fait intervenir un grand nombre de processus microbiens qui aboutissent à des fractionnements isotopiques. Malgré cette complexité, des liens ont été établis entre des paramètres climatiques et la composition isotopique de l'azote de la matière organique terrestre, avec :

- Une corrélation négative entre les précipitations et les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.
- Une corrélation positive (toutefois plus fragile) entre les températures et les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

De tels liens n'ont pu être établis dans le domaine marin qui répond de manière indirecte aux changements climatiques, à l'instar de certains lacs dominés par la production primaire.

Il a également été montré que la disponibilité des nutriments influence les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. En prenant en compte l'ensemble de ces facteurs, des modèles climatiques ont pu être développés. Ils se basent sur la notion d'ouverture/fermeture du cycle de l'azote au sein d'un écosystème terrestre (**Tableau II.5**).

Par ailleurs, l'azote organique semble être majoritairement préservé sous forme de matériel protéique jusqu'au stade de diagenèse tardive/catagenèse. Mais sa composition isotopique peut rapidement être modifiée à la faveur de processus microbiens, alors que la diagenèse très tardive ne semble pas l'affecter. L'évaluation de l'impact de la diagenèse précoce sur le signal primaire du $^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et sa signification réelle est donc capitale. Elle pourrait en effet à être l'origine de l'intégration des signaux isotopiques des différentes composantes d'un environnement à travers le temps et l'espace.

Chapitre III : Méthodes d'analyse de la matière organique

Dans ce chapitre sont présentés les principales méthodes d'analyse ainsi que les appareils utilisés au cours de cette thèse. L'ensemble de ces moyens a notamment permis d'acquérir des informations paléoenvironnementales à confronter avec les valeurs du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pour chaque série sédimentaire étudiée. La méthode de détermination du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est également explicitée. L'ensemble des méthodes décrites dans ce chapitre a été utilisé sur les échantillons du Pliensbachien-Toarcien de Taskomirsay (Kazakhstan). Pour le Paléogène (Arctique) et l'Eocène-Oligocène (Bassin de Rennes), seule les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont été déterminées, le reste des marqueurs paléoenvironnementaux étant disponible par ailleurs. Les méthodes décrites sont les suivantes :

Géochimie de la matière organique totale

- Teneurs en carbone organique total (COT), indices d'hydrogène (IH), d'oxygène (IO) et T_{max} . Marqueurs de sources et de diagenèse.
Détermination par le LECO et la pyrolyse Rock-Eval.

Géochimie isotopique de la matière organique totale

- $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Marqueurs paléoenvironnementaux et de sources.
Déterminés par analyse élémentaire couplée à la spectrométrie de masse (EA-MS).

Géochimie moléculaire et isotopie sur composés spécifiques

- Identification de molécules spécifiques (*n*-alcane, composés aromatiques...) et quantifications de celles-ci. Marqueurs de sources, d'environnements et de diagenèse. Détermination par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), ou à un spectromètre de masse isotopique (IRMS) pour la mesure de la composition isotopique de l'hydrogène (δD) des *n*-alcane. Marqueur paléohydrologique et de sources de la matière organique.

1. Géochimie de la matière organique totale

1.1. Teneur en carbone organique

La détermination de la teneur en Carbone Organique Total (COT) d'un échantillon est un prérequis à toute autre analyse organique car elle conditionne la possibilité de faire des analyses Rock-Eval ou encore la quantité d'échantillon nécessaire pour l'analyse des lipides, des isotopes du carbone ($\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$), et *a fortiori* du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Le carbone étant souvent présent sous deux formes dans un échantillon, organique et minéral, il est nécessaire de retirer la part du carbone minéral pour obtenir celle du carbone organique et donc le COT. Pour cela il existe deux méthodes. La première consiste à mesurer, sur un même échantillon, le carbone total (C_{tot}), d'une part, puis de mesurer le carbone minéral (C_{min}), d'autre part. Le COT est ensuite calculé en soustrayant la part de carbone minéral au carbone total ($\text{COT} = C_{\text{tot}} - C_{\text{inorg}}$). La seconde consiste à mesurer directement le carbone organique sur un échantillon préalablement décarbonaté, le carbone minéral étant présent sous forme de carbonates.

Des analyses préliminaires ont été réalisées à Namur (Belgique) en 2012 avant le début de cette thèse. Elles ont consisté à déterminer la teneur en COT dans quelques échantillons et à obtenir les premières valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dont il sera question dans les chapitres suivants. La teneur en COT a été mesurée directement avec un analyseur élémentaire LECO (CS-200) sur des échantillons décarbonatés (*cf.* protocole en **Annexe 1**). En revanche, la mesure du COT sur les autres échantillons traités à Paris s'est effectuée par la soustraction du C_{min} au C_{tot} . Ce dernier ayant été mesuré au LECO (automatic carbon determinator IR-212 ; **Photo III-1**). Cet appareil réalise une combustion complète du carbone à $\sim 1200\text{ }^\circ\text{C}$ sur 20-100 mg d'échantillon et mesure la teneur en carbone grâce à une cellule infrarouge. La part du carbone minéral, elle, a été obtenue par un mano-calcimètre Mélières. En faisant l'hypothèse que le carbonate présent est de la calcite, on peut calculer le COT grâce à la formule suivante :

$$\text{COT} (\%) = \% C_{\text{tot}} - \frac{\% \text{ carbonate}}{\frac{100}{12}}$$



Photo III-1 : LECO automatic carbon determinator IR-212 de l'ISTeP (Paris 6).

Cette méthode est plus rapide car elle ne nécessite pas de décarbonater les échantillons. Le but était d'obtenir des valeurs de COT rapidement pour choisir les échantillons adaptés aux analyses des lipides, du $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Les échantillons sélectionnés pour les analyses de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont ensuite été décarbonatés et leur COT a été mesuré de nouveau, de manière directe, au LECO à Paris. L'utilisation des valeurs de COT acquises par différentes méthodes et appareils nécessitent de s'assurer que celles-ci sont équivalentes et ne comportent pas de biais. Quelques échantillons ont donc été mesurés avec les deux méthodes. La **Figure III.1** montre une très bonne corrélation entre le COT calculé et les COT mesurés au LECO à Paris et à Namur, sur les échantillons décarbonatés. Il n'y a donc pas de biais méthodologique et les valeurs sont utilisables. Par ailleurs les 5 points rouges qui sortent de la tendance générale correspondent à des échantillons de départ hétérogènes où des lignites ou des bois étaient mélangés avec des argiles dans les sachets d'échantillon (**Figure III.1**). Pour ces échantillons, seuls les parties décarbonatées et donc mesurées au LECO dans un second temps ont été utilisées pour les mesures de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

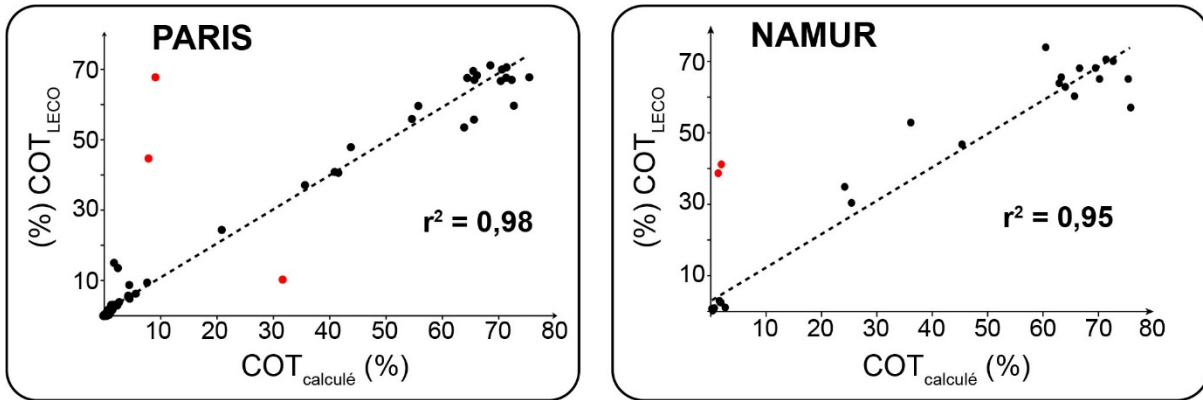


Figure III.1 : Diagrammes COT calculés et COT mesurés au LECO de manière directe sur des échantillons décarbonatés. Les points rouges représentent des échantillons hétérogènes composés d'argiles riches en matière organiques et de lignites ou de bois fossiles. Ils ont été retirés de la régression linéaire.

1.2. La pyrolyse Rock-Eval

Cette méthode permet d'obtenir des informations sur l'origine de la matière organique (MO) et son état de maturation (Espitalié *et al.*, 1985; Behar *et al.*, 2001). Elle consiste à chauffer sous atmosphère inerte un échantillon brut de sédiment, préalablement broyé, de 50-100 mg, afin de mesurer les hydrocarbures libres sous forme de gaz et d'huile et les composés hydrocarbonés et oxygénés expulsés lors du craquage de la MO. Puis l'échantillon est transporté par un bras mécanique dans un four à oxydation sous air afin d'oxyder la MO pour déterminer le COT (Espitalié *et al.*, 1985). Les analyses ont été réalisées à l'ISTeP sur un Rock-Eval 6 (**Photo III-2**) sur 120 échantillons dont 6 réplicats. Les principales caractéristiques sont décrites par Behar *et al.* (2001). Un COT > 0,2 % est nécessaire pour que les paramètres du Rock-Eval soient interprétables. Ces derniers, déterminés par la quantification des effluents de CO et de CO₂ obtenus au cours des étapes successives de pyrolyse et d'oxydation, sont les suivants (Behar *et al.*, 2001) :

- Le COT est la quantité de carbone organique de l'échantillon exprimée en %.

$$COT = 0,1 \left[[0,83(S1 + S2)] + \left[\frac{12}{44} (S3 + S3' + S4CO2) \right] + \left[\frac{12}{28} (S3CO + S3'CO + S4CO) \right] \right]$$

- La température maximum (T_{\max}) atteinte au sommet du pic S2, c'est-à-dire au maximum de libération d'hydrocarbures produits durant la pyrolyse. On estime que la MO est immature à $T_{\max} < 430 - 435$ °C pour le type II et III et $T_{\max} < 440 - 445$ °C pour le type I (Espitalié *et al.*, 1985). Ces fourchettes de températures marquent le début de la transformation de la MO qui s'opère à différents rythmes en fonction du type de MO. Ainsi la transformation de la MO de type III s'opère sur de larges plages de températures (jusqu'à $T^\circ > 500$ °C), alors que celle de la MO de type I s'opère à température pratiquement constante autour de 445 °C (Espitalié *et al.*, 1985).
- L'indice d'hydrogène (IH) est la proportion d'effluents hydrocarbonés émis durant la pyrolyse et est exprimé en hydrocarbure (HC)/g COT.

$$IH = \frac{S2 \times 100}{COT}$$

- L'indice d'oxygène (IO) est la quantité de CO₂ d'origine organique et est exprimé en CO₂/g COT.

$$IO = \frac{S3 \times 100}{COT}$$

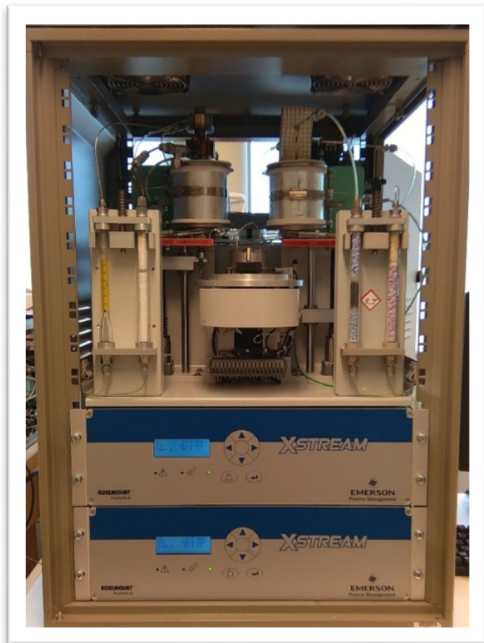


Photo III-2 : Rock-Eval 6 de l'ISTeP de Paris 6

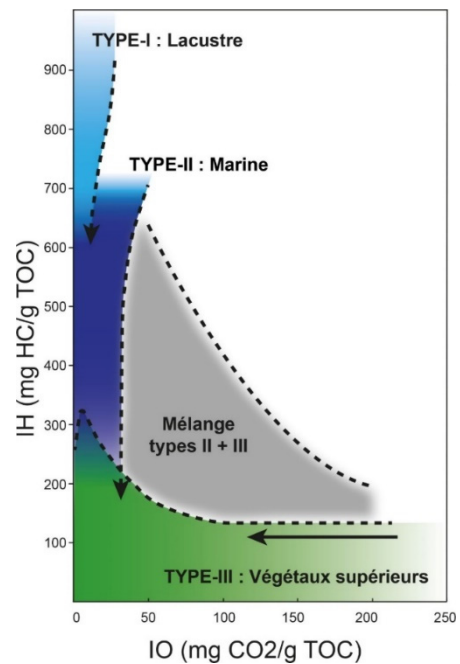


Figure III.2 : Diagramme de Van Krevelen modifié d'après Espitalié *et al.* (1985). Les flèches indiquent l'évolution des types de MO lors de l'enfouissement.

Les échantillons présentant un pic S2 < 0,3 (mg/g) ont été retirés de la base de données car leur IH n'est pas interprétable. De plus, quelques échantillons ont présenté des valeurs d'IO très élevées incompatibles avec des valeurs normales présentes dans la MO (>250-300 mg CO₂/g TOC). Certains types de carbonates comme la sidérite sont susceptibles d'avoir perturbé la mesure de l'IO de certains échantillons et ceux-ci ont donc été retirés. Après traitement des données, près de 90 échantillons ont effectivement été interprétés en termes d'IH, d'IO et de T_{max}.

Les indices IH et IO se rapprochent, respectivement, des rapports atomiques H/C et O/C. Placés dans un diagramme de Van Krevelen modifié, ils permettent de préciser le type de MO et son état de préservation (**Figure III.2** ; Espitalié *et al.* 1985). Enfin, les valeurs de COT données par le Rock-Eval sont en parfait accord avec celles mesurées par ailleurs sur les mêmes échantillons, c'est-à-dire, soit au LECO après décarbonatation (pour 4 échantillons), soit par calcul (**Figure III.3**).

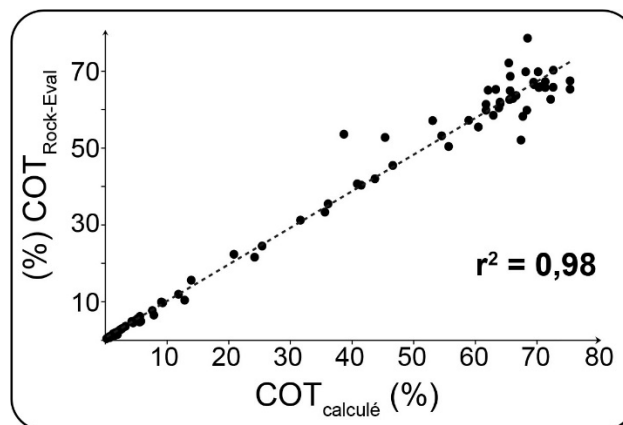


Figure III.3 : Corrélation COT calculé vs COT mesuré au Rock-Eval.

2. Géochimie isotopique de la matière organique totale

2.1. Analyses isotopiques du carbone organique ($\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$)

Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ des échantillons du Pliensbachien-Toarcien (Taskomirsay) ont été mesurées à Parme, en Italie, sur 111 échantillons décarbonatés à l'aide d'un analyseur élémentaire Carlo Erba EA1110 couplé à un spectromètre de masse ThermoFinnigan delta plus XP. La quantité requise d'échantillon pour les analyses $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ dépend de sa teneur en COT. Cette quantité a été déterminée expérimentalement et est de $\sim \frac{2,3}{\text{COT}}$ mg (Storme et Yans, com.

pers.). On peut en général accepter une variation de $\pm 20\%$ tout en ayant un signal suffisant dans le spectromètre de masse. Cette quantité a directement été pesée dans des capsules en étain avant d'être introduite dans le four de l'analyseur élémentaire porté à $1025\text{ }^{\circ}\text{C}$. Le carbone organique de l'échantillon y est oxydé en CO_2 et transporté par un flux d'hélium (gaz inerte) jusqu'au spectromètre de masse où il est ionisé et séparé en fonction de sa masse. Les mesures de la composition isotopique ont été calibrées à l'aide de standards internes, puis normalisées selon le standard international Vienna PeeDee Belemnite (VPDB ou PDB). Cette calibration se fait pour chaque série à l'aide des mesures obtenues sur des standards internationaux (Sucre IAEA-CH-6, huile NBS-22 et graphite USGS-24 pour l'isotopie ; urée, cellulose, polyéthylène pour le contenu organique (Storme, 2013). Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ a été calculé selon :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{org}} (\text{‰}) = \frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{échantillon}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{standard}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{standard}}} \times 1000$$

La précision des mesures est $< 0,2\text{‰}$.

Les teneurs en carbone et les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des rondelles et des poudres de bois de l'expérience de diagenèse ont été obtenues à Paris (IEES) en 2015 à l'aide d'un analyseur élémentaire Vario PYRO cube, couplé à un spectromètre de masse IsoPrime micromass connecté à un système de dilution micromass. Le système a été calibré avec de la tyrosine, un acide aminé ($\text{C} = 59,66\%$, $\delta^{13}\text{C} = -23,20\text{‰}$), utilisé comme standard interne, elle-même calibrée par rapport au VPDB. La précision des mesure est ici $< \pm 0,6\%$ pour la teneur en carbone et $< \pm 0,2\text{‰}$ pour sa composition isotopique.

2.2. Analyses isotopiques de l'azote organique ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$)

Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont été déterminées à Paris (IEES) sur le même appareil utilisé que pour le $\delta^{15}\text{N}$ des bois issus de l'expérience de diagenèse. Des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont été acquises pour les trois périodes climatiques étudiées et l'expérience de diagenèse :

- (i) 52 échantillons sur la coupe de Taskomirsay au Kazakhstan (Pliensbachien-Toarcien)
- (ii) 21 échantillons sur les coupes de Fadeevski (18) et Belkovski (3) en Arctique Russe (Paléogène)
- (iii) 32 échantillons sur la carotte du Bassin de Rennes (Eocène-Oligocène)
- (iv) 53 rondelles de bois et 20 poudres de bois actuelles.

Les teneurs en azote et les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des échantillons ont été mesurées à l'aide d'un analyseur élémentaire Flash 2000, couplé à un spectromètre de masse Thermo Scientific Delta V plus connecté à un système de dilution ConFlo IV. Le système a également été calibré avec de la tyrosine (%N = 7,73%, $\delta^{15}\text{N} = 0,3\text{‰}$), elle-même calibrée sur les standards internationaux IAEA-N1 ($\delta^{15}\text{N} = 0,3\text{‰}$), IAEA-N2 ($\delta^{15}\text{N} = 20,1\text{‰}$) et IAEA-N3 ($\delta^{15}\text{N} = 4,5\text{‰}$). Les mesures obtenues de la composition isotopiques ont été normalisées selon la référence internationale N₂-air (Mariotti, 1983). La précision des mesures sur les échantillons de bois est détaillée dans l'article du **Chapitre IV**.

L'analyse du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ des sédiments suppose de séparer l'azote organique de l'azote inorganique. De plus, compte tenu de la faible quantité d'azote d'un certain nombre d'échantillons sédimentaires, des **corrections isotopiques spécifiques** ont été nécessaires. Elles sont détaillées dans le §2.2.3. Les paragraphes qui suivent ne font références qu'aux échantillons sédimentaires, les bois de l'expérience de diagenèse en sont exclus.

2.2.1. Prétraitements et calcul du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$

La séparation de l'azote inorganique et organique n'est pas aisée et les traitements, acides notamment, peuvent altérer le signal isotopique (Harris *et al.*, 2001; Larson *et al.*, 2008). De plus, l'azote inorganique est généralement adsorbé dans les espaces interstitiels des argiles sous forme d'ammonium (N_{bnd} , pour « bound »; Müller, 1977; Schubert et Calvert, 2001) et est donc difficile à retirer sans affecter la matière organique. Pour ces raisons, des aliquotes ont été traitées pour retirer l'azote organique (N_{org}), avant de mesurer la teneur en azote inorganique (N_{bnd}) et sa valeur isotopique ($\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$). En parallèle, la teneur en azote total (N_{tot}) et sa valeur isotopique ($\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$) ont été mesurées sur l'échantillon parent décarbonaté. Puis, par un bilan de masse, la valeur de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a été recalculée suivant :

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}} = \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}} \times 100 - \delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}} \times (100 - F_r N_{\text{org}}))}{F_r N_{\text{org}}}$$

Avec $F_r N_{\text{org}}$, la fraction d'azote organique de l'échantillon calculée selon :

$$F_r N_{\text{org}} = \frac{(\%N_{\text{tot}} - \%N_{\text{bnd}})}{\%N_{\text{tot}}} \times 100$$

L'élimination de l'azote organique sur les aliquotes se fait par une attaque acide lourde à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium-bromure de potassium (KOH-KBr) suivant le protocole de Silva et Bremner (1966), modifié par Storme (2013). Le protocole détaillé est en **Annexe 2**. En résumé, environ 1g d'échantillon préalablement décarbonaté a été pesé dans un bécher, avant d'y ajouter 20 ml de solution de KOH-KBr à 2mol/L préparée en amont (*cf.* **Annexe 2**). Chaque bécher contenant son échantillon et ses 20 ml de solution a été positionné sur un agitateur magnétique, sous hotte, pour homogénéisation, et ce pendant 2 h. Après les 2 h, 60 ml d'eau distillée ont été ajoutés dans chaque bécher avant de porter la solution résultante à ébullition dans un bain d'huile, pendant au moins 5 minutes. Après ébullition, l'échantillon a été récupéré dans des tubes à centrifugeuse, avant de reposer pendant la nuit. Le jour suivant, les échantillons ont été rincés par centrifugation successive (2 x 2 min à 4000 rpm) avec une solution de KCl à 0,5 mol qui empêche la ré-adsorption de l'ammonium par les argiles et permet de complexifier celui-ci en sels solubles. Ces sels ont ensuite été évacués par deux lavages à l'eau distillée. Les échantillons ont enfin été placés dans des verres de montre, séchés et re-broyés, avant d'être analysés.

2.2.2. Appareillage et méthode d'acquisition des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$

Les échantillons et aliquotes ont été analysés à Paris (IEES) entre 2014 et 2015 pour les trois périodes étudiées à l'aide du Flash 2000/Thermo Scientific Delta V décrit plus haut.

A la différence des échantillons de bois issus de l'expérience de diagenèse, la quantité minimale d'azote ($\sim 40 \mu\text{g}$) pour laquelle la valeur isotopique mesurée est fiable, n'est régulièrement pas atteinte. Cela concerne surtout les échantillons où l'azote organique a été retiré par le traitement KOH-KBr. Par exemple, dans les échantillons du Bassin de Rennes, jusqu'à 95 % de l'azote pouvait être présent sous forme organique. L'azote restant était donc en quantité infime, jusqu'à 0,02 %, voire 0,01 % de l'échantillon total. A 0,01 %, il est difficile d'atteindre 5 μg d'azote pour 45-50 mg d'échantillon. En fonction de la densité des sédiments la masse d'échantillon maximale dans la nacelle était comprise entre 40 et 60 mg.

Des mesures isotopiques sur des tyrosines contenant moins de 40 μg d'azote ont montré que la valeur isotopique des tyrosines était sous-estimée par rapport à sa « valeur réelle » connue (puisque c'est un standard) de **10,01 ‰**. Par conséquent, en considérant que le comportement de la tyrosine est similaire aux échantillons, la valeur isotopique des échantillons avec une quantité inférieure à 40 μg d'azote serait elle aussi sous-estimée. Une méthode a été développée pour corriger cette sous-estimation. Elle consiste à évaluer, pour chaque série, la

dérive isotopique des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de tyrosines, par rapport à la valeur « normale », en fonction de la quantité d'azote en jeu (**Figure III.4**). Ici la valeur « normale » correspond à la valeur réelle de la tyrosine plus celle du gaz vecteur, que l'on nomme la valeur brute. La moyenne des valeurs brutes « normales » des tyrosines, c'est-à-dire mesurées sur plus de 40 μg d'azote, sont ensuite soustraites à la valeur réelle (10,01 ‰). La valeur obtenue sert de **correction** pour toutes les valeurs brutes des échantillons. **La dérive isotopique** en fonction de la quantité d'azote ($< 40 \mu\text{g}$) est enfin modélisée pour obtenir une **correction supplémentaire**. Toute la démarche, de la correction à la correction supplémentaire des valeurs isotopiques sous-estimées, est décrite dans le **Tableau III.1**, à partir d'une série type.

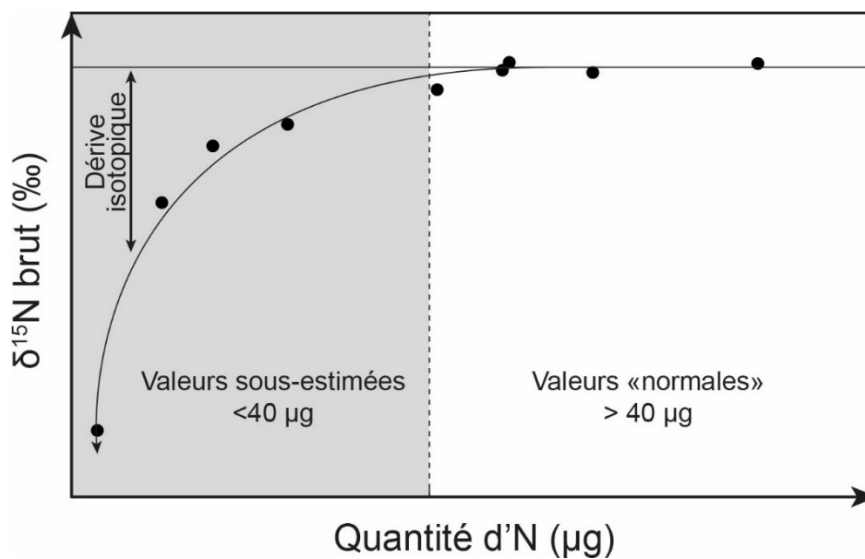


Figure III.4 : Corrélation entre le $\delta^{15}\text{N}$ des tyrosines et la quantité d'azote qu'elles contiennent sur une gamme de tyrosines allant de 3 à 77 μg d'azote.

2.2.3. Correction supplémentaire des valeurs isotopiques sous-estimées

Le **Tableau III.1** présente une **série type** où des valeurs isotopiques de tyrosines sont sous-estimées. La **gamme** est constituée de tyrosines avec différentes quantités d'azote et sert à modéliser la dérive isotopique des échantillons contenant moins de 40 μg d'azote. Les standards correspondent aux **tyrosines « normales »** contenant plus de 40 μg d'N et intercalés entre les échantillons d'une série. Les **tyrosines tests** servent d'échantillons dont la valeur isotopique, sous-estimée, doit être corrigée.

Dans cet exemple, la **valeur brute moyenne**, calculée à partir des tyrosines standards vaut 38,3 ‰ (colonnes vert foncé, **Tableau III.1**). Cette valeur est soustraite à la valeur réelle de la

tyrosine (10,01 ‰) pour obtenir une valeur de correction isotopique : -28,25 ‰. **La correction** est ensuite **ajoutée** aux valeurs brutes des tyrosines de la gamme, des standards et des échantillons afin d'obtenir une valeur isotopique corrigée, notée $\delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$ (**Tableau III.1**). La correction des valeurs isotopiques pour les échantillons contenant plus de 40 μg d'azote s'arrête là. Pour les échantillons contenant moins de 40 μg d'azote, il apparaît clairement que leur valeur de $\delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$ est sous-estimée de $\sim 1,2$ ‰ en moyenne, par rapport à la valeur réelle de 10,01 ‰ (car ici les échantillons sont des tyrosines). **La gamme de tyrosines**, placée au début de chaque série et couvrant différentes quantités d'azote permet alors de modéliser la dérive isotopique des échantillons contenant moins de 40 μg d'azote. Une correction additionnelle en est déduite comme suit :

On calcule la **différence isotopique** des tyrosines de la gamme entre la **valeur corrigée** et la **valeur réelle** (10,01 ‰). Cette différence isotopique, notée DI est calculée selon :

$$\text{DI} = 10,01 - \delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$$

Avec $\delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$ correspondant aux valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$ de la gamme de tyrosine (colonne grise, **Tableau III.1**). A partir de ces données, un diagramme « quantité d'azote » vs DI est construit (**Figure III.5**). La modélisation de la dérive isotopique s'opère ici grâce une régression linéaire du type $y = ax + b$. Elle permet alors de recalculer une différence isotopique (y) entre la valeur réelle de la tyrosine et la valeur corrigée pour « x » quantité d'azote.

Par exemple, pour la tyrosine 1 des tyrosines tests (échantillon), on recalcule une valeur isotopique suivant :

$$\delta^{15}\text{N}_{(\text{recorrigé})} = \text{DI} + \delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$$




Avec pour cette série :

$$\text{DI} = -0,0375 \times 13,51 + 1,7125$$

Soit en calcul numérique :

$$\delta^{15}\text{N}_{(\text{recorrigé})} = -0,0375 \times 13,51 + 1,7125 + 9,56 = 10,77$$

Tableau III.1 : Série type avec une gamme de tyrosine, des tyrosines standards et des tyrosines tests assimilées à des échantillons contenant moins de 40 µg. Le mode opératoire de traitement des valeurs isotopiques est indiqué. Les échantillons réels (sédiments) de la série ont été retirés pour plus de simplicité. DI, Différence Isotopique (voir texte). Les chiffres en vert sont les valeurs de DI utilisées pour modéliser la dérive isotopique.

	Ech.	$\delta^{15}\text{N}$ (brut)	Opération	$\delta^{15}\text{N}$ (corrigé)	Quantité N (µg)	DI	Opération	$\delta^{15}\text{N}$ (recorrigé)
Gamme de tyrosines	G1	33,82	+Correction	5,57	2,86	4,4	$\delta^{15}\text{N}_{(\text{recorrigé})} = -0,0375 \times (\text{Quantité N}) + 1,7125 + \delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$	7,18
	G2	36,65		8,40	10,06	1,61		9,73
	G3	37,35		9,10	15,78	0,91		10,22
	G4	37,62		9,37	24,13	0,64		10,17
	G5	38,05		Moyenne brute des Standards	9,80	40,84		0,21
	G6	38,26	38,26	10,01	58,24	0,00		9,54
	G7	38,29		10,04	48,11	-0,03		9,95
	G8	38,37	Ecart-type	10,12	76,65	-0,11		8,96
Tyro1	38,38	10,13		48,88		10,01		
Standards	Tyro2	38,35	0,16	10,10	39,63	$10,01 - \delta^{15}\text{N}_{(\text{corrigé})}$ 		10,33
	Tyro3	38,37	Calcul de la correction $10,01 - 38,26 = -28,25 \text{ ‰}$	10,12	48,46		10,01	
	Tyro4	38,33		10,08	49,64		9,93	
	Tyro5	38,20		9,95	40,94		10,13	
	Tyro6	38,37		10,12	49,82		9,97	
	Tyro7	37,89		9,64	39,57		9,86	
	Tyro1	37,81		9,56	13,51		10,77	
Tyro2	37,17	8,92		16,11	10,03			
Tyrosines testes	Tyro3	37,10	Calcul de la correction $10,01 - 38,26 = -28,25 \text{ ‰}$	8,85	17,75	Moyenne $\delta^{15}\text{N}$ (recorrigé)	9,89	
	Tyro4	37,39		9,14	14,54		10,31	
	Tyro5	36,88		8,63	13,58		9,83	
	Tyro6	37,41		9,16	10,94	10,46		
	Tyro7	37,03		8,78	12,85	10,01		
	Tyro8	36,49			8,24	10,50	Ecart-type	9,56
	Tyro9	36,75			8,50	11,52		9,78
	Tyro10	36,84			+Correction	8,59		13,80

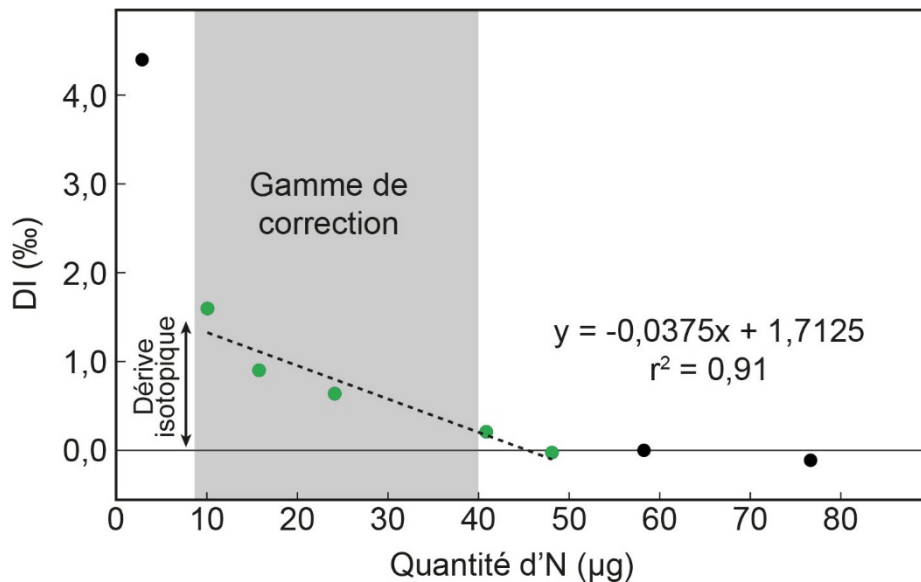


Figure III.5 : Régression linéaire entre la quantité d'azote d'une tyrosine de la gamme et la différence isotopique (DI) entre la valeur réelle et la valeur corrigée. Les données sont issues de la même série que celle utilisée dans la **Figure III.4**. Les points verts sont les points utilisés pour la régression linéaire.

Seuls les échantillons qui ont une quantité d'azote qui est couverte par la gamme de correction ont été recorrectés, typiquement, de 5 à 40 μg (**Figure III.5**). Il est également à noter que la moyenne des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des tyrosines tests est de 10,04 ‰, c'est-à-dire très proche de la valeur réelle de 10,01 ‰ (colonnes vert claire, **Tableau III.1**). Elles présentent toutefois un écart-type (σ) de $\pm 0,4$ ‰, soit deux fois plus élevé que l'erreur analytique en conditions normales (>40 μg d'N ; $\sigma = \pm 0,2$ ‰). Cela signifie que les valeurs isotopiques recorrectées sont très proches de la valeur réelle d'un échantillon, mais que l'erreur associée à la mesure est plus grande. Ceci a des implications importantes pour le calcul du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et la propagation des erreurs.

Erreur sur l'analyse

A partir de ces méthodes d'analyse et de traitement, l'erreur sur la valeur isotopique (σ) des échantillons a pu être déterminée. Sur l'ensemble des analyses des coupes étudiées, 525 tyrosines ont été analysées dont 244 <40 μg . Ces tyrosines ont permis de faire, pour chaque série d'échantillons, des gammes allant de ~ 5 à ~ 60 μg d'azote, afin d'estimer la dérive isotopique en fonction de la quantité d'azote, qui diminue en fonction de la quantité d'azote (**Figure III.6**). L'estimation de σ se complexifie alors quelque peu entre les échantillons avec plus de 40 μg d'azote et ceux dont il a fallu recorriger la valeur isotopique. En effet, même si la dérive isotopique en fonction de la quantité d'azote (<40 μg) va toujours dans le sens d'une sous-estimation de la valeur isotopique, elle n'a pas toujours la même amplitude à chaque série d'échantillons. Ceci s'illustre par un nuage de points qui tend vers une différence isotopique entre la valeur corrigée et la valeur réelle de plus en plus importante avec la baisse de la quantité d'azote en jeu (**Figure III.6**). C'est pourquoi il a été nécessaire de faire une gamme de tyrosine pour chaque série d'échantillons, comme dans l'exemple décrit plus haut où la dispersion des points de la gamme est moindre.

De ces traitements analytiques a résulté 4 types d'erreurs sur les mesures de $\delta^{15}\text{N}$ des échantillons (**Tableau III.2**). Elles ont été calculées pour chaque série sédimentaire étudiée (**Tableau III.2** ; **Figure III.6 A, B et C**). L'erreur isotopique appliquée sur une valeur dépend alors des conditions d'analyse de l'échantillon associé en fonction (i) de la quantité d'azote analysé et (ii) de l'utilisation de répliqués.

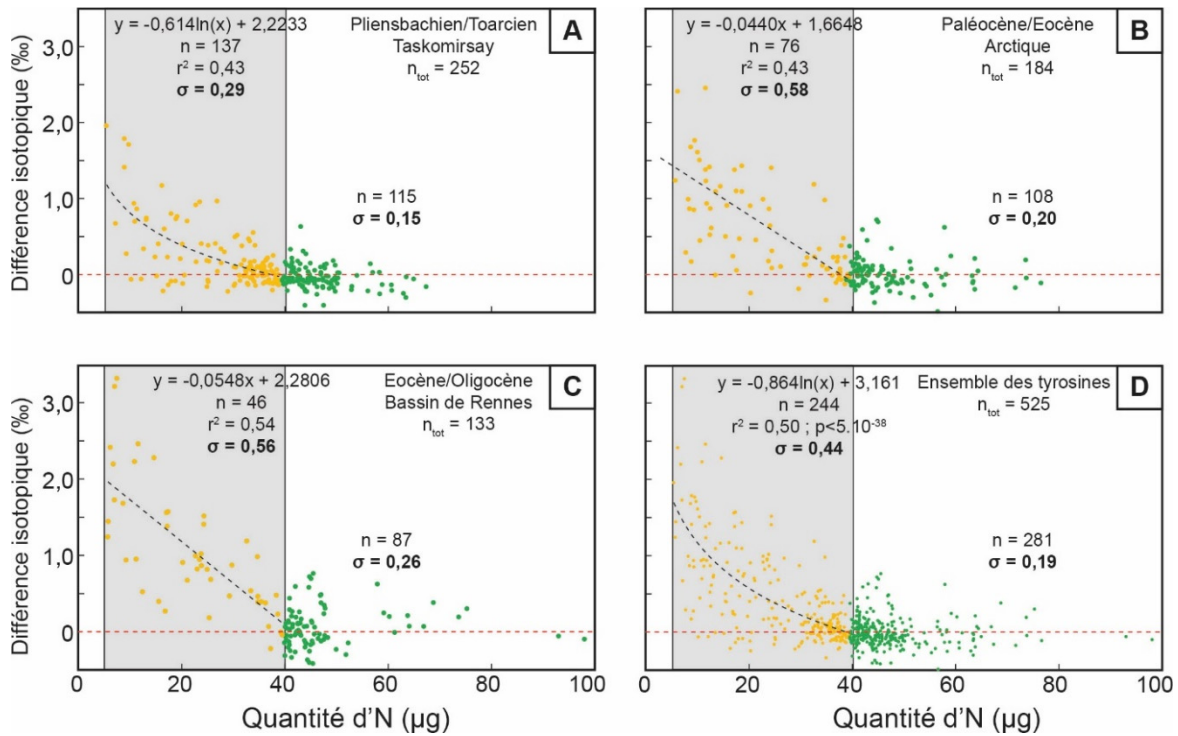


Figure III.6 : Diagrammes présentant la différence isotopique entre la valeur réelle de la tyrosine (10,01 ‰) et celle corrigée, en fonction de leur quantité d'azote, pour les échantillons du (A) Pliensbachien/Toarcien, du (B) Paléogène de l'Arctique, de (C) l'Eocène-Oligocène et (D) de l'ensemble des séries sédimentaires étudiées. Le nombre des tyrosines de l'ensemble n'est pas égal au total des tyrosines des trois périodes car quelques séries de tyrosines chevauchent deux périodes.

Différents types d'erreurs pour différents cas

1. La quantité de l'échantillon ne permet pas de faire des répliquats, mais la quantité d'azote de l'échantillon est $>40 \mu\text{g}$. Les conditions de la mesure sont donc optimales. Une correction additionnelle de la valeur isotopique n'est pas nécessaire.
 - ➔ L'erreur analytique correspond à l'erreur de l'appareil sous conditions optimales. Elle est déterminée par l'écart-type des valeurs de tyrosines $>40 \mu\text{g}$ d'azote, couvrant toutes les séries d'échantillons de la série sédimentaire étudiée (**Tableau III.2, A1, A2, A3**). Cet écart-type est donné pour chaque série sédimentaire dans la partie non grisée de la **Figure III.6 A, B et C**.

2. L'échantillon est analysé avec des répliquats dans les conditions optimales ($>40 \mu\text{g}$ d'azote). Une correction additionnelle de la valeur isotopique n'est pas non plus nécessaire. Ce cas conduit à la plus faible erreur sur la mesure.
 - ➔ L'erreur analytique est l'écart-type des valeurs des répliquats de chaque échantillon (**Tableau III.2, B1, B2, B3**).

3. La quantité de l'échantillon ne permet pas de faire des réplicats et la quantité d'azote de l'échantillon est $<40 \mu\text{g}$. Une correction additionnelle de la valeur isotopique est nécessaire.

➔ L'erreur correspond à l'erreur de l'appareil sous faible quantité d'azote. Elle est déterminée par l'écart-type des valeurs de tyrosines $<40 \mu\text{g}$ d'azote, couvrant toute les analyses de la série sédimentaire étudiée (**Tableau III.2, C1, C2, C3**). Cet écart-type est donné pour chaque série sédimentaire dans la partie grisée de la **Figure III.6 A, B et C**.

4. L'échantillon est analysé avec des réplicats sous faible quantité d'azote ($< 40 \mu\text{g}$ d'azote). Une correction additionnelle de la valeur isotopique est également nécessaire.

➔ L'erreur analytique est la même que pour le cas 3, sauf si l'écart-type des réplicats de l'échantillon est supérieur à celle-ci. Dans ce cas, on choisit toujours l'erreur la plus grande. Cependant, ce cas ne s'est produit qu'une seule fois pour un échantillon de l'Eocène-Oligocène du Bassin de Rennes.

Tableau III.2 : Erreur moyenne associée aux échantillons en fonction des conditions d'analyses et de la période étudiée. En vert, les codes repères utilisés dans le texte.

	Type d'erreur (σ)	Support	Valeur moyenne de σ selon les séries sédimentaires étudiées		
			Taskomirsay	Arctique	B. Rennes
A	appareil conditions optimales	Tyrosines $> 40 \mu\text{g}$	$< \pm 0,2$	$< \pm 0,2$	$< \pm 0,3$
B	échantillon conditions optimales	Réplicats $> 40 \mu\text{g}$ (au moins 2)	$< \pm 0,1$	$< \pm 0,1$	$< \pm 0,1$
C	appareil avec faible quantité d'azote	Tyrosines $< 40 \mu\text{g}$	$< \pm 0,3$	$< \pm 0,6$	$< \pm 0,6$
			1	2	3

L'ensemble des tyrosines a été analysé entre octobre 2014 et juillet 2015. Le comportement de leur valeur isotopique est similaire tout au long de cette période (**Figure III.6 D**). Une relation logarithmique significative ($p < 0,001$) existe entre la quantité d'azote et DI. Pour les tyrosines couvrant les échantillons de l'Arctique et du Bassin de Rennes, une relation linéaire suffit à expliquer le motif rencontré (**Figure III.6 B et C**). Une relation logarithmique a été préférée (meilleur r^2) pour les tyrosines couvrant les échantillons de Taskomirsay, au vu des quelques tyrosines faibles en azote ne présentant pas de différence isotopique (**Figure III.6 A**). Ces tyrosines ont été analysées à la fin de l'année 2014 et la raison de leur différence de comportement n'est pas connue.

2.2.4. Vérification de la justesse de la correction isotopique additionnelle sur des échantillons réels

Pour corriger les valeurs isotopiques des échantillons faibles en quantité d'azote (<40 μg d'azote), il a été supposé que le comportement de la tyrosine est semblable à celui de l'échantillon lors de la combustion (i. e. valeurs isotopiques sous-estimés dans la même mesure pour les tyrosines et les échantillons). Le **Tableau III.3** répertorie quelques échantillons où la valeur « vraie » de $\delta^{15}\text{N}$ a pu être mesurée (>40 μg d'azote), et comparée à des valeurs recorrigées sur la base (i) d'une **correction intrinsèque à la série d'échantillons** ou (ii) d'une **correction moyenne calculée sur l'ensemble des séries** d'échantillons de la période géologique concernée (**Figure III.6 A, B et C**). Les corrections *a posteriori* montrent des valeurs isotopiques plus variables, ce qui justifie l'utilisation d'une correction intrinsèque à la série d'échantillons concernée.

Tableau III.3 : Exemples de corrections de valeurs isotopiques sur des échantillons. La méthode a pu être validée sur des échantillons dont on a mesuré le $\delta^{15}\text{N}$ à la fois dans des conditions optimales et avec de faibles quantités d'azote. Les échantillons CDB1 correspondent au Bassin de Rennes, alors que les TP correspondent à Taskomirsay. La lettre « N » après un nom d'échantillon désigne un échantillon traité avec la solution KOH-KBr. *Correction intrinsèque à la série d'échantillon. **Correction moyenne calculée sur l'ensemble des séries d'échantillons de la période géologique concernée

	Echantillon	Date d'analyse	$\delta^{15}\text{N}$ (corrige)	Quantité N (μg)	$\delta^{15}\text{N}$ (recorrige)*	$\delta^{15}\text{N}$ (recorrige)**	Moyenne "réelle"	Moyenne*	Moyenne**	Remarques
Valeur "vraie" vs valeurs recorrigees	CDB1-585a	17/12/2014	5,53	12,43	-	7,13	5,66	-	-	Valeur moyenne "réelle" dans l'erreur des valeurs moyennes recorrigees ($\pm 0,6\%$)
	CDB1-585b	23/03/2015	5,68	44,57	-	-		-	-	
	CDB1-585c	23/03/2015	5,63	44,87	-	-		-	-	
	CDB1-585d	23/03/2015	4,87	17,15	6,41	6,21		6,09	5,88	
	CDB1-585e	23/03/2015	4,21	16,95	5,77	5,56		-	-	
	TP1-76a	04/12/2014	2,73	24,50	-	2,99	3,21	-	3,13	Valeur moyenne "réelle" dans l'erreur des valeurs moyennes recorrigees** ($\pm 0,3\%$), indépendamment de la date à laquelle la série est passée
	TP1-76b	04/12/2014	2,99	23,53	-	3,27		-	3,03	
	TP1-76c	11/12/2014	2,82	26,73	-	3,02		-	-	
	TP1-76d	11/12/2014	2,84	27,41	-	3,03		-	-	
	TP1-76e	22/06/2015	3,25	48,09	-	-		-	-	
	TP1-76f	22/06/2015	3,18	53,61	-	-		-	-	
	TP1-89a	04/12/2014	2,84	28,33	-	3,01	3,38	-	3,02	Valeur moyenne "réelle" un peu au-dessus de l'erreur de la valeur moyenne recorrigee** ($\pm 0,3\%$)
	TP1-89b	04/12/2014	2,93	32,55	-	3,02		-	-	
TP1-89c	02/04/2015	3,43	42,99	-	-	-		-		
TP1-89d	02/04/2015	3,33	44,60	-	-	-		-		
Valeur recorrigee via correction de serie (*) vs valeur recorrigee via correction moyenne des series (**)	TP3-169a	12/12/2014	2,35	10,87	-	3,11	-	-	3,21	Valeur moyenne des valeurs recorrigees* dans l'erreur des valeurs moyennes recorrigees** ($\pm 0,3\%$)
	TP3-169b	12/12/2014	2,52	10,31	-	3,31		2,93	2,91	
	TP3-169c	22/06/2015	2,53	20,18	2,93	2,91		-	-	
	TP3-169d	22/06/2015	2,56	21,13	2,94	2,91		-	-	
	TP3-224a	26/11/2014	1,60	11,42	-	2,32	-	-	-	Les valeurs recorrigees** à posteriori sont beaucoup plus variables que celles recorrigees* à partir d'une gamme intrinsèque à une série d'échantillons
	TP3-224b	12/12/2014	3,06	15,29	-	3,61		-	3,45	
	TP3-224c	12/12/2014	2,75	15,45	-	3,29		2,87	2,80	
	TP3-224d	02/04/2015	2,47	19,89	2,93	2,85		-	-	
	TP3-224e	02/04/2015	2,34	19,37	2,82	2,74		-	-	
	TP3-224Na	26/11/2014	1,79	11,83	-	2,50		-	-	
	TP3-224Nb	12/12/2014	3,20	15,50	-	3,74	-	-	3,78	
	TP3-224Nc	12/12/2014	3,30	15,98	-	3,82		3,40	3,36	
	TP3-224Nd	02/04/2015	2,89	16,86	3,41	3,38		-	-	
TP3-224Ne	02/04/2015	2,88	17,62	3,39	3,34	-		-		

3. Géochimie moléculaire

La géochimie moléculaire permet une analyse très fine, mais sélective, de la matière organique. Ces analyses ont été réalisées sur 25 échantillons du Pliensbachien-Toarcien afin de contraindre les sources de la matière organique et les conditions paléoenvironnementales à Taskomirsay durant cette période.

Un certain nombre de molécules, regroupées sous le nom de **biomarqueurs** ou fossiles chimiques, permettent de reconstituer les sources de la matière organique, ainsi que les processus environnementaux et diagénétiques qui les ont vu évoluer (Simoneit, 2005). Ils sont relativement résistants à la biodégradation et peuvent se trouver sous différentes formes : aliphatique, aromatique, cétone, alcool ou acide (Killops et Killops, 2005; Simoneit, 2005). Dans l'ancien, la plupart des biomarqueurs sont défonctionnalisés (cétones, alcools et acides), ils perdent ainsi leur polarité (Simoneit, 2005). C'est pourquoi la **fraction apolaire** a été privilégiée dans le cadre de cette thèse. Elle est défonctionnalisée et contient la majeure partie des biomarqueurs aliphatiques et aromatiques.

Plus particulièrement, ce sont les ***n*-alcane**s qui ont été analysés au cours de cette thèse. Ce sont des hydrocarbures aliphatiques dont la longueur de chaîne correspond généralement à des producteurs spécifiques. Ainsi les *n*-alcanes à **chaînes longues** ($>C_{25}$) sont plus particulièrement issus de la cire épicuticulaire des plantes supérieures (Eglinton *et al.*, 1962; Eglinton et Hamilton, 1967), alors que les *n*-alcanes à **chaînes moyennes** ($C_{21} \leq n$ -alcanes $\leq C_{25}$) sont plutôt produits par les plantes aquatiques (Baas *et al.*, 2000; Ficken *et al.*, 2000; Nott *et al.*, 2000; Bechtel *et al.*, 2007). Les *n*-alcanes plus courts sont quant à eux souvent associés à la biomasse algo-bactérienne (Blumer *et al.*, 1971; Giger *et al.*, 1980; Cranwell *et al.*, 1987; Meyers, 1997). La longueur de chaîne des *n*-alcanes apporte donc des informations sur les sources de la matière organique. Mais la longueur de chaîne moyenne (**ACL**) peut également être un indicateur des conditions d'humidité. En effet, les plantes supérieures peuvent notamment produire ces *n*-alcanes pour se prémunir des pertes en eau. Plus leur quantité et leur longueur est importante, plus leur protection est forte, ce qui indique une baisse de la disponibilité en eau et donc des conditions plus sèches (Weete *et al.*, 1978; Gagosian et Peltzer, 1986; Gauvrit et Gaillardon, 1991; Shepherd et Wynne Griffiths, 2006). La première étape pour obtenir de telles informations consiste à extraire les lipides qui contiennent ces fameux *n*-alcanes.

3.1. Extraction et séparation des lipides

Les lipides de 25 échantillons ont été extraits au sein du laboratoire METIS à Paris 6 à l'aide d'un extracteur automatique, **Accelerated Solvent Extractor** (ASE 100, Dionex © ; *cf. Annexe 3*) avec un mélange de dichlorométhane (DCM) et de méthanol (MeOH) en proportion 2/1 (v/v). Les échantillons ont été placés dans des cellules de 34 mL, puis dans l'ASE avec le protocole d'extraction suivant : température à 60 °C, un temps statique de 20 min, flush (apport solvant frais) à 100% et 100 s de purge, le tout répété trois fois par échantillon. Les extraits lipidiques ont ensuite été concentrés par évaporation sous vide, puis sous flux continu d'azote gazeux. Les extraits lipidiques totaux ont été séparés sur une colonne d'alumine en une fraction apolaire et une autre polaire (*cf. Annexe 3*). **La fraction apolaire** a été éluée avec une solution d'heptane/DCM 99/1 (v/v), alors que la **fraction polaire** a été éluée avec une solution de DCM/MeOH 2/1 (v/v).

Les composés aliphatiques (fraction F1) et aromatiques (fraction F2) de la **fraction apolaire** ont ensuite été séparés pour permettre les analyses isotopiques sur composés spécifiques. En effet, la GC-IRMS (*cf. 3.3.*) nécessite des pics bien résolus en GC-MS (*cf. 3.2.*). Cette séparation s'est effectuée à l'ISTO à Orléans par élution sur mini colonnes (pipettes Pasteur) de silice de type Kieselgel, avec de l'heptane 100 %.

La fraction polaire a été traitée pour récupérer les « branched Glycerol Dialkyl Glycerol Tetraethers » (brGDGT's). Ces molécules ont pu être utilisées pour des reconstructions de paléotempérature. Le protocole associé à leur analyse est décrit dans « **Paleoclimatic changes at the Pliensbachian-Toarcian transition recorded by δD of *n*-alkanes and $\delta^{15}N_{org}$ in a continental section from central Asia (Taskomirsay, South Kazakhstan)** », *cf. Chapitre V*.

3.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Avant toute analyse en masse, chaque fraction apolaire a été injectée dans un chromatographe à phase gazeuse (GC) couplé à un détecteur à ionisation de flamme (FID) Varian 3900 au sein du laboratoire METIS à Paris 6. L'objectif était de s'assurer des bonnes concentrations des différents constituants avant l'injection en spectrométrie de masse (SM) afin de ne pas saturer le spectromètre de masse. Le GC-FID comporte une colonne VF5-M5 (Varian) de dimension 50 m x 0,32 mm (i.d., 0,12 μ m d'épaisseur de phase stationnaire) et a

un débit de 2ml/min. Chaque échantillon est injecté dans 1 μ l d'heptane avec le programme de température suivant : 80 °C pendant 30 s, puis une augmentation de 10 °C/min jusqu'à 100 °C et 4°C/min jusqu'à 325 °C avec un isotherme à 325 °C pendant 30 min. La température de l'injecteur et du détecteur est de 350 °C et le flux d'hélium constant, maintenu à 2 ml/min.

Une fois la concentration de l'échantillon vérifiée et ajustée si nécessaire, l'échantillon a pu être injecté en GC-MS. Avant l'injection, de l'alcane-C₁₂ a été ajouté en tant que standard interne, afin d'identifier et de quantifier les différents composés. L'injection s'est faite en mode « splitless » (injection totale de l'échantillon en une fois) avec une température d'injecteur à 320 °C sur un chromatographe Agilent 6890N *Network* GC System couplé à un spectromètre de masse Agilent 5973 *Network* Mass Selective Detector. Le GC est équipé d'une colonne Restek RTX-5Sil-MS de dimension 30 m x 0,25 mm (i.d., 0,5 μ m d'épaisseur de phase stationnaire) avec un débit constant d'hélium à 1 ml/min. Les conditions opérationnelles ont été les suivantes : une température initiale de 80 °C pendant 30 s, puis une augmentation de 10 °C/min jusqu'à 100 °C, suivie d'une augmentation jusqu'à 320 °C à 4°C/min, et une isotherme finale à 320 °C pendant 20 min. Le spectromètre de masse a opéré en mode ionisation électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV et un scan compris entre 35 et 800 Da.

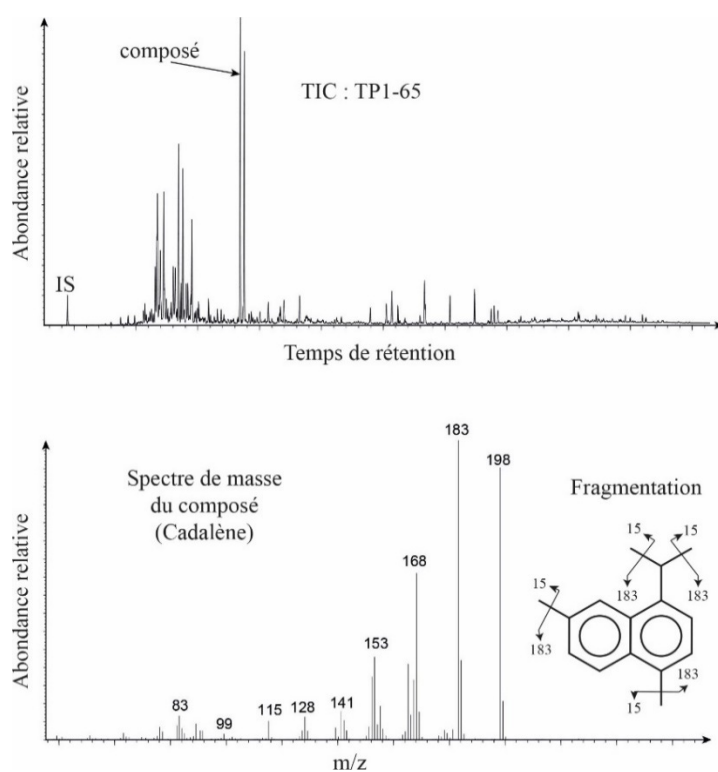


Figure III.7 : Fraction apolaire de l'échantillon TP1-65 de Taskomirsay. Le composé est identifié par son spectre de masse (fonction de la fragmentation de la molécule) et son temps de rétention par rapport aux autres composés. Ici, le cadalène. La valeur de l'aire du cadalène est normalisée à l'aire du pic du standard interne (SI) de l'alcane C₁₂ mesuré sur le chromatogramme ionique total (TIC).

Les biomarqueurs ont pu être identifiés et quantifiés à l'aide du logiciel Agilent MSD Chemstation Enhanced Data Analysis (**Figure III.7**). Les pics ont été intégrés manuellement pour obtenir l'aire de chaque pic. La détermination des différents composés s'est faite en (i) interprétant les spectres de masse, (ii) en les comparant à des spectres publiés et préalablement identifiés, (iii) grâce au temps de rétention des composés et enfin (iv) grâce à la co-injection de standards internes connus, notamment pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques (non traités dans ce mémoire). Les valeurs des aires sont alors normalisées à l'aire du pic du standard de l'alcane-C₁₂, dont on connaît la quantité, mesurée sur le chromatogramme ionique total (TIC). Puis, le résultat est normalisé par la quantité de COT de l'échantillon. On obtient au final des concentrations exprimées en µg/g COT. La quantification des différents constituants co-élus a pu être effectuée grâce à l'intensité relative du fragment caractéristique (m/z) de chaque molécule co-élue. Par exemple, 99 pour les *n*-alcane et 183 pour le cadalène.

3.3. Géochimie moléculaire isotopique

Les isotopes de l'hydrogène (δD) ont été mesurés sur les *n*-alcane de 18 échantillons. Le δD sur composés spécifiques, et pas seulement les *n*-alcane, est très utilisé comme marqueur paléohydrologique depuis une quinzaine d'années (i) au **Quaternaire** (Chikaraishi et Naraoka, 2003; Sachse *et al.*, 2004, 2006, 2012; Hou *et al.*, 2006; Jacob *et al.*, 2007; Mügler *et al.*, 2008; Aichner *et al.*, 2010; Rao *et al.*, 2014), (ii) au **Cénozoïque** (Andersen *et al.*, 2001; Pagani *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2007; Handley *et al.*, 2012; Garel *et al.*, 2013) et même (iii) au **Paléozoïque** (Dawson *et al.*, 2004; Izart *et al.*, 2012), ce qui atteste de la robustesse de ce marqueur à travers le temps et ce même dans des sédiments matures comme le suggère certains auteurs (Kikuchi *et al.*, 2010). Par ailleurs, à notre connaissance, c'est la première fois que le δD des *n*-alcane est mesuré à des fins de reconstruction paléohydrologique au Jurassique (Radke *et al.*, 2005).

Avant de déterminer la composition isotopique de biomarqueurs spécifiques, il est nécessaire de bien les identifier et qu'ils soient également bien isolés (comme décrit précédemment) pour éviter le mélange de deux composés de deux compositions isotopiques distinctes. Une fois les fractions F1 et F2 bien séparées, la composition isotopique des *n*-alcane et de certains autres biomarqueurs a pu être déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de rapport isotopique (**GC-irMS**). Cela a été effectué grâce à un GC-Trace Ultra avec une interface de combustion Isolink et un système de dilution ConFlo

IV (Thermo Scientific©) couplé à un spectromètre de masse DeltaV Advantage. Les composés sont séparés dans le GC et transportés dans l'interface de pyrolyse où ils sont transformés en H₂. Le gaz est alors ionisé et séparé suivant les m/z 2 et 3 (hydrogène et deutérium). Les valeurs de δD mesurées sont calibrées par rapport à un gaz de référence, dont la composition isotopique en hydrogène est contrôlée tous les 4 échantillons à l'aide d'un mélange de *n*-alcanes (Arndt Schimmelmann, Indiana University, Bloomington, IN, USA) au δD mesuré off-line. Les résultats obtenus ont été normalisés selon le standard SMOW.

$$\delta D = \frac{\left(\frac{D}{H}\right)_{\text{échantillon}} - \left(\frac{D}{H}\right)_{\text{standard}}}{\left(\frac{D}{H}\right)_{\text{standard}}} \times 1000$$

Avec D, la quantité de deutérium et H la quantité d'hydrogène. Le δD a pu être mesuré principalement sur les *n*-alcanes des chaînes courtes à chaînes longues (*n*-C₁₇ à *n*-C₃₅) et, plus rarement, sur certains autres biomarqueurs aliphatiques et même aromatiques. Le δD des molécules de végétaux supérieurs dépendant notamment de la quantité de précipitation et de la température (Sachse *et al.*, 2012 et références associées), son étude aidera à reconstituer les conditions paléohydrologiques passées pour les confronter au signal du δ¹⁵N_{org}.

Conclusion du Chapitre III

Les méthodes utilisées au cours de cette thèse sont variées et apportent chacune leur lot d'informations : des sources de la matière organique (δ¹³C_{org}, IH, IO, géochimie moléculaire) à la préservation de celle-ci (T_{max}, IH, IO, géochimie moléculaire) en passant par les conditions paléoenvironnementales (géochimie moléculaire, δD, GDGT's). Ce dernier élément est capital pour permettre des comparaisons précises entre les marqueurs des conditions paléoenvironnementales et le δ¹⁵N_{org}, dont l'objectif est de tester sa validité en tant que marqueur paléoclimatique.

Des précautions dans son interprétation sont à prendre compte tenu des difficultés analytiques exposées dans ce chapitre. Les solutions apportées à ces problèmes permettent toutefois de tirer le meilleur de l'analyse du δ¹⁵N_{org} dans les séries sédimentaires de Taskomirsay (Pliensbachien-Toarcien), de l'Arctique (Paléogène) et du Bassin de Rennes (l'Eocène-Oligocène).

Chapitre IV : Expérience de diagenèse

Objectifs :

Une expérience de diagenèse sur des **bois actuels** a été mise en œuvre au laboratoire METIS/IEES pour tenter de répondre aux questions posées **Chapitre II.9**. Quelle est l'influence de la diagenèse précoce sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$? Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est-il valable comme marqueur paléoenvironnemental ? La plupart des études portant sur le sujet se sont focalisées sur des expériences de dégradation de terrain avec la méthode des sacs de litière, mais aucune ne s'est focalisée sur le bois et encore moins **dans l'eau**. Or, les **milieux de sédimentation/préservation** de la matière organique sont le plus souvent aquatiques à subaquatiques, que ce soit des environnements marécageux, lacustres ou encore deltaïques. Les conditions de sédimentation/préservation de la matière organique sont meilleures dans ces milieux car la proportion d'oxygène est moindre comparée à la proportion d'oxygène dans l'air (Tissot and Welte, 1984). Il est donc nécessaire d'évaluer l'impact de la dégradation du matériel organique terrestre sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dans un milieu aquatique.

Méthode :

Des morceaux de bois ont été mis à dégrader dans de l'eau distillée (environnement témoin), de l'eau de rivière et de l'eau de mer. Les scans des morceaux de bois initiaux et à chaque prélèvement sont disponibles en **Annexe 4**. La même expérience a été menée en parallèle sur du bois à l'état de poudre pour accélérer sa dégradation.

La démarche scientifique, les techniques d'analyses, les principaux résultats et les discussions qui en découlent font l'objet d'un article en préparation pour ***Environmental Chemistry: Carbon and Nitrogen dynamics in incubated decaying wood: paleoenvironmental implications.***

Cet article porte uniquement sur les morceaux de bois immergés dans l'eau distillée et l'eau de rivière, car les échantillons immergés dans l'eau de mer n'ont, pour l'heure, pas pu être exploités. Les résultats obtenus sur les poudres de bois, dont l'interprétation est plus délicate, sont traités à la suite de l'article en commentaire.

1. Carbon and Nitrogen dynamics in incubated decaying wood: paleoenvironmental implications

Tramoy R.¹, Sebilo M.², Nguyen Tu TT³, Schnyder J.¹

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institut des Sciences de la Terre de Paris (iSTeP), 4 place Jussieu, 75005 Paris, France

²Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institute of Ecology and Environmental Sciences (IEES), 4 place Jussieu 75005 Paris, France

³Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, EPHE, Milieux Environnementaux, Transferts et Interactions dans les Sols (METIS), 4 place Jussieu, 75005 Paris, France

Abstract

Early diagenesis can potentially conceal an environmental signal. Wood pieces were incubated in two types of water (distilled water and river water) during 73 weeks in order to assess the effects of early diagenesis (microbial development) on carbon and nitrogen dynamics for paleoenvironmental purposes in an aquatic depositional setting. Elemental content and isotopic composition of carbon (C) and nitrogen (N) as well as mass of wood pieces were measured regularly. Mass losses of wood pieces in river water were three times greater, than in distilled water. This discrepancy was attributed to the development of two different types of fungi: soft-rot fungi in distilled water and white-rot fungi in river water. Carbon dynamic of wood pieces showed similar patterns with a sharp 2-3% increase, possibly related to carbohydrates degradation, before it slowly returned toward initial values. No significant changes in $\delta^{13}\text{C}$ values were recorded, in agreement with the usually low alteration of $\delta^{13}\text{C}$ values during early diagenesis. Nitrogen dynamics showed complex patterns with (i) N-release associated with ^{15}N -depletion (0.4‰ in average) of samples in distilled water and (ii) N-accumulation associated with ^{15}N -enrichment (1.3‰ in average) in river water. The first pattern was attributed to extraction of ^{15}N -enriched pool (i. e. proteins) by fungi. The second pattern was attributed predominantly to the importation of ^{15}N -enriched from nitrate of the river water, and to a minor extent, to microbial activity. The recovery of a primary signal of organic nitrogen isotopes in fossil archive is thus challenging, but we hypothesize that the early diagenesis averages an environmental signal by integrating individual signals (woods, fungi, water) and microbial processes. Considering the non-linear behavior of the early diagenesis, this integration is probably almost instantaneous at the geological scale, hence enabling paleoenvironmental reconstructions.

Keywords

Early diagenesis, N-accumulation, nitrogen isotopes, carbon isotopes.

1.1. Introduction

Carbon and nitrogen isotopic composition of terrestrial organic matter is widely used for reconstructing past environments for various periods of time (e. g. (Heaton, 1987; Austin and Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Terwilliger *et al.*, 2008; Storme *et al.*, 2012; Wan, 2012). However, paleoenvironmental investigations require to consider potential alteration of

the primary isotopic signal during early diagenesis (Freudenthal *et al.*, 2001; Lehmann *et al.*, 2002). Changes in $\delta^{13}\text{C}$ values of terrestrial organic matter (e. g. plant or litter material) during early diagenesis are well known and mainly attributed to a preferential loss of ^{13}C -enriched carbohydrates (Spiker and Hatcher, 1987; Melillo *et al.*, 1989; Bates and Spiker, 1992; Meyers *et al.*, 1995; Schleser *et al.*, 1999). On the contrary, nitrogen dynamic during terrestrial organic decay is more complex and, as a consequence, its impact on $\delta^{15}\text{N}$ values are not well constrained (Melillo *et al.*, 1984, 1989; Freudenthal *et al.*, 2001; Lehmann *et al.*, 2002; Berg and Laskowski, 2005). Indeed, it involves a dual competition between biotic and abiotic factors (e. g. Bunnell *et al.*, 1977; Austin and Ballaré, 2010): microbial processing vs N-sources and environmental conditions (Benner *et al.*, 1991; Connin *et al.*, 2001; Lehmann *et al.*, 2002; Kramer *et al.*, 2003; Asada *et al.*, 2005; Lerch *et al.*, 2010). In addition, changes in $\delta^{15}\text{N}$ values of wood during early diagenesis has not been assessed yet as most studies dealt with litterbags experiences on field (Melillo *et al.*, 1984, 1989; Benner *et al.*, 1991; Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005; Bragazza *et al.*, 2010) or soil incubation (Lerch *et al.*, 2010). Considering the importance of coarse woody debris in terrestrial organic matter (e. g. Fukasawa *et al.*, 2014), it is essential to assess the impact of early diagenesis on potential paleoenvironmental markers such as $\delta^{13}\text{C}$ or $\delta^{15}\text{N}$, for this material. As fungi are the most important decomposers of woody material (Eriksson *et al.*, 1990; Martínez *et al.*, 2005), we mainly focused on the biotic factors involved during early diagenesis.

Pieces of wood were incubated in water in order to assess the effects of early diagenesis on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of woody terrestrial organic matter. Wood pieces were immersed in (i) distilled water (DW) or (ii) river water (RW). Incubations conducted in DW was used as a control treatment, because microbial activity is considered to be minimal. Mass loss rates of decaying wood and carbon dynamic (C content and $\delta^{13}\text{C}$ values) were determined to identify the degradation rate and to the compounds preferentially degraded (e. g. carbohydrates vs lignin). The final aim was to evaluate the preservation potential of the initial $\delta^{15}\text{N}$ signal in fossil and terrestrial sedimentary organic matter.

1.2. Experimental section

Samples

Wood from a treetop branch of *Sciadopitys Verticillata* (Cupressaceae, conifer) was collected in December 2012, from a garden in Tokyo, Japan, after being 6 months on the

ground. Each extremities, as well as the bark were removed (**Figure IV.1**). The branch of *Sciadopitys* (~60 cm long; \varnothing ~3 cm) was then sliced in ~2 mm thick pieces, which were air-dried and weighted.

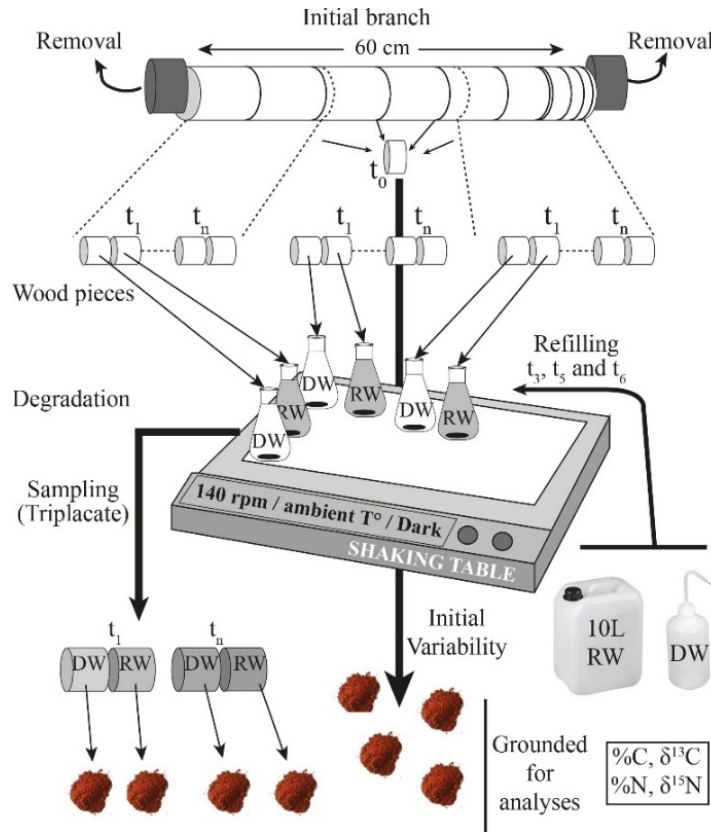


Figure IV.1: Outlines of the method used to evaluate nitrogen and carbon dynamics during wood decay of the initial coniferous branch. DW, Distilled Water. RW, River Water.

Experience design

Samples were submitted to microbial degradation in two different types of water with neutral pH: (i) a classical laboratory Distilled Water (DW) and (ii) a River Water (RW) from La Murette (Essonne, France), sampled in October 2013. RW was filtered with a Whatman filter (0.22 μm) before filling erlenmeyers. Samples were placed individually into erlenmeyers, with 75 ml of water (**Figure IV.1**). Erlenmeyers were covered with finely perforated aluminum paper to allow gas exchanges between water and the atmosphere. They were then continuously shaken in the dark under ambient air to keep waters oxygenated and inhibit the development of photosynthetic microorganism that could interfere with heterotrophs degrading microorganisms.

Initial River water was stored in a 10L canister in the dark and bubbled in order to keep it oxygenated. Filtered RW or DW were added in erlenmeyers at t_3 , t_5 , and t_6 to counter-balance evaporation in erlenmeyers.

After sampling, pieces of wood were rinsed with distilled water to remove superficial microorganisms and free-fungi. They were then frozen, freeze-dried, weighted, scanned and grounded for analyses with an ultra-centrifugal mill ZM-200 (80% of grain size $<40 \mu\text{m}$).

Isotopes

Carbon content and $\delta^{13}\text{C}$ values were determined by isotope-ratio mass spectrometry using an IsoPrime Micromass mass spectrometer connected to a Micromass dilution system, coupled with a vario PYRO cube analyzer for elemental analyses. Nitrogen content and $\delta^{15}\text{N}$ values were measured with a Thermo Scientific Delta V plus mass spectrometer connected to a ConFlo IV dilution system, coupled with a Flash 2000 analyzer for elemental analyses. Systems precision and accuracy were monitored using tyrosine (N=7.73%, $\delta^{15}\text{N}=10.01\text{‰}$ and C=59.66%, $\delta^{13}\text{C}=-23.20\text{‰}$) as internal laboratory standard, that was calibrated on international standards IAEA-N1 ($\delta^{15}\text{N} = 0.3\text{‰}$), IAEA-N2 ($\delta^{15}\text{N} = 20.1\text{‰}$) and IAEA-N3 ($\delta^{15}\text{N} = 4.5\text{‰}$) and expressed relative to N_2AIR for nitrogen and relative to VPDB for carbon. Nitrogen analyses were systematically performed in duplicates (n=51), while for carbon analyses, samples were analyzed in duplicate (n=12) every 10 samples. The overall precision (2σ) was $<0.002\%$ and $<0.6\%$ for N and C content, respectively, and $<0.2\text{‰}$ for N and C isotopes.

Initial variability of the branch and sampling strategy

Before launching the experience, 11 pieces of wood, randomly distributed along the branch, were selected to evaluate the initial variability of %C, $\delta^{13}\text{C}$, %N and $\delta^{15}\text{N}$. Carbon content and isotopes were in average of $47.5 \pm 0.5\%$ and $-24.1 \pm 0.1\text{‰}$, respectively, whereas nitrogen content and isotopes were in average of $0.08 \pm 0.01\%$ and $-0.2 \pm 0.5\text{‰}$, respectively (**Tableau IV.1**). In agreement with literature, initial variability of $\delta^{15}\text{N}$ values was much higher than for carbon (Poulson *et al.*, 1995; Bukata and Kyser, 2007; Leavitt, 2010). In addition, the $\delta^{15}\text{N}$ values were randomly distributed along the branch and showed extreme values from -0.8‰ to +1.1‰.

