



HAL
open science

LA RECONNAISSANCE AUTOMATISÉE DES NANNOFOSSILES CALCAIRES DU CÉNOZOÏQUE

Nicolas Barbarin

► **To cite this version:**

Nicolas Barbarin. LA RECONNAISSANCE AUTOMATISÉE DES NANNOFOSSILES CALCAIRES DU CÉNOZOÏQUE. Intelligence artificielle [cs.AI]. Université Aix-Marseille; Ecole doctorale 251, 2014. Français. NNT: . tel-03167534

HAL Id: tel-03167534

<https://theses.hal.science/tel-03167534>

Submitted on 12 Mar 2021

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

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

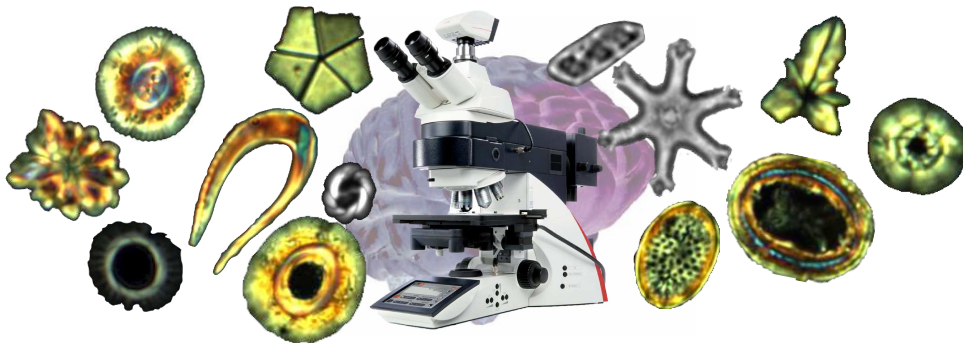
UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE
ÉCOLE DOCTORALE 251
FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES
CEREGE UMR-CNRS 6635

THÈSE DE DOCTORAT

Spécialités : Informatique, Géosciences de l'Environnement

Nicolas BARBARIN

LA RECONNAISSANCE AUTOMATISÉE DES NANNOFOSSILES CALCAIRES DU CÉNOZOÏQUE



Soutenue le 14 mars 2014

Composition du jury :

Mme Emanuela Mattioli, Professeur, université de Lyon-I
M. Ralf Schiebel, Professeur, université d'Angers
M. Lars Stemmann, Professeur, université de Paris-VI
M. Jean-Marc Moron, Ingénieur TOTAL, Pau
M. Luc Beaufort, Directeur de recherche CNRS, Aix-en-Provence

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

À mon père

TABLE DES MATIÈRES

<i>Remerciements</i>	9
1. INTRODUCTION	11
2. LES NANNOFOSSILES CALCAIRES	15
2.1. EVOLUTION ET DIVERSITE	16
2.2. UN GROUPE MAJEUR : LES COCCOLITHOPHORIDES	19
2.3. POURQUOI LA CALCIFICATION ?	22
2.4. LEUR ROLE DANS LE CLIMAT ET LE CYCLE DU CARBONE	23
2.5. QUELLES SONT LES APPLICATIONS DES NANNOFOSSILES CALCAIRES ?	26
2.5.1. <i>En paléocéanographie et les fonctions de transferts</i>	26
2.5.2. <i>L'estimation de la masse des coccolithes pour connaître les flux de carbonates</i>	29
2.5.3. <i>La datation des sédiments</i>	31
2.6. L'OBSERVATION DES NANNOFOSSILES CALCAIRES	33
2.6.1. <i>L'échantillonnage et les préparations</i>	33
2.6.2. <i>Les méthodes d'observation</i>	35
REFERENCES CITEES	37
3. LA RECONNAISSANCE AUTOMATIQUE	45
3.1. QU'EST-CE QUE LA RECONNAISSANCE AUTOMATIQUE ?	45
3.1.1. <i>Définition - généralités</i>	45
3.2. LES METHODES DE CLASSIFICATION	49
3.2.1. <i>Avant-propos : la morphométrie</i>	49
3.2.2. <i>Exemples de méthodes statistiques</i>	49
3.2.3. <i>La comparaison de formes</i>	54
3.2.4. <i>Les réseaux de neurones artificiels</i>	55
3.2.5. <i>Les combinaisons de méthodes</i>	59
3.2.6. <i>Les principaux problèmes</i>	60
3.3. LA RECONNAISSANCE AUTOMATISEE DES NANNOFOSSILES	61
3.3.1. <i>Bref historique de la reconnaissance automatisée</i>	62
3.4. LE SYRACO PRE-2013	63
REFERENCES CITEES	66
4. LE TRAITEMENT DES IMAGES	75
4.1. LE TRAITEMENT DES IMAGES DE CHAMPS DE VUE	75
4.1.1. <i>La combinaison des images avec différentes polarisations</i>	75
4.1.2. <i>La segmentation multi-fenêtres</i>	75
4.1.3. <i>La segmentation des agrégats</i>	77
4.1.4. <i>Le tri entre les objets épais (colorés) et peu épais (gris)</i>	79
4.1.5. <i>La segmentation des images en lumière naturelle</i>	80
4.1.6. <i>La correction des images</i>	81
4.1.7. <i>La normalisation</i>	83

4.2. L'ESTIMATION DE LA MASSE DES NANNOFOSSILES CALCAIRES	84
4.2.1. <i>Les images rvb et hsl (teinte, saturation, luminance)</i>	84
4.2.2. <i>La conversion des images couleurs en images d'épaisseur</i>	85
4.2.3. <i>Article</i>	90
REFERENCES CITEES	101
5. LE NOUVEAU SYRACO	103
5.1. AVANT-PROPOS	103
5.1.1. <i>Les avancées techniques</i>	103
5.1.2. <i>La base de référence de nannofossiles</i>	103
5.1.2. <i>Les tests des modèles de classifications</i>	108
5.2. ARTICLE	118
5.2.1. <i>Retour sur l'article en quelques points</i>	139
5.2.2. <i>Améliorations techniques possibles</i>	140
REFERENCES CITEES	142
6. APPLICATIONS ET RESULTATS	145
6.1. APPLICATION DE SYRACO POUR LA BIOSTRATIGRAPHIE	145
6.1.1. <i>Exemple de la carotte MD052930 (Golfe de Papouasie Nouvelle-Guinée)</i>	145
6.1.2. <i>Exemple de la carotte GDEC4 (Mer Tyrrhénienne, au large de la Corse)</i>	153
6.1.3. <i>Exemple de la carotte MD972124 (Mer de Tasmanie)</i>	161
6.2. APPLICATION DE SYRACO POUR LA PALEOCEANOGRAPHIE	162
6.2.1. <i>Etude sur les Noelaerhabdaceae de la carotte MD052930</i>	162
6.2.2. <i>Etude de la paléoproduktivité dans la Mer de Corail</i>	173
6.2.3. <i>Etude sur les Noelaerhabdaceae de la carotte GDEC4</i>	175
6.2.4. <i>Autre étude paléocéanographique sur la carotte GDEC4</i>	186
6.2.5. <i>Discussion synthétique</i>	188
REFERENCES CITEES	194
7. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	199
ANNEXES	205
REFERENCES CITEES	243

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Emanuela Mattioli, Jean-Marc Moron, Ralf Schiebel et Lars Stemmann qui me font l'honneur de juger mon travail. Merci aussi à la compagnie TOTAL qui a permis à cette thèse de voir le jour.

Merci à toutes les personnes qui m'ont aidé pendant cette thèse et particulièrement à celles qui ont collaboré à la création du nouveau SYRACO. Je pense à Yves Gally et son fils Clément pour l'automatisation et la programmation ; aux personnes qui ont participé à la collecte des centaines d'échantillons nécessaires à ce travail et à celles qui ont préparé et photographié les lames minces : Noëlle Buchet, Magali Ermini et Jean-Charles Mazur.

Je rajouterais Marie-Pierre Aubry et Dave Bord qui m'ont accueilli chez eux, aux États-Unis. Marie-Pierre m'a appris la taxonomie des nannofossiles calcaires et j'ai eu, avec la famille de Dave et de Stef, le meilleur Thanksgiving qu'il soit !

Merci à mes amis du CEREGE pour les bons moments passés ensemble et leur soutien pendant les moments difficiles : Alice, Eva, Mélanie, Lise, Rémi, Fabienne, Marine pour ne citer qu'eux.

Mes sincères remerciements également à mes amis d'ailleurs pour leurs encouragements durant ces trois années et plus particulièrement : Emmanuel, Valentin et Matthieu.

Merci à mes camarades du football du vendredi : Matthieu, Vincent, Jérôme, Yoann, François, Benoît, Sylvain, Tual, Fehmi, Mohamed, etc.

Je rajouterais des remerciements particuliers à mes collègues permanents de bureau que sont Fabienne, pour notre soutien mutuel et nos bonnes rigolades, et Esmaeil qui m'a fait découvrir la géomorphologie et la géologie structurale de la Provence et de l'Iran.

Je remercie au passage Baptiste Sucheras-Marx, Xiang Su, Harry McClelland, Sarah O'Dea, Manuela Bordiga, Luna Brentegani, et tous les autres étudiants de passage au CEREGE avec qui j'ai pu discuter et eu des échanges bénéfiques.

Merci aussi aux autres chercheurs qui ont accompagné mes dernières années d'études et qui m'ont permis de progresser dans des domaines très différents des géosciences, qui ont partagé leur savoir et m'ont appris la rigueur : Emmanuelle Vennin, Emanuela Mattioli, Emmanuelle Pucéat, Christophe Durllet, Fabrice Monnat, Pascal Neige, Gilles Escarguel, Bernard Pittet, etc.

Avant de terminer, je rajouterais évidemment mon immense gratitude à Luc Beaufort, à l'origine de SYRACO, qui m'a proposé cette thèse et m'a accompagné toutes ces années... Je le remercie pour ses idées, sa disponibilité, son humanité et ses conseils avisés.

Je terminerais par remercier ma famille – surtout ma mère et ma sœur – et Sarah Jane, pour leur présence et leur soutien pendant les moments difficiles et les corrections d'orthographe et de conjugaison. Je pense tout particulièrement à mon père, parti injustement trop tôt, qui ne verra ni ce manuscrit, ni la soutenance.