Tableau IV.1: Initial variability in %C, %N, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ along the initial branch. $\delta^{15}\text{N}$ values are much more variable along the branch, than $\delta^{13}\text{C}$ values. 2σ is two times the standard deviation of the values.

	Samples n	Elemental content (%)			Isotopic composition (‰)		
		Average	2 σ	Range	Average	2 σ	Range
<i>Carbon</i>	11	47.5	0.9	46.7; 48.3	-24.1	0.2	-24.3; -23.9
<i>Nitrogen</i>	10	0.08	0.02	0.07; 0.10	-0.2	1.0	-0.8; 1.1

The incubation experience was carried out during 73 weeks and wood pieces were collected at 2, 4, 8, 16, 32, 52 and 73 weeks, corresponding to t_1 to t_7 . Considering the initial variability of $\delta^{15}\text{N}$ values, triplicate samples were made for each type of water, meaning that 6 wood pieces were picked up at each sampling (three per type of water). Within triplicates, individual wood pieces were chosen according to their initial position along the initial branch, with a maximal distance between each other to be representative of the overall initial variability along the branch.

Water chemistry control

Water chemistry (SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , NO_3^- , NO_2^- and NH_4^+), was controlled in each type of water at t_0 , t_2 , t_3 , t_5 , t_6 and t_7 by spectrophotometry using a GALLERY. As expected, DW contained none or very low amount of these chemical compounds, without any forms of nitrogen (always <0.2 ppm). On the other hand, RW did contain significant amount of nitrates at t_0 (~ 20 ppm), which disappeared after t_2 (remained <0.1 ppm).

1.3. Results

1.3.1. Macroscopic observations and patterns of mass loss

At initial stage, all wood pieces showed areas with reddish-brown color, which may be attributed to black-rot or soft-rot fungi (**Figure IV.2 A and B**; Eriksson *et al.*, 1991). They were probably already within the branch, as wood decay starts as soon as a tree is cut (Fengel, 1991), or even before as living conifers are known for hosting fungi (Eriksson *et al.*, 1990). Alternatively, the branch has been colonized while it was on the ground. Translucent/whitish fungi developed within 2 weeks on wood pieces in DW, while no visible change occurred in RW. After 8 weeks (t_3), fungi turned brown/black on wood pieces in DW. After 16 weeks (t_4),

fungi were widespread on the latter (**Figure IV.2 A**) and RW's became cloudy, and yellowish, with millimeter floating particles (**Figure IV.2 B**). In addition, white-rot fungi developed on wood pieces in RW as indicated by their white mottled appearance, their whitish-yellow coloration, their brittle/spongy trait as well as their color uniformity (**Figure IV.2 B**; Eriksson *et al.*, 1991). Those features were not observed on samples in DW, suggesting that none or less white-rot fungi developed.

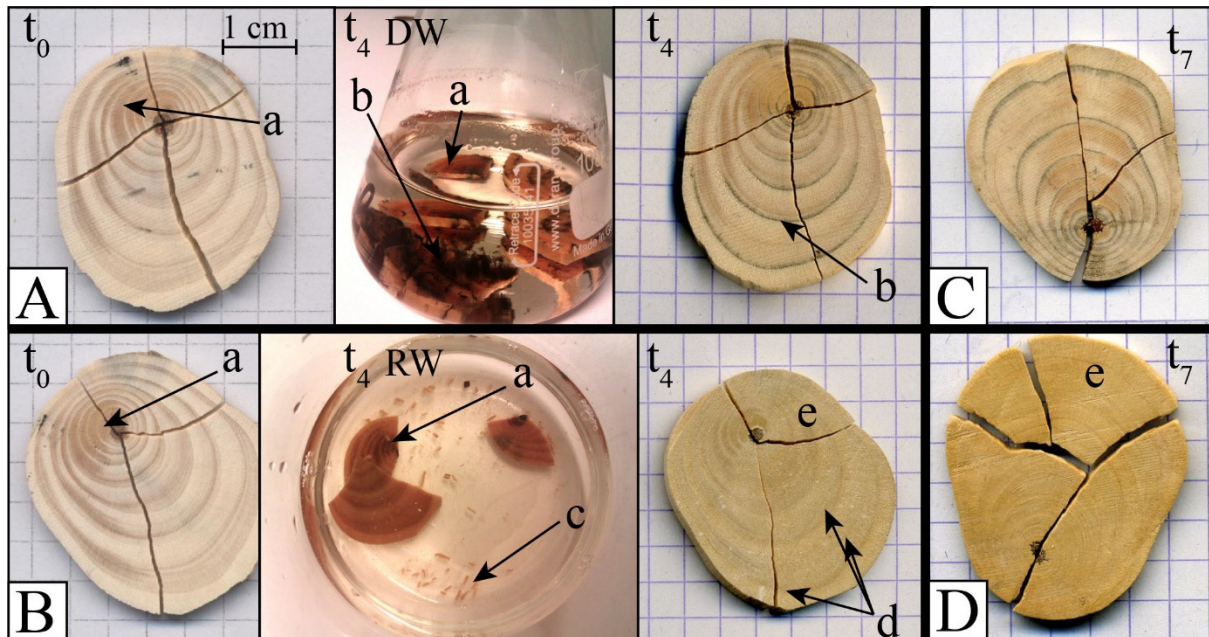


Figure IV.2: A and B, Morphology of samples before and after 16 weeks (t_4) of degradation. C and D, Morphology of other samples after 73 weeks (t_7). DW, Distilled Water; RW, River Water; a, reddish-brown color characterizing black-rot or soft-rot; b, Black fungi floating from the boundary of tree-rings; c, floating woody particles; d, white spots characterizing white-rot fungi; e, increasing uniformity of the coloration.

The mentioned degradation features became increasingly marked at the end of the experience (**Figure IV.2 C and D**). Growth-ring of wood pieces in DW became increasingly dark, while they were progressively erased in RW and numbers of floating woody particles increased, suggesting two different microbial communities.

Consequently, wood pieces in RW seemed to have been degraded faster than those in DW. The higher decay rate of samples in RW is confirmed by a weight loss of about 30% after 73 weeks (t_7), while it reached less than 10% for samples in DW (**Figure IV.3**). Considering that inorganic material is negligible in wood, the mass loss is attributed to organic matter loss. In addition, mass loss is linearly linked to time in both waters with a slope three times steeper for wood pieces in RW (-0.36), than in DW (-0.11; **Figure IV.3**).

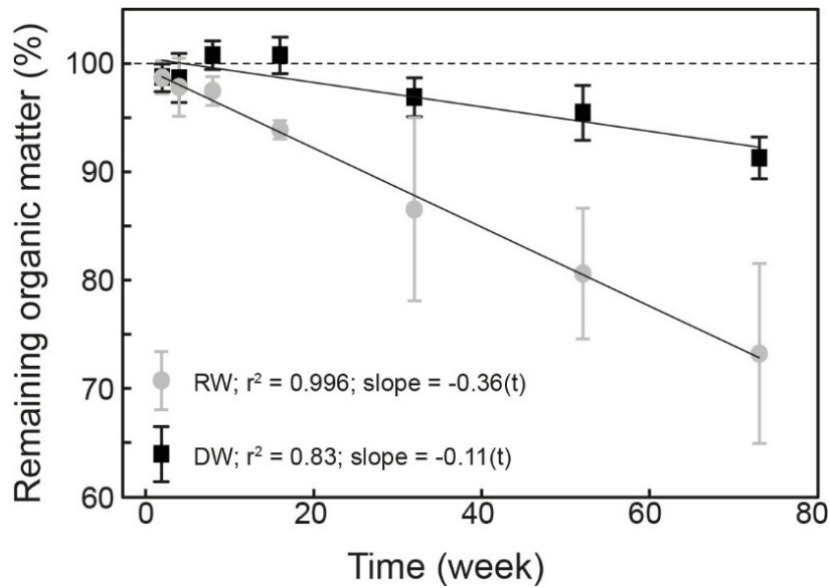


Figure IV.3: Mass loss of samples *versus* time. Error bars are the standard deviation (2σ), based on triplicates.

1.3.2. Carbon content and isotope patterns

Carbon content of wood pieces in both DW and RW increased fast between t_0 and t_1 (2 weeks), from 47.5% to 48.3% and 48.4%, respectively, until 32 weeks t_5 (**Figure IV.4 A**). Then they progressively tended toward initial values. Although a small increase of $\delta^{13}\text{C}$ values occurred (-24.1 at t_0 to -23.9‰ at t_4), it was in the range of the analytical precision ($\pm 0.2\%$; **Figure IV.4 B**). In addition, the floating woody particles were sampled at t_5 in an erlenmeyer containing RW. They significantly differed from the original piece of wood with (i) carbon content of 35% *versus* 50% in the original piece of wood (**Figure IV.4 A**) and (ii) $\delta^{13}\text{C}$ value of -22.6‰ *versus* -24.0 (**Figure IV.4 B**).

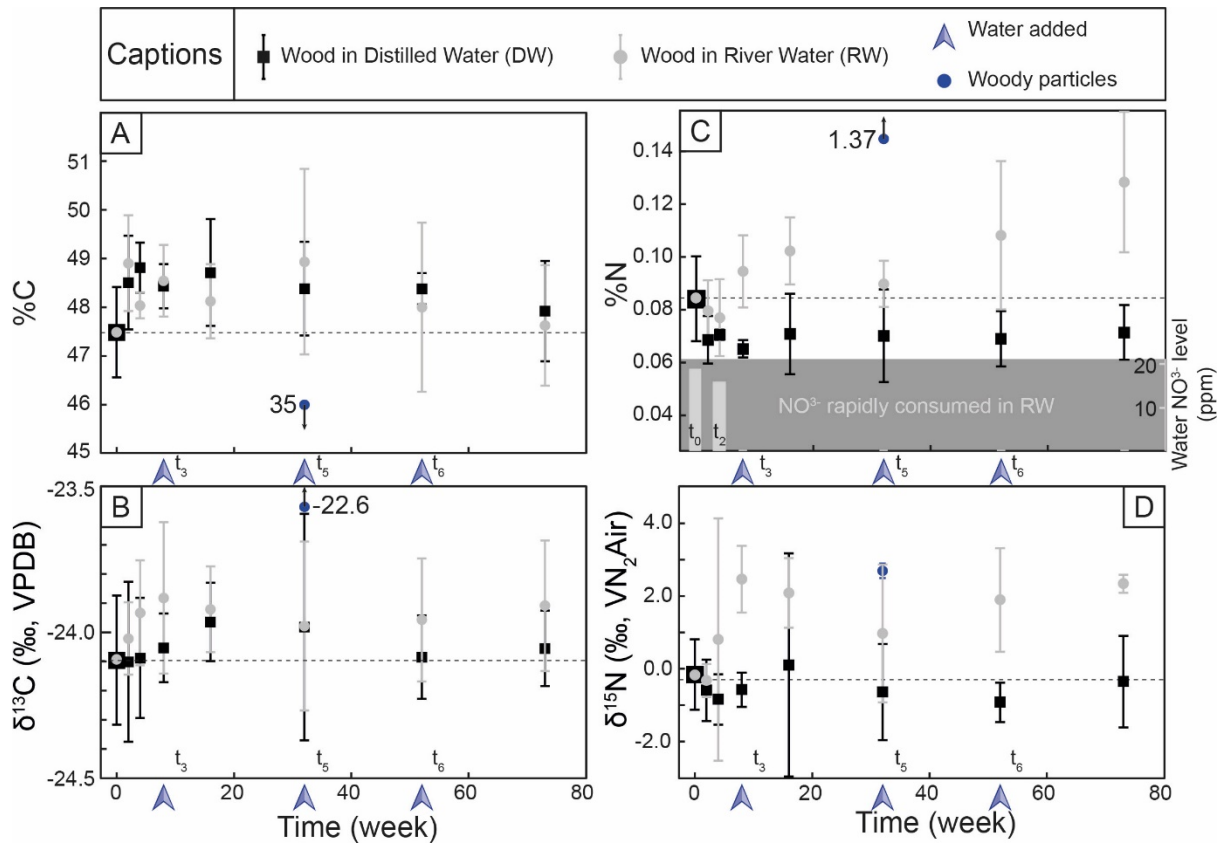


Figure IV.4: %C, $\delta^{13}\text{C}$, %N and $\delta^{15}\text{N}$ values of wood pieces vs time. Error bars (2σ) are also represented. At t_5 , woody particles have been analyzed, but without replicates. Error bar is the average error of devices: $\pm 0.6\%$ and $\pm 0.002\%$ for C and N content, respectively, and $\pm 0.2\%$ for carbon and nitrogen isotopes.

1.3.3. Nitrogen content and isotopes patterns

In opposite to carbon content, nitrogen content of wood pieces depicted two different patterns in function of the water type (**Figure IV.4 C**). The average %N of wood pieces in DW was 0.07%, significantly lower than the initial value (0.08%; $n=21$; $p<0.008$), whereas the average %N of wood pieces in RW was significantly higher (0.09%; $n=21$; $p<0.002$). In addition, N content of wood pieces in DW remained close to 0.07% after a rapid decrease (to t_3) from the initial value (0.08%). In contrast, N content of samples in RW almost linearly increased from the initial value to 0.12% at t_7 (**Figure IV.4 C**). This reflects an accumulation of nitrogen, called “immobilization phase” (Melillo *et al.*, 1989; Berg and Laskowski, 2005).

As a consequence, atomic C/N ratio decreased linearly from ~ 650 to ~ 400 as degradation advanced (**Figure IV.5**). In the same time, C/N ratio of wood pieces in DW increased to >800 until t_3 , and then remained stable until the end of incubation. In contrast to the very high C/N ratio of wood pieces – characteristic of fresh wood (Tyson, 1995) – in DW

and RW, floating woody particles sampled at t_s in RW showed a C/N ratio of 30, typical of substantially decayed wood (Tyson, 1995).

The immobilization phase in RW is associated with significantly higher $\delta^{15}\text{N}$ values (1.1‰ in average) recorded in the remaining woods, as compared to the initial value (-0.2‰; $n=21$; $p<0.001$), whereas $\delta^{15}\text{N}$ values of wood pieces in DW remained almost constant around -0.5‰ (**Figure IV.4 D**). In addition, the floating woody particles (in RW) sampled at t_s showed higher nitrogen content, than the original piece of wood (1.37% vs 0.09%) and $\delta^{15}\text{N}$ value (2.7‰ vs 1.0‰; **Figure IV.4 D**). The very high nitrogen content suggests that wood particles were invaded by N-rich microorganisms.

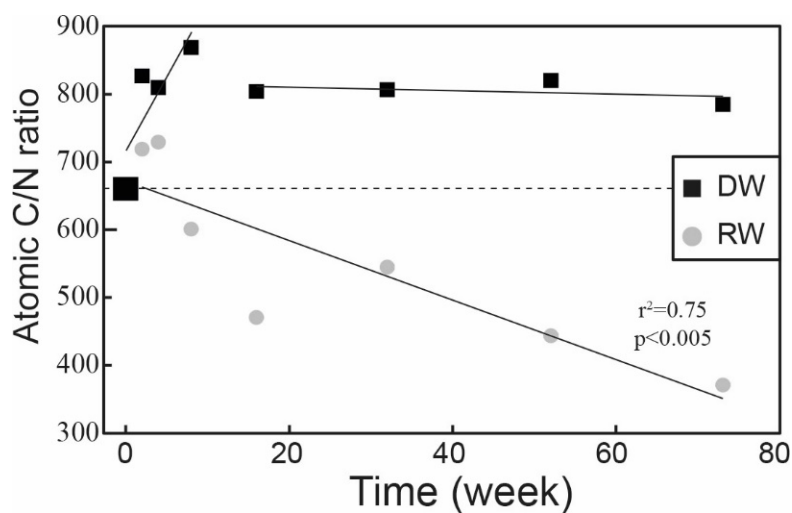


Figure IV.5: Atomic C/N ratio of wood pieces. Only the correlation between C/N and time in RW is significant. Error bars (2σ) are within the symbols. DW, Distilled Water; RW, River Water.

1.4. Discussion

1.4.1. Decomposers and degradation rate

Basidiomycetes fungi are the major decomposers of wood since, at least, the upper Devonian (Eriksson *et al.*, 1990). They are classified as white-rot or black-rot fungi, based on macroscopic aspects (Martínez *et al.*, 2005). In contrast, soft-rot fungi comprise Ascomycetes and Deuteromycetes that are less efficient than Basidiomycetes for degrading wood (Eriksson *et al.*, 1990; Martínez *et al.*, 2005). Based on morphological characteristics of samples after incubation, soft-rot fungi are the most probable decomposers in DW, while white-rot fungi are more likely in RW (**Figure IV.2**; Eriksson *et al.*, 1990; Martínez *et al.*, 2005). Black-rot and

soft-rot fungi have the same morphological characteristics, but black-rot fungi do not support highly wet conditions, while soft-rot fungi do (Eriksson *et al.*, 1990). White-rot fungi are able to selectively degrade lignin and hemicellulose before cellulose – especially in gymnosperms – or to simultaneously degrade those molecules (Martínez *et al.*, 2005). In contrast, soft-rot-fungi preferentially decompose cellulose and hemicellulose, while lignin is slightly degraded by those fungi (Eriksson *et al.*, 1990; Martínez *et al.*, 2005). The low efficiency of soft-rot fungi for degrading wood when compared to Basidiomycetes could explain the lower mass loss of wood pieces in DW, than in RW.

Mass loss rate of wood pieces in RW (**Figure IV.3**) is very close to the one described during the first degradation phase of litterbags containing red pine litter, with a slope of $-0.45(t)$ (Melillo *et al.*, 1989). In the mentioned study, this first degradation phase was described as a constant mass loss (linear), dominated by the loss of carbohydrates, and lasted 44 months to reach 80% of mass loss (Melillo *et al.*, 1989). Then, the second phase was characterized by very slow, or negligible mass loss during 33 additional months (Melillo *et al.*, 1989). Those two phases were also reported in different wood species after artificial aging by thermal treatment (Schleser *et al.*, 1999). However, the second phase is not observed in wood samples of the present study, suggesting that the first phase of degradation was not entirely completed (**Figure IV.3**). Extrapolating results to 80% of mass loss for wood pieces in RW, the first phase of degradation would have been completed in ~ 220 weeks, which is about 50 weeks longer than for Melillo *et al.* (1989). Thus, the degradation rate of wood pieces in RW is slightly lower than expected under natural conditions, in soils (Melillo *et al.*, 1989). Alternatively, this difference could be due to the nature of the material (needles) used in the experience of Melillo *et al.* (1989). Nevertheless, mass loss of wood pieces confirms that this parameter is a good indicator of the degradation state (Melillo *et al.*, 1989).

1.4.2. Carbon and nitrogen dynamics

Natural decomposing and artificial aging of plant material has often shown C enrichment and ^{13}C -depletion in the remaining wood, attributed to the preferential loss of carbohydrates (cellulose and hemicellulose) during early diagenesis (Spiker and Hatcher, 1987; Bates and Spiker, 1992; Schleser *et al.*, 1999). In the present study, the increase in carbon content of samples (remaining wood), in both type of water, probably reflects the relative predominance of C-rich compounds resulting from the loss of carbohydrates. This would imply

that soft-rot fungi and white-rot fungi preferentially degraded cellulose and hemicellulose. However no significant change was recorded in $\delta^{13}\text{C}$ values. The absence of ^{13}C -depletion in the remaining wood related to loss of carbohydrates may be linked to the relatively low amount of material affected by degradation, with a maximal mass loss of ~30% for samples in RW and ~10% in DW. Alternatively, the loss of ^{13}C -enriched carbohydrates may have been counter-balanced by the loss of hydrolysable ^{13}C -depleted compounds (Melillo *et al.*, 1989) or by the simultaneous loss of lignin and carbohydrates, in agreement with decay abilities of Basidiomycetes (Eriksson *et al.*, 1990; Martínez *et al.*, 2005).

If carbohydrates were effectively degraded, they should have been concentrated in the floating woody particles as either microbial biomass or decayed wood. In RW, high %N (1.37% vs 0.09%) and low atomic C/N ratio (30 vs 769) of the floating woody particles relative to the remaining wood, support this hypothesis. Lower %C (35% vs 49%) and higher $\delta^{13}\text{C}$ values (-22.6‰ vs -24.0‰) in those floating particles, when compared to the remaining wood (**Figure IV.4 A and B**), may be attributed to the influence of C-depleted and ^{13}C -enriched carbohydrates (Spiker and Hatcher, 1987). Additional loss of ^{12}C might be associated with microbial respiration (Lerch *et al.*, 2010).

Isotopic effect of carbon during this experiment is probably not sufficient to be recorded in the remaining wood or it is counter-balanced by concomitant loss of ^{13}C -enriched and ^{13}C -depleted compounds. The latter hypothesis may be supported especially in RW as Basidiomycetes (white-rot fungi) are able to simultaneously degrade ^{13}C -depleted lignin and ^{13}C -enriched carbohydrates (Martínez *et al.*, 2005).

Nitrogen dynamics are much more complex whether in DW or RW. The C/N ratio tracks changes in chemical composition of samples and thus reflects degradation processes (e. g. Lehmann *et al.*, 2002). Considering similar behaviors in C content of samples in both type of waters (**Figure IV.4 A**), C/N variations correspond to changes in N content (**Figure IV.5**). Consequently, the rapid decrease in N content of samples in DW (**Figure IV.4 C**), and the resulting increase of C/N ratio (**Figure IV.5**), is most likely due to N-release. It is associated with significant lower $\delta^{15}\text{N}$ values (-0.5‰), compared to the initial one (-0.2‰; n=21; p<0.001; **Figure IV.4 D**). Benner *et al.* (1991) recorded N loss in the first 120 days of incubation of *Spartina*. They attributed this loss to leaching without ^{15}N -fractionation. However, this is not consistent with the isotopic pattern of samples in DW, which showed ^{15}N -depletion in the remaining wood.

Field incubations showed that fungi are able to extract N from the colonized wood by gaining access to proteinaceous material, which results in concentrating N in their mycelium

(Watkinson *et al.*, 2006; Bebber *et al.*, 2011). Thus, rapid N-release from wood pieces in DW is probably associated with the development of mycelium that developed partly within wood and partly in solution (**Figure IV.2 A**). Fungi used nitrogen from the wood for their metabolism, leaving it depleted in N, when they were removed for sampling (Bebber *et al.*, 2011). This is supported by the absence of external N source as the DW is nutrient-free. As N-depletion occurred rapidly (within 2 weeks) and did not substantially change during the rest of the incubation (e. g. stable C/N ratio; **Figure IV.5**), microbial communities may have reached an equilibrium within 2 weeks, in response to low nutrient availability.

The associated ^{15}N -depletion is not currently well understood, but might result from selective preservation of a ^{15}N -depleted pool and/or preferential degradation of a ^{15}N -enriched pool (e. g. proteins), relative to their accessibility for fungi (Laiho and Prescott, 2004). In agreement with the later hypothesis, Fogel and Tuross, 1999 reported relatively large range of $\delta^{15}\text{N}$ values (2-8‰) in individual amino acids of a spatterdock plant and Macko *et al.* (1987) demonstrated that proteins were 3‰ enriched relative to the cell. Proteins and amino acids may therefore correspond to the ^{15}N -enriched pool.

Nitrogen dynamics of samples in RW showed an opposite pattern as compared to samples in DW, with N accumulation in the remaining wood (**Figure IV.4 C**), associated with significantly higher $\delta^{15}\text{N}$ values (1.1‰ in average vs -0.2‰ at t_0 ; **Figure IV.4 D**). N-immobilization has been commonly reported during decomposition of leaf-litter (Melillo *et al.*, 1989; Fogel and Tuross, 1999; Berg and Laskowski, 2005), *sphagnum* litter (Asada *et al.*, 2005), woody litter (Laiho and Prescott, 2004) or in decaying wood of *Fagus sylvatica*, inoculated with basidiomycete fungi (Bebber *et al.*, 2011). According to those authors, it reflects accumulation of nitrogen during an immobilization phase. Two main processes are able to supply nitrogen in those decaying materials: (i) N fixation by microorganisms (Berg and Laskowski, 2005; Laiho and Prescott, 2004) and (ii) uptake by cord-forming fungi from the surrounding environment (Laiho and Prescott, 2004; Berg and Laskowski, 2005; Bebber *et al.*, 2011). However, according to Laiho and Prescott (2004) and Berg and Laskowski (2005), rates of N fixation are too low to explain N accumulation in decaying wood, whereas fungi are not able to fix nitrogen as N-fixing organisms are limited to prokaryotes (Shridhar, 2012). Hence N-fixation is probably not the major process involved in the N-accumulation. Alternatively, cord-forming fungi have the ability to scavenge N from surrounding environment, and further import it to the decaying material *via* a translocating network of mycelium that interconnect discontinuous nutrient sources (Laiho and Prescott, 2004; Berg and Laskowski, 2005; Bebber *et al.*, 2011). Thus, wood-decaying fungi are the likely mediators of N-accumulation into

decaying wood in RW. In the present study, the source of exogenous N is RW and the cord-forming fungi are most probably white-rot fungi. Their activity is likely the cause of the continuous decrease in C/N ratio (**Figure IV.5**).

$\delta^{15}\text{N}$ variations in wood pieces are likely the result of the $\delta^{15}\text{N}$ of the N imported by microorganisms and/or a change of their metabolism (Lehmann *et al.*, 2002; Dijkstra *et al.*, 2008; Lerch *et al.*, 2010; Hobbie *et al.*, 2014). The only form of inorganic N in RW was NO_3^- . The rapid decrease of NO_3^- concentration in RW from ~20 ppm to 0 (within 8 weeks; **Figure IV.4 C**) supports the influence of $\delta^{15}\text{N}$ value of N-source. After that time, no NO_3^- in RW has been identified at t_5 , t_6 and t_7 , although original RW was added at t_3 , t_5 and t_6 . It probably reflects the total consumption of NO_3^- by microorganisms as water sampling was performed before adding water and time largely exceeded 8 weeks between each sampling.

The uptake of nitrates by microorganisms and its subsequent incorporation in wood should lead to changes in ^{15}N composition if those nitrates have ^{15}N composition different from the wood. The $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ can be calculated by mass balance knowing initial (t_0) and final (t_1 to t_7) averages of %N (0.08% and 0.09%) and $\delta^{15}\text{N}$ (-0.02‰ and +1.1‰) of samples. If we consider that the difference between initial and final %N is entirely due to NO_3^- assimilation, the assimilated $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ must be 11.6 ‰. This value is in the same order of magnitude of the typical $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ measured in rivers of the region in France (+4 to +8‰; Sebilo *et al.*, 2003). As N recycling occurs during microbial decomposition (Fogel and Tuross, 1999), part of N within wood could have been “replaced” by exogenous N. In this case, the $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ value can be lower than 11.6‰, reinforcing the hypothesis that assimilation of NO_3^- from RW is the major driver of $\delta^{15}\text{N}$ values in wood pieces. However, internal fractionation due to metabolism effects in fungi cannot be ruled out (Zeller *et al.*, 2007).

Organic nitrogen in RW is also a valuable external N-source (Houlton *et al.*, 2007). But, nitrate would likely have been the source of N for microorganisms, which are precursors of dissolved organic nitrogen, leading to similar $\delta^{15}\text{N}$ signature for dissolved organic matter and nitrates (e. g. Kienast, 2000; Robinson *et al.*, 2012). Alternatively, microbial processes can account for the observed increasing $\delta^{15}\text{N}$ values of wood pieces in RW. Those processes, over the importation of exogenous N, are often considered as the main driver of $\delta^{15}\text{N}$ values under natural conditions modulated by the oxygenation conditions (Melillo *et al.*, 1989; Connin *et al.*, 2001; Lehmann *et al.*, 2002; Asada *et al.*, 2005; Gälman *et al.*, 2009; Lerch *et al.*, 2010). Lehmann *et al.* (2002) proposed that increasing $\delta^{15}\text{N}$ values of the remaining organic material under oxic conditions was the result of the liberation of ^{15}N -depleted compounds during microbial processing, leading to increasing C/N ratio. In the same way, Connin *et al.* (2001)

and Asada *et al.* (2005) suggest that ^{15}N -enrichment of their incubated litter was best explained by microbial fractionation. Even though we cannot exclude microbial processes in the present study, the $\delta^{15}\text{N}$ pattern of samples in RW is best explained by the incorporation of exogenous N as %N of wood pieces roughly follows variations of $\delta^{15}\text{N}$ values (**Figure IV.6**; Benner *et al.*, 1991; Bragazza *et al.*, 2010).

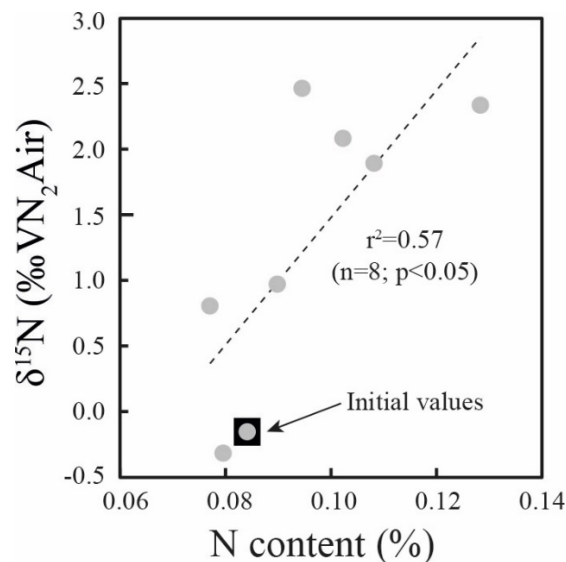


Figure IV.6: $\delta^{15}\text{N}$ values relative to N content. The regression line comprises the initial values. Its equation is $\delta^{15}\text{N} = 48.515 \times \%N - 3.3729$

1.5. Paleoenvironmental implications

Previous studies with litterbags concluded that $\delta^{15}\text{N}$ values are more variable than $\delta^{13}\text{C}$ values during early diagenesis, because of nutrients availability (exogenous N) and microbial processing (Melillo *et al.*, 1989; Fogel and Tuross, 1999; Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005). Same conclusions were drawn for lacustrine sediments (Lehmann *et al.*, 2002; Gälman *et al.*, 2009). According to those authors, selective preservation of refractory compounds (e. g. lignin), or preferential loss of labile/biodegradable compounds, should not drastically modify $\delta^{13}\text{C}$ values, while microbial processing and subsequent ^{15}N -discrimination results in large modifications of $\delta^{15}\text{N}$ values. The incubation of wood samples does agree with those assumption. $\delta^{13}\text{C}$ values are indistinguishable from the initial value (**Figure IV.4 B**), while $\delta^{15}\text{N}$ values are highly variable (**Figure IV.4 D**).

Fogel and Tuross (1999) have concluded that “these changes ($\delta^{15}\text{N}$ values) may preclude the use of $\delta^{15}\text{N}$ in plant fossil material or sedimentary organic matter for

reconstructing paleoenvironments”. By extrapolating the linear regression between $\delta^{15}\text{N}$ values and N content (**Figure IV.6**) to typical values of OM-rich lignites (~1% in Paleocene-Eocene lignites; Storme *et al.*, 2012) and recent peatified organic matter (~2%; Asada *et al.*, 2005), the calculated $\delta^{15}\text{N}$ values are unrealistic, when compared to those recorded by Asada *et al.* (2005) and Storme *et al.* (2012). This discrepancy suggests that early diagenesis, leading to the “geological” value, is not linear whether by integrating exogenous N (this study; Benner *et al.*, 1991) or microbial processes (e. g. Fogel and Tuross, 1999; Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005). Thus, the impact of early diagenesis on $\delta^{15}\text{N}$ values is very fast and can be considered as instantaneous at the geological scale.

A similar non-linear relationship was reported in peatified *sphagnum*, where $\delta^{15}\text{N}$ values increased by 6‰ to 0‰ during the first 40 years, while it increased by +1‰ during the next 180 years of burial (Asada *et al.*, 2005). Based on associated decrease in C/N ratio along the peat core, those authors attributed the increase of $\delta^{15}\text{N}$ values partly to “microbially mediated fractionation” and partly to retention of ^{15}N -enriched substrates. By analogy with our experiment, the incorporation of N in wood pieces and exportation of N from it is likely driven by microbial community activity (e. g. fungi): N is incorporated when available in the surrounding environment (i.e. in RW) and exported when non available (i. e. in DW). The incorporation (exportation) of N in (from) wood illustrates the rapid response of microbial processes to environmental conditions (Dijkstra *et al.*, 2008). It implies that wood pieces do record an environmental signal. In that case, early diagenesis is a catalyst process, which homogenizes initial $\delta^{15}\text{N}$ values of individuals (i. e. wood pieces) and $\delta^{15}\text{N}$ values of the surrounding environment (i.e. NO_3^- in water).

With similar conclusions, Bates and Spiker (1992) reported a constant isotopic fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ values between lignin and carbohydrate along a cross-sectional radius of a coalified gymnosperm. They postulated that diagenesis erased any fractionation that one existed. In our study, carbon and nitrogen isotopes may differ by the amplitude of this smoothing. Therefore, when utilizing organic nitrogen isotopes ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) for paleoenvironmental reconstructions, the so called “primary signal” is unlikely recorded, but the smoothed environmental signal (in space and time) might be preserved thanks to early diagenesis homogenization. It could explain why the range of terrestrial $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values are so limited with most values between -1 to +7‰ (Boudou *et al.*, 2008; Storme *et al.*, 2012; Tramoy *et al.*, submitted) as compared to the range of $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values recorded in worldwide soils and plants (-8‰ to +22‰; Craine *et al.*, 2015).

1.6. Conclusion

This original incubation experiment was conducted with wood pieces immersed in river water and distilled water as a control reference. The significant development of fungi in distilled water was not expected and offered the possibility to compare the degradation rate, carbon and nitrogen dynamics of decayed wood, between soft-rot and white-rot fungi. In all samples, no significant changes in $\delta^{13}\text{C}$ values were recorded, in agreement with the usually low modification of $\delta^{13}\text{C}$ values during early diagenesis.

Nitrogen dynamics of samples in distilled water and river water showed two different patterns: N-release, associated with slight ^{15}N -depletion (-0.3‰), was recorded in samples immersed in distilled water. It has been attributed to extraction of a ^{15}N -enriched pool (i. e. proteins) by fungi. Conversely, N-accumulation, associated with ^{15}N -enrichment, was recorded in samples immersed in river water. This was mostly attributed to the importation of ^{15}N -enriched from nitrate of the river water, and in a minor extent, to microbial processes. Primary signal of organic nitrogen isotopes may not be recorded in fossil archive, but the early diagenesis seems to average an environmental signal by integrating individual signals (i. e. wood, fungi, NO_3^-) and microbial processes. This integration could be almost instantaneous at the geological scale, hence enabling paleoenvironmental reconstructions.

1.7. Acknowledgement

We thank J. Legrand, who collected the branch used. We are grateful to V. Vaury (IEES-UPMC) for analytics. This study was supported by EMERGENCE project from UPMC. We also thank S. Derenne for providing the room and a part of the material needed.

2. Commentaires sur l'expérience de diagenèse

2.1. Expérience sur les poudres de bois

Des poudres de bois ont été mises à dégrader en parallèle des rondelles de bois. L'objectif était d'accélérer la dégradation en augmentant la surface spécifique du bois potentiellement dégradable. La seconde attente était que la variabilité initiale du $\delta^{15}\text{N}$ du bois soit lissée. Cependant, la séparation entre bois dégradé et microorganismes dégradant ne pouvait absolument pas s'effectuer.

Le protocole expérimental suivi pour les poudres de bois est tout à fait similaire à celui utilisé pour les rondelles de bois. Il diffère seulement par le **mode de prélèvement**. Les poudres ont été prélevées en même temps que les rondelles, mais aussi à 12 (t_3 bis), 25 (t_4 bis) et 66 (t_6 bis) semaines, soit t_3 bis, t_4 bis et t_6 bis, respectivement. Le prélèvement s'est effectué à l'aide d'une pipette. Le mélange d'eau et de poudre de bois a été placé dans un vial, congelé et lyophilisé avant d'être analysé.

Les poudres de bois n'ont pas été intégrées dans l'article car de nombreuses incertitudes pèsent sur l'interprétation des résultats, notamment sur les concentrations en carbone. De plus, les observations morphologiques faites sur les rondelles ne sont pas applicables ici. Seules les cultures microbiologiques auraient permis de déterminer les fonctions métaboliques des organismes présents. Toutefois, les cultures en **Ecoplates Biology** (Collaboration, Laurence Millot-Cornette et Céline Amsaleg) testées n'ont pas permis le développement de microorganismes en quantité suffisante pour que les résultats soient interprétables. Les Ecoplates Biology ont été développées pour des sols et ne sont vraisemblablement pas adaptées aux incubations en milieux aqueux.

2.2. Dynamique du carbone et de l'azote dans les poudres de bois

Le postulat de départ était que l'on mesure les paramètres ($\%C$, $\delta^{13}C$, $\%N$, $\delta^{15}N$) de l'ensemble du système qui comprend les poudres fraîches et dégradées et les microorganismes morts et vivants. De ce fait, les variations des concentrations en carbone ou en azote ne peuvent être causées que par la perte ou le gain de ces éléments que ce soit par l'eau (e. g. apport de nitrates) ou par dégazage (e. g. respiration des microorganismes).

L'eau distillée ne contenant aucun nutriments et l'autotrophie ayant été rendue inopérante (noir complet), on s'attendait à une perte de carbone par respiration des microorganismes, couplée à un enrichissement en ^{13}C des poudres (Lerch *et al.*, 2010). C'est *a priori* le cas jusqu'à t_5 dans l'eau distillée, où une baisse continue du %C est observée (de $\sim 49\%$ à $\sim 46\%$). Par ailleurs, la plus faible concentration en carbone correspond au point le plus positif en $\delta^{13}\text{C}$, corroborant l'hypothèse énoncée précédemment (**Figure IV.7 A et B**). Globalement, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ augmentent au cours du temps même si cette tendance n'est pas significative au regard des barres d'erreurs et de l'erreur analytique ($\pm 0,2\text{‰}$ à 2σ). En revanche, l'augmentation brutale des concentrations en carbone à partir de t_6 de $\sim 46\%$ à $\sim 50\%$ est difficilement interprétable sans faire appel à l'ajout de carbone extérieur au système. Mais par quel moyen, si on ne considère ni l'autotrophie, ni l'apport de carbone par l'eau distillée ? Si l'autotrophie ne s'est pas développée, la seule explication possible est bien un apport de carbone exogène par l'eau, soit par (i) contamination de l'eau distillée ou (ii) une erreur lors de l'ajout d'eau dans l'erlenmeyer. D'après les résultats obtenus, malheureusement, la deuxième solution semble la plus probable car, sur les 3 derniers points, les concentrations en carbone sont similaires entre les poudres de l'eau distillée et de l'eau de rivière (**Figure IV.7 A**).

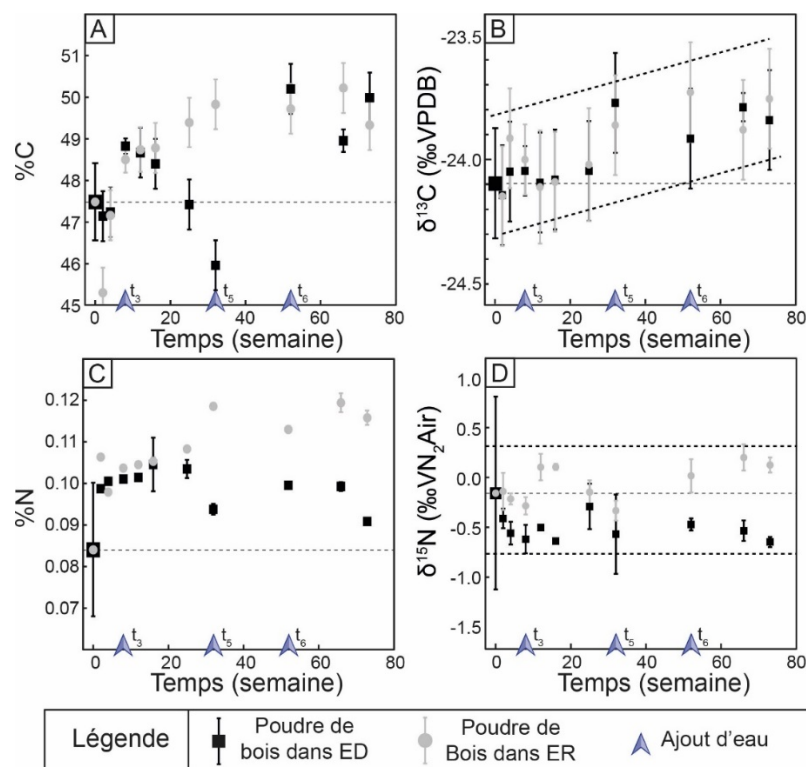


Figure IV.7 : %C, $\delta^{13}\text{C}$, %N, $\delta^{15}\text{N}$ en fonction du temps mesurés dans les poudres de bois. ED : Eau distillée. ER : Eau de rivière.

En outre, les teneurs en carbone des poudres de l'eau de rivière montrent un signal très différent de celui obtenu avec l'eau distillée avec une baisse drastique entre t_0 et t_1 (de ~49 % à ~45 %), puis une augmentation logarithmique jusqu'à 50 % à la fin de l'expérience (**Figure IV.7 A**). Là encore, pour qu'il y ait gain de carbone, il faut un apport extérieur de carbone qui, ici, peut être attribué au carbone organique dissous (non mesuré) de l'eau de rivière. La baisse drastique de la teneur en carbone, suivi de son augmentation logarithmique résulte très probablement de l'adaptation très rapide des microorganismes (activité, nombre, communauté ?) à la disponibilité en nutriments, et plus généralement, à l'environnement (Fontaine *et al.*, 2011). La mise à leur disposition de matière organique fraîche stimule leur activité, c'est ce que l'on appelle le « **priming effect** » (Fontaine *et al.*, 2011).

Un scénario en 4 étapes est alors proposé pour tenter d'expliquer l'évolution des teneurs en carbone dans la poudre dans l'eau de rivière :

- 1) Entre t_0 et t_1 : Le mélange eau + poudre rend disponible le carbone labile, potentiellement riche dans le bois des Cupressacés (Martínez *et al.*, 2005) et facilement assimilable par les microorganismes. La respiration des microorganismes, par dégazage de CO_2 , mène à la perte d'une partie du carbone assimilé (Lerch *et al.*, 2010). L'absence d'enrichissement en ^{13}C de la poudre suggèrerait que le carbone labile correspond à une fraction enrichie en ^{13}C . L'appauvrissement de la poudre de bois serait compensé par l'enrichissement des microorganismes qui intègrent la poudre (**Figure IV.7 A**).
- 2) Entre t_1 et t_3 (juste avant l'ajout d'eau) : le carbone labile de la poudre de bois a été consommé. Les microorganismes s'attaquent au carbone organique dissous (non mesuré) de l'eau de rivière, aisément assimilable également. Ce carbone est donc incorporé dans la poudre et la concentration en carbone augmente (**Figure IV.7 A**).
- 3) Après l'ajout d'eau, la croissance de la teneur en carbone ralentit suggérant une moins bonne compensation entre la perte en carbone par respiration et l'incorporation du carbone organique dissous de l'eau de rivière. L'eau de rivière ayant été oxygénée par un système de bulleur, on ne peut pas exclure qu'elle ait évoluée de son côté et que les microorganismes aient consommés le carbone organique dissous (**Figure IV.7 A**).
- 4) Malgré l'ajout d'eau à t_5 et t_6 , la teneur en carbone commence à se stabiliser et amorce même une diminution, ce qui confirmerait le caractère limitant de l'eau de rivière devenue pauvre en nutriments (**Figure IV.7 A**).

Les concentrations en azote des poudres sont comparables à ce qui a été constaté dans les rondelles avec une augmentation des teneurs dans l'eau de rivière et des teneurs stables dans l'eau distillée (**Figure IV.7 C**). L'apport d'azote par les nitrates de l'eau de rivière est là encore suggéré par l'augmentation des teneurs en azote dans la poudre de l'eau de rivière. Les valeurs moyennes de $\delta^{15}\text{N}$ (0.09‰), significativement plus élevées ($p < 0,001$) que celles mesurées dans la poudre de l'eau distillée (0.07‰), supportent cette hypothèse (**Figure IV.7 D**). Par ailleurs, la variabilité des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ dans les deux types d'eau (~1 ‰) est inférieure à la variabilité mesurée le long de la branche initiale. Par conséquent, **la variabilité initiale a été lissée par le broyage de la branche initiale et ce lissage a été conservé** tout au long de l'incubation. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de la poudre de l'eau de rivière n'ont été influencées que légèrement par l'eau de rivière. Cette observation appuie la conclusion que, dans un système fermé, la **diagenèse précoce participe à l'homogénéisation du signal de l'ensemble** de l'environnement en intégrant la variabilité individuelle (le bois) et la variabilité de l'écosystème (activité microbienne et eau). L'ensemble est cependant probablement dépendant de facteurs environnementaux tels que les conditions d'oxydo-réduction (Lehmann *et al.*, 2002).

Conclusion du Chapitre IV

L'incubation des rondelles de bois a montré une importante variation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ dans les rondelles exposées à l'eau de rivière. La bonne corrélation entre le %N et les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ suggère un contrôle de ces dernières par l'activité de la biomasse microbienne (majoritairement des champignons) qui incorpore ou exporte de l'azote en fonction de sa disponibilité dans l'eau de rivière. L'extrapolation de cette corrélation à des teneurs en azote comparable à des sédiments riches en matière organique (~0,5 à 1 %) donne des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ irréalistes (>90‰), comparé à ce que l'on trouve dans des sédiments anciens (-1 à +7‰). Ceci suggère que l'altération du signal primaire du $\delta^{15}\text{N}$ lors de la **diagenèse est un phénomène très rapide** (quasiment instantané à l'échelle géologique) et **non-linéaire** qui répond à l'activité microbienne, dominée par la disponibilité en nutriments dans le milieu.

Il a été conclu que le signal primaire du $\delta^{15}\text{N}$ dans les sédiments n'est probablement pas enregistré dans les sédiments, mais qu'il représente plus vraisemblablement l'ensemble des composantes d'un environnement (plantes, sols, biomasse microbienne), moyenné par la diagenèse précoce. Cette hypothèse est renforcée par la très faible variabilité des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ dans les poudres de bois, comparée à la variabilité initiale de la branche.

De ce point de vue, la diagenèse précoce intégrerait et **homogénéiserait la variabilité initiale des composantes d'un écosystème**, permettant ainsi des reconstructions paléoenvironnementales. Cependant, compte tenu des larges modifications du $\delta^{15}\text{N}$ parfois enregistrées dans les sédiments (par ex. Tourbière ; Asada *et al.*, 2005), l'interprétation des données dans l'ancien nécessite la plus grande prudence.

Introduction aux Chapitres V, VI et VII

L'objectif de ces chapitres est de confronter le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à d'autres marqueurs paléoclimatiques sur des périodes contrastées d'un point de vue climatique. Chaque période correspond à un chapitre :

Chapitre V. → Pliensbachien-Toarcien (~183 Ma)

Chapitre VI. → Paléogène (Faddeevsky daté à ~53-50 Ma)

Chapitre VII. → Eocène-Oligocène (~34 Ma)

Pour chaque zone d'étude, les sources de la matière organique et la diagenèse sont caractérisées pour déconvoluer les signaux du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ potentiellement induits par ces paramètres. Les coupes et carottes ont été sélectionnées en fonction de plusieurs critères :

- Des environnements continentaux dominés par une matière organique terrestre, car les concepts climatiques derrière les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont été développés au sein du système sol/plante.
- Des périodes géologiques contrastées d'un point de vue climatique.
- Des types de changements climatiques variés, afin de tester le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dans différentes conditions, du climat chaud au climat plus froid, sec ou humide.
- Des échelles de temps et d'espace également variées : changements climatiques rapides ou plus lents, courts ou plus longs, très anciens ou un peu moins.
- La disponibilité du matériel pour les analyses $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ qui nécessitent un COT > 1% au minimum, afin que les échantillons contiennent suffisamment d'azote (Storme com. pers.).

Les trois transitions climatiques choisies présentent différents contextes climatiques l'ensemble de ces critères. Les caractéristiques de chaque période et le matériel utilisé seront présentés en début de chaque chapitre.

Chapitre V : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique au Pliensbachien-Toarcien

Dans ce chapitre, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a été mesuré sur des argiles et des lignites de la coupe de Taskomirsay (Kazakhstan). Parallèlement, des données palynologiques obtenues par D. Pons (MNHN) ont mis en évidence la transition Pliensbachien-Toarcien le long de la coupe, précisée par des données de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ (Schnyder *et al.*, in prep.). La transition Pliensbachien-Toarcien correspond à une perturbation importante du cycle du carbone, associée à un refroidissement au Pliensbachien supérieur, suivi par un réchauffement au Toarcien inférieur, sur une durée de l'ordre du million d'années. Les palynomorphes collectés à Taskomirsay permettent également d'établir, dans les grandes lignes, les conditions climatiques qui régnaient à cette époque. D'autres marqueurs paléoclimatiques sont utilisés avec notamment la géochimie moléculaire (distribution des *n*-alcanes, δD des *n*-alcanes et de manière plus exploratoire les GDGT's).

Les sources de la matière organique sont également caractérisées grâce aux pollens, aux bois fossiles et aux valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ combinées au rapport atomique C/N. De même, les paramètres Rock-Eval (IH, IO et T_{max}) apportent des précisions sur le type de matière organique, son état de préservation et sa maturité.

L'ensemble de ces données a permis la rédaction de **deux articles**. Le premier met en place la **stratigraphie de la coupe** de Taskomirsay avec la reconnaissance de la limite Pliensbachien-Toarcien (Schnyder *et al.*, in prep.) et n'est pas inclus dans le corps du texte. Toutefois, ses principaux résultats sont présentés en introduction du second article qui traite des **changements climatiques** le long de cette coupe et de la réponse des différents marqueurs.

1. La transition Pliensbachien-Toarcien (~183 Ma)

La transition Pliensbachien-Toarcien est d'abord marquée par un refroidissement de 5-6 °C au Pliensbachien terminal (**Figure V.1** ; Bailey *et al.*, 2003; Bas van de Schootbrugge *et al.*, 2005a; Suan *et al.*, 2008a; Suan *et al.*, 2010), puis par un réchauffement très important de 6-10 °C à la base du Toarcien associé à une anoxie globale des fonds marins (Jenkyns, 1988; Bailey *et al.*, 2003; Suan *et al.*, 2010) et une élévation du niveau marin (Hallam, 1967; Hesselbo et Jenkyns, 1998). Cette période est caractérisée à travers le monde par une accumulation de matière organique dans les sédiments marins (**black shales**), favorisée par une **production primaire exacerbée** et des **conditions anoxiques** à l'interface eau-sédiment. Ces black shales marquent ce que l'on appelle le **T-OAE** (Toarcian-Ocean Anoxic Event ; Jenkyns, 1988; Baudin *et al.*, 1990; Hesselbo et Jenkyns, 1998). Le T-OAE est reconnu en Europe par un ensemble de formations argileuses très riches en matière organique (Jenkyns, 1988), telles que les Schistes Carton (France), le Jet Rock (Angleterre) et les Posidonienschiefer (Allemagne). D'un point de vue biotique, le T-OAE est caractérisé par d'importantes extinctions des foraminifères benthiques dans le Nord de l'Europe notamment, qui fait suite à un renouvellement majeur des faunes d'ammonites (Jenkyns, 1988; Bassoulet et Baudin, 1994)

La ségrégation, sur le long terme, de matière organique enrichie en ^{12}C aurait mené à une augmentation des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ du système océan-atmosphère, enregistrée dans les sédiments marins et les bois fossiles (**Figure V.1** ; Jenkyns, 1988; Suan *et al.*, 2010; Hermoso *et al.*, 2012). Cette tendance positive, enregistrée de la fin du Pliensbachien au début du Toarcien, est affectée par une des plus grandes excursions négatives du $\delta^{13}\text{C}$ du Phanérozoïque, appelée CIE (Carbon Isotopes Excursion ; **Figure V.1**). Souvent enregistré dans les sédiments par paliers, son amplitude varie de -2 à -6 ‰ dans les carbonates et de -4 à -8 ‰ dans la matière organique. Elle est très probablement le résultat de l'injection massive de $^{12}\text{CO}_2$ dans le système océan-atmosphère (Hesselbo *et al.*, 2000; Kemp *et al.*, 2005; van de Schootbrugge *et al.*, 2005b; Breugel *et al.*, 2006; Hesselbo *et al.*, 2007; Hermoso *et al.*, 2012). Cette injection de $^{12}\text{CO}_2$ dans l'atmosphère serait la cause d'un réchauffement climatique ayant pour conséquence l'accélération du cycle de l'eau (Bailey *et al.*, 2003; Cohen *et al.*, 2004) et donc de l'apport de nutriments dans l'océan par les rivières (Weissert et Mohr, 1996). L'augmentation de la disponibilité des nutriments favorise la production primaire et donc la ségrégation du ^{12}C dans les sédiments, ce qui causerait à terme les excursions positives du $\delta^{13}\text{C}$. L'étude des bois

fossiles a également montré une augmentation de la saisonnalité associé à ce réchauffement climatique (Morgans *et al.*, 1999).

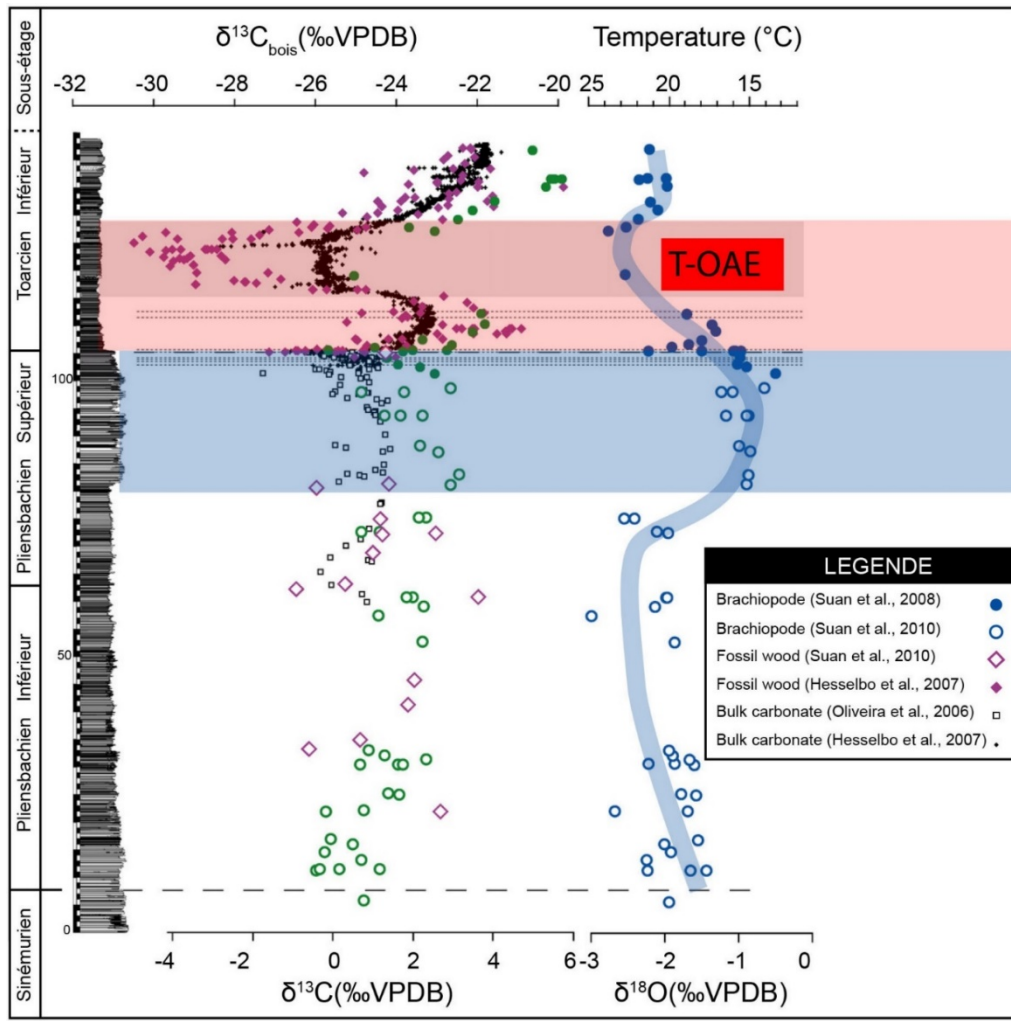


Figure V.1 : Evolution du $\delta^{13}\text{C}$ de bois fossiles et du $\delta^{13}\text{C}$ de la roche totale carbonatée de la coupe de référence de Peniche, Portugal. Les températures sont issues de la calcite de brachiopodes (modifié d'après Suan *et al.*, 2010). Le liseré bleu indique une période froide alors que le rouge indique une période chaude concomitante avec l'OAE du Toarcien.

Sur le long terme, la perturbation climatique de la fin du Pliensbachien au milieu du Toarcien a vraisemblablement été causée par une conjonction de facteurs incluant (i) une activité intense du **volcanisme** dès la fin du Pliensbachien (mise en place de la province magmatique du Karoo-Ferrar) qui aurait entraîné un **refroidissement** par **dégazage de SO_2** au Pliensbachien supérieur (Morard *et al.*, 2003), (ii) l'accumulation résultante de **CO_2** dans l'atmosphère aurait engendré un **réchauffement** climatique au début du Toarcien entretenu par des dégazages massifs d'**hydrates de méthane** (Hesselbo *et al.*, 2000; Hermoso *et al.*, 2012; Hermoso et Pellenard, 2014), (iii) une réponse rapide du système climatique entraînant une

accélération du **lessivage des continents** et favorisant le dépôt d'argiles riches en matière organique *via* l'augmentation de la productivité primaire (Hermoso et Pellenard, 2014).

La transition Pliensbachien-Toarcien est la plus ancienne période d'étude considérée dans cette thèse avec ~120 Ma d'écart avec le début du Paléogène. La durée de cette transition est également la plus longue traitée puisqu'elle est de l'ordre du million d'année pour l'ensemble de la transition, avec une durée de 300 à 500 ka pour la CIE du début du Toarcien (Suan *et al.*, 2008b; Boulila *et al.*, 2014).

2. Zone d'étude et matériel utilisé

Pour la transition Pliensbachien-Toarcien, les travaux ont été concentrés sur une coupe continentale réputée d'âge Jurassique inférieur, riche en matière organique dispersée et en fragments de bois fossiles : la coupe de **Taskomirsay**.

La coupe de Taskomirsay est située dans le graben Leontiev dans le Karatau, au sud du Kazakhstan (*cf.* **Figure V.3**). Il fait partie d'une série de bassins continentaux d'Asie Centrale alignés sur la marge nord téthysienne. Ces bassins se sont formés à la faveur de collisions successives avec différents blocs eurasiens (Trias tardif – début du Jurassique) entraînant une forte subsidence dans un contexte de bassin d'avant-pays ou de trans-pression/trans-tension (Sobel, 1999). La forte subsidence tectonique a permis l'accumulation de près de 6 km de sédiments continentaux de la base du Jurassique au Crétacé (Sobel, 1999). La chronologie de ces grandes mutations géodynamiques à l'échelle régionale, associées au remplissage des différents bassins sédimentaires d'Asie Centrale, est difficile à établir en raison du manque de contraintes biostratigraphiques inhérent aux domaines continentaux (Sobel, 1999).

La succession sédimentaire du graben Leontiev atteint jusqu'à 2 km d'épaisseur et est composée de 7 formations principales, de la plus ancienne à la plus récente :

- **La Formation Chokpacksk**. Elle est d'une épaisseur de 300 m et contient des conglomérats grossiers, alternant avec des grès et des intervalles détritiques plus fins dans lesquels des bancs charbonneux (~0,5 m) apparaissent. Cette formation marque une discordance avec des roches Paléozoïques. Sur la base de palynomorphes, un âge anté-Toarcien a été assigné (Buvalkin *et al.*, 1991; Schnyder *et al.*, in prep.).
- **La Formation de Taskomirsay**. D'une épaisseur de 600 m, elle est majoritairement constituée d'alternances argilo-silteuse dans sa première moitié, alors que ces

alternances présentent une couleur plus sombre dans la seconde moitié. De plus, cette partie de la formation comporte 14 couches de charbons, alternant avec des grès, des microconglomérats et des argiles. Là encore, les études palynologiques, effectuées à basse résolution, suggèrent un âge anté-Toarcien (Buvalkin *et al.*, 1991 ; Schnyder *et al.*, in prep.).

- **La Formation Kourkoureusk.** Son épaisseur varie latéralement de 80 à 400 m et correspond à des conglomérats grossiers, alternant avec des microconglomérats. Elle est associée à un âge Toarcien-Aalénien, sur la base de débris de plantes fossilisés et de pollens (Buvalkin *et al.*, 1991 ; Schnyder *et al.*, in prep.).
- **La Formation Borolday.** Cette formation, épaisse de 600 m comporte des argiles et des silts fins avec des couches charbonneuses à sa base. Les associations polliniques suggèrent un âge Aalénien-Bajocien (Buvalkin *et al.*, 1991 ; Schnyder *et al.*, in prep.).
- Les assemblages polliniques des **Formations Chahai, Karabastau et Balabogun**, qui surplombent les formations précédentes, ont suggéré un âge Jurassique moyen à tardif (Buvalkin *et al.*, 1991; Schnyder *et al.*, in prep.).

La coupe de Taskomirsay se situe dans la partie supérieure de la Formation de Taskomirsay, au sein des successions charbonneuses. Elle est épaisse de près de 54 m et est caractérisée par une succession de **6 cycles sédimentaires**. Chaque cycle sédimentaire se compose d'une alternance de bancs de lignites (nommés de LB1 à LB6) et d'argiles plus ou moins consolidées, surmontées par des grès présentant souvent des traces de racines ou des troncs fossilisés *in situ* (Schnyder *et al.*, in prep.). L'analyse des palynomorphes de la coupe de Taskomirsay par D. Pons, ainsi que l'utilisation du $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ comme marqueur chimiostratigraphique (**Figure V.2** ; Schnyder *et al.*, in prep.), a permis d'affiner le calage stratigraphique proposé par Buvalkin *et al.* (1991) pour la Formation entière.

L'apport conjoint de ces deux méthodes a permis d'établir une zone de transition (~26 à ~35 m) où se trouve très probablement la limite **Pliensbachien-Toarcien**. C'est notamment l'occurrence ou la non occurrence de *Manumia delcourtii*, *Ischyosporites variegatus*, *Callialasporites turbatus* et *Callialasporites trilobatus* qui ont permis de proposer cette zone de transition (**Tableau V.1 ; Planche photo 1Planche photo 2Planche photo 3Planche photo 4**). D'un point de vue paléoclimatique, les palynomorphes témoignent d'un climat globalement très humide tout le long de la coupe avec notamment l'occurrence de champignons épiphyllés sur des cuticules de plantes entre 8 et 20 m (D. Pons, com. pers.). La présence de *Xenoxylon* au milieu de la coupe entre ~7 et ~35 m marque probablement la phase la plus humide et la plus

froide. Au-delà, au Toarcien inférieur, de rares *Corollina* spp., ainsi que l'apparition de taxons thermophiles comme *Ischyosporites variegatus* et *Callialasporites* spp. (**Tableau V.1 ; Planche photo 1 Planche photo 2, Planche photo 3 et Planche photo 4**), indiquent un réchauffement et marque le passage progressif d'un climat tempéré-froid à tempéré-chaud.

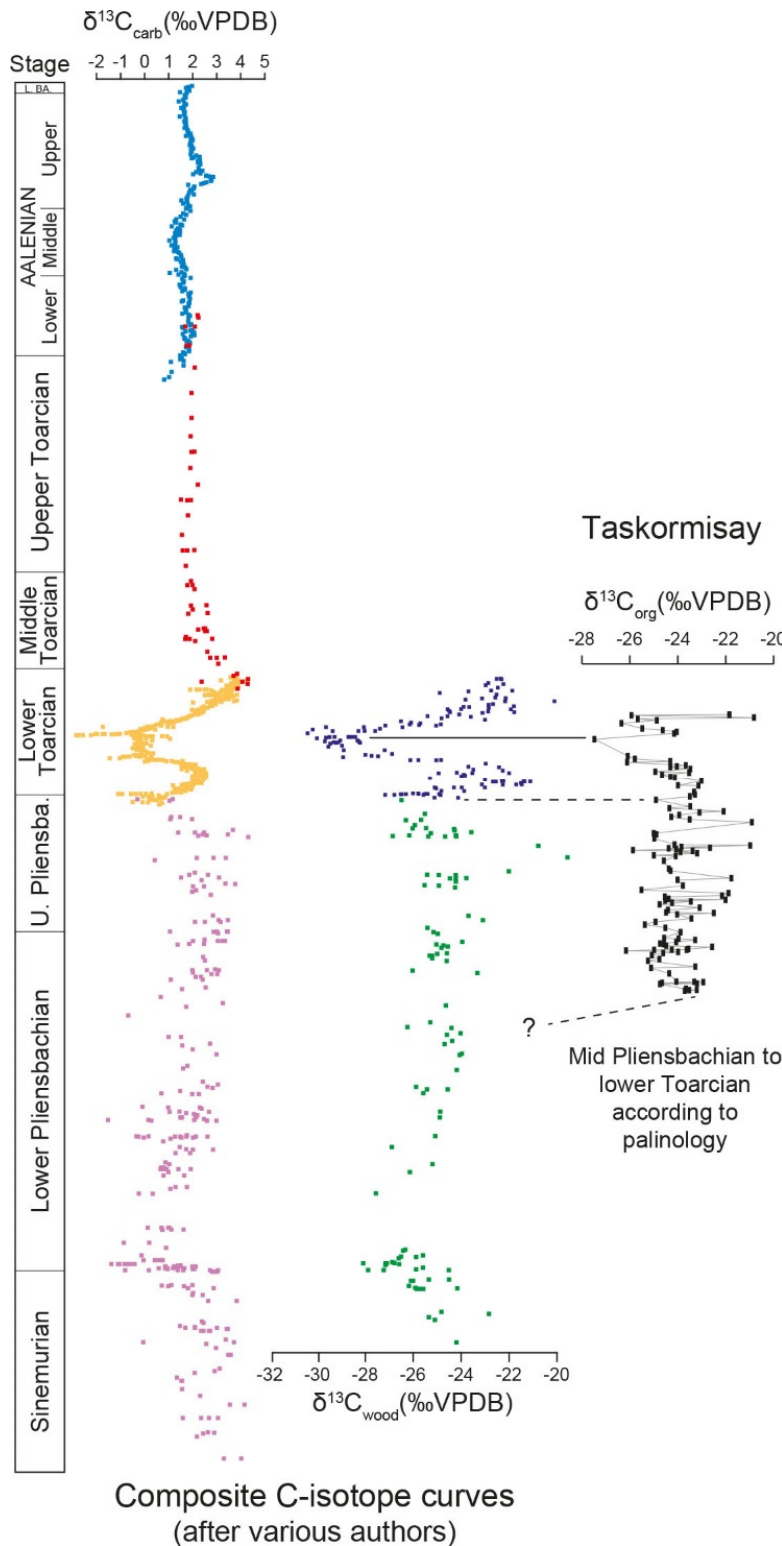


Figure V.2 : Corrélation stratigraphique de Taskomirsay extraite de Schnyder *et al.*, in prep. “Chemostratigraphic correlations of Taskomirsay section, Karatau Graben, Kazakhstan, with reference composite carbon-isotopes curves within the Upper Sinemurian-Upper Aalenian time interval. Age-assignment for Taskomirsay section was first based on palynology (indicating a Middle Pliensbachian to Lower Toarcian age), and second, refined using the shape of the carbon-isotopes curves. Palynology-based age assignment excludes an isotopic correlation with the Sinemurian/Pliensbachian negative excursion. Middle Toarcian to Upper Aalenian interval is characterized by very smooth isotopic fluctuations that do not fit with the Taskomirsay isotopic record and is inconsistent with palynological results. Finally the large negative isotopic excursion measured at the top of the Taskomirsay section best fits with the T-OAE CIE in the Lower Toarcian. This is very consistent with palynology. Sinemurian to Upper Pliensbachian composite data set from $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (purple) and $\delta^{13}\text{C}_{\text{wood}}$ (green) from Robin Hood’s Bay section, UK (Korte and Hesselbo, 2011). Lower Toarcian data set from $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (yellow) and $\delta^{13}\text{C}_{\text{wood}}$ (blue) from Peniche section, Lusitanian Basin, Portugal (Hesselbo *et al.*, 2007). Middle Toarcian and Upper Toarcian data set from $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (red) from Figueira da Foz, Porto de Moz and Rabaçal sections, Lusitanian Basin, Portugal (Duarte, 1998). Aalenian data set from $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (blue) from Agua Larga section, Subbetic Basin, Spain (Sandoval *et al.*, 2008).”

L'étude de cette transition climatique a fait l'objet d'un article (in prep.) qui sera soumis à *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. Cet article est présenté dans ce chapitre. Il s'oriente autour de trois axes majeurs qui sont traités à partir (i) des données palynologiques évoquées précédemment, (ii) des données Rock-Eval, (iii) de la géochimie moléculaire, avec notamment la distribution et la proportion des *n*-alcanes, (iv) l'isotopie de la matière organique totale ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) et (v) l'isotopie des *n*-alcanes, du pristane et du phytane (δD).

Le premier axe d'étude se concentre sur la **préservation** du signal primaire, évaluée en particulier grâce aux données Rock-Eval (T_{max}) puis, la géochimie moléculaire.

Le second axe concerne les **sources** de la matière organique à l'échelle macroscopique, géochimique et moléculaire. En particulier, les nombreux bois fossiles retrouvés en position de vie suggèrent un paysage arboré, par exemple, des barres sableuses végétalisées au sein d'un système fluviatile en ce qui concerne les grès. Les données IH et IO, replacés dans un diagramme de Van Krevelen modifié, renforcent cette idée avec une large prédominance de matières organiques de **Type-III**, caractéristique d'une matière organique terrestre. L'origine des différents *n*-alcanes est également longuement discutée.

Le troisième axe se focalise sur le **signal climatique** porté par les différents marqueurs utilisés (palynomorphes et bois fossiles, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, distribution des *n*-alcanes, δD des *n*-alcanes). Alors que l'amplitude des changements climatiques semble être variée selon les marqueurs, des hypothèses sont évoquées pour réconcilier les interprétations des différents marqueurs.



Planche photo 1 : Clichés des palynomorphes de Taskomirsay. 1, *Deltoidospora toralis* (Leschik) Lund 1977, Ech. 68 T29/2). 2, *Cibotiumspora juncta* (Kara-Murza) Pocock 1970, Ech. 211 (W35/4). 3, *Conbaculatisporites mesozoicus* Klaus 1960, Ech. 176 (S50). 4 et 5, *Ceratosporites* sp., Ech. 36 (L26/1). 6, *Deltoidospora* sp., Ech. 224 (Z29/2). 7, *Baculatisporites* sp. 2, Ech. 224 (X34/1). 8, *Osmundacidites wellmanii* Couper, Ech. 68 (V30/3). 9, *Uvaesporites argenteaeformis* (Bolchovitina) Schulz 1967, Ech. 223, lame d (Y23/4). 10 et 15, *Baculatisporites* sp. 1, Ech. 102; fig. 11 : (F54), fig. 15 : (G57). 11, *Ischyosporites variegatus* Couper 1958, Ech. 176 (F46). 12, *Baculatisporites comaumensis* (Cookson) Potonié 1956, Ech. 68 (M46/3). 13 et 14, *Ischyosporites variegatus* Couper 1958 : côtés proximaux et distaux, Ech. 176 (E48/3). 16, *Manumia delcourtii* (Pocock) Dybkjær 1991, Ech. 48 (L43/2). 17, *Ischyosporites* sp., Ech. 68 (K29/2). Barre d'échelle = 10 μm .

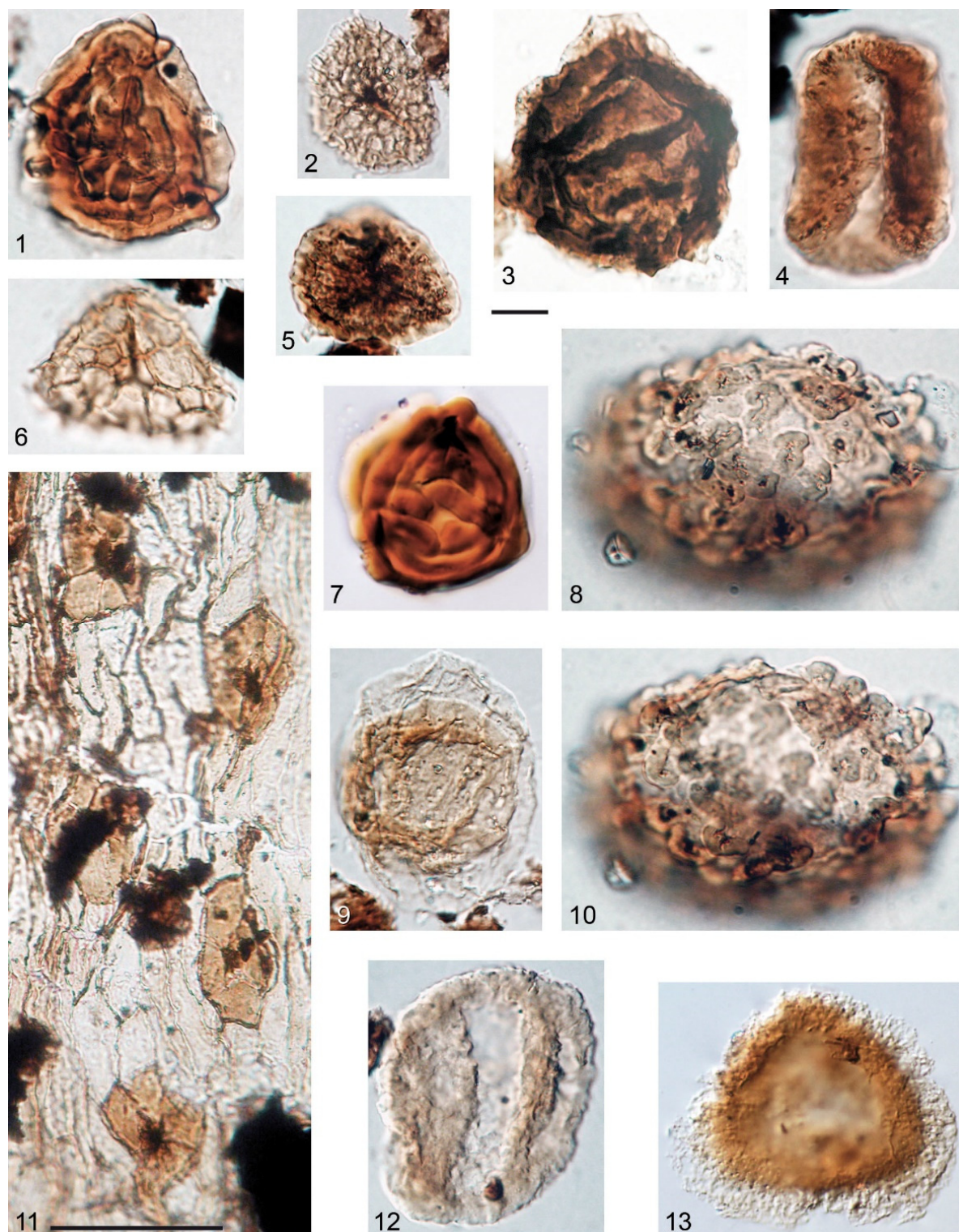


Planche photo 2 : Clichés des palynomorphes de Taskomirsay. 1, *Striatella seebergensis* Mädler 1964 emend. Filatoff & Price 1988, Ech. 58 (Q19/3). 2, *Retitriletes gracilis* (Nilsson) Döring *et al.* 1963, Ech. 223 (O46/4). 3, *Striatella jurassica* Mädler 1964, Ech. 211 (H28). 4, *Quadraeculina limbata* Malyavkina 1949, Ech. 224 (V45/1). 5, *Staplinisporites caminus* (Balme) Pocock 1970, Ech. 102 (M34/3). 6, *Retitriletes austroclavatidites* (Cookson) Döring *et al.* 1963, Ech. 211 (N43/2). 7, *Striatella scanica* (Nilsson) emend. Filatoff & Price 1988, Ech. 224, (D39/3). 8,10, *Cerebropollenites macroverrucosus* (Thiergart) Schulz 1967, Ech. 168 (H32). 9, *Perinopollenites elatoides* Couper 1958, Ech. 68 (M47/4). 11, *Czekanowskia* sp. : cuticule avec stomate, Ech. 126 (L24/3). 12, *Quadraeculina anellaeformis* Maljavkina 1949, Ech. 68 (Q36). 13, *Densoisporites scanicus* Tralau 1968, Ech. 223, lame d (Q29). Barre d'échelle = 10 μm ., sauf pour 11, Barre d'échelle = 50 μm .