1. INTRODUCTION

Que ce soit dans le domaine de la science, ou dans celui de l'industrie, l'acquisition rapide et robuste d'informations est essentielle à la compréhension de phénomènes naturels et au besoin de rentabilité. Même si les attentes ne sont pas identiques, les besoins convergent vers la nécessité de réduire les charges répétitives de travail.

À l'échelle microscopique, dans les sédiments, on trouve d'abondants restes d'organismes, très utiles à la fois pour les scientifiques – pour étudier notamment les phénomènes climatiques et leur évolution – et pour l'industrie pétrolière – pour dater les sédiments et mieux comprendre la formation des réservoirs. Ces micro-organismes présentent une très grande richesse dans les sédiments marins ou lacustres, actuels et anciens. Ils se composent pour majeure partie de restes fossiles du microplancton comme les foraminifères, les diatomées, les dinoflagellés ou encore les nannofossiles calcaires.

Ces derniers sont généralement très abondants dans les sédiments marins et sont relativement simples à observer au microscope. Ils ont connu une forte diversification au cours de leur histoire depuis la fin du Trias, il y a environ 200 millions d'années. Ce sont essentiellement des éléments complexes de calcite, appelés coccolithes, qui recouvraient auparavant des cellules. Leurs formes sont nombreuses et leurs tailles variées (**Figure 1-1**). En tant qu'entité d'origine biologique, les coccolithes présentent une grande variabilité intra et interspécifique. Jusqu'à présent, leur étude se fait uniquement au microscope optique ou électronique, ce qui s'avère être un travail long, répétitif et parfois fastidieux si l'on doit les mesurer et les compter en nombre suffisant (habituellement d'un ordre supérieur à 300 coccolithes). Ce travail peut être complexifié par la rareté des coccolithes au sein des échantillons et par l'inconsistance des clefs de déterminations d'espèces, appelée taxonomie, qui peut notamment varier en fonction de l'expérience de l'opérateur. Seule une méthode automatisée et reproductible permettrait de régler en partie ces problèmes de temps, de répétitivité et de biais dans la détermination.

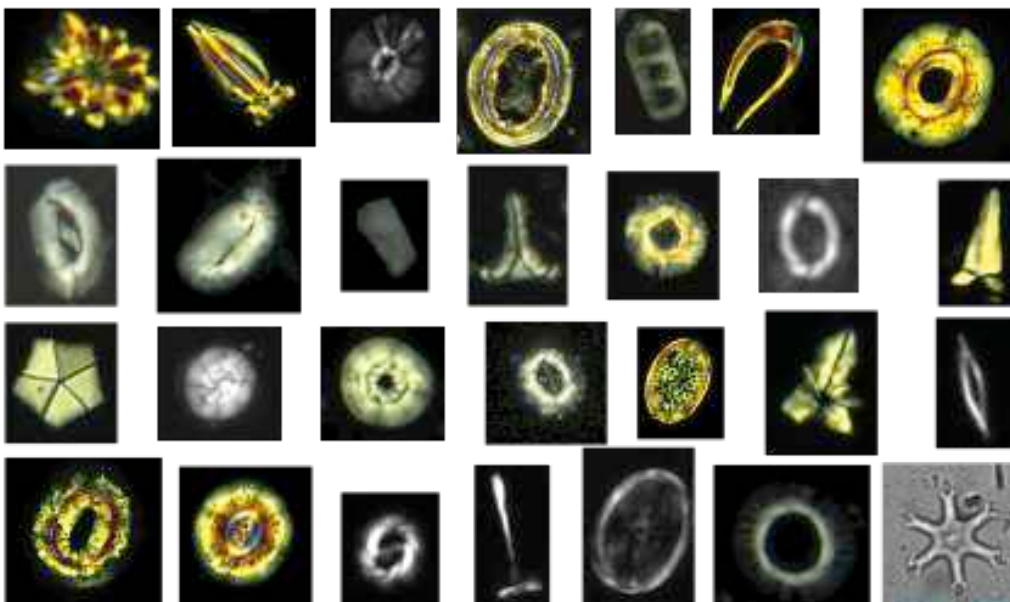


Figure 1-1. Exemples non exhaustifs de nannofossiles calcaires observés au microscope optique polarisé, que l'on peut trouver dans les sédiments de l'Éocène aux mers actuelles. L'échelle n'est pas respectée, la taille varie entre 3 à 15 μm environ.

Au cours des dernières décennies, les capacités techniques, informatiques et mathématiques se sont développées et améliorées. C'est de ce constat, couplé au besoin, que le SYStème de Reconnaissance Automatique des COccolithes (SYRACO) est né à la fin des années 90, puis amélioré dans les années 2000 (Dollfus et Beaufort, 1996; Dollfus, 1997; Dollfus et Beaufort, 1999; Beaufort et Dollfus, 2004). Le système combine des photographies prises automatiquement sur un microscope optique à une classification des images par *réseaux de neurones*. Ce système est capable de reconnaître une dizaine d'espèces présentes au Pléistocène et à l'Holocène (**Figure 1-2**).

Le but de ce projet de thèse est d'étendre la capacité de reconnaissance de SYRACO jusqu'à l'Éocène Supérieur, soit environ 40 millions d'années (**Figure 1-2**). Sur cette période de temps, on note une importante diversité morphologique de coccolithes, soit plusieurs centaines d'espèces. L'objectif à atteindre s'avère donc être un nouveau défi qui soulève plusieurs questions dans la conduite de l'amélioration et de l'optimisation de SYRACO :

- Comment obtenir un système satisfaisant scientifiques et industriels ?
- Comment détecter des nannofossiles dans des échantillons où ils sont peu abondants ?
- Comment reconnaître et classifier des groupes très diversifiés en formes et aux comportements optiques variés au microscope ?
- Quelles méthodes utiliser ?
- Comment tester ces méthodes et les améliorer ?
- Quels devront être les compromis inhérents à ce travail complexe ?

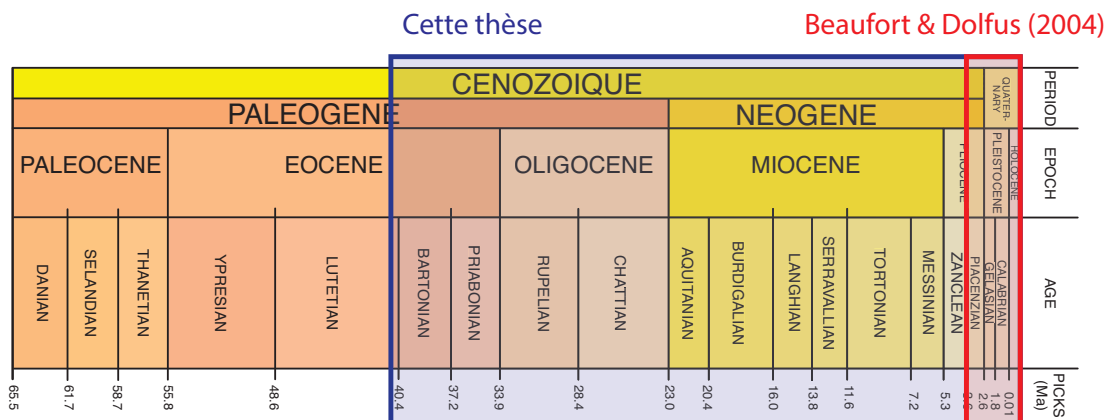


Figure 1-2. Carte des temps géologiques du Cénozoïque avec la période de travail du SYRACO de Beaufort et Dollfus (2004), en rouge ; comparée avec l'objectif de cette thèse, en bleu.

Le nouvel équipement du système intègre un microscope avec une platine automatisée et des échangeurs rotatifs, ainsi qu'une caméra haute définition. Une fois ceux-ci opérationnels et calibrés, la première phase de développement a consisté à réaliser une banque d'images de nannofossiles calcaires provenant d'échantillons contenant des spécimens depuis l'Éocène jusqu'aux formes vivantes actuelles. Cette base de référence se doit d'être suffisamment complète pour couvrir le plus grand nombre de formes différentes possibles. En parallèle, la segmentation des images de champs de vue prises sur les lames minces a été paramétrée pour récupérer tous les objets présents, c'est-à-dire les nannofossiles et les autres entités en calcite. Ensuite pour la classification de ces vignettes, des réseaux de neurones artificiels et des modèles statistiques ont été entraînés à partir des images de référence et de leurs mesures morphométriques. De nombreux tests et combinaisons ont été nécessaires afin d'obtenir un système optimal. Enfin, des programmes complémentaires permettent de compter les différents groupes reconnus pour la lecture des résultats.

Pour expliquer ce projet, nous commencerons par un inventaire non exhaustif des connaissances et des applications concernant les nannofossiles calcaires. Ensuite nous développerons, de manière accessible, les

concepts mathématiques et techniques, de la reconnaissance automatique et du traitement d'image qui composent le système pour introduire le chapitre concernant SYRACO. Puis nous verrons de nombreux exemples possibles d'applications de SYRACO pour la biostratigraphie et la paléocéanographie. Enfin, nous concluons ce travail sur SYRACO avec un rappel des éléments développés dans les chapitres précédents et nous poursuivons avec des perspectives d'applications, d'améliorations et d'évolutions du système.

« Tout obstacle renforce la détermination. Celui qui s'est fixé un but n'en change pas. »

Extrait des *Carnets* de Léonard de Vinci

Références citées

- Beaufort, L., Dollfus, D., 2004. Automatic recognition of coccoliths by dynamical neural networks. *Marine Micropaleontology* 51, 57-73.
- Dollfus, D., 1997. Reconnaissance de formes naturelles par des réseaux de neurones artificiels: application au nannoplancton calcaire. Ph.D. Thesis, Université d'Aix-Marseille III, Marseille, France, p. 162.
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1996. Automatic pattern recognition of calcareous nanoplankton, *Proceedings of the Conference on Neural Networks and their Applications (NEURAP 96)*, Marseille, France, p. 306-311.
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1999. Fat neural network for recognition of position-normalised objects. *Neural Networks* 12, 553-560.