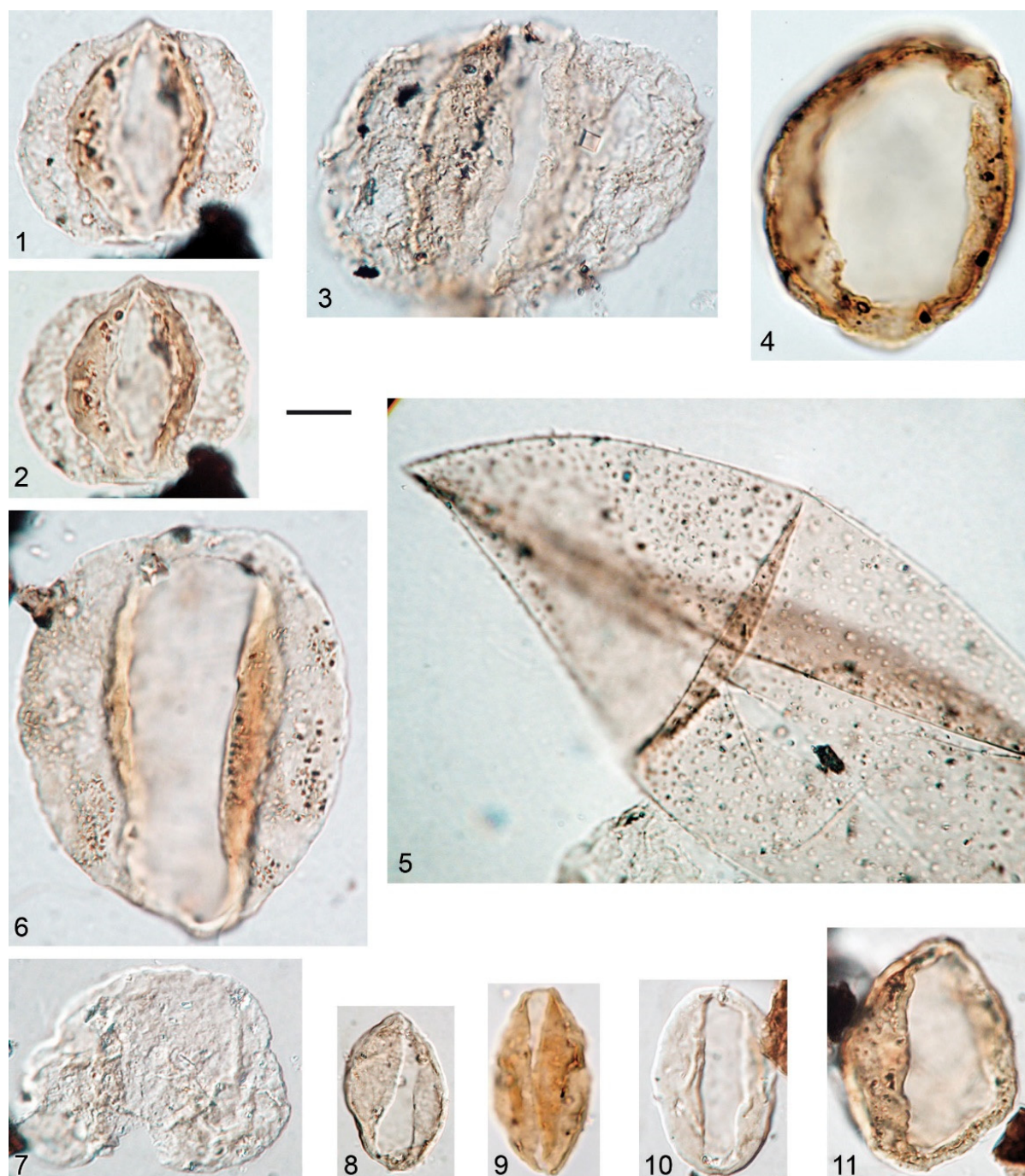


Planche photo 3 : Clichés des palynomorphes de Taskomirsay. 1, 2, *Alisporites bisaccus* Rouse 1959, Ech. 224 (Q25/4). 3, *Alisporites robustus* Nilsson 1958, 68 (J46/4). 4, *Chasmatosporites hians* Nilsson, Ech. 223 (O27). 5, *Incertae sedis*, Ech. 223, lame a (N60). 6, *Chasmatosporites* sp., Ech. 68 (J48/4). 7, *Pinuspollenites minimus* (Couper) Kemp 1970, Ech. 68 (J34/4). 8, *Cycadopites nitidus* (Balme) Pocock 1970, Ech. 223 (L33/2). 9, *Monosulcites minimus* Couper 1958, 68 (N53/4). 10, *Cycadopites dilucidus* (Bolchovitina) Iljina 1985, Ech. 223 (R37/1). 11, *Chasmatosporites elegans*, Ech. 223, lame a (T46). Barre d'échelle = 10 μm .

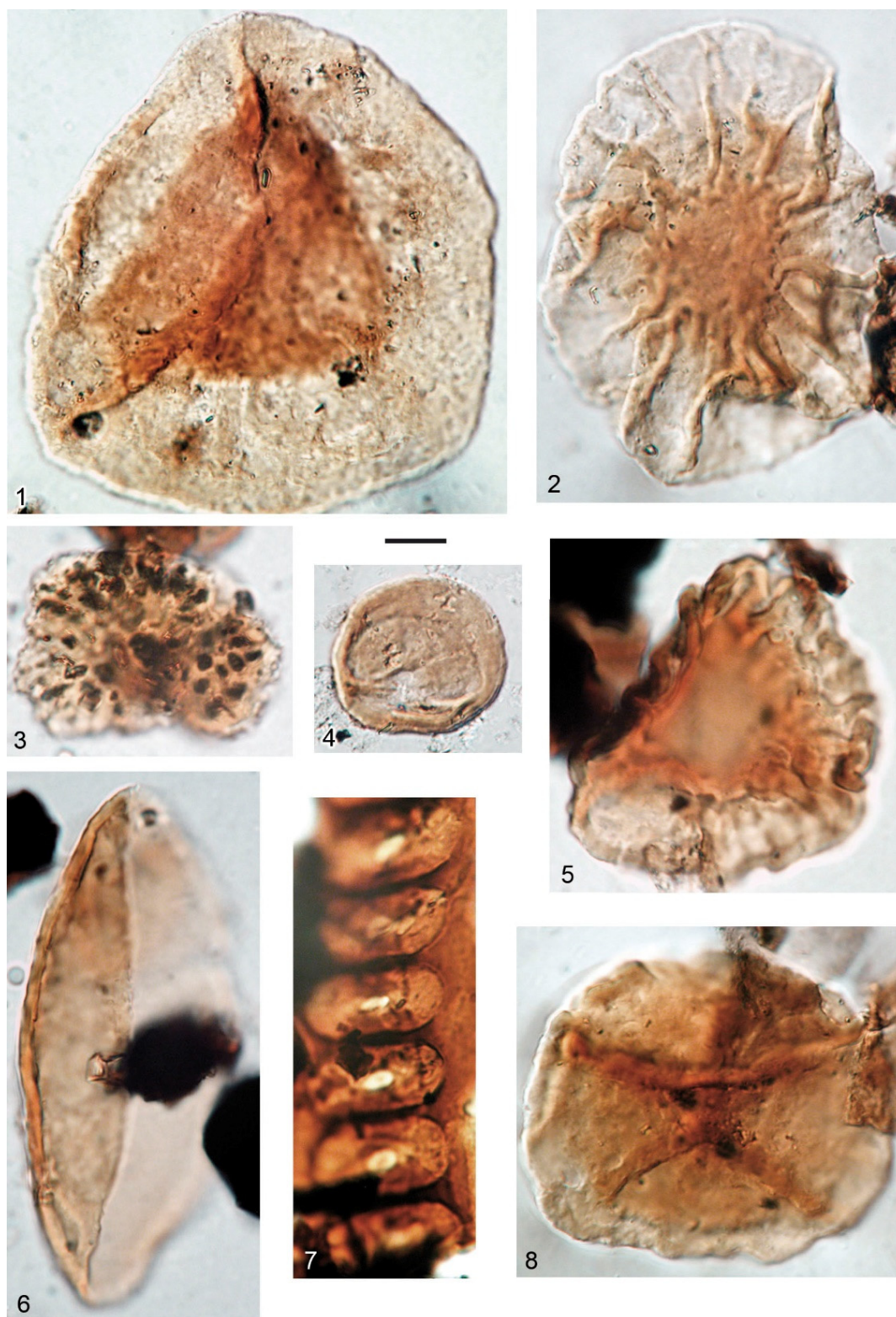


Planche photo 4 : Clichés des palynomorphes de Taskomirsay. 1, *Callialasporites turbatus* (Balme) Schulz 1967, Ech. 223, lame d (U43/1). 2, *Callialasporites dampieri* (Balme) Sukh Dev 1968, Ech. 223, lame c (R47/4). 3, *Botryococcus* sp., Ech. 223 (T23/1). 4, *Corollina torosa* (Reissinger) Klaus 1960 emend. Cornet & traverse 1975, Ech. 176 (S57/1). 5, *Callialasporites dampieri-trilobatus*, Ech. 224 (V52/4). 6, *Ovoidites* sp., Ech. 224 (T47/1). 7, fragment de bois *Xenoxylon* (fosses radiales), Ech. 126 (O21). 8, *Callialasporites microvelatus* Schulz 1966, Ech. 223, lame d (N37/3). Barre d'échelle = 10 μm .

3. Paleoclimatic changes at the Pliensbachian-Toarcian transition recorded by δD of *n*-alkanes and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ in a continental section from central Asia (Taskomirsay, South Kazakhstan).

Tramoy R.¹, Schnyder J.¹, Nguyen Tu TT², Yans J.³, Jacob J.⁴, Sebilo M.⁵, Derenne S.², Philippe. M.⁶, Huguet A.² D. Pons⁷ and Baudin F.¹

¹*Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institut des Sciences de la Terre de Paris (iSTeP), 4 place Jussieu, 75005 Paris, France*

²*Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, EPHE, Milieux Environnementaux, Transferts et Interactions dans les Sols (METIS), 4 place Jussieu, 75005 Paris, France*

³*Université de Namur, Department of Geology, NaGRIDD, 61 rue de Bruxelles, 5000 Namur, Belgium*

⁴*Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, UMR 7327 CNRS-Université d'Orléans-BRGM, 1A rue de la Férollerie, 45000 Orléans, France*

⁵*Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institute of Ecology and Environmental Sciences (IEES), 4 place Jussieu 75005 Paris, France*

⁶*Université Lyon 1, UMR 276, CNRS, Campus de la Doua, Darwin A, F69622 Villeurbanne cedex, France*

⁷*Sorbonne-Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, MNHN, Centre de Recherche sur la Paléobiodiversité et les Paléoenvironnements (CR2P), 4 place Jussieu 75005 Paris, France*

Highlights

- ⇒ Well-preserved Jurassic δD signal of *n*-alkanes enables paleoclimatic interpretations.
- ⇒ First report of brGDGT in the Early Jurassic for MAAT reconstruction.
- ⇒ Humid/cool Late Pliensbachian, associated with high seasonality.
- ⇒ Slightly less humid/warmer conditions in the Early Toarcian.
- ⇒ No drastic variations recorded by the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values.

Abstract

The Taskomirsay section (South Kazakhstan) is a unique Pliensbachian-Toarcian succession of non-marine deposits made of lignites, clayey layers and silty-sandstones deposited in a fluvial/lacustrine environment with nearby swampy areas. This period, characterized by a drastic climate change, has been particularly studied in European marine environments, whereas very few studies focused on continental settings. Paleoflora analyses, associated with a multi-isotope approach, based on well-preserved Type-III bulk organic nitrogen isotopes ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) and hydrogen isotopic composition (δD) of *n*-alkanes, were developed to document paleoclimatic changes in the area. Sporomorph associations and fossil woods revealed a globally warm- to cool-temperate climate – characterized by *Xenoxylon*, a morphogenus biogeographically related to cool/humid settings – apart from slightly less humid and warmer conditions in the Early Toarcian. Warmer conditions are supported by reconstructed temperatures, based on the first branched dialkyl glycerol tetraethers (brGDGTs) ever recorded in the Early Jurassic. Nevertheless, no drastic changes were recorded in the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values, its signal being attributed to tenuous equilibrium between water- and nutrient-availability *via* intense N-recycling. Based on *n*-alkane distribution, sources of organic matter were separated in two pools: (i) a purely terrestrial (*n*-C₂₇) and (ii) an “aquatic” pool (*n*-C₂₃) constituted of vegetation that thrived under almost permanent water supply. Their δD values (-248‰ to -151‰) as well as their amount and Average Chain Length (ACL) are in agreement with cool-temperate conditions in the Pliensbachian and less humid/warmer conditions in the Early Toarcian. The isotopic difference between δD values of *n*-C₂₇ and *n*-C₂₃ ($\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$) suggests enhanced seasonality during the Pliensbachian-Toarcian transition and low seasonality in the Early Toarcian, in agreement with temperate climate-regime. Finally, the contrasted response to paleoclimate changes between markers is discussed.

Keywords

δD , $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, Pliensbachian-Toarcian, *n*-alkanes, ACL, , *Xenoxylon*, brGDGTs.

3.1. Introduction

Major paleoenvironmental changes have been documented during the Early Jurassic and particularly in European marine sections during the Pliensbachian-Toarcian transition (~183 Ma; e. g. Jenkyns, 1988; Bassoulet and Baudin, 1994; Bailey *et al.*, 2003; Morard *et al.*, 2003; Rosales *et al.*, 2004; Hesselbo *et al.*, 2007; Suan *et al.*, 2010; Hermoso *et al.*, 2012). During the Late Pliensbachian, a 5° - 6 °C decrease in sea surface temperatures has been evidenced by $\delta^{18}\text{O}$ and Mg/Ca of carbonates, possibly related to ice sheets development at high latitudes (Bailey *et al.*, 2003; Rosales *et al.*, 2004; van de Schootbrugge *et al.*, 2005a; Suan *et al.*, 2010), and a sea level drop (Hallam, 1967; Hesselbo and Jenkyns, 1998). Then, a period of drastic warming (~8°C) has been recorded in sea surface temperatures during the early Toarcian (Bailey *et al.*, 2003; Rosales *et al.*, 2004; Suan *et al.*, 2010), associated with a sea level rise (Hallam, 1967; Hesselbo and Jenkyns, 1998). The global scale of paleoenvironmental disturbances during the Pliensbachian-Toarcian transition was confirmed by studies on sites located outside Europe in (i) the Neuquen Basin in Argentina (Al-Suwaidi *et al.*, 2010), (ii) the High Atlas, Morocco (Bodin *et al.*, 2010), (iii) the Qaidam Basin, Northwest China (Wang *et al.*, 2005), (iv) the Clarence-Moreton Basin, Eastern Australia (Jansson *et al.*, 2008) and (v) the Arctic (Suan *et al.*, 2011). However, only few studies have focused on non-marine records (Wang *et al.*, 2005; Jansson *et al.*, 2008), mainly because well-dated terrestrial records for the Early Jurassic are much less common than marine ones (Sobel, 1999).

The Taskomirsay section (South Kazakhstan, Central Asia) is made of non-marine, coal-rich sediments that encompass the Pliensbachian-Toarcian transition (Schnyder *et al.*, in prep.). The Taskomirsay section is thus a unique target for paleoclimatic reconstructions prior to and during the Pliensbachian-Toarcian transition in a continental setting. A multi-proxy approach was developed to document paleoclimatic changes in the area based on (i) palynological and paleobotanical records, (ii) bulk geochemistry (Rock-Eval and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$), (iii) *n*-alkane distribution and specific hydrogen isotopic composition (δD) and (iv) branched glycerol dialkyl glycerol tetraethers (brGDGTs).

Palynological records (Schnyder *et al.*, in prep.), combined to paleobotanical records can help to decipher paleoclimatic background as some wood taxa are paleoecologically well

constrained (Philippe and Thévenard, 1996; Philippe and Tchoumatchenco, 2008; Philippe *et al.*, 2013; Oh *et al.*, 2015). Recently, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ measured in lignites and clayey layers was used to evidence wet/dry cycles during the Paleocene-Eocene transition (Storme *et al.*, 2012). This followed previous studies showing that $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values were positively correlated to temperature and negatively to precipitations in Quaternary and modern plants (Austin and Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004; Liu and Wang, 2008). Considering the potential of $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ as a paleoclimatic marker, it will be tested in the Early Jurassic of Taskomirsay. Similarly, compound-specific δD values are often used as a paleohydrological proxy (Sachse *et al.*, 2012). Major calibration efforts during the last decade allowed improving their use for paleoclimatic reconstructions in the Quaternary (e. g. Hou *et al.*, 2006; Jacob *et al.*, 2007; Mügler *et al.*, 2008; Aichner *et al.*, 2010), but also in the Cenozoic (Andersen *et al.*, 2001; Pagani *et al.*, 2006; Garel *et al.*, 2013); and even in the Paleozoic (Dawson *et al.*, 2004; Izart *et al.*, 2012). However, to the best of our knowledge, compound-specific δD values have only been scarcely used in Mesozoic sediments (Radke *et al.*, 2005), and never for paleoclimatic purpose. Yet, the δD of *n*-alkanes preserved in ancient sediments has great potential because *n*-alkanes are much less prone to diagenetic effect as H is strongly bound to C and thus they retain their original hydrogen isotopic composition (Yang and Huang, 2003; Izart *et al.*, 2012). During the last decade, proxies based on brGDGTs, which are bacterial membrane lipids (Schouten *et al.*, 2013), have been developed to reconstruct Mean Annual Air Temperatures in terrestrial settings (MAAT; Weijers *et al.*, 2007; Peterse *et al.*, 2012; Coffinet *et al.*, 2014) and their use for old sediments deserves to be enhanced.

The aim of the present study was to assess the paleoclimatic conditions along the Pliensbachian-Toarcian transition in the sedimentary succession of Taskomirsay using multi-proxy analyses: paleobotany, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values, *n*-alkane distribution, H isotope composition, and, although restricted to a limited set of samples, brGDGTs.

3.2. Material and methods

3.2.1. Taskomirsay section

The Taskomirsay section is located in the Karatau (Leontiev Graben), South Kazakhstan, which is one of the numerous continental basin in central Asia aligned along the North Tethyan-margin (**Figure V.3**). These basins were formed by collisions between Eurasia and several blocks (Tarim, Tian Shan and Pamir Kunlun) in a transtensional/transpressional context

between the Late Triassic and the Early Jurassic (Sobel, 1999). During the Early Jurassic, the paleolatitudinal position of the Karatau basin was estimated to be $\text{N}36^\circ \pm 8^\circ$, based on paleomagnetic reconstructions (B. Vrielynck, pers. com.), in agreement with reconstructed paleolatitudes based on paleoflora assemblages ($\text{N}40^\circ$; Kirichkova and Doludenko, 1996). Thick piles of terrestrial sediments were deposited thanks to the high tectonic subsidence.

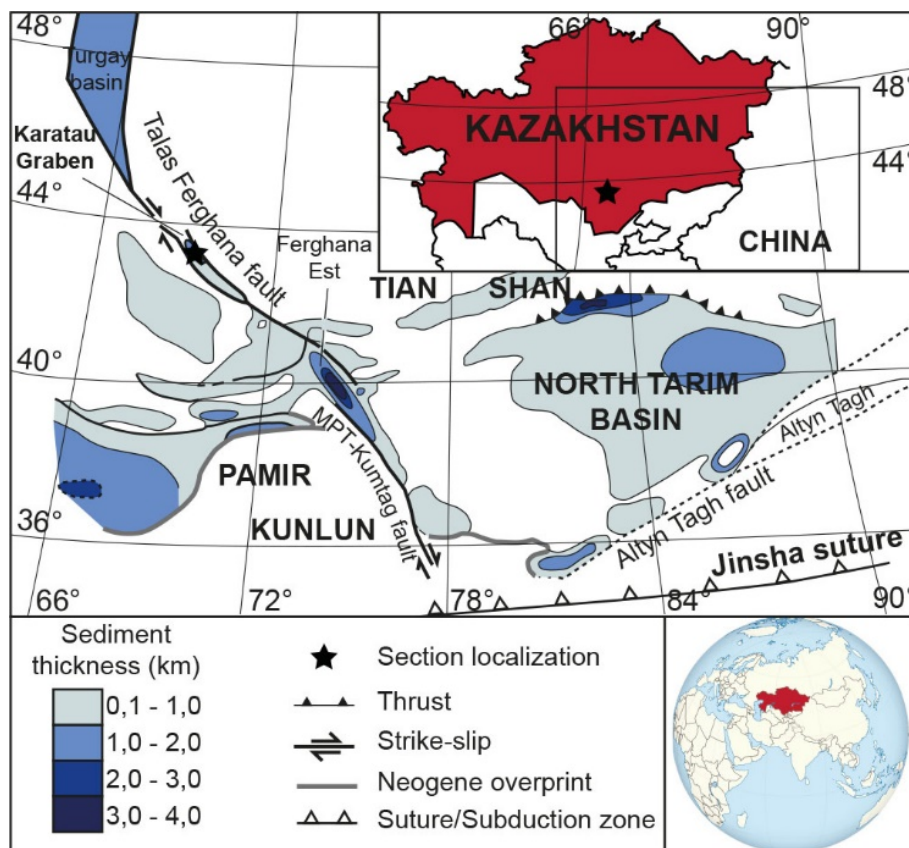


Figure V.3: Geological situation of the Taskomirsay section (modified from Schnyder *et al.*, in prep.).

The study section is 53.5 m thick and shows 6 organic-rich sedimentary cycles (**Figure V.4**; Schnyder *et al.*, in prep.). Each cycle exhibits lignite beds (noted LB1 to LB6) overlaid by clayey layers and silty-sandstone showing roots and trunks surfaces at their top. The succession of lignites, clayey layers and silty-sandstones suggests a fluvial/lacustrine depositional environment with nearby swampy areas. At the top of the section, lacustrine/deltaic environment is deduced from hummocky cross-beddings (HCS) and clay/silts alternations. Wood fragments are frequent along the section and are particularly concentrated in three surfaces labeled TP1, TP2 and TP3. Macroscopically, they exhibit an excellent morphological preservation and are found at the top and inside silty-sandstones and always in vertical position,

suggesting *in situ* trunks or roots (Schnyder *et al.*, in prep.). These sedimentological features are in agreement with peaty/swampy forests in lowland terrains and conifers in sandy river banks and/or in upland forests as it might be expected from the paleoclimatic latitudinal patterns during the Early Jurassic with warm to cool-temperate conditions prevailing from mid to high boreal latitudes (Miao *et al.*, 1989; Rees *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2005).

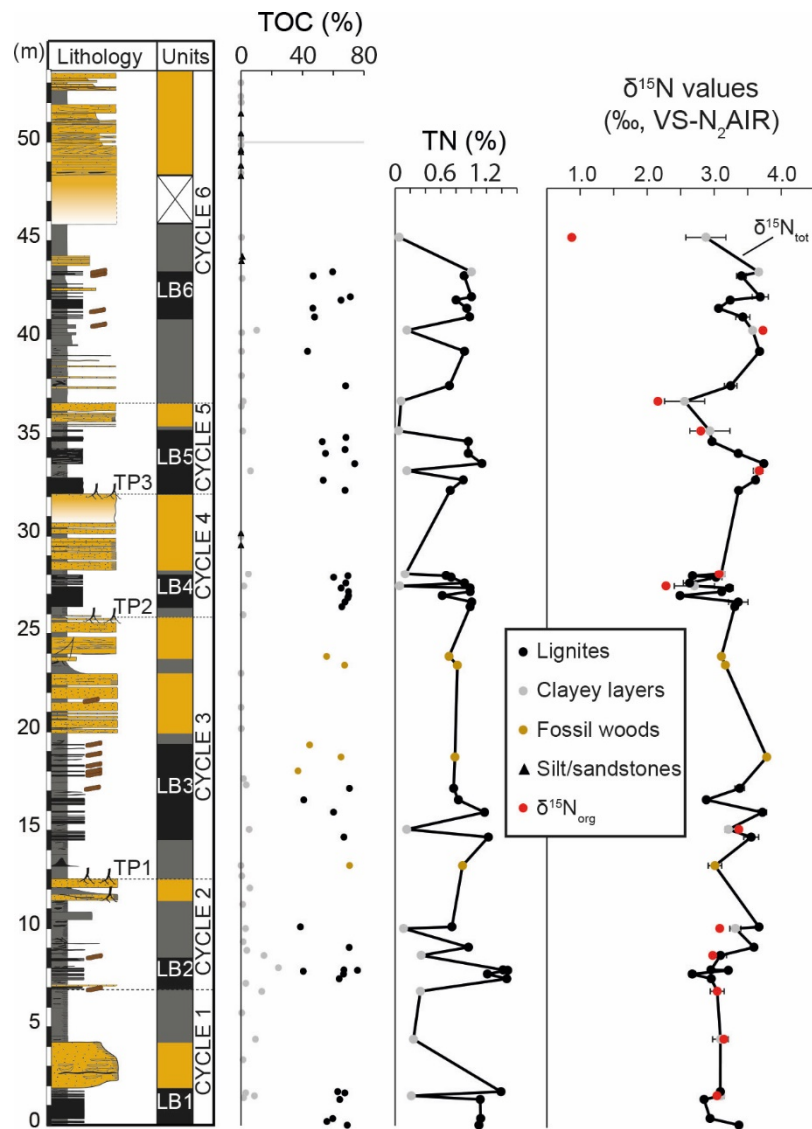


Figure V.4: $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values along the Taskomirsay section. Colors correspond to lithology (see Figure 2). The Taskomirsay section is made of lignites (black), clayey layers (gray) and silts-sandstones (orange), which often contain coalified wood trunks or roots (brown).

Despite the regular absence of reliable biostratigraphy in continental settings, the Pliensbachian-Toarcian transition was identified between ~26 m and ~35 m in Taskomirsay, based on sporomorph association and organic carbon isotopes $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ (Schnyder *et al.*,

submitted). The section was thus dated no younger than the Early Toarcian and no older than the mid-Pliensbachian.

3.2.2. Analytical methods

3.2.2.1. Fossil wood analyses

Fossil wood samples were studied with Collodion micro-casting, a method described *e. g.* in Marynowski *et al.* (2013). Despite their good macroscopic morphological preservation, woody axes revealed to be microscopically degraded by both bacterial and fungal rots. This is consistent with a relatively slow burial history before diagenesis stopped biological decay. As a consequence, only one specimen was well preserved enough for specific identification, although the others do not display departing features, which could suggest a different systematic position. The wood specimen was identified at generic level with Philippe and Bamford (2008) key and at specific level with Philippe *et al.* (2013) key.

3.2.2.2. Bulk organic analyses

Total Organic Carbon (TOC) values were obtained for 100 samples sampled regularly, using a Leco automatic carbon analyzer (IR-212) that gives more reliable TOC values for samples containing large amounts of terrestrial OM than Rock-Eval pyrolysis (Espitalié *et al.*, 1985). A total of 120 samples, including 6 replicates, were analyzed by Rock-Eval pyrolysis using a Rock-Eval 6. For this study, the following Rock-Eval parameters were used: (i) Hydrogen Index (HI, mg HC/g TOC), which is the amount of hydro-carbonaceous products released during pyrolysis normalized to TOC values; (ii) Oxygen Index (OI, mg CO₂/g TOC), calculated from the amounts of CO and CO₂ released during pyrolysis, which represents the oxygen content of the OM; and (iii) T_{max}, which is the temperature of the pyrolysis oven recorded at the maximum of HC production (Espitalié *et al.*, 1985). After Rock-Eval pyrolysis, a few samples were suspected to contain siderite that disturbed measurements of the Rock-Eval parameters, especially for OI values. This was supported by very low dissolution rate of carbonates in 25% HCl solution Together with low S2 peak values (S2<0.3) – leading to misestimation of HI values – 29 samples were removed from the dataset and will not be discussed further.

3.2.2.3. Bulk organic nitrogen isotopes ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$)

A total of 52 samples were analyzed for $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Only samples with TOC values $>1\%$ were selected, because nitrogen content in sediments from Taskomirsay is usually very low. As inorganic nitrogen (N_{bnd}) is strongly bound in clay minerals as ammonium (Müller, 1977), it is easier to remove organic nitrogen (N_{org}) and recalculate the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ by mass-balance knowing total nitrogen (N_{tot}), N_{bnd} and their respective isotopic signature $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ (Storme *et al.*, 2012). N_{tot} and $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ were measured on powdered/decalcified samples, while N_{bnd} and $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ were measured on subsamples, which were treated with KOBBr-KOH solution (2 mol/L) to eliminate the N_{org} (Silva and Bremner, 1966; Schubert and Calvert, 2001). The solution consisted of 6 mL pure bromine added at 0.5 mL/min to 200 mL of 2M KOH cooled with ice. Between 500 to 1000 mg of subsamples were immersed in 20 mL of the KOBBr-KOH solution with magnetic agitation process. After 2 hours, 60 mL of distilled water was added in each subsamples before being boiled with an oil-bath at $\sim 200^\circ$ for at least 5 min. With this treatment, organic nitrogen is liberated under ammonium form and stays in solution. The mixture was washed the next day by repetitive centrifuging (2x; 4000rpm; 1min30) with 0.5 M of KCl to remove the released ammonium. Potassium in the solution during this process prevents the adsorption by clay minerals of ammonium released during the previous oxidation. Then, subsamples were washed again with distilled water to remove nitrogen complex salts from the solution. Samples were finally dried and powdered again for isotope analyses.

N_{tot} , N_{bnd} of samples and their respective isotopic signature $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ were determined by mass spectrometry using a Thermo Scientific Delta V plus mass spectrometer connected to a ConFlo IV dilution system, coupled with a Flash 2000 analyzer for elemental analyses. The analytical accuracy and precision of the system were monitored using tyrosine ($\delta^{15}\text{N} = 10.01\text{‰}$) as internal laboratory standard, that was calibrated on international standards IAEA-N1 ($\delta^{15}\text{N} = 0.3\text{‰}$), IAEA-N2 ($\delta^{15}\text{N} = 20.1\text{‰}$) and IAEA-N3 ($\delta^{15}\text{N} = 4.5\text{‰}$). Isotopic values were then expressed relative to international N_2 air reference. The overall precision was better than 0.2‰ above $40 \mu\text{g}$ of nitrogen and 0.3‰ below this amount. Replicate analyses were performed, with a mean standard deviation better than 0.1‰ for $\delta^{15}\text{N}$ values and better than 0.001% for the nitrogen content. For isotopic values measured with nitrogen amount above $40 \mu\text{g}$, the replicate standard deviation was applied. For those measured below this amount, the standard deviation based on tyrosines (0.3‰) was applied, even if standard deviation based on replicates was lower.

3.2.2.4. Lipid extraction

Lipid extractions were performed on 11 lignites, 2 trunk/root-like samples and 12 clayey layers. Samples were extracted with an Accelerated Solvent Extractor (ASE 100, Dionex©), using a dichloromethane (DCM):methanol (MeOH) (2:1, v:v) mixture. A 34 mL cell was used with the following extraction protocol: temperature at 60 °C, one static time during 20 min, 100% flush and 100 s purge, all repeated 3 times. The lipid extract was then concentrated under vacuum and further evaporated under a smooth nitrogen flow to avoid loss of volatile molecules. The total lipid extracts (TLE) were then weighed, dissolved in heptane and separated on alumina solid phase extraction columns into an apolar and a polar fraction. The apolar fraction was eluted with heptane:DCM (99:1, v:v) and the polar fraction was eluted with DCM:MeOH 2:1 v:v. C_{12} -alkane was added as an internal standard before analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) for identification and quantification purposes. *n*-Alkanes content, their Carbon Preference Index (CPI) and Average Chain Length (ACL) were calculated as follows, all over the range C_{21} - C_{35} :

n-Alkanes content = $\Sigma[\text{C}_i]$

$$\text{CPI} = \frac{1}{2} \times \left(\frac{\Sigma[\text{C}_{\text{odd}}(21-35)]}{\Sigma[\text{C}_{\text{even}}(20-34)]} \right) + \frac{1}{2} \times \left(\frac{\Sigma[\text{C}_{\text{odd}}(21-35)]}{\Sigma[\text{C}_{\text{even}}(22-36)]} \right)$$

$$\text{ACL} = \Sigma(\text{C}_i \times [\text{C}_i]) / [\text{C}_i]$$

Where $[\text{C}_i]$ is the concentration of the odd *n*-alkanes ($\mu\text{g/gTOC}$) with carbon number C_i .

Apolar fractions were further separated on Kieselgel-type silica columns with heptane in order to purify the *n*-alkane fraction before δD analysis by Gas Chromatography-isotope ratio Mass Spectrometry (GC-irMS). Silica was previously extracted with DCM, then activated at 120 °C for 24h and finally deactivated with 5% H_2O .

3.2.2.5. LC-MS analysis

Polar fractions obtained after separation of the TLEs over alumina columns were rotary evaporated, re-dissolved in 1 ml heptane and centrifuged using an Eppendorf Mini Spin centrifuge (1 min, 7000 rpm). The supernatant was collected and analyzed by high performance

liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (HPLC/APCI-MS). HPLC/APCI-MS analyses were performed with a Shimadzu LCMS-2020. GDGTs were analyzed using a procedure described in Huguet *et al.* (2013). MAAT were calculated using Weijers *et al.* (2007) and Peterse *et al.* (2012) calibrations, based on MBT and CBT indices as described in Coffinet *et al.* (2014).

3.2.2.6. GC-MS analysis

GC-MS analyses were performed on an Agilent 6890N gas chromatograph system coupled with an Agilent 5973 Mass Selective Detector mass-spectrometer. The GC was fitted with a Restek RTX-5Sil-MS column (30 m \times 0.25 mm i.d., 0.5 μm film thickness) with a constant helium flow of 1 ml/min. Samples were dissolved in heptane and injected splitless in a 1 μL volume with the injector temperature set at 320 $^{\circ}\text{C}$. GC operating conditions were as follows: initial temperature hold at 80 $^{\circ}\text{C}$ for 30 s, then increase from 80 to 100 $^{\circ}\text{C}$ at 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and 100 to 320 $^{\circ}\text{C}$ at 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ with a final isothermal hold at 320 $^{\circ}\text{C}$ for 20 min. The mass spectrometer was operated in the electron ionization (EI) mode at 70 eV ionization energy and scanned from 35 to 800 Da. Biomarkers were identified based on mass spectra and retention times. Quantification was performed by measuring the peak area in Total Ion Current (TIC) of each identified molecule. The peak areas were then normalized to the peak area of the internal standard C_{12} -alkane, measured on the TIC and to the total organic carbon (TOC) of the sample extracted.

3.2.2.7. GC-irMS analysis (δD)

The hydrogen isotopic composition of *n*-alkanes (δD) was determined by GC-irMS using a Trace GC chromatograph equipped with a Triplus autosampler, connected to a GC-Isolink pyrolysis interface, a ConFlo IV dilution system coupled to a DeltaV Advantage isotope ratio mass spectrometer, all from ThermoElectron (Bremen, Germany). The analytical accuracy and precision of the system were monitored using a mixture of *n*-alkanes (*n*- C_{16} to *n*- C_{30} , Arndt Schimmelmann, Indiana University, Bloomington, IN, USA) that was analyzed before and after each set of 5 injections. The overall precision for the *n*-alkane standards δD was better than 6%. The measured δD of the *n*-alkane standard were in good agreement with those measured off line. Because these results were satisfactory, we did not proceed to a normalization of δD results. δD values were based on triplicate analyses, calculated against a

calibrated H_2 gas and normalized to the V-SMOW international standard. The mean precision (standard deviation) was better than 6‰ for δD values of the C_{17} to C_{35} *n*-alkanes and of pristane, and better than 7‰ for phytane. The H_3^+ factor was calculated prior to analyses and was consistently below 3 ppm V^{-1} . Because of the low amount of biomarkers in some samples, only 18 samples could be analyzed for δD out of 25 lipid extracts. Among the latter samples, it was not possible to measure accurately the whole range of *n*-alkanes for all samples, depending on their respective concentration.

3.3. Results

3.3.1. Fossil woods

Many fossil woods are present along the section, although only one sample was positively identified as *Xenoxylon fuxinense* Ding in the TP3 surface (**Figure V.4**). The other samples (TP1, TP2 and TP3 trunk surfaces) did not seem to differ. However, their preservation state was too poor, for safe identification. *X. fuxinense* is a secondary xylem documented from the Later Liassic (Negoya Fm) of the Kuruma Group, Japan, to the Early Cretaceous (Aptian-Albian, Fuxin Fm) of Liaoning, China, and an Asian endemic (Philippe *et al.*, 2013) restricted to relatively high paleolatitudes.

3.3.2. Bulk geochemistry

TOC values from LECO ranged from 0 to 75.8% (see supplementary data; **Annexe 5**). TOC values ranged from 38.7% to 75.8% in lignites, from 0 to 24.4% in clayey layers and from 0 to 0.9% in silty-sandstones. Except for one sample, T_{max} values were always below 440 °C (423 °C in average; see supplementary data; **Annexe 5**), suggesting an immature OM that suffered limited burial (Espitalié *et al.*, 1985). In lignites, HI values ranged from 38 to 217 mg HC/g TOC (128 mg HC/g in average) and OI values ranged from 19 to 80 $\text{CO}_2/\text{g TOC}$ (35 mg $\text{CO}_2/\text{g TOC}$ in average). In clayey layers, HI values ranged from 29 to 136 mg HC/g TOC (74 mg HC/g in average) and OI values ranged from 19 to 165 $\text{CO}_2/\text{g TOC}$ (52 mg $\text{CO}_2/\text{g TOC}$ in average; see supplementary data; **Annexe 5**). In an HI-OI diagram, the Taskomirsay samples plot in the Type-III (**Figure V.5**), suggesting an OM dominated by terrestrial plants (Espitalié *et al.*, 1985).

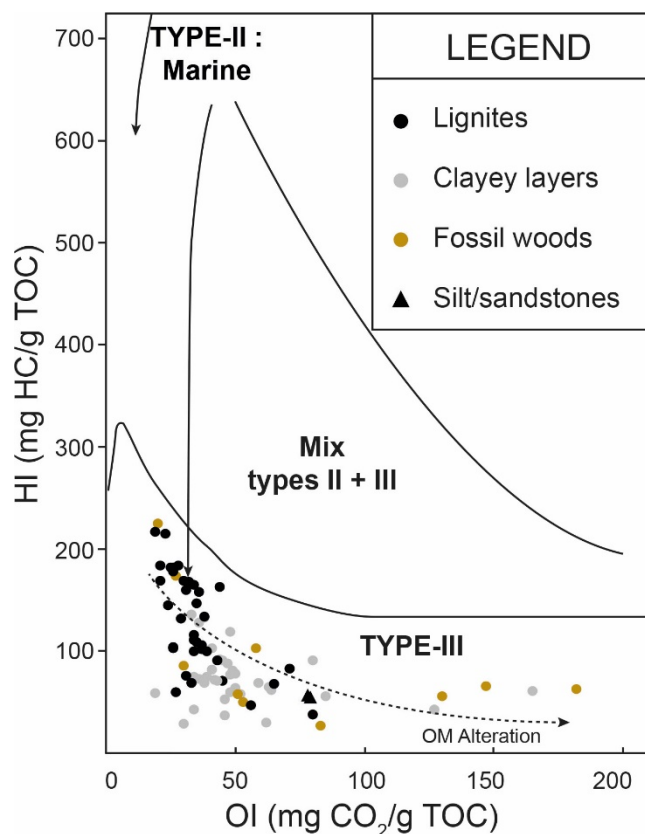


Figure V.5: Taskomirsay samples plotted in a HI (Hydrogen Index)/OI (Oxygen Index) diagram.

Total nitrogen content ranged between 0.05 and 1.48% (**Table V.1**). Considering high TOC values (>40%) in lignites and the absence of clay minerals in this lithology, we assume that N_{tot} is almost equal to N_{org} . In a plot of $\%N_{\text{tot}}$ vs $\%TOC$ (**Figure V.6**), there is an intercept of 0.039% N at 0% TOC showing a significant fraction of inorganic N bound in clay minerals (Schubert and Calvert, 2001) for samples below 20% of TOC (clayey layers), whereas there is a negligible intercept of 0.0019% N when considering $\%N_{\text{org}}$ vs $\%TOC$ (**Figure V.6**). Thus, to calculate accurate atomic C/N ratios, we used N_{tot} for lignites and N_{org} for clayey layers. In Taskomirsay, C/N ratios ranged from 38 to 132 (**Table V.1**).

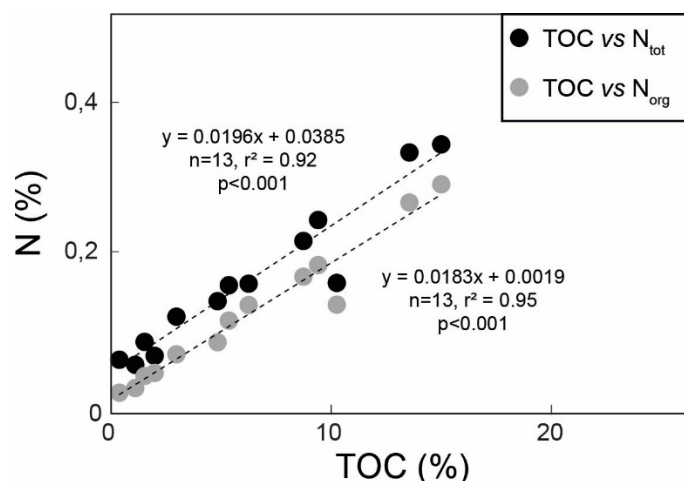


Figure V.6: TOC values of clayey layers plotted against corresponding N_{tot} and N_{org} values showing a significant part of N_{bnd} in clay minerals.

3.3.3. Nitrogen isotopes

The $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values ranged between 2.5‰ and 3.8‰ (3.2‰ in average; **Table V.1**, **Figure V.4**). Together with the absence of clay – prone to adsorb inorganic nitrogen (Müller, 1977) – in lignites or coalified trunks, we argue for the use of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values as representative of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values. Indeed, Tramoy *et al.* (submitted) have shown that $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values were driven by $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values swampy/lacustrine sediments of an Eocene-Oligocene section. In those conditions, no drastic variations were recorded in the $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values ranging mainly from 2.5‰ to 3.5‰ (**Figure V.4**), when compared to the 8‰ range recorded in a continental section from the Paleocene-Eocene (Storme *et al.*, 2012). Except one sample (TP3-224), $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values of clay samples were almost equal to their $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values (**Figure V.4**).

Table V.1: Bulk organic results. TOC: Total Organic Carbon; TN, Total Nitrogen; Atomic C/N: TOC/TN; N_{bnd} , inorganic bound nitrogen; N_{org} , organic nitrogen calculated by $\text{TN} - N_{\text{bnd}}$. Isotopic values are also reported as well as their standard deviation (σ) calculated on replicates analyses (2 at least). Standard deviation calculated on tyrosines ($\pm 0.3\%$) was applied for samples below 40 $\mu\text{g N}$ (highlighted in grey). *TOC/ N_{org} for clay samples.

Samples	Position (m)	Lithology	TOC (%)	TN (%)	C/N	N_{bnd} (%)	N_{org} (%)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (‰)	SD (1 σ)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (‰)
TP3-234	52.02	Clay	0.23	-	-	-	-	-	-	-
TP3-231	49.85	Clay	0.07	-	-	-	-	-	-	-
TP3-226	48.43	Clay	0.11	-	-	-	-	-	-	-
TP3-224	45.17	Clay	0.4	0.06	*38	0.04	0.01	2.9	0.30	0.9
TP3-216	43.41	Lignite	59.6	1.00	59	-	0.24	3.7	0.04	-
TP3-212	43.21	Lignite	47.0	0.91	52	-	0.53	3.4	0.07	-
TP3-205	42.15	Lignite	71.2	1.00	71	-	0.16	3.7	0.12	-
TP3-203	41.98	Lignite	65.1	0.80	81	-	0.13	3.2	0.04	-
TP3-201	41.57	Lignite	46.8	0.94	50	-	0.38	3.1	0.04	-
TP3-195	41.12	Lignite	47.9	0.98	49	-	0.42	3.4	0.11	-

Chapitre V : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique au Pliensbachien-Toarcien

TP3-191	40.45	OM-rich clay	10.3	0.16	*93	0.03	0.13	3.6	0.01	3.7
TP3-190	40.34	Clay	0.4	-	-	-	-	-	-	-
TP3-185bis	39.38	Lignite	43.3	0.91	47	-	0.28	3.7	0.04	
TP3-179	37.63	Lignite	68.1	0.71	95	-	0.14	3.2	0.09	
TP3-176	36.85	Clay	1.5	0.08	*53	0.05	0.03	2.6	0.30	
TP3-169	35.34	Clay	1.1	0.05	*72	0.03	0.02	2.9	0.30	2.8
TP3-165	34.80	Lignite	52.9	0.96	55	-	0.38	3.0	0.03	3.7
TP3-162	34.20	Lignite	55.0	0.96	57	-	0.46	3.4	0.05	
TP3-159	33.68	Lignite	74.0	1.14	65	-	0.22	3.7	0.02	
TP3-157	33.32	OM-rich clay	6.2	0.16	*57	0.03	0.13	3.7	0.07	3.7
TP3-153	32.84	Lignite	53.5	0.90	60	-	0.26	3.6	0.00	
TP3-151	32.32	Lignite	67.7	0.73	93	-	0.37	3.4	0.02	
TP2-141	28.03	Clay	4.8	0.13	*72	0.06	0.08	3.1	0.05	3.1
TP2-140	27.94	Lignite	69.6	0.67	104	-	0.09	2.7	0.05	
TP2-139	27.86	Lignite	60.3	0.74	82	-	0.15	3.0	0.09	
TP2-135	27.57	Lignite	68.2	0.91	75	-	0.18	2.6	0.09	
TP2-133	27.42	Clay	2.0	0.06	*61	0.02	0.04	2.7	0.30	2.3
TP2-132	27.31	Lignite	65.2	0.99	66	-	0.19	3.2	0.06	
TP2-131	27.13	Lignite	69.9	0.99	71	-	0.23	3.1	0.04	
TP2-130	26.93	Lignite	70.0	0.62	113	-	0.09	2.5	0.04	
TP2-128	26.60	Lignite	67.6	1.01	67	-	0.25	3.4	0.15	
TP1-127	26.36	Lignite	65.6	0.99	67	-	0.29	3.3	0.05	
TP1-117	23.84	Coalified root/trunk	55.7	0.71	79	-	0.16	3.1	0.02	
TP1-114	23.39	Coalified root/trunk	67.4	0.82	82	-	0.18	3.2	0.01	
TP3-107	21.24	Clay	0.07	-	-	-	-	-	-	
TP1-99	18.72	Coalified root/trunk	65.1	0.79	83	-	0.13	3.8	0.01	
TP1-89	17.13	Lignite	70.6	0.77	92	-	0.08	3.4	0.07	
TP1-87	16.54	Lignite	40.8	0.83	49	-	0.48	2.9	0.00	
TP1-84	15.91	Lignite	60.2	1.17	51	-	0.34	3.7	0.06	
TP1-76	15.04	Clay	5.3	0.16	*58	0.05	0.11	3.2	0.05	3.4
TP1-71	14.65	Lignite	67.0	1.22	55	-	0.26	3.6	0.11	
TP1-65	13.20	Coalified root/trunk	70.6	0.89	80	-	0.15	3.0	0.10	
TP3-65	13.20	Clay	0.02	-	-	-	-	-	-	
TP1-51	10.08	Lignite	38.7	0.75	52	-	0.42	3.7	0.01	
TP1-50	9.99	Clay	3.0	0.11	*55	0.05	0.06	3.3	0.08	3.1
TP1-46	9.04	Lignite	70.4	0.96	73	-	0.13	3.6	0.00	
TP1-43	8.63	OM-rich clay	15.0	0.34	*60	0.05	0.29	3.1	0.09	3.0
TP1-38	7.89	Lignite	67.0	1.42	47	-	0.24	2.9	0.02	
TP1-38base	7.87	Lignite	75.8	1.48	51	-	0.31	3.2	0.03	
TP1-35	7.68	Lignite	66.7	1.21	55	-	0.19	2.7	0.05	
TP1-33	7.44	Lignite	63.9	1.47	44	-	0.37	3.0	0.03	
TP1-29	6.80	OM-rich clay	13.6	0.33	*60	0.07	0.27	3.0	0.10	3.0
TP1-22	4.36	OM-rich clay	9.4	0.24	*60	0.06	0.18	3.1	0.12	3.1
TP1-15	1.70	Lignite	62.9	1.39	45	-	0.32	3.1	0.04	
TP1-11	1.48	OM-rich clay	8.7	0.21	*61	0.05	0.17	3.1	0.05	3.0
TP1-8	1.30	Lignite	64.3	1.12	58	-	0.38	2.8	0.01	
TP1-5	0.33	Lignite	59.7	1.12	53	-	0.29	2.9	0.04	
TP1-1	0.00	Lignite	69,1	1,10	63	-	0,56	3,4	0,04	
Average				0.7			0.23	3.2		

Table V.2: Molecular geochemistry of the lipid extracts. brGDGT relative abundances used for MAAT calculations are in supplementary data 2. BrGDGT-derived temperatures calculated from the calibration by Weijers *et al.* (2007) are not shown. a %Lipids in dry sediments.

Samples	Lithology	Position (m)	TOC (%)	^a Lipid content (%)	<i>n</i> -alkane range (max; sub-maxs)	<i>n</i> -alkane content ($\mu\text{g/gTOC}$)	CPI (C ₂₁ -C ₃₅)	ACL (C ₂₁ -C ₃₅)	Pr/Ph ratio	MAAT (°C) Peterse <i>et al.</i> 2012
TP3-234	Clay	52.02	0.23	0.01	C ₁₆ -C ₃₇ (C ₂₁ ; C ₂₅ ; C ₃₅)	51	1.7	26.4	0.3	12.4
TP3-231	Clay	49.85	0.07	<0.01	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₂₃)	268	1.1	27.2	0.3	-
TP3-226	Clay	48.43	0.11	<0.01	C ₁₄ -C ₃₅ (C ₁₈ ; C ₂₇)	78	1.1	26.1	0.3	-
TP3-224	Clay	45.17	0.6	0.13	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₂₇ ; C ₃₅ ; C ₁₈)	621	3.2	27.9	0.7	11.9
TP3-216	Lignite	43.41	59.6	1.85	C ₁₃ -C ₃₇ (C ₃₅ ; C ₂₅ ; C ₂₉)	172	4.0	29.8	3.9	-
TP3-203	Lignite	41.98	65.10	0.86	C ₁₄ -C ₂₈ (C ₂₁)	11	2.0	22.4	2.0	10.5
TP3-195	Lignite	41.12	47.9	2.08	C ₁₃ -C ₃₇ (C ₂₃ ; C ₃₃)	154	3.2	27.1	5.7	-
TP3-190	Clay	40.34	0.4	0.01	C ₁₃ -C ₃₆ (C ₁₈ ; C ₂₅)	29	1.8	26.4	1.0	-
TP3-176	Clay	36.85	1.5	0.03	C ₁₇ -C ₃₅ (C ₂₇)	247	2.3	26.8	2.1	-
TP3-169	Clay	35.34	1.09	<0.01	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₁₈ ; C ₂₇)	40	2.1	27.5	0.8	-
TP3-157	OM-rich clay	33.32	6.24	0.21	C ₁₄ -C ₃₆ (C ₂₉ ; C ₂₇)	92	2.6	27.3	7.6	6.8
TP3-151	Lignite	32.32	73.1	2.49	C ₁₄ -C ₃₅ (C ₂₃)	13	5.5	23.7	2.7	-
TP2-140	Lignite	27.94	69.6	1.27	C ₁₅ -C ₃₁ (C ₂₁)	8	1.6	23.0	2.6	-
TP2-127	Lignite	26.36	65.6	2.06	C ₁₄ -C ₃₅ (C ₂₃)	46	2.1	24.8	6.7	-
TP1-114	Coalified root/trunk	23.39	67.4	3.64	C ₁₄ -C ₃₅ (C ₂₃ ; C ₁₈)	11	2.3	24.0	6.0	-
TP1-107	Clay	21.24	0.07	<0.01	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₁₈ ; C ₂₇)	311	1.1	27.2	0.6	-
TP1-99	Coalified root/trunk	18.72	75.4	2.35	C ₁₃ -C ₃₇ (C ₂₁ ; C ₃₅ ; C ₂₉)	26	2.7	26.3	6.1	-
TP1-87	Lignite	16.54	38.6	1.90	C ₁₃ -C ₃₇ (C ₂₃ ; C ₂₇ ; C ₃₅)	262	3.8	27.5	3.3	-
TP1-65	Coalified root/trunk	13.20	70.6	2.23	C ₁₃ -C ₂₉ (C ₂₃)	129	1.6	23.6	1.7	11.5
TP1-65bis	Clay	13.20	0.02	<0.01	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₂₇ ; C ₁₈)	3313	1.6	26.7	0.9	-
TP1-50	Clay	10.0	3.0	0.1	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₂₃ ; C ₃₅ ; C ₂₉)	53	2.4	27.3	3.2	4.0
TP1-38	Lignite	7.89	67.0	3.90	C ₁₁ -C ₃₇ (C ₃₅ ; C ₂₉ ; C ₁₉)	218	3.5	30.4	4.5	-
TP1-22	Clay	4.36	9.4	0.58	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₂₅)	166	2.6	26.2	2.9	15.9
TP1-15	Lignite	1.70	62.9	2.65	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₃₅ ; C ₂₉ ; C ₂₃)	189	3.4	30.5	6.6	-
TP1-5	Lignite	0.34	59.7	2.43	C ₁₄ -C ₃₇ (C ₃₅ ; C ₂₉ ; C ₂₃)	374	4.4	31.8	5.4	-
Average							2.5	26.7	3.1	

3.3.4. Alkanes

n-Alkane amount ranged between 11 and 621 $\mu\text{g/gTOC}$ (192 $\mu\text{g/gTOC}$ in average; **Table V.2**), except TP1-65 (clay) that yielded ~ 3300 $\mu\text{g/gTOC}$. It is noteworthy that the amount of *n*-alkanes decreased from the base of the section to the base of LB5 at 32.3 m, before it increased to the top. These trends were even clearer within lignite beds, with values gradually decreasing from LB1 to LB5 (315 $\mu\text{g/gTOC}$ to 18 $\mu\text{g/gTOC}$ in average), while TOC values remained similar (**Table V.2**, **Figure V.7**).

In this study, we use the following terminology: short chain *n*-alkanes $<C_{21} \leq$ mid-chain *n*-alkanes between $\leq C_{25} <$ long chain *n*-alkanes. The distribution of *n*-alkanes was highly variable along the section with patterns not related to lithology or depth (**Table V.2**, **Figure V.7**). The distribution of *n*-alkanes in lignite beds from the bottom part (LB1 and LB2) was similar, with a trimodal distribution: a strong maximum at C_{35} and two sub-maxima at C_{29} and C_{23} (Table 2). In LB3, distribution was bimodal with a maximum at C_{21} or C_{23} and strong sub-maximum at C_{35} . The lignites from the middle part of the section in LB4 and LB5 showed unimodal distribution maximizing at C_{21} or C_{23} . In LB6, three different patterns were recorded: a unimodal distribution maximizing at C_{25} in TP3-195, at C_{21} in TP3-203 and pattern similar to those reported in LB1 and LB2 in TP3-216. Clayey samples TP1-22, TP3-157 and TP3-176) showed unimodal distribution maximizing around at C_{25} or C_{27} , whereas the distribution was affected by unusual amount of C_{18} in the others leading to bimodal and even trimodal distribution in TP3-224 that resulted from a strong contribution of C_{35} (**Figure V.7**). In particular, the two trunk/root samples (TP1-65 and TP1-114) showed a similar pattern clearly maximizing at C_{23} .

Most of the samples had a marked odd/even predominance in the range C_{21} to C_{35} . They mainly exhibit Carbon Preference Indices (CPI) higher than 2 and reaching 5.5 (**Table V.2**). This odd predominance was mainly driven by the longest homologues ($> C_{25}$), which are usually attributed to higher plant leaf-wax input (Eglinton *et al.*, 1962; Eglinton and Hamilton, 1967; Meyers, 1997). Short-chain *n*-alkanes ($<C_{21}$) – generally attributed to algal/bacterial sources (Blumer *et al.*, 1971; Cranwell *et al.*, 1987; Giger *et al.*, 1980; Meyers, 1997; Ladygina *et al.*, 2006) – were in relatively low amount ($24\% \pm 15\%$) when compared to mid- and long-chain *n*-alkanes.

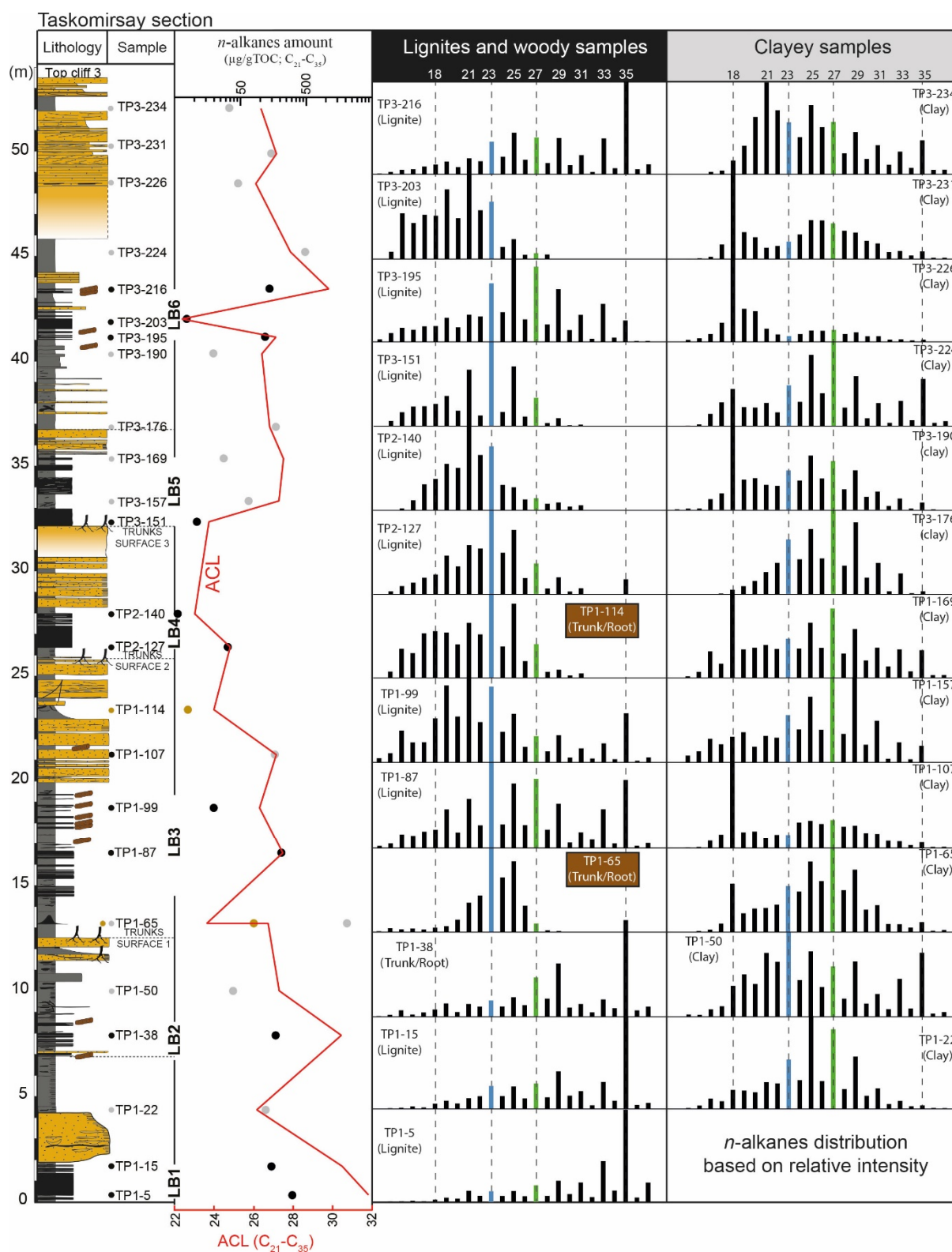


Figure V.7: ACL values, n-alkane amount and n-alkane distribution in lipid extracts of the Taskomirsay section.

The ACL values of the *n*-alkanes were calculated over the range C₂₁-C₃₅ to cover the range of *n*-alkanes found in aquatic and terrestrial plants (e. g. Eglinton and Hamilton, 1967; Ficken *et al.*, 2000; Diefendorf *et al.*, 2011). ACL values ranged between 22.4 and 31.8 (Table

V.2, Figure V.7). A similar trend is observed between the evolution of the ACL values closely and that of the amount of *n*-alkanes, *i.e.* the ACL showed maximal values in LB1 to decrease toward LB4 and LB5. Another minimal value is observed for LB6, before it increased again to the top of the section.

Pristane (Pr) and phytane (Ph) were detected in all samples at level of ~ 9 and ~ 8 $\mu\text{g/gTOC}$ in average, respectively (not shown). Pr/Ph ratio showed large variations, ranging from 0.3 in clayey samples with poor organic matter content up to 7.6. The highest values were observed in the lignites or clayey OM-rich samples (**Table V.2**).

3.3.5. Compound-specific hydrogen isotopes (δD)

δD values were determined for C_{17} to C_{35} *n*-alkanes and for the isoprenoid pristane and phytane (**Table V.3, Figure V.8**). Results for *n*-alkanes as well as pristane and phytane are reported along the section in **Figure V.9**.

Table V.3: δD values of n-alkanes from C17 to C25 and of pristane and phytane.

Samples	Lithology	C17	SD (1 σ)	C18	SD (1 σ)	C19	SD (1 σ)	C21	SD (1 σ)	C23	SD (1 σ)	C25	SD (1 σ)
TP3-224	Clay	-183	6	-175	2	-153	3	-163	2	-176	2	-175	2
TP3-216	Lignite	-169	-	-177	30	-206	10	-191	2	-205	8	-213	7
TP3-195	Lignite	-186	2	-193	1	-212	3	-204	3	-213	2	-215	2
TP3-190	Clay	-	-	-177	-	-161	-	-166	12	-168	18	-172	19
TP3-176	Clay	-	-	-	-	-	-	-171	10	-181	10	-178	9
TP3-157	OM-rich clay	-158	5	-172	3	-191	3	-185	4	-188	4	-190	2
TP3-151	Lignite	-190	13	-192	7	-231	3	-237	7	-248	1	-244	10
TP2-140	Lignite	-	-	-218	1	-230	1	-234	2	-228	0.4	-195	4
TP2-127	Lignite	-204	4	-220	3	-234	2	-230	4	-233	1	-226	5
TP1-114	Coalified root/trunk	-166	3	-191	2	-191	2	-184	2	-189	3	-188	1
TP1-99	Coalified root/trunk	-206	2	-216	3	-224	1	-220	2	-215	2	-213	1
TP1-87	Lignite	-207	2	-222	2	-237	1	-246	3	-245	0.3	-240	1
TP1-65	Coalified root/trunk	-196	2	-180	5	-210	4	-225	2	-232	1	-232	0.3
TP1-50	Clay	-	-	-172	20	-195	20	-196	6	-192	9	-188	7
TP1-38	Lignite	-183	3	-206	6	-217	4	-205	11	-204	7	-202	5
TP1-22	Clay	-157	6	-162	15	-183	6	-181	10	-192	5	-208	2
TP1-15	Lignite	-175	13	-193	12	-213	8	-194	8	-222	3	-207	9
TP1-5	Lignite	-166	18	-172	15	-201	5	-194	16	-199	5	-193	3
	Average	-182	6	-190	8	-205	5	-201	6	-207	5	-204	5

Table V.3: Continued.

Samples	C ₂₇	SD (1 σ)	C ₂₉	SD (1 σ)	C ₃₁	SD (1 σ)	C ₃₃	SD (1 σ)	C ₃₅	SD (1 σ)	Pr	SD (1 σ)	Ph	SD (1 σ)
TP3-224	-169	1	-175	3	-158	2	-153	3	-174	6	-270	3	-279	3
TP3-216	-198	6	-191	6	-176	2	-162	11	-183	8	-269	7	-284	-
TP3-195	-205	0.3	-190	2	-177	3	-159	1	-174	5	-295	1	-288	10
TP3-190	-173	9	-180	4	-155	10	-161	8	-174	10	-	-	-	-
TP3-176	-182	8	-181	2	-165	8	-146	8	-	-	-	-	-	-
TP3-157	-187	1	-187	1	-172	2	-164	3	-177	9	-289	6	-311	2
TP3-151	-242	3	-211	4	-	-	-	-	-	-	-260	17	-249	4
TP2-140	-152	0.2	-160	6	-151	3	-154	-	-	-	-268	2	-276	7
TP2-127	-192	7	-190	3	-186	16	-160	17	-181	7	-273	4	-259	10
TP1-114	-167	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-287	4	-254	2
TP1-99	-197	1	-193	3	-170	7	-161	2	-185	3	-300	2	-284	14
TP1-87	-218	1	-203	1	-185	2	-176	2	-182	2	-301	2	-299	4
TP1-65	-210	4	-180	4	-	-	-	-	-	-	-294	5	-	-
TP1-50	-183	7	-191	4	-177	3	-160	7	-172	9	-	-	-	-
TP1-38	-193	3	-188	3	-178	3	-163	4	-173	2	-303	4	-274	3
TP1-22	-196	9	-194	5	-155	14	-	-	-	-	-269	9	-276	-
TP1-15	-199	1	-203	4	-181	2	-169	4	-183	1	-293	10	-269	12
TP1-5	-187	6	-192	1	-187	4	-169	3	-180	3	-278	15	-233	-
Average	-192	4	-189	3	-172	5	-161	6	-178	5	-283	6	-274	7

3.3.5.1. n-Alkanes

δD values ranged between -248‰ and -151‰. Maximal variability was observed for $n\text{-C}_{27}$ with 90‰ between minimum (-242‰) and maximum (-152‰) values. The variability of δD values was also high for $n\text{-C}_{19}$ to $n\text{-C}_{25}$ (**Figure V.8**). In addition, the longer the chain, the more D-enriched the n -alkanes, except for the $n\text{-C}_{35}$. The latter was D-depleted when compared to classical vascular plant n -alkanes (C_{27} to C_{31} , Eglinton and Hamilton, 1967), but still D-enriched when compared to $< \text{C}_{27}$ n -alkanes.

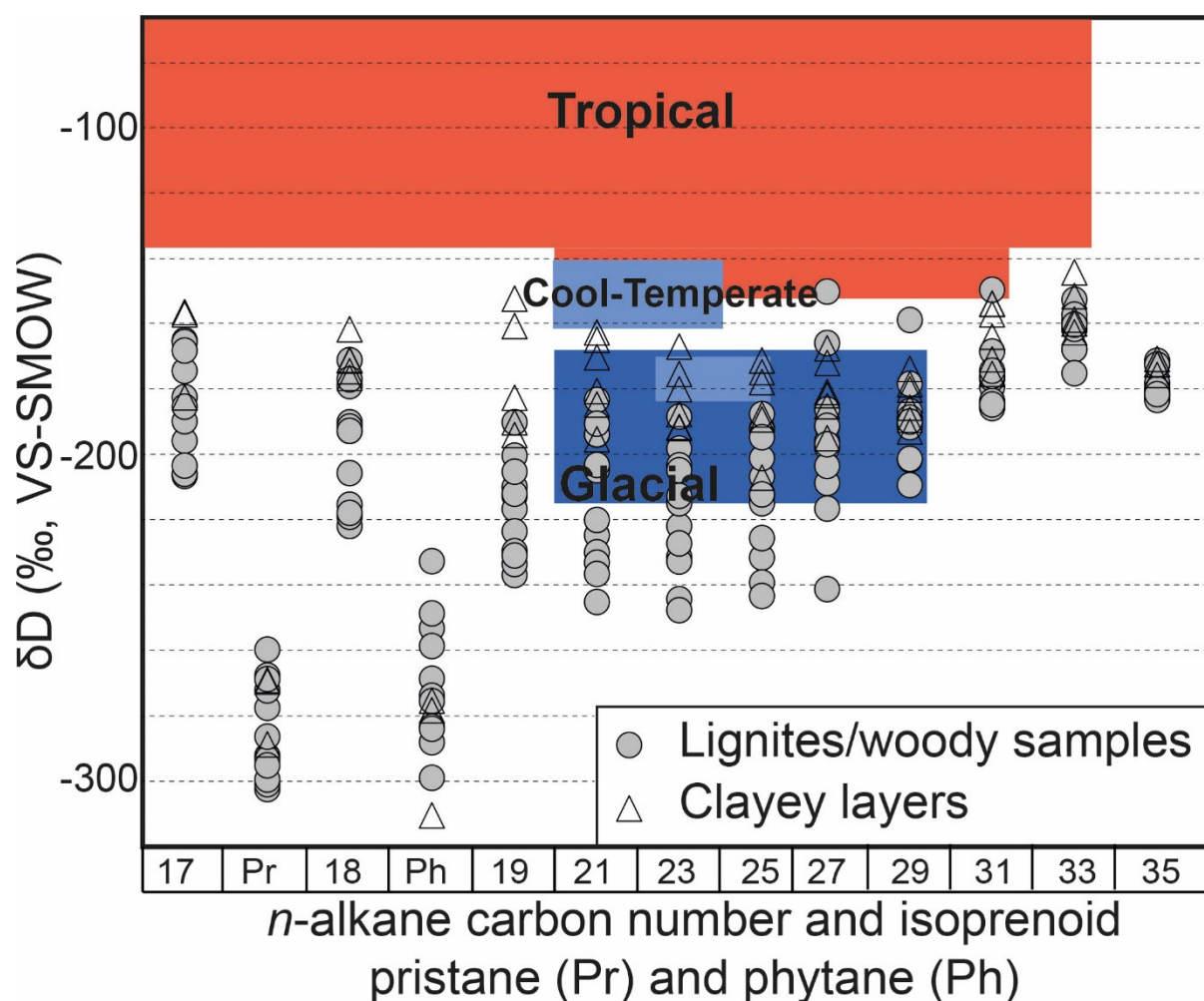


Figure V.8: Variability of δD values of n -alkanes. Also represented are compiled typical values under tropical, cool temperate and glacial regime from Dawson *et al.* (2004) and Izart *et al.* (2012).

Along the section, δD values showed generally parallel trends (**Figure V.9**). In detail, three main features were recorded. First, the offset between δD values of two groups of n -alkanes increased from the base of LB1 to the base of LB5: the most negative values were recorded for n -alkanes $< \text{C}_{25}$, whereas longer chain n -alkanes showed more positive values.

Second, δD values of all the *n*-alkanes increased drastically in the intercalated organic-rich clayey layer in LB5 (TP3-157) and then remained at almost constant high values ($-174 \pm 11\text{‰}$) until LB6. At this point, δD decreased to lower values ($-191 \pm 17\text{‰}$) before increasing again in the overlaying clayey layer ($-169 \pm 10\text{‰}$). This general increase in δD values occurred for all the *n*-alkanes. Third, lower δD values were measured in lignites, alternating with higher values measured in clayey layers and trunk/root samples (**Figure V.8**). However, this feature was less obvious for *n*-alkanes $>\text{C}_{27}$.

3.3.5.2. Isoprenoid alkanes

The δD values of pristane and phytane ranged between -303‰ and -260‰ (mean $\delta\text{D} = -283\text{‰}$) and between -311‰ and -233‰ (mean $\delta\text{D} = -274\text{‰}$), respectively. Pristane and phytane were systematically D-depleted when compared to *n*-alkanes with $\Delta\text{D} = -80 \text{‰}$ in average, where ΔD is the difference between the average δD value of the isoprenoids and the average δD value of the *n*-alkanes (**Figure V.8**).

3.3.6. brGDGT

The brGDGTs (**Table V.2**; see supplementary data for details; cf. **Annexe 6**) required for MAAT calculation were detected and quantified in only 7 samples. They represent the oldest GDGTs ever recorded so far (see Schouten *et al.*, 2013). The use of this proxy is therefore attempted for the first time in the Early Jurassic and must be taken with caution. MAATs ranged between -1.1 °C and 18.0 °C , and 4.0 °C and 15.9 °C , based on Weijers *et al.* (2007) and Peterse *et al.* (2012) calibrations, respectively (**Table V.2**). Although they showed the same trends, negative MAATs values during the Early Jurassic are very unlikely. Thus, the first set of MAATs values will not be further considered, while only trends will be considered in the second one. Here, an increasing trend was observed during the Early Toarcian (cf. **Figure V.11**).

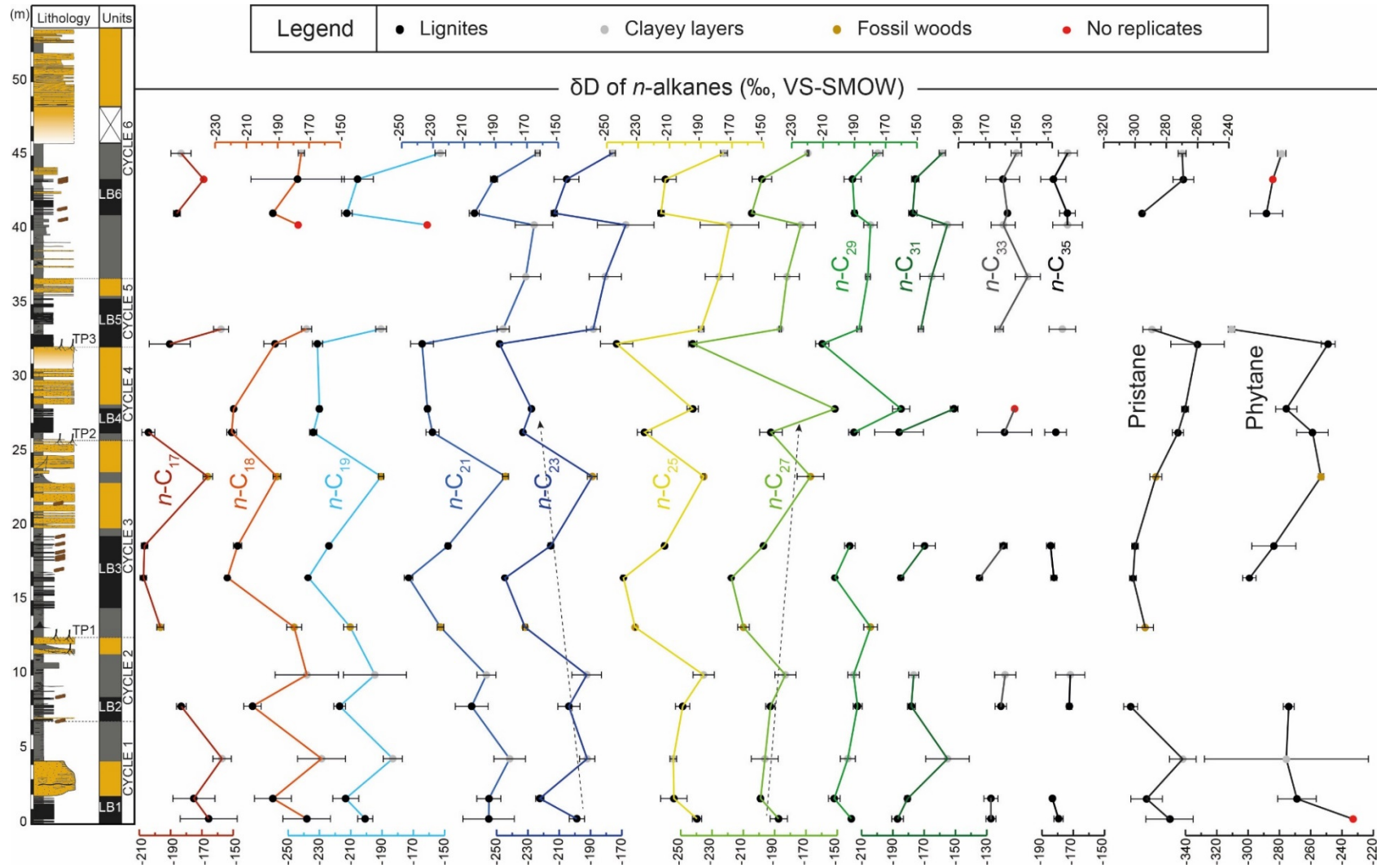


Figure V.9: δD values of n-alkanes and isoprenoid pristane and phytane and their error bars (triplicates) along the Taskomirsay section. Error bars are smaller than the symbol if not visible, except for red points, which correspond to no replicate analyses.

3.4. Discussion

3.4.1. Preservation of the organic matter

The organic matter is globally immature ($T_{\text{max}} < 440\text{ °C}$) and suffered a limited burial, allowing paleoenvironmental interpretations (Espitalié *et al.*, 1985, see supplementary data 1). Higher HI values in lignites as compared to clayey layers suggest a relatively better organic matter preservation in lignites, although a matrix mineral effect in clayey layers leading to lower HI values cannot be excluded (Espitalié *et al.*, 1985). However, higher OI values in clayey layers relative to lignites are in agreement with a slightly less preserved organic matter in clayey layers, probably resulting from oxidative conditions at the water-sediment interface or during transport processes for silty-sediments (Espitalié *et al.*, 1985). In addition, no significant correlation was recorded between $\delta^{15}\text{N}$ values and neither TOC nor TN values ($n=52$; $p >> 0.05$), suggesting a relative independence between the isotopic composition and the organic content.

From a molecular point of view, individual lipid biomarkers are much less prone to diagenetic alteration of their δD values when compared to bulk organic matter, because (i) specific compound is not influenced by preferential degradation of less stable compounds (Andersen *et al.*, 2001) and (ii) hydrogen in lipids is mainly bound to carbon and reputed non exchangeable, which allows the conservation of primary δD values of lipids at temperatures above 150 °C (Schimmelmann *et al.*, 1999). To this respect, Dawson *et al.* (2004) reported *n*-alkanes and isoprenoids that retained their original δD values in relatively immature torbanites as old as the Late Carboniferous.

It has been suggested that the transfer of hydrogen from water to organic matter is the most important mechanism leading to hydrogen-isotope exchange (Schimmelmann *et al.*, 2006), while hydrogen is thought to be totally exchanged on very long geological timescale (hundreds of million years, Koepf, 1978). This mechanism leads to the homogenization of δD values of specific compounds, thus masking their primary δD values (Yang and Huang, 2003; Sessions *et al.*, 2004; Pedentchouk *et al.*, 2006). In Taskomirsay, such a homogenization of δD values was not observed as indicated by both the large variability in δD values of homologous *n*-alkanes (up to 90‰) and between adjacent sedimentary layers (i.e. samples TP2-140 vs TP3-151; **Figure V.8****Figure V.9**). The high CPI (>1) also argues against post-depositional alteration of the δD values (Pedentchouk *et al.*, 2006). Most importantly, an offset ($\Delta\text{D} = 80\text{‰}$ in average, **Figure V.8**) between the δD values of *n*-alkanes and isoprenoids was recorded. This offset is

otherwise similar to the offset recorded in modern biological samples (Sessions *et al.*, 1999; Chikaraishi *et al.*, 2004) and rules out any extensive homogenization of δD values (Andersen *et al.*, 2001; Dawson *et al.*, 2004; Sessions *et al.*, 2004).

On the basis of these lines of evidences, we can conclude that organic proxies mainly reflect primary environmental signals, thus allowing paleoenvironmental interpretations.

3.4.2. Sources of organic matter

The sporomorph associations as well as fossil woods argue for a well-developed terrestrial macro-paleoflora. The presence of *Xenoxylon* from LB2 to the transition zone, inferred from fossil woods, is also confirmed by infra-millimeter wood fragments, belonging to *Xenoxylon*, observed in palynological slides (Schnyder *et al.*, in prep.). After the transition zone, lacustrine areas are suggested by sedimentology and the presence of *Botryococcus sp.* and *Ovoidites* from ~45 m (Schnyder *et al.*, in prep.). However, the Type-III organic matter points to a major contribution of vascular plants to the organic matter along the entire section (**Figure V.5** ; Espitalié *et al.*, 1985), confirmed by (i) woods *in situ*, (ii) wood-fragments associated with sporomorphs and (iii) the combination of atomic C/N ratio and $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ values (Tyson, 1995; Meyers, 1997; **Figure V.10**).

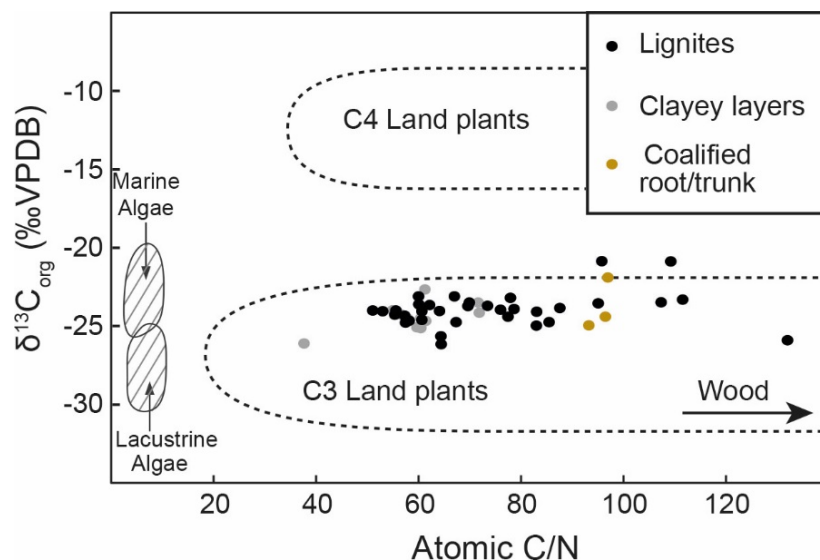


Figure V.10: Elemental atomic C/N ratio and organic isotopic values ($\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$) of bulk organic matter from different organic sources (modified from Meyers *et al.* 1997 with typical C/N values from Tyson, 1995). The $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ values are from Schnyder *et al.*, in prep.

The terrestrial origin of the organic matter is confirmed at the molecular level by the distribution of *n*-alkanes dominated by mid- and long-chain homologues ($>C_{21}$) associated with CPI >1 (Eglinton and Hamilton, 1967; Ficken *et al.*, 2000; Diefendorf *et al.*, 2011), whereas minor algal/bacterial contribution is deduced from the relatively low amount of shorter chain *n*-alkanes (**Figure V.7**; Blumer *et al.*, 1971; Cranwell *et al.*, 1987; Giger *et al.*, 1980; Meyers, 1997; Ladygina *et al.*, 2006).

Long-chain *n*-alkanes (C_{27} , C_{29} , C_{31}) are usually attributed to land-plant waxes (Eglinton *et al.*, 1962; Eglinton and Hamilton, 1967). In Taskomirsay, they are likely produced by gymnosperms since the major diversification of angiosperms occurred much later, during the Early Cretaceous (Gee, 2000), about 50 My after the study period. However, long-chain *n*-alkanes (C_{27} - C_{31}) with strong odd/even carbon predominance could result from an algal input (eg. *Botryococcus* spp., Lichtfouse *et al.*, 1994; Riboulleau *et al.*, 2007). Thus, an algal influence of the long-chain *n*-alkanes in TP3-224 cannot be ruled out, in agreement with a lowest C/N ratio recorded (38).

Mid-chain *n*-alkanes (C_{21} to C_{25}) were generally predominant in lignites and trunk/root samples from LB3 to the base of LB6 (**Figure V.7**). They have been reported to originate from *Sphagnum* (Baas *et al.*, 2000; Nott *et al.*, 2000) or aquatic macrophytes (Ficken *et al.*, 2000; Bechtel *et al.*, 2007), thus representing an aquatic environment. But, sphagnums are unlikely reliable sources for mid-chain *n*-alkanes (C_{23} and C_{25}), because they radiated during the Miocene and only rare fossils and spores related to proto-sphagnums have been reported in the Mesozoic (Shaw *et al.*, 2010). Alternatively, mosses might be a valuable source of these *n*-alkanes since they have been recognized at least from the lower Carboniferous (Thomas, 1972). However, no sporomorph of mosses or sphagnums could be recognized (Schnyder *et al.*, in prep.).

The major contribution of the C_{23} in most of the samples (**Figure V.7**) is more likely attributed to conifers as this distribution is close to the general trend observed in the latter, with maxima at C_{23} and C_{25} (Oros *et al.*, 1999; Nakamura *et al.*, 2010). This is supported by the unimodal distribution maximizing at C_{23} observed in the two trunk/root samples TP1-65 and TP1-114. Further evidences come from the high concentration of fossil trunks/roots in life-position along the section in agreement with peaty/swampy forests – inferred from the numerous coal-rich formations in the North Hemisphere – characterizing the Early Jurassic (Miao *et al.*, 1989; Rees *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2005). In addition, C_{20} - C_{23} alkanes have been reported in Carboniferous coalified paleoflora (Disnar and Harouna, 1994), in Carboniferous-Permian terrigenous/coaly sediments (Scheffler *et al.*, 2003), and in the Late Oligocene

Taxodium dubium (*Cupressaceae s.l.*) fossil plant maximizing at C₂₁ (Stefanova *et al.*, 2013). The first authors attributed the Carboniferous coals to Paleozoic Gondwana swamp flora made of conifer precursors, whereas the latter emphasized that *Taxodium dubium* was known in marshy environments and flooded lowland terrains. Finally, the distribution of *n*-alkanes in *Xenoxylon* fossil wood – paleoecologically related to environments with no water restriction, usually riparian forests and swamps (Oh *et al.*, 2015) – also maximizes at C₂₃ (Marynowski *et al.*, 2008), although these authors attributed the presence of *n*-alkanes to contaminations by host clays. To our opinion, all these evidences support the hypothesis that C₂₁–C₂₃ *n*-alkanes in our samples could result from conifers that thrived in flooded environments like *Xenoxylon*.

These evidences support the use of *n*-C₂₁–*n*-C₂₃ as representing an environment under almost permanent water layer, and the use of the *n*-C₂₇–*n*-C₃₁ as strictly terrestrial vascular plants biomarkers (eg. Ficken *et al.*, 2000; Sachse *et al.*, 2004; Mügler *et al.*, 2008). Accordingly, C₂₁–C₂₃ *n*-alkanes will be considered as deriving from an “aquatic pool” and C₂₇–C₃₁ *n*-alkanes from a “terrestrial pool”, respectively, for this study. As δD values of C₂₃ and C₂₇ *n*-alkanes were accurately measured for all samples, they will be considered as representative of the aquatic and terrestrial pool, respectively.

The existence of these two different pools could explain the offset between the δD values of the D-depleted aquatic pool and the D-enriched terrestrial pool (**Figure V.8****Figure V.9**). D-enriched long-chain *n*-alkanes suggest hydrogen loss by evaporation and/or vascular plant transpiration (Sachse *et al.*, 2004, 2006), whereas the D-depleted short- to mid-chain *n*-alkanes suggest that they originate from organisms that do not transpire (e. g. aquatic macrophytes; Ficken *et al.*, 2000; Nott *et al.*, 2000; Bechtel *et al.*, 2007) or from organisms living in high relative humidity sub-environments (e. g. ombrotrophic peatlands; Nichols *et al.*, 2009).

The origin of the C₃₃ and C₃₅ *n*-alkanes, that were dominant at the base and at the top of the section (**Figure V.7**), is uncertain as such a predominance has never been reported in sediments so far to the best of our knowledge. However, these homologues were found to be major *n*-alkanes in some modern *Cupressaceae* (Dodd *et al.*, 1998; Diefendorf *et al.*, 2011; Street *et al.*, 2013), suggesting a terrestrial higher plant origin for these compounds. The relatively D-enriched δD signal of those compounds is in agreement with a vascular higher plant origin submitted to evapotranspiration.

3.4.3. Paleoclimate evolution

The Taskomirsay section is separated into three parts for discussion purposes. The first part includes the base of the section to the base of the transition zone at ~26 m and is named “Phase 1”. It corresponds to Mid- to Late Pliensbachian (Figure 9; Schnyder *et al.*, in prep.). The second part is the transition zone, corresponding to the transition between Pliensbachian and Toarcian, based on sporomorph associations and $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ (Schnyder *et al.*, in prep.). The transition zone ends at ~35 m. The rest of the section, corresponding to the Early Toarcian is named “Phase 2” (Figure V.11).

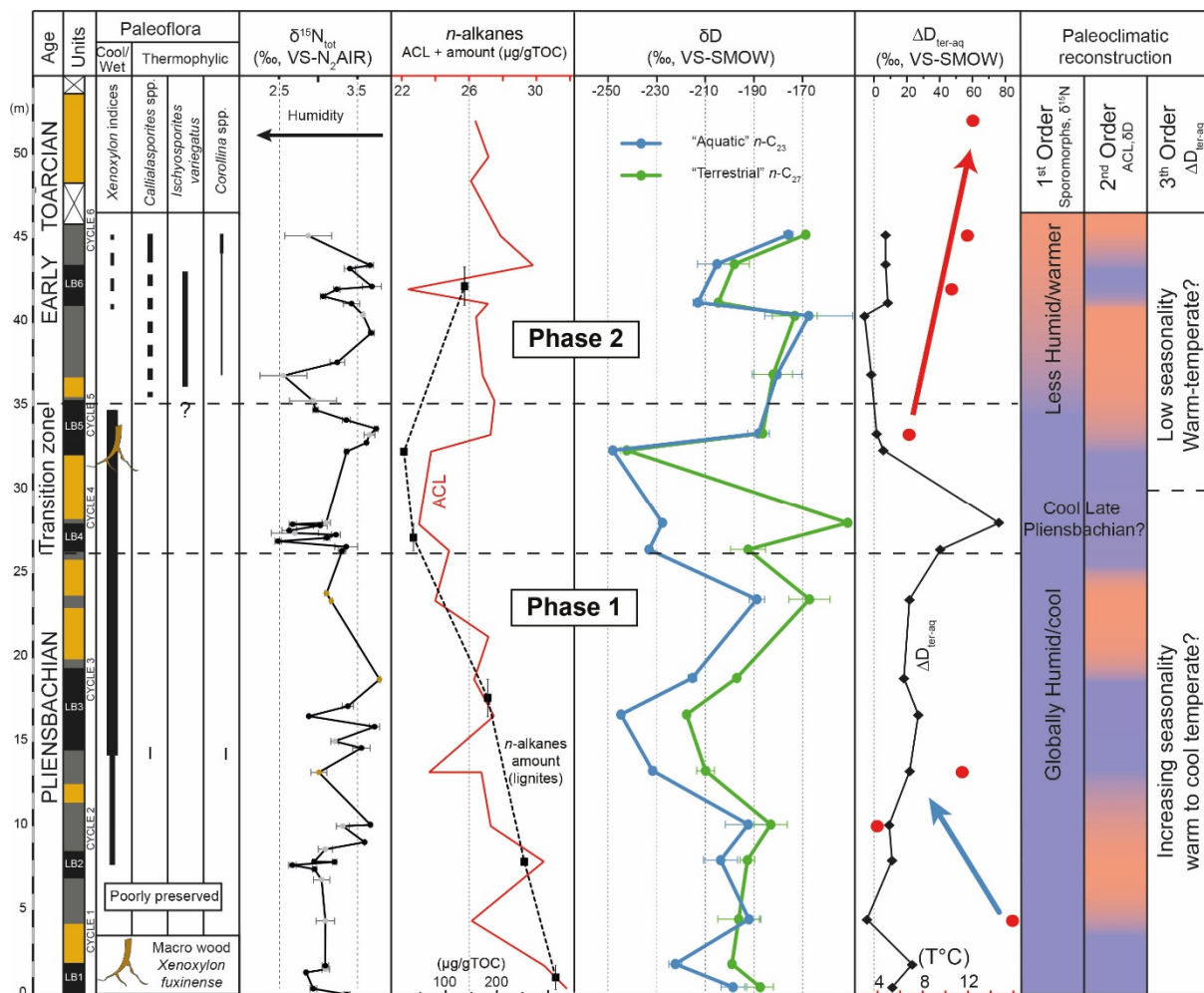


Figure V.11: Synthesized paleoclimatic parameters in Taskomirsay. Sporomorphs data are from Schnyder *et al.*, in prep. Small red points in $\delta^{15}\text{N}$ values are the calculated $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values for samples $\text{TOC} < 20\%$. The last value, close to 0, corresponds to TP3-224 which is probably under high algal influence. Temperatures (big red points) are based on brGDGTs and arrows show a cooling trend (blue) and a warming trend (red).

3.4.3.1. Paleoflora

The morphogenus *Xenoxylon* Gothan is biogeographically related to cool/humid settings and thus, usually high latitudes (Philippe and Thévenard, 1996; Philippe and Tchoumatchenco, 2008; Philippe *et al.*, 2009). Recent isotopic studies confirmed the *Xenoxylon* paleoclimatic requirements (Amiot *et al.*, 2015). Besides, *Xenoxylon* occurred at lower latitudes during the Jurassic and even thrived in Western Europe thanks to cold snaps, such as the Late Pliensbachian or the Early Oxfordian (Philippe and Thévenard, 1996). Therefore, the occurrence of *Xenoxylon* at mid-latitudes in Taskomirsay in Phase 1 and in the transition zone suggests a cool/humid period, followed by less humid and/or warmer conditions in the Early Toarcian (Phase 2), deduced from the demise of *Xenoxylon* (**Figure V.11**).

During the Jurassic, the Euro-Sinian (West-Kazakhstan) and the West-Siberian (Est-Kazakhstan) floral provinces were separated by a N/S-SE axe through Kazakhstan (Vakhrameev, 1991) that may have fluctuated in the Jurassic (Kirichkova and Doludenko, 1996). Sporomorph associations (Schnyder *et al.*, in prep.) prior to the transition zone (**Figure V.11**) suggest an influence of the West-Siberian province with a monotonous flora dominated by ferns, few Cycadales, Ginkgoales, Czekanowskiales, Bennettitales and Coniferal, characteristic of a moderate-warm climate (Vakhrameev, 1991), in agreement with the occurrence of *Xenoxylon* in the same part of the section. The influence of the Euro-Sinian province (warm-temperate) progressively increased through the section with the appearance of *Manumia delcourtii* (Pocock) Dybkjaer, 1991 and later of *Ischyosporites variegatus* (Couper) Schulz, 1967 in Phase 2, which is one of the taxon used to identify the Early Toarcian (Schnyder *et al.*, in prep.). Then, the Early Toarcian (Phase 2) is marked by the occurrence of more thermophilic taxa such as *Callialasporites* spp. or *Ischyosporites variegatus*, while a slightly decrease in humidity is recorded by rare *Corollina* spp., associated with the demise of *Xenoxylon* (**Figure V.11**; Schnyder *et al.*, in prep.). Thus, globally humid conditions along the section probably favored high production of biomass that enabled the establishment of the numerous lignite beds (Flores, 2002; Kalaitzidis *et al.*, 2004).

3.4.3.2. What do $\delta^{15}\text{N}$ values record?

Many studies concluded that the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ in terrestrial environment is mainly driven by climate *via* water-availability and nutrient cycling, the $\delta^{15}\text{N}$ of plants and soils being negatively correlated with precipitations and positively with temperatures (Austin and Vitousek, 1998;

Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004; Liu and Wang, 2008). Briefly, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values in humid environments are driven by intense N-recycling between dead and alive biomass through a rapid turnover of a small N-mineral pool, whereas this cycle is interrupted in arid environments (low biomass activity) leading to N-excess in a large mineral pool (Austin and Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Swap *et al.*, 2004). The latter is then subjected to N-loss by leaching and gas emission leading to high $\delta^{15}\text{N}$ values in the remaining N-pool (Handley *et al.*, 1999; Aranibar *et al.*, 2004). In turn, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values are controlled by the relative openness of the N-cycle by changes in water- or N-availability as illustrated by Martinelli *et al.*, 1999, who reported significant higher $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (+6.5‰) values in humid tropical forests (N-excess) than in temperate forests (N-limited). Considerable variations exist in $\delta^{15}\text{N}$ values from one site to another ranging from around -8‰ to +8‰ in foliar vegetation and from around -2‰ to +8‰ in soils (Handley *et al.*, 1999).

In Taskomirsay, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values were calculated for samples $\text{TOC} < 20\%$ and did not strongly differ from the $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values, justifying the use of $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ values as representative of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values (**Figure V.4**; except for TP3-224 that might be influenced by an algal contribution and hence will not be considered for paleoclimate reconstructions). On the light of the previous interpretations, the relatively low and stable $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values ($\sim +3\%$) – as compared to those compiled by Handley *et al.* (1999) in arid to semi-arid sites ($> +5\%$) – are in agreement with a globally closed N-cycle, suggesting humid conditions and/or limited nutrient in the system.

Although $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values remain in a rather narrow range ($\sim 2.5\%$ to $\sim 3.5\%$), the small excursions recorded in $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values, either negative (LB1, LB2 and LB6) or positive (LB5), together with the scatter feature in LB4 and LB3 might reflect the tenuous equilibrium between water-availability and nutrient cycling. This implies that (i) despite paleoflora indices in phase 2, no drastic changes occurred along the section whether in the nutrient dynamics or regarding water-availability (**Figure V.11**), (ii) the vegetation has adapted to environmental changes ensuring an efficient N-recycling and thus almost constant $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values. The latter hypothesis suggests a strong influence of the local environment on $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values as suspected by Amundson *et al.* (2003), who compiled $\delta^{15}\text{N}$ values of modern plants and soils.

To sum up, no drastic changes in the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ are recorded as compared to those reported in the Paleocene-Eocene (Storme *et al.*, 2012) or in the Eocene-Oligocene (Tramoy *et al.*, submitted) that exhibited much higher variations in amplitude, up to 6‰.

3.4.3.3. Molecular response of plants

Leaf waxes are produced by plants to prevent water loss. Accordingly, lower production of *n*-alkanes along with short chain length is believed to reflect a decreasing protection need against water loss and/or a deficiency of energy for biosynthesizing long chain *n*-alkanes (Weete *et al.*, 1978; Gagosian and Peltzer, 1986; Gauvrit and Gaillardon, 1991; Shepherd and Wynne Griffiths, 2006), indicative of humid conditions. Conversely, higher amount of *n*-alkanes and higher ACL values suggest water stress of plants, drier conditions and higher temperatures. In this respect, decreasing ACL values and *n*-alkane amounts from Phase 1 to the transition zone suggest increasing humidity and decreasing temperatures (**Figure V.11**). Then, increasing ACL values and *n*-alkane amounts point to drier conditions and higher temperatures in the Early Toarcian (Phase 2). MAATs, reconstructed from brGDGTs distributions, depicted the same trends with decreasing temperatures in Phase 1 and increasing temperatures in Phase 2, although the number of samples is limited. It is noteworthy that relations between ACL values and *n*-alkane amounts are particularly robust in lignites, while no correlation exists for clayey layers (**Figure V.12**). In order to explain this discrepancy, we hypothesize that the organic matter in swampy forest is dominated by autochthonous vascular plants, responding closely to relative changes in humidity, whereas organic matter in clayey layers could contain significant part of algal/bacterial organic matter (*n*-C₁₈; **Figure V.7**) that are less influenced by to water loss. Alternatively, the highest amount of *n*-alkanes was recorded in the clayey layer TPI-65, which is very poor in organic matter (<0.05%). As the amount of *n*-alkanes is expressed relative to %TOC, the very low %TOC results in a very high concentration of *n*-alkanes in this specific sample.

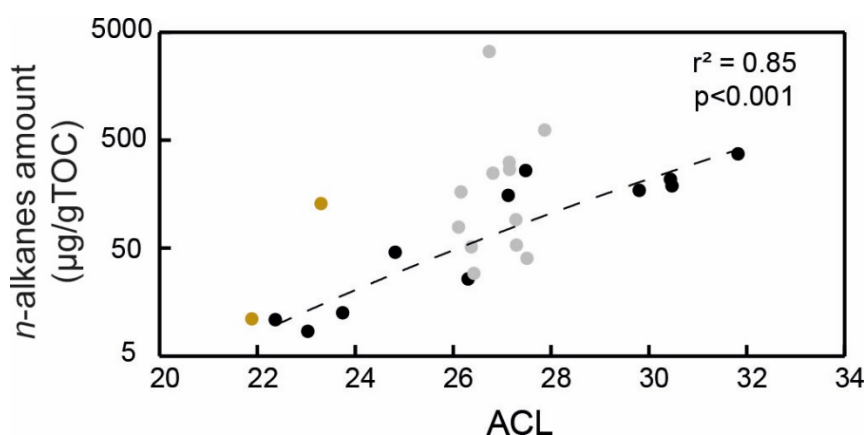


Figure V.12: ACL values VS *n*-alkane amounts. Significant logarithmic relation occurred in lignites. See Figure 2 for colors signification.

3.4.3.4. Interpretation of the *n*-alkane δD values

According to Sachse *et al.* (2012), the δD values of higher plant *n*-alkanes are mainly influenced by (i) the δD values of precipitation (Huang *et al.*, 2004; Sachse *et al.*, 2004, 2012), (ii) the extent of evapotranspiration from soils and leaves (Smith and Freeman, 2006; Feakins and Sessions, 2010) and (iii) to a minor extent, by the interspecies variability (Smith and Freeman, 2006; Chikaraishi and Naraoka, 2007). δD values of precipitations are positively correlated with temperature at the precipitation site and negatively correlated with the amount of precipitation and with the distance from the shore line (Dansgaard, 1964; Epstein and Yapp, 1976; Gat, 1996; Sachse *et al.*, 2004). Besides, the amount of precipitation is the most important factor in low latitudes, whereas the temperature effect predominates in higher latitudes (Sachse *et al.*, 2012). At global scale, a latitudinal/climatic distribution pattern of δD values has been reported in modern precipitation pattern (Bowen and Revenaugh, 2003), but also for geological times (Dawson *et al.*, 2004): δD values being negatively correlated with latitudes (Bowen and Revenaugh, 2003; Dawson *et al.*, 2004).

The “terrestrial” signal

In our samples, the absolute δD values of the terrestrial *n*-alkane C_{27} (-242‰ to -151‰; -192 ± 21 ‰) are closer to those reported from the Paleocene-Eocene at mid-latitudes in the intracontinental Bighorn Basin (-195‰ to -185‰; Smith *et al.*, 2007) and at high latitudes in the Arctic (-210‰ to -160‰, Pagani *et al.*, 2006), than those reported for the same period in coastal regions from mid- to low-latitudes (-165‰ to -140‰; Handley *et al.*, 2012; -174 ‰ to -112‰; Garel *et al.*, 2013). They are also closer to Early Permian δD values recorded in high latitudes, glacial to cool-temperate environments (*ca.* -200‰), than those recorded for the same period in tropical regions (**Figure V.8**; *ca.* -150‰; Dawson *et al.*, 2004; *ca.* -100‰; Izart *et al.*, 2012). These results are in agreement with the estimated mid-paleolatitudes of the Taskomirsay section ($\text{N}36^\circ \pm 8^\circ$, Bruno Vrielynck, personal communication), associated with a warm to cool-temperate global climate during the Early Jurassic at those paleolatitudes (Rees *et al.*, 2000). It may also point to the intra-continental character of the Karatau Basin during the Pliensbachian-Toarcian.

Considering these paleolatitudinal/paleoclimatic settings, the location of the Karatau Basin during the Jurassic ($\sim\text{N}40^\circ$) and the large excursions of δD values, air temperatures and precipitation amount were probably both important factors driving precipitation δD values. Then, δD values of *n*-alkanes were more or less affected by evapotranspiration with respect to

their environment whether aquatic or terrestrial (Sachse *et al.*, 2006; Smith and Freeman, 2006; Feakins and Sessions, 2010). To minimize the evapotranspiration effect of terrestrial plants, the “aquatic” $n\text{-C}_{23}$ will be considered for paleohydrological reconstructions.

The “aquatic” signal

δD values of the aquatic pool are usually well correlated with that of the source water used by organisms and thus constitute good markers for paleohydrological reconstructions (Sachse *et al.*, 2004; Mügler *et al.*, 2008; Aichner *et al.*, 2010; Nichols *et al.*, 2010; Sachse *et al.*, 2012). Since the $n\text{-C}_{23}$ is associated with the aquatic pool in the study section, its low δD values (-248‰ to -168‰; $-201 \pm 25\%$, similar to $n\text{-C}_{21}$ δD values) argue for very humid conditions either in a cool-temperate or glacial climate regime (**Figure V.8**). However, no sedimentological evidences have been found for a glacial environment, and this kind of environment is highly inconsistent with plants such as *Pteridophyta*, which are abundant in Taskomirsay (Schnyder *et al.*, in prep.). Thus, cool-temperate conditions are most likely, while the very negative δD values could reflect a long distance from the source water (Gat, 1996). Although the exact distance from the shore line is currently unknown (either South or West), it is most probably in the order of tens to hundreds of kilometers (B. Vrielynck, pers. Com.).

Along the section, the decrease in $n\text{-C}_{23}$ δD values from the base of the section to the transition zone could result from a decrease in source-water δD values, indicating an increase in humidity and decrease in temperature, the coolest/most humid interval being recorded from LB4 to the base of LB5 within the transition zone ($-236 \pm 11\%$; **Figure V.11**). Then, relatively drier conditions in the Early Toarcian, associated with higher temperatures would be indicated by a strong increase in $n\text{-C}_{23}$ δD values ($-188 \pm 18\%$). ACL values are in agreement with those two general trends. Nevertheless, slightly lower $n\text{-C}_{23}$ δD values in LB6 ($-209 \pm 6\%$) suggest a more humid period within a drying trend, that favored swampy environments. The $\sim 27\%$ higher δD values in LB6, than in LB4/LB5, probably reflects the deposition of LB6 in warmer conditions instead of drier conditions. This is supported by concomitant thermophilic paleoflora and increasing temperatures recorded by GDGTs in the Early Toarcian (**Figure V.11**).

At higher frequency, higher δD values intercalated in clayey layers may represent drier/warmer snaps, than those recorded in lignites (**Figure V.8****Figure V.11**). Thus, paleoclimatic variations seem to be linked with the sedimentary cycles and confirm the humid sub-environment of lignites.

3.4.3.5. Paleoclimatic reconstructions based on $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$

The influence on δD values of relative humidity and temperature is also recorded by the evapotranspiration of the ecosystem (Sachse *et al.*, 2006; Mügler *et al.*, 2008). The ecosystem evapotranspiration can be evaluated by the hydrogen isotopic difference between terrestrial *n*-alkanes and aquatic *n*-alkanes, based on two assumptions: (i) in a given ecosystem, water source is the same for terrestrial and aquatic organisms and (ii) aquatic and terrestrial organisms synthesize their *n*-alkanes with the same biosynthetic fractionation ($\varepsilon = -157\text{‰}$; Sachse *et al.*, 2006). However, terrestrial flora synthesize their *n*-alkanes from D-enriched leaf-water after soil evaporation and leaf-transpiration, leading to D-enrichment of long-chain *n*-alkanes (eg. Sachse *et al.*, 2006). Indeed, *n*-alkanes from surface sediments of European lakes showed an isotopic difference as large as $+30\text{‰}$ between the terrestrial and the aquatic pool (Sachse *et al.*, 2004, 2006).

In Taskomirsay, evapotranspiration was estimated from the isotopic difference between δD values of the C_{27} and the C_{23} *n*-alkanes and was noted $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ (**Figure V.11**). It should be reminded that the aquatic pool defined for this study differs from the other studies by the origin of the aquatic *n*-alkanes, which are attributed here to swampy or riparian vegetation with no water restriction (*e. g.* *Xenoxylon* vegetation type; Oh *et al.*, 2015). Contribution of mosses and aquatic plants is also possible. The $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ was always positive in lignites, up to $+76\text{‰}$ in LB4, whereas it remained close to 0‰ or slightly negative in clayey layers in particular. Following Mügler *et al.* (2008), who reported $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ values in a Tibetan lake, positive $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ values are typical for humid environments. They result from evapotranspiration of terrestrial vegetation leading to D-enrichment in the terrestrial pool, whereas D-enrichment of the aquatic pool is limited by low evaporation rates. $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ values along the section are thus in agreement with humid conditions. In contrast, under arid to semi-arid conditions, significant D-enrichment occurs in aquatic pool as compared to terrestrial one, resulting from a long term lake water evaporation, which counterbalances plant evapotranspiration: a negative $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ is thus recorded ($\sim -60\text{‰}$; Mügler *et al.*, 2008; Rao *et al.*, 2014). As the most negative $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ recorded did not exceed -6‰ , arid to semi-arid conditions during deposition of clayey layers are unlikely and roughly humid conditions are suggested, in agreement with paleoflora, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ and absolute δD values.

Besides, maximal $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ positive values ($+41$ and $+76\text{‰}$ in LB4), suggest a considerable evapotranspiration rate (**Figure V.11**). This is in contradiction with the coolest/most humid interval deduced from low δD values of *n*-alkanes from the aquatic pool and low $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values.

A possible explanation for this discrepancy is that higher input of allochthonous terrestrial *n*-alkanes from distant areas with heavier isotopic composition of meteoric water might have led to higher $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ (~70‰; Sachse *et al.*, 2004). Alternatively, high $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ could be explained by seasonal differences in water uptake and *n*-alkane production between the aquatic and terrestrial pools (Jacob *et al.* 2007), which is typical under temperate climate-regime. Indeed, higher plant *n*-alkanes are mostly produced during the growing season in spring and summer (Sachse *et al.*, 2004, 2009), *i.e.* under relatively drier/warmer conditions, which could account for the production of D-enriched long-chain *n*-alkanes. Conversely, the aquatic pool of *n*-alkanes might have been produced under more humid/cool conditions during a wet season, which could explain their low δD values (**Figure V.11**).

The hypothesis of alternating wet/dry season responsible for high $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ could also explain the scatter in $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values (in LB4) by dual influences of wet and dry seasons (Swap *et al.*, 2004): (i) low N-recycling rate during dry season, leading to N mineralization and ^{15}N -enrichment, and (ii) intense N-recycling by microbial biomass during the growing season that re-process the accumulated N, leading to ^{15}N -depletion. In other words, if the dry season effects (^{15}N -enrichment) exceed the wet season effects (^{15}N -depletion), $\delta^{15}\text{N}$ values of the remaining organic matter would increase and *vice versa*. Following the interpretation of $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ values as a seasonal indicator, $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ values close to 0‰ in Phase 2 might suggest low seasonality (**Figure V.11**). Finally, recent spectral analysis of $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ values, used in cyclostratigraphy, revealed that astronomical configuration of the Earth would have enhanced seasonality at the Pliensbachian-Toarcian transition and favored low seasonality in the Early Toarcian (Martinez and Dera, 2015).

3.4.4. Reconciling proxies

Proxies used in this study yield contrasted responses to climate changes. No drastic changes were recorded by $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values and paleoflora revealed globally humid conditions apart from slightly less humid and warmer conditions in the Early Toarcian. This warming was confirmed by MAATs reconstructed from brGDGTs. In contrast, molecular proxies (*n*-alkane amount, ACL, δD values, $\Delta\text{D}_{\text{ter-aq}}$ values and GDGTs) were highly variable along the section, especially the δD values. They argued for maximal humidity and minimal temperatures in the transition zone (Pliensbachian-Toarcian transition). This period could thus correspond to the cool Late Pliensbachian (Bailey *et al.*, 2003; Morard *et al.*, 2003; Suan *et al.*, 2010). Molecular

proxies also supported drier/warmer conditions at the base of the section (Middle Pliensbachian?) and in the Early Toarcian as well as humid/dry cycles between lignites (humid) and clayey layers (drier).

The absence of co-response between $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ and δD values, which are both influenced by water availability, might point to different spatial integration of those proxies, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ and δD reflecting local (Szpak, 2014) and regional (precipitation regimes, air-mass temperatures; Sachse *et al.*, 2012) influences, respectively. Sea level variations may influence δD values of precipitations by modifying the distance between shore lines and the study area (Gat, 1996). Consequently, low sea level may increase the distance from the shore line leading to lower δD values of the precipitations and *vice versa*, and concomitant temperatures/humidity variations could lead to over- or underestimation of paleohydrological changes (e. g. Garel *et al.*, 2013). It is therefore likely that the low sea level and the low temperatures (higher D-discrimination) recorded in the Late Pliensbachian led to an overestimation of humidity and reversely for the Early Toarcian, which is marked by global warming and sea-level rising (Hallam, 1967; Hesselbo and Jenkyns, 1998; Bailey *et al.*, 2003; Rosales *et al.*, 2004; Suan *et al.*, 2010). The recognition of hummocky cross-bedding at the uppermost part of the section and the alternation between silts and clay suggest a lacustrine/deltaic environment (Schnyder *et al.*, in prep.). This kind of environment would have been favored by the early Toarcian global transgression (Hallam, 1967; Hesselbo and Jenkyns, 1998), that increased the regional water level base and consequently buried the older sediments. Thus, variations of sea level may reconcile the drastic paleohydrological changes recorded by the δD values and the rather stable climatic conditions inferred by $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values.

3.5. Conclusion

The Taskomirsay section is a unique continental record that encompasses the Pliensbachian-Toarcian transition, with well-preserved Type-III organic matter. Sources of organic matter were separated into two pools: (i) a purely terrestrial and (ii) an “aquatic” pool constituted of vegetation that thrived under almost permanent water supply, with possible contribution of mosses and aquatic plants. Fluvial systems cutting through swampy forests are the most probable environments from the base of the section (Mid- to Late Pliensbachian) to the transition zone (Pliensbachian-Toarcian transition), while lacustrine/deltaic conditions progressively appear in the upper part (Early Toarcian).

Our multi-proxy analysis argued for globally humid condition along the section, probably under warm- to cool-temperate regime, as constrained by *Xenoxylon*. However, paleoflora and δD values suggested slightly less humid and warmer conditions starting from the Early Toarcian, as usually recorded in the marine realm. This was preceded by the probably coolest/most humid period that could corresponds to the Late Pliensbachian. In addition, enhanced seasonality has been hypothesized, starting from the Mid-Late Pliensbachian and maximizing at the Pliensbachian-Toarcian transition, in agreement with temperate climate regime.

Finally, this study shed new light on the use of compound-specific δD values in old sediments and stressed the complexity of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ as a paleoclimatic proxy. But, those original proxies still have to be confronted with other parameters like clay mineralogy, palynofacies or other biomarkers (e. g. terpenoids). Paleoclimate changes should also be constrained at the regional scale with other continental sections (Kirghizstan or Uzbekistan) to link paleoclimate changes recorded in the marine realm and in continental settings, even though inter-correlations would be challenging.

3.6. Acknowledgements

We thank the geological department of Namur and their members for their technical assistance with treatments for nitrogen isotopes analyses and especially G. Rochez. We are also grateful to V. Vaury (METIS-UPMC) for nitrogen isotopes analyses, C. Anquetil for GC-MS analyses, N. Brossart for IRMS, P. Iacumin and J. Y. Storme for preliminary nitrogen analyses. This study was supported by EMERGENCE project from UPMC, DARIUS project and by Agence Nationale de la Recherche PalHydroMil project, (ANR JCJC, 2011-2013).

4. Précision des sources de la matière organique par l'approche moléculaire

Les 25 échantillons analysés en GC-MS contiennent un cortège de molécules très variés qu'il est difficile d'identifier avec certitude. Toutefois, des analyses préliminaires ont permis d'identifier quelques composés spécifiques. Par exemple, l'ensemble des lignites, des bois et argiles riches en matière organique présentent une richesse importante dans la zone des **sesquiterpénoïdes**, caractéristiques des résines et huiles essentielles de plantes supérieures (Simoneit, 2005), dont les Cupressacées sont des producteurs majeurs (Stefanova *et al.*, 2013). Associés aux **diterpénoïdes**, ces biomarqueurs servent à tracer les résines des plantes (plus particulièrement des gymnospermes) et permettent de déterminer à quelles classes de plantes elles appartiennent (Simoneit, 2005; Stefanova *et al.*, 2013).

4.1. Etude d'un tronc/racine fossile bien préservé

L'échantillon **TP1-65**, un tronc ou une racine échantillonnée au sein d'argiles, a montré la plus grande richesse en sesquiterpénoïdes et une faible contribution des diterpénoïdes (**Figure V.13**). Les composés identifiés, ainsi que leur origine connue, sont répertoriés dans l'**Annexe 7**. Par ordre d'élution, le dihydrocurcumène (**I**), le 4 β (H)-eudesmane (**II**), les molécules du type cadalane (**III**), le cuparène (**IV**), le cadalène (**V**), le chamazulène (**VI**), la simonellite (**VII**) et le rétène (**VIII**) ont pu être identifiés. Les deux dernières molécules sont des diterpènes. Les différentes structures sont reportées sur la **Figure V.14**.

Les **sesquiterpénoïdes** sont majoritairement représentés par des composés aromatiques avec par exemple le cadalène (**V** ; **Figure V.14**). Le cadalène (**V**) est le produit de dégradation final de l'ensemble des sesquiterpénoïdes (Simoneit, 2005) et est donc caractéristique des plantes supérieures, mais peut également être issu de champignons ou de bryophytes (Grice *et al.*, 2015). Parmi ses précurseurs possibles, des cadalanes (**III**) et des eudesmanes ont pu être identifiés. Ils suggèrent une forte contribution des plantes supérieures et plus précisément de conifères (Otto et Wilde, 2001). Par ailleurs, les eudesmanes, notamment le 4 β (H)-eudesmane (**II**), ont d'abord été associées aux plantes supérieures en général (Alexander *et al.*, 1983), puis aux Pinacées, Cupressacées *s.str.*, Taxodiacées, Podocarpacees et *Taxus* (Otto et Wilde, 2001). Plus récemment, le 4 β (H)-eudesmane (**II**) a été trouvé en quantité importante dans plusieurs

espèces d'Araucariacées (Lu *et al.*, 2013). Le chamazulène (VI), en moindre proportion (Figure V.13) a aussi été reporté dans ces Araucariacées (Lu *et al.*, 2013). Le dihydrocurcumène (I) est également présent en quantité importante. C'est une molécule de la classe des bisabolanes qui ont été reportées dans les Pinacées, Cupressacées *s.str.*, les Taxodiacées (Otto et Wilde, 2001; Stefanova *et al.*, 2013) et les Araucariacées (Lu *et al.*, 2013). Enfin, le cuparène (IV) est une molécule hautement spécifique reportée jusqu'ici dans les Cupressacées *s.str.* actuelles (Otto et Wilde, 2001).

Les diterpénoïdes sont plus rares que les sesquiterpénoïdes et sont majoritairement présents sous forme aromatiques, comme le montre la présence de simonellite en trace (VIII), des tri- et tétra-méthylphénanthrènes et du rétène (VIII ; Figure V.14). Le rétène est aux diterpénoïdes ce que le cadalène est aux sesquiterpénoïdes, c'est-à-dire un produit final de transformations des diterpanes par aromatisation. La simonellite est un intermédiaire et aboutit au rétène (Simoneit, 2005). **L'absence de diterpanes** tels que le déhydroabiétane, les phyllocladanes, beyeranes et/ou kauranes, qui sont des marqueurs de conifères, peut donc signifier qu'ils ont tous été convertis en rétène durant la diagenèse (Hautevelle, 2005). Cependant, la présence d'un grand nombre de sesquiterpénoïdes, notamment de composés saturés (e. g. cadalanes, eudesmanes), ainsi que le caractère immature de la matière organique ($T_{\text{max}} = 412^\circ\text{C}$) et l'absence d'hopanes (m/z 191 plat en fin de chromatogramme), témoignent de la bonne préservation de cet échantillon. Les hopanes sont des triterpènes pentacycliques généralement associées aux membranes bactériennes (Ourisson *et al.*, 1979). Considérant leur résistance à la diagenèse et les transformations qu'ils subissent au cours de celle-ci (e. g. changement de distribution, de configuration ; Philp, 1985; Peters *et al.*, 2005), leur absence suggère très probablement **l'absence d'activité microbienne**, qui est un facteur de dégradation de la matière organique. L'absence des diterpanes cités plus haut a donc probablement une valeur taxinomique et pointe vers les Cupressacées et les Podocarpacees qui en sont dépourvus (Marynowski *et al.*, 2008). Malheureusement, la fraction lipidique étudiée (apolaire) ne permet pas de vérifier la présence/absence du ferruginol, un diterpénol caractéristique des Cupressacées, Taxodiacées, Podocarpacees et des Araucariacées, mais absent des Pinacées (Otto et Wilde, 2001). Toutefois, les conditions globalement humides de la coupe de Taskomirsay ne seraient pas propice au développement des Pinacées, qui préfèrent des conditions plus arides, même au Jurassique (Hautevelle *et al.*, 2006).

En résumé, l'assemblage moléculaire de TP1-65 pointe vraisemblablement vers une forte contribution des **Cupressacées et potentiellement des Taxodiacées, Podocarpacees et des Araucariacées.**

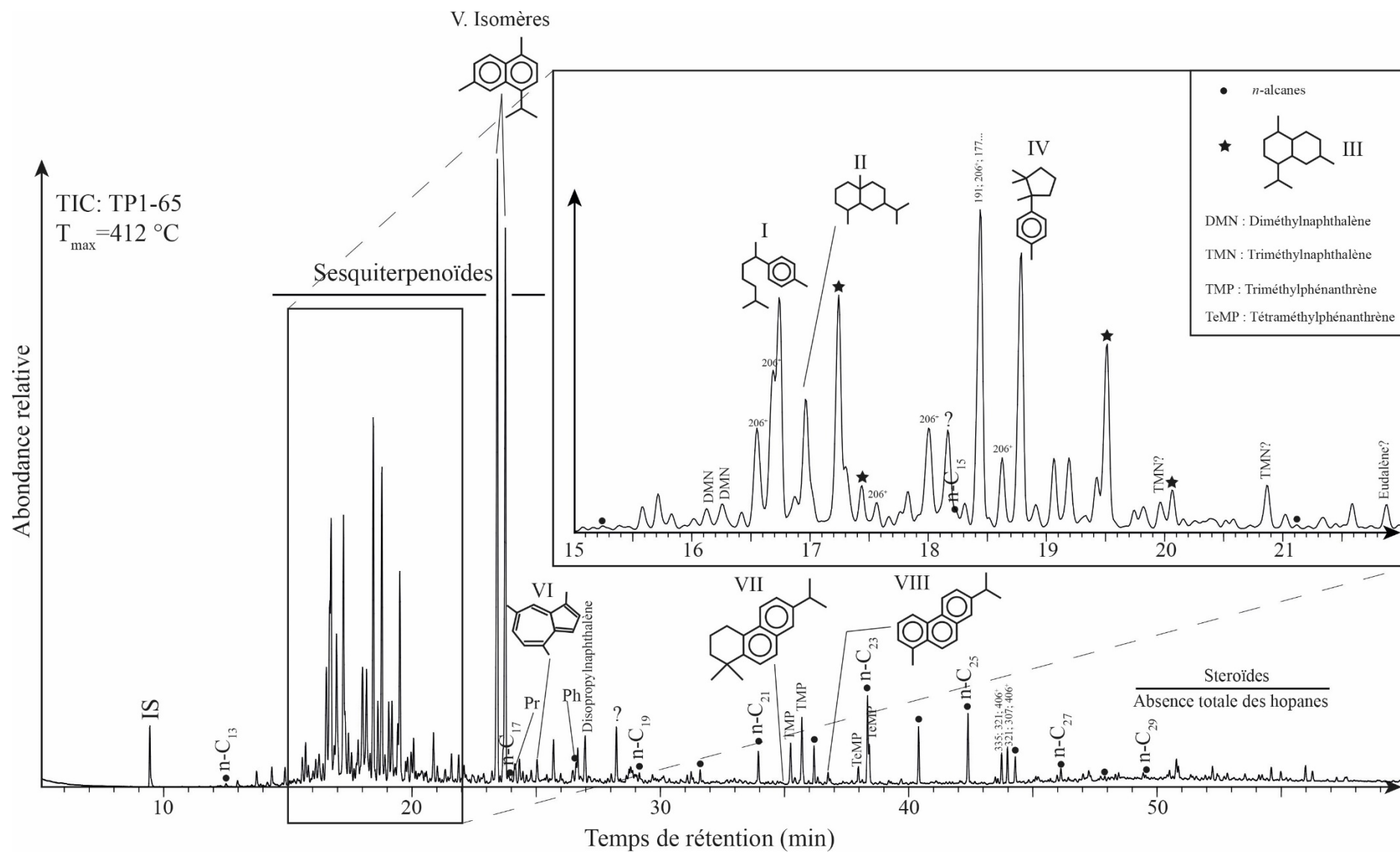


Figure V.13 : Chromatogramme total (TIC) d'un échantillon de bois/tronc (TP1-65) montrant une grande diversité des sesquiterpénoïdes.

4.2. Diversité moléculaire le long de la coupe de Taskomirsay

Les argiles pauvres en matière organique présentent un cortège moléculaire très différent de celui discuté précédemment avec une mixture complexe d'alcane et d'alcènes souvent dominés par le $n\text{-C}_{18}$ (cf. **Figure V.7**) ; probablement la signature d'une contribution algo/bactérienne (Giger *et al.*, 1980; Ladygina *et al.*, 2006).

Les lignites, les bois/troncs fossilisés et les argiles riches en matière organique analysés le long de la coupe présentent un assemblage de sesquiterpénoïdes et de diterpénoïdes souvent similaire à l'échantillon TP1-65. Seules les proportions changent, ce qui confirme l'existence d'une flore assez monotone tout le long de la coupe, comme suggéré par les pollens (D. Pons, com. pers.), et appuie l'utilisation de la distribution/proportion des n -alcane comme marqueur paléoclimatique (cf. 3.4.3.3.). La présence de Podocarpaceés et d'Araucariacées est également suggérée en palynologie par de rares *Podocarpidites* sp. et *Araucariacites australis*, respectivement les pollens de Podocarpaceés et d'Araucariacées (cf. **Tableau V.1** ; Barrón *et al.*, 2006). En outre, le bois *Xenoxylon* a été abondamment signalé le long de la coupe (cf. **Figure V.11**). Or, il a été relié aux Cupressacées *s.l.* et aux Podocarpaceés par chimiotaxonomie (Marynowski *et al.*, 2008). En revanche, ces auteurs n'ont pas relevé la présence de cuparène (**IV**). Ils ont également détecté assez peu de dihydrocurcumène (**I**), mais une grande quantité de cadalène (**V**), un des composés majeurs des échantillons riches en matière organique à Taskomirsay. Ils ont également notés l'absence ou la très faible abondance de diterpanes tels que les phyllocladanes, beyeranes et/ou kauranes, ce qui est caractéristiques des Cupressacées et des Podocarpaceés.

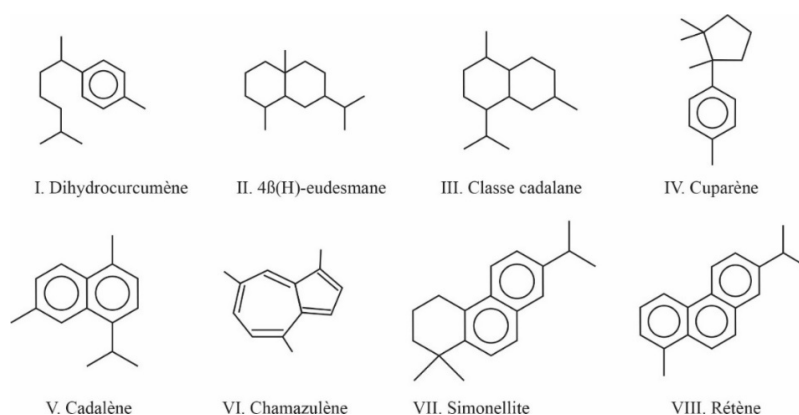


Figure V.14 : Structures citées dans le texte.

Chapitre V : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique au Pliensbachien-Toarcien

L'ensemble des indices permet de conclure, en première approche, que l'assemblage végétal était probablement dominé par les Cupressacées et/ou leurs précurseurs (liés à *Xenoxylon* ?) avec une composante d'Araucariacées, de Taxodiacées et de Podocarpacées. Il est à noter également que dans certains lignites de la base et du sommet de la coupe subsistent des séries de molécules totalement inconnus jusqu'alors (**Annexe 7** ; ion 404).

Conclusion du Chapitre V

Les données géochimiques à Taskomirsay caractérisent une matière organique quasiment exclusivement terrestre, en accord avec des analyses moléculaires préliminaires. Le signal primaire des paramètres géochimiques ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, ACL, δD des alcanes) semble bien préservé, et particulièrement le δD des alcanes, dont l'écart systématique entre *n*-alcanes et *i*-alcanes (isoprénoïdes) est caractéristique d'une bonne préservation. Alors que les palynomorphes évoquent un climat globalement humide et stable avec une légère baisse de l'humidité, associée à un réchauffement au Toarcien inférieur (confirmé par les GDGTs), les valeurs de δD des *n*-alcanes (variation maximale ~ 100 ‰) sont extrêmement variables tout au long de la coupe.

L'absence de co-variation avec les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ peut avoir deux origines principales :

Hypothèse 1 : le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ reflète l'ouverture relative du cycle de l'azote et la stabilité des valeurs, autour de 3‰, est à mettre en relation avec des conditions globalement humides tout au long de la coupe comme évoqué par l'assemblage des palynomorphes. Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ne répond pas au réchauffement du Toarcien inférieur. Les valeurs de δD sont positivement corrélées à la température et négativement avec la quantité de précipitation et la distance à la mer/côte (source d'origine de l'eau). Les variations importantes du δD des *n*-alcanes seraient alors exacerbées par les variations combinées de la température, de l'humidité et du niveau marin entre le Pliensbachien supérieur et le Toarcien inférieur.

Hypothèse 2 : l'évolution diagénétique du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, discutée dans le **Chapitre II.9**, est complexe et semble être contrôlée par la diagenèse précoce puis, sur le plus long terme, par l'interaction entre la matière organique et l'azote en solution dans des fluides diagénétiques qui homogénéiseraient les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Au vu de l'homogénéité des valeurs à Taskomirsay, on ne peut pas exclure qu'un tel processus ait eu lieu si l'on considère la période de temps (>180 Ma) étudiée. L'apport d'autres marqueurs (par exemple, la minéralogie des argiles) est donc nécessaire pour conclure sur cette éventualité.

Chapitre VI : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique au Paléogène (Arctique Russe)

Ce chapitre vise à tester le potentiel du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique sur deux coupes continentales d'âge Paléogène localisées en Arctique Russe (Iles de Nouvelle Sibérie). Cette période est d'une importance capitale car elle correspond à une série de changements climatiques importants comme le Paleocene Eocene Thermal Maximum (PETM ou ETM1), l'Eocene Thermal Maximum 2 (ETM2) ou encore l'Eocene Thermal Maximum 3 (ETM 3).

Sur les deux coupes étudiées, des caractérisations polliniques (M. Suc), des données Rock-Eval, d'argiles, de palynofaciès et de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ (Yoon, 2013 ; Suan *et al.*, in prep.) ont été acquises en parallèle de cette thèse. L'ensemble des données a permis de reconstituer un environnement de sédimentation probablement situé dans la partie amont d'un système deltaïque, avec des conditions climatiques variées : (i) humide, tempéré-chaud à subtropicale pour la première coupe (Faddeevsky) et (ii) relativement plus sec, tempéré-froid dans la deuxième coupe (Belkovsky). Bien que ces deux coupes présentent des fluctuations climatiques marquées, ces fluctuations n'ont pour l'heure pas pu être reliées précisément à l'un des événements majeurs cités plus haut. Elles sont, par ailleurs, probablement diachrones.

La coupe de Faddeevsky présente les plus fortes fluctuations climatiques. C'est pourquoi l'étude du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ s'est concentrée sur cette coupe. Les différents paramètres pouvant influencer sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (sources de la matière organique, préservation de cette dernière, climat) sont discutés.

1. Changements climatiques au Paléogène

Le Paléogène (-56 à -23 M.a) est caractérisé par d'importantes variations climatiques de long terme. Une baisse des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques de $\sim 1,5\text{‰}$ a ainsi été reliée à une augmentation des températures entre le Paléocène moyen (59 Ma) et l'Eocène inférieur, (50 Ma ; **Figure VI.1** ; Zachos, 2001). L'augmentation continue des températures du Paléocène moyen à l'Eocène inférieur semble parallèle à une augmentation de la pression partielle de CO_2 atmosphérique (Zachos *et al.*, 2008). Elle est ponctuée par une série d'épisodes de réchauffement intenses de durées inférieures à 300 ka appelés « hyperthermaux », accompagnés par des perturbations importantes du cycle du carbone et des changements biotiques de grande ampleur (Kennett et Stott, 1991; Zachos, 2001; Coccioni *et al.*, 2012; Vandenberghe *et al.*, 2012). Les évènements hyperthermaux importants actuellement reconnus sont le Paleocene-Eocene Thermal Maximum (PETM ou ETM1, ~ 55.5 M.a), l'Eocene Thermal Maximum 2 (ETM2 ou ELMO, ~ 53.6 M.a), et l'Eocene Thermal Maximum 3 (ETM3, ~ 52.5 M.a). Ils sont soulignés par des excursions du $\delta^{13}\text{C}$ négatives nommées Carbone Isotope Excursions (CIE). Cette succession d'hyperthermaux a mené à un optimum climatique à l'Eocène inférieur (Early Eocene Climatic Optimum, EECO ~ 51.5 à -50.5 M.a ; Coccioni *et al.*, 2012).

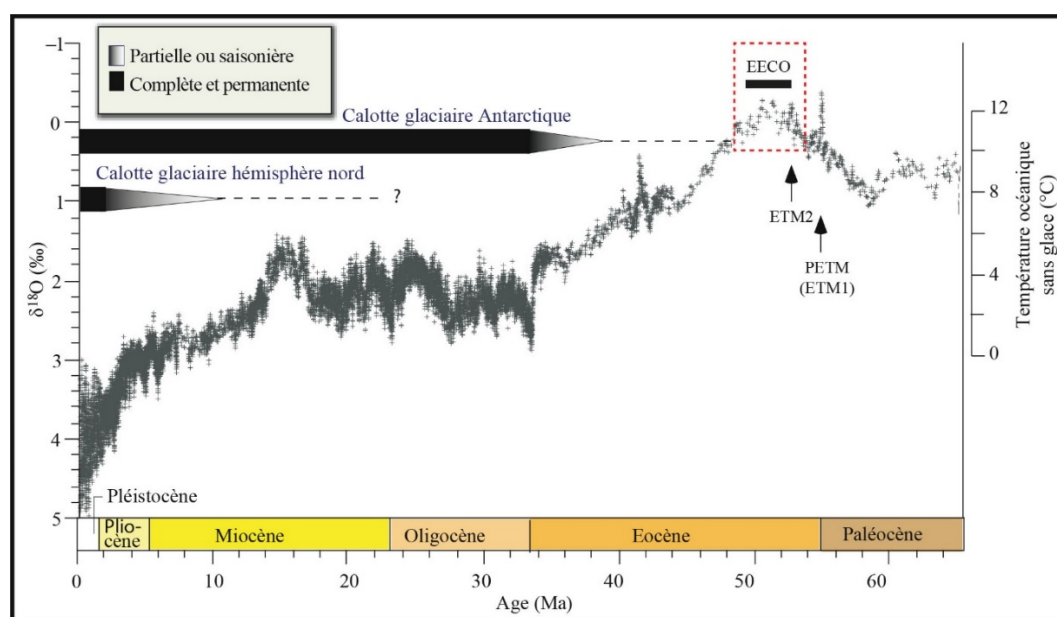


Figure VI.1 : Evolution des températures océaniques moyennes au cours du Cénozoïque calculées d'après les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ de foraminifères benthiques. La chronologie de la mise en place des calottes glaciaires permanentes ou éphémères est également représentée (modifiée d'après Zachos *et al.* 2008). Le cadre rouge identifie l'intervalle de temps le plus probable de la coupe de Faddeevsky.

L'EEOCO est suivi par un refroidissement progressif qui a atteint son maximum à la transition Eocène-Oligocène (~34 Ma), avec la mise en place de la calotte glaciaire Antarctique (Kennett et Shackleton, 1976; Zachos, 2001; Lear *et al.*, 2008). A partir de la mise en place d'importantes calottes de glace continentale, le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques exprime des changements combinés de la température des eaux et du volume de glace stocké sur les continents (Zachos, 2001). Le refroidissement brutal de l'Eocène-Oligocène a conduit le système climatique à passer d'un mode « Greenhouse » à un mode « Icehouse », qui se prolonge jusqu'à l'actuel (Zachos, 2001; **Figure VI.1**).

Dans ce chapitre, la période Eocène est traitée, alors que la transition Eocène-Oligocène sera abordée au **Chapitre VII**.

2. Zones d'études et matériels utilisés

Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a été obtenu sur deux coupes (Faddeevsky et Belkovsky) de l'Arctique Russe sur les îles de Nouvelle Sibérie, localisées entre les bassins de la Mer Laptev et ceux de la Mer Est Sibérienne, et plus précisément dans les îles Anjou (**Figure VI.2**). Elles ont été échantillonnées par Loïc Labrousse (UPMC) et Guillaume Suan (Université de Lyon 1) lors de la NSI Geological Excursion au cours d'une expédition menée à l'été 2011.



Figure VI.2 : Géographie des coupes de Faddeevsky et Belkovsky au sein de l'Arctique. Carte centrée sur le Pôle Nord.

La coupe de Faddeevsky fait 35 m d'épaisseur. Elle se trouve au sein du domaine de Faddeya qui couvre aussi l'île de Novaya Sibir', dont la couverture sédimentaire est majoritairement Cénozoïque et plus particulièrement Paléogène (Kos'ko et Korago, 2009). Les formations d'âge Paléocène et Eocène sont principalement composées d'argiles, dominées par la kaolinite et l'illite, de silts, avec des niveaux sableux et ligneux reflétant un milieu de dépôt alluvial-lacustre (**Figure VI.3** ; Lopatin *et al.* 1999 ; Yoon, 2013; Suan *et al.*, in prep.).

La coupe de Belkovsky correspond à un court intervalle de 2,5 m. Elle est située au sein du domaine de Kotel'nyi qui comprend l'île du même nom et celle de Belkovsky (**Figure VI.2**). Les formations d'âge Paléocène et Eocène montrent des niveaux argileux ainsi que des sables marins gris clairs parsemés de figures sédimentaires de courant qui témoignent d'un environnement alluvial/deltaïque (**Figure VI.3** ; Lopatin *et al.* 1999 dans Yoon, 2013; Suan *et al.*, in prep.). Les assemblages palynologiques indiquent un climat chaud et humide de type subtropical (Chizhov *et al.*, 2007), bien que des données récentes montrent une quantité importante de pollens caractéristiques de végétation boréale (Suc in Yoon, 2013; Suan *et al.*, in prep.).

Des données organiques, isotopiques, minéralogiques et de palynofaciès ont été obtenues dans le cadre d'un mémoire de Master 2 par Daichi Yoon en 2013 sur les coupes de Faddeevsky (27 échantillons) et Belkovsky (16 échantillons). Elles permettent une approche paléoenvironnementale et paléoclimatique de la région au Paléogène, mais **ne semblent pas enregistrer le passage Paléocène-Eocène** (Suc in Yoon, 2013 ; Suan *et al.*, in prep.). En effet, un sondage ODP en Arctique a identifié une excursion négative de près de 7 ‰ du $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ (-25 à -32 ‰ ; Sluijs et Dickens, 2012). Or, l'ensemble des valeurs des coupes de Faddeevsky et Belkovsky sont comprises dans une amplitude de variation de 4 ‰, entre -29 ‰ et -25 ‰ avec une moyenne de \sim -26 ‰ (Yoon, 2013). Par contre, ces deux coupes mettent en évidence de légères fluctuations climatiques dans un environnement de transition entre le domaine continental et marin en amont d'une plaine deltaïque, sous un climat subtropical à Faddeevsky et tempéré-chaud à tempéré-froid à Belkovsky (Yoon, 2013; Suan *et al.*, in prep.). Compte tenu de la proximité géographique des deux coupes (moins de 100 km ; **Figure VI.2**), la différence de leur enregistrement paléoclimatique suggère qu'elles sont diachrones (Yoon, 2013). Parmi les échantillons disponibles, 18 ont été sélectionnés pour le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ de la coupe de Faddeevsky et seulement 3 de Belkovsky, compte tenu du manque de matériel (**Figure VI.3**).

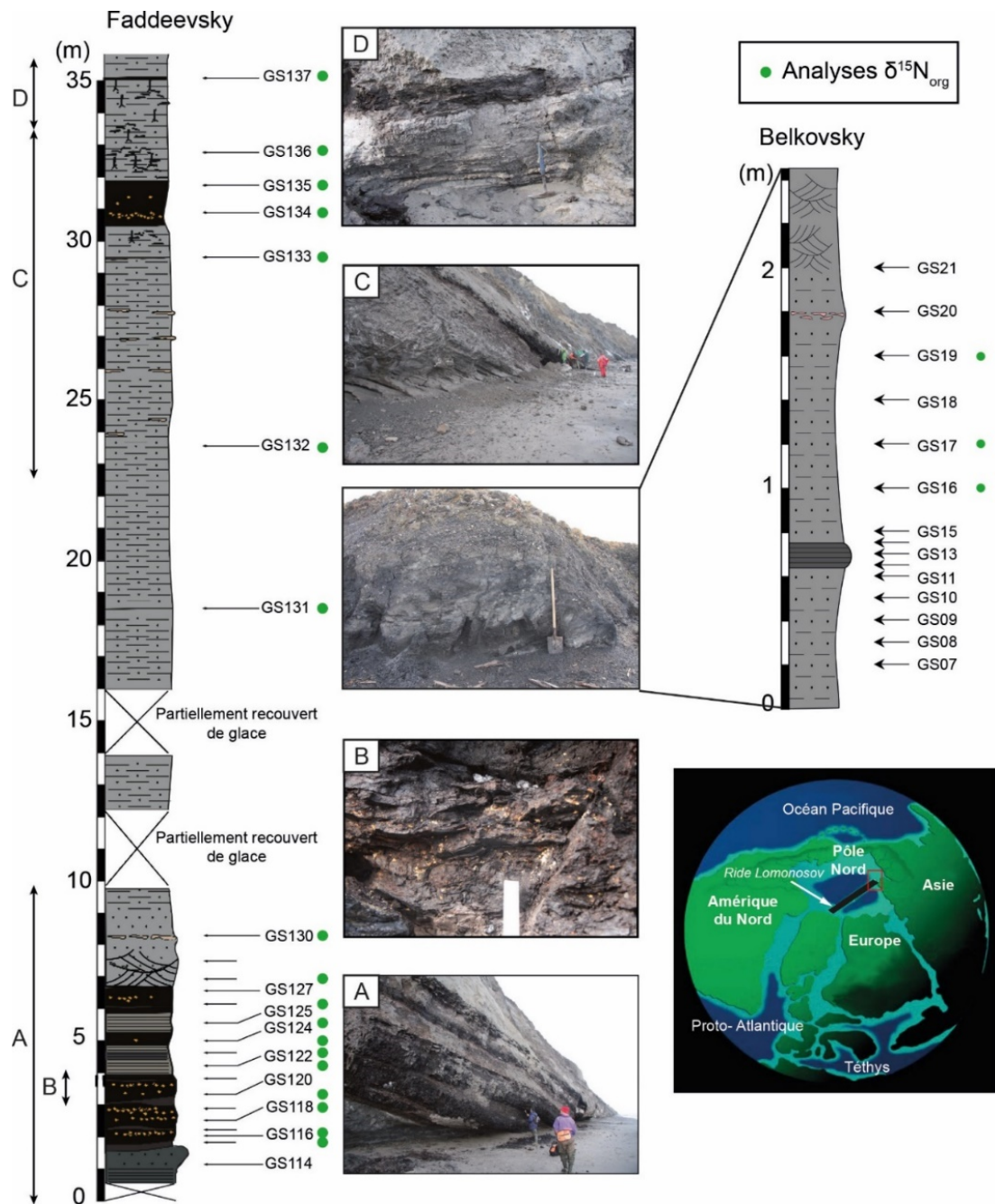


Figure VI.3 : Log sédimentaire des coupes de Faddeevsky et Belkovsky (Yoon, 2013) avec leur localisation paléogéographique (cadre rouge ; modifié d'après Sluijs *et al.*, 2006). Les points verts correspondent aux échantillons sélectionnés pour acquérir des données de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

3. La coupe de Faddeevsky

3.1. Caractérisation de la matière organique et de son environnement de dépôt (Yoon, 2013)

Le long de la coupe de Faddeevsky, 4 unités, notées I_F, II_F, III_F, et IV_F, ont été décrites (Yoon, 2013). Dans l'ensemble, les palynofaciès ont montré une matière organique globalement fraîche, ce qui témoigne d'un faible transport. La pyrolyse Rock-Eval indique une matière organique immature avec une répartition atypique des valeurs d'IH et d'IO (**Figure VI.4**), certaines valeurs d'IH pouvant être élevées, >300 mg HC/g COT. Ces dernières ont été attribuées à l'influence de nombreuses particules d'ambre riches en hydrogène observées dans la coupe, d'une part, et de débris ligno-cellulosiques riches en oxygène, d'autre part (Yoon, 2013). Un apport mineur de matière organique d'origine algo-bactérienne, notamment marine, est toutefois observé à un niveau stratigraphique (GS133). A l'exception de cet échantillon, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ combinées au rapport atomique C/N_{org} indiquent aussi une matière organique majoritairement terrestre avec la prédominance de plantes en C₃ qui se seraient développées dans un environnement d'eau douce à saumâtre (**Figure VI.5**). La présence de *Botryococcus*, une algue d'eau douce à saumâtre, confirme ce diagnostic, bien que présente en faible proportion.

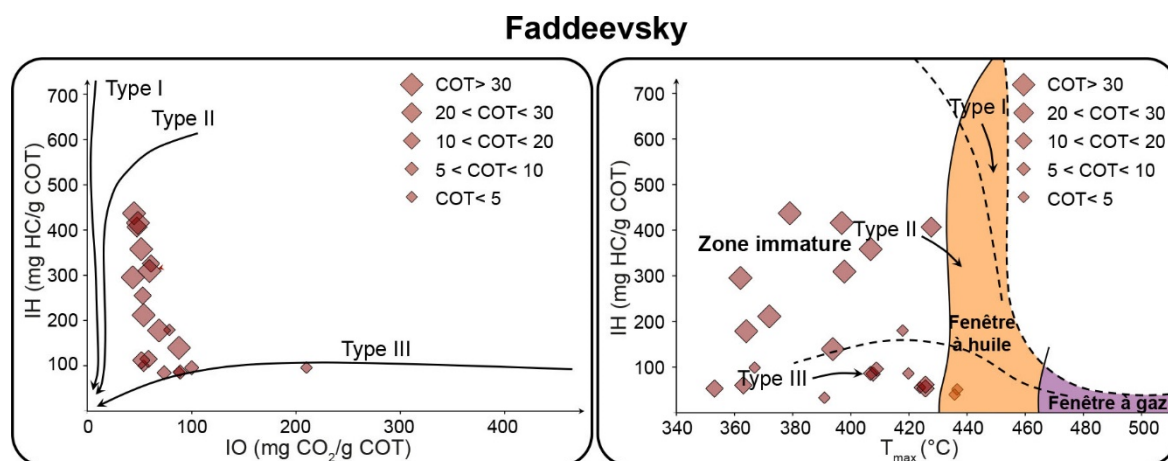


Figure VI.4 : Diagrammes IH-IO et T_{max}-IH montrant une source mixte de matière organique entre le Type-II et le Type-III, et une matière organique globalement immature (modifiés d'après Yoon, 2013).

La bonne préservation de la matière organique, son caractère local et la prédominance de matières organiques de Type-III (Yoon, 2013) permettent de l'exploiter dans le cadre de reconstitutions paléoenvironnementales basées sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Faddeevsky

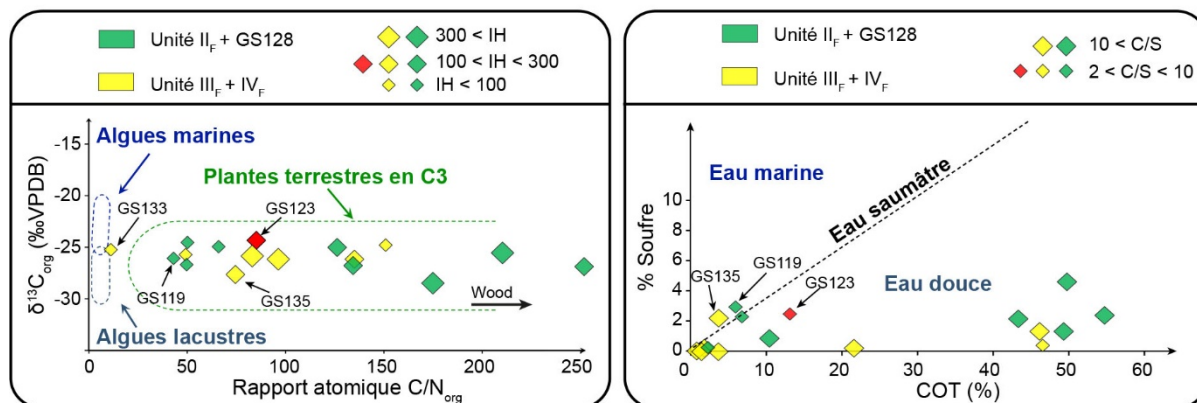


Figure VI.5 : Diagrammes $\text{C}/\text{N}_{\text{org}}$ - $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et COT - $\%S$ montrant une matière organique majoritairement d'origine terrestre dans un environnement d'eau douce à saumâtre (modifiés d'après Yoon, 2013). Les couleurs correspondent aux unités stratigraphiques définies par Yoon, 2013. Le point rouge correspond à l'échantillon GS123 (voir texte, 3.3.). Toutes les données proviennent de Yoon, 2013 à l'exception des teneurs en azote utilisées pour calculer le rapport atomique $\text{C}/\text{N}_{\text{org}}$. Seuls les échantillons utilisés pour obtenir des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sont représentés.