2. LES NANNOFOSSILES CALCAIRES

Le terme « nannofossile calcaire », originellement défini par [Lohmann \(1909\)](#), désigne les groupes de taxons fossiles disparus (nannoconidés, discoasteridés, fasciculithes...) ou encore présents (coccolithophoridés) composés de plaques micrométriques en calcite, d'une taille allant de 1 à 25 μm environ¹ (**Figure 1-1** et **Figure 2-1**). C'est un groupe très diversifié en forme, en taille et en comportement optique au microscope. Ils sont généralement très abondants dans les océans en milieu pélagique et hémipélagique ([Aubry, 2009](#)) ; le nombre de spécimens dans les sédiments pélagiques argileux peut dépasser 1 million/cm³ ([Braga et Riding, 2005](#)). Ils ont été décrits pour la première fois par Christian Gottfried Ehrenberg en 1836 ([Ehrenberg, 1836](#)) à partir d'une étude des craies de la Mer Baltique (île de Rugen). Ils ont été très productifs au Crétacé ([Stanley et Hardie, 1998](#); [Stanley et Hardie, 1999](#)) et forment le constituant principal des impressionnantes falaises de craie en Normandie par exemple (**Figure 2-2**, jusqu'à 100 m d'épaisseur). Par cette répartition et abondance, les nannofossiles fournissent, parmi les autres microfossiles planctoniques, les enregistrements les plus complets de biodiversité (stratigraphique et taxonomique) ; plus complets que n'importe quel autre groupe d'organismes ([Bown et al., 2004](#)). Ces enregistrements des changements de biodiversité et de productivité retracent les changements globaux du climat ([Bown et al., 2004](#)). Les nannofossiles calcaires étaient, et sont toujours, d'autant plus sensibles aux changements environnementaux qu'ils ont une incidence indirecte sur l'écosystème marin car ils influent sur le cycle du carbone et composent une part importante de la base de la chaîne alimentaire du plancton marin.

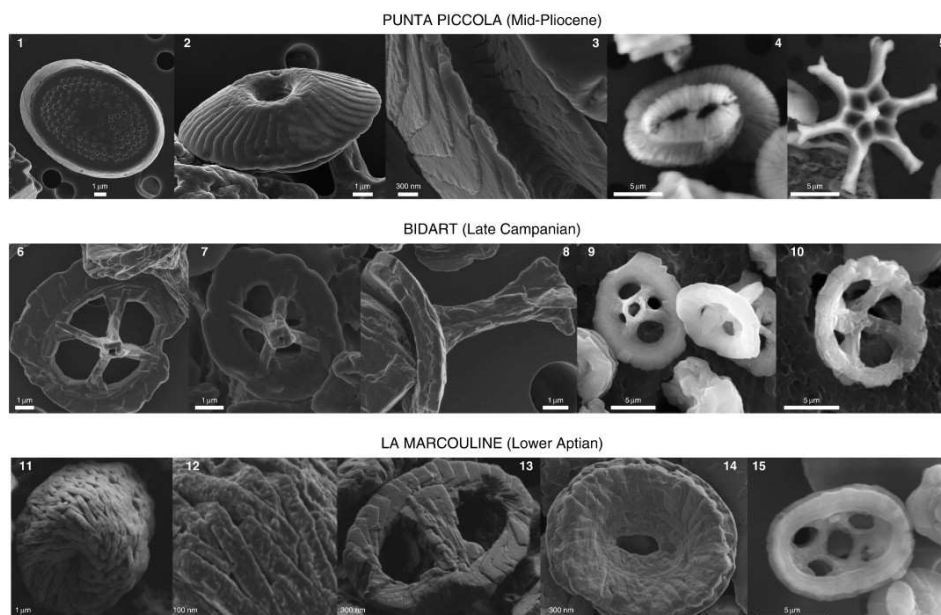


Figure 2-1. Exemple d'images au Microscope Électronique à Balayage (MEB) de nannofossiles calcaires du Crétacé et du Cénozoïque. D'après [Beltran et al. \(2009\)](#).

¹ Un cheveu fait entre 40 et 100 μm de diamètre.



Figure 2-2. Falaise de craie à Étretat en Normandie. Hauteur environ 80 m.

2.1. EVOLUTION ET DIVERSITE

La quantité de données provenant du registre fossile ainsi disponible fournit des observations robustes concernant les patterns² de changements évolutifs et de biodiversités (Bown *et al.*, 2004). Les plus vieux nannofossiles calcaires observés et avérés (coccolithes) datent du Trias Supérieur (Figure 2-3 ; Prins (1967), Jafar (1983); Bown (1998); Bown *et al.* (2004); Gardin *et al.* (2012)). Certaines formes sphériques similaires ont été observées au Silurien, soit 200 millions d'années plus tôt (Munnecke et Servais, 2008). Leur diversité augmente graduellement jusqu'à atteindre un maximum au Crétacé Supérieur (Figure 2-3 ; Roth (1989), Bown *et al.* (2004)). Après la crise Crétacé–Tertiaire (K/T) le groupe subit des extinctions mais retrouve une forte diversité au cours de l'Éocène (Figure 2-3 ; Bown *et al.* (2004)) qui diminue à nouveau ensuite. Les autres types de nannofossiles d'affinités méconnues sont contemporains des coccolithes, dans le temps et l'espace. Parmi eux, *Schizosphaerella*, *Thoracosphaera*, nannoconidés et discoasteridés. Mais ces deux derniers groupes semblent être aussi des coccolithophoridés d'après les dernières réinterprétations de leurs structures issues de nouvelles observations (e.g. Aubry *et al.* (2012) et com. perso. Marie-Pierre Aubry, Rutgers University, New Jersey, USA).

La diversité du nannoplancton au Cénozoïque (de -66 Ma à nos jours ; Gradstein *et al.* (2012)) est remarquablement plus forte et variable qu'au Mésozoïque (-252,2 à -66 Ma ; Gradstein *et al.* (2012)), avec des taux de spéciation et d'extinction plus importants (Bown *et al.*, 2004). Il y a aussi une bonne corrélation entre la diversité et les tendances climatiques, avec une grande diversité lors de climats chauds (Bown *et al.*, 2004; Aubry *et al.*, 2005).

² Du français « patron », ce terme descriptif est synonyme de structure, d'organisation.

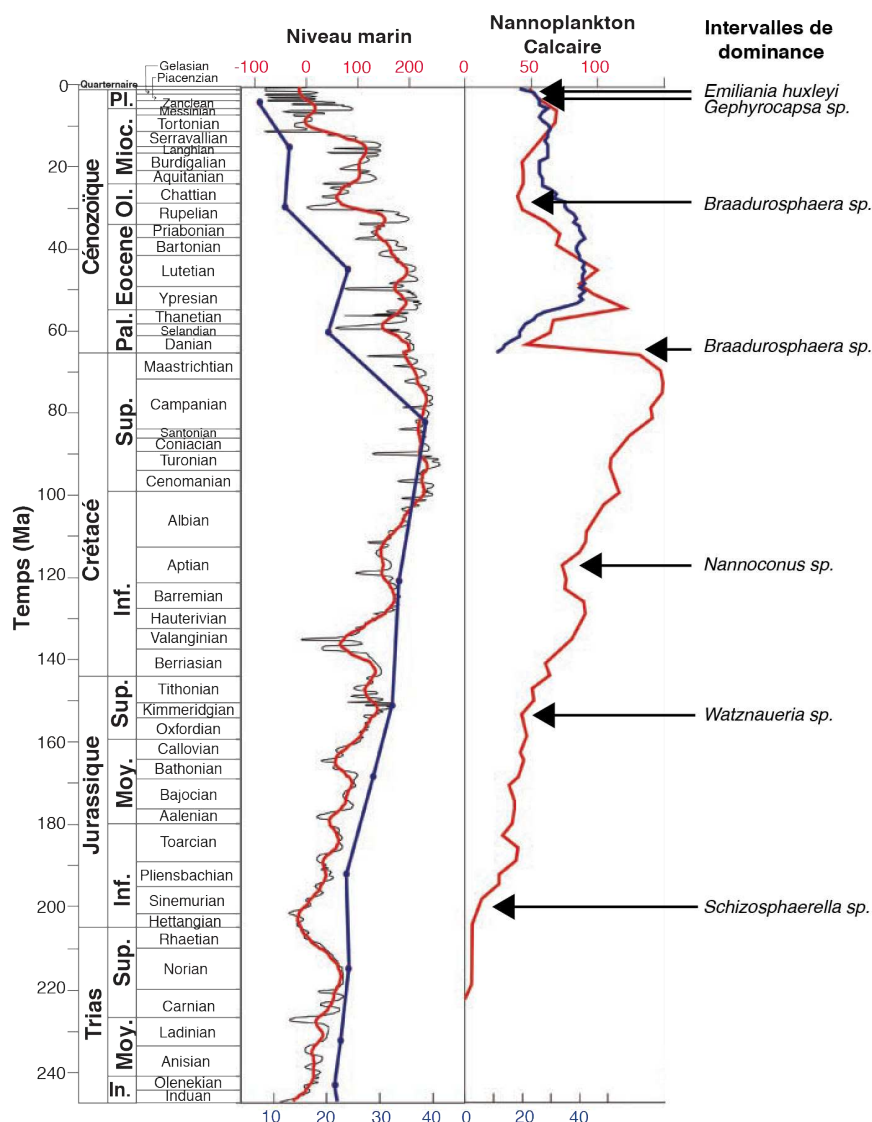


Figure 2-3. Figure comparant la courbe du niveau marin (rouge ; Haq *et al.* (1987)), le pourcentage de terres immergées (bleu ; Ronov (1994)), le nombre d'espèces de nannoplancton calcaire (rouge ; Bown *et al.* (2004)), le nombre de genres (bleu ; Spencer-cervato (1999)) et les intervalles de dominance (flèches ; Thierstein *et al.* (2004)) en fonction du temps (Berggren *et al.*, 1995b). Modifié d'après Falkowski *et al.* (2004).

La classification des nannofossiles calcaires (=taxonomie) est entièrement basée sur les données phénotypiques et sur la structure et la forme des coccolithes (**Figure 2-4**). Pour les formes vivantes un plus grand nombre de paramètres est utilisé (cytologie³, ADN, holococcolithes...). Malgré les avancées concernant les concepts taxonomiques et l'observation des nannofossiles (microscopes optiques et électroniques à balayage), il existe encore des divergences dans la taxonomie (Bown, 1998). Ces problèmes peuvent provenir de l'importance plus ou moins grande attribuée à des structures morphologiques, notamment selon le mode d'observation ; comme la signification taxonomique des bordures par rapport à l'aire centrale ou l'utilisation de détails très fins sur des spécimens très bien préservés. La taxonomie est donc régulièrement sujette à des reviews (e. g. Young *et al.* (1997); Young *et al.* (2005); Aubry *et al.* (2012)) mais il reste encore du travail qui nécessite un nouvel effort de recensement et de description (par exemple Aubry (2013)).

³ Etude morphologique des cellules.

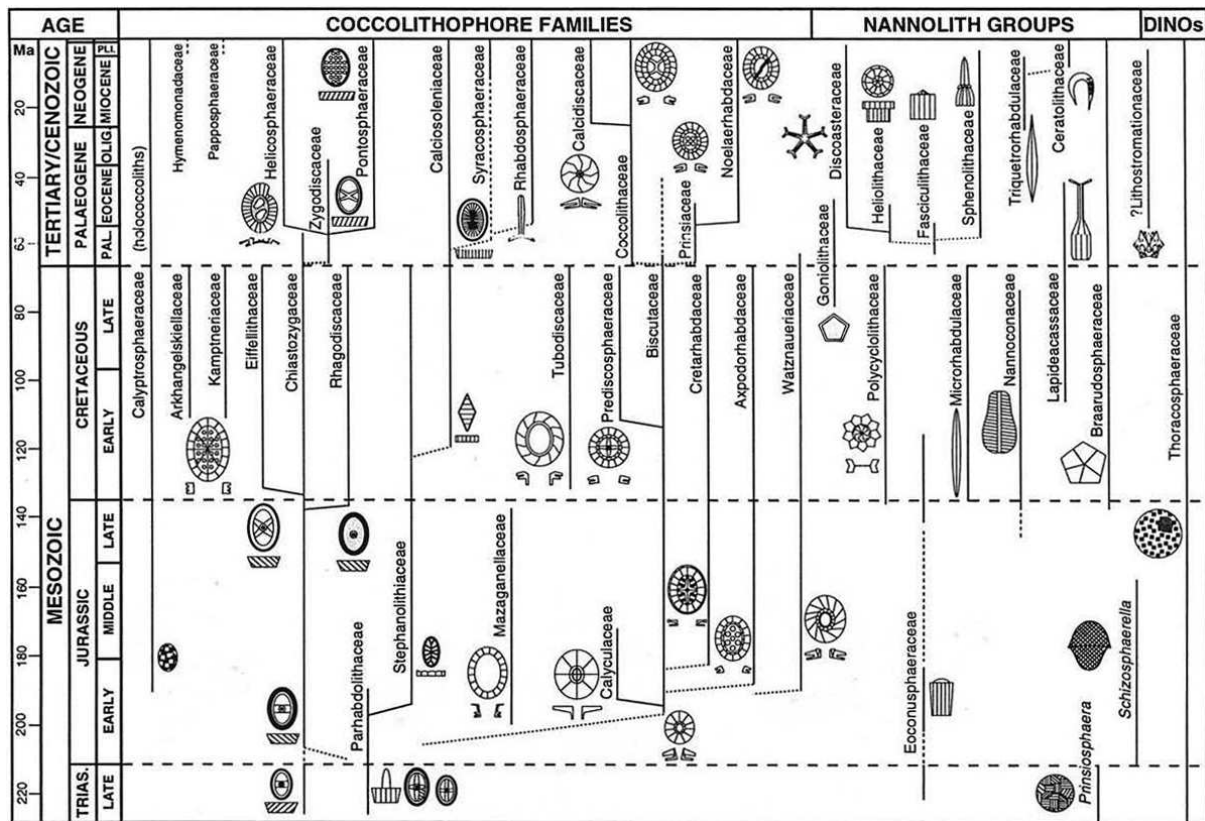


Figure 2-4. Modèle phylogénétique hypothétique des nanofossiles calcaires basé sur la taxonomie (Bown *et al.*, 1991). DINOs= Dinoflagellés. Ce modèle est quelque peu obsolète, les nannolithes sont désormais quasiment tous considérés comme des coccolithophoridés, mais il donne une idée de leur diversité depuis le Trias.

Cependant, malgré la qualité du registre fossile, les informations doivent aussi être interprétées avec une certaine prudence et l'idée que l'enregistrement peut être perturbé par divers biais ou lacunes tels la mauvaise préservation, le polymorphisme, la présence d'espèces cryptiques⁴ ou la faible intensité d'échantillonnage des sédiments (McIntyre et McIntyre, 1970; Schneidermann, 1977; Sáez *et al.*, 2003; Bown *et al.*, 2004; Lloyd *et al.*, 2011; Lloyd *et al.*, 2012). Mais les principales tendances de diversité ont été identifiées aussi pour d'autres groupes de fossiles tels les dinoflagellés et les foraminifères, d'autant que ces tendances sont toujours d'actualité malgré les changements de classifications taxonomiques et la description de nouvelles espèces (Bown *et al.*, 2004). Étant donnée la différence entre le nombre d'espèces décrites dans le vivant et le registre fossile récent, tous les clades⁵ ne sont pas nécessairement bien représentés. Malgré cela, Bown *et al.* (2004) ajoutent que les taxons observables dans le registre fossile nous livrent quand même un enregistrement fiable de l'évolution et de la diversité du nannoplancton calcaire au cours du temps.

Ces patterns de diversité sont attribués à des facteurs interconnectés : les facteurs biotiques (compétition ; remplacement écologique...) et abiotiques (stabilité de l'environnement ; changements climatiques, du niveau marin ou biogéographiques ; apports nutritifs, productivité... (Bown *et al.*, 2004)).

Parmi les nanofossiles calcaires, le principal groupe encore présent est celui des coccolithophoridés, apparu au Trias. Ce sont les plus étudiés et les plus représentés de nos jours.

⁴ Groupe d'espèces qui ne sont pas distinguables d'un point de vue morphologique.

⁵ Dans la classification phylogénétique, un clade regroupe un ancêtre et l'ensemble de ses descendants.

2.2. UN GROUPE MAJEUR : LES COCCOLITHOPHORIDES

La plupart des nannofossiles calcaires sont des coccolithophoridés (phylum Haptophyta (Green et Jordan, 1994), division Prymnesiphyceae (Hibberd, 1976; Jordan et Chamberlain, 1997)). C'est un groupe majeur, encore présent aujourd'hui, d'organismes unicellulaires phytoplanctoniques autotrophes (=nannoplancton) qui est le plus important producteur primaire précipitant de la calcite (CaCO_3 , **Figure 2-5**, Pienaar (1994); Inouye (1997)). Les coccolithophoridés jouent un rôle clef dans la biogéochimie et l'écosystème marin (Geisen et al., 2002; Baumann et al., 2004; Hay, 2004; Baumann et al., 2005). Les cellules de 5 à 100 μm de diamètre produisent de nombreux coccolithes (10 à 100) dans une matrice organique, formant ainsi une coccosphère (**Figure 2-6**; Geisen et al. (2002); Billard et Inouye (2004); Braga et Riding (2005)). Leur(s) fonction(s) biologique(s) est (sont) encore discutée(s) (voir 2.3. POURQUOI LA CALCIFICATION ?). Il existe une grande diversité de morphologies de coccolithes et une variabilité intra-spécifique mais ils présentent tous des plans morphologiques communs (Geisen et al., 2004). Ceci permet d'appliquer une terminologie cohérente pour la description des coccolithes (Young et al., 1997; Bown, 1998; Aubry, 2013). La taxonomie des coccolithophores repose donc historiquement sur les caractéristiques morphologiques des coccolithes (**Figure 2-7**, à gauche) préservés dans les sédiments (Tappan, 1980; Perch-Nielsen, 1985a). Pour les espèces vivantes plus de 250 coccosphères ont été décrites (Winter et Siesser, 1994; Young et al., 2005). Mais la taxonomie a souvent été complexifiée par l'imbrication et les superpositions des différents cycles cristallins constituant les coccolithes (**Figure 2-7**, à droite et **Figure 2-8**).

Ils vivent pour la plupart dans la zone photique supérieure (de 0 à 80 m de profondeur environ) mais sont présents jusqu'à la zone photique inférieure (≈ 220 m). Ils sont les plus diversifiés à basse latitude mais ne sont pas observés au-delà de 70° de latitude. Ils abondent dans les environnements océaniques chauds, stratifiés et oligotrophiques (Bown, 1998). Une seule espèce d'eau douce a été documentée (Braarud, 1954; Manton et Peterfi, 1969). Les assemblages de coccolithes varient en fonction de la température, des apports en nutriments et de la lumière (Pienaar, 1994; Inouye, 1997), définissant des zones biogéographiques distinctes et une stratification verticale de la colonne d'eau (Winter et al., 1994). Avec des assemblages en zone photique profonde dans/sous la thermocline/nutricline⁶ exploitant un environnement moins compétitif (moins de lumière, température plus faible...). Ces assemblages montrent aussi des variations saisonnières en termes d'abondance relative et de composition spécifique. La diversité est la plus importante dans les eaux chaudes et oligotrophiques. Celle-ci tend à diminuer vers les côtes et les mers restreintes. Les nutriments limitants les plus importants sont les nitrates et les phosphates, mais d'autres tels le fer, le zinc, le manganèse et la thiamine (une vitamine) semblent aussi avoir une influence (e.g. synthèse de Zondervan (2007)). Des indices provenant du registre fossile suggèrent que les coccolithophores ont toujours eu des tolérances écologiques similaires, avec une distribution paléobiogéographique comparable avec les espèces actuelles (Bown, 1998).

Les coccolithophores sont généralement non mobiles; néanmoins, certaines espèces possèdent des phases de développement avec des cellules flagellées mobiles, de colonies non-mobiles ou avec des filaments (Braga et Riding, 2005). La taxonomie des coccolithophores est basée sur la morphologie des coccolithes qui recouvrent les cellules à différents stades de leur développement. Il existe deux groupes majeurs, les holococcolithes et les hétérococcolithes (Parke et Adams, 1960; Young et al., 2004; Baumann et al., 2005). Le cycle de vie typique des coccolithophores consiste en une phase diploïde, qui est couverte par des hétérococcolithes et une phase haploïde souvent couverte par des holococcolithes (**Figure 2-8** et **Figure 2-9**; Young et al. (2004)). D'après Geisen et al. (2002), il existerait de nombreuses combinaisons complexes entre les holococcolithes et les hétérococcolithes (« *the het-hol associations* »). Une autre complication dans la taxonomie des coccolithophoridés est qu'il existe des espèces dont les coccolithes sont polymorphes, c'est-à-dire avec deux (ou plus) morphologies différentes (Kleijne, 1993; Young et al., 2005).