3.2. Les données climatiques à Faddeevsky

A Faddeevsky, les fractions argileuses et les fractions quartzeuses représentent les plus importantes phases minéralogiques (Yoon, 2013). La fraction argileuse est majoritairement composée d'illite, de kaolinite et de chlorite. Ces espèces argileuses témoignent d'un environnement chaud et humide avec deux optima dans les unités II_F et IV_F, où la proportion de kaolinite augmente drastiquement (**Figure VI.6**). Ces tendances majeures ont été confirmées par l'analyse des palynomorphes, essentiellement constitués de pollens provenant de végétaux mésothermes (principalement *Alnus* et *Carya*) à méga-mésothermes (principalement *Taxodiaceae* et *Engelhardia*), caractéristiques d'un climat tempéré-chaud à subtropical (**Figure VI.6** ; Suan *et al.*, in prep.). Conjointement, des éléments méso-microthermes (tempéré-froid) à microthermes (boréal), ainsi que des herbes apparaissent de temps à autre le long de la coupe, mais ne représentent pas plus de 20-25 % de l'assemblage total. Cet assemblage, caractérisant un environnement tempéré-froid voire boréal, suggère la présence de hauts reliefs à proximité de la zone d'étude, associés à une tectonique active à la même période (Kos'ko et Korago, 2009; Yoon, 2013).

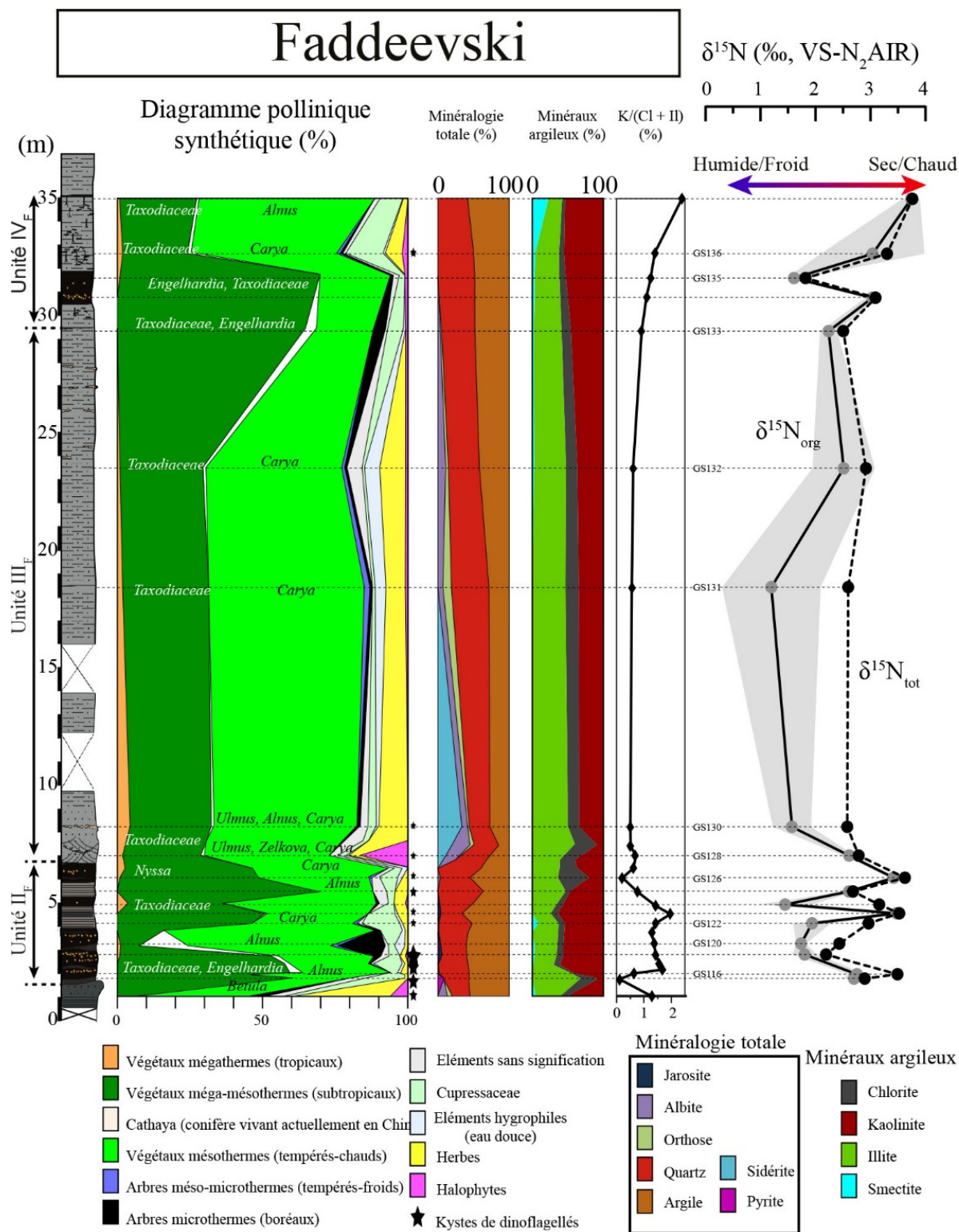


Figure VI.6 : Figure de synthèse de la coupe de Faddeevsky. Diagrammes présentant les données polliniques (Suan *et al.*, in prep.), la minéralogie totale et des argiles (Yoon, 2013), et les données de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ obtenues dans le cadre de cette thèse. L'enveloppe grisée correspond à l'erreur sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

La résolution de l'échantillonnage dans les lignites est plus importante que dans les argiles, qui semblent par ailleurs, plus uniformes d'un point de vue sédimentologique. L'unité II_F, qui comporte la majorité des lignites, est également très riche en argile dont la fraction principale est la kaolinite, indicateur d'un climat particulièrement chaud et humide dans cette unité (**Figure VI.6** ; Yoon, 2013). Il en résulte d'ailleurs un rapport kaolinite/(illite + chlorite) élevé (>1). Les données polliniques sont plus contrastées avec, par exemple, une baisse prononcée de la proportion de végétaux subtropicaux et l'incursion de végétaux boréaux entre 3 et 4 m (**Figure VI.6**). Dans ce court intervalle, la kaolinite atteint malgré tout un de ces niveaux les plus élevés. Cependant, on ne peut pas exclure qu'une partie de cette kaolinite soit authigène dans la mesure où elle peut être précipitée en milieu acide (Chamley, 1989), comme c'est le cas dans les tourbières où la dégradation de la matière organique produit un environnement acide.

L'unité III_F est dominée par des végétaux tempérés-chaud et une proportion d'argile inférieure à celle de l'unité précédente et dont l'illite est la fraction dominante (**Figure VI.6**). Cela suggère un climat plus frais et moins humide.

Les lignites de l'unité IV_F renouent avec un climat plus chaud et plus humide, avec un assemblage de végétaux et une proportion de kaolinite semblables à l'unité II_F, alors que les argiles surplombant les lignites présentent les mêmes caractéristiques que l'unité III_F (**Figure VI.6** ; Yoon, 2013).

D'après ces données, les assemblages floristiques ont été considérés comme des indicateurs des variations de températures relatives (chaud/froid) puisqu'ils reflètent des régimes climatiques. Les conditions d'humidité relative (sec/chaud) seraient, elles, reflétées par les variations de proportion de kaolinite, ou plus précisément par le rapport kaolinite/(chlorite + illite) (Chamley, 1989). En ce sens, les données palynologiques (Suc in Yoon 2013 et Suan *et al.*, in prep.) et celles des minéraux argileux (Yoon, 2013) ont été compilées et interprétées en termes de changement climatique relatif entre chaque intervalle (point ou groupe de point). Elles ont ensuite été comparées aux valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (**Figure VI.6**).

3.3. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ à Faddeevsky : une réponse climatique du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$?

Seules les unités II_F, III_F, et IV_F ont été échantillonnées pour obtenir des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ ont été mesurées sur 18 échantillons et sont

comprises entre +1,8 ‰ et +3,8 ‰ (**Figure VI.7**). La gamme de variation des valeurs du $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (~3 ‰) est supérieure à celle observée à Taskomirsay (~1 ‰). Les valeurs moyennes sont cependant similaires avec 2,9 ‰ à Faddeevsky, contre 3,2 ‰ à Taskomirsay.

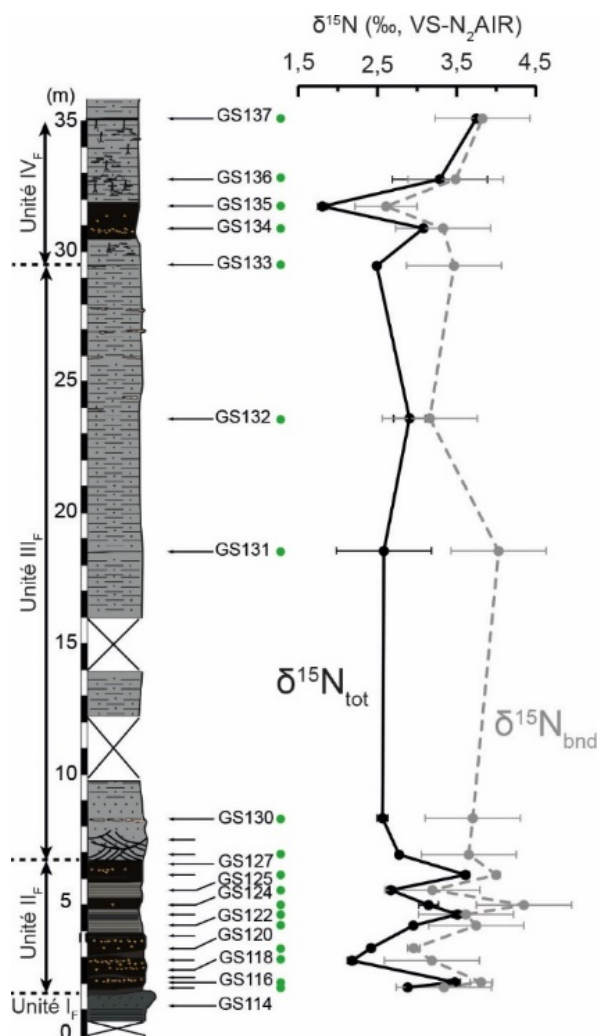


Figure VI.7 : Valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ sur la coupe de Faddeevsky avec les barres d'erreurs associées, trop petites si non visibles.

Dans un diagramme COT vs TN (**Figure VI.8**), la valeur de l'ordonnée à l'origine est de 0,07 %N à 0 %COT, ce qui indique, comme dans les argiles de Taskomirsay, qu'il y a une proportion significative d'azote inorganique (Schubert et Calvert, 2001). En effet, en l'absence de changement de source de la matière organique, la pente du diagramme COT vs TN dépend du rapport C/N de cette dernière, et passe par l'origine (Pride *et al.*, 1999). Les smectites et les illites ont une forte capacité d'échange cationique qui leur permet d'adsorber l'azote sous forme d'ammonium (Müller, 1977; Schubert et Calvert, 2001). La forte proportion d'illite à Faddeevsky (20 à 60 %) pourrait donc expliquer la présence significative d'azote inorganique.

A Taskomirsay, l'ordonnée à l'origine sur le diagramme TOC vs TN à 0 % de COT, pour les échantillons dont le COT est inférieur à 40 % (cf. **Figure V.6**), est deux fois inférieure à celle enregistrée à Faddeevsky. Or, l'assemblage minéralogique est largement dominé par la kaolinite à Taskomirsay avec moins de smectite (Schnyder, com. pers.). C'est très probablement cette différence minéralogique qui explique la plus importante proportion d'azote inorganique à Faddeevsky (Schubert et Calvert, 2001). En outre, un motif semblable à celui de Taskomirsay semble se dessiner pour les échantillons dont le COT est supérieur à 40 %, avec des valeurs de $\%N_{\text{org}}$ qui s'écartent de la tendance attendue entre $\%COT$ et $\%N_{\text{org}}$ (cf. **Figure VIII.1**). Par conséquent, un manque d'efficacité du traitement KBr-KOH peut être à l'origine de ce motif. Cette éventualité sera discutée dans le **Chapitre VIII**.

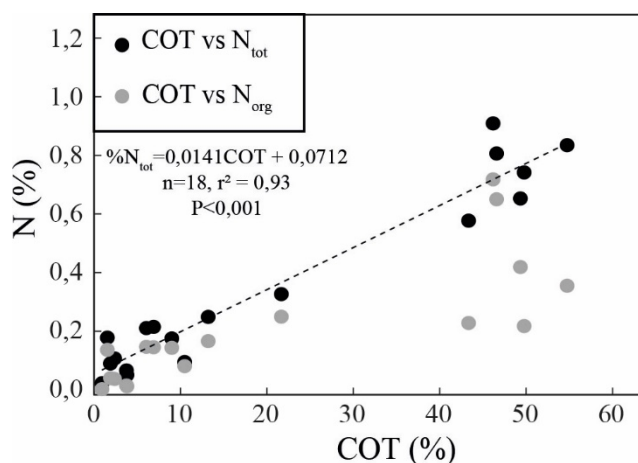


Figure VI.8 : Proportion de carbone organique total (COT) vs proportion d'azote total (N_{tot}) et organique (N_{org})

En première approche, **deux grandes tendances** semblent se dessiner (**Figure VI.6**) : (i) un signal climatique du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ qui serait **modulé par l'humidité à la base** de la coupe (Unité II_F) avec globalement des valeurs plus faibles correspondant aux intervalles humides (plus de kaolinite), et (ii) une **modulation du signal climatique par la température** dans les unités III_F et IV_F, avec une tendance à l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ associée à une augmentation de la proportion des végétaux subtropicaux à tropicaux (notamment au sommet). Toutefois, une modulation différenciée des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ par la température ou l'humidité est difficile à concevoir. C'est pourquoi il convient d'analyser les variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dans le détail.

Les variations climatiques hautes fréquences sont assez clairement enregistrées par le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dans l'unité II_F avec (i) des valeurs plus faibles dans les intervalles reconnus comme

plus humides et/ou froid, et (ii) des valeurs plus élevées dans les intervalles secs et/ou chauds (**Figure VI.6**). Par exemple, les deux premiers points de l'unité II_F correspondent à un intervalle avec un **rapport kaolinite/(chlorite + illite) inférieur à 1** et une proportion élevée de végétaux méga-mésothermes (près de 60 %), caractéristiques d'un climat plutôt chaud et sec. Or, cet intervalle est associé à des valeurs $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ **comprises entre 2,7 et 2,8 ‰**. Les deux points suivants correspondent à une baisse drastique de la proportion des végétaux méga-mésothermes (60 à 10 %), associée à une augmentation du rapport kaolinite/(chlorite + illite) avec des valeurs **près de 2**, caractéristiques d'un climat relativement plus frais et plus humide. Ce changement relatif est bien accompagné **d'une baisse de ~1 ‰ des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$** (**Figure VI.6**).

Qualitativement, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ semble **mieux répondre aux variations d'humidité** relatives qu'à la température, comme suggéré par Liu et Wang (2008), bien que des données numériques de température seraient nécessaires pour vérifier cette hypothèse. En revanche, on peut estimer quantitativement l'adéquation de la réponse du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ par rapport aux variations de l'humidité en corrélant les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à celles du rapport kaolinite/(chlorite + illite). Une corrélation négative très significative est obtenue dans l'unité II_F (**Figure VI.9**). Autrement dit, plus l'humidité augmente, plus les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ diminuent, en accord avec les observations sur les plantes et les sols modernes (e. g. Austin et Vitousek, 1998; Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004; Liu et Wang, 2008).

Au contraire, les variations climatiques enregistrées par la palynologie et les minéraux argileux dans les unités III_F et IV_F ne semblent pas être en adéquation avec les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (**Figure VI.6**), tout comme pour un point dans l'unité II_F (GS123). En effet, des valeurs faibles du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sont enregistrées dans l'unité III_F, relativement plus sèche et froide que l'unité IV_F dans laquelle des valeurs plus élevées sont enregistrées, à l'exception d'un point (GS135). Dans ces deux unités, le signal du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est donc opposé à ce que l'on pourrait attendre. Cette opposition est parfaitement reflétée par une corrélation positive significative entre le rapport kaolinite/(chlorite + illite) et le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (**Figure VI.9**). Il est à noter que les points correspondant à l'unité II_F sont représentés en vert sur les **Figure VI.5****Figure VI.10** **Figure VI.11**, alors que ceux des unités III_F et IV_F sont notés en jaune. L'échantillon GS123 est représenté en rouge car c'est le seul point dont la valeur de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ n'est pas en adéquation avec les autres marqueurs paléoclimatiques de l'unité II_F.

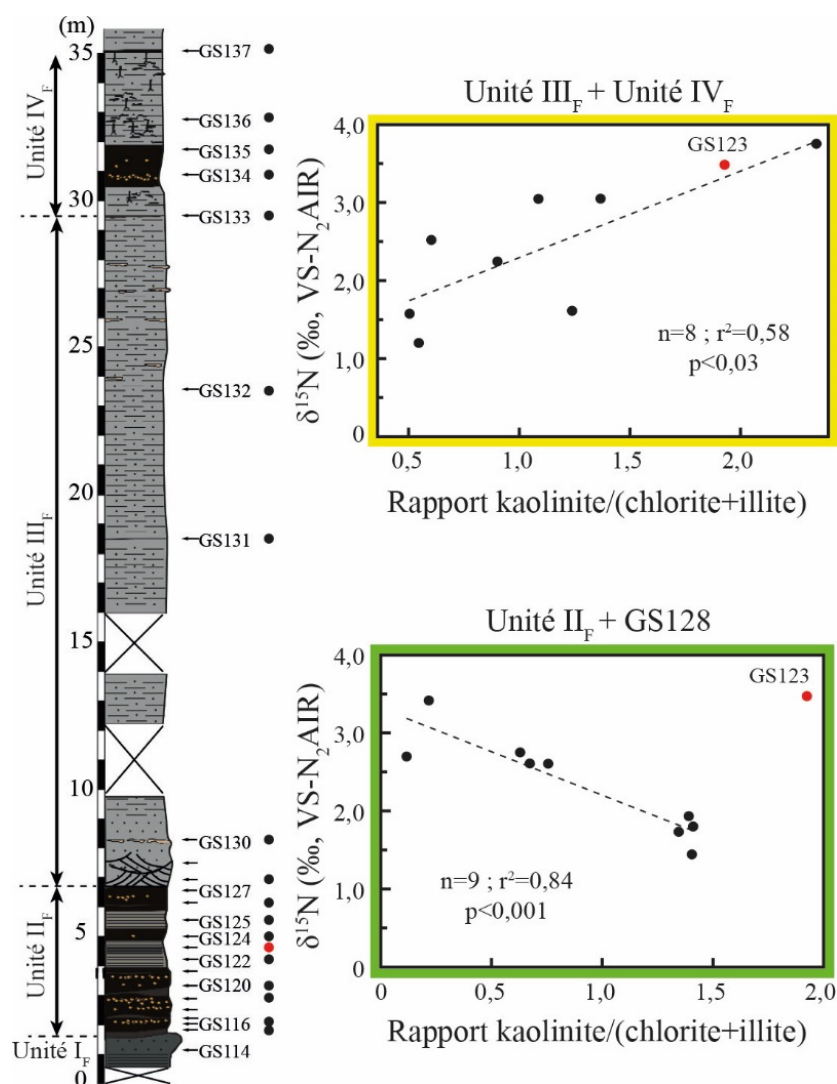


Figure VI.9 : $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ vs rapport kaolinite/(chlorite + illite). Dans le cadre vert, la réponse du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est conforme à ce qui est attendu au regard des variations climatiques enregistrées par la palynologie et les minéraux argileux. En jaune, la réponse n'est pas conforme. Le point rouge (outlier) correspond à l'échantillon GS123 et n'est pris en compte dans aucune des deux corrélations.

Pourquoi la réponse du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est-elle différente à petite échelle entre la base et le sommet de la coupe ? Différentes hypothèses sont discutées :

Biais de préservation de la matière organique ?

La diagenèse précoce peut influencer fortement sur les valeurs initiales de $\delta^{15}\text{N}$, que ce soit vers une augmentation ou une diminution des valeurs d'origine (Melillo *et al.*, 1989; Benner *et al.*, 1991; Fogel et Tuross, 1999; Connin *et al.*, 2001; Asada *et al.*, 2005; Bragazza *et al.*, 2010). Il semble que l'amplitude et la direction de tels changements isotopiques dépendent des

conditions d'oxygénation du milieu, qui contrôlent les communautés microbiennes dégradant la matière organique (Lehmann *et al.*, 2002; Gälman *et al.*, 2009). Ainsi, le $\delta^{15}\text{N}$ augmente lors de la dégradation microbienne en milieu oxygène, alors qu'il diminue en milieu anoxique. On pourrait donc s'attendre à une corrélation positive entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ et celles d'IO, qui reflètent grossièrement l'oxydation de la matière organique (Espitalié *et al.*, 1985). Or, aucune corrélation n'existe entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et d'IO sur l'ensemble des points ($r^2=0,14$; $p>0,1$), et une corrélation négative existe entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et d'IO de l'unité III_F + IV_F ($r^2=0,87$; $p<0,03$; **Figure VI.10**). Ne reposant que sur 5 points, cette dernière n'a probablement pas de signification géologique. En outre, les palynofaciès témoignent d'une matière organique d'aspect très frais (Yoon, 2013) sur l'ensemble de la coupe. C'est pourquoi un état de préservation différentiel est très improbable pour expliquer la différence de réponse du $\delta^{15}\text{N}$ entre les unités II_F et III_F + IV_F.

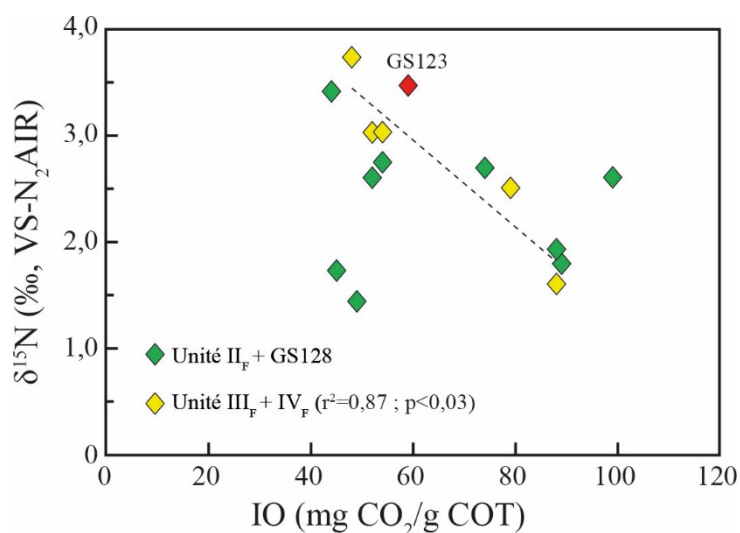


Figure VI.10 : IO vs $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Deux valeurs d'IO >500 ont été retirées des données de l'unité III_F + IV_F. Les données d'IO proviennent de Yoon (2013). Le point rouge correspond à l'échantillon GS123 et n'est pas pris en compte dans la corrélation.

Une influence marine ?

Un changement de l'influence marine entre les unités II_F et III_F + IV_F pourrait être à l'origine de l'apparente contradiction entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et les autres marqueurs paléoclimatiques. En effet, l'eau de mer est saturée en nitrates. Or, l'azote des nitrates possède une composition isotopique moyenne autour de 5-6 ‰ dans les océans de nos jours (Thunell *et al.*, 2004). Les nitrates étant une source importante de nutriments des plantes, et le

fractionnement isotopique associé à leur assimilation faible voire nul (Mariotti *et al.*, 1982), la matière organique résultante trace approximativement la composition isotopique des nitrates de l'eau de mer (Kienast, 2000; Thunell *et al.*, 2004; Thunell et Kepple, 2004). De ce fait, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de plantes en bordure de côte sont significativement plus élevées que celles des plantes situées à l'intérieur des terres (Heaton, 1987). Les valeurs élevées du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ au sommet de la coupe de Faddeevsky pourraient donc être expliquées par une influence marine. Or, bien que des dinoflagellés aient été répertoriés et que quelques niveaux stratigraphiques se soient développés dans une eau saumâtre suggérant une influence marine (**Figure VI.6**), cette piste ne semble pas expliquer les variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ pour trois raisons : (i) les dinoflagellés sont concentrés dans l'unité II_F et pas dans l'unité III_F, où des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ proches du $\delta^{15}\text{N}$ des nitrates marins ont été enregistrées (~3 à 4 ‰), (ii) des milieux d'eau douce et d'eau saumâtre ont été caractérisés dans chaque unité (**Figure VI.5**), (iii) les dinoflagellés, bien que majoritairement marins, peuvent aussi coloniser les milieux d'eau douce (Sluijs *et al.*, 2005).

Effet des sources organiques ?

Dans le point précédent, l'hypothèse de la variation des sources de l'azote (par exemple, « nitrates marins » vs « azote terrestre ») a été discutée. Maintenant, il est nécessaire de s'intéresser à de potentiels changements de sources de la matière organique, c'est-à-dire de ses producteurs (par exemple, algues vs plantes terrestres). En effet, les changements de sources de la matière organique peuvent potentiellement être à l'origine de variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Hodell et Schelske, 1998; Meyers, 1997; Mayor *et al.*, 2012). Par exemple, Hodell et Schelske (1998) ont répertorié des variations saisonnières des valeurs du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ dans des particules lacustres récoltées dans un piège adapté. Ils les ont attribuées à l'alternance entre la prédominance des fragments de plantes lors de la stratification des eaux du lac et la prédominance des organismes hétérotrophes ou de la matière organique détritique durant les périodes de mélange des eaux. Ces changements de sources peuvent entraîner un écart de 6 ‰ entre les deux modalités (Hodell et Schelske, 1998). Toutefois, ce contraste saisonnier n'a pas été enregistré dans les sédiments carottés et est lissé (Hodell et Schelske, 1998). Dans la même idée, en considérant que la composition isotopique de la matière organique est à l'équilibre avec l'azote inorganique, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ peut distinguer une source marine algale (nitrates à 5-6 ‰) d'une source terrestre (fixation de N_2 à ~0 ‰ ; Meyers et Ishiwatari, 1993; Meyers, 1997). En revanche, la prolifération d'organismes procaryotes fixe de l'azote atmosphérique, ce qui fait tendre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ vers 0 ‰ (Paris *et al.*, 2010). Par ailleurs, Schnyder *et al.* (2009) ont

répertorié dans des sédiments lacustres du Crétacé une corrélation négative entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et d'IH, consécutive à une eutrophisation du milieu, également associée à une diminution du rapport C/N. Or, les unités II_F et III_F + IV_F montrent toutes deux une matière organique majoritairement terrestre avec quelques points montrant une influence algale (**Figure VI.5**). De plus, il n'existe aucune corrélation entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et celles d'IH ou de C/N_{org} à Faddeevsky (**Figure VI.11 A et B**). Un changement de sources de la matière organique n'est donc probablement pas suffisant pour expliquer la non cohérence du signal du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ avec les autres données paléoclimatiques dans les unités III_F et IV_F. En revanche, il se trouve que les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ des unités III_F et IV_F sont corrélées avec les valeurs d'IH, mais pas avec les données de C/N_{org}. Aucune corrélation n'existe entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et celles d'IH ou de C/N_{org} de l'unité II_F (**Figure VI.11 C et D**).

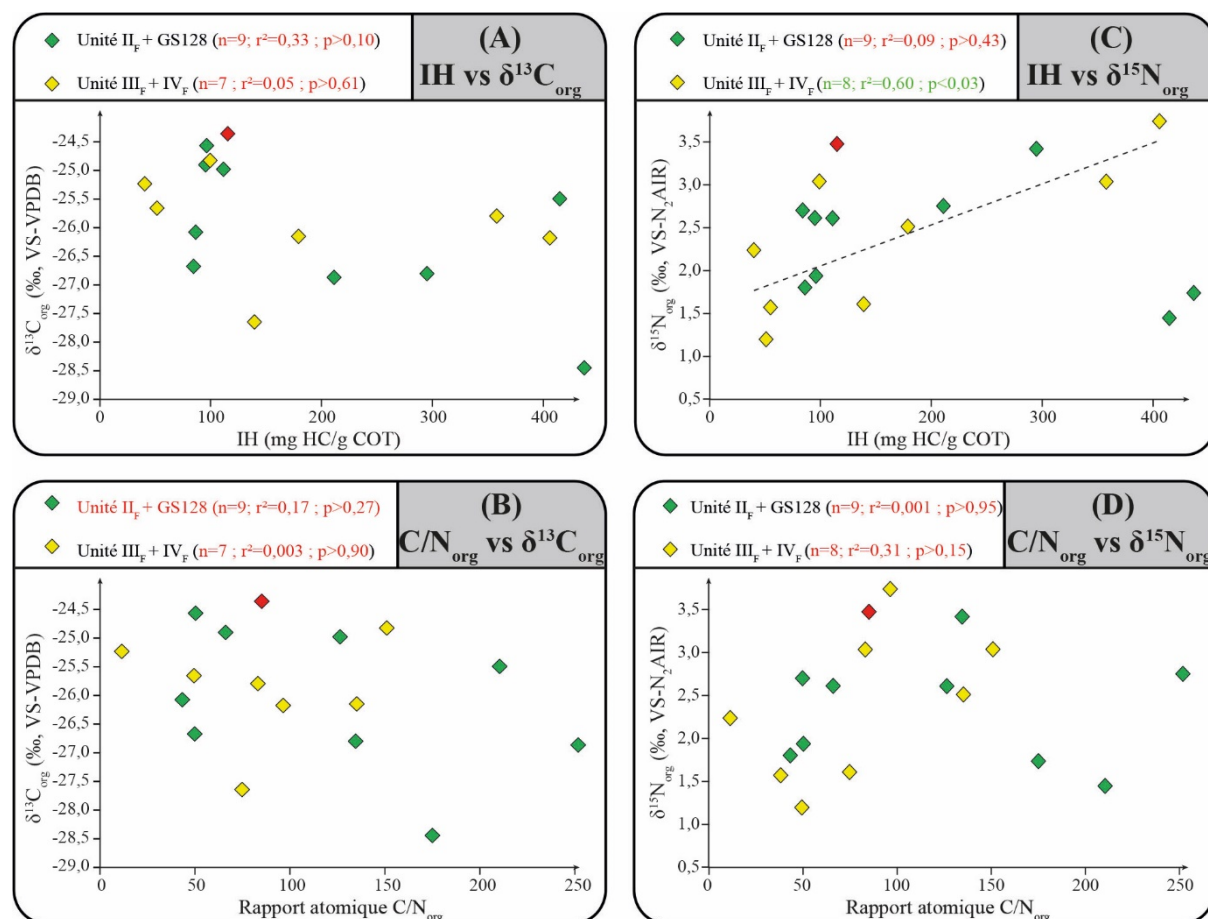


Figure VI.11 : Corrélations entre (A) IH et $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$, (B) C/N_{org} et $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$, (C) IH et $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et (D) C/N_{org} et $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Les paramètres des corrélations significatives sont écrits en vert. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ ne comportent que 7 points et sont issues des données de Yoon (2013). Le point rouge correspond à l'échantillon GS123 et n'est pris en compte dans aucune corrélation.

Les différentes corrélations montrent que la composition isotopique du carbone organique n'est pas dominée par les sources de la matière organique. La corrélation entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et d'IH est, en outre, le résultat de deux points dont les valeurs d'IH sont élevées. Cette corrélation n'existe plus si l'on considère les autres points séparément. Les variations des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ne sont donc probablement pas non plus expliquées par des changements de source organique. Cette hypothèse est renforcée par l'absence de corrélation entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et de C/N_{org}. Il est donc nécessaire de faire appel à d'autres notions qui permettraient de comprendre l'ensemble des variations des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Ouverture/fermeture du cycle de l'azote ?

Il a été vu dans le **Chapitre II.6** que la meilleure interprétation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ réside de nos jours dans la notion d'ouverture/fermeture du cycle de l'azote du système sol/plante, en réponse à la disponibilité en eau et/ou en nutriments. Selon ce concept, dans les milieux humides (généralement limitants en azote) l'azote organique est recyclé, ce qui aboutit à une baisse des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Au contraire, dans les milieux arides (généralement non limitants en azote) le bilan entrées/sorties d'azote du système surpasse la capacité de recyclage interne et mène à l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ *via* minéralisation/dénitrification. En milieu tropical, humide et chaud, le cycle de l'azote fonctionne également en cycle ouvert, compte tenu de l'importante disponibilité de l'azote. Cela aboutit à des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ plus élevées en moyenne dans les forêts tropicales que dans les forêts tempérées (+6,5 ‰ ; Martinelli *et al.*, 1999).

A la suite des travaux de Schnyder *et al.* (2009) dans un système lacustre du Bassin de Mons en Belgique (Barrémien moyen-Aptien inférieur), des données de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont été acquises sur quelques échantillons de ce système. Elles montrent clairement une augmentation des valeurs de 0 ‰ à 2 ‰, en réponse à l'eutrophisation du milieu lacustre, qui serait liée à de forts apports en nutriments (Fenaux, 2014). Or, l'apport important de nutriments est susceptible de surpasser la capacité d'un écosystème à recycler l'azote, à l'instar des milieux tropicaux actuels. L'azote, lorsqu'il est non limitant, pourrait pousser le système à fonctionner en cycle ouvert et les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ augmenteraient. Appliquée à Faddeevsky, cette hypothèse suggère que l'apport de nutriments, notamment azotés, a dépassé les capacités de résilience (*i.e.* recyclage de l'azote) de l'écosystème dans les unités III_F et IV_F.

Cette hypothèse est appuyée par l'augmentation de la proportion de quartz dans les unités III_F et IV_F et surtout par l'apparition d'albite et d'orthose, qui suggèrent une

augmentation de l'apport détritique (Chamley, 1989) et donc potentiellement de nutriments. Ainsi, le système s'ouvrirait progressivement (augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) de la base de l'unité III_F jusqu'à l'unité IV_F, à la faveur de l'apport de nutriments et de la capacité de l'écosystème à les utiliser. Au niveau GS135, des conditions climatiques plus chaudes (pollens) et humides (kaolinite) auraient permis le développement optimal d'un écosystème en cycle fermé, avec une forte productivité aboutissant à une faible valeur de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et à un COT élevé (46%). Le mécanisme inverse pourrait expliquer la valeur élevée de l'échantillon GS123.

Les conditions optimales au développement de la végétation peuvent également être reflétées par les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ qui, en général, diminuent avec l'augmentation de la disponibilité en eau, en réponse à un fractionnement isotopique plus important des plantes (Bowling *et al.*, 2008). La valeur moyenne du $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ des unités II_F et III_F + IV_F est égale à -25,9 ‰ (Yoon, 2013). Or, les deux échantillons GS123 et GS135, qui répondent à l'opposé des échantillons sous- et sus-jacents, présentent des valeurs extrêmes de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$. Le premier (GS123) présente la valeur la plus positive de l'unité II_F (-24,4 ‰), suggérant une diminution du fractionnement isotopique des plantes en réponse à un stress. La dégradation des conditions de vie de la végétation pourrait pousser le système à fonctionner en cycle ouvert – entrées/sorties des nutriments supérieurs au recyclage interne de l'azote par l'écosystème – ce qui expliquerait la valeur élevée de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (3,5 ‰). A l'inverse, l'échantillon GS135 présente la valeur la plus négative de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ des unités III_F et IV_F (-27,6 ‰), ce qui suggère des conditions optimales pour le développement de la végétation et donc l'amélioration du recyclage de l'azote (en cycle fermé). Par conséquent, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ diminue (1,6 ‰ contre 3,0 ‰ en-dessous et au-dessus ; **Figure VI.6**).

Un dernier aspect pourrait expliquer les différences d'enregistrements du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ entre la base et le sommet de la coupe. C'est le caractère parfois très local du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Handley *et al.*, 1999; Amundson *et al.*, 2003). La sidérite continentale ($\delta^{13}\text{C} > 0$ ‰, Mozley et Wersin, 1992; Yoon, 2013) présente à la base de l'unité III_F (**Figure VI.6**) indique un environnement humide, acide, pauvre en O₂, et riche en CO₂ et Fe²⁺/FeHCO₃⁻ (Ohmoto *et al.*, 2004; Benito *et al.*, 2005). La sidérite précipitant sur place durant la diagenèse précoce (Mozley, 1989), elle indique des conditions humides très locales qui contrastent avec le climat un peu plus sec à l'échelle du bassin, comme indiqués par le rapport kaolinite/(chlorite + illite) et la présence d'herbes notamment à la base de l'unité III_F (**Figure VI.6**). Par ailleurs, le manque d'oxygénation du milieu suggère un confinement de celui-ci, limitant ainsi l'apport en nutriments, comme suggéré par une plus faible proportion de quartz et de feldspaths. Le faible apport de nutriments couplé à une bonne disponibilité locale en eau favoriserait alors le fonctionnement de

l'écosystème en cycle fermé, où le recyclage de l'azote organique est effectif, menant à des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ plus faibles (cf. GS130 ; **Figure VI.6**).

3.4. La coupe de Belkovsky

L'âge de la coupe de Belkovsky est relativement mal contraint. Cette coupe précéderait ou suivrait l'EECO (Suc, com. pers. ; Suan *et al.*, in prep.). La matière organique à Belkovsky est semblable à celle de Faddeevsky, c'est-à-dire immature et de type III d'après la pyrolyse Rock-Eval (**Figure VI.12** ; Yoon, 2013). Cependant, de plus fortes valeurs d'IO sont enregistrées, suggérant une forte oxydation de la matière organique (Espitalié *et al.*, 1985). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ combinées au rapport atomique C/N_{tot} indiquent une matière organique mixte alguaire/terrestre avec plus de matière d'origine alguaire qu'à Faddeevsky (**Figure VI.13** ; Yoon, 2013). En ce sens, l'IO élevé et l'IH faible suggèrent une altération plus importante de la matière organique, comparé à Faddeevsky. Un transport de la matière organique sensiblement plus long que pour celle de Faddeevsky, et dans un environnement dynamique, est probablement à l'origine de cette dégradation différentielle. La forte proportion de quartz et la très faible proportion d'argiles supportent cette idée (**Figure VI.14**). Il a d'ailleurs été conclu que Belkovsky se trouvait très probablement en aval de Faddeevsky, sans toutefois pouvoir établir de liens temporels entre les deux coupes (Yoon, 2013).

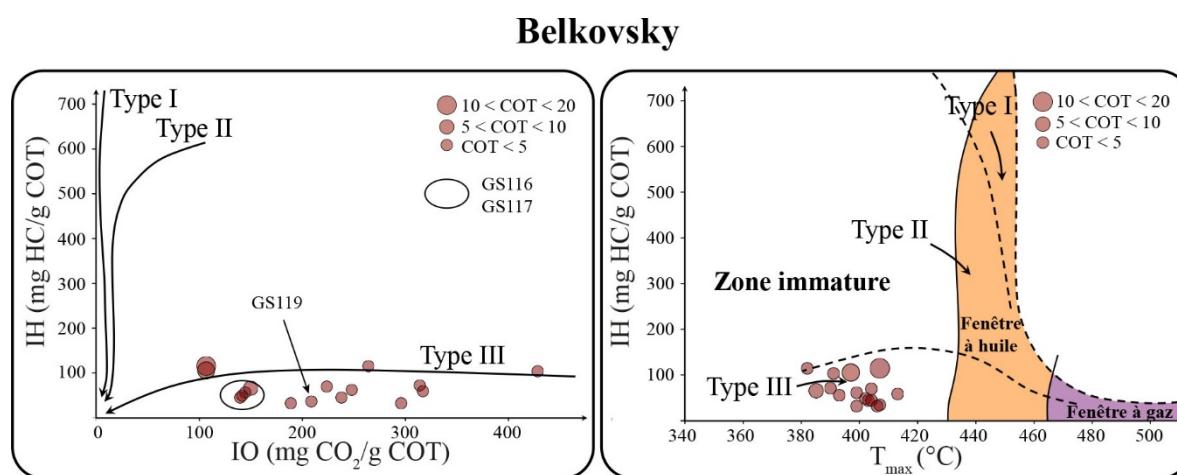


Figure VI.12 : Diagrammes IH-IO et T_{max}-IH montrant une source de matière organique de Type-III et une matière organique globalement immature (modifiés d'après Yoon, 2013).

Le manque de matériel n'a permis d'analyser que 3 échantillons (GS16, GS17, GS19) en $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, ce qui ne permet pas de faire le même travail qu'à Faddeevsky.

Belkovsky

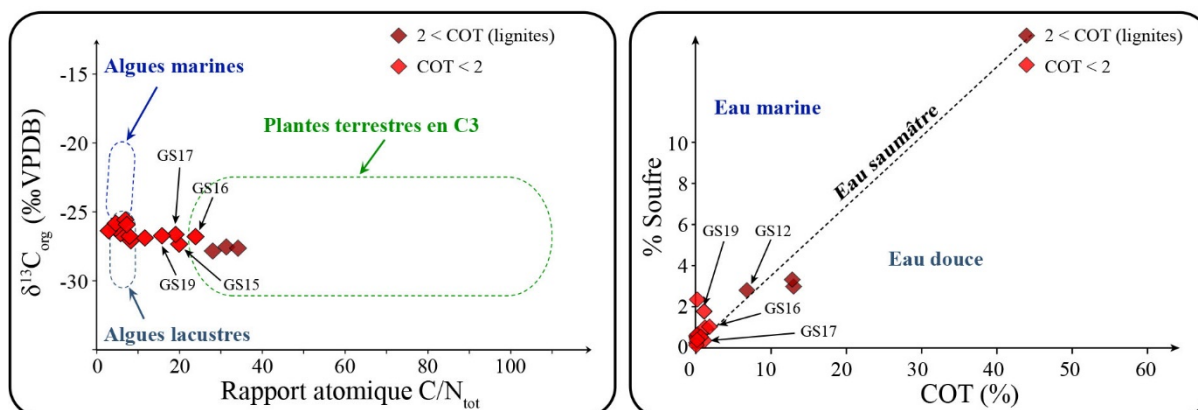


Figure VI.13 : Diagrammes $\text{C}/\text{N}_{\text{tot}}-\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et $\text{COT}-\% \text{S}$ montrant une matière organique mixte terrestre/alguaire d'eau douce à saumâtre, voire marine pour GS19 et GS20 (modifié d'après Yoon, 2013). Les échantillons utilisés pour les analyses de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (GS16, GS17, GS19) sont pointés sur les diagrammes.

Quoiqu'il en soit, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sont stables ($2,7 \pm 0,2 \text{ ‰}$) sur les 75 cm analysés et plutôt situées dans la gamme haute par rapport à celles enregistrées à Faddeevsky (**Figure VI.14**). Cela suggère, en termes strictement climatiques, un climat plus sec et/ou plus chaud. Par ailleurs, les assemblages floristiques et les argiles sont tout à fait en adéquation avec un climat plus sec mais aussi plus froid qu'à Faddeevsky (**Figure VI.14** ; San *et al.*, in prep., Yoon, 2013). Par exemple, les arbres microthermes, caractéristiques d'un régime climatique boréal, sont présent en plus grande proportion à Belkovsky (jusqu'à ~50 %) qu'à Faddeevsky (<10 %). En outre, le rapport kaolinite/(chlorite + illite) est également bien inférieur (toujours <1) à celui enregistré à Faddeevsky (régulièrement >1). Bien qu'on ne puisse pas conclure ici que la température soit un facteur climatique influençant le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, il a été suggéré que ce facteur était peu corrélé au $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Amundson *et al.*, 2003; Liu et Wang, 2008). A Belkovsky, il semble donc que les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ seraient plutôt contrôlées par le rapport sec/humide.

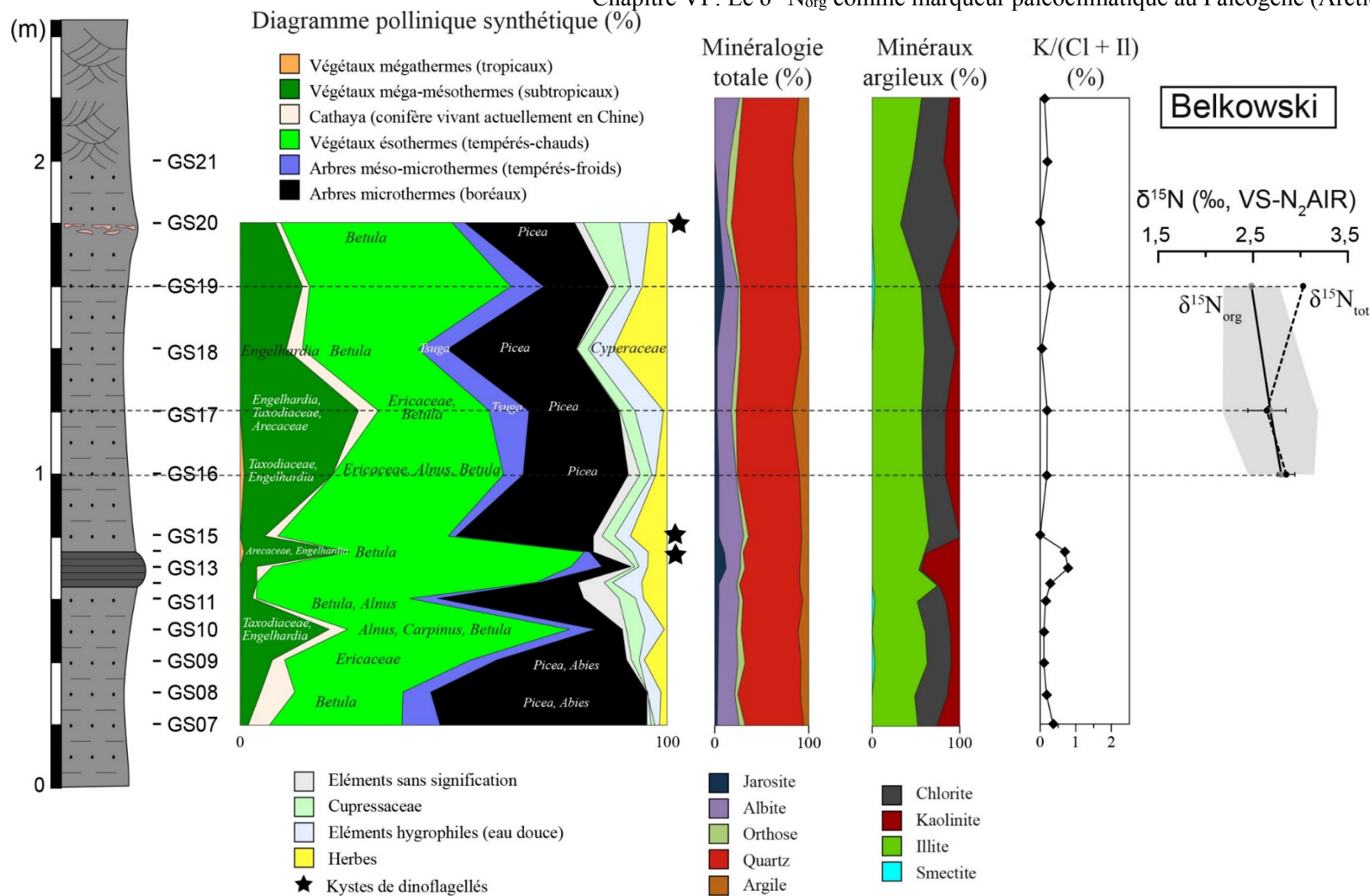


Figure VI.14 : Figure de synthèse de la coupe de Belkowsky. Diagrammes présentant les données polliniques (Suan *et al.*, in prep.), la minéralogie totale et des argiles (Yoon, 2013) et les données de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ obtenues au cours de cette thèse. L'enveloppe grise correspond à l'erreur sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Conclusion du Chapitre VI

Dans ce chapitre, le potentiel du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique a été testé prioritairement sur une coupe continentale d'âge Paléogène, localisée en Arctique Russe. Cet intervalle de temps est important car il correspond à un optimum climatique de long terme ponctué par des événements hyperthermaux de courte durée (inférieurs à 300 ka).

Des synthèses polliniques (M. Suc, com. pers.), des données Rock-Eval, d'argiles, de palynofaciès et de $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ (Yoon, 2013) ont permis de caractériser les environnements de dépôts et les changements climatiques à Faddeevsky et à Belkovsky.

Le nombre de valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à Faddeevsky (18 et 3 à Belkovsky) a permis une approche statistique des paramètres influençant le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (sources de la matière organique, état de préservation, climat). Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est en accord avec les autres paramètres paléoclimatiques sur certains niveaux. A titre d'exemple, la corrélation négative entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et le rapport kaolinite/(chlorite + illite) a mis en évidence la capacité du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à retracer les conditions d'humidité de la zone dans la partie inférieure de la coupe. Une relation inverse a été relevée dans la partie supérieure. Bien qu'un contrôle différentiel de l'humidité (base de la coupe) et de la température (sommet de la coupe) ne puisse pas être totalement exclu, ce paradoxe peut être l'expression du changement de statut des nutriments (appuyée par hausse de l'apport détritique) entre les deux parties. Une sur-disponibilité des nutriments, en particulier azotés, dans la partie supérieure de la coupe, aurait mené à l'ouverture du cycle de l'azote et donc à l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Néanmoins, la coupe de Faddeevsky démontre toute la complexité de l'interprétation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ en termes climatiques.

Chapitre VII : Le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique à l'Eocène-Oligocène

Dans ce chapitre, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a été mesuré sur des argiles et des lignites d'une carotte prélevée dans le Bassin de Rennes (France). Cette carotte comporte des sédiments tertiaires (Eocène-Oligocène) lacustres à marins restreints qui reposent sur un socle Cambrien. Les sédiments tertiaires enregistrent la transition Eocène-Oligocène qui correspond à la transition du système climatique de la Terre du mode « greenhouse » au mode « icehouse » que l'on connaît aujourd'hui. En effet, elle est marquée par un refroidissement net sur une période de l'ordre de 200 ka (Katz *et al.*, 2008).

Le mémoire de Master 2 de Marie Salpin a mis en évidence des changements majeurs dans la minéralogie des argiles à la transition Eocène-Oligocène. La comparaison de ces changements avec les données de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ acquises par la suite a donné lieu à un article soumis à *Terra Nova*. La relation entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et le rapport kaolinite/(chlorite + illite), mis en évidence dans le Paléogène de l'Arctique Russe, est également testée à la fin de ce chapitre.

La carotte étudiée a fait l'objet d'une autre thèse en parallèle de celle-ci sur des aspects moléculaires (δD des *n*-alcanes, GDGT's, biomarqueurs moléculaires...) qui mettent en évidence de profonds changements hydrologiques et de températures à la transition Eocène-Oligocène (Julie Ghirardi, ISTO, non soutenue), en accord avec le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

1. La transition Eocène-Oligocène (~34 Ma)

La **grande tendance de refroidissement** entamée après l'EEO (Eocène inférieur) atteint son paroxysme à la transition Eocène-Oligocène. Cette transition marque une accélération brutale, entre 33,8 et 33,5 Ma, de ce refroidissement qui fait passer le système climatique d'un climat global type « greenhouse » vers un climat plus froid de type « icehouse » (**Figure VII.1** ; Katz *et al.*, 2008). Elle est caractérisée par une excursion positive des valeurs du $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques d'abord décrite par Kennett et Shackleton (1976), puis précisée par Lear *et al.* (2004), Coxall *et al.* (2005), Miller *et al.* (2008) comme survenant en deux étapes et plus, notées EOT-1, EOT-2, Oi-1 et Oi-1a (Katz *et al.*, 2008). Cette excursion a été interprétée comme reflétant la combinaison de la **dynamique de calottes glaciaires** continentales (essentiellement Antarctique) et du **refroidissement** des eaux océaniques (Miller *et al.*, 1987, 1991, 2008; Zachos, 2001; Katz *et al.*, 2008; Lear *et al.*, 2008; Wade *et al.*, 2012).

Deux mécanismes majeurs ont été suggérés comme cause du refroidissement. D'abord, une **baisse brutale de la $p\text{CO}_2$** a été enregistrée. Elle s'inscrit dans une tendance globale à la baisse de ~ 1500 ppm à l'Eocène à ~ 400 ppm aujourd'hui et a permis l'apparition des plantes en C_4 mieux adaptées à une faible $p\text{CO}_2$ (Pagani *et al.*, 2005). Ensuite, l'isolement thermique du continent Antarctique a permis la mise en place d'une calotte glaciaire permanente (Miller *et al.*, 1991; Lear *et al.*, 2008), menant à une baisse du niveau marin (Katz *et al.*, 2008).

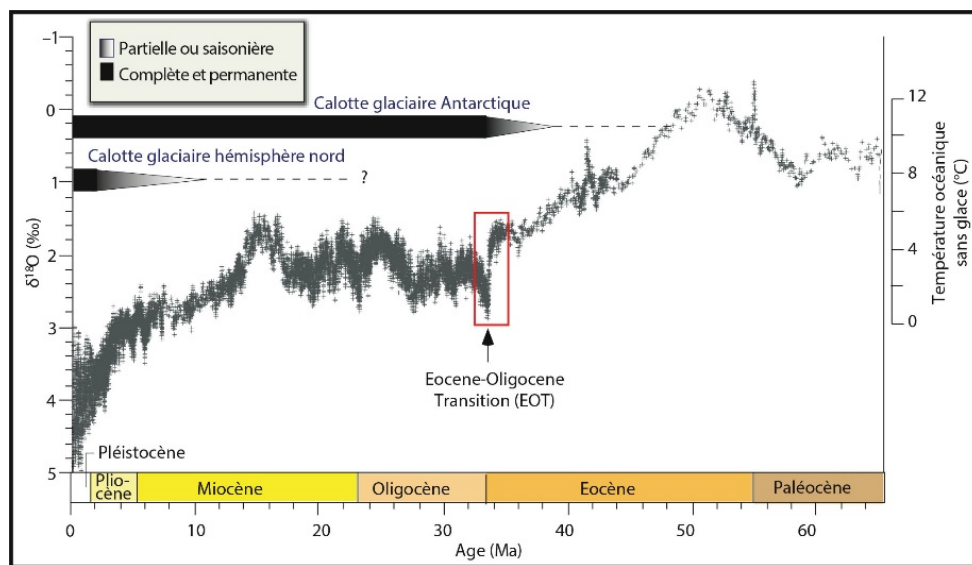


Figure VII.1 : Evolution des températures océaniques moyennes au cours du Cénozoïque calculées d'après les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ de foraminifères benthiques, focalisée sur la transition Eocène-Oligocène (cadre rouge). La chronologie de la mise en place des calottes glaciaires permanentes ou éphémères est également représentée (modifiée d'après Zachos *et al.* 2008).

Sur les continents, la réponse climatique n'est pas homogène (Mosbrugger *et al.*, 2005; Hren *et al.*, 2013). Une tendance à **l'aridification a été décrite en Amérique du Nord** à partir de la transition Eocène-Oligocène et tout au long de l'Oligocène (Sheldon et Retallack, 2004) accompagnée d'une forte saisonnalité (Zanazzi *et al.*, 2007; Wade *et al.*, 2012). A l'inverse, des **conditions plus humides ont été suggérées dans le Bassin du Hampshire en Europe** (Sheldon, 2009). Enfin, ces changements environnementaux drastiques et globaux sont vraisemblablement à l'origine d'une **extinction massive des invertébrés marins** (Haasl et Hansen, 1996; Ivany *et al.*, 2000) et d'un bouleversement dans l'évolution des vertébrés continentaux appelé « la grande coupure » (Stehlin, 1910; Costa *et al.*, 2011).

La transition Eocène-Oligocène présente donc des changements climatiques globaux important sur une échelle de temps moyenne de quelques 100 ka (*e. g.* Katz *et al.*, 2008). Il est alors intéressant de comparer le signal du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ aux tendances observées au refroidissement et à l'aridification, bien que les réponses au changement climatique dans les environnements continentaux soient hétérogènes (Sheldon, 2009). On peut notamment comparer les données de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ avec la minéralogie des argiles qui peuvent potentiellement indiquer des changements de conditions d'hydrolyse sur les continents (Chamley, 1989).

2. Zone d'étude et matériel utilisé

Une carotte prélevée dans le Bassin de Rennes en 2010 dans le cadre du projet CINERGY (BRGM et Université de Rennes 1) est à disposition. Le Bassin de Rennes se situe dans le Massif Armoricaïn et s'est formé à la faveur d'une grande phase extensive affectant l'Europe de l'Ouest à la fin de l'Eocène (**Figure VII.2 A et B**). Elle a également permis le développement de systèmes de rifts tels que les Limagnes ou le Fossé Rhénan (Esteoule-Choux *et al.*, 1988). Le Bassin de Rennes fait partie d'un ensemble de près de 40 bassins tertiaires qui parsèment le massif Armoricaïn et s'alignent sur un faisceau de failles orientées N150° (**Figure VII.2 B**). La carotte étudiée est issue d'un forage profond effectué par la société COFOR avec le BRGM et dévoile le contact du Bassin de Rennes avec le socle Briovérien à 404,91 m de profondeur. On peut distinguer 3 unités principales : 1) des carbonates du sommet jusqu'à 85 m, 2) des argiles couvrant 290 m et 3) une unité sablo-argileuse de 30 m avec un conglomérat à sa base (**Figure VII.2 C**; Bauer *et al.*, 2010; Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, soumis).

Les travaux de ce chapitre se concentrent sur les 290 m d'argiles datées du **Priabonien au Rupélien inférieur (Figure VII.2 C)**. Ces argiles comportent les formations des « argiles à

Mohria » et des « sapropels inférieurs », entre 375 m et 85 m, qui contiennent la transition Eocène-Oligocène (Bauer *et al.*, 2010; Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, soumis). La zone de transition entre l'Eocène et l'Oligocène a été estimée sur la base d'associations palynologiques, entre 205 m et 195 m (Bauer *et al.*, soumis). Elle a ensuite été précisée à ~202 m sur la base de la cyclostratigraphie et de la magnétostratigraphie (Boulila *et al.* in prep.).

La Formation à *Mohria*, entre 375 m et 195 m, montre une alternance entre des argiles laminées et massives pouvant contenir des traces de racines et dont la teneur en carbone organique peut être très élevée (COT>20 % ; **Figure VII.2 C** ; Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, soumis). **La Formation des sapropèles inférieurs**, entre 195 m et 85 m, se compose essentiellement d'argiles laminées puis d'argiles massives verdâtres (Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, soumis). La présence d'un banc de calcaire cristallin à rosettes fibroradiées d'une épaisseur de 60 cm, entre 159,5 m et 161,1 m, témoigne d'un paléosol (Saint-Marc, 2011). **Les formations argileuses** indiquent un milieu majoritairement lacustre avec la prépondérance de macrophytes (Nymphéacées, type lotus d'Inde) en ce qui concerne les argiles massives, et de végétaux purement terrestres (des feuillus) en ce qui concerne les argiles laminées (Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, submitted). Les argiles massives suggèreraient donc un environnement lacustre confiné avec des apports allochtones limités, alors que les argiles laminées suggèreraient un environnement ouvert dominé par des apports allochtones de débris de végétaux terrestres (Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, submitted). L'algue d'eau douce à saumâtre *Botryococcus braunii* est systématiquement associée aux argiles laminées ce qui atteste d'une certaine limpidité des eaux du lac, au contraire des niveaux à développement de nénuphars (lotus) qui assombrissent ces dernières et empêchent le développement d'algues photosynthétiques (Saint-Marc, 2011; Bauer *et al.*, soumis). Toutefois, des travaux menés en parallèle sur cette carotte attestent, par une approche moléculaire, d'une **prédominance de la matière organique issue des végétaux supérieurs terrestres** (Ghirardi *et al.*, 2013, 2014).

Les données polliniques ont mis en évidence un changement climatique progressif, d'un climat uniformément chaud et humide au Bartonien à une augmentation de la saisonnalité au Priabonien (Bauer *et al.*, soumis). Cette dernière est associée au développement de saisons plus sèches et plus fraîches en Europe (Mosbrugger *et al.*, 2005). Le refroidissement drastique et global enregistré à la transition Eocène-Oligocène (e. g. Zachos, 2001) est également enregistré à la même période dans la carotte du Bassin de Rennes par (i) l'apparition massive de pollens de pins (*Pinus*) et (ii) une diminution des proportions de kaolinite (de >80 % à ~40-50 %), associée à l'apparition de smectites (Salpin, 2013).

Les cortèges argileux semblant parfaitement refléter les conditions climatiques enregistrées dans les argiles (Salpin, 2013), ils ont été comparées au $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. C'est l'objet d'une publication soumise à *Terra Nova* en Juillet 2015 (En révision après réception des commentaires des reviewers le 29 septembre 2015).

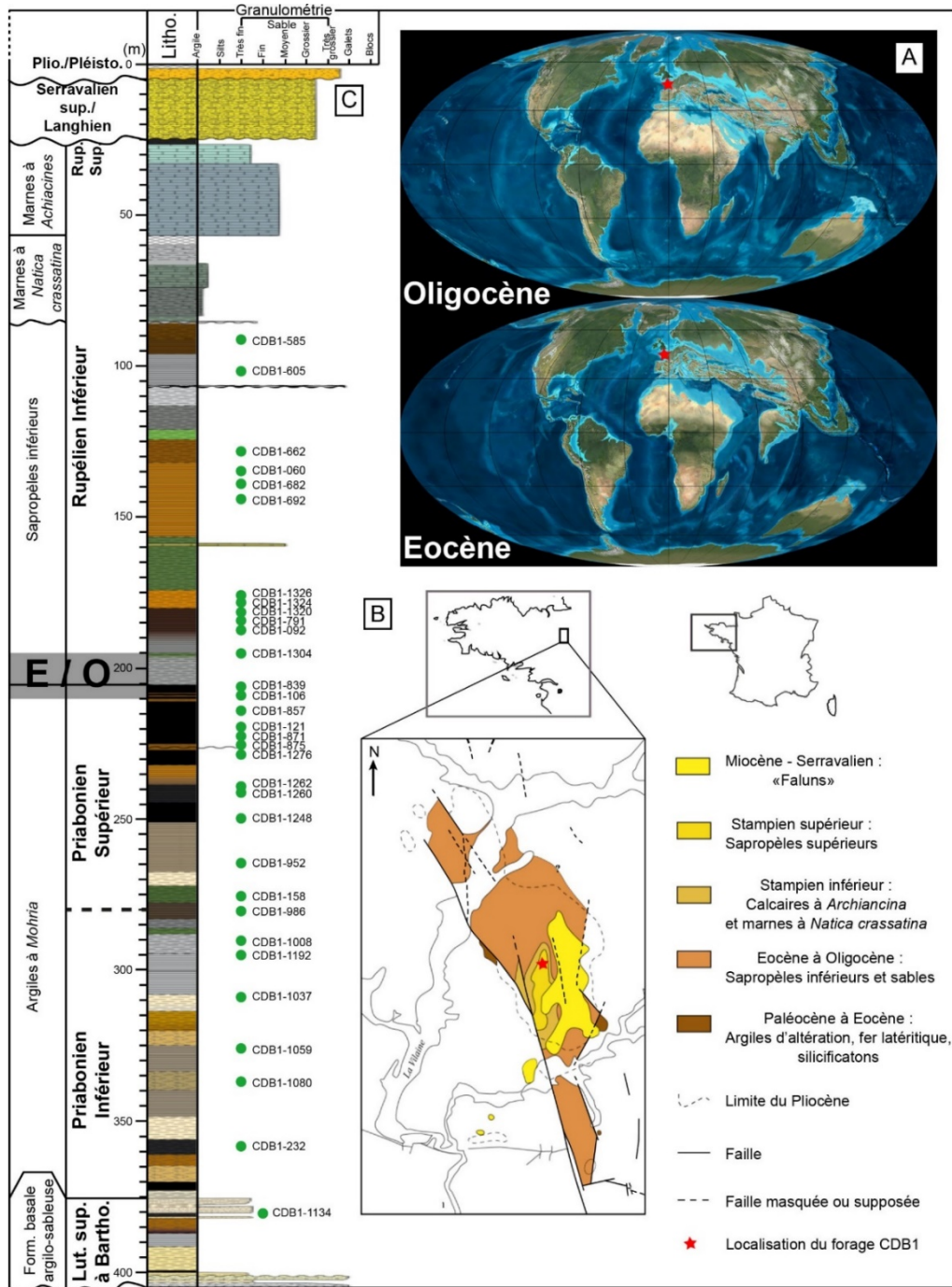


Figure VII.2 : A, cartes paléogéographiques de l'Eocène et de l'Oligocène (Blakey, 2014a, 2014b). B, Carte géologique des formations Cénozoïques du Bassin de Rennes (modifié d'après Thomas 1999; Saint-Marc 2011). C, Log sédimentaire du forage CDB1 avec échantillonnage pour les analyses du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (points verts sur le log ; modifié d'après Saint-Marc 2011). E/O, limite Eocène-Oligocène.

3. Stepwise paleoclimate change across the Eocene-Oligocene Transition recorded in continental NW Europe by mineralogical assemblages and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (Rennes Basin, France).

Romain Tramoy¹, Marie Salpin¹, Johann Schnyder¹, Alain Person¹, Mathieu Sebilo², Johan Yans³, Véronique Vaury², Jérôme Fozzani, J.¹, Hugues Bauer⁴

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institut des Sciences de la Terre de Paris (iSTeP), 4 place Jussieu 75005 Paris, France

²Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institute of Ecology and Environmental Sciences (IEES), 4 place Jussieu 75005 Paris, France

³Université de Namur, Department of Geology, NaGRIDD, 61 rue de Bruxelles, 5000 Namur, Belgium

⁴Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM), 3 av. Claude Guillemin, 45060 Orléans 5 Cedex2, France

Abstract

The study core CDB1 is a unique terrestrial record located in the Rennes Basin (Western France). Its well-preserved organic-rich lacustrine sediments encompass the Eocene-Oligocene Transition (EOT, ~34Ma), which is characterized by a drastic global cooling. Clay minerals, associated with the first organic nitrogen isotopes ($\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) record for this period, are used to reconstruct paleoclimate changes across this key interval. As suggested in worldwide marine environments and few continental records, a stepwise transition from warm/humid conditions in the Late Eocene to cooler/drier conditions in the Early Oligocene is confirmed. In addition, an episode of drier conditions in the late Early Priabonian and enhanced seasonality and/or humid/dry cycles in the Early Oligocene is suggested.

Keywords

Eocene, Oligocene, Organic nitrogen isotopes, Paleoclimate, Clay minerals

3.1. Introduction

The EOT is marked by a global drastic cooling (4~6 °C) that led the Earth climatic system to evolve from a “greenhouse” to an “icehouse” mode (Kennett and Shackleton, 1976; Zachos, 2001; Lear *et al.*, 2008). This cooling is well documented in worldwide marine environments using elemental and isotopic geochemistry (Zachos, 2001; Katz *et al.*, 2008; Lear *et al.*, 2008; Bohaty *et al.*, 2012; Wade *et al.*, 2012) and clay mineralogy (Ehrmann *et al.*, 1992). Many authors have suggested that this global cooling was associated with enhanced seasonality (Ivany *et al.*, 2000; Mosbrugger *et al.*, 2005; Eldrett *et al.*, 2009; Wade *et al.*, 2012; Hren *et al.*, 2013). However, less studies focused on continental settings (Cavagnetto and Anadón, 1996; Mosbrugger *et al.*, 2005; Dupont-Nivet *et al.*, 2007).

In North-West Europe, previous works have suggested humid/warm tropical conditions from the Ypresian to the Bartonian during which subtropical climate established, whereas the Oligocene was characterized by temperate climate (Ollivier-Pierre *et al.*, 1987, 1993). In order to complete and refine the continental record of the area during the EOT, the CDB1-core has been drilled in the Rennes Basin (Western France), in 2010. It consists of ~300 m of very well-preserved organic-rich lacustrine sediments, that encompass the Late Eocene to Oligocene series (Bauer *et al.*, 2010, Bauer *et al.* submitted; Ghirardi *et al.*, 2013, 2014).

Only few studies have successfully carried out bulk organic nitrogen isotopes as a paleoclimatic proxy in pre-Quaternary times (Storme *et al.*, 2012), while clay mineralogy is commonly used for paleoclimatic reconstructions (e. g. Chamley, 1989; Dera *et al.*, 2009; Morales *et al.*, 2013). In this paper, we present an original combination of clay minerals and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ records in order to reconstruct paleoclimates. This study highlights the potential of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ for paleoclimate reconstructions.

3.2. Geological settings

The NNW-SSE trending graben-type Rennes Basin (10km long; 2km width) is located east of the Armorican Massif along the Pont Péan fault structure (**Figure VII.3** ; Jaeger, 1967; Ollivier-Pierre *et al.*, 1993). Cenozoic basins of the Armorican Massif are related to the extension phase that affected Western Europe during the Upper Eocene and Oligocene (Esteoule-Choux *et al.*, 1988), leading to the initiation of large rift structures in France and Germany (Bergerat, 1987; Dèzes *et al.*, 2004).

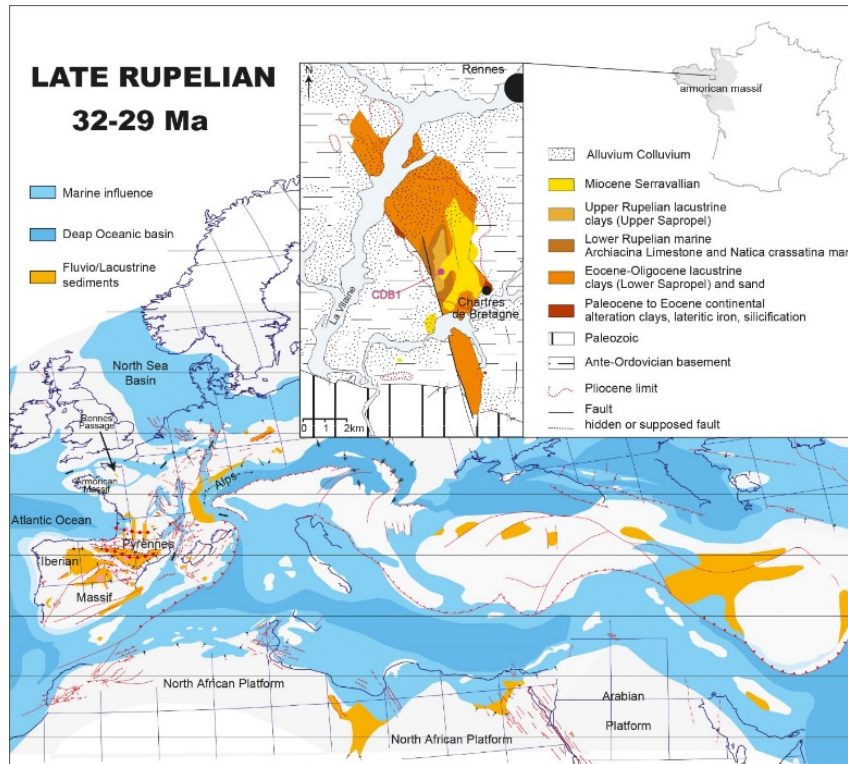


Figure VII.3 : Geological map of the Rennes Basin showing the Cenozoic formations and the position of the CDB1 borehole modified from Thomas (1999). Simplified paleogeography of the Late Rupelian is also represented (Meunlenkamp *et al.*, 2010).

In 2010, the CDB1 core was drilled under the guidance of the French Geological Survey (BRGM). The core was 675 m long including 270 m of Neoproterozoic folded sediments as the basement for the overlying 405 m of Cenozoic deposits (**Figure VII.4** **Figure VII.2**). The Cenozoic sediments consist of ~300 m of well-preserved organic-rich lacustrine sediments, mainly from terrestrial origin with swampy and algal/bacterial organic sources (Bauer *et al.*, 2010; Bauer *et al.* submitted; Ghirardi *et al.*, 2013, 2014). According to palynomorphs associations, the Eocene-Oligocene boundary was firstly identified around -195 m (Bauer *et al.*, 2010; Bauer *et al.* submitted), confirmed by magneto- and cyclostratigraphic analyses that positioned the boundary between -205 and -195 m (Dupont-Nivet *et al.*, 2013; Boulila *et al.* unpublished).

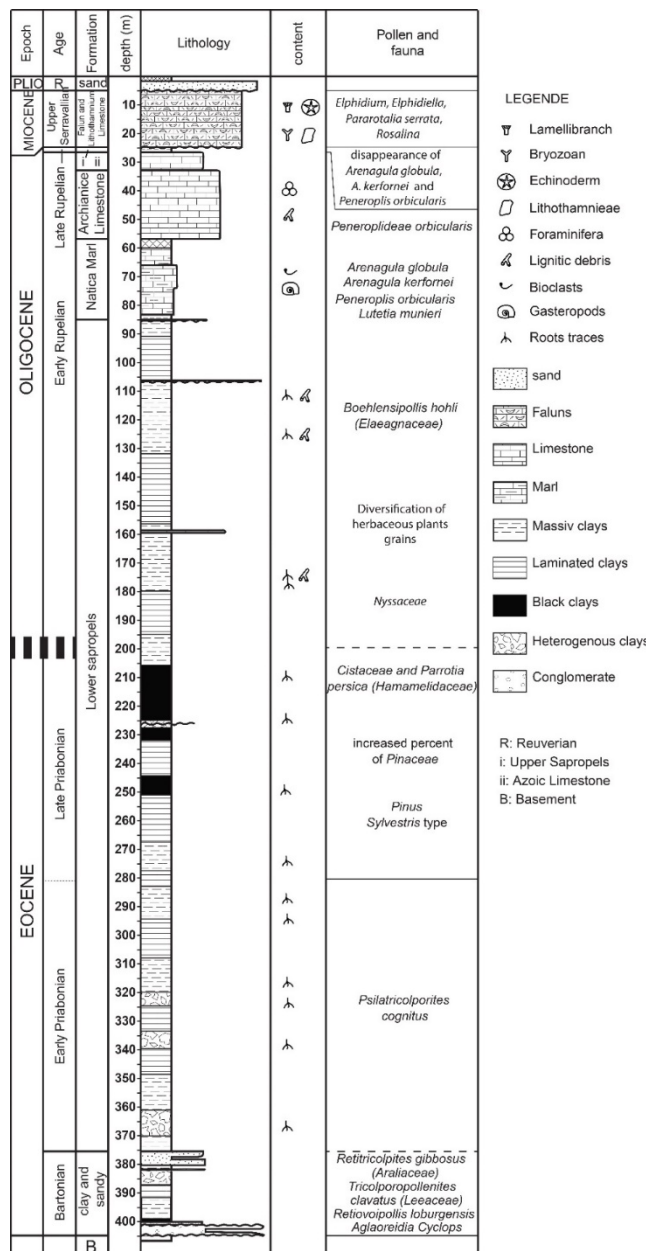


Figure VII.4 : Lithostratigraphy, age limits and palynological data of CDB1 from Bauer *et al.* 2010 and Bauer *et al.* submitted. E/O, Eocene Oligocene boundary between -205 and -195 m, based on magnetostratigraphy and palynomorphs association (Dupont-Nivet *et al.*, 2013; Bauer *et al.*, submitted; Boulila *et al.*, unpublished).

3.3. Methods

3.3.1. Mineralogy

Bulk mineralogy and clay mineral associations were identified by X-ray diffraction (XRD) using a Bruker D2 phaser X-ray powder diffractometer equipped with a LynxEye detector (CuK α radiation, $\lambda=1.54\text{\AA}$ and Ni filter). From -405 m to -66 m, bulk mineralogy was analyzed on 425 samples within Cenozoic deposits (resolution ~ 0.8 m), whereas clay minerals were analyzed on 244 samples (resolution ~ 1.30 m). Oriented mounts were prepared for clay minerals analyses and three X-ray diagrams per sample were performed following the analytical procedure described in Moore and Reynolds (1997). Semi-quantitative proportions of the identified minerals were obtained using MacDiff® 4.2.5 software.

3.3.2. Organic geochemistry

Total Organic Carbon (TOC) values, Hydrogen Index (HI) and Oxygen Index (OI) were determined by Rock-Eval pyrolysis (Espitalié *et al.*, 1985). For nitrogen isotopes, 32 samples were selected with TOC values ranging from 1.7 to 24.1%. Content of total nitrogen (N_{tot}) and inorganic nitrogen bound (N_{bnd}) in clay minerals, with their respective isotopic composition ($\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$) were determined for each sample following Silva and Bremner (1966) and Schubert and Calvert (2001). $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values were calculated by mass balance of $\% \text{N}_{\text{bnd}}$, $\% \text{N}_{\text{tot}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (Storme *et al.*, 2012).