Les coccolithes si particuliers à ce groupe, mais aussi les éléments calcifiés des autres nannofossiles,

⁶ La thermocline est la zone de transition thermique rapide entre les eaux superficielles, chaudes et toujours en mouvement, et les eaux profondes, plus froides. La nutricline est la couche de forte variation de la teneur en nutriments fonction de la profondeur.

doivent avoir une fonction, ou plusieurs, qui est encore discutée de nos jours.

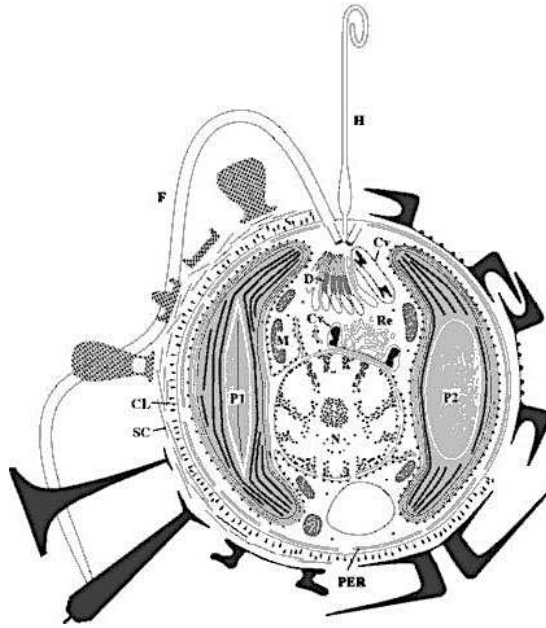


Figure 2-5. Représentation schématique des structures d'une cellule de coccolithophore. CL= dépôt colonnaire, Cv= vésicule à l'intérieur de laquelle se forme le coccolithe, F= flagelle, H= haptone, PER= réticulum endoplasmique périphérique, SC= plaque organique non minéralisée, P1 et P2 = Chloroplastes. En noir, différents types de coccolithes. D'après Billard et Inouye (2004).

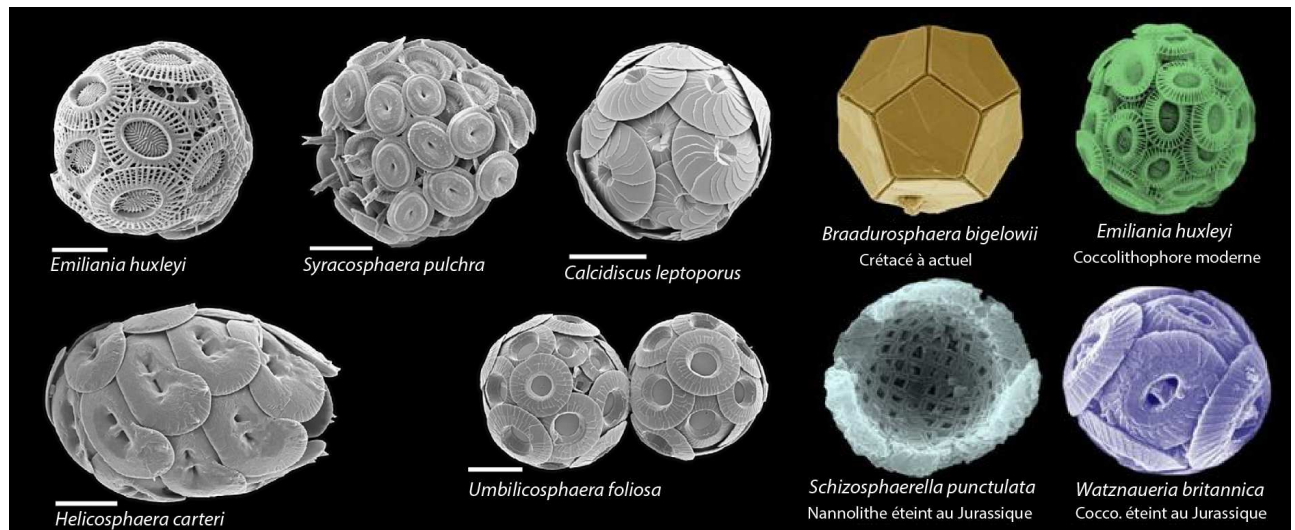


Figure 2-6. Images MEB de plusieurs coccosphères en fausses couleurs. Échelles des images 5 μm sauf pour E. huxleyi (2 μm). Leur taille moyenne est de 20 μm (Giraudeau et Beaufort, 2007). Modifié d'après Gussone et al. (2007) et l'University College London (<http://www.ucl.ac.uk/es/research/micropal/about-us>).

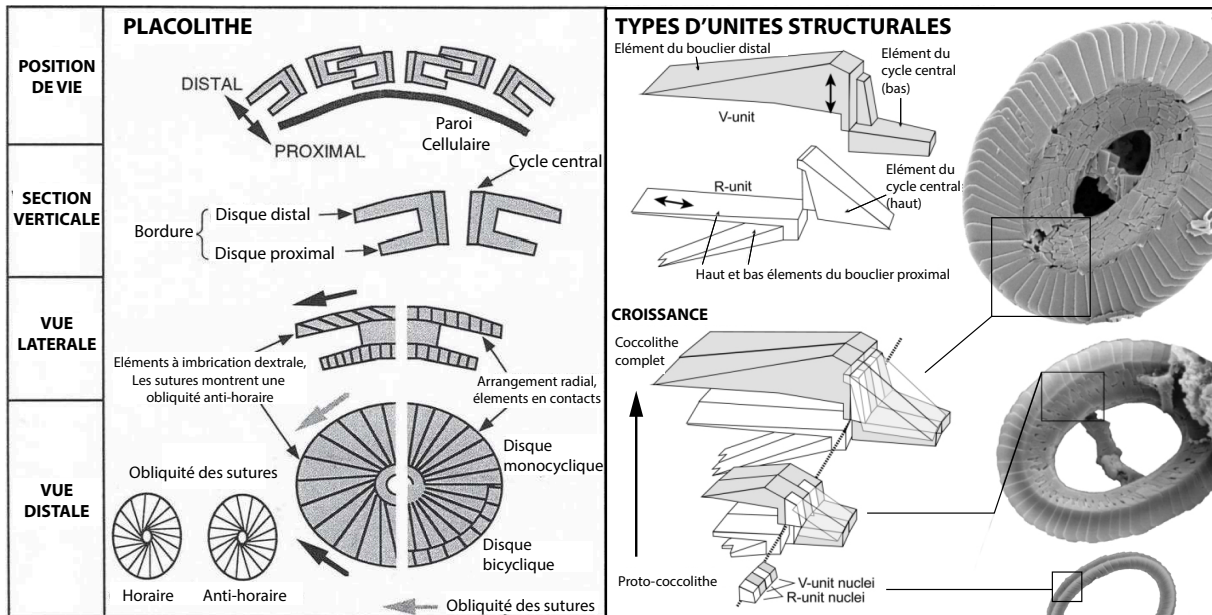


Figure 2-7. Schémas de base modifiés de la morphologie des cycles utilisés pour la terminologie, à gauche (Bown, 1998); et à droite, détails sur des exemples d'unités structurales composant les cycles et sur la croissance des coccolithes (Young et Henriksen, 2003).

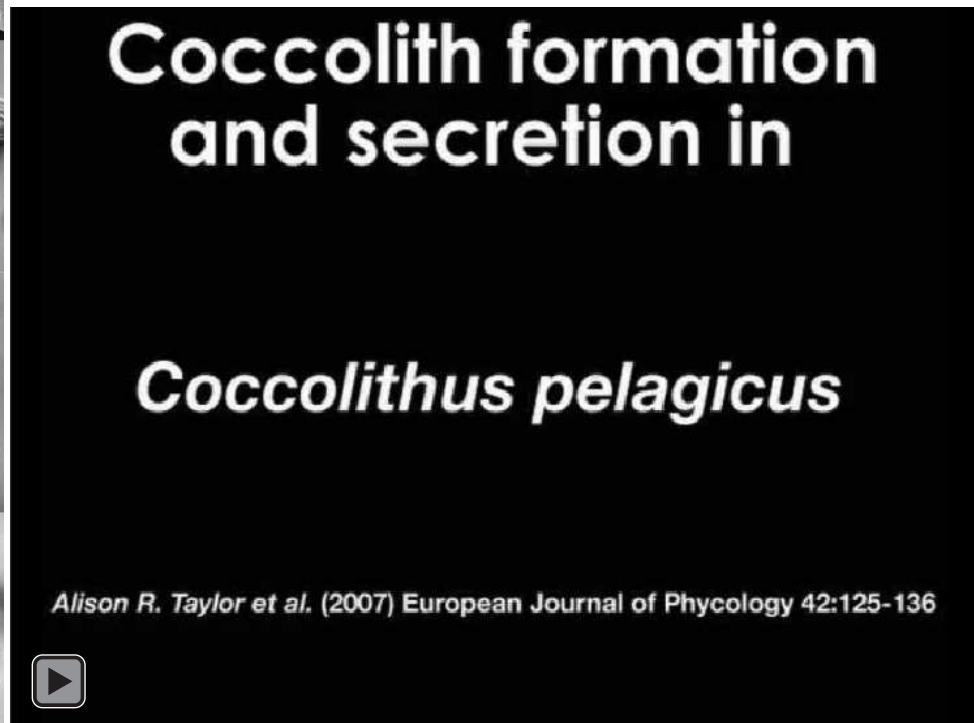
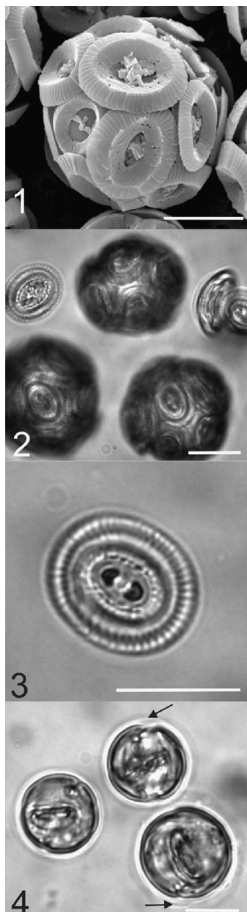


Figure 2-8. A gauche, photographies de *Coccolithus pelagicus* au stade hétérococcolithe, 1= image MEB, 2= photos de coccosphères au microscope, 3= photo d'un coccolithe au microscope et 4= photos de cellules au microscope fabriquant des coccolithes (Taylor et al., 2007). Échelle des barres blanches 10 μ m. À droite, film montrant la formation et la sécrétion de coccolithes de *Coccolithus pelagicus* en culture (Taylor et al., 2007). Disponible ici : <http://ina.tmsoc.org/nannos/cpelmovie/index.html>.