Total and inorganic nitrogen content and isotopic composition of samples were determined by isotope-ratio Mass Spectrometry using a Thermo Scientific Delta V plus mass spectrometer connected to a ConFlo IV dilution system, coupled with a Flash 2000 analyzer for elemental analyses. The analytical accuracy and precision of the system were monitored using tyrosine ($\delta^{15}\text{N} = 10.01\text{‰}$) as internal laboratory standard, that was calibrated on international standards IAEA-N1 ($\delta^{15}\text{N} = 0.3\text{‰}$), IAEA-N2 ($\delta^{15}\text{N} = 20.1\text{‰}$) and IAEA-N3 ($\delta^{15}\text{N} = 4.5\text{‰}$), with an overall precision better than 0.3‰ above 40 μg of nitrogen and 0.6‰ below this amount. Replicate analyses were performed, with a mean standard deviation better than 0.2‰ for $\delta^{15}\text{N}$ values and better than 0.002% for the nitrogen content.

3.4. Results

3.4.1. Mineralogy

The mineralogy of rock samples mainly consisted in quartz (0–90%), clays (10–90%), and framboidal pyrite (0–10%). Clay fraction ($<2\mu\text{m}$) was mainly dominated by kaolinite (0–100 %, 65% on average), illite (0–100 %, 20% on average) and smectite (0–80%, 15% on average).

A major mineralogical and organic change was recorded at the EOT (**Figure VII.5**). The Eocene assemblage was characterized by moderate quartz proportions (0–70%, 30% on average), high kaolinite content among clay minerals (10-100%, 90% on average) and high organic content with TOC values up to 27% (5% on average). In contrast, the Oligocene sediments showed higher quartz content (5–80%, 40% on average) and the appearance of smectite among clay minerals (0–80%, 30% on average), associated with lower kaolinite content (0–100%, 55% on average) and lower TOC values (3% on average).

Remarkably, the proportion of quartz exhibited long-term cyclic variations, especially in the Oligocene, with wave length of ~ 50 m. Similar features were recorded in TOC values, associated with a general decrease of TOC values from the base toward the top of the core.

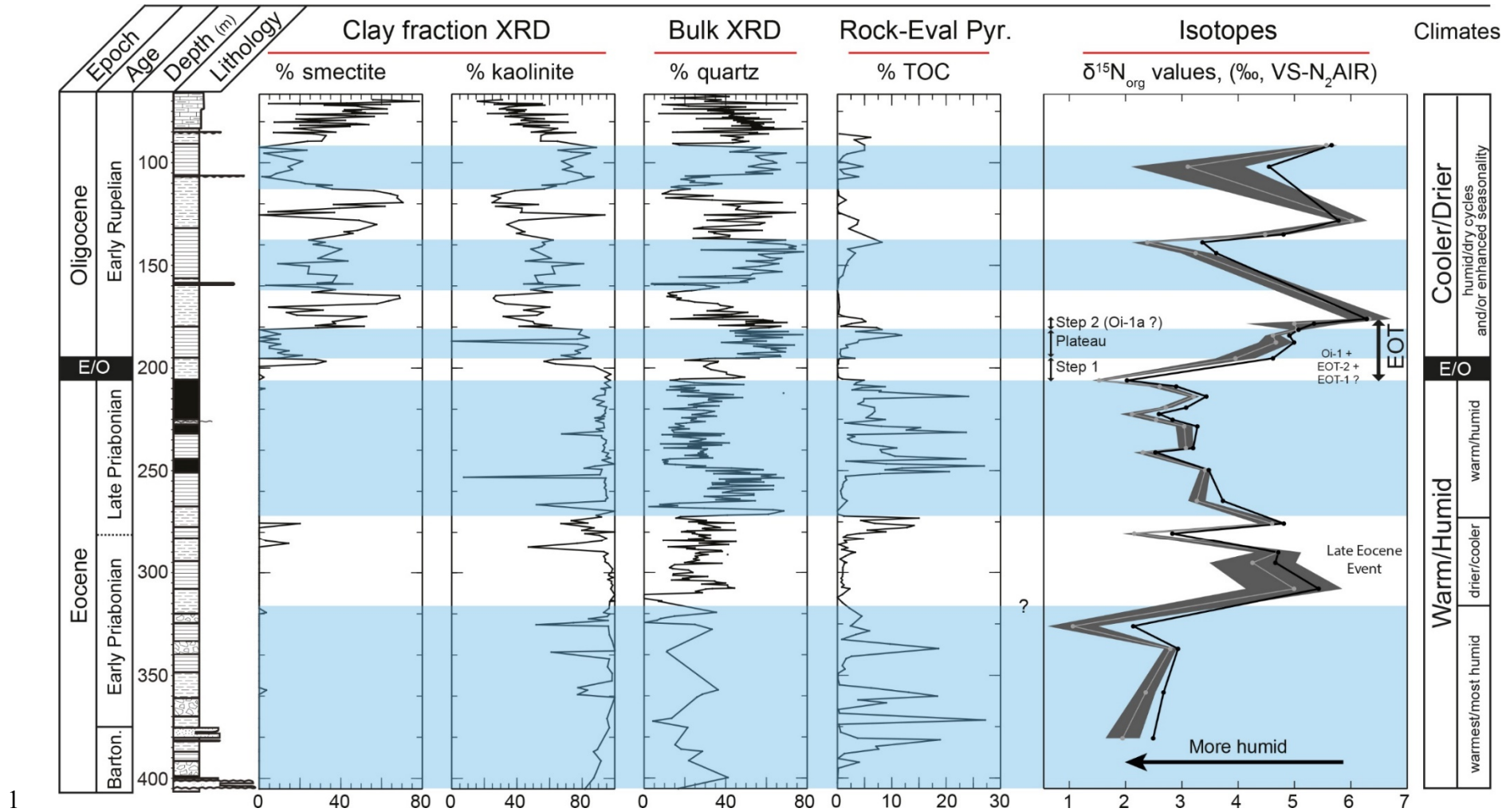
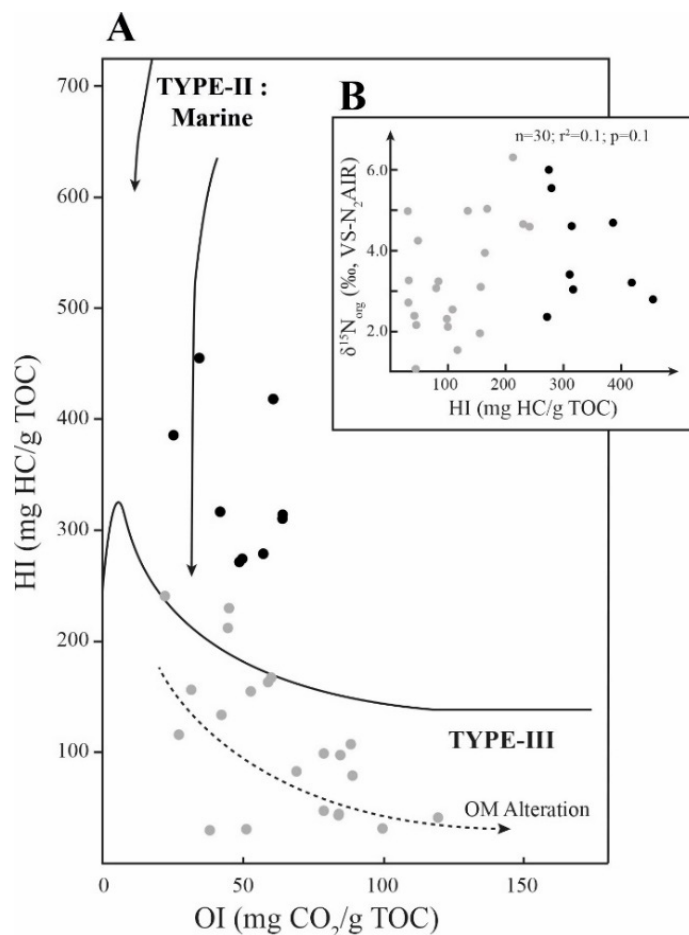


Figure VII.5 : High-resolution mineralogy and organic geochemistry of CDB1. The grey line and its envelope represent the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ and its associated error (see Table 1). The $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (black line) is clearly driven by the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Blue zones highlight periods of relative humidity. Barton. for Bartonian. Age limits were based on Bauer *et al.* (2010) and Bauer *et al.* (submitted).

5 **3.4.2. Organic geochemistry and isotopes ($\delta^{15}\text{N}$)**

6 The $\%N_{\text{tot}}$ ranged between 0.03% and 0.7% and the $\%N_{\text{bnd}}$ between 0.01 and 0.07%, the
 7 organic nitrogen corresponding to 32–95% of the total nitrogen (**Table VII.1**). The calculated
 8 $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values ranged from 1.1‰ to 6.3‰ (**Figure VII.5**). In a HI-OI diagram, most of the
 9 corresponding samples plot in a Type-III organic matter (**Figure VII.6**).

10



11

12 **Figure VII.6** : A, HI-OI diagram and B, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ vs HI values, showing
 13 no correlation whether in black (high HI) or grey points (low HI). High
 14 HI values suggest an algal-bacterial and/or macrophytes influence.

15

16 **Table VII.1:** Organic geochemistry of the CDB1 core. TOC, Total Organic Carbon; TN, Total Nitrogen; N_{bnd} ,
 17 Nitrogen bound in clay minerals that remained after KOB_r-KOH treatment; N_{org} , organic nitrogen; $\text{Fr}N_{\text{org}}$, the per
 18 cent organic nitrogen of the total nitrogen in a sample; $\Delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ and $\Delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$, error on the $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ and $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ values,
 19 respectively, based on the standard deviation of the isotopic values calculated with at least two replicates. ⁽¹⁾
 20 Samples measured on low nitrogen amount (<40 μg), the highest mean standard deviation was applied, based on
 21 tyrosines (internal laboratory standard) measured on similar amount (5 to 40 μg ; n=46) of nitrogen in 9 series. ⁽²⁾
 22 No available replicates for this sample, the mean standard deviation calculated on tyrosines (>40 μg ; n=87) was
 23 applied. ⁽³⁾ Simplified combining error of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ estimated with negligible errors on nitrogen contents
 24 following $\Delta^{15}\text{N}_{\text{org}} = \Delta^{15}\text{N}_{\text{tot}} + \Delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}} (1 - \text{Fr}N_{\text{org}}/100)$.

25 Table VII.1

Samples	Position (m)	TOC (%)	TN (%)	N _{bnd} (%)	N _{org} (%)	FrN _{org} (%)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (‰)	$\Delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ (1 σ)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ (‰)	$\Delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ (1 σ)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (‰)	$\Delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ³ (1 σ)
CDB1-585	91.4	5.0	0.15	0.04	0.11	73	5.7	0.04	5.9	0.60 ¹	5.6	0.20
CDB1-605	101.9	4.7	0.05	0.03	0.02	32	4.5	0.60 ¹	5.2	0.60 ¹	3.1	1.01
CDB1-662	128.2	3.9	0.14	0.05	0.09	64	5.8	0.06	5.4	0.60 ¹	6.0	0.28
CDB1-060	134.9	4.4	0.12	0.05	0.07	59	4.8	0.17	5.3	0.60 ¹	4.5	0.42
CDB1-682	138.8	8.2	0.09	0.03	0.06	66	3.4	0.07	5.2	0.60 ¹	2.4	0.28
CDB1-692	144.0	3.3	0.13	0.03	0.10	78	3.6	0.14	4.9	0.60 ¹	3.2	0.27
CDB1-1326	176.1	4.5	0.18	0.04	0.14	77	6.3	0.25	6.1	0.60 ¹	6.3	0.39
CDB1-1324	178.4	2.6	0.08	0.03	0.05	57	5.3	0.60 ¹	5.8	0.60 ¹	5.0	0.86
CDB1-1320	181.3	8.2	0.37	0.04	0.33	88	5.1	0.06	5.3	0.60 ¹	5.0	0.13
CDB1-791	184.1	11.8	0.19	0.04	0.15	79	4.9	0.01	6.0	0.60 ¹	4.6	0.13
CDB1-092	187.5	3.7	0.13	0.04	0.10	73	5.0	0.14	5.8	0.60 ¹	4.7	0.30
CDB1-1304	195.2	3.2	0.10	0.03	0.07	69	4.6	0.16	6.1	0.60 ¹	3.9	0.35
CDB1-839	206.0	4.9	0.13	0.02	0.11	82	2.0	0.02	4.2	0.60 ¹	1.5	0.13
CDB1-106	208.9	7.0	0.27	0.04	0.23	87	2.9	0.11	4.8	0.60 ¹	2.6	0.19
CDB1-857	213.9	24.1	0.69	0.07	0.61	90	3.4	0.04	5.4	0.60 ¹	3.2	0.10
CDB1-121	219.3	6.8	0.25	0.03	0.22	87	3.1	0.04	5.5	0.60 ¹	2.7	0.12
CDB1-871	222.4	6.4	0.21	0.03	0.18	84	2.6	0.11	5.2	0.60 ¹	2.1	0.21
CDB1-875	225.2	8.8	0.21	0.04	0.17	82	2.8	0.09	4.2	0.60 ¹	2.5	0.19
CDB1-1276	228.4	8.1	0.24	0.03	0.21	87	3.3	0.07	4.8	0.60 ¹	3.0	0.15
CDB1-1262	239.0	10.9	0.34	0.03	0.31	91	3.2	0.08	4.4	0.60 ¹	3.1	0.13
CDB1-1260	241.0	8.2	0.26	0.03	0.23	90	2.5	0.10	4.4	0.60 ¹	2.3	0.16
CDB1-1248	249.7	8.8	0.26	0.01	0.24	95	3.5	0.07	4.8	0.60 ¹	3.4	0.09
CDB1-952	264.7	1.8	0.08	0.02	0.06	79	3.7	0.03	5.5	0.60 ¹	3.3	0.16
CDB1-158	275.7	6.9	0.26	0.03	0.23	87	4.8	0.17	6.2	0.60 ¹	4.6	0.25
CDB1-986	280.6	4.1	0.14	0.04	0.10	73	2.8	0.04	4.6	0.60 ¹	2.2	0.21
CDB1-1008	290.2	3.3	0.10	0.02	0.08	82	4.7	0.31	4.7	0.60 ¹	4.7	0.42
CDB1-1192	295.2	1.7	0.07	0.02	0.05	72	4.7	0.60 ¹	5.7	0.60 ¹	4.3	0.77
CDB1-1037	307.9	2.3	0.03	0.01	0.02	57	5.4	0.60 ¹	6.0	0.60 ¹	5.0	0.86
CDB1-1059	326.0	2.4	0.09	0.02	0.07	75	2.1	0.30 ²	5.4	0.60 ¹	1.1	0.45
CDB1-1080	337.0	18.6	0.39	0.02	0.37	94	2.9	0.06	5.2	0.89	2.8	0.11
CDB1-232	358.3	13.1	0.32	0.05	0.27	84	2.7	0.08	4.3	0.60 ¹	2.4	0.17
CDB1-1134	380.6	3.7	0.11	0.02	0.09	81	2.5	0.19	4.8	0.60 ¹	1.9	0.30
Average		6.7	0.19	0.03	0.16	77	2.9		5.2		3.5	

3.5. Discussion

Clay minerals and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values most likely reflect a primary signal as burial did not exceed 500 m (Bauer *et al.*, 2010; Bauer *et al.* submitted) and no significant correlation ($n=32$; $p<0.01$) exists between $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values and TOC nor TN values, suggesting a relative independence between the isotopic composition and the organic content.

3.5.1. Long-term paleoclimate evolution

Kaolinite results generally from active hydrolysis and ion leaching by chemical weathering in humid/warm conditions, whereas smectite often results from parent rock alteration in poor drained environment under lower hydrolyzing conditions. Smectite could also be related to the development of confined hydromorphic soils in the catchment area and/or enhanced seasonality (Chamley, 1989; Wright *et al.*, 2000; Colombié *et al.*, 2014).

Dominant kaolinite during the Eocene thus suggests humid/warm conditions, whereas drier/cooler conditions during the Oligocene (Zachos, 2001; Sheldon, 2009) are confirmed from the strong decrease in kaolinite content and the appearance of smectite (**Figure VII.5**). Major mineralogical changes are a common signature of the EOT, as reported from Oregon (Kautz, 2002), the Antarctic Ocean (Ehrmann *et al.*, 1992) or the Tibet Plateau (Zhang and Guo, 2014), suggesting a transition from chemical-dominated to physical-dominated weathering at the EOT, which is in good agreement with the mineralogical record in CDB1.

The major mineralogical change occurred between -202 and -197 m, within the Eocene Oligocene boundary interval (-205 to -195m; Figure 3). In the same interval, TOC values decreased drastically and remained low in the Oligocene as compared to the Eocene. This further supports more humid/warm conditions during the Eocene that favored productivity and/or preservation of the organic matter, whereas those favorable conditions declined during the Oligocene. However, no significant change occurred in the framboidal pyrite content (not shown) – indicative of dysoxic/anoxic conditions – between the Eocene and the Oligocene, suggesting that lacustrine/swampy paleoproductivity was the main factor driving the organic matter accumulation.

Leaching processes induced by humid conditions could also explained the low $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values recorded prior to the EOT (**Figure VII.5**) as $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values are negatively correlated with precipitations (Amundson *et al.*, 2003; Swap *et al.*, 2004; Liu and Wang, 2008, 2010). In

contrast, the increase of $>6\%$ of the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values across the EOT suggest a ^{15}N -enrichment of the plant/soil system by gas emission and low N-recycling in water-limited environments (Handley *et al.*, 1999; Swap *et al.*, 2004; Liu and Wang, 2008), which is in agreement with the establishment of drier conditions in the Early Oligocene. Amundson *et al.* (2003) also suggested that $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values are positively correlated with temperatures. To this respect, increasing $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values across the EOT would have suggested warming conditions, which is not consistent with the global cooling recorded worldwide (Zachos, 2001; Mosbrugger *et al.*, 2005; Bohaty *et al.*, 2012; Wade *et al.*, 2012; Hren *et al.*, 2013). Thus, we propose that in our case, water-availability rather than temperatures, are the dominant environmental factor controlling $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values as suggested by Liu and Wang (2008). Consequently, decreasing temperatures during the EOT were probably associated with drier conditions.

Organic sources may have influenced $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values either by *in situ* primary production or N_2 -fixing organisms (Hollander *et al.*, 1993; Hodell and Schelske, 1998; Paris *et al.*, 2010). Even though a contribution of algal-bacterial and/or macrophytes material is suggested by relatively high HI (**Figure VII.6 A**), their influence on $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values is thought to be minimal as HI and $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values were not correlated, even when separating low and high HI values (**Figure VII.6 B**). Thus, a climatic control on $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values is more likely.

3.5.2. A stepwise Eocene-Oligocene Transition

In CDB1, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values, kaolinite and smectite content show a two-step evolution towards drier conditions designated as step 1 and step 2 (Step 1 from -206 to -195 m; Step 2 from -181 to -176 m) and separated by a plateau (Figure 3). The overall evolution from -206 to -176 m constitutes the EOT in CDB1. Several studies in marine environments described a stepwise EOT of ~ 300 kyr (Coxall *et al.*, 2005; Bohaty *et al.*, 2012), even extended up to ~ 800 kyr if including EOT-1, EOT-2, Oi-1 and Oi-1a events (Katz *et al.*, 2008). The Oi-1a event occurred 500 kyr after Oi-1 at the C13n/C12r Chron transition and was interpreted as an eustatic lowering induced by ice-volume growth and associated with a ~ 2 °C cooling (Katz *et al.*, 2008). In CDB1, step 1 and 2 are both marked by a change from organic-rich to massive, organic-poor clay, with additional roots development, either highlighting basin filling or water base-level drops that might correspond to the several sea-level falls identified in the marine realms between EOT-1 and Oi-1a (Katz *et al.*, 2008). Sea level drops would therefore be a likely mechanism for reduced moisture input that triggered drier conditions in the Early Oligocene.

However, the exact timing of those steps is unknown in CDB1 and the estimation of duration remains essential to elaborate close correlations between marine and terrestrial records.

3.5.3. Short-term paleoclimate evolution

Unlike the clay assemblages, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values were highly variable prior to the EOT. They increased from $2.0 \pm 0.7\text{‰}$ during the Bartonian/Earliest Priabonian to $4.1 \pm 1.1\text{‰}$ in the late Early Priabonian (Figure 3), suggesting drier conditions. Similarly, palynomorph assemblages (Bauer *et al.*, submitted), reconstructed temperatures and precipitations from branched Glycerol Dialkyl Glycerol Tetraethers (brGDGT's) and δD of *n*-alkanes, respectively, showed a drier/cooler episode during the same period (Ghirardi *et al.*, 2014). This latter is associated with a low organic matter accumulation interval, suggesting decreasing lacustrine productivity and probably diminished vegetation cover in the catchment. Among several cooler/drier episodes identified during the Late Eocene (Cavagnetto and Anadón, 1996; Vonhof *et al.*, 2000; Katz *et al.*, 2008), regional aridification of global significance in Asian interior dated as Early Priabonian (Abels *et al.*, 2011) might be linked to the episode identified in CDB1.

Lower $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values ($2.7 \pm 0.6\text{‰}$) were recorded in the Late Priabonian, than in the late Early Priabonian ($4.1 \pm 1.1\text{‰}$), suggesting more humid conditions until the Eocene-Oligocene boundary (Figure 3). Similarly, brGDGT's and δD of *n*-alkanes indicated more humid conditions in the same period, associated with higher temperatures (Ghirardi *et al.*, 2014). Again, $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values are thought to represent water-availability rather than temperatures as low $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values were recorded under warm/humid conditions. Higher temperatures and more humid conditions were probably more suitable for organic matter accumulation in the lacustrine system, as recorded by an organic-rich interval in the Late-Priabonian.

In the Early Rupelian, the highest $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values, the decrease in kaolinite content and the appearance of smectite-rich sediments point to drier/cooler conditions. Such conditions are supported by the development of xerophytic-like plants (Bauer *et al.*, submitted), the δD of *n*-alkanes and brGDGT's (Ghirardi *et al.*, 2014). In addition to the appearance of smectite, the alternating negative/positive excursions recorded by the $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ also suggest enhanced seasonality as reported worldwide (Mosbrugger *et al.*, 2005; Gale *et al.*, 2006; Eldrett *et al.*, 2009; Wade *et al.*, 2012; Hren *et al.*, 2013) and/or humid/dry cycles (Storme *et al.*, 2012). Enhanced seasonality and humid/dry cycles are supported locally by (i) palynomorph assemblages (Bauer *et al.*, submitted), (ii) the high variation of kaolinite, negatively correlated

with smectite, and (iii) pulses of siliciclastic sediments (recorded by quartz content) – probably favored by enhanced erosion in a context of decreasing water-base level (Miller *et al.*, 2008) and episodically accelerated water cycle – associated with pulses of kaolinite and TOC. As observed during the Eocene, the development of organic productivity in the lacustrine system during the Early Oligocene could be linked to moderately more humid/warmer intervals, albeit occurring in a globally cooling/drying general trend.

3.6. Conclusion

The CDB1 core constitutes a rare succession of high resolution, well-preserved terrestrial record that encompasses the EOT. A major mineralogical change and a drastic increase of $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ values occurred at the EOT indicating the transition from warm/humid conditions in the Eocene to cooler/drier conditions in the Oligocene. This transition is stepwise and might record the paleoclimatic events identified in the marine environment between EOT-1 and Oi-1a.

The initiation of the climatic degradation was recorded during the late Early Priabonian (prior to the EOT). During the Early Rupelian, humid/dry cycles and/or enhanced seasonality are suggested, as previously reported in both marine and terrestrial environments. Paleoproductivity pattern in the lacustrine/swampy system fit well the climatic changes, enhanced productivity being in tune with warmer/more humid conditions.

However, the exact duration of recorded events remains unknown, although it is essential to elaborate close correlations between marine and terrestrial environments.

3.7. Acknowledgments

We are grateful to the CINERGY project and team (BRGM and Rennes 1 University) which provided the material for this study. The financial support for the CDB1 drilling came from local and regional authorities (CG35, Région Bretagne, Métropole Rennes, Chartres-de-Bretagne city council), national contributors (Ademe, AELB, Préfecture de Bretagne) and water resource agencies (IAV, SMPBR, SMG35). G. Rochez is particularly acknowledged for technical support.

4. Commentaires

Les variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à la transition Eocène-Oligocène sont en parfait accord avec les changements minéralogiques majeurs enregistrés à la même période. De plus, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ semble retracer des changements climatiques plus fins, suggérés par ailleurs par le δD des *n*-alcane et les GDGT's (Ghirardi *et al.*, 2013, 2014). Notamment, des conditions plus sèches sont proposées à la fin du Priabonien inférieur et l'hypothèse d'une forte saisonnalité et/ou de la mise en place de cycles humides/secs est avancée au début de l'Oligocène. Enfin, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ sont clairement contrôlées par les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (**Figure VII.5**), en dépit de valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ sensiblement différentes (**Figure VII.7**). Ceci est en accord avec la proportion prédominante d'azote organique dans les échantillons (77% en moyenne).

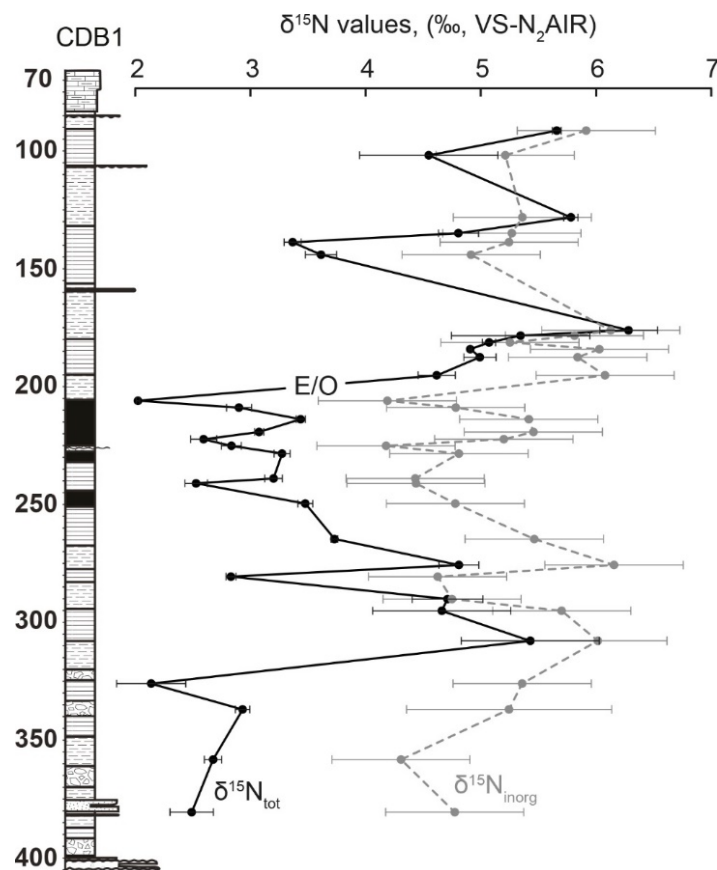


Figure VII.7 : Valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ le long de la carotte du Bassin de Rennes. Les barres d'erreurs sont également représentées.

Par ailleurs, il n'existe **aucune corrélation significative** entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et le rapport kaolinite/(chlorite + illite), que ce soit à l'Eocène ou à l'Oligocène (**Figure VII.8**). Plusieurs raisons peuvent être évoquées pour expliquer cela : (i) le nombre de point est assez limité pour chaque période avec 12 et 18 points pour l'Oligocène et l'Eocène, respectivement, (ii) les fluctuations climatiques, indépendamment dans chaque étage, sont mineures comparées au changement climatique majeur à la transition Eocène-Oligocène, ce qui suggère que la réponse des deux proxys n'est pas équivalente. Par exemple, la baisse d'humidité au Priabonien indiquée à la fin du Priabonien inférieure par l'augmentation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, ne correspond pas à des variations significatives dans les cortèges argileux.

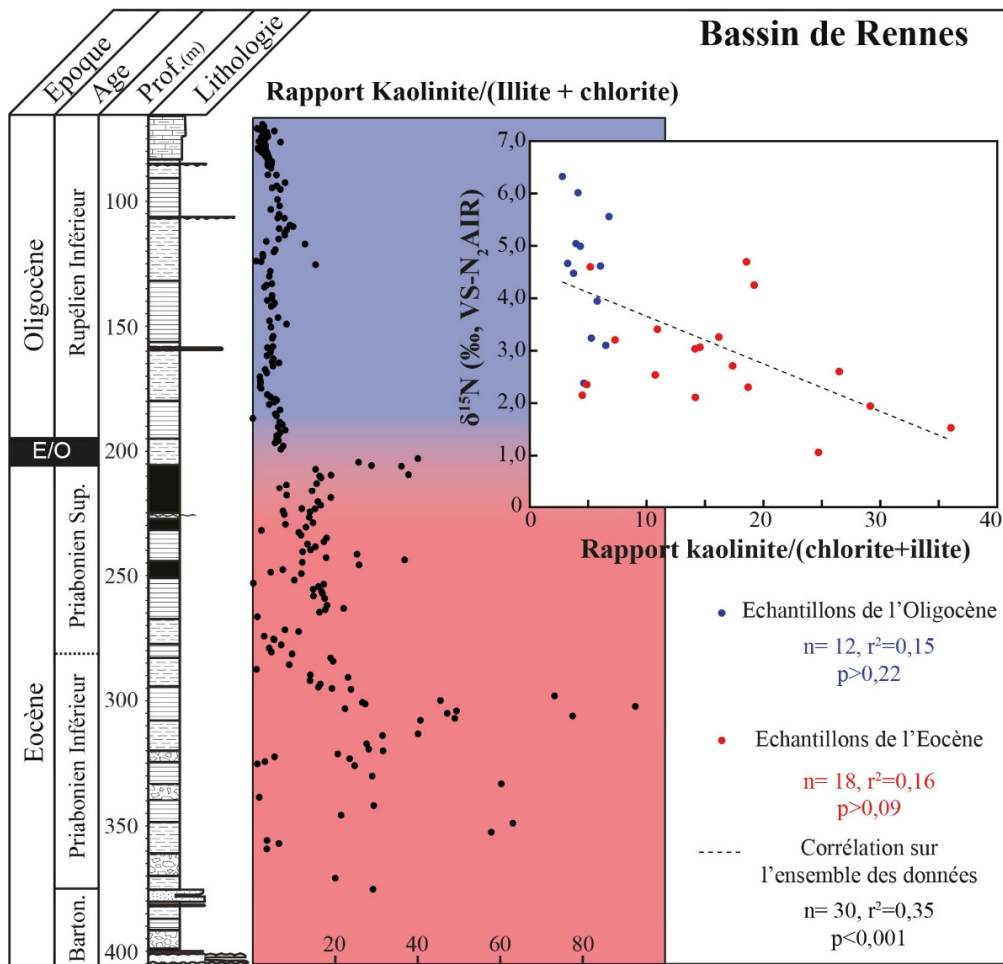


Figure VII.8 : Evolution du rapport kaolinite/(chlorite + illite) en fonction de la profondeur et corrélation avec les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Les points pour lesquels il y a une valeur de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ne correspondent pas forcément au niveau stratigraphique exact d'où est tirée une valeur du rapport kaolinite/(chlorite + illite). Dans ce cas, une valeur moyenne du rapport kaolinite/(chlorite + illite) est calculée avec les niveaux su- et sous-jacent les plus proches. Barton., Bartonien.

Par contre, sur l'ensemble des données, il existe bien une **corrélation négative significative** entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et le rapport kaolinite/(chlorite + illite) (**Figure VII.8**), comme sur une partie de la coupe de Faddeevsky à l'Eocène inférieur. Cette corrélation significative suggère qu'à grande échelle, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a retracé l'évolution générale du climat, ce qui contraste avec le caractère local habituellement attribué aux variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (e. g. Amundson *et al.*, 2003).

Conclusion du Chapitre VII

Plusieurs conclusions majeures peuvent être tirées de ce Chapitre :

- Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ sont contrôlées par celles de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ n'ont que peu d'influence en raison de la faible proportion de N_{inorg} .
- Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ enregistrent clairement une baisse de l'humidité à la transition Eocène-Oligocène, en accord avec les minéraux argileux. L'amplitude de l'excursion positive du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (~5‰) est par ailleurs comparable à la plus grosse excursion du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ enregistrée au Paléocène-Eocène (7 ‰ ; Storme *et al.*, 2012).
- La température n'est pas un facteur de contrôle des valeurs du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à la transition Eocène-Oligocène. Des valeurs de températures annuelles moyennes acquises par J. Ghirardi (ISTO, GDGTs non publiées) confirment localement un refroidissement important au sein du Bassin de Rennes à la transition Eocène-Oligocène.
- Sur l'ensemble des points, une corrélation significative existe entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et celles du rapport kaolinite/(chlorite + illite). Cela appuie l'idée que la disponibilité en eau est un facteur prépondérant pour les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Chapitre VIII : Limites méthodologiques et analytiques du

$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$

Dans ce chapitre sont détaillées les difficultés méthodologiques et analytiques rencontrées lors de la mesure des isotopes de l'azote. Des hypothèses sur les origines de ces difficultés sont proposées et quelques solutions et perspectives sont envisagées.

- En premier lieu, des problèmes méthodologiques nouveaux, par rapport aux premiers travaux de Storme (2013), ont été rencontrés. Ils sont principalement liés à la nature des échantillons analysés, très riches en matière organique, qui rendent discutable l'efficacité du traitement KOH-KBr utilisé pour éliminer l'azote organique des échantillons.
- Le bilan de masse, utilisé pour calculer la valeur de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, est également discuté car la mesure de quatre variables ($\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$, $\%N_{\text{tot}}$ et $\%N_{\text{bnd}}$) pour en calculer deux autres ($\%N_{\text{org}}$, puis $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) peut être la source d'une erreur importante.
- La nature des échantillons a également engendré des problèmes analytiques : fortes concentrations en carbone organique et/ou faibles concentrations en azote.
- Une méthode alternative d'acquisition des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ est suggérée, basée sur un rapport technique d'IsoPrime©. Elle pourrait permettre d'augmenter la sensibilité du spectromètre de masse.
- Enfin, une autre approche est discutée, en changeant de perspective méthodologique. Il s'agirait alors d'utiliser d'autres protocoles existants pour éliminer la matrice minérale d'un échantillon au lieu de supprimer l'azote organique pour ensuite recalculer sa valeur isotopique.

1. Limites méthodologiques

1.1. Le traitement KOH-KBr

Dans cette thèse, l'étude du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ repose sur un traitement spécifique des échantillons, développé par Jean Yves Storme et Gaëtan Rochez à Namur, Belgique, sous la direction de Johan Yans et sur la base de protocoles expérimentaux développés par Schubert et Calvert (2001) et Silva et Bremner (1966). Comme décrit dans le **Chapitre III.**, cette approche vise à éliminer l'azote organique d'un aliquote afin de mesurer la teneur en azote inorganique et sa valeur isotopique, puis de retrouver par un bilan de masse la valeur isotopique de l'azote organique. Dans ce contexte, les variables résultantes de l'échantillon traité ($\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ et $\%N_{\text{bnd}}$) sont liées à **l'efficacité du traitement KOH-KBr**. Si le traitement n'arrive pas à éliminer l'ensemble de l'azote organique, alors la teneur en azote inorganique sera surestimée et sa valeur isotopique influencée par la présence d'azote organique.

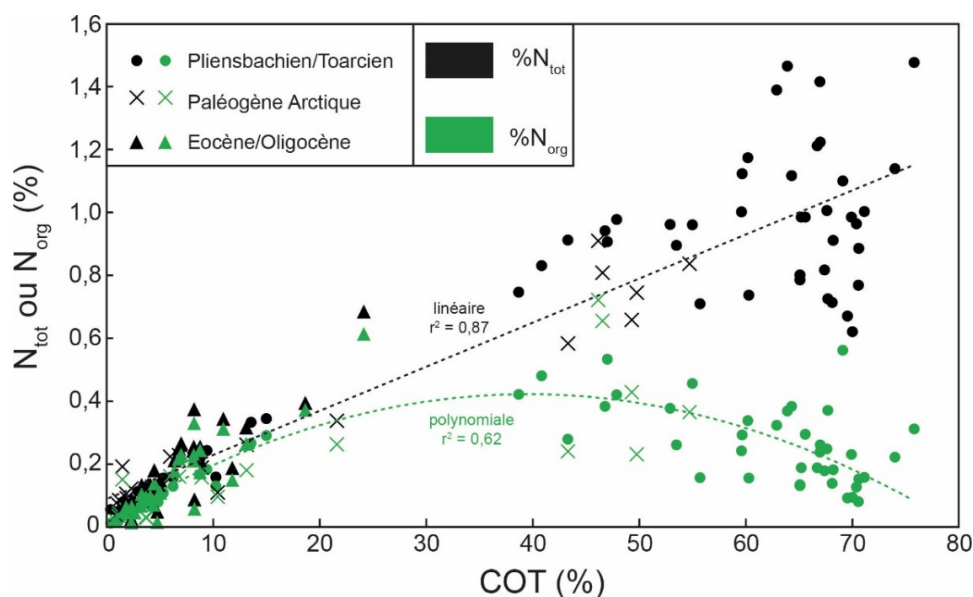


Figure VIII.1 : Diagramme COT vs $\%N_{\text{tot}}$ et $\%N_{\text{org}}$ sur les trois exemples d'étude, montrant une baisse de la teneur en azote organique estimée à partir de 40% de COT. Il en résulte une relation linéaire entre COT et N_{tot} et polynomiale entre COT et N_{org} .

Ce problème méthodologique est d'abord apparu dans l'étude paléoclimatique du Pliensbachien-Toarcien de Taskomirsay, puis a été suggéré dans quelques échantillons du Paléogène, où les lignites présentaient une teneur en azote organique curieusement faibles (**Figure VIII.1**). En revanche, les plus faibles valeurs de COT pour les échantillons de l'Eocène-Oligocène n'ont pas révélé ce type de problème (**Figure VIII.1**).

Dès lors, seulement deux hypothèses peuvent expliquer les relations observées : (i) la teneur en azote organique diminue effectivement avec l'augmentation du carbone organique, ou (ii) le traitement KOH-KBr n'élimine pas l'ensemble de l'azote organique dans les échantillons riches en matière organique.

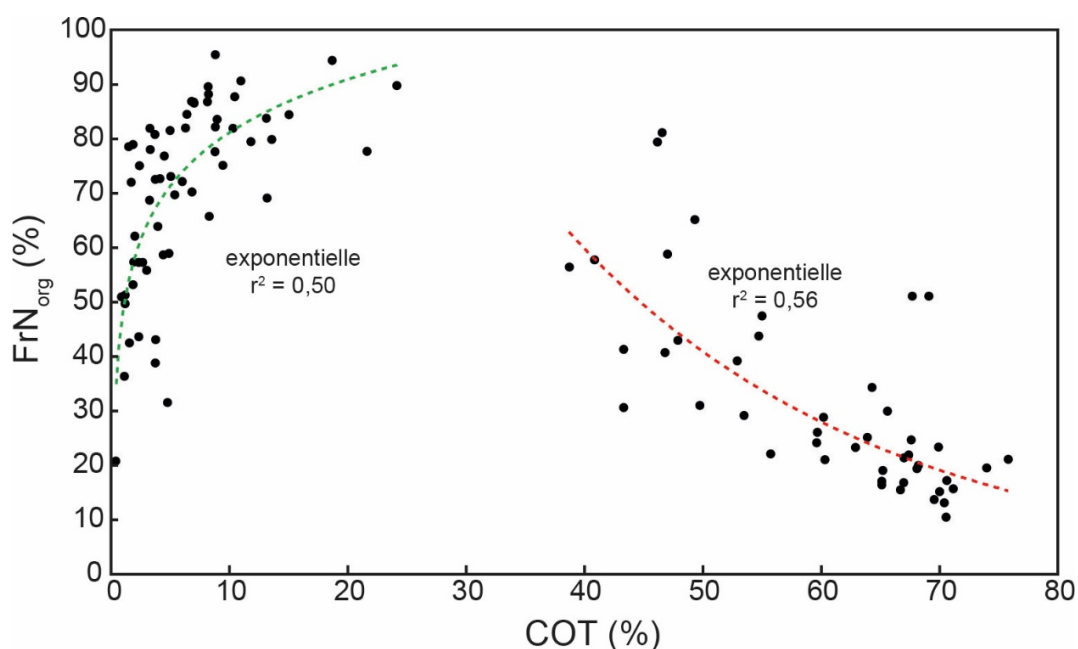


Figure VIII.2 : Diagramme COT vs FrN_{org} , où FrN_{org} est la proportion d'azote organique par rapport à l'azote total d'un échantillon. L'ensemble des échantillons sur les trois exemples d'étude est représenté. Les deux ensembles de données sont caractérisés par des relations exponentielles opposées où la limite entre les deux ensembles se trouve entre 25% et 40% de COT.

La première hypothèse semble incompatible avec la nature des échantillons qui présentent un pourcentage élevé de carbone organique, car ces échantillons (e. g. les lignites) sont quasiment essentiellement composés de matière organique (Tissot et Welte, 1984). Seuls quelques traces de nitrates peuvent être trouvées (Painter *et al.*, 1980). De plus, sur l'ensemble des échantillons, la proportion d'azote organique (FrN_{org}) augmente de manière exponentielle entre 0 et 25% de COT

(**Figure VIII.2**), ce qui suggère que plus le COT d'un échantillon est élevé, moins on y trouve d'azote inorganique. A partir de $\sim 40\%$ de COT, le contraire est observé avec une diminution exponentielle de FrN_{org} , ce qui est tout à fait incompatible avec la tendance observée dans les échantillons moins riches (**Figure VIII.2**) et l'absence d'argiles dans les lignites.

L'explication la plus rationnelle de la contradiction présentée ci-dessus est alors une diminution de l'efficacité du traitement KOH-KBr visant à éliminer l'azote organique. L'analyse au LECO post-traitement KOH-KBr d'une partie des échantillons de chaque coupe supporte également cette idée (**Figure VIII.3**). Après le traitement au KOH-KBr, la proportion de carbone organique éliminée devrait en effet tendre vers 100 %. C'est le cas pour les échantillons les moins riches en matière organique ($< 20\%$), mais pas pour les échantillons les plus riches ($> 40\%$; **Figure VIII.3**).

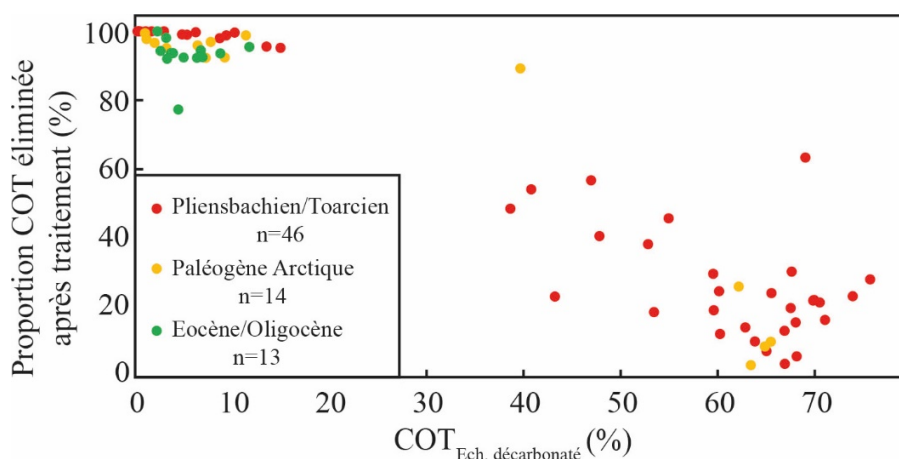


Figure VIII.3 : Proportion de COT éliminée après traitement au KOH-KBr en fonction du COT avant traitement ($\text{COT}_{\text{Ech. décarbonaté}}$).

Le protocole d'élimination de l'azote organique a été mis au point sur des échantillons de sols contemporains avec des COT n'excédant pas 20% et a montré une efficacité supérieure à 98% lors de l'élimination de l'azote organique (Silva et Bremner, 1966). Puis, il a notamment été appliqué sur des sédiments marins modernes avec des COT de 0,2 à 1,4 % (Schubert et Calvert, 2001). Ici, l'efficacité du traitement a été testée, avec succès, en démontrant l'absence de protéines dans les sédiments traités. Enfin Storme (2013) a amélioré le protocole et l'a utilisé avec succès sur des échantillons du Paléocène-Eocène n'excédant pas 40-45% de COT (Storme *et al.*, 2012). Or, 40-45% de COT semble être la limite au-delà de laquelle l'efficacité du traitement diminue

(**Figure VIII.1****Figure VIII.2**). Par ailleurs, le caractère récent de l'azote organique éliminé dans les échantillons de sols et de sédiments actuels (Silva et Bremner, 1966; Schubert et Calvert, 2001), suggère que l'azote était majoritairement présent sous forme d'amides/peptides (*cf.* **Chapitre II.8**). Il a également été montré qu'une partie de plus en plus importante d'azote organique évolue vers des formes hétérocycliques à mesure que la maturation de la matière organique augmente (Pels *et al.*, 1995; Knicker *et al.*, 1996a, 1996b, 1996c; Knicker, 2004; Kelemen *et al.*, 2006). Pour les sédiments les plus anciens, ayant subis une diagenèse relativement poussée (diagenèse tardive à catagenèse), il est alors probable que les **structures hétérocycliques** soient à l'origine d'une résistance au traitement KOH-KBr.

Pour les sédiments étudiés dans cette thèse, ce mécanisme de préservation de l'azote peut être invoqué dans les lignites les plus riches en COT, notamment ceux de Taskomirsay. Toutefois, les T_{max} inférieurs à 440 °C suggèrent que le stade de catagenèse n'a pas été atteint (Espitalié *et al.*, 1985). Dès lors, un autre mécanisme de préservation de l'azote organique est proposé. **Le piégeage ou l'encapsulation d'amides** dans des biopolymères réfractaires sont donc les mécanismes de préservation les plus probables dans les échantillons riches en matière organique étudiés au cours de cette thèse (Knicker, 2004 ; *cf.* **Chapitre II.8**). Des examens couplés XPS/RMN- ^{15}N dans les échantillons pré- et post-traitements, permettraient de vérifier cette hypothèse, en révélant les structures chimiques dominantes contenant l'azote (e. g. Kelemen *et al.*, 2006). En tout état de cause, le traitement KOH-KBr, en l'état actuel, ne semble pas adapté aux lignites, voire même aux sédiments riches en matière organique au-delà de 40-45 % de COT.

1.2. Calcul du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ par bilan de masse

D'un point de vue isotopique, les échantillons qui montrent des valeurs de COT élevées et une faible fraction d'azote organique ont des **valeurs moyennes de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ similaires** (**Tableau VIII.1**). On peut même considérer qu'elles ne sont pas significativement différentes, puisque l'erreur analytique est de $\pm 0,2$ ‰. Cela signifie probablement que l'on mesure la même fraction d'azote dans l'échantillon décarbonaté et dans l'aliquote traité au KOH-KBr. C'est pourquoi les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ ont été considérées comme représentatives des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à Taskomirsay. Par ailleurs, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ calculées sur ces mêmes échantillons sont souvent significativement différentes (**Tableau VIII.1**). Ainsi, une très faible différence entre les valeurs

de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ dans les échantillons, non significative d'un point de vue analytique, engendre des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ significativement différentes des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$. Ces valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ n'ont alors aucun sens réels et découlent de l'influence de la fraction organique (FrN_{org}) dans le calcul (cf. **Chapitre III.2.2.1**) : plus FrN_{org} est petit, plus sa valeur isotopique est différente des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ (**Figure VIII.4**).

Tableau VIII.1 : Résultats isotopiques obtenus sur les échantillons de Taskomirsay avec les plus faibles fractions d'azote organique correspondant aux échantillons très riches en COT. $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ correspond aux valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ mesurées sur les échantillons traités avec la solution KOH-KBr. Ecart absolu*, différence absolue entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$. Ecart absolu**, différence absolue entre $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ et $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$.

Echantillons	COT (%)	FrN_{org} (%)	$\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$	$\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$	Ecart absolu*	$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$	Ecart absolu**
TP1-89	71	10	3,38	3,35	0,02	3,58	0,20
TP1-46	70	13	3,59	3,46	0,13	4,48	0,89
TP2-140	70	14	2,68	2,65	0,03	2,83	0,16
TP2-130	70	15	2,49	2,55	0,06	2,16	0,33
TP1-35	67	15	2,67	2,78	0,11	2,07	0,60
TP3-205	71	16	3,69	3,60	0,09	4,16	0,48
TP3-203	65	16	3,24	3,36	0,12	2,60	0,64
TP1-38	67	17	2,95	2,82	0,13	3,60	0,65
TP1-99	65	17	3,78	3,79	0,01	3,76	0,03
TP1-65	71	17	3,01	2,93	0,08	3,41	0,40
TP2-132	65	19	3,23	3,25	0,02	3,13	0,10
TP3-179	68	19	3,24	3,10	0,15	3,86	0,62
TP3-159	74	19	3,74	3,92	0,18	3,00	0,74
TP2-135	68	20	2,63	2,49	0,14	3,18	0,55

Par exemple, des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont été calculées avec des fractions d'azote organiques de 5 à 95% à partir de valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ fixes ($\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}} = 0 \text{ ‰}$) et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ à $\pm 0,2 \text{ ‰}$, $\pm 0,4 \text{ ‰}$ et $\pm 1 \text{ ‰}$ (**Figure VIII.4**). Pour $\sigma = \pm 0,2 \text{ ‰}$ et $\text{FrN}_{\text{org}} = 10\%$, on obtient $-2 < \delta^{15}\text{N}_{\text{org}} < +2$, soit une gamme de variation de 4‰, alors qu'elle n'est que de 0,8 ‰ pour $\text{FrN}_{\text{org}} = 50\%$ et 0,4 ‰ pour $\text{FrN}_{\text{org}} = 90\%$. Ce qui représente en fait 10σ , 2σ et 1σ , respectivement. Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sont alors inversement proportionnelles à la puissance de FrN_{org} tel que :

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}} = 20(\text{FrN}_{\text{org}})^{-1} \text{ pour } \sigma = \pm 0,2 \text{ ‰}$$

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}} = 40(\text{FrN}_{\text{org}})^{-1} \text{ pour } \sigma = \pm 0,4 \text{ ‰}$$

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{org}} = 100(\text{FrN}_{\text{org}})^{-1} \text{ pour } \sigma = \pm 1 \text{ ‰}$$

Dès lors, il est hautement discutable de calculer des valeurs $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ avec une faible fraction d'azote organique, *a fortiori* si la différence entre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ et de $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$ n'est pas significative par rapport à l'erreur analytique (en général $\pm 0,2 \text{ ‰}$).

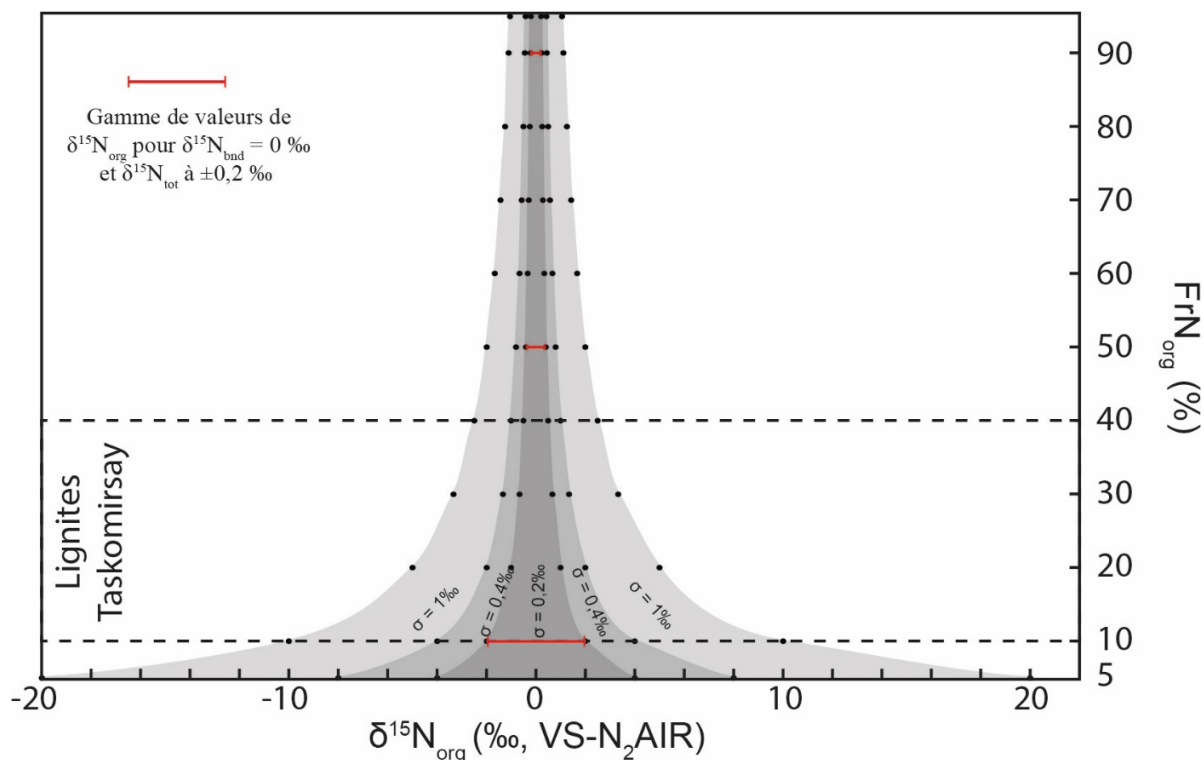


Figure VIII.4 : Valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ calculées avec un $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}} = 0 \text{ ‰}$ et des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ à $\pm 0,2 \text{ ‰}$, $\pm 0,4 \text{ ‰}$ et $\pm 1 \text{ ‰}$ pour des fractions d'azote organique (FrN_{org}) comprises entre 5 et 95%, illustrant l'influence de FrN_{org} sur le calcul des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Enfin, le bilan de masse nécessite la mesure de quatre paramètres ($\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$, $\% \text{N}_{\text{tot}}$ et $\% \text{N}_{\text{bnd}}$) pour en calculer deux autres ($\% \text{N}_{\text{org}}$, puis $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$). Or chacun des paramètres mesurés est associé à une erreur analytique, qui se propage sur les paramètres calculés. L'erreur est alors amplifiée.

2. Limites analytiques et perspectives

2.1. Quantités de carbone et d'azote organique

Comme il a été montré dans le **Chapitre III.2.2.3**, une quantité minimale d'azote est nécessaire pour acquérir des mesures isotopiques fiables (40 μg sur le couplage Flash 2000-Delta V Plus de Thermo). Ce n'est pas un problème pour les échantillons riches en matière organique comme les lignites de Taskomirsay. La plupart du temps, 3 à 5 mg d'échantillon suffisent. Cependant, 3 à 5 mg avec un COT $\sim 70\%$ produisent de l'ordre de 2000 μg de carbone sous forme de CO_2 , à comparer avec les 40 μg nécessaires pour qu'une mesure d'azote soit acceptable. Pour les échantillons de bois de la diagenèse, ces quantités de carbone se sont élevées jusqu'à 20 000 μg de carbone. De telles quantités de carbone même diluées (*via* le SmartEA) peuvent **perturber l'analyse du ^{15}N** . Dans ces conditions, un piège d'ascarite a été installé afin de piéger totalement le CO_2 et d'éviter que celui-ci ne soit envoyé dans le système. Les méthodes d'analyses ont également été adaptées (augmentation de la quantité d' O_2 injectée) afin d'optimiser et d'obtenir la combustion totale de tels échantillons.

Mais l'augmentation de la quantité d'oxygène dans le système a engendré une usure accélérée des fours à un rythme 10 fois supérieur à la normale (~ 20 échantillons de bois contre ~ 200 échantillons lors d'une utilisation normale). Les 40 μg d'azote nécessaire ont donc engendré un surcoût des analyses. L'analyse du $\delta^{15}\text{N}$ sur des quantités moindres d'azote permettrait de réduire ces coûts ainsi que de diminuer l'erreur de la mesure sur les faibles quantités d'azote. Ceci permettrait également d'éviter de recorriger certaines valeurs isotopiques dans les sédiments anciens pauvres en matière organique (*cf.* **Chapitre III.2.2.3**, e. g. échantillons de l'Eocène-Oligocène).

2.2. Préparation améliorée des échantillons

Diminuer la quantité minimale d'azote pour effectuer les analyses devient essentielle aujourd'hui pour une étude élargie du $\delta^{15}\text{N}$ sur des objets riches en carbone, mais pauvres en azote organique, tels que les bois (Gerhart et McLauchlan, 2014). Pour ce faire, une solution courante consiste à augmenter le courant de trappe du spectromètre de masse, afin d'augmenter sa sensibilité

dans la détection des ions. Un rapport technique d'IsoPrime© communiqué lors de l'EGU 2015 montre, qu'en routine, cette méthode permet de descendre la limite d'azote nécessaire à 15-20 μg (IsoPrime 100, courant de trappe à 600 μA ; **Figure VIII.5**). Mais le bruit de fond s'en trouve renforcé. Sur le Thermo utilisé pour nos analyses, nous n'avons jamais pu dépasser les 300 μA du fait du bruit de fond trop important (V. Vaury, com. pers.). Notre appareil ne semble donc pas adapté à cette solution. C'est pourquoi nous n'avons pas pu diminuer la quantité d'azote nécessaire.

Le rapport technique mentionné présente également une **nouvelle méthode de préparation** des échantillons lors de la pesée. En effet, il suggère que la sous-estimation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ mesurées sur l'acétanilide, un acide aminé, provient de la contamination de l'échantillon par l'azote de l'air. Les petites inclusions d'air piégées dans la nacelle contenant l'échantillon apportent une faible quantité d'azote avec un $\delta^{15}\text{N}_{\text{air}} = 0\text{‰}$. Cette faible quantité d'azote peut devenir majoritaire dans les échantillons avec une faible quantité d'azote originelle, biaisant la valeur isotopique de l'échantillon. Une correction dite de Fry (Fry *et al.*, 1992) peut être appliquée mais donne des erreurs jusqu'à $\pm 4,3\text{‰}$ pour des échantillons à 1-2,5 μg d'N. A partir de 15-20 μg d'N d'azote, l'apport de l'azote issu des inclusions d'air devient négligeable (Fry *et al.*, 1992; **Figure VIII.5**). Cette hypothèse est en accord avec la tendance observée à la baisse des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ sur les tyrosines faibles en azote.

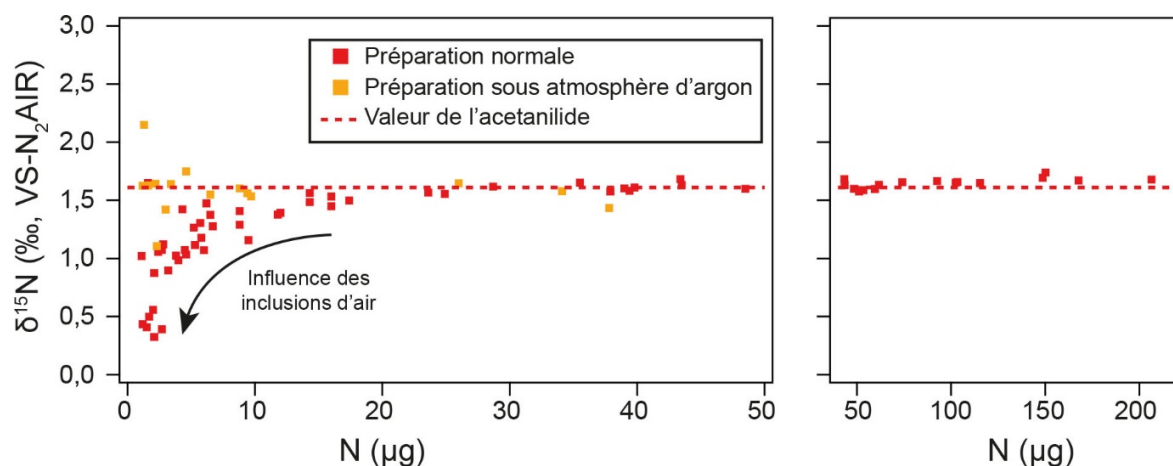


Figure VIII.5 : Valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ mesurées sur des échantillons d'acétanilide sur des quantités d'azote comprises entre 1 et 200 μg (modifié d'après Rapport technique IsoPrime, com. Pers.). Préparation normale signifie pesée sous atmosphère naturelle.

Pour remédier à la contamination de l'échantillon par des inclusions d'air, les ingénieurs et techniciens d'IsoPrime© ont pesé des échantillons d'acétanilide (un acide aminé) dans une boîte à gants sous **atmosphère d'argon**. Les résultats obtenus sur les très petites quantités d'azote sont plus proches de la normale avec une variabilité équivalente de part et d'autre de la valeur réelle de l'acétanilide. Au contraire, l'influence de l'air sur les échantillons préparés sous atmosphère naturelle se manifeste par des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ tendant vers 0 ‰ (**Figure VIII.5**). D'un point de vue analytique, l'erreur sur la mesure est acceptable dès 1-2,5 μg d'N sur les échantillons préparés sous atmosphère d'argon ($\sigma = 0,37$ ‰) et pour 3-10 μg d'N, l'erreur mesurée est tout à fait convenable ($\sigma = 0,10$ ‰ ; **Tableau VIII.2** ; Rapport technique IsoPrime©, com. Pers.).

La pesée des échantillons sous atmosphère d'argon est donc potentiellement un bon moyen pour diminuer la quantité d'azote minimale nécessaire, mais sa mise en place est lourde (boîte à gants, atmosphère artificielle...).

Tableau VIII.2 : $\delta^{15}\text{N}$ moyen mesuré sur des échantillons d'acétanilide en fonction de différents intervalles de quantités d'azote. Une erreur acceptable est associée aux échantillons contenant entre 1 et 2,5 μg d'N (Rapport technique IsoPrime©, com. pers.).

N (μg)	Condition de préparation des échantillons	$\delta^{15}\text{N}$ moyen	Ecart-type (erreur sur la mesure)
1-2,5	Argon	1,63	0,37
3-10	Argon	1,58	0,10
20-35	Argon	1,62	0,05
30-50	Air	1,62	0,03
50-100	Air	1,62	0,04
100-200	Air	1,68	0,03

3. Vers une mesure directe du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$?

Tout au long de cette thèse, une **approche méthodologique unique** a été suivie pour acquérir des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, basée principalement sur les travaux de Storme (2013). Les problèmes méthodologiques et analytiques évoqués tout au long de ce chapitre trouvent tous leur origine dans

le fait que l'on élimine l'azote organique d'un aliquote avant de recalculer une valeur de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à partir de 4 paramètres mesurés ($\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{bnd}}$, $\%N_{\text{tot}}$ et $\%N_{\text{bnd}}$). Les échantillons traités contiennent alors encore moins d'azote. D'où (i) les problèmes d'analyse dus aux faibles quantités d'azote, (ii) une augmentation de l'erreur sur la mesure, (iii) une propagation des erreurs dans le bilan de masse, etc. De plus, pour les échantillons riches en matière organique, l'efficacité du traitement KOH-KBr semble très limitée. Pourquoi alors ne pas changer de perspective en **éliminant la matrice minérale** afin de mesurer directement le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sur la matière organique isolée ?

C'est le choix qui a été fait par Paris *et al.* (2010) sur des sédiments marins dans le cadre d'une étude sur les paléocécosytèmes à la limite Trias-Jurassique. Le protocole utilisé pour éliminer la matrice minérale est proche de celui utilisé pour l'étude des palynofaciès, suivant Durand et Nicaise (1980). Ce protocole vise à isoler le kérogène en solubilisant les minéraux par traitements acides successifs, tout en évitant le plus possible toute modification chimique de la matière organique (Durand et Nicaise, 1980). Environ 10 g de sédiments ont été traités par attaques acides successives (HCl et HF) sous atmosphère inerte (N_2) à 80°C, puis rincés à l'eau distillée (Paris *et al.*, 2010). Le kérogène obtenu a été séché à 100°C sous azote, puis stocké sous atmosphère inerte pour éviter toute oxydation. Cependant, l'HCl et l'HF ont un effet hydrolysant sur la matière organique et cet effet est proportionnel à son état de maturation : moins la matière organique est mature, plus les effets seront importants (Durand et Nicaise, 1980; Tissot et Welte, 1984). Les attaques acides sous atmosphère inerte préviennent et limitent les effets d'oxydation de la matière organique. La perte de carbone organique par les processus d'hydrolyse est toutefois très limitée dans les sédiments anciens avec moins de 6% de perte, et la composition chimique de la matière organique ne diffère pas significativement entre des échantillons traités et non traités (Durand et Nicaise, 1980; Tissot et Welte, 1984). Cette méthode semble donc particulièrement adaptée pour les échantillons très riches en matière organique et anciens comme les lignites de Taskomirsay. Un autre type d'atmosphère inerte (e. g. Argon) est cependant recommandé pour éviter toute contamination par l'atmosphère sous azote.

Par ailleurs, l'influence de traitements à l'HCl à chaud (50°C) a été testée sur des standards « Peach Leaf » (feuille de pêche) et sur des dépôts lacustres sans carbonates, lors de l'élaboration d'un protocole pour éliminer la sidérite d'un échantillon (Larson *et al.*, 2008). L'exposition à l'HCl 6N s'est faite sur 8 jours. Les résultats montrent que le $\delta^{15}\text{N}$ mesuré sur les standards n'évolue pas

de manière significative les 4 premiers jours de traitements, alors les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ augmentent de ~ 1 ‰ dès le 3^e jour dans les échantillons lacustres traités (Larson *et al.*, 2008). Il a été suggéré que des processus de dénitrification se produisaient enrichissant le substrat en ^{15}N pendant la réaction (Larson *et al.*, 2008). Une exposition à l'HCl limitée dans le temps pourrait donc limiter les pertes en azote par dénitrification et donc l'enrichissement résultant du substrat en ^{15}N .

Les lignites de Taskomirsay sont donc de parfaits échantillons pour tester l'influence de traitements acides successifs sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$. Cette possibilité n'a pas pu être explorée dans le cadre de cette thèse et représente une perspective intéressante. En effet, la mesure directe du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ isolé pourrait répondre aux problèmes analytiques et méthodologiques rencontrés avec le protocole utilisé jusqu'à présent car (i) l'élimination de la matrice minérale concentre mécaniquement la matière organique, ce qui faciliterait les analyses pour les échantillons pauvres en matière organique et rendrait virtuellement possible des analyses sur n'importe quel type d'échantillon (COT $\ll 1\%$) en fonction de la quantité disponible, (ii) n'impose plus de calculer le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ par un bilan de masse, ce qui limite la propagation des erreurs de mesure et enfin (iii) le problème de la baisse d'efficacité du traitement KOH-KBr ne se poserait plus.

Enfin, **un standard adapté** à ce type d'échantillon doit être développé pour se rapprocher au mieux de la nature de l'azote mesuré en termes de qualité (types de structures azotés), quantité (concentration d'azote) et valeur isotopique. Par exemple, Paris *et al.* (2010) ont utilisé un kérogène en tant que standard interne de laboratoire. Dans le cadre de cette thèse, un standard sur du bois de chêne a été développé et testé. Bien que les résultats aient été encourageants pour le carbone, les mêmes problèmes analytiques que pour les bois de la diagenèse se sont posés pour l'azote. Le développement d'un standard basé sur du kérogène et mélangé à une matrice minérale dessine alors une nouvelle perspective.

Conclusion du Chapitre VIII

Un des résultats principaux de ce chapitre est la mise en évidence des limites de la méthode utilisée pour acquérir des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Dans le cadre de cette thèse, elles ont pu être surmontées grâce à (i) la correction des valeurs isotopiques pour les échantillons pauvres en azote, (ii) l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{tot}}$ pour les échantillons très riches en matière organique et (iii) des adaptations techniques sur le spectre de masse pour améliorer la qualité des mesures (plus d'oxygène, piège à CO_2).

Toutefois, les surcoûts engendrés par ces adaptations et la lourdeur des traitements KOH-KBr nécessiteraient de développer de nouvelles méthodes, comme la mesure directe du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Cette perspective ouvrirait un champ nouveau dans l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ en rendant les analyses plus faciles sur un grand nombre d'échantillons. En revanche, l'impact réel sur la valeur isotopique finale reste encore à évaluer et un standard mieux adapté à la mesure isotopique de ces échantillons doit être développé.

Chapitre IX : Conclusion

Le cycle biogéochimique de l'azote est l'un des cycles élémentaires les plus complexes de la Terre. Malgré cette complexité, certains auteurs ont suggéré qu'à l'échelle globale, le $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique des écosystèmes continentaux était directement lié à des paramètres climatiques : les précipitations et les températures. Au cours des quinze dernières années, de nombreuses études ont mené à l'élaboration de « concepts climatiques » assez robustes expliquant les variations des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ des plantes et des sols actuels. Ces dernières seraient contrôlées en premier lieu par la **disponibilité en eau et en nutriments** qui induirait l'ouverture relative du cycle de l'azote au sein d'un écosystème. Un écosystème en **cycle fermé** fait référence à un recyclage intense de l'azote (milieux humides). Lorsque le bilan entrée/sortie d'azote dans l'écosystème est largement supérieur au recyclage interne de l'azote par l'écosystème (forêts tropicales), ou lorsqu'il y a perte d'azote (milieux arides), ce **cycle** est interrompu. On le dit **ouvert**. La perte d'azote aboutit alors à un enrichissement en ^{15}N de l'azote résiduel. La transposition de ces modèles dans le cadre de reconstructions paléoenvironnementales nécessite d'évaluer l'influence de la diagenèse sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Dans ce but, une expérience de diagenèse a été menée.

Les résultats de l'**expérience de diagenèse** des rondelles et des poudres ont suggéré que la diagenèse précoce homogénéise les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ pour conduire à une valeur moyenne qui intègre les différentes composantes d'un environnement. Cette homogénéisation est rapide et très probablement non-linéaire. Cela suggère que les changements isotopiques dus à la diagenèse précoce s'opèrent quasiment de manière instantanée à l'échelle géologique. Par conséquent, de grands changements environnementaux affectant toutes les composantes d'un écosystème pourraient être enregistrés par le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

A la transition **Pliensbachien-Toarcien** (~183 Ma), les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ relativement faibles et stables (2-4 ‰ ; **Figure IX.1**) suggèrent un climat globalement humide, en accord avec les pollens et la géochimie moléculaire. La faible gamme de valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ témoignerait d'un bon équilibre entre la disponibilité en eau et en nutriments, assurant un recyclage de l'azote efficace au sein de l'écosystème. De plus, le réchauffement climatique au Toarcien inférieur indiqué par ces mêmes marqueurs n'a apparemment pas perturbé cet équilibre. En effet, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ n'ont pas augmenté, comme attendu dans un contexte de hausse des températures.

Les résultats obtenus sur la coupe principale du **Paléogène (Faddeevsky, ~53 à 50 Ma)** ont été les plus difficiles à interpréter. La gamme des valeurs du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ est légèrement supérieure à celle obtenue à Taskomirsay (1-4 ‰ ; **Figure IX.1**). Une réponse différentielle du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ par rapport aux autres marqueurs paléoenvironnementaux, entre la base et le sommet de la coupe, a été suggérée. Cette réponse différentielle pourrait refléter l'ouverture relative du cycle de l'azote, contrôlée par la disponibilité en eau dans la première partie et la disponibilité en nutriments dans la seconde, comme indiqué par l'augmentation de la proportion des particules détritiques.

A la transition **Eocène-Oligocène** (~34 Ma), une baisse de l'humidité, déduite des assemblages argileux, est associée à une forte excursion positive du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ (5 ‰). Cette excursion est quasiment aussi importante que l'ensemble des variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ observé le long de la carotte (1-6 ‰ ; **Figure IX.1**). La très bonne concordance entre les changements d'assemblages argileux et les variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ à la transition Eocène-Oligocène est en faveur d'un enregistrement climatique robuste par le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. En outre, la baisse concomitante des températures au niveau global à l'Eocène-Oligocène (~5°C ; documentée localement par l'analyse des GDGTs ; J. Ghirardi ; données non publiées) n'a probablement pas eu d'effet sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$.

Malgré d'importantes variations du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ enregistrées dans des tourbières actuelles (Asada *et al.*, 2005) et attribuées à la diagenèse précoce, les résultats obtenus sur les trois exemples étudiés et sur l'expérience de diagenèse suggèrent que le climat impacte le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$. Par ailleurs, les paramètres climatiques à l'origine de cet impact peuvent être en partie retracés. Notamment, l'impact prépondérant de la **disponibilité en eau et en nutriments** sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ a été mis en évidence, en accord avec les observations actuelles. **L'impact de la température** sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ n'a cependant pas pu être démontré (seulement suggéré à Faddeevsky), ce qui confirme également de récentes études dans l'actuel (Liu et Wang, 2008; Craine *et al.*, 2009).

Les **limites méthodologiques et analytiques** de l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ ont longtemps été discutées. La faible concentration en azote dans les sédiments anciens et le manque d'efficacité de la méthode utilisée pour les échantillons très riches en matière organique (>40 %) nécessitent la mise au point de nouvelles méthodes. La mesure directe du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ sur les kérogènes a été proposée. Cette méthode permettrait d'élargir les mesures à des échantillons très pauvres en matière organique, sous réserve d'une quantité de matière totale suffisante. Les biais éventuels sur le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, dus aux traitements acides, restent à évaluer. Mais ils pourraient être faibles pour les

sédiments anciens, dont la majeure partie des composés hydrolysables ont été hydrolysés au cours du temps.

Au vu des résultats encourageant obtenus, l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ comme marqueur paléoclimatique doit être testée dans d'autres contextes et d'autres périodes géologiques (Crétacé, paléoenvironnements tropicaux, par exemple). A terme, le $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$, associé à d'autres outils de reconstruction paléoenvironnementale, pourrait servir à préciser les modifications du cycle de l'azote – principalement *via* la disponibilité en eau et en nutriments – **dans les paléocosystèmes terrestres**. Dans certains cas, la **reconstitution locale/régionale** de la dynamique de l'azote organique terrestre pourrait être reliée à des **changements climatiques globaux**, comme cela semble être le cas pour l'exemple Eocène-Oligocène du Bassin de Rennes.

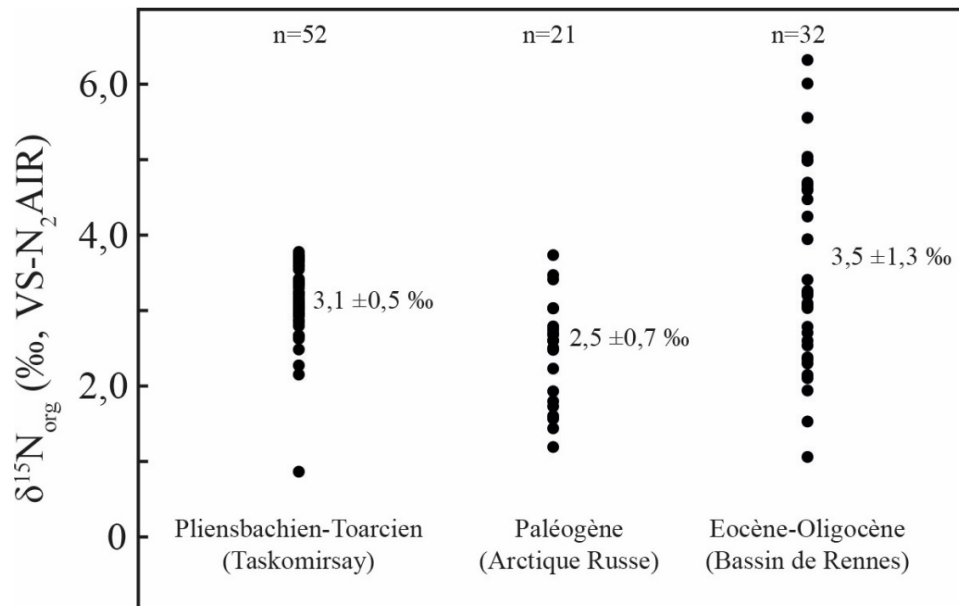


Figure IX.1 : Compilation des valeurs de $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$ obtenues au cours de cette thèse.