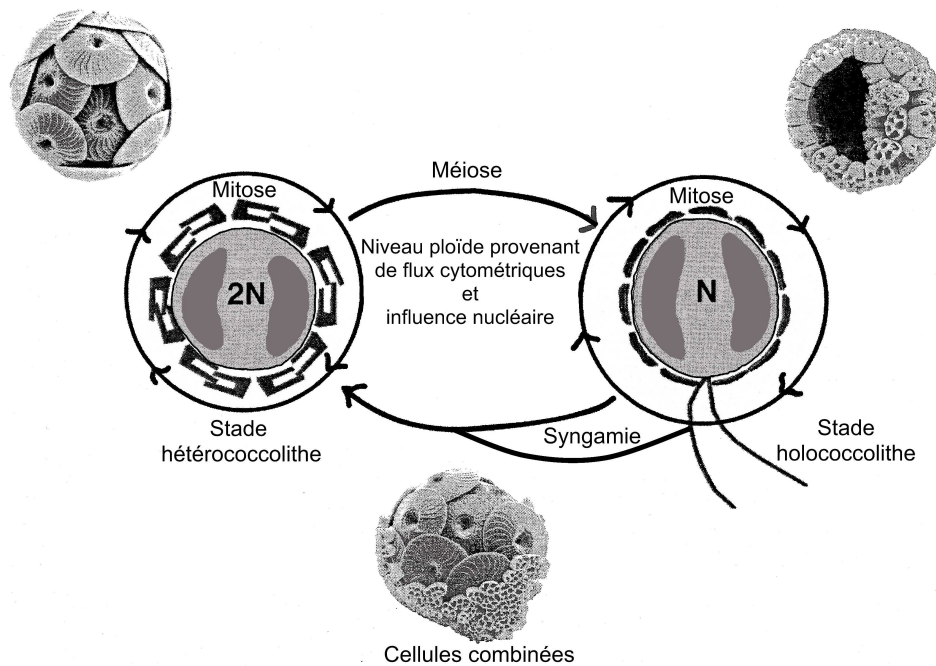


Figure 2-9. Schéma du cycle de vie des coccolithophoridés. Modifié d'après Geisen *et al.* (2002).

2.3. POURQUOI LA CALCIFICATION ?

Il existe beaucoup de spéculations autour de la fonction des coccolithes (**Figure 2-10**). La paroi cellulaire du phytoplancton étant particulièrement vulnérable à des menaces extérieures, la principale hypothèse serait le rôle protecteur des coccolithes vis-à-vis des attaques pathogènes, de la prédation du zooplancton, ou encore des chocs chimiques (Bown, 1998). Des preuves indirectes d'un rôle protecteur des coccolithes proviennent de l'observation de cellules d'*Emiliana huxleyi* (**Figure 2-6**) capables d'ajuster leurs taux de calcification par cellule afin de maintenir au minimum une couche de coccolithes, même en condition de stress (Paasche, 1999, 2001). Mais rien de concluant n'a été observé par rapport aux prédateurs et contre les attaques virales chez cette même espèce (Harris, 1994; Pond *et al.*, 1995; Bratbak *et al.*, 1996; Wilson *et al.*, 2002). D'autre part rien n'a encore été testé par rapport aux attaques bactériennes. Autre hypothèse, les coccolithes pourraient avoir une fonction métabolique permettant de réguler le mouvement des cellules vers les couches plus profondes possédant plus de nutriments (Lecourt *et al.*, 1996). La fonction de calcification pourrait aussi être un catalyseur pour l'acquisition de phosphate (Tyrrell et Taylor, 1996; Riegman *et al.*, 2000). Les coccolithes peuvent servir de photoinhibiteurs afin de limiter le développement des autres phytoplanctons ou de protection pour la cellule sous forte luminosité (Nimer et Merret, 1993; Grima *et al.*, 1996; Israel et Gonzalez, 1996; Nanninga et Tyrrell, 1996; Nielsen, 1997). Mais cette dernière hypothèse ne serait pas probante pour *E. huxleyi* selon Nanninga et Tyrrell (1996).

Les coccolithes pourraient avoir plusieurs fonctions différentes, voir opposées, selon les espèces. Ceci suggérerait que la diversification des morphologies ait conduit à des adaptations pour chaque fonction dans la taille, la forme, le nombre de coccolithes et la morphologie de la coccosphère ; bien qu'ils aient pu avoir à l'origine une fonction commune (Bown, 1998).

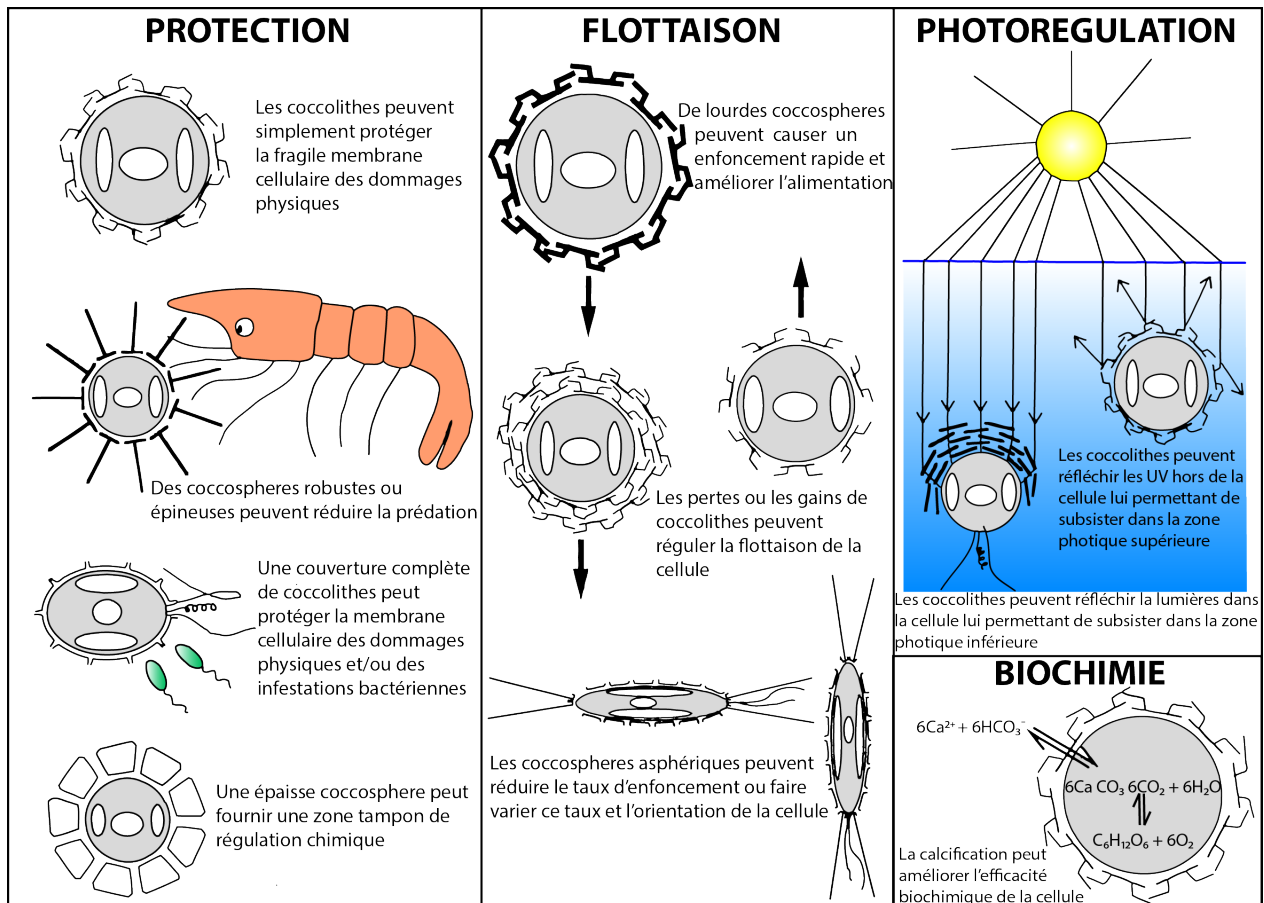
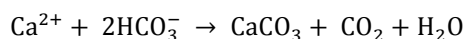


Figure 2-10. Hypothèses sur la fonction des coccolithes. Modifié d'après Young (1994a) et Bown (1998).

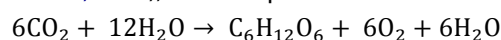
Bien que la question sur leur(s) fonction(s) soit encore posée, la production énorme de calcite et l'importante quantité de matière organique générées par les cellules jouent un rôle important à l'échelle régionale et même globale sur le cycle du carbone.

2.4. LEUR RÔLE DANS LE CLIMAT ET LE CYCLE DU CARBONE

Les coccolithophores sont considérés comme les plus importants organismes calcifiants sur Terre, jouant un rôle notable dans le cycle du carbone (Rost et Riebesell, 2004). Ils constitueraient près de la moitié de la production carbonatée pélagique dans les océans actuels (Westbroek *et al.*, 1993). Les effets de la calcification des coccolithophores dans le cycle du carbone océanique diffèrent beaucoup des autres producteurs primaires (Rost et Riebesell, 2004). La production abondante des coccolithes modifie l'alcalinité de l'océan en surface et affecte directement les échanges de CO_2 air/océan. En effet, la production des coccolithes nécessite du calcium (Ca) et du bicarbonate (carbone inorganique dissous, 2HCO_3^-) conduisant à une réduction de l'alcalinité de l'eau de mer et à une augmentation de la pression partielle de dioxyde de carbone (CO_2), selon l'équation :



Par opposition, la production de matière organique des cellules par photosynthèse ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) induit une réduction de la concentration du CO_2 à la surface des océans (Volk et Hoffert, 1985; Bates *et al.*, 1996; Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001; Mackinder *et al.*, 2010), selon l'équation :



Par conséquent, une des clefs des variables biologiques et climatiques est le rapport calcite/production de carbone organique (Figure 2-11). Sachant que la productivité et la distribution des

coccolithophores sont sensibles aux changements environnementaux liés au CO_2 , par l'acidification des eaux de surface (**Figure 2-11** et **Figure 2-12**) et par la modification de la stratification des eaux de surface (Riebesell *et al.*, 2000; Langer *et al.*, 2006; Henderiks et Rickaby, 2007; Guinotte et Fabry, 2008; Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008; Doney *et al.*, 2009; Beaufort *et al.*, 2011; Kroeker *et al.*, 2011). Cette production organique et inorganique est appelée pompe biologique de carbone et ses flux régissent en partie les échanges biogéochimiques issus du réservoir marin du cycle du carbone. Cette pompe induit deux effets (**Figure 2-11**). La production de matière vivante par les algues microscopiques (phytoplancton) en suspension dans les eaux de surface, par photosynthèse, consomme du CO_2 dissous (qui se renouvelle aux dépens de l'atmosphère, **Figure 2-11**). Le carbone ainsi fixé est susceptible d'alimenter plusieurs voies de transformation. Le phytoplancton peut être consommé par des animaux planctoniques (zooplancton, **Figure 2-11**). Mais la production de calcite libère à son tour du CO_2 dans l'atmosphère, contrebalançant la pompe organique (Rost et Riebesell, 2004). Les changements de la chimie des carbonates de l'eau de mer, causés par l'augmentation du CO_2 atmosphérique, peuvent diminuer la calcification (Gattuso et Buddemeier, 2000; Riebesell *et al.*, 2000; Zondervan *et al.*, 2001), mais aussi modifier la composition des espèces de phytoplanctons (Tortell *et al.*, 2002), avec un décalage de moins d'un an (Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001). Sur le long terme, les coccolithophores contribuent globalement à une diminution du CO_2 atmosphérique. Car lors de la calcification, deux atomes de carbone sont utilisés et l'un d'entre eux finit fixé dans le carbonate de calcium. Cette calcite coule au fond de l'océan et fait partie du sédiment, fournissant un piège à carbone contrebalançant l'émission de gaz à effet de serre. La contribution des coccolithes dans les sédiments est en général estimée en pesant les carbonates de la fraction fine (Haidar *et al.*, 2000; Ziveri *et al.*, 2000). Ils contribuent pour 20 à 80 % du flux total de carbonate dans les sédiments selon les paramètres océaniques (Berger et Roth, 1975; Knappertsbusch et Brummer, 1995; Andruleit, 1997; Beaufort et Heussner, 2001; Giraudeau et Beaufort, 2007), en moyenne 60 % (Honjo, 1996). Mais il y a aussi une part non négligeable de non-coccolithes comme de la microcalcite détritique, des dinophytes ou des foraminifères (Paull *et al.*, 1988; Beaufort et Heussner, 1999).

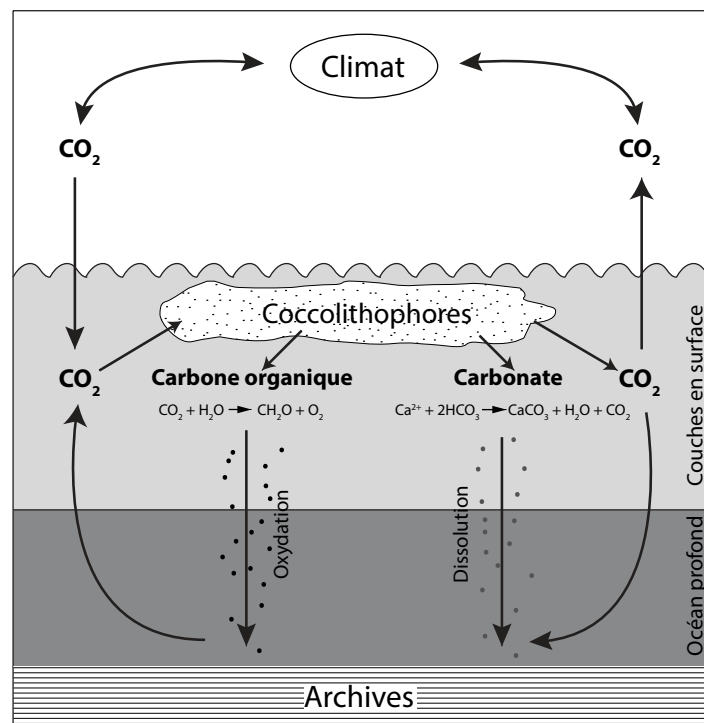


Figure 2-11. Schéma simplifié du mécanisme de la pompe biogéochimique du carbone : production de matière organique par photosynthèse dans la couche superficielle et transport vers le fond. La pompe du carbone organique conduit à un stockage du CO_2 dans les océans alors que la production du carbonate de calcium (pompe des carbonates) relâche du CO_2 . Modifié d'après Westbroek *et al.* (1993), Rost et Riebesell (2004) et Giraudeau et Beaufort (2007).

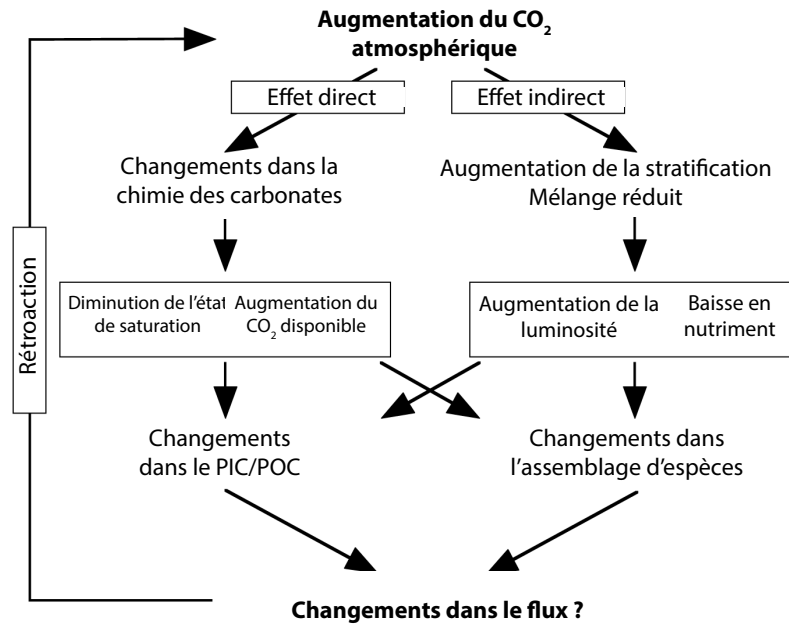


Figure 2-12. Schéma des effets d'une augmentation du CO₂ atmosphérique sur la composition des eaux de surface des océans et le phytoplancton. L'augmentation du niveau de CO₂ cause directement une perturbation dans l'équilibre des carbonates, provoquant une acidification gênant la formation de calcite. Indirectement, cette augmentation accroît la stratification des eaux de surface, modifiant l'apport de luminosité et de nutriments. Ces modifications ont donc une influence sur l'écophysiologie et les communautés de phytoplancton calcaire ; et aussi sur la proportion du flux du stockage de CO₂. PIC : Carbone Inorganique Particulaire, POC : Carbone Organique Particulaire. D'après Rost et Riebesell (2004).

Sous certaines conditions, les coccolithophoridés produisent des efflorescences algales⁷ (ou blooms, **Figure 2-13**) caractérisées par une forte productivité accélérant relativement rapidement le stockage net de CO₂ (Buitenhuis *et al.*, 2001) et l'impact biogéochimique (Holligan *et al.*, 1993; Vanderwal *et al.*, 1995). Les coccolithes agissent comme une protection minérale du carbone organique des cellules (Vanderwal *et al.*, 1995). Les images satellites ont montré que ces blooms peuvent être très étendus (**Figure 2-13**, Holligan *et al.* (1983); GREPMA (1988); Holligan *et al.* (1993)). Par le phénomène de calcification, ces grands blooms peuvent contribuer au réchauffement climatique à court terme.

⁷ Période d'augmentation rapide de la concentration en phytoplancton dans un système aquatique.

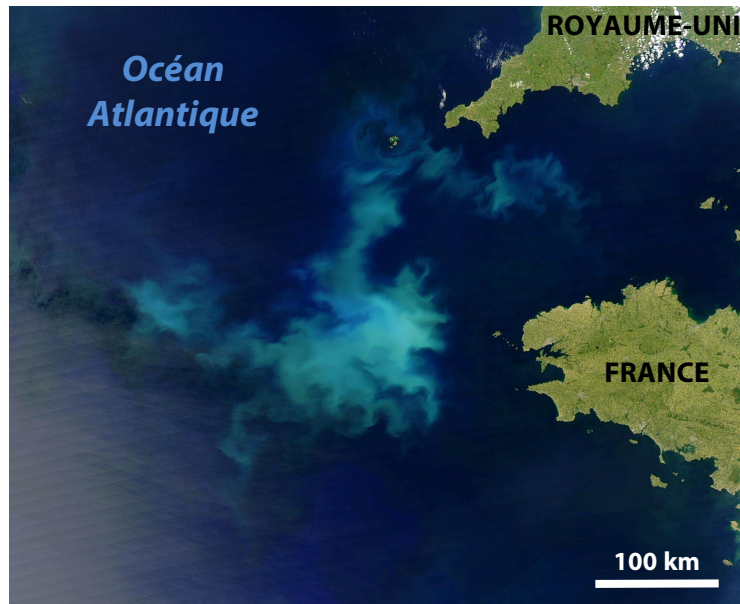


Figure 2-13. Bloom de coccolithophores entre la Manche et l’Océan Atlantique le 15 juin 2004, photo du satellite Aqua NASA/GSFC (crédit Jacques Descloitres, MODIS Rapid Response Team).