Références

- Abels, H.A., Dupont-Nivet, G., Xiao, G., Bosboom, R., Krijgsman, W., 2011. Step-wise change of Asian interior climate preceding the Eocene–Oligocene Transition (EOT). *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 299, 399–412.
- Ader, M., Boudou, J.-P., Javoy, M., Goffe, B., Daniels, E., 1998. Isotope study on organic nitrogen of Westphalian anthracites from the Western Middle field of Pennsylvania (U.S.A.) and from the Bramsche Massif (Germany). *Org. Geochem.* 29, 315–323.
- Aichner, B., Herzschuh, U., Wilkes, H., Vieth, A., Böhner, J., 2010. δD values of n-alkanes in Tibetan lake sediments and aquatic macrophytes – A surface sediment study and application to a 16 ka record from Lake Koucha. *Org. Geochem.* 41, 779–790.
- Alexander, R., Kagi, R.I., Noble, R., Volkman, J.K., 1984. Identification of some bicyclic alkanes in petroleum. *Org. Geochem.* 6, 63–72.
- Alexander, R., Kagi, R., Noble, R., 1983. Identification of the bicyclic sesquiterpenes drimane and eudesmane in petroleum. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 226–228.
- Almendros, G., Fründ, R., Gonzalez-Vila, F.J., Haider, K.M., Knicker, H., Lüdemann, H.-D., 1991. Analysis of ^{13}C and ^{15}N CPMAS NMR-spectra of soil organic matter and composts. *FEBS Lett.* 282, 119–121.
- Al-Suwaidi, A.H., Angelozzi, G.N., Baudin, F., Damborenea, S.E., Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., Manceñido, M.O., Riccardi, A.C., 2010. First record of the Early Toarcian Oceanic Anoxic Event from the Southern Hemisphere, Neuquén Basin, Argentina. *J. Geol. Soc.* 167, 633–636.
- Altabet, M.A., Francois, R., Murray, D.W., Prell, W.L., 1995. Climate-related variations in denitrification in the Arabian Sea from sediment $^{15}N/^{14}N$ ratios. *Nature* 373, 506–509.
- Altabet, M.A., Pilskaln, C., Thunell, R., Pride, C., Sigman, D., Chavez, F., Francois, R., 1999. The nitrogen isotope biogeochemistry of sinking particles from the margin of the Eastern North Pacific. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 46, 655–679.
- Amiot, R., Wang, X., Zhou, Z., Wang, X., Lécuyer, C., Buffetaut, E., Fluteau, F., Ding, Z., Kusuhashi, N., Mo, J., Philippe, M., Suteethorn, V., Wang, Y., Xu, X., 2015. Environment and ecology of East Asian dinosaurs during the Early Cretaceous inferred from stable oxygen and carbon isotopes in apatite. *J. Asian Earth Sci.* 98, 358–370.
- Amundson, R., Austin, A.T., Schuur, E. a. G., Yoo, K., Matzek, V., Kendall, C., Uebersax, A., Brenner, D., Baisden, W.T., 2003. Global patterns of the isotopic composition of soil and plant nitrogen. *Glob. Biogeochem. Cycles* 17, 1–10.
- Andersen, N., Paul, H.A., Bernasconi, S.M., McKenzie, J.A., Behrens, A., Schaeffer, P., Albrecht, P., 2001. Large and rapid climate variability during the Messinian salinity crisis: Evidence from deuterium concentrations of individual biomarkers. *Geology* 29, 799–802.
- Andersson, R.A., Meyers, P., Hornibrook, E., Kuhry, P., Mörth, C.-M., 2012. Elemental and isotopic carbon and nitrogen records of organic matter accumulation in a Holocene permafrost peat sequence in the East European Russian Arctic. *J. Quat. Sci.* 27, 545–552.
- Andreeva, D.B., Zech, M., Glaser, B., Erbajeva, M.A., Chimitdorgieva, G.D., Ermakova, O.D., Zech, W., 2013. Stable isotope ($\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$, $\delta^{18}O$) record of soils in Buryatia, southern Siberia: Implications for biogeochemical and paleoclimatic interpretations. *Quat. Int.* 290–291, 82–94.

- Aranibar, J.N., Otter, L., Macko, S.A., Feral, C.J.W., Epstein, H.E., Dowty, P.R., Eckardt, F., Shugart, H.H., Swap, R.J., 2004. Nitrogen cycling in the soil–plant system along a precipitation gradient in the Kalahari sands. *Glob. Change Biol.* 10, 359–373.
- Asada, T., Warner, B., Aravena, R., 2005. Effects of the early stage of decomposition on change in carbon and nitrogen isotopes in Sphagnum litter. *J. Plant Interact.* 1, 229–237.
- Austin, A.T., Ballaré, C.L., 2010. Dual role of lignin in plant litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 4618–4622.
- Austin, A.T., Vitousek, P.M., 1998. Nutrient dynamics on a precipitation gradient in Hawaiï. *Oecologia* 113, 519.
- Baas, M., Pancost, R., van Geel, B., Sinninghe Damsté, J.S., 2000. A comparative study of lipids in Sphagnum species. *Org. Geochem.* 31, 535–541.
- Bada, 1998. Nitrogen-Containing Macromolecules in the Bio- and Geosphere, Acs Symposium Series. Am. Chem. Soc., Washington.
- Bailey, T.R., Rosenthal, Y., McArthur, J.M., van de Schootbrugge, B., Thirlwall, M.F., 2003. Paleooceanographic changes of the Late Pliensbachian–Early Toarcian interval: a possible link to the genesis of an Oceanic Anoxic Event. *Earth Planet. Sci. Lett.* 212, 307–320.
- Barrón, E., Gómez, J.J., Goy, A., Pieren, A.P., 2006. The Triassic–Jurassic boundary in Asturias (northern Spain): Palynological characterisation and facies. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 138, 187–208.
- Bassirirad, H., Constable, J.V.H., Lussenhop, J., Kimball, B.A., Norby, R.J., Oechel, W.C., Reich, P.B., Schlesinger, W.H., Zitzer, S., Sehtiya, H.L., Silim, S., 2003. Widespread foliage $\delta^{15}\text{N}$ depletion under elevated CO₂: inferences for the nitrogen cycle. *Glob. Change Biol.* 9, 1582–1590.
- Bassoulet, J.-P., Baudin, F., 1994. Le toarcien inférieur: Une période de crise dans les bassins et sur les plate-formes carbonatées de l'Europe du Nord-Ouest et de la Téthys. *Geobios*, 3ème Symposium International de Stratigraphie du Jurassique 27, Supplement 3, 645–654.
- Bates, A.L., Hatcher, P.G., Lerch III, H.E., Cecil, C.B., Neuzil, S.G., Supardi, 1991. Studies of a peatified angiosperm log cross section from Indonesia by nuclear magnetic resonance spectroscopy and analytical pyrolysis. *Org. Geochem.* 17, 37–45.
- Bates, A.L., Spiker, E.C., 1992. Chemical changes and carbon isotope variations in a cross-section of a large Miocene gymnospermous log. *Chem. Geol. Isot. Geosci. Sect.* 101, 247–254.
- Baudin, F., Herbin, J.-P., Vandenbroucke, M., 1990. Mapping and geochemical characterization of the Toarcian organic matter in the Mediterranean Tethys and Middle East. *Org. Geochem.* 16, 677–687.
- Baudin, F., Tribouvillard, N., Trichet, J., 2007. *Géologie de la matière organique*, Vuibert. ed.
- Bauer, H., Saint-Marc, P., Bessin, P., Chateauneuf, J.J.C., Bourdillon, C., Wyns, R., Guillocheau, F., submitted. New insights on the Cenozoic history of the Armorican Massif: contribution of the CDB1 deep borehole (Rennes Basin, France). *CR Geosci.*
- Bauer, H., Wyns, R., Leclercq, M., Palvadeau, E., Guillocheau, F., 2010. CINERGY: Un forage profond dans le bassin de Rennes. *Bull. Inf. Géologues Bassin Paris* 47, 3–6.
- Bebber, D.P., Watkinson, S.C., Boddy, L., Darrah, P.R., 2011. Simulated nitrogen deposition affects wood decomposition by cord-forming fungi. *Oecologia* 167, 1177–1184.
- Bechtel, A., Reischenbacher, D., Sachsenhofer, R.F., Gratzner, R., Lücke, A., 2007. Paleogeography and paleoecology of the upper Miocene Zillingdorf lignite deposit (Austria). *Int. J. Coal Geol.* 69, 119–143.
- Beerling, D., Berner, R.A., Mackenzie, F.T., Harfoot, M.B., Pyle, J.A., 2009. Methane and the CH₄ related greenhouse effect over the past 400 million years. *Am. J. Sci.* 309, 97–113.

- Behar, F., Beaumont, V., De B. Penteadó, H.L., 2001. Rock-Eval 6 Technology: Performances and Developments. *Oil Gas Sci. Technol.* 56, 111–134.
- Benito, M.I., de la Horra, R., Barrenechea, J.F., López-Gómez, J., Rodas, M., Alonso-Azcárate, J., Arche, A., Luque, J., 2005. Late Permian continental sediments in the SE Iberian Ranges, eastern Spain: Petrological and mineralogical characteristics and palaeoenvironmental significance. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 229, 24–39.
- Benner, R., Fogel, M.L., Sprague, E.K., 1991. Diagenesis of belowground biomass of *Spartina alterniflora* in salt-marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.* 36, 1358–1374.
- Berg, B., Laskowski, R., 2005. Litter decomposition: a guide to carbon and nutrient turnover, *Adv Ecol Res.* ed. Elsevier.
- Bergerat, F., 1987. Stress fields in the European platform at the time of Africa-Eurasia collision. *Tectonics* 6, 99–132.
- Berner, R.A., 2006. Geological nitrogen cycle and atmospheric N₂ over Phanerozoic time. *Geology* 34, 413–415.
- Bigeleisen, J., 1965. Chemistry of Isotopes Isotope chemistry has opened new areas of chemical physics, geochemistry, and molecular biology. *Science* 147, 463–471.
- Blakey, R., 2014a. Eocene.
- Blakey, R., 2014b. Oligocene.
- Blumer, M., Guillard, R.R.L., Chase, T., 1971. Hydrocarbons of marine phytoplankton. *Mar. Biol.* 8, 183–189.
- Bodin, S., Mattioli, E., Fröhlich, S., Marshall, J.D., Boutib, L., Lahsini, S., Redfern, J., 2010. Toarcian carbon isotope shifts and nutrient changes from the Northern margin of Gondwana (High Atlas, Morocco, Jurassic): Palaeoenvironmental implications. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 297, 377–390.
- Bohaty, S.M., Zachos, J.C., Delaney, M.L., 2012. Foraminiferal Mg/Ca evidence for Southern Ocean cooling across the Eocene–Oligocene transition. *Earth Planet. Sci. Lett.* 317–318, 251–261.
- Borucki, W.J., Chameides, W.L., 1984. Lightning: Estimates of the rates of energy dissipation and nitrogen fixation. *Rev. Geophys.* 22, 363–372.
- Boudou, J.-P., Schimmelmann, A., Ader, M., Mastalerz, M., Sebito, M., Gengembre, L., 2008. Organic nitrogen chemistry during low-grade metamorphism. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 1199–1221.
- Boudsocq, S., Niboyet, A., Lata, J.C., Raynaud, X., Loeuille, N., Mathieu, J., Blouin, M., Abbadie, Barot, S., 2012. Plant Preference for Ammonium versus Nitrate: A Neglected Determinant of Ecosystem Functioning? *Am. Nat.* 180, 60–69.
- Boulila, S., Galbrun, B., Huret, E., Hinnov, L.A., Rouget, I., Gardin, S., Bartolini, A., 2014. Astronomical calibration of the Toarcian Stage: Implications for sequence stratigraphy and duration of the early Toarcian OAE. *Earth Planet. Sci. Lett.* 386, 98–111.
- Bowen, G.J., Beerling, D.J., Koch, P.L., Zachos, J.C., Quattlebaum, T., 2004. A humid climate state during the Palaeocene/Eocene thermal maximum. *Nature* 432, 495–499.
- Bowen, G.J., Revenaugh, J., 2003. Interpolating the isotopic composition of modern meteoric precipitation. *Water Resour. Res.* 39, 1299.
- Bowling, D.R., Pataki, D.E., Randerson, J.T., 2008. Carbon isotopes in terrestrial ecosystem pools and CO₂ fluxes. *New Phytol.* 178, 24–40.
- Boyd, C.E., 1970. Amino Acid, Protein, and Caloric Content of Vascular Aquatic Macrophytes. *Ecology* 51, 902–906.

- Bragazza, L., Iacumin, P., Siffi, C., Gerdol, R., 2010. Seasonal variation in nitrogen isotopic composition of bog plant litter during 3 years of field decomposition. *Biol. Fertil. Soils* 46, 877–881.
- Bret-Harte, M.S., Mack, M.C., Goldsmith, G.R., Sloan, D.B., DeMarco, J., Shaver, G.R., Ray, P.M., Biesinger, Z., III, F.S.C., 2008. Plant Functional Types Do Not Predict Biomass Responses to Removal and Fertilization in Alaskan Tussock Tundra. *J. Ecol.* 96, 713–726.
- Breugel, Y. van, Baas, M., Schouten, S., Mattioli, E., Sinninghe Damsté, J.S., 2006. Isorenieratane record in black shales from the Paris Basin, France: Constraints on recycling of respired CO₂ as a mechanism for negative carbon isotope shifts during the Toarcian oceanic anoxic event. *Paleoceanography* 21, 1–8.
- Briggs, D.E.G., 1999. Molecular taphonomy of animal and plant cuticles: selective preservation and diagenesis. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 354, 7–17.
- Buggle, B., Zech, M., 2015. New frontiers in the molecular based reconstruction of Quaternary paleovegetation from loess and paleosols. *Quat. Int., Loess and Dust: Contributions in honour of Ian Smalley* 372, 180–187.
- Bukata, A.R., Kyser, T.K., 2007. Carbon and Nitrogen Isotope Variations in Tree-Rings as Records of Perturbations in Regional Carbon and Nitrogen Cycles. *Environ. Sci. Technol.* 41, 1331–1338.
- Bunnell, F.L., Tait, D.E.N., Flanagan, P.W., Van Clever, K., 1977. Microbial respiration and substrate weight loss—I. *Soil Biol. Biochem.* 9, 33–40.
- Buvalkin, A.K., Jaimin, M.I., Kotova, L.I., Philip'ev, G.P., 1991. The “crouete terrestre mobile” Preichim-Karatau area during the early Jurassic and its coal-bearing and oil and gaz capacity perspectives. *Geological structure and mineralogy of South Kazakhstan*, 110–128.
- Canfield, D.E., Glazer, A.N., Falkowski, P.G., 2010. The Evolution and Future of Earth's Nitrogen Cycle. *Science* 330, 192–196.
- Cavagnetto, C., Anadón, P., 1996. Preliminary palynological data on floristic and climatic changes during the Middle Eocene-Early Oligocene of the eastern Ebro Basin, northeast Spain. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 92, 281–305.
- Chamley, H., 1989. *Clay Sedimentology*, Springer Verlag.
- Chibnall, A.C., Rees, M.W., Williams, E.F., 1943. The total nitrogen content of egg albumin and other proteins. *Biochem. J.* 37, 354–359.
- Chikaraishi, Y., Naraoka, H., 2007. $\delta^{13}\text{C}$ and δD relationships among three n-alkyl compound classes (n-alkanoic acid, n-alkane and n-alkanol) of terrestrial higher plants. *Org. Geochem.* 38, 198–215.
- Chikaraishi, Y., Naraoka, H., 2003. Compound-specific δD – $\delta^{13}\text{C}$ analyses of n-alkanes extracted from terrestrial and aquatic plants. *Phytochemistry* 63, 361–371.
- Chikaraishi, Y., Naraoka, H., Poulson, S.R., 2004. Carbon and hydrogen isotopic fractionation during lipid biosynthesis in a higher plant (*Cryptomeria japonica*). *Phytochemistry* 65, 323–330.
- Chizhov, D., Damn, V., Franke, D., Mrugalla, S., 2007. Structure, geology and geodynamic evolution of the Siberian and Laptev Seas. *TOTAL*.
- Coccioni, R., Bancalà, G., Catanzariti, R., Fornaciari, E., Frontalini, F., Giusberti, L., Jovane, L., Luciani, V., Savian, J., Sprovieri, M., 2012. An integrated stratigraphic record of the Palaeocene–lower Eocene at Gubbio (Italy): new insights into the early Palaeogene hyperthermals and carbon isotope excursions. *Terra Nova* 24, 380–386.

- Coffinet, S., Huguet, A., Williamson, D., Fosse, C., Derenne, S., 2014. Potential of GDGTs as a temperature proxy along an altitudinal transect at Mount Rungwe (Tanzania). *Org. Geochem.* 68, 82–89.
- Cohen, A.S., Coe, A.L., Harding, S.M., Schwark, L., 2004. Osmium isotope evidence for the regulation of atmospheric CO₂ by continental weathering. *Geology* 32, 157–160.
- Cole, J.J., Prairie, Y.T., Caraco, N.F., McDowell, W.H., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., Duarte, C.M., Kortelainen, P., Downing, J.A., Middelburg, J.J., Melack, J., 2007. Plumbing the Global Carbon Cycle: Integrating Inland Waters into the Terrestrial Carbon Budget. *Ecosystems* 10, 172–185.
- Colombié, C., Giraud, F., Schnyder, J., Götz, A.E., Boussaha, M., Aurell, M., Bádenas, B., 2014. Timing of sea level, tectonics and climate events during the uppermost Oxfordian (Planula zone) on the Iberian ramp (northeast Spain). *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 412, 17–31.
- Connin, S.L., Feng, X., Virginia, R.A., 2001. Isotopic discrimination during long-term decomposition in an arid land ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 33, 41–51.
- Costa, E., Garcés, M., Sáez, A., Cabrera, L., López-Blanco, M., 2011. The age of the “Grande Coupure” mammal turnover: New constraints from the Eocene–Oligocene record of the Eastern Ebro Basin (NE Spain). *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 301, 97–107.
- Coxall, H.K., Wilson, P.A., Pälike, H., Lear, C.H., Backman, J., 2005. Rapid stepwise onset of Antarctic glaciation and deeper calcite compensation in the Pacific Ocean. *Nature* 433, 53–57.
- Craine, J.M., Brookshire, E.N.J., Cramer, M.D., Hasselquist, N.J., Koba, K., Marin-Spiotta, E., Wang, L., 2015. Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant Soil* 1–26.
- Craine, J.M., Elmore, A.J., Aida, M.P.M., Bustamante, M., Dawson, T.E., Hobbie, E.A., Kahmen, A., Mack, M.C., McLauchlan, K.K., Michelsen, A., Nardoto, G.B., Pardo, L.H., Peñuelas, J., Reich, P.B., Schuur, E.A.G., Stock, W.D., Templer, P.H., Virginia, R.A., Welker, J.M., Wright, I.J., 2009. Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, and nitrogen availability. *New Phytol.* 183, 980–992.
- Cranwell, P.A., Eglinton, G., Robinson, N., 1987. Lipids of aquatic organisms as potential contributors to lacustrine sediments—II. *Org. Geochem.* 11, 513–527.
- Dansgaard, W., 1964. Stable isotopes in precipitation. *Tellus* 16, 436–468.
- Dansgaard, W., Johnsen, S.J., Clausen, H.B., Dahl-Jensen, D., Gundestrup, N.S., Hammer, C.U., Hvidberg, C.S., Steffensen, J.P., Sveinbjörnsdóttir, A.E., Jouzel, J., Bond, G., 1993. Evidence for general instability of past climate from a 250-kyr ice-core record. *Nature* 364, 218–220.
- Dawson, D., Grice, K., Wang, S.X., Alexander, R., Radke, J., 2004. Stable hydrogen isotopic composition of hydrocarbons in torbanites (Late Carboniferous to Late Permian) deposited under various climatic conditions. *Org. Geochem.* 35, 189–197.
- Deming, J.W., Baross, J.A., 1993. The early diagenesis of organic matter. Bacterial activity. Engel, M.H., Macko, S.A. (Eds), New-York.
- Dera, G., Pellenard, P., Neige, P., Deconinck, J.-F., Pucéat, E., Dommergues, J.-L., 2009. Distribution of clay minerals in Early Jurassic Peritethyan seas: Palaeoclimatic significance inferred from multiproxy comparisons. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 271, 39–51.

- Derenne, S., Largeau, C., Taudelle, F., 1993. Occurrence of nonhydrolysable amides in the macromolecular constituent of *Scenedesmus quadricauda* cell wall as revealed by ¹⁵N NMR: origin of n-alkylnitriles in pyrolysates of ultralaminae-containing kerogens. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 851–857.
- Derenne, S., Nguyen Tu, T.T., 2014. Characterizing the molecular structure of organic matter from natural environments: An analytical challenge. *Comptes Rendus Geosci.* 346, 53–63.
- Dèzes, P., Schmid, S.M., Ziegler, P.A., 2004. Evolution of the European Cenozoic Rift System: interaction of the Alpine and Pyrenean orogens with their foreland lithosphere. *Tectonophysics* 389, 1–33.
- Dickens, G.R., Castillo, M.M., Walker, J.C., 1997. A blast of gas in the latest Paleocene: simulating first-order effects of massive dissociation of oceanic methane hydrate. *Geology* 25, 259–262.
- Diefendorf, A.F., Freeman, K.H., Wing, S.L., Graham, H.V., 2011. Production of n-alkyl lipids in living plants and implications for the geologic past. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 7472–7485.
- Dijkstra, P., LaViolette, C.M., Coyle, J.S., Doucett, R.R., Schwartz, E., Hart, S.C., Hungate, B.A., 2008. ¹⁵N enrichment as an integrator of the effects of C and N on microbial metabolism and ecosystem function. *Ecol. Lett.* 11, 389–397.
- Disnar, J.R., Harouna, M., 1994. Biological origin of tetracyclic diterpanes, n-alkanes and other biomarkers found in lower carboniferous Gondwana coals (Niger). *Org. Geochem.* 21, 143–152.
- Dodd, R.S., Rafii, Z.A., Power, A.B., 1998. Ecotypic adaptation in *Austrocedrus chilensis* in cuticular hydrocarbon composition. *New Phytol.* 138, 699–708.
- Duarte, L.V., 1998. Clay minerals and geochemical evolution in the Toarcian-lower Aalenian of the Lusitanian Basin (Portugal). *Cuad. Geol. Ibérica* 69–98.
- Dupont-Nivet, G., Krijgsman, W., Langereis, C.G., Abels, H.A., Dai, S., Fang, X., 2007. Tibetan plateau aridification linked to global cooling at the Eocene–Oligocene transition. *Nature* 445, 635–638.
- Dupont-Nivet, G., Lin, F., Bauer, H., Guillocheau, F., Ghirardi, J., Quesnel, F., 2013. La transition éocène-oligocène identifiée par magnétostratigraphie dans le bassin continental de Rennes, in: Français, A. des S. (Ed.), 14^{ème} Congrès Français de Sédimentologie. Paris, France, p. 134.
- Durand, B., Nicaise, G., 1980. Procedures for kerogen isolation, B. Durand. ed. Editions TECHNIP, Paris.
- Dybkaer, K., 1991. Palynological zonation and palynofacies investigation of the Fjerritslev formation (Lower Jurassic—basal Middle Jurassic) in the danish subbasin. *DGU Dan. Geol. Unders. Ser. A* 4–150.
- Eglinton, G., Gonzalez, A.G., Hamilton, R.J., Raphael, R.A., 1962. Hydrocarbon constituents of the wax coatings of plant leaves: A taxonomic survey. *Phytochemistry* 1, 89–102.
- Eglinton, G., Hamilton, R.J., 1967. Leaf Epicuticular Waxes. *Science* 156, 1322–1335.
- Ehrmann, W.U., Melles, M., Kuhn, G., Grobe, H., 1992. Significance of clay mineral assemblages in the Antarctic Ocean. *Mar. Geol.* 107, 249–273.
- Eichmann, R., Schidlowski, M., 1975. Isotopic fractionation between coexisting organic carbon—carbonate pairs in Precambrian sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 39, 585–595.
- Eldrett, J.S., Greenwood, D.R., Harding, I.C., Huber, M., 2009. Increased seasonality through the Eocene to Oligocene transition in northern high latitudes. *Nature* 459, 969–973.

- Ellis, L., Singh, R.K., Alexander, R., Kagi, R.I., 1995. Identification and occurrence of dihydro-arcurcumene in crude oils and sediments. *Org. Geochem.* 23, 197–203.
- Epstein, S., Yapp, C.J., 1976. Climatic implications of the D/H ratio of hydrogen in C-H groups in tree cellulose. *Earth Planet. Sci. Lett.* 30, 252–261.
- Eriksson, K.-E.L., Blanchette, R., Ander, P., 1990. *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components*. Springer-Verlag, Berlin.
- Espitalié, J., Deroo, D., Marquis, F., 1985. La pyrolyse Rock-Eval et ses applications. *Revue de l'Institut Français du Pétrole* 563–579, 755–784.
- Esteoule-Choux, J., Bos, P., Blanchet, C., 1988. Le bassin tertiaire de Pipriac (Ille-et-Vilaine) : Structure, mise en évidence de dépôts oligocènes 47–50.
- Evans, J.R., 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78, 9–19.
- Feakins, S.J., Sessions, A.L., 2010. Controls on the D/H ratios of plant leaf waxes in an arid ecosystem. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 2128–2141.
- Fenau, H., 2014. Géochimie (pyrolyse Rock-Eval, COT, CaCO₃, $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ et $\delta^{15}\text{N}_{\text{org}}$) et palynofaciès de sédiments continentaux mésozoïques : stratigraphie, diagenèse et paléoenvironnements (Master thesis). Université de Namur/Université libre de Bruxelles.
- Fengel, P.D.D., 1991. Aging and fossilization of wood and its components. *Wood Sci. Technol.* 25, 153–177.
- Feng, S., Hu, Q., Huang, W., Ho, C.-H., Li, R., Tang, Z., 2014. Projected climate regime shift under future global warming from multi-model, multi-scenario CMIP5 simulations. *Glob. Planet. Change* 112, 41–52.
- Ficken, K.J., Li, B., Swain, D.L., Eglinton, G., 2000. An n-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. *Org. Geochem.* 31, 745–749.
- Flores, D., 2002. Organic facies and depositional palaeoenvironment of lignites from Rio Maior Basin (Portugal). *Int. J. Coal Geol.*, 31st International Geological Congress 48, 181–195.
- Fogel, M.L., Tuross, N., 1999. Transformation of plant biochemicals to geological macromolecules during early diagenesis. *Oecologia* 120, 336–346.
- Fogel, M.L., Wooller, M.J., Cheeseman, J., Smallwood, B.J., Roberts, Q., Romero, I., Jacobsen Meyers, M., 2008. Unusually negative nitrogen isotopic compositions of mangroves and lichens in an oligotrophic, microbially-influenced ecosystem. *Biogeosciences Discuss.* 5, 937–969.
- Fontaine, S., Henault, C., Aamor, A., Bdioui, N., Bloor, J.M.G., Maire, V., Mary, B., Revaillet, S., Maron, P.A., 2011. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol. Biochem.* 43, 86–96.
- Freudenthal, T., Wagner, T., Wenzhöfer, F., Zabel, M., Wefer, G., 2001. Early diagenesis of organic matter from sediments of the eastern subtropical Atlantic: evidence from stable nitrogen and carbon isotopes. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 1795–1808.
- Fry, B., Brand, W., Mersch, F.J., Tholke, K., Garritt, R., 1992. Automated analysis system for coupled $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ measurements. *Anal. Chem.* 64, 288–291.
- Fukasawa, Y., Katsumata, S., Mori, A.S., Osono, T., Takeda, H., 2014. Accumulation and decay dynamics of coarse woody debris in a Japanese old-growth subalpine coniferous forest. *Ecol. Res.* 29, 257–269.
- Gagosian, R.B., Peltzer, E.T., 1986. The importance of atmospheric input of terrestrial organic material to deep sea sediments. *Org. Geochem.* 10, 661–669.
- Gale, A.S., Huggett, J.M., Pälike, H., Laurie, E., Hailwood, E.A., Hardenbol, J., 2006. Correlation of Eocene–Oligocene marine and continental records: orbital cyclicity,

- magnetostratigraphy and sequence stratigraphy of the Solent Group, Isle of Wight, UK. *J. Geol. Soc.* 163, 401–415.
- Galloway, J.N., Aber, J.D., Erisman, J.W., Seitzinger, S.P., Howarth, R.W., Cowling, E.B., Cosby, B.J., 2003. The Nitrogen Cascade. *BioScience* 53, 341–356.
- Gälman, V., Rydberg, J., Bigler, C., 2009. Decadal diagenetic effects on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ studied in varved lake sediment. *Limnol. Oceanogr.* 54, 917–924.
- Garel, S., Schnyder, J., Jacob, J., Dupuis, C., Boussafir, M., Le Milbeau, C., Storme, J.-Y., Iakovleva, A.I., Yans, J., Baudin, F., Fléhoc, C., Quesnel, F., 2013. Paleohydrological and paleoenvironmental changes recorded in terrestrial sediments of the Paleocene–Eocene boundary (Normandy, France). *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 376, 184–199.
- Gat, J.R., 1996. Oxygen and Hydrogen Isotopes in the Hydrologic Cycle. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 24, 225–262.
- Gauvrit, C., Gaillardon, P., 1991. Effect of low temperatures on 2,4-D behaviour in maize plants. *Weed Res.* 31, 135–142.
- Gebauer, G., Schulze, E.-D., 1991. Carbon and nitrogen isotope ratios in different compartments of a healthy and a declining *Picea abies* forest in the Fichtelgebirge, NE Bavaria. *Oecologia* 87, 198–207.
- Gee, H., 2000. *Shaking the Tree: Readings from Nature in the History of Life*. University of Chicago Press.
- Gerhart, L.M., McLauchlan, K.K., 2014. Reconstructing terrestrial nutrient cycling using stable nitrogen isotopes in wood. *Biogeochemistry* 120, 1–21.
- Ghirardi, J., Jacob, J., Huguet, A., Bauer, H., Milbeau, C.L., Châteauneuf, J.-J., Quesnel, F., Di-Giovanni, C., 2014. A unique high resolution record of climate and vegetation changes during the EOT. The CDB1 core, Rennes Basin, France. *Climate and Biotic Events of the Paleogene*. Presented at the Climate and Biotic Events of the Paleogene, CBEB 2014, Ferrara, Italy, p. 2.
- Ghirardi, J., Jacob, J., Milbeau, C.L., Bauer, H., Quesnel, F., Fléhoc, C., Schnyder, J., Di-Giovanni, C., 2013. Biomarker assemblages associated with the Eocene-Oligocene transition in lacustrine deposits of the Rennes Basin (France). Presented at the 26th International meeting on Organic Geochemistry : IMOG 2013.
- Gibson, K.A., Thunell, R.C., Tappa, E.J., Peterson, L.C., McConnell, M., 2015. The influence of rapid, millennial scale climate change on nitrogen isotope dynamics of the Cariaco Basin during marine isotope stage 3. *Paleoceanography* 30, 2014PA002684.
- Giger, W., Schaffner, C., Wakeham, S.G., 1980. Aliphatic and olefinic hydrocarbons in recent sediments of Greifensee, Switzerland. *Geochim. Cosmochim. Acta* 44, 119–129.
- Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W., 2010. *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols*. PPUR Presses polytechniques.
- Grantham, P.J., Douglas, A.G., 1980. The nature and origin of sesquiterpenoids in some tertiary fossil resins. *Geochim. Cosmochim. Acta* 44, 1801–1810.
- Grice, K., Riding, J.B., Foster, C.B., Naeher, S., Greenwood, P.F., 2015. Vascular plant biomarker distributions and stable carbon isotopic signatures from the Middle and Upper Jurassic (Callovian–Kimmeridgian) strata of Staffin Bay, Isle of Skye, northwest Scotland. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 440, 307–315.
- Gruber, N., Galloway, J.N., 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature* 451, 293–296.
- Haasl, D.M., Hansen, T.A., 1996. Timing of Latest Eocene Molluscan Extinction Patterns in Mississippi. *PALAIOS* 11, 487–494.

- Haider, K., 1991. Problems Related to the Humification Processes in Soils of Temperate Climates, Bollag, J.-M., Stotzky, G. (Eds.). ed. New-York.
- Hallam, A., 1967. An Environmental Study of the Upper Domerian and Lower Toarcian in Great Britain. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 252, 393–445.
- Handley, L.L., Austin, A.T., Stewart, G.R., Robinson, D., Scrimgeour, C.M., Raven, J.A., Heaton, T.H.E., Schmidt, S., 1999. The ^{15}N natural abundance ($\delta^{15}\text{N}$) of ecosystem samples reflects measures of water availability. *Funct. Plant Biol.* 26, 185–199.
- Handley, L., O'Halloran, A., Pearson, P.N., Hawkins, E., Nicholas, C.J., Schouten, S., McMillan, I.K., Pancost, R.D., 2012. Changes in the hydrological cycle in tropical East Africa during the Paleocene–Eocene Thermal Maximum. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 329–330, 10–21.
- Hansen, J., Sato, M., Kharecha, P., Beerling, D., Berner, R., Masson-Delmotte, V., Pagani, M., Raymo, M., Royer, D.L., Zachos, J.C., 2008. Target Atmospheric CO₂: Where Should Humanity Aim? *Open Atmospheric Sci. J.* 2, 217–231.
- Harris, D., Horwath, W.R., van Kessel, C., 2001. Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbon or CARBON-13 isotopic analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 1853.
- Hautevelle, Y., 2005. Géochimie organique des séries argilo-carbonatées du Callovo-Oxfordien de l'Est du bassin de Paris et d'Angleterre. Variabilités et implications paléoenvironnementales. Nancy I.
- Hautevelle, Y., Michels, R., Malartre, F., Trouiller, A., 2006. Vascular plant biomarkers as proxies for palaeoflora and palaeoclimatic changes at the Dogger/Malm transition of the Paris Basin (France). *Org. Geochem.* 37, 610–625.
- Heaton, T.H.E., 1987. The $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios of plants in South Africa and Namibia: relationship to climate and coastal/saline environments. *Oecologia* 74, 236–246.
- Hermoso, M., Minoletti, F., Rickaby, R.E.M., Hesselbo, S.P., Baudin, F., Jenkyns, H.C., 2012. Dynamics of a stepped carbon-isotope excursion: Ultra high-resolution study of Early Toarcian environmental change. *Earth Planet. Sci. Lett.* 319–320, 45–54.
- Hermoso, M., Pellenard, P., 2014. Continental weathering and climatic changes inferred from clay mineralogy and paired carbon isotopes across the early to middle Toarcian in the Paris Basin. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 399, 385–393.
- Hesselbo, S.P., Gröcke, D.R., Jenkyns, H.C., Bjerrum, C.J., Farrimond, P., Morgans Bell, H.S., Green, O.R., 2000. Massive dissociation of gas hydrate during a Jurassic oceanic anoxic event. *Nature* 406, 392–395.
- Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., 1998. British Lower Jurassic Sequence Stratigraphy.
- Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., Duarte, L.V., Oliveira, L.C.V., 2007. Carbon-isotope record of the Early Jurassic (Toarcian) Oceanic Anoxic Event from fossil wood and marine carbonate (Lusitanian Basin, Portugal). *Earth Planet. Sci. Lett.* 253, 455–470.
- Hobbie, E.A., Hobbie, J.E., 2008. Natural Abundance of ^{15}N in Nitrogen-Limited Forests and Tundra Can Estimate Nitrogen Cycling Through Mycorrhizal Fungi: A Review. *Ecosystems* 11, 815–830.
- Hobbie, E.A., Högberg, P., 2012. Nitrogen isotopes link mycorrhizal fungi and plants to nitrogen dynamics. *New Phytol.* 196, 367–382.
- Hobbie, E.A., van Diepen, L.T.A., Lilleskov, E.A., Ouimette, A.P., Finzi, A.C., Hofmockel, K.S., 2014. Fungal functioning in a pine forest: evidence from a ^{15}N -labeled global change experiment. *New Phytol.* 201, 1431–1439.

- Hodell, D.A., Schelske, C.L., 1998. Production, sedimentation, and isotopic composition of organic matter in Lake Ontario. *Limnol. Oceanogr.* 43, 200–214.
- Hollander, D.J., Sinninghe Damsté, J.S., Hayes, J.M., de Leeuw, J.W., Huc, A.Y., 1993. Molecular and bulk isotopic analyses of organic matter in marls of the Mulhouse Basin (Tertiary, Alsace, France). *Org. Geochem.* 20, 1253–1263.
- Hou, J., Huang, Y., Wang, Y., Shuman, B., Oswald, W.W., Faison, E., Foster, D.R., 2006. Postglacial climate reconstruction based on compound-specific D/H ratios of fatty acids from Blood Pond, New England. *Geochem. Geophys. Geosystems* 7(3).
- Houlton, B.Z., Sigman, D.M., Schuur, E.A.G., Hedin, L.O., 2007. A climate-driven switch in plant nitrogen acquisition within tropical forest communities. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 8902–8906.
- Hren, M.T., Sheldon, N.D., Grimes, S.T., Collinson, M.E., Hooker, J.J., Bugler, M., Lohmann, K.C., 2013. Terrestrial cooling in Northern Europe during the eocene-oligocene transition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 7562–7567.
- Huang, Y., Shuman, B., Wang, Y., Webb, T., 2004. Hydrogen isotope ratios of individual lipids in lake sediments as novel tracers of climatic and environmental change: a surface sediment test. *J. Paleolimnol.* 31, 363–375.
- Huguet, A., Fosse, C., Laggoun-Défarge, F., Delarue, F., Derenne, S., 2013. Effects of a short-term experimental microclimate warming on the abundance and distribution of branched GDGTs in a French peatland. *Geochim. Cosmochim. Acta* 105, 294–315.
- Ivany, L.C., Patterson, W.P., Lohmann, K.C., 2000. Cooler winters as a possible cause of mass extinctions at the Eocene/Oligocene boundary. *Nature* 407, 887–890.
- Izart, A., Palhol, F., Gleixner, G., Elie, M., Blaise, T., Suarez-Ruiz, I., Sachsenhofer, R.F., Privalov, V.A., Panova, E.A., 2012. Palaeoclimate reconstruction from biomarker geochemistry and stable isotopes of n-alkanes from Carboniferous and Early Permian humic coals and limnic sediments in western and eastern Europe. *Org. Geochem.* 43, 125–149.
- Jacob, J., Huang, Y., Disnar, J.-R., Sifeddine, A., Boussafir, M., Spadano Albuquerque, A.L., Turcq, B., 2007. Paleohydrological changes during the last deglaciation in Northern Brazil. *Quat. Sci. Rev.* 26, 1004–1015.
- Jaeger, J.L., 1967. Un alignement d'anomalies légères coïncidant avec des bassins tertiaires en Bretagne (Mém. BRGM No. 52).
- Janbu, A.D., Paasche, Ø., Talbot, M.R., 2011. Paleoclimate changes inferred from stable isotopes and magnetic properties of organic-rich lake sediments in Arctic Norway. *J. Paleolimnol.* 46, 29–44.
- Jansson, I.-M., McLoughlin, S., Vajda, V., Pole, M., 2008. An Early Jurassic flora from the Clarence-Moreton Basin, Australia. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 150, 5–21.
- Jantalia, C.P., Halvorson, A.D., Follett, R.F., Rodrigues Alves, B.J., Polidoro, J.C., Urquiaga, S., 2012. Nitrogen Source Effects on Ammonia Volatilization as Measured with Semi-Static Chambers. *Agron. J.* 104, 1595.
- Jenkyns, H.C., 1988. The early Toarcian (Jurassic) anoxic event; stratigraphic, sedimentary and geochemical evidence. *Am. J. Sci.* 288, 101–151.
- Jenkyns, H.C., Gröcke, D.R., Hesselbo, S.P., 2001. Nitrogen isotope evidence for water mass denitrification during the Early Toarcian (Jurassic) oceanic anoxic event. *Paleoceanography* 16, 593–603.
- Jenkyns, H.C., Sarti, M., Masetti, D., Howarth, M.K., 1985. Ammonites and stratigraphy of Lower Jurassic black shales and pelagic limestones from the Belluno Trough, Southern Alps, Italy. *Eclogaegeol Helvetiae* 78, 299–311.

- Johnson, B., Goldblatt, C., 2015. The nitrogen budget of Earth. *Earth-Sci. Rev.* 148, 150–173.
- Jurisch, A., Krooss, B.M., 2008. A pyrolytic study of the speciation and isotopic composition of nitrogen in carboniferous shales of the North German Basin. *Org. Geochem., Advances in Organic Geochemistry 2007 Proceedings of the 23rd International Meeting on Organic Geochemistry* 39, 924–928.
- Kalaitzidis, S., Bouzinos, A., Papazisimou, S., Christanis, K., 2004. A short-term establishment of forest fen habitat during Pliocene lignite formation in the Ptolemais Basin, NW Macedonia, Greece. *Int. J. Coal Geol.* 57, 243–263.
- Katz, M.E., Miller, K.G., Wright, J.D., Wade, B.S., Browning, J.V., Cramer, B.S., Rosenthal, Y., 2008. Stepwise transition from the Eocene greenhouse to the Oligocene icehouse. *Nat. Geosci.* 1, 329–334.
- Kautz, C.Q., 2002. The mineralogical record of Eocene-Oligocene climate change in the Clarno and John Day Formations, central Oregon [WWW Document].
- Kelemen, S.R., Afeworki, M., Gorbaty, M.L., Kwiatek, P.J., Sansone, M., Walters, C.C., Cohen, A.D., 2006. Thermal Transformations of Nitrogen and Sulfur Forms in Peat Related to Coalification. *Energy Fuels* 20, 635–652.
- Kemp, D.B., Coe, A.L., Cohen, A.S., Schwark, L., 2005. Astronomical pacing of methane release in the Early Jurassic period. *Nature* 437, 396–399.
- Kennett, J.P., 1977. Cenozoic evolution of Antarctic glaciation, the circum-Antarctic Ocean, and their impact on global paleoceanography. *J. Geophys. Res.* 82, 3843–3860.
- Kennett, J.P., Shackleton, N.J., 1976. Oxygen isotopic evidence for the development of the psychrosphere 38 Myr ago. *Nature* 260, 513–515.
- Kennett, J.P., Stott, L.D., 1991. Abrupt deep-sea warming, palaeoceanographic changes and benthic extinctions at the end of the Paleocene *Nature* 353, 225–229.
- Kienast, M., 2000. Unchanged nitrogen isotopic composition of organic matter in the South China Sea during the last climatic cycle: Global implications. *Paleoceanography* 15, 244–253.
- Kikuchi, T., Suzuki, N., Saito, H., 2010. Change in hydrogen isotope composition of n-alkanes, pristane, phytane, and aromatic hydrocarbons in Miocene siliceous mudstones with increasing maturity. *Org. Geochem.* 41, 940–946.
- Killops, S.D., Killops, V.J., 2005. *An Introduction to Organic Geochemistry*. 2nd Ed Willey-Blackwell Oxf.
- Kirichkova, A.I., Doludenko, M.P., 1996. New data on the phytostratigraphy of the Jurassic deposits of Kazakhstan. *Stratigr. Geol. Korreliatsiia* 4, 35–53.
- Knicker, H., 2004. Stabilization of N-compounds in soil and organic-matter-rich sediments—what is the difference? *Mar. Chem., New Approaches in Marine Organic Biogeochemistry: A Tribute to the Life and Science of John I. Hedges* 92, 167–195.
- Knicker, H., Almendros, G., González-Vila, F.J., Lüdemann, H.-D., Martin, F., 1995. ¹³C and ¹⁵N NMR analysis of some fungal melanins in comparison with soil organic matter. *Org. Geochem.* 23, 1023–1028.
- Knicker, H., Almendros, G., González-Vila, F.J., Martin, F., Lüdemann, H.-D., 1996c. ¹³C- and ¹⁵N-NMR spectroscopic examination of the transformation of organic nitrogen in plant biomass during thermal treatment. *Soil Biol. Biochem.* 28, 1053–1060.
- Knicker, H., Fründ, R., Lüdemann, H.-D., 1993. The chemical nature of nitrogen in native soil organic matter. *Naturwissenschaften* 80, 219–221.
- Knicker, H., Hatcher, P.G., Gonzalez-Vila, F.J., 2002. Formation of heteroaromatic nitrogen after prolonged humification of vascular plant remains as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Env. Qual* 31, 441–449.

- Knicker, H., Hatcher, P.G., Scaroni, A.W., 1996b. A solid-state ^{15}N NMR spectroscopic investigation of the origin of nitrogen structures in coal. *Int. J. Coal Geol.* 32, 255–278.
- Knicker, H., Lüdemann, H.-D., 1995. N-15 and C-13 CPMAS and solution NMR studies of ^{15}N -enriched plant material during 600 days of microbial degradation. *Org. Geochem.* 23, 329–341.
- Knicker, H., Río, J.C. del, Hatcher, P.G., Minard, R.D., 2001. Identification of protein remnants in insoluble geopolymers using TMAH thermochemolysis/GC–MS. *Org. Geochem.* 32, 397–409.
- Knicker, H., Scaroni, A.W., Hatcher, P.G., 1996a. ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopic investigation on the formation of fossil algal residues. *Org. Geochem., Organic Geochemistry* 24, 661–669.
- Koepp, M., 1978. D/H isotope exchange reaction between petroleum and water: A contributory determinant for D/H-isotope ratios in crude oils? U.S. Geological Survey, 221–222.
- Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 34, 139–162.
- Korte, C., Hesselbo, S.P., 2011. Shallow marine carbon and oxygen isotope and elemental records indicate icehouse-greenhouse cycles during the Early Jurassic. *Paleoceanography* 26, PA4219.
- Kos'ko, M., Korago, E., 2009. Review of geology of the New Siberian Islands between the Laptev and the East Siberian Seas, North East Russia. *Stephan Mueller SpecPublSer* 4, 45–64.
- Kramer, M.G., Sollins, P., Sletten, R.S., Swart, P.K., 2003. N isotope fractionation and measures of organic matter alteration during decomposition. *Ecology* 84, 2021–2025.
- Kranabetter, J.M., Saunders, S., MacKinnon, J.A., Klassen, H., Spittlehouse, D.L., 2012. An Assessment of Contemporary and Historic Nitrogen Availability in Contrasting Coastal Douglas-Fir Forests Through $\delta^{15}\text{N}$ of Tree Rings. *Ecosystems* 16, 111–122.
- Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Zasoski, R.J., 2003. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. *Plant Soil* 256, 41–66.
- Ladygina, N., Dedyukhina, E.G., Vainshtein, M.B., 2006. A review on microbial synthesis of hydrocarbons. *Process Biochem.* 41, 1001–1014.
- Laiho, R., Prescott, C.E., 2004. Decay and nutrient dynamics of coarse woody debris in northern coniferous forests: a synthesis. *Can. J. For. Res.* 34, 763–777.
- Lambers, H., Mougél, C., Jaillard, B., Hinsinger, P., 2009. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant Soil* 321, 83–115.
- Larson, T.E., Heikoop, J.M., Perkins, G., Chipera, S.J., Hess, M.A., 2008. Pretreatment technique for siderite removal for organic carbon isotope and C:N ratio analysis in geological samples. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22, 865–872.
- Lear, C.H., Bailey, T.R., Pearson, P.N., Coxall, H.K., Rosenthal, Y., 2008. Cooling and ice growth across the Eocene-Oligocene transition. *Geology* 36, 251–254.
- Lear, C.H., Rosenthal, Y., Coxall, H.K., Wilson, P.A., 2004. Late Eocene to early Miocene ice sheet dynamics and the global carbon cycle. *Paleoceanography* 19, PA4015.
- Leavitt, S.W., 2010. Tree-ring C–H–O isotope variability and sampling. *Sci. Total Environ.* 408, 5244–5253.
- Lehmann, M.F., Bernasconi, S.M., Barbieri, A., McKenzie, J.A., 2002. Preservation of organic matter and alteration of its carbon and nitrogen isotope composition during simulated and in situ early sedimentary diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 66, 3573–3584.

- Lerch, T.Z., Nunan, N., Dignac, M.-F., Chenu, C., Mariotti, A., 2010. Variations in microbial isotopic fractionation during soil organic matter decomposition. *Biogeochemistry* 106, 5–21.
- Lichtfouse, É., Derenne, S., Mariotti, A., Largeau, C., 1994. Possible algal origin of long chain odd n-alkanes in immature sediments as revealed by distributions and carbon isotope ratios. *Org. Geochem.* 22, 1023–1027.
- Lipson, D., Näsholm, T., 2001. The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems. *Oecologia* 128, 305–316.
- Littler, K., Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., 2010. A carbon-isotope perturbation at the Pliensbachian–Toarcian boundary: evidence from the Lias Group, NE England. *Geol. Mag.* 147, 181–192.
- Liu, W., Wang, Z., 2008. Nitrogen isotopic composition of plant-soil in the Loess Plateau and its responding to environmental change. *Chin. Sci. Bull.* 54, 272–279.
- Liu, X., Wang, G., 2010. Measurements of nitrogen isotope composition of plants and surface soils along the altitudinal transect of the eastern slope of Mount Gongga in southwest China. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 24, 3063–3071.
- Lu, Y., Hauteville, Y., Michels, R., 2013. Determination of the molecular signature of fossil conifers by experimental palaeochemotaxonomy – Part 1: The Araucariaceae family. *Biogeosciences* 10, 1943–1962.
- Mace, G., Masundire, H., Baillie, J., 2005. *Ecosystems and Human Well-being. Current State and Trends*, Hassan, H., Scholes, R. and Ash N. ed. Island Press.
- Macko, S.A., Estep, M.L.F., 1984. Microbial alteration of stable nitrogen and carbon isotopic compositions of organic matter. *Org. Geochem.* 6, 787–790.
- Macko, S.A., Fogel, M.L., Hare, P.E., Hoering, T.C., 1987. Isotopic fractionation of nitrogen and carbon in the synthesis of amino acids by microorganisms. *Chem. Geol. Isot. Geosci. Sect.* 65, 79–92.
- Ma, J.-Y., Sun, W., Liu, X.-N., Chen, F.-H., 2012. Variation in the Stable Carbon and Nitrogen Isotope Composition of Plants and Soil along a Precipitation Gradient in Northern China. *PLOS ONE* 7, e51894.
- Mariotti, A., 1983. Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ¹⁵N abundance measurements. *Nature* 303, 685–687.
- Mariotti, A., Mariotti, F., Champigny, M.-L., Amarger, N., Moyse, A., 1982. Nitrogen Isotope Fractionation Associated with Nitrate Reductase Activity and Uptake of NO₃⁻ by Pearl Millet. *Plant Physiol.* 69, 880–884.
- Martinelli, L.A., Piccolo, M.C., Townsend, A.R., Vitousek, P.M., Cuevas, E., McDowell, W., Robertson, G.P., Santos, O.C., Treseder, K., 1999. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests, in: Townsend, A.R. (Ed.), *New Perspectives on Nitrogen Cycling in the Temperate and Tropical Americas*. Springer Netherlands, pp. 45–65.
- Martínez, A.T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F.J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M.J., Gutiérrez, A., del Río, J.C., 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int. Microbiol. Off. J. Span. Soc. Microbiol.* 8, 195–204.
- Martinez, M., Dera, G., 2015. Orbital pacing of carbon fluxes by a ~9-My eccentricity cycle during the Mesozoic. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201419946.

- Marynowski, L., Philippe, M., Zaton, M., Hautevelle, Y., 2008. Systematic relationships of the Mesozoic wood genus *Xenoxylon*: an integrative biomolecular and palaeobotanical approach. *Neues Jahrb. Für Geol. Paläontol. - Abh.* 247, 177–189.
- Marynowski, L., Smolarek, J., Bechtel, A., Philippe, M., Kurkiewicz, S., Simoneit, B.R.T., 2013. Perylene as an indicator of conifer fossil wood degradation by wood-degrading fungi. *Org. Geochem.* 59, 143–151.
- Mayer, L.M., 1994. Relationship between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments 114, 347–363.
- Mayor, J.R., Schuur, E.A.G., Mack, M.C., Hollingsworth, T.N., Bååth, E., 2012. Nitrogen Isotope Patterns in Alaskan Black Spruce Reflect Organic Nitrogen Sources and the Activity of Ectomycorrhizal Fungi. *Ecosystems* 15, 819–831.
- McClaugherty, C.A., Aber, J.D., Melillo, J.M., 1982. The Role of Fine Roots in the Organic Matter and Nitrogen Budgets of Two Forested Ecosystems. *Ecology* 63, 1481–1490.
- McInerney, F.A., Wing, S.L., 2011. The Paleocene-Eocene Thermal Maximum: A Perturbation of Carbon Cycle, Climate, and Biosphere with Implications for the Future. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 39, 489–516.
- Melillo, J.M., Aber, J.D., Linkins, A.E., Ricca, A., Fry, B., Nadelhoffer, K.J., 1989. Carbon and nitrogen dynamics along the decay continuum: Plant litter to soil organic matter, in: Clarholm, M., Bergström, L. (Eds.), *Ecology of Arable Land — Perspectives and Challenges, Developments in Plant and Soil Sciences*. Springer Netherlands, pp. 53–62.
- Melillo, J.M., Naiman, R.J., Aber, J.D., Linkins, A.E., 1984. Factors Controlling Mass Loss and Nitrogen Dynamics of Plant Litter Decaying in Northern Streams. *Bull. Mar. Sci.* 35, 341–356.
- Meunlenkamp, J.E., Sissingh, W., Popov, S.V., Kovac, M., Bergerat, F., 2010. Atlas peri-Tethys palaeogeographical maps. Dercourt, J., Gaetani, M., Vrielynck, B., Barrier, E., Biju-Duval, B., Brunet, M.F., Cadet, J.P., Crasquin, S. and Sandulescu, M.
- Meyers, P.A., 1997. Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes. *Org. Geochem.* 27, 213–250.
- Meyers, P.A., Ishiwatari, R., 1993. Lacustrine organic geochemistry—an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Org. Geochem.* 20, 867–900.
- Meyers, P., Leenheer, M., Bourbonniere, R., 1995. Diagenesis of Vascular Plant Organic Matter Components during Burial in Lake Sediments. *Aquat. Geochem.* 1, 35–52.
- Miao, F., Qian, L., Zhang, X., 1989. Peat-forming materials and evolution of swamp sequences — case analysis of a Jurassic inland coal basin in China. *Int. J. Coal Geol.* 12, 733–765.
- Miller, K.G., Browning, J.V., Aubry, M.-P., Wade, B.S., Katz, M.E., Kulpecz, A.A., Wright, J.D., 2008. Eocene–Oligocene global climate and sea-level changes: St. Stephens Quarry, Alabama. *Geol. Soc. Am. Bull.* 120, 34–53.
- Miller, K.G., Fairbanks, R.G., Mountain, G.S., 1987. Tertiary oxygen isotope synthesis, sea level history, and continental margin erosion. *Paleoceanography* 2, 1–19.
- Miller, K.G., Wright, J.D., Fairbanks, R.G., 1991. Unlocking the Ice House: Oligocene-Miocene oxygen isotopes, eustasy, and margin erosion. *J. Geophys. Res. Solid Earth* 96, 6829–6848.
- Miller, K.G., Wright, J.D., Katz, M.E., Wade, B.S., Browning, J.V., Cramer, B.S., Rosenthal, Y., 2009. Climate threshold at the Eocene-Oligocene transition: Antarctic ice sheet influence on ocean circulation. *Geol. Soc. Am. Spec. Pap.* 452, 169–178.
- Miller, L., Houghton, J.A., 1945. The Micro-Kjeldahl Determination of the Nitrogen Content of Amino Acids and Proteins. *J. Biol. Chem.* 159, 373–383.

- Moore, D.M., Reynolds, R.C.J., 1997. X-Ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Mineral.
- Morales, C., Gardin, S., Schnyder, J., Spangenberg, J., Arnaud-Vanneau, A., Arnaud, H., Adatte, T., Föllmi, K.B., 2013. Berriasian and early Valanginian environmental change along a transect from the Jura Platform to the Vocontian Basin. *Sedimentology* 60, 36–63.
- Morard, A., Guex, J., Bartolini, A., Morettini, E., Wever, P. de, 2003. A new scenario for the Domerian - Toarcian transition. *Bull. Soc. Geol. Fr.* 174, 351–356.
- Morgans, H.S., Hesselbo, S.P., Spicer, R.A., 1999. The Seasonal Climate of the Early-Middle Jurassic, Cleveland Basin, England. *PALAIOS* 14, 261.
- Mosbrugger, V., Utescher, T., Dilcher, D.L., 2005. Cenozoic continental climatic evolution of Central Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 14964–14969.
- Moss, B., Jeppesen, E., Søndergaard, M., Lauridsen, T.L., Liu, Z., 2012. Nitrogen, macrophytes, shallow lakes and nutrient limitation: resolution of a current controversy? *Hydrobiologia* 710, 3–21.
- Mozley, P.S., 1989. Relation between depositional environment and the elemental composition of early diagenetic siderite. *Geology* 17, 704–706.
- Mozley, P.S., Wersin, P., 1992. Isotopic composition of siderite as an indicator of depositional environment. *Geology* 20, 817–820.
- Mügler, I., Sachse, D., Werner, M., Xu, B., Wu, G., Yao, T., Gleixner, G., 2008. Effect of lake evaporation on δD values of lacustrine n-alkanes: A comparison of Nam Co (Tibetan Plateau) and Holzmaar (Germany). *Org. Geochem.* 39, 711–729.
- Müller, P.J., 1977. CN ratios in Pacific deep-sea sediments: Effect of inorganic ammonium and organic nitrogen compounds sorbed by clays. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 765–776.
- Nakamura, H., Sawada, K., Takahashi, M., 2010. Aliphatic and aromatic terpenoid biomarkers in Cretaceous and Paleogene angiosperm fossils from Japan. *Org. Geochem., Advances in Organic Geochemistry 2009 Proceedings of the 24th International Meeting on Organic Geochemistry* 41, 975–980.
- Nichols, J., Booth, R.K., Jackson, S.T., Pendall, E.G., Huang, Y., 2010. Differential hydrogen isotopic ratios of Sphagnum and vascular plant biomarkers in ombrotrophic peatlands as a quantitative proxy for precipitation—evaporation balance. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 1407–1416.
- Nichols, J.E., Walcott, M., Bradley, R., Pilcher, J., Huang, Y., 2009. Quantitative assessment of precipitation seasonality and summer surface wetness using ombrotrophic sediments from an Arctic Norwegian peatland. *Quat. Res.* 72, 443–451.
- Nip, M., de Leeuw, J.W., Holloway, P.J., Jensen, J.P.T., Sprenkels, J.C.M., de Pooter, M., Sleekx, J.J.M., 1987. Comparison of flash pyrolysis, differential scanning calorimetry, ^{13}C NMR and IR spectroscopy in the analysis of a highly aliphatic biopolymer from plant cuticles. *J Anal Appl Pyrolysis* 11, 287–295.
- Nott, C.J., Xie, S., Avsejs, L.A., Maddy, D., Chambers, F.M., Evershed, R.P., 2000. *n*-Alkane distributions in ombrotrophic mires as indicators of vegetation change related to climatic variation. *Org. Geochem.* 31, 231–235.
- Oh, C., Philippe, M., Kim, K., 2015. Xenoxylon Synecology and Palaeoclimatic Implications for the Mesozoic of Eurasia. *Acta Palaeontol. Pol.* 60, 245–256.
- Ohmoto, H., Watanabe, Y., Kumazawa, K., 2004. Evidence from massive siderite beds for a CO₂-rich atmosphere before ~ 1.8 billion years ago. *Nature* 429, 395–399.
- Ollivier-Pierre, M.-F., Gruas-Cavagnetto, C., Roche, E., Schuler, M., 1987. Eléments de flore de type tropical et variations climatiques au Paléogène dans quelques bassins d'Europe Nord-

- Occidentale, in: Mémoires et travaux de l'Institut de Montpellier. Presented at the Association des palynologues de langue française. Symposium. 9, Ecole pratique des hautes études, Institut de Montpellier, pp. 173–205.
- Ollivier-Pierre, M.F., Maupin, C., Estéoule-Choux, J., Sittler, C., 1993. Transgression et paleoenvironnement à l'Oligocène en Bretagne (France). *Sédimentologie, micropaléontologie, palynologie et palynofaciès du Rupélien du Bassin de Rennes*. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 103, 223–250.
- Oros, D., Standley, L.J., Chen, X., Simoneit, B.R.T., 1999. Epicuticular wax compositions of predominant conifers of Western North America. *Z. Naturforsch* 54c, 17–24.
- Otto, A., Simoneit, B.R.T., 2001. Chemosystematics and diagenesis of terpenoids in fossil conifer species and sediment from the Eocene Zeitz formation, Saxony, Germany. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 3505–3527.
- Otto, A., Wilde, V., 2001. Sesqui-, Di-, and Triterpenoids as Chemosystematic Markers in Extant Conifers-- A review. *Bot. Rev.* 67, 141–238.
- Ourisson, G., Albrecht, P., Rohmer, M., 1979. The Hopanoids : palaeochemistry and biochemistry of a group of natural products. *Pure Appl. Chem.* 51, 709–729.
- Pagani, M., Pedentchouk, N., Huber, M., Sluijs, A., Schouten, S., Brinkhuis, H., Sinninghe Damsté, J.S., Dickens, G.R., Expedition 302 Scientists, Backman, J., Clemens, S., Cronin, T., Eynaud, F., Gattacceca, J., Jakobsson, M., Jordan, R., Kaminski, M., King, J., Koc, N., Martinez, N.C., McInroy, D., Jr, T.C.M., O'Regan, M., Onodera, J., Pälike, H., Rea, B., Rio, D., Sakamoto, T., Smith, D.C., John, K.E.K.S., Suto, I., Suzuki, N., Takahashi, K., Watanabe, M., Yamamoto, M., 2006. Arctic hydrology during global warming at the Palaeocene/Eocene thermal maximum. *Nature* 442, 671–675.
- Pagani, M., Zachos, J.C., Freeman, K.H., Tipple, B., Bohaty, S., 2005. Marked Decline in Atmospheric Carbon Dioxide Concentrations During the Paleogene. *Science* 309, 600–603.
- Painter, P.C., Youtcheff, J., Given, P.H., 1980. Concerning the putative presence of nitrate in lignites. *Fuel* 59, 523–526.
- Paris, G., Beaumont, V., Bartolini, A., Clémence, M.-E., Gardin, S., Page, K., 2010. Nitrogen isotope record of a perturbed paleoecosystem in the aftermath of the end-Triassic crisis, Doniford section, SW England. *Geochem. Geophys. Geosystems* 11.
- Pedentchouk, N., Freeman, K.H., Harris, N.B., 2006. Different response of δD values of n-alkanes, isoprenoids, and kerogen during thermal maturation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70, 2063–2072.
- Pels, J.R., Kapteijn, F., Moulijn, J.A., Zhu, Q., Thomas, K.M., 1995. Evolution of nitrogen functionalities in carbonaceous materials during pyrolysis. *Carbon* 33, 1641–1653.
- Peterse, F., van der Meer, J., Schouten, S., Weijers, J.W.H., Fierer, N., Jackson, R.B., Kim, J.-H., Sinninghe Damsté, J.S., 2012. Revised calibration of the MBT–CBT paleotemperature proxy based on branched tetraether membrane lipids in surface soils. *Geochim. Cosmochim. Acta* 96, 215–229.
- Peters, K.E., Walters, C.C., Moldowan, J.M., 2005. *The Biomarker Guide: Biomarkers and isotopes in the environment and human history*. Cambridge University Press.
- Philippe, M., Bamford, M., 2008. A key to morphogenera used for Mesozoic conifer-like woods. *Review of Palaeobotany and Palynology*. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 148, 184–207.
- Philippe, M., Jiang, H.-E., Kim, K., Oh, C., Gromyko, D., Harland, M., Paik, I.-S., Thévenard, F., 2009. Structure and diversity of the Mesozoic wood genus *Xenoxylon* in Far East Asia: implications for terrestrial palaeoclimates. *Lethaia* 42, 393–406.

- Philippe, M., Tchoumatchenco, P., 2008. Palaeoecologically significant wood genus *Xenoxylon* discovered in the East Stara Planina Mts. (East Bulgaria) Balaban Formation (Toarcian, Early Jurassic). *Comptes Rendus Acad. Bulg. Sci.* 61, 633–638.
- Philippe, M., Thévenard, F., 1996. Distribution and palaeoecology of the Mesozoic wood genus *Xenoxylon*: palaeoclimatological implications for the Jurassic of Western Europe. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 91, 353–370.
- Philippe, M., Thevenard, F., Nosova, N., Kim, K., Naugolnykh, S., 2013. Systematics of a palaeoecologically significant boreal Mesozoic fossil wood genus, *Xenoxylon* Gothan. *Palaeobot Palynol* 193, 128–140.
- Philp, R.P., 1985. Fossil fuel biomarkers: Applications and spectra, *Methods in Geochemistry and Geophysics*. Elsevier.
- Poulson, S.R., Chamberlain, C.P., Friedland, A.J., 1995. Nitrogen isotope variation of tree rings as a potential indicator of environmental change. *Chem. Geol.* 125, 307–315.
- Pride, C., Thunell, R., Sigman, D., Keigwin, L., Altabet, M., Tappa, E., 1999. Nitrogen isotopic variations in the Gulf of California since the Last Deglaciation: Response to global climate change. *Paleoceanography* 14, 397–409.
- Prokopenko, M.G., Hammond, D.E., Berelson, W.M., Bernhard, J.M., Stott, L., Douglas, R., 2006. Nitrogen cycling in the sediments of Santa Barbara basin and Eastern Subtropical North Pacific: Nitrogen isotopes, diagenesis and possible chemosymbiosis between two lithotrophs (*Thioploca* and *Anammox*)—“riding on a glider.” *Earth Planet. Sci. Lett.* 242, 186–204.
- Radke, J., Bechtel, A., Gaupp, R., Püttmann, W., Schwark, L., Sachse, D., Gleixner, G., 2005. Correlation between hydrogen isotope ratios of lipid biomarkers and sediment maturity. *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, 5517–5530.
- Rafter, P.A., Charles, C.D., 2012. Pleistocene equatorial Pacific dynamics inferred from the zonal asymmetry in sedimentary nitrogen isotopes. *Paleoceanography* 27, PA3102.
- Ramade, F., 2012. *Ecologie appliquée : Action de l’Homme sur la biosphère*, Dunod. ed, *Éléments d’écologie*.
- Rao, Z., Jia, G., Qiang, M., Zhao, Y., 2014. Assessment of the difference between mid- and long chain compound specific δD_n -alkanes values in lacustrine sediments as a paleoclimatic indicator. *Org. Geochem.* 76, 104–117.
- Ravishankara, A.R., Daniel, J.S., Portmann, R.W., 2009. Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century. *Science* 326, 123–125.
- Rees, P., Ziegler, A., Valdes, P., 2000. Jurassic phytogeography and climates: new data and model comparisons. *Warm Clim. Earth Hist. Camb. Univ. Press* 297–318.
- Riboulleau, A., Schnyder, J., Riquier, L., Lefebvre, V., Baudin, F., Deconinck, J.-F., 2007. Environmental change during the Early Cretaceous in the Purbeck-type Durlston Bay section (Dorset, Southern England): A biomarker approach. *Org. Geochem.* 38, 1804–1823.
- Rioual, P., Andrieu-Ponel, V., Rietti-Shati, M., Battarbee, R.W., de Beaulieu, J.-L., Cheddadi, R., Reille, M., Svobodova, H., Shemesh, A., 2001. High-resolution record of climate stability in France during the last interglacial period. *Nature* 413, 293–296.
- Rivera, K.T., Puckette, J., Quan, T.M., 2015. Evaluation of redox versus thermal maturity controls on $\delta^{15}N$ in organic rich shales: A case study of the Woodford Shale, Anadarko Basin, Oklahoma, USA. *Org. Geochem.* 83–84, 127–139.
- Robinson, D., 2001. $\delta^{15}N$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends Ecol. Evol.* 16, 153–162.
- Robinson, R.S., Kienast, M., Luiza Albuquerque, A., Altabet, M., Contreras, S., De Pol Holz, R., Dubois, N., Francois, R., Galbraith, E., Hsu, T.-C., Ivanochko, T., Jaccard, S., Kao, S.-J.,

- Kiefer, T., Kienast, S., Lehmann, M., Martinez, P., McCarthy, M., Möbius, J., Pedersen, T., Quan, T.M., Ryabenko, E., Schmittner, A., Schneider, R., Schneider-Mor, A., Shigemitsu, M., Sinclair, D., Somes, C., Studer, A., Thunell, R., Yang, J.-Y., 2012. A review of nitrogen isotopic alteration in marine sediments. *Paleoceanography* 27.
- Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F.S., Lambin, E.F., Lenton, T.M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H.J., Nykvist, B., de Wit, C.A., Hughes, T., van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P.K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R.W., Fabry, V.J., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P., Foley, J.A., 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472–475.
- Rosales, I., Quesada, S., Robles, S., 2004. Paleotemperature variations of Early Jurassic seawater recorded in geochemical trends of belemnites from the Basque–Cantabrian basin, northern Spain. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 203, 253–275.
- Sachse, D., Billault, I., Bowen, G.J., Chikaraishi, Y., Dawson, T.E., Feakins, S.J., Freeman, K.H., Magill, C.R., McInerney, F.A., van der Meer, M.T.J., Polissar, P., Robins, R.J., Sachs, J.P., Schmidt, H.-L., Sessions, A.L., White, J.W.C., West, J.B., Kahmen, A., 2012. Molecular Paleohydrology: Interpreting the Hydrogen-Isotopic Composition of Lipid Biomarkers from Photosynthesizing Organisms. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 40, 221–249.
- Sachse, D., Kahmen, A., Gleixner, G., 2009. Significant seasonal variation in the hydrogen isotopic composition of leaf-wax lipids for two deciduous tree ecosystems (*Fagus sylvatica* and *Acer pseudoplatanus*). *Org. Geochem.* 40, 732–742.
- Sachse, D., Radke, J., Gleixner, G., 2006. δD values of individual n-alkanes from terrestrial plants along a climatic gradient – Implications for the sedimentary biomarker record. *Org. Geochem.* 37, 469–483.
- Sachse, D., Radke, J., Gleixner, G., 2004. Hydrogen isotope ratios of recent lacustrine sedimentary n-alkanes record modern climate variability. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68, 4877–4889.
- Sadyrbekov, D.T., Suleimenov, E.M., Tikhonova, E.V., Atazhanova, G.A., Tkachev, A.V., Adekenov, S.M., 2006. Component composition of essential oils from four species of the genus *Achillea* growing in Kazakhstan. *Chem. Nat. Compd.* 42, 294–297.
- Saint-Marc, P., 2011. Paléoenvironnements et paléoclimats enregistrés dans le bassin Eocène-Oligocène de Rennes : Intégration Ouest-Européen (Mémoire de recherche, Master 2). Université de Rennes 1.
- Salpin, M., 2013. Etude haute résolution des fluctuations climatiques enregistrées par les dépôts lacustres à littoraux Eocène- Oligocène du graben de Rennes : signal minéralogique et étude géochimique de calcrètes (Mémoire de Diplôme d’Etudes Supérieures, DES). UPMC, Paris.
- Sandoval, J., O’Dogherty, L., Aguado, R., Bartolini, A., Bruchez, S., Bill, M., 2008. Aalenian carbon-isotope stratigraphy: Calibration with ammonite, radiolarian and nannofossil events in the Western Tethys. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 267, 115–137.
- Scheffler, K., Hoernes, S., Schwark, L., 2003. Global changes during Carboniferous–Permian glaciation of Gondwana: Linking polar and equatorial climate evolution by geochemical proxies. *Geology* 31, 605–608.
- Schimmelmann, A., Lewan, M.D., Wintsch, R.P., 1999. D/H isotope ratios of kerogen, bitumen, oil, and water in hydrous pyrolysis of source rocks containing kerogen types I, II, IIS, and III. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63, 3751–3766.
- Schimmelmann, A., Lis, G.P., 2010. Nitrogen isotopic exchange during maturation of organic matter. *Org. Geochem., Stable Isotopes in Biogeosciences (III)* 41, 63–70.

- Schimmelmann, A., Sessions, A.L., Mastalerz, M., 2006. Hydrogen Isotopic (d/H) Composition of Organic Matter During Diagenesis and Thermal Maturation. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 34, 501–533.
- Schleser, G.H., Frielingsdorf, J., Blair, A., 1999. Carbon isotope behaviour in wood and cellulose during artificial aging. *Chem. Geol.* 158, 121–130.
- Schneider, I.A.H., Rubio, J., 1999. Sorption of Heavy Metal Ions by the Nonliving Biomass of Freshwater Macrophytes. *Environ. Sci. Technol.* 33, 2213–2217.
- Schnyder, J., Dejax, J., Keppens, E., Nguyen Tu, T.T., Spagna, P., Boulila, S., Galbrun, B., Riboulleau, A., Tshibangu, J.-P., Yans, J., 2009. An Early Cretaceous lacustrine record: Organic matter and organic carbon isotopes at Bernissart (Mons Basin, Belgium). *Palaeogeogr. Palaeoclim. Palaeoecol.* 281, 79–91.
- Schouten, S., Hopmans, E.C., Sinninghe Damsté, J.S., 2013. The organic geochemistry of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids: A review. *Org. Geochem.* 54, 19–61.
- Schubert, C.J., Calvert, S.E., 2001. Nitrogen and carbon isotopic composition of marine and terrestrial organic matter in Arctic Ocean sediments: implications for nutrient utilization and organic matter composition. *Deep Sea Res. Part Oceanogr. Res. Pap.* 48, 789–810.
- Schulz, E., 1967. Sporenpaläontologische Untersuchungen rätoliassischer Schichten im Zentralteil des germanischen Beckens. *Palaeontol. Abh. Abt. B Paläobotanik* 2, 541–633.
- Sebilo, M., 2003. Utilisation du traçage isotopique naturel pour caractériser et quantifier les processus de nitrification et de dénitrification à l'échelle du réseau hydrographique de la Seine. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
- Sebilo, M., Billen, G., Grably, M., Mariotti, A., 2003. Isotopic composition of nitrate-nitrogen as a marker of riparian and benthic denitrification at the scale of the whole Seine River system. *Biogeochemistry* 63, 35–51.
- Sessions, A.L., Burgoyne, T.W., Schimmelmann, A., Hayes, J.M., 1999. Fractionation of hydrogen isotopes in lipid biosynthesis. *Org. Geochem.* 30, 1193–1200.
- Sessions, A.L., Sylva, S.P., Summons, R.E., Hayes, J.M., 2004. Isotopic exchange of carbon-bound hydrogen over geologic timescales. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68, 1545–1559.
- Shaw, A.J., Devos, N., Cox, C.J., Boles, S.B., Shaw, B., Buchanan, A.M., Cave, L., Seppelt, R., 2010. Peatmoss (*Sphagnum*) diversification associated with Miocene Northern Hemisphere climatic cooling? *Mol. Phylogenet. Evol.* 55, 1139–1145.
- Sheldon, N.D., 2009. Nonmarine records of climatic change across the Eocene-Oligocene transition. *Geol. Soc. Am. Spec. Pap.* 452, 241–248.
- Sheldon, N.D., Retallack, G.J., 2004. Regional Paleoprecipitation Records from the Late Eocene and Oligocene of North America. *J. Geol.* 112, 487–494.
- Shepherd, T., Wynne Griffiths, D., 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol.* 171, 469–499.
- Shridhar, B.S., 2012. Review: Nitrogen Fixing Microorganisms. *Int. Jour. of Microbio. Res.* 3, 46–52.
- Siebert, S., Knicker, H., Hatcher, M.A., Leiffield, J., Kögel-Knabner, I., 1998. Characterization of Soil Organic Nitrogen after Addition of Biogenic Waste Composts by Means of NMR and GC-MS, in: Stankiewicz, B.A., van Bergen, P.F. (Eds.), *Nitrogen-Containing Macromolecules in the Bio- and Geosphere*. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 293–308.
- Silva, J.A., Bremner, J.M., 1966. Determination and Isotope-Ratio Analysis of Different Forms of Nitrogen in Soils: 5. Fixed Ammonium. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 30, 587.

- Simoneit, B.R.T., 2005. A review of current applications of mass spectrometry for biomarker/molecular tracer elucidations. *Mass Spectrom. Rev.* 24, 719–765.
- Sluijs, A., Dickens, G.R., 2012. Assessing offsets between the $\delta^{13}\text{C}$ of sedimentary components and the global exogenic carbon pool across early Paleogene carbon cycle perturbations. *Glob. Biogeochem. Cycles* 26.
- Sluijs, A., Pross, J., Brinkhuis, H., 2005. From greenhouse to icehouse; organic-walled dinoflagellate cysts as paleoenvironmental indicators in the Paleogene. *Earth-Sci. Rev.* 68, 281–315.
- Sluijs, A., Schouten, S., Pagani, M., Woltering, M., Brinkhuis, H., Damsté, J.S.S., Dickens, G.R., Huber, M., Reichart, G.-J., Stein, R., Matthiessen, J., Lourens, L.J., Pedentchouk, N., Backman, J., Moran, K., the Expedition 302 Scientists, 2006. Subtropical Arctic Ocean temperatures during the Palaeocene/Eocene thermal maximum. *Nature* 441, 610–613.
- Smith, F.A., Freeman, K.H., 2006. Influence of physiology and climate on δD of leaf wax n-alkanes from C3 and C4 grasses. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70, 1172–1187.
- Smith, F.A., Wing, S.L., Freeman, K.H., 2007. Magnitude of the carbon isotope excursion at the Paleocene–Eocene thermal maximum: The role of plant community change. *Earth Planet. Sci. Lett.* 262, 50–65.
- Sobel, E.R., 1999. Basin analysis of the Jurassic–Lower Cretaceous southwest Tarim basin, northwest China. *Geol. Soc. Am. Bull.* 111, 709–724.
- Sollins, P., Homann, P., Caldwell, B.A., 1996. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. *Geoderma* 74, 65–105.
- Spiker, E.C., Hatcher, P.G., 1987. The effects of early diagenesis on the chemical and stable carbon isotopic composition of wood. *Geochim. Cosmochim. Acta* 51, 1385–1391.
- Stefanova, M., Ivanov, D.A., Simoneit, B.R.T., 2013. Paleoenvironmental application of *Taxodium* macrofossil biomarkers from the Bobov dol coal formation, Bulgaria. *Int. J. Coal Geol.* 120, 102–110.
- Stehlin, H.G., 1910. Remarques sur les faunules de Mammifères des couches Éocènes et Oligocènes du Bassin de Paris. *Bull. Soc. Geol. Fr.* 9, 488–520.
- Storme, J.-Y., 2013. Organic Carbon and Nitrogen Isotopes of the Palaeocene-early Eocene: Implications on Stratigraphy, Paleoenvironment and Paleoclimatology. Université de Namur, Namur.
- Storme, J.-Y., Dupuis, C., Schnyder, J., Quesnel, F., Garel, S., Iakovleva, A.I., Iacumin, P., Di Matteo, A., Sebilo, M., Yans, J., 2012. Cycles of humid-dry climate conditions around the P/E boundary: new stable isotope data from terrestrial organic matter in Vasterival section (NW France). *Terra Nova* 24, 114–122.
- Street, J.H., Anderson, R.S., Rosenbauer, R.J., Paytan, A., 2013. *n*-Alkane evidence for the onset of wetter conditions in the Sierra Nevada, California (USA) at the mid-late Holocene transition, ~ 3.0 ka. *Quat. Res.* 79, 14–23.
- Suan, G., Mattioli, E., Pittet, B., Lécuyer, C., Suchéras-Marx, B., Duarte, L.V., Philippe, M., Reggiani, L., Martineau, F., 2010. Secular environmental precursors to Early Toarcian (Jurassic) extreme climate changes. *Earth Planet. Sci. Lett.* 290, 448–458.
- Suan, G., Mattioli, E., Pittet, B., Mailliot, S., Lécuyer, C., 2008a. Evidence for major environmental perturbation prior to and during the Toarcian (Early Jurassic) oceanic anoxic event from the Lusitanian Basin, Portugal. *Paleoceanography* 23, PA1202.
- Suan, G., Nikitenko, B.L., Rogov, M.A., Baudin, F., Spangenberg, J.E., Knyazev, V.G., Glinskikh, L.A., Goryacheva, A.A., Adatte, T., Riding, J.B., Föllmi, K.B., Pittet, B., Mattioli, E.,

- Lécuyer, C., 2011. Polar record of Early Jurassic massive carbon injection. *Earth Planet. Sci. Lett.* 312, 102–113.
- Suan, G., Pittet, B., Bour, I., Mattioli, E., Duarte, L.V., Mailliot, S., 2008b. Duration of the Early Toarcian carbon isotope excursion deduced from spectral analysis: Consequence for its possible causes. *Earth Planet. Sci. Lett.* 267, 666–679.
- Sun, W., Shen, J., Zhang, E., Hasebe, N., Kashiwaya, K., Chen, R., Itono, T., in press. Stable nitrogen isotope record of lacustrine sediments in Lake Onuma (Northern Japan) indicates regional hydrological variability during the past four centuries. *Quat. Int.*
- Swap, R.J., Aranibar, J.N., Dowty, P.R., Gilhooly III, W.P., Macko, S.A., 2004. Natural abundance of ^{13}C and ^{15}N in C_3 and C_4 vegetation of southern Africa: patterns and implications. *Glob. Change Biol.* 10, 350 – 358.
- Swift, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M., 1979. *Decomposition in terrestrial ecosystems*, Blackwell. ed. Oxford.
- Szpak, P., 2014. Complexities of nitrogen isotope biogeochemistry in plant-soil systems: implications for the study of ancient agricultural and animal management practices. *Front. Plant Sci.* 5.
- Talbot, M.R., Johannessen, T., 1992. A high resolution palaeoclimatic record for the last 27,500 years in tropical West Africa from the carbon and nitrogen isotopic composition of lacustrine organic matter. *Earth Planet. Sci. Lett.* 110, 23–37.
- Templier, J., Miserque, F., Barré, N., Mercier, F., Croué, J.-P., Derenne, S., 2012. Is nitrogen functionality responsible for contrasted responses of riverine dissolved organic matter in pyrolysis? *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 97, 62–72.
- Teodoru, C.R., Giorgio, P.A. del, Prairie, Y.T., St-Pierre, A., 2012. Depositional fluxes and sources of particulate carbon and nitrogen in natural lakes and a young boreal reservoir in Northern Québec. *Biogeochemistry* 113, 323–339.
- Teranes, J.L., Bernasconi, S.M., 2000. The record of nitrate utilization and productivity limitation provided by $\delta^{15}\text{N}$ values in lake organic matter—A study of sediment trap and core sediments from Baldeggersee, Switzerland. *Limnol. Oceanogr.* 45, 801–813.
- Terwilliger, V.J., Eshetu, Z., Colman, A., Bekele, T., Gezahgne, A., Fogel, M.L., 2008. Reconstructing palaeoenvironment from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of soil organic matter: A calibration from arid and wetter elevation transects in Ethiopia. *Geoderma* 147, 197–210.
- Thamdrup, B., 2012. New Pathways and Processes in the Global Nitrogen Cycle. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 43, 407–428.
- Thomas, B.A., 1972. A Probable Moss from the Lower Carboniferous of the Forest of Dean, Gloucestershire. *Ann. Bot.* 36, 155–161.
- Thomas, E., 1999. *Evolution Cénozoïque d'un domaine de socle: Le massif Armoricaïn*. Université de Rennes 1, France.
- Thunell, R.C., Kepple, A.B., 2004. Glacial-Holocene $\delta^{15}\text{N}$ record from the Gulf of Tehuantepec, Mexico: Implications for denitrification in the eastern equatorial Pacific and changes in atmospheric N_2O . *Glob. Biogeochem. Cycles* 18.
- Thunell, R.C., Sigman, D.M., Muller-Karger, F., Astor, Y., Varela, R., 2004. Nitrogen isotope dynamics of the Cariaco Basin, Venezuela. *Glob. Biogeochem. Cycles* 18, GB3001.
- Tissot, B.P., Welte, D.H., 1984. *Petroleum Formation and Occurrence*, Springer-Verlag. ed. Berlin.
- Tuo, J., Philp, R.P., 2005. Saturated and aromatic diterpenoids and triterpenoids in Eocene coals and mudstones from China. *Appl. Geochem.* 20, 367–381.
- Tyson, R.V., 1995. *Sedimentary Organic Matter*, Chapman and Hall. ed.

- US Department of Commerce, N., 2014. Global Greenhouse Gas Reference Network - ESRL Global Monitoring Division - Global Greenhouse Gas Reference Network [WWW Document].
- Vakhrameev, V.A., 1991. Jurassic and Cretaceous Floras and Climates of the Earth. Cambridge University Press.
- van Aarssen, B.G.K., Alexander, R., Kagi, R.I., 2000. Higher plant biomarkers reflect palaeovegetation changes during Jurassic times. *Geochim. Cosmochim. Acta* 64, 1417–1424.
- Vandenbergh, N., Hilgen, F.J., Speijer, R.P., 2012. The Paleogene Period, in: *The Geologic Time Scale*. Elsevier, Boston, pp. 855–921.
- Vandenbroucke, M., Largeau, C., 2007. Kerogen origin, evolution and structure. *Org. Geochem.* 38, 719–833.
- van de Schootbrugge, B., Bailey, T.R., Rosenthal, Y., Katz, M.E., Wright, J.D., Miller, K.G., Feist-Burkhardt, S., Falkowski, P.G., 2005a. Early Jurassic climate change and the radiation of organic-walled phytoplankton in the Tethys Ocean. *Paleobiology* 31, 73–97.
- van de Schootbrugge, B., McArthur, J.M., Bailey, T.R., Rosenthal, Y., Wright, J.D., Miller, K.G., 2005b. Toarcian oceanic anoxic event: An assessment of global causes using belemnite C isotope records. *Paleoceanography* 20.
- Vitousek, P.M., Howarth, R.W., 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochemistry* 13, 87–115.
- Vonhof, H.B., Smit, J., Brinkhuis, H., Montanari, A., Nederbragt, A.J., 2000. Global cooling accelerated by early late Eocene impacts? *Geology* 28, 687–690.
- Wada, E., Kadonaga, T., Natsuo, S., 1975. ¹⁵N abundance in naturally occurring substances and global assessment of denitrification from isotopic viewpoint. *Geochem. J.* 9, 139–148.
- Wade, B.S., Houben, A.J.P., Quaijtaal, W., Schouten, S., Rosenthal, Y., Miller, K.G., Katz, M.E., Wright, J.D., Brinkhuis, H., 2012. Multiproxy record of abrupt sea-surface cooling across the Eocene-Oligocene transition in the Gulf of Mexico. *Geology* 40, 159–162.
- Wang, L., Wang, C., Li, Y., Zhu, L., Wei, Y., 2011. Sedimentary and organic geochemical investigation of tertiary lacustrine oil shale in the central Tibetan plateau: Palaeolimnological and palaeoclimatic significances. *Int. J. Coal Geol.* 86, 254–265.
- Wang, Y., Mosbrugger, V., Zhang, H., 2005. Early to Middle Jurassic vegetation and climatic events in the Qaidam Basin, Northwest China. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol., Paleobiotic changes in Earth History and their causes Paleobiotic changes in Earth History and their causes Bioevents: their stratigraphical records, patterns and causes* 224, 200–216.
- Wan, Z., 2012. Stable Carbon and Nitrogen Isotopic Studies of Devonian Land Plants: An Indicator of Paleoclimate and Paleoenvironmental Changes. University of Cincinnati (pHD).
- Watkinson, S., Bebb, D., Darrah, P., Fricker, M., Tlalka, M., Boddy, L., 2006. The role of wood decay fungi in the carbon and nitrogen dynamics of the forest floor. *Camb. Univ. Press* 151–158.
- Weete, J.D., Leek, G.L., Peterson, C.M., Currie, H.E., Branch, W.D., 1978. Lipid and Surface Wax Synthesis in Water-stressed Cotton Leaves. *Plant Physiol.* 62, 675–677.
- Weijers, J.W.H., Schouten, S., van den Donker, J.C., Hopmans, E.C., Sinninghe Damsté, J.S., 2007. Environmental controls on bacterial tetraether membrane lipid distribution in soils. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 703–713.
- Weissert, H., Mohr, H., 1996. Late Jurassic climate and its impact on carbon cycling. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 122, 27–43.

- Wen, Z., Ruiyong, W., Radke, M., Qingyu, W., Guoying, S., Zhili, L., 2000. Retene in pyrolysates of algal and bacterial organic matter. *Org. Geochem.* 31, 757–762.
- Williams, L.B., Ferrell Jr., R.E., Hutcheon, I., Bakel, A.J., Walsh, M.M., Krouse, H.R., 1995. Nitrogen isotope geochemistry of organic matter and minerals during diagenesis and hydrocarbon migration. *Geochim. Cosmochim. Acta* 59, 765–779.
- Wright, V.P., Taylor, K.G., Beck, V.H., 2000. The Paleohydrology of Lower Cretaceous Seasonal Wetlands, Isle of Wight, Southern England. *J. Sediment. Res.* 70, 619–632.
- Yang, H., Huang, Y., 2003. Preservation of lipid hydrogen isotope ratios in Miocene lacustrine sediments and plant fossils at Clarkia, northern Idaho, USA. *Org. Geochem.* 34, 413–423.
- Yoon, D., 2013. Reconstitution paléoenvironnementale et paléoclimatique du Paléogène de l'Arctique sibérien (Mémoire de recherche, Master 2). UPMC.
- Zachos, J., 2001. Trends, Rhythms, and Aberrations in Global Climate 65 Ma to Present. *Science* 292, 686–693.
- Zachos, J.C., Dickens, G.R., Zeebe, R.E., 2008. An early Cenozoic perspective on greenhouse warming and carbon-cycle dynamics. *Nature* 451, 279–283.
- Zachos, J.C., Röhl, U., Schellenberg, S.A., Sluijs, A., Hodell, D.A., Kelly, D.C., Thomas, E., Nicolo, M., Raffi, I., Lourens, L.J., McCarren, H., Kroon, D., 2005. Rapid Acidification of the Ocean During the Paleocene-Eocene Thermal Maximum. *Science* 308, 1611–1615.
- Zanazzi, A., Kohn, M.J., MacFadden, B.J., Terry, D.O., 2007. Large temperature drop across the Eocene–Oligocene transition in central North America. *Nature* 445, 639–642.
- Zeller, B., Brechet, C., Maurice, J.-P., Tacon, F.L., 2007. ^{13}C and ^{15}N isotopic fractionation in trees, soils and fungi in a natural forest stand and a Norway spruce plantation. *Ann. For. Sci.* 64, 419–429.
- Zhang, C., Guo, Z., 2014. Clay mineral changes across the Eocene–Oligocene transition in the sedimentary sequence at Xining occurred prior to global cooling. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 411, 18–29.

Annexes

Annexe 1 : Protocole de décarbonatation

Ce protocole vise à retirer les carbonates des échantillons pour ne laisser que le carbone organique résiduel. Il est important de noter que ce protocole est adapté pour le carbonate de calcium (la calcite, CaCO_3), mais il l'est beaucoup moins pour la dolomie ou la sidérite lorsqu'elle est présente en grande quantité.

Matériel nécessaire pour une série de 8 échantillons (taille des séries conditionnée par la centrifugeuse)

- 8 béchers hauts de 250 ml, Ø 65 mm
- 8 baguettes en verre
- 1 erlen de 1L
- Une spatule
- Une balance précise à 0,001-0,01 g
- Pissette d'eau distillée tamponnée à pH 7-7,5
- Une centrifugeuse
- 8 tubes à centrifugeuse
- HCl 35 %

Manipulations à suivre

- Peser directement dans le bécher la masse nécessaire de l'échantillon sélectionné en fonction du % CaCO_3 (Storme, 2013). Bien numéroter les béchers en fonction de l'échantillon correspondant.

CaCO ₃ (%)	Quantité nécessaire de l'échantillon pour décarbonatation (g)
10	2,5
30	3,5
40	4,0
50	5,0
70	8,0
90	11,0

- Dans un Erlen de 1L, préparer la solution d'HCl à 25 % (6N) à partir d'une solution mère à 35 % : 200 ml d'eau distillé + 600 ml d'HCl à 35 %. D'abord mettre l'eau distillé car réaction exothermique.
- Verser 100 ml de la solution d'HCl à 25 % dans chacun des béchers en prenant garde à la réaction brutale des échantillons très carbonatés. Pour ceux-ci, verser en plusieurs fois.
- Laisser agir au moins 2 H en agitant régulièrement à l'aide d'une baguette en verre par échantillon durant la première heure et demie, puis laisser décanter pendant la ½ heure restante.
- Avant la fin de la réaction, préparer la solution tampon à base de NaOH. Solution à pH \approx 7,5. Pour cela, introduire une pastille d'hydroxyde de Sodium dans 5L d'eau, puis agiter.
- Au bout des 2 H, jeter le surnageant dans un bidon prévu à cet effet.
- Transvaser l'échantillon dans un tube à centrifugeuse en rinçant le bécher avec une pissette contenant la solution tampon. Remplir de cette solution le tube jusqu'au goulot. Chaque tube et son bouchon aura été préalablement numéroté comme les béchers afin qu'il n'y est pas de confusion. **Le but est de neutraliser l'échantillon.**
- Secouer les tubes avant de les introduire en centrifugeuse.
- 2 à 3 tours de centrifugeuse durant 1'30 min à au moins 4000 rtm. A chaque fois vider la solution, la remplacer par une nouvelle et secouer en décollant l'échantillon du fond avant de réintroduire en centrifugeuse.
- 2 à 3 tours à 2'30 min, puis faire un premier test pH. Pour cela, prendre un peu de sédiment sur une spatule et le frotter contre du papier pH.
- Continuer l'opération, en adaptant le temps de centrifugeuse et la vitesse pour perdre le moins de matière possible en vidant le surnageant, jusqu'à atteindre un pH proche de 7 dans le sédiment. **La neutralité de l'échantillon est importante pour ne pas endommager les spectromètres de masse avec un échantillon trop acide.**
- Lorsque la neutralité est atteinte, mettre l'échantillon dans un verre de montre puis le placer sur une plaque chauffante à 30-40 °C pour faire évaporer l'eau.
- Une fois l'échantillon sec, le récupérer dans un broyeur à main en agate en grattant le verre de montre à l'aide d'une spatule. Bien gratter les bords où peut se concentrer la matière organique. Broyer et homogénéiser la poudre avec attention.
- Mettre en tube, peser et étiqueter.

Annexe 2 : Traitement KOH-KBr

Ce protocole a pour but de soustraire l'azote organique (N_{org}) aux poudres d'échantillon préalablement décarbonatées. Il s'appuie sur les travaux de Silva et Bremner (1966), et Schubert et Calvert (2001), modifié par Storme (2013).

Matériel nécessaire pour une série de 20 (à adapter en fonction du nombre d'échantillons par série) :

Attention, toute la manipulation se fait sous hotte, avec un véritable masque à gaz et des gants doublés lors de la préparation de la solution de KOH-KBr.

- 20 béchers hauts de 250 ml, Ø 65 mm
- 20 agitateurs magnétiques
- Suffisamment de hottes actives pour les 20
- Un ballon en verre d'1L
- Un bac à glace
- Une burette graduée de 25 ml
- Une pipette de 20 ml
- Un entonnoir en verre
- De l'eau distillée
- Du brome extra pur liquide
- Du KOH solide

Protocole expérimental

- Mettre au moins 1g de chaque échantillon préalablement décarbonaté dans chaque bécher correctement identifié.
- Préparer la solution de KOH-KBr à 2 mol/L. 20 ml de solution nécessaire par échantillon, soit, ici, 400 ml de solution nécessaire. Mettre environ 45 g de KOH dans un ballon en verre. Placer le ballon sous la burette et dans un bac rempli de glace (la réaction est

- exothermique). Placer le tout sur une plaque magnétique avec un agitateur à l'intérieur du ballon et démarrer l'agitation en ajoutant 388 ml d'eau distillée.
- Mettre du brome extra pur dans la burette **EN PORTANT MASQUE A GAZ ET GANTS DOUBLES (Photo 1)**. En verser plus que nécessaire car on ne voit pas bien ce que l'on verse. Ici 12 ml sont nécessaires.
 - Ajouter 0,5 ml de brome *via* la burette toutes les 30 secondes (**Photo 1**). Le brome est difficilement assimilé dans la solution. Continuer jusqu'à avoir versé les 12 ml nécessaires.
 - Une fois la solution terminée, ajouter 20 ml de celle-ci dans chaque bécher contenant l'échantillon à attaquer.
 - Agiter chaque solution pendant 2 h sous hotte avec un agitateur magnétique.
 - Après les 2 h, ajouter 60 ml d'eau distillée dans chaque bécher.
 - Faire bouillir le tout dans un bain d'huile pendant 5 minutes.
 - Jeter le surnageant après refroidissement et décantation (quelques minutes), en veillant à bien enlever l'agitateur magnétique au préalable.
 - Mettre l'échantillon dans un tube à centrifugeuse.
 - Laisser reposer 24 h.
 - Laver 2 fois avec une solution de KCl à 0,5 mol, puis deux fois à l'eau distillée, grâce à la centrifugeuse (*cf.* protocole de décarbonatation).
 - Mettre en tube après les mêmes étapes que le protocole de décarbonatation (verre de montre, séchage, broyage/homogénéisation).

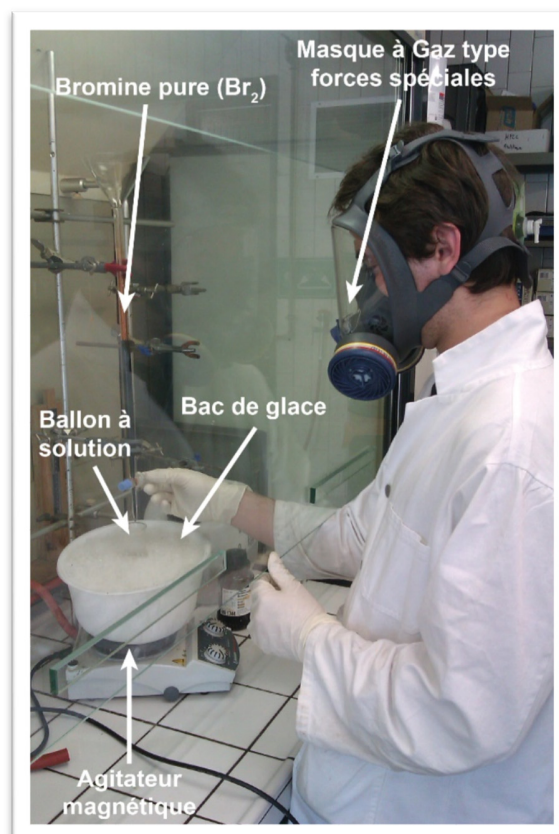


Photo 1 : Préparation de la solution de KOH-KBr. Université de Namur.

Annexe 3 : Extraction lipidique

Ne jamais toucher l'échantillon, ou les outils en contact avec l'échantillon, avec les doigts (squalènes) ou avec des gants en plastique (phtalates). Nettoyer outils et tables à l'alcool avec du sopalin. Rincer au-dessus d'une poubelle adaptée les outils à l'acétone et le joint de la cellule à l'alcool.

Préparation de la cellule (peut se faire pendant les rinçages et la courte période de chauffage de l'appareil).

- Tout démonter à l'aide des outils. Nettoyer à l'acétone et à l'alcool pour le joint en caoutchouc.
- Mettre un filtre de verre au fond de la cellule de 34 ml, à l'aide de l'outil approprié. La cellule de 10 ml se bouche pour les échantillons broyés trop finement.
- Peser l'ensemble (1).
- Mettre l'échantillon dans la cellule, tasser un peu.
- Peser le tout (2).

Masse de l'échantillon = (2) – (1)

- Compléter l'espace vide par du coton préalablement extrait.
- Fermer la cellule en gardant toujours la partie où il y a le filtre vers le bas.
- Prêt pour extraction.

Utilisation de l'ASE

Fonctionne sous azote

- Ouvrir bouteille d'azote → manomètre > 0 et manomètre de droite à environ 10.
- Allumer la hotte et la lumière.
- Allumer l'ASE (bouton derrière).
- Vérifier le niveau de solvant de la bouteille. Le fritté doit être immergé.
- Changer le solvant si nécessaire.
- DCM/Me-OH en proportion 2/1.

Rincer la machine 2 à 3 fois avant extraction.

- Placer la bouteille de collecte
- Placer la cellule bleue à l'intérieur de la machine en la clipsant.
- Appuyer sur « Rinse »
- Opération terminée à l'entente de 3 bips.
- Vider la bouteille de collecte après les rinçages.

Extraction des lipides

- Choisir la méthode d'extraction 20 dans « setup », « method edit » (« enter » pour valider un choix)
- Définir la taille de la cellule 34 ml dans la méthode !!
- La porte de la machine reste ouverte, appuyer sur « START » sans cellule à l'intérieur pour lancer le chauffage
- Placer la cellule à extraire dans le bon sens (filtre vers le bas) lorsque la led « START » clignote.
- Fermer et ré-appuyer sur « START ».
- Appliquer deux fois cette méthode qui dure 25 minutes.

Fractionnement sur colonne : séparation acides/neutres sur colonne d'alumine

Ce protocole a pour objectif de séparer les fractions acides (polaire) et neutres (apolaire). C'est un préalable à toute analyse en GC-MS et GC-IRMS effectuée au cours de cette thèse.

Préparation la veille

Alumine (Al₂O₃)

Préparation de l'alumine → 1g d'alumine pour 10 mg d'extrait lipidique sec

- 1) Activer l'alumine, préalablement placé dans un ballon, à 150°C pendant au moins deux heures puis la laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.
- 2) Désactiver ensuite l'alumine au degré IV de Brockman en ajoutant **0,1g d'eau distillée pour 1g d'alumine.**

Préparation de l'échantillon

- 1) Placer dans un ballon (50-100 ml) quelques mg d'alumine désactivée (juste de quoi adsorber l'échantillon).
- 2) Insérer quelques gouttes d'extrait à fractionner préalablement concentré sous azote, de façon à ce que la majeure partie de l'extrait soit adsorbée par l'alumine.
- 3) Evaporer doucement le solvant sous azote.

Réitérer l'opération à partir du point 2) autant de fois que nécessaire pour adsorber la totalité de l'extrait, puis laisser sécher sous azote pendant environ 30 minutes.

Colonne

Choix de la colonne

- Masse d'extrait lipidique sec > 100 mg : colonne de diamètre interne 1,1 cm.
- Entre 40 et 100 mg d'extrait sec : colonne de diamètre interne 0,9 cm.
- Masse d'extrait lipidique sec < 40 mg : colonne de diamètre interne 0,6 cm.

Préparation de la colonne

- 1) Boucher le fond de la colonne avec un peu de coton hydrophile.
- 2) Rincer la colonne avec de l'heptane et du DCM (Pas de MeOH car trop long à sécher).
- 3) Ajouter dans le ballon contenant l'alumine désactivée (celle sans l'échantillon) de l'heptane de façon à noyer l'alumine, pas plus que ce que peut contenir la colonne.
- 4) Insérer ce mélange dans la colonne à l'aide d'une pipette pasteur.
- 5) Attendre que l'alumine se tasse puis rincer la colonne d'alumine avec de l'heptane avec $V \approx 10 \times M_{\text{alumine}} \text{ (g)}$.

Elution

Matériel

Heptane	4 ballons de 50 ou 100 ml	Bouteille d'azote
DCM	2 vials de 2 ml	Rotavap
MeOH	2 éprouvettes graduées	
H ₂ O	1 entonnoir	

Rincer préalablement la verrerie avec les différents solvants utilisés au cours de l'élution et **peser les ballons. Peser les vials également !**

Elution

Attention, ne jamais laisser la colonne à sec.

Attention à l'introduction de nouveau solvant, éviter les remous.

L'extrait lipidique est séparé en 2 fractions : la fraction apolaire (les hydrocarbures) et la fraction polaire (acides et alcools).

Fraction apolaire	Heptane/DCM (99 :1)	$V \text{ (mL)} = 4 \times M_{\text{alumine}} \text{ (g)}$
Fraction polaire	DCM/MeOH (2 :1)	$V \text{ (mL)} = 4 \times M_{\text{alumine}} \text{ (g)}$

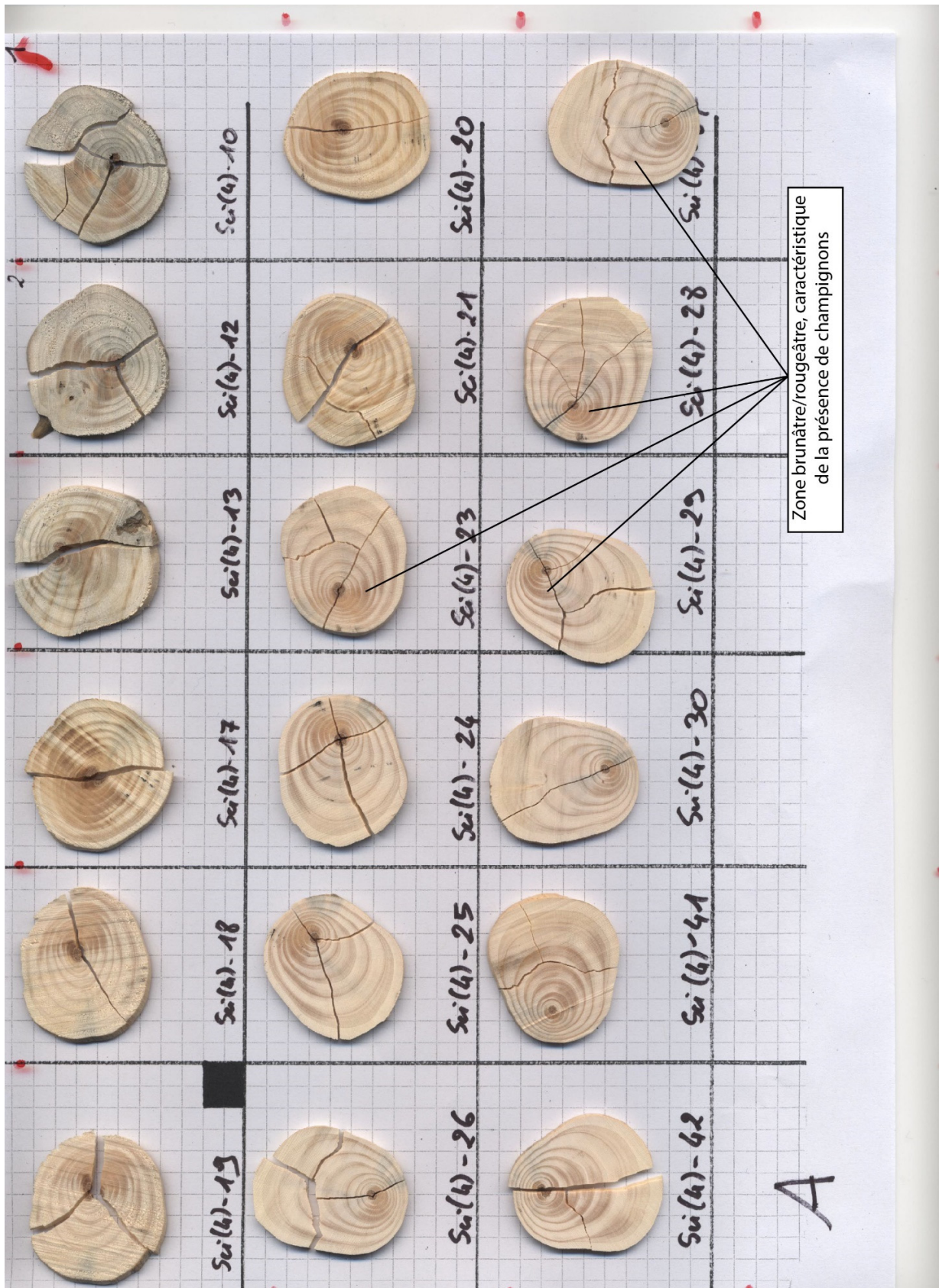
- 1) Eliminer les solvants au Rotavap.
- 2) Sécher chaque ballon sous azote pendant 15 minutes.
- 3) Peser les ballons.
- 4) Faire de même pour les vials.
- 5) Conserver les extraits dans les vials soit à sec (sous atmosphère d'azote), soit dans des solvants (heptane pour la fraction apolaire et méthanol pour la polaire).

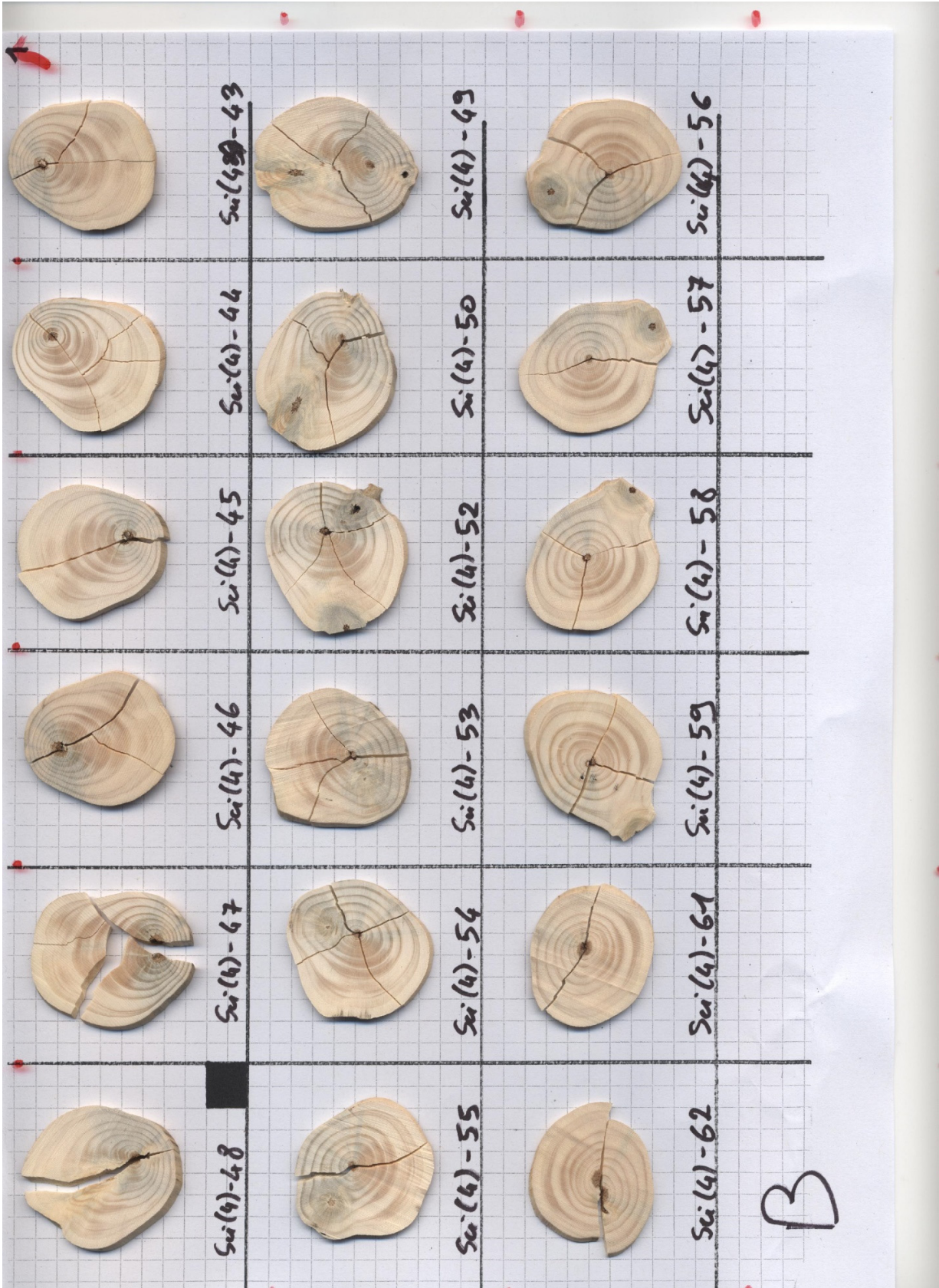
Annexe 4 : Expérience de diagenèse

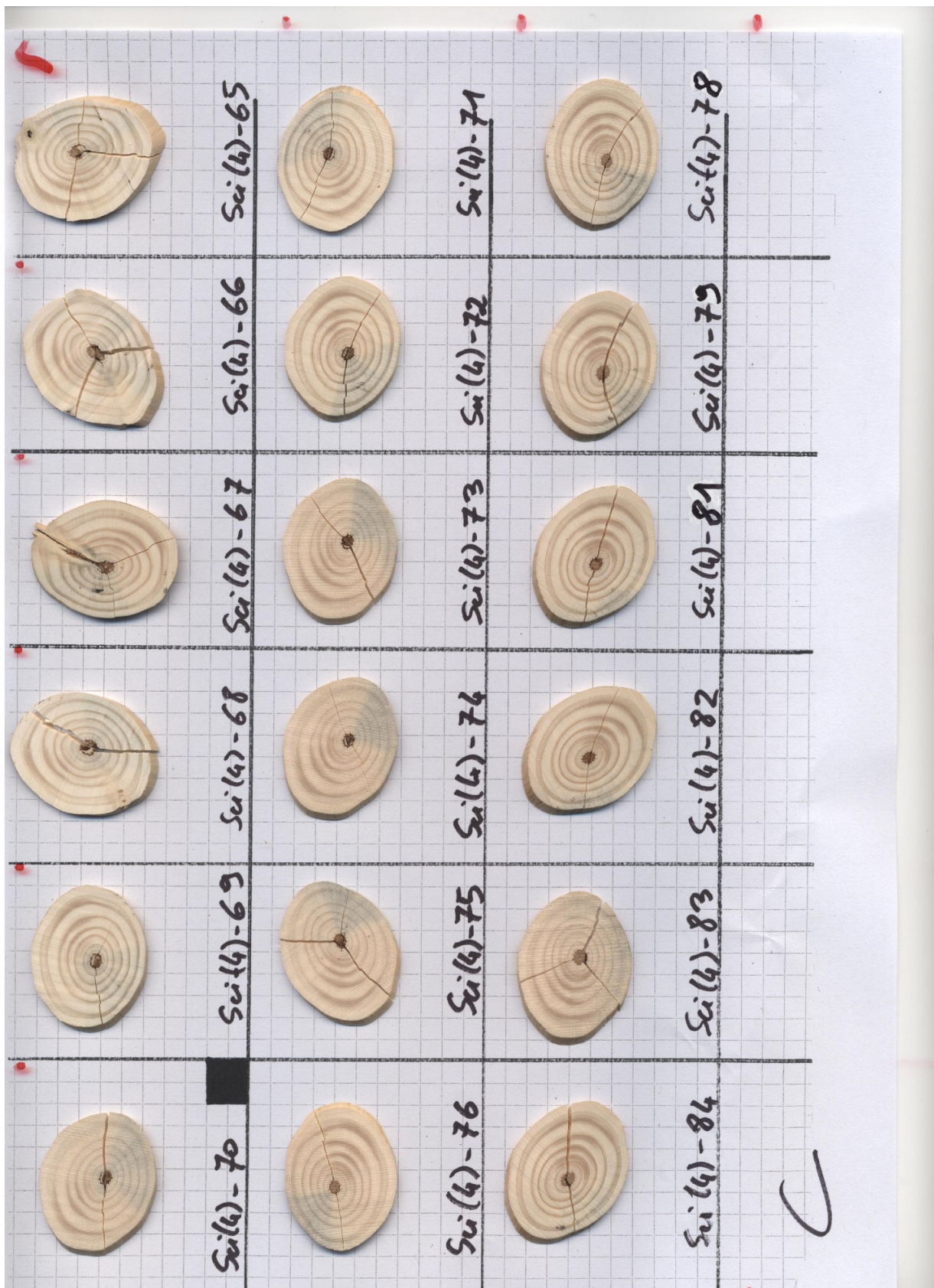
L'expérience de diagenèse a porté sur des bois. Le but premier était de voir l'influence de la diagenèse précoce sur les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ du bois en dégradation. Deux modes d'expériences ont été suivis, dans trois types d'eau. Le premier mode consistait à exposer des rondelles de bois à ces trois types d'eau, alors que le second se focalisait sur de la poudre de bois (issue du même bois d'origine : une branche de *Sciadopitys Verticillata*). Au total, 95 rondelles d'environ 3 cm de diamètre et 2 mm d'épaisseur ont été coupées et scannées (Planches A, B, C, D et E). Parmi ces rondelles, 63 ont été utilisées lors de l'expérience sur bois entier et le reste des rondelles a constitué la poudre de bois (majoritairement les rondelles de la planche E). A chaque prélèvement, les rondelles ont été scannées à nouveau après avoir été lyophilisées et sont représentées dans les planches F ($t_1 = 2$ semaines), G ($t_2 = 4$ semaines), H ($t_3 = 8$ semaines), I ($t_4 = 16$ semaines), J ($t_5 = 32$ semaines), K ($t_6 = 52$ semaines), L ($t_7 = 73$ semaines).

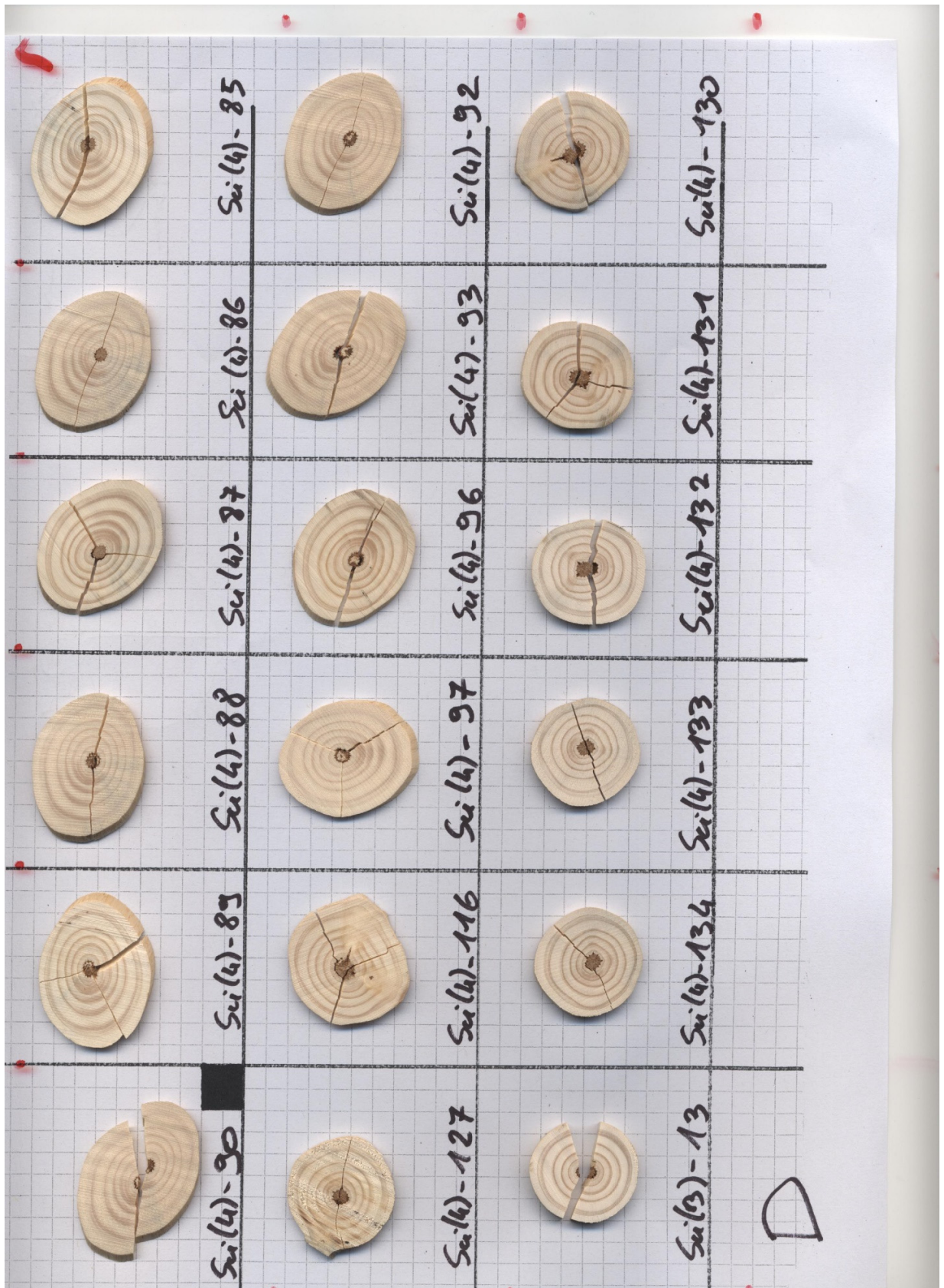


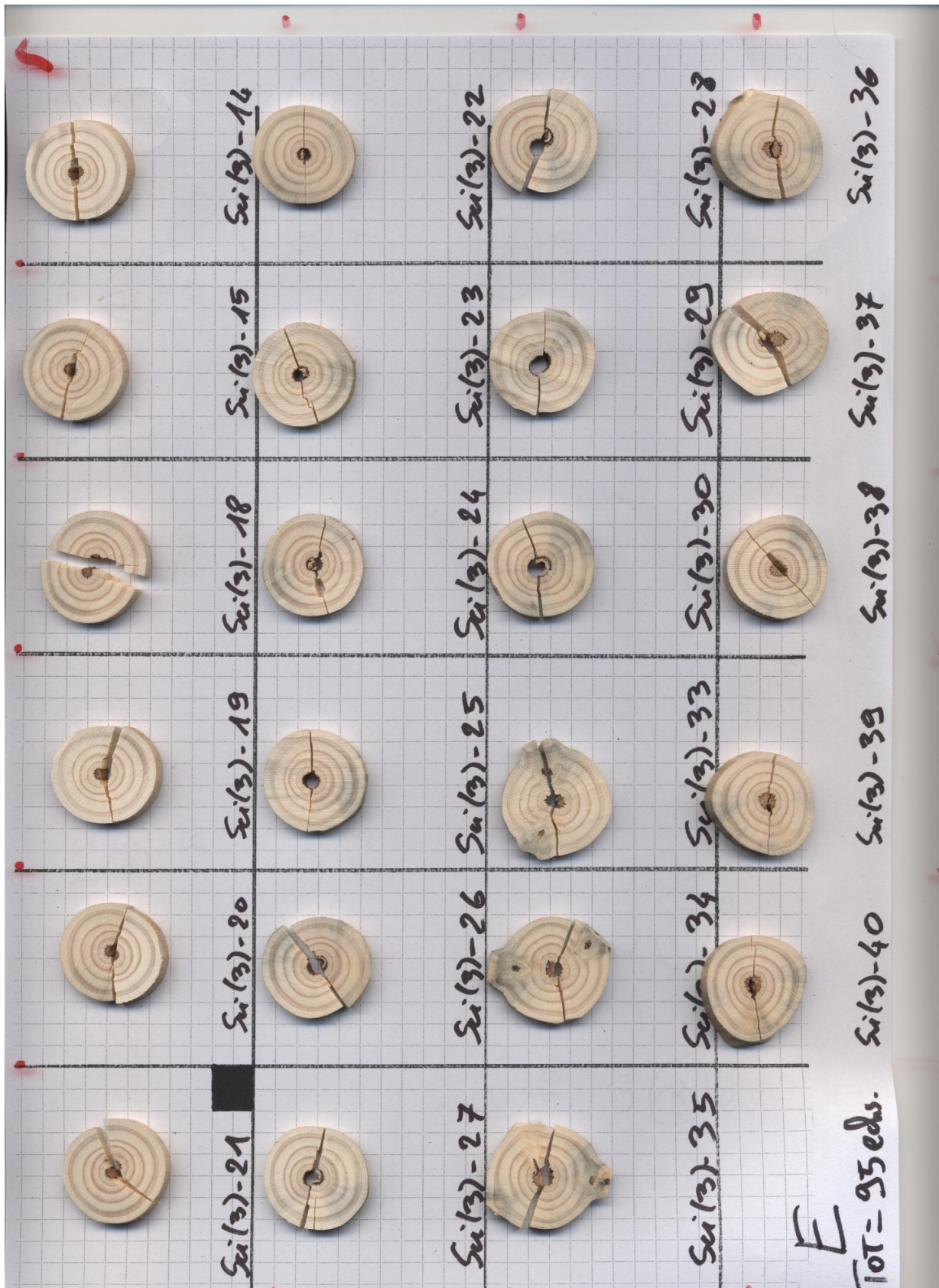
Photo d'une table agitante avec quelques erlenmeyers en fin d'expérience.





























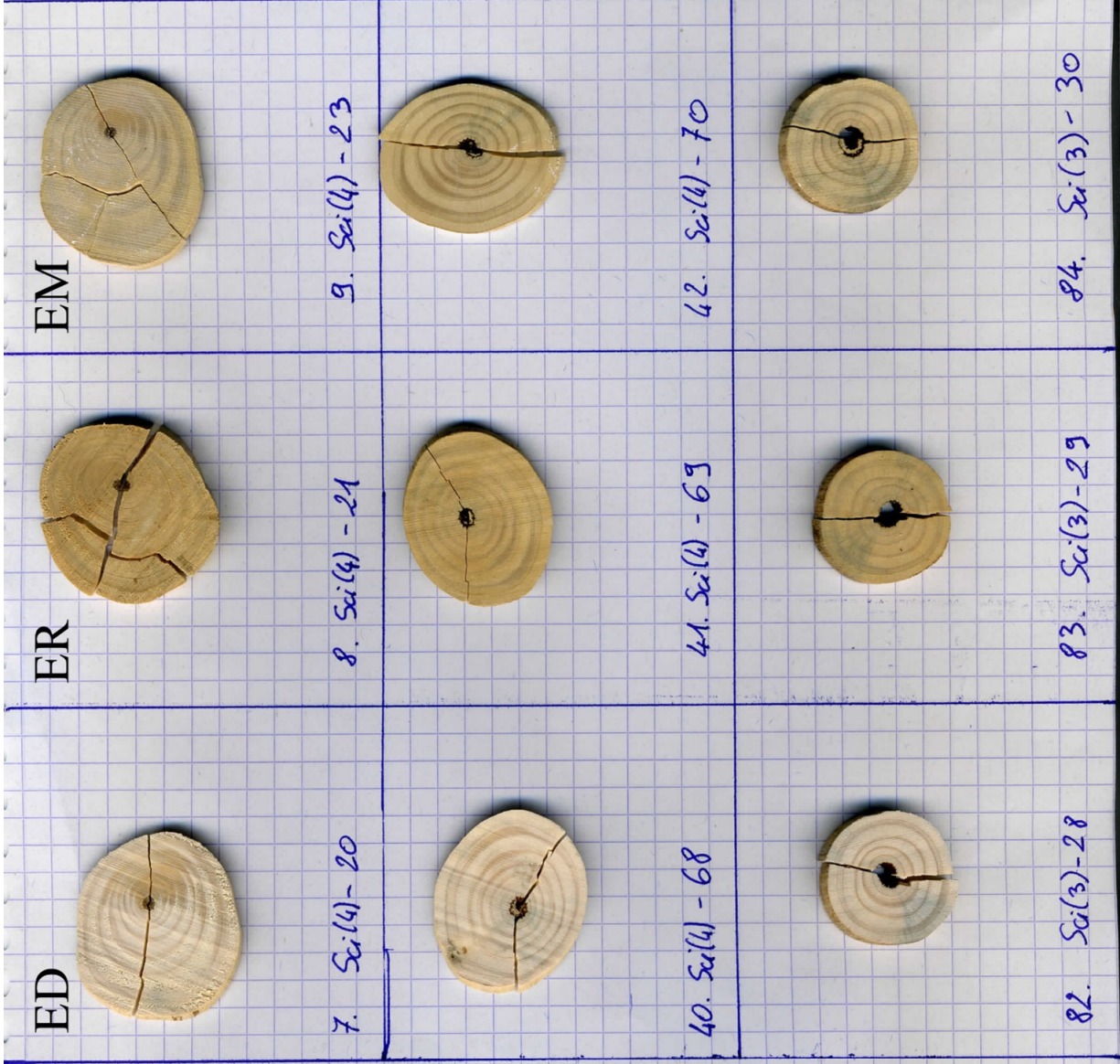
F. Prélèvement n°1

ED	ER	EM
 1. Sci(4) - 10	 2. Sci(4) - 12	 3. Sci(4) - 13
 34. Sci(4) - 59	 35. Sci(4) - 61	 36. Sci(4) - 62
 88. Sci(3) - 38	 89. Sci(3) - 39	 90. Sci(3) - 40

G. Prélèvement n°2

ED	ER	EM
 4. Sci(4)-17	 5. Sci(4)-18	 6. Sci(4)-19
 37. Sci(4)-65	 38. Sci(4)-66	 39. Sci(4)-67
 85. Sci(3)-33	 86. Sci(3)-36	 87. Sci(3)-37

H. Prélèvement n°3



ED



10. Sa(4) - 24

ER



11. Sa(4) - 25

EM



12. Sa(4) - 26

31. Sa(4) - 56



32. Sa(4) - 57



33. Sa(4) - 58



52. Sa(4) - 82



53. Sa(4) - 84












81. Sa(3) - 27












I. Prélèvement n°4

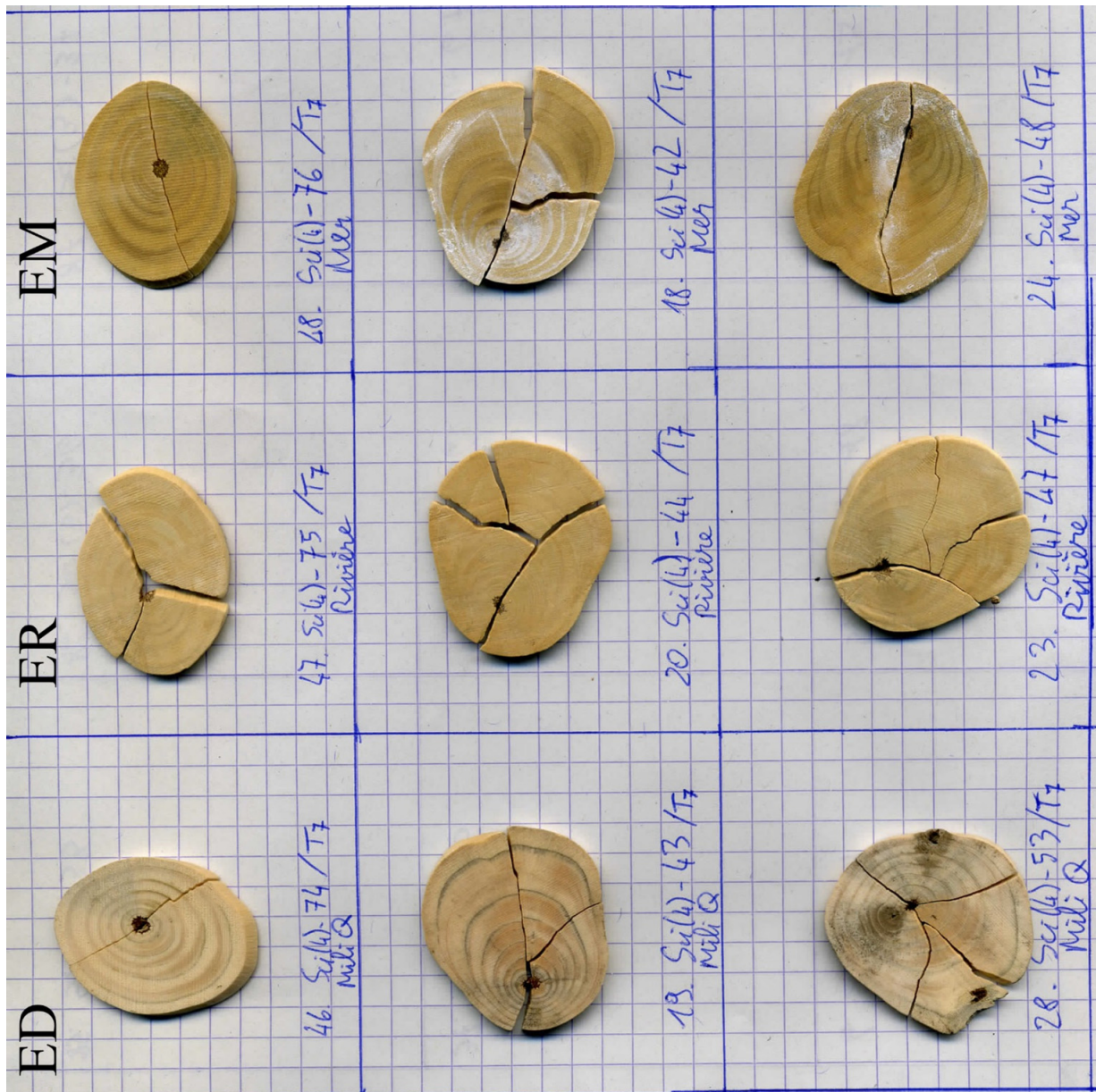
J. Prélèvement n°5

ED	ER	EM
 <p>13. Sci(4)-27 Mil:Q</p>	 <p>4. Sci(4)-28 Rivière</p>	 <p>15. Sci(4)-25 Mer</p>
 <p>25. Sci(4)-42</p>	 <p>26. Sci(4)-50</p>	 <p>27. Sci(4)-52</p>
 <p>49. Sci(4)-78</p>	 <p>50. Sci(4)-79</p>	 <p>51. Sci(4)-81</p>

K. Prélèvement n°6

ED	ER	EM
 <p>16. Sci(4)-30 MeliQ</p>	 <p>17. Sci(4)-41 Rivière</p>	 <p>21. Sci(4)-45 Mer</p>
 <p>22. Sci(4)-46</p>	 <p>29. Sci(4)-54</p>	 <p>30. Sci(4)-55</p>
 <p>43. Sci(4)-71</p>	 <p>44. Sci(4)-72</p>	 <p>45. Sci(4)-73</p>

L. Prélèvement n°7



Annexe 5 : Données Leco et Rock-Eval (Taskomirsay)

LECO DATA			
Sample	Lithology	Position (m)	TOC (%)
TP1-1	Lignite	0,00	69,1
TP1-3	Lignite	0,18	55,9
TP1-5	Lignite	0,33	59,7
TP1-8	Lignite	1,30	64,3
TP1-14	Lignite	1,63	67,5
TP1-15	Lignite	1,70	62,9
TP1-33	Lignite	7,44	63,9
TP1-35	Lignite	7,68	66,7
TP1-37	Lignite	7,83	40,6
TP1-38base	Lignite	7,87	75,8
TP1-38	Lignite	7,89	67,0
TP1-46	Lignite	9,04	70,4
TP1-51	Lignite	10,08	38,7
TP1 - 71	Lignite	14,65	67,0
TP1 - 84	Lignite	15,91	60,2
TP1 - 87	Lignite	16,54	40,8
TP1 - 89	Lignite	17,13	70,6
TP2 - 127	Lignite	26,36	65,6
TP2 - 128	Lignite	26,60	67,6
TP2 - 129	Lignite	26,81	69,5
TP2 - 130	Lignite	26,93	70,0
TP2 - 131	Lignite	27,13	69,9
TP2 - 132	Lignite	27,31	65,2
TP2 - 135	Lignite	27,57	68,2
TP2 - 139	Lignite	27,86	60,3
TP2 - 140	Lignite	27,94	69,6
TP3 - 151	Lignite	32,32	67,7
TP3 - 153	Lignite	32,84	53,5
TP3 - 159	Lignite	33,68	74,0
TP3 - 162	Lignite	34,20	55,0
TP3 - 163	Lignite	34,40	67,7
TP3 - 165	Lignite	34,80	52,9
TP3 - 167	Lignite	35,01	68,3
TP3 - 179	Lignite	37,63	68,1
TP3 - 185bis	Lignite	39,38	43,3
TP3 - 195	Lignite	41,12	47,9
TP3 - 201	Lignite	41,57	46,8
TP3 - 203	Lignite	41,98	65,1
TP3 - 205	Lignite	42,15	71,2
TP3 - 212	Lignite	43,21	47,0
TP3 - 216	Lignite	43,41	59,6
TOC average in lignites			61,8
TP2 - 147	Silts	29,57	0,0
TP2 - 150	Silts	30,17	0,0
TP3 - 219	Carbonated Silt	43,98	0,4
TP3 - 221	Carbonated Silt	44,21	0,9
TP3 - 225	Silts	48,31	0,0
TP3 - 227	Silts	48,83	0,0
TP3 - 229	Silts	49,52	0,0
TP3 - 230	Silts	49,65	0,0
TP3 - 232	Silts	50,47	0,0
TP3 - 233	Silts	51,48	0,0
TOC average in silts			0,1

LECO DATA			
Sample	Lithology	Position (m)	TOC (%)
TP1 - 65	Coalified root/trunk	13,20	70,6
TP1 - 95	Coalified root/trunk	18,01	37,1
TP1 - 99	Coalified root/trunk	18,72	65,1
TP1 - 101	Coalified root/trunk	19,33	44,6
TP1 - 114	Coalified root/trunk	23,39	67,4
TP1 - 117	Coalified root/trunk	23,84	55,7
TOC average in coalified root/trunk			56,8
TP1-9	Clay	1,39	1,7
TP1-11	OM-rich clay	1,48	8,7
TP1-13	Clay	1,63	3,0
TP1-21	Clay	3,32	1,3
TP1-22	Clay	4,36	9,4
TP1-26	Clay	5,71	0,5
TP1-29	OM-rich clay	6,80	13,6
TP1-31	Clay	7,21	3,1
TP1-39	OM-rich clay	8,00	24,4
TP1-43	OM-rich clay	8,63	15,0
TP1-45	Clay	8,89	3,8
TP1-48	Clay	9,33	1,4
TP1-50	Clayey	9,99	3,0
TP1-56	Clay	11,22	1,1
TP1 - 59	Clay	12,05	5,7
TP1 - 62	Clay	12,67	0,5
TP1 - 65bis	Clay	13,20	0,0
TP1 - 76	Clay	15,04	5,3
TP1 - 90	Clay	17,30	3,4
TP1 - 92	Clay	17,62	1,7
TP1 - 104	Clay	20,16	0,2
TP1 - 107	Clay	21,24	0,1
TP1 - 112	Clay	22,98	0,1
TP2 - 125	Clay	25,95	1,4
TP2 - 133	Clay	27,42	2,0
TP2 - 141	Clay	28,03	4,8
TP2 - 149	Clay	29,97	0,0
TP3 - 157	OM-rich clay	33,32	6,2
TP3 - 169	Clay	35,34	1,1
TP3 - 175	Clay	36,59	0,2
TP3 - 176	Clay	36,85	1,5
TP3 - 181	Clay	38,14	0,3
TP3 - 185	Clay	39,38	0,4
TP3 - 190	Clay	40,34	0,4
TP3 - 191	OM-rich clay	40,45	10,3
TP3 - 211	Clay	43,08	0,7
TP3 - 224	Clayey	45,17	0,4
TP3 - 226	Clay	48,43	0,1
TP3 - 231	Clay	49,85	0,1
TP3 - 231bis	Clay	50,18	0,0
TP3 - 234	Clay	52,02	0,2
TP3 - 235	Clay	52,33	0,0
TP3 - 237	Clay	53,01	0,0
TOC average in clayey layers			3,2
TP2 - 147	Silts	29,57	0,0
TP2 - 150	Silts	30,17	0,0
TP3 - 219	Carbonated Silt	43,98	0,4
TP3 - 221	Carbonated Silt	44,21	0,9
TP3 - 225	Silts	48,31	0,0
TP3 - 227	Silts	48,83	0,0
TP3 - 229	Silts	49,52	0,0
TP3 - 230	Silts	49,65	0,0
TP3 - 232	Silts	50,47	0,0
TP3 - 233	Silts	51,48	0,0
TOC average in silts			0,1

ROCK-EVAL DATA					
Sample	Lithology	Position (m)	HI	OI	Tmax(°C)
TP1-3	Lignite	0,18	184	21	414
TP1-5	Lignite	0,33	169	21	420
TP1-7	Lignite	1,08	145	24	419
TP1-15	Lignite	1,70	178	26	422
TP1-33	Lignite	7,44	182	25	420
TP1-35	Lignite	7,68	100	34	421
TP1-37	Lignite	7,83	165	34	424
TP1-38	Lignite	7,89	217	19	417
TP1-51	Lignite	10,08	71	45	418
TP1-71	Lignite	14,65	184	28	419
TP1-73	Lignite	14,82	215	23	422
TP1-75	Lignite	14,93	47	56	425
TP1-81	Lignite	15,65	116	34	422
TP1-85	Lignite	16,03	158	36	415
TP1-87	Lignite	16,54	163	44	427
TP1-89	Lignite	17,13	69	33	424
TP2-127	Lignite	26,36	109	35	419
TP2-129	Lignite	26,81	103	26	422
TP2-131	Lignite	27,13	169	30	410
TP2-135	Lignite	27,57	104	37	416
TP2-139	Lignite	27,86	111	34	415
TP2-140	Lignite	27,94	60	27	425
TP3-151	Lignite	32,32	182	26	405
TP3-153	Lignite	32,84	106	37	418
TP3-155	Lignite	32,98	160	31	422
TP3-159	Lignite	33,68	168	32	418
TP3-161	Lignite	34,04	100	39	421
TP3-163	Lignite	34,40	38	80	418
TP3-165	Lignite	34,80	83	71	424
TP3-167	Lignite	35,01	167	32	420
TP3-179	Lignite	37,63	68	65	418
TP3-195	Lignite	41,12	134	38	420
TP3-197	Lignite	41,23	147	35	418
TP3-201	Lignite	41,57	91	43	425
TP3-202	Lignite	41,76	102	37	422
TP3-203	Lignite	41,98	76	31	422
TP3-205	Lignite	42,15	104	26	414
TP3-216	Lignite	43,41	132	29	422
Averages			128	35	420
TP1-65	Coalified root/trunk	13,20	87	30	412
TP1-91	Coalified root/trunk	17,43	225	20	399
TP1-93	Coalified root/trunk	17,74	56	130	432
TP1-95	Coalified root/trunk	18,01	104	58	421
TP1-97	Coalified root/trunk	18,25	38	253	438
TP1-99	Coalified root/trunk	18,72	175	27	410
TP1-101	Coalified root/trunk	19,33	63	182	425
TP1-109	Coalified root/trunk	21,57	27	83	464
TP1-114	Coalified root/trunk	23,39	51	53	422
TP1-117	Coalified root/trunk	23,84	58	51	413
TP3-199	Coalified root/trunk	41,37	66	147	426
Averages			86	94	424

ROCK-EVAL DATA					
Sample	Lithology	Position (m)	HI	OI	Tmax(°C)
TP1-1bis	OM-rich clay	0,00	128	36	423
TP1-11	OM-rich clay	1,48	53	46	428
TP1-13	Clayey	1,63	37	46	428
TP1-21	Clayey	3,32	61	165	428
TP1-22	Clayey	4,36	64	50	424
TP1-23	Clayey	4,60	60	48	430
TP1-27	OM-rich clay	6,03	119	48	422
TP1-29bis	Clay	6,80	30	62	421
TP1-31	Clay	7,21	72	42	437
TP1-39	OM-rich clay	8,00	133	38	418
TP1-41	OM-rich clay	8,40	136	33	424
TP1-43	Clay	8,63	58	52	434
TP1-45	Clay	8,89	82	41	430
TP1-49	Clay	9,71	73	36	436
TP1-50	Clay	9,99	75	34	432
TP1-56	Clay	11,22	43	34	433
TP1-59	Clay	12,05	92	44	426
TP1-61	Clay	12,29	77	48	425
TP1-67	Clay	13,86	71	43	428
TP1-69	OM-rich clay	14,48	69	59	428
TP1-77	OM-rich clay	15,21	91	45	432
TP1-79	Clay	15,48	78	50	429
TP1-103	Clay	19,94	62	64	435
TP2-125	Clay	25,95	65	63	432
TP2-133	Clay	27,42	29	30	428
TP2-137	OM-rich clay	27,72	59	19	414
TP2-141	Clay	28,03	75	39	429
TP3-157	OM-rich clay	33,32	81	49	430
TP3-176	Clay	36,85	103	41	429
TP3-177	Clay	37,26	56	85	417
TP3-190	Clay	40,34	91	80	422
TP3-191	OM-rich clay	40,45	69	38	422
TP3-211	Clay	43,08	43	127	427
TP3-215	OM-rich clay	43,37	88	47	427
Averages			74	52	427
TP1-19	silts	2,57	57	78	429
TP1-57	silts	11,56	55	79	431
Averages			56	79	430
TOTAL Averages			100	51	423

Annexe 6 : Données GDGTs (Taskomirsay)

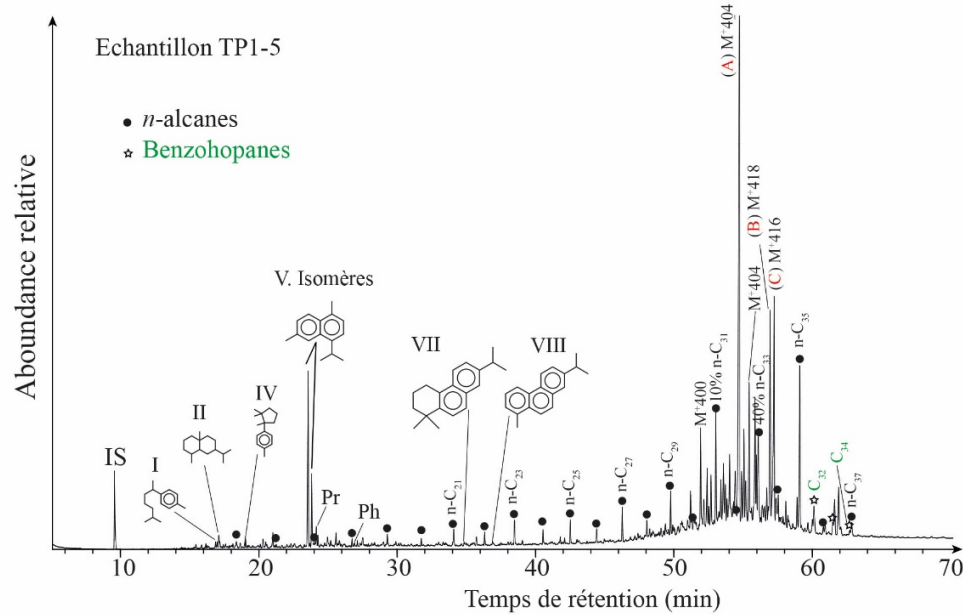
Supplementary table. Relative abundances of branched and isoprenoid GDGTs in all samples analyzed in Taskomirsai (n.d., not detected.). See Coffinet et al. (2014) for correspondance between roman numbers and molecules

Samples	Position (m)	Isoprenoid GDGTs (%)							Branched GDGTs (%)								
		I	II	III	IV	V	VI	VI'	VIIa	VIIb	VIIc	VIIIa	VIIIb	VIIIc	IXa	IXb	IXc
TP3-234	52.02	37,3	9,0	10,7	n.d.	14,6	28,4	n.d.	9,7	n.d.	n.d.	33,0	9,3	n.d.	37,6	9,1	1,3
TP3-224	45.17	39,3	6,9	9,5	n.d.	16,6	27,8	n.d.	12,3	n.d.	n.d.	31,8	8,5	n.d.	37,1	7,6	2,7
TP3-216	43.41	71,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	28,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30,3	n.d.	n.d.	69,7	n.d.	n.d.
TP3-203	41.98	64,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	36,0	n.d.	7,4	n.d.	n.d.	35,1	1,7	n.d.	52,4	2,3	1,1
TP3-157	33.32	14,3	11,6	n.d.	n.d.	26,0	48,1	n.d.	27,2	n.d.	n.d.	33,2	14,6	n.d.	15,8	9,2	n.d.
TP1-114	23.39	100,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	35,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	64,4	n.d.	n.d.
TP1-107	21.24	64,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	35,4	n.d.	7,7	n.d.	n.d.	37,4	n.d.	n.d.	54,9	n.d.	n.d.
TP1-65	13.20	52,8	n.d.	n.d.	n.d.	15,4	31,7	n.d.	13,2	n.d.	n.d.	31,1	13,4	n.d.	32,4	9,9	n.d.
TP1-50	9.99	100,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30,6	n.d.	n.d.	39,6	8,6	n.d.	15,9	5,2	n.d.
TP1-22	4.36	66,0	7,3	11,1	10,5	5,1	n.d.	n.d.	6,1	n.d.	n.d.	22,7	3,3	0,6	61,2	4,7	1,5

Annexe 7 : Molécules identifiées à Taskomirsay

n°	Composé ou classe	Ion moléculaire	Ions caractéristiques (m/z ; abondance décroissante)	Identification	Pinacées	Cupressacées	Taxodiacées	Araucariacées	Podocarpacees	Asiféracées (Angiosperme)	Références
IS	C ₁₂ -alcane	170	55; 71; 85	Spectre							-
I	Dihydrocurcumène	204	119	Ellis <i>et al.</i> (1995)	X	X	X	X	?	O	Otto et Simoneit (2001), Lu <i>et al.</i> (2013)
II	4β(H)-eudesmane	208	109 ; 95 ; 165 ; 193	Alexander <i>et al.</i> (1983) et Lu <i>et al.</i> (2013)	X	X	X	X	X	O	Alexander <i>et al.</i> (1984), Otto et Wilde (2001), Lu <i>et al.</i> , 2013)
III	Classe Cadalane	208	109 ; 95 ; 165	Lu <i>et al.</i> (2013)	X	X	X	X	X	O	Otto et Wilde (2001)
IV	Cuparène	202	132; 145; 119	Grantham et Douglas (1980)	O	X	O	O	O	O	Otto et Wilde (2001)
V	Cadalène	198	183; 168; 153	Spectre	X	X	X	X	X	X	Buggle and Zech (2015), Grice <i>et al.</i> (2015)
VI	Chamazulène	184	169 ; 153	Lu <i>et al.</i> (2013)	?	?	?	X	?	X	Lu <i>et al.</i> (2013), Sadyrbekov <i>et al.</i> (2006)
VII	Simonellite	232	217	Tuo et Philp, (2005)	X	X	X	X	X	O	Produit de dégradation intermédiaire des diterpénoïdes (Simoneit, 2005).
VIII	Rétène	234	219	(Wen <i>et al.</i> , 2000)	X	X	X	X	X	O	Produit de dégradation final des diterpénoïdes (Simoneit, 2005), conifères (van Aarssen <i>et al.</i> , 2000; Otto et Wilde, 2001; Hautevelle <i>et al.</i> , 2006; Grice <i>et al.</i> , 2015). Dérivé des conifères excepté Taxacées (Otto et Wilde, 2001). Peut provenir d'algues (Wen <i>et al.</i> , 2000).

Coélutions ions 400,404,414,416,418 : Composés inconnus



Molécules inconnues

L'échantillon TP1-5 est un échantillon de lignite qui présente le plus gros pic en M+ 404 (A). Les similarités entre les différents spectres pointent vers une même famille de molécule (voir B et C). La prépondérance de l'ion moléculaire fait penser à une structure aromatique. Sur l'ensemble de la fin du chromatogramme, il existe des dizaines de molécules de ce genre. Isoler quelques une des ces molécules permettrait de déterminer leur structure, par exemple, avec l'aide de la RMN.