2.5. QUELLES SONT LES APPLICATIONS DES NANNOFOSSILES CALCAIRES ?

2.5.1. En paléocéanographie et les fonctions de transferts

Les assemblages de coccolithes préservés dans les sédiments actuels du fond marin reflètent de manière cohérente les communautés vivant dans les couches superficielles des océans (McIntyre *et al.*, 1970; Geitzenauer *et al.*, 1977; Baumann *et al.*, 2005; Braga et Riding, 2005). Leur dépôt sur le fond est donc rapide (Honjo, 1976), et facilité par les pellets du zooplancton et autres agrégats (à une vitesse d’environ 200m/jour), les protégeant ainsi de la dissolution, même à des profondeurs en dessous de la lysocline⁸ (Steinmetz, 1994; Knappertsbusch et Brummer, 1995). Cependant, la dissolution sélective peut toujours modifier la composition des assemblages sédimentés et réduire leur diversité en fonction de la profondeur d’eau (Broerse *et al.*, 2000; Ziveri *et al.*, 2000).

Chez les coccolithophoridés actuels, les données planctoniques et sédimentaires font ressortir une distribution latitudinale des assemblages selon quatre zones : subpolaire, tempérée, subtropicale et tropicale ; reliées aux masses d’eaux océaniques majeures. La composition taxonomique des assemblages de coccolithes semble expliquée par les conditions trophiques, la température de surface et la productivité primaire (Giraudeau et Bailey, 1995; Andruleit et Rogalla, 2002; Ziveri *et al.*, 2004). Les premières fonctions de transfert paléocéanographiques ont permis d’établir des reconstructions de températures au Pléistocène (Geitzenauer *et al.*, 1976; Molino *et al.*, 1982; Giraudeau et Pujos, 1990), la température de la surface étant le facteur le plus discriminant. Mais les études plus récentes tendent à se concentrer sur les assemblages de systèmes plus petit : les upwellings côtiers (Giraudeau, 1992; Baumann *et al.*, 1999) et équatoriaux (Kinkel *et al.*, 2000) par exemple.

Étant donné que les assemblages de nanfossiles calcaires varient avec la température selon des gradients latitudinaux modifiés par les courants et autres facteurs océaniques, ils peuvent être utilisés comme des proxies⁹ de conditions paléocéanographiques dans les sédiments pélagiques anciens (McIntyre

⁸ Profondeur à partir de laquelle la solubilité du calcaire augmente fortement, c’est le seuil de compensation des carbonates.

⁹ Caractéristiques qui préservent des informations du climat passé pouvant être directement mesurées (isotopes, comptage

et Bé, 1967; Okada et Honjo, 1973; Winter *et al.*, 1994; Braga et Riding, 2005). Les différents types d'environnements sont dominés par des assemblages caractéristiques (**Figure 2-14**) qui peuvent être distingués par le type de coccolithe et par la morphologie de la coccosphère (Young, 1994a, b; Young *et al.*, 1997; Young et Bown, 1997; Young *et al.*, 1999). Les espèces de forme placolithe (A) semblent caractéristiques des environnements méso- à eutrophiques (upwelling ou zones proximales par rapport aux continents; exemples: *Emiliana huxleyi*, *Gephyrocapsa* sp., *Umbilicosphaera* sp.). Les assemblages umbelliformes (B, ex: *Umbellosphaera* sp. *Discosphaera* sp.) dominent les environnements oligotrophiques mi-océaniques. Les espèces floriformes (C, ex: *Florisphaera* sp.) caractérisent, quant à elles, les assemblages de la zone photique inférieure avec une colonne d'eau stratifiée, des basses aux moyennes latitudes.

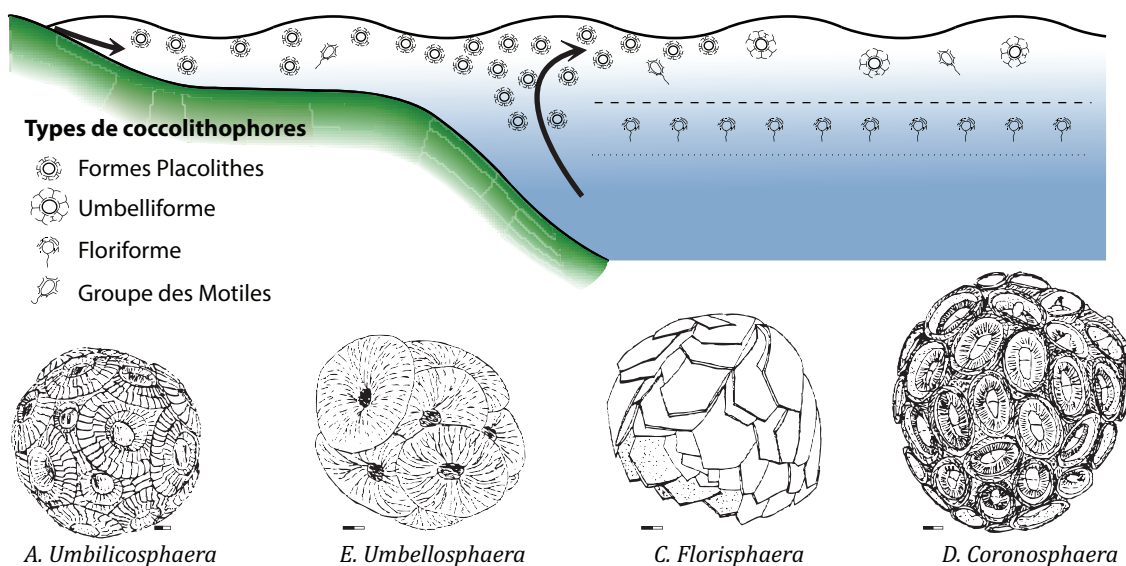


Figure 2-14. Assemblages caractéristiques de coccolithophores comme indicateurs de masses d'eaux océaniques; distingués par le type de coccolithe et par la morphologie de la coccosphère. Ici quatre exemples de genre pour chaque type: A= Placolithes, B= Umbelliformes, C= Floriformes et D= Motiles. Modifié d'après Young (1994b) et Baumann *et al.* (2005).

Il existe des fonctions de transferts basées sur les coccolithes pour les estimations quantitatives de paramètres abiotiques comme la température ou la salinité. Les premières furent des analyses statistiques multivariées sur les assemblages fossiles afin d'estimer la température et la salinité de la surface (Roth, 1994) pour des reconstructions paléocéanographiques du Pléistocène (Geitzenauer *et al.*, 1976; Molino *et al.*, 1982; Giraudeau et Pujos, 1990) ou du Crétacé Inférieur (Tremolada *et al.*, 2006). Mais ces méthodes peuvent ne pas être applicables systématiquement à cause de la dominance d'une espèce dans l'assemblage. D'autant que certains paramètres, autres que la température et la salinité, influencent les assemblages (le contenu en nutriments, la productivité primaire, la stratification, la turbidité, la saisonnalité...; Giraudeau et Beaufort (2007)). De surcroît, il est important de considérer qu'au niveau de l'espèce, la variabilité morphologique et/ou génétique intra et inter-spécifique entre en ligne de compte, les taxons¹⁰ pouvant avoir différentes préférences écologiques (Ziveri *et al.*, 2004; Aubry, 2009). D'où l'importance de limiter ces méthodes à des zones géographiques limitées comme les remontées d'eaux côtières (Giraudeau et Rogers, 1994; Saavedra-Pellitero *et al.*, 2011). Autre fonction: Bollmann *et al.* (2002) ont réalisé une calibration de paléotempérature à partir de six morphotypes du genre *Gephyrocapsa* (Bollmann, 1997), différenciés selon la taille et l'angle du pont. Leur modèle permet des estimations absolues de températures avec une erreur standard d'environ 1,8°C, comparable avec d'autres proxies micropaléontologiques (**Figure 2-15**). Une autre méthode utilise l'espèce *Florisphaera profunda* vivant dans la zone photique inférieure (**Figure 2-14**, « Floriforme », **Figure**

d'espèces...).

¹⁰ Un taxon est une entité conceptuelle qui est censée regrouper les organismes possédant en commun des caractères taxinomiques

2-25, 11-12). L'abondance relative de *F. profunda* est monitorée par les variations de la profondeur de la nutricline (Molfino et McIntyre, 1990). L'abondance relative de l'espèce *Florisphaera profunda* est importante quand la stratification océanique est forte, la productivité basse et la nutricline profonde (Molfino et McIntyre, 1990). L'estimation de cette abondance peut donc être utilisée comme proxy de la productivité primaire (Figure 2-16 ; Beaufort et al. (1997)). Cette fonction de transfert s'est avérée efficace dans l'Océan l'océan Atlantique (Henriksson, 2000) et dans le Pacifique (Beaufort et al., 2001; Bolton et al., 2010) pour mettre en évidence le forçage de l'insolation au niveau des tropiques sur la paléoprodutivité. Elle s'est aussi montrée comparable à d'autres proxies (radiolaires, foraminifères, alkénones...). Il existe aussi des méthodes pour estimer la température de surface à partir de molécules produites par les tissus cellulaires nommées alkénones. Celles-ci sont principalement produites par la famille des Gephyrocapsaceae et *Emiliania huxleyi* (Brassell et al., 1986; Prah et Wakeham, 1987; Rostek et al., 1993; Volkman et al., 1995; Bard et al., 1997; Meyers, 1997; Muller et al., 1998; Herbert, 2003). Cette méthode permet d'estimer la température avec une erreur d'environ 1,5°C (Muller et al., 1998).

Au cours de la dernière décennie, les avancées méthodologiques ont rendu possible l'extraction d'assemblages quasi-monospécifiques à partir des sédiments (Minoletti et al., 2001; Stoll et Ziveri, 2002; Halloran et al., 2009; Minoletti et al., 2009) ouvrant la voie à l'exploitation des isotopes ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$). Ce qui permettrait notamment de réaliser des estimations robustes de températures. Pour l'instant quelques études se sont d'abord concentrées sur les effets vitaux du fractionnement isotopique lors de la formation des coccolithes. Elles ont analysé la variabilité du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite interspécifique (Dudley et Goodney, 1979; Dudley et al., 1986; Ziveri et al., 2003; Bolton et al., 2012) et intraspécifique sur *Calcidiscus* (Rickaby et al., 2010; Candelier et al., 2013) à partir de cultures de laboratoire et de sédiments.

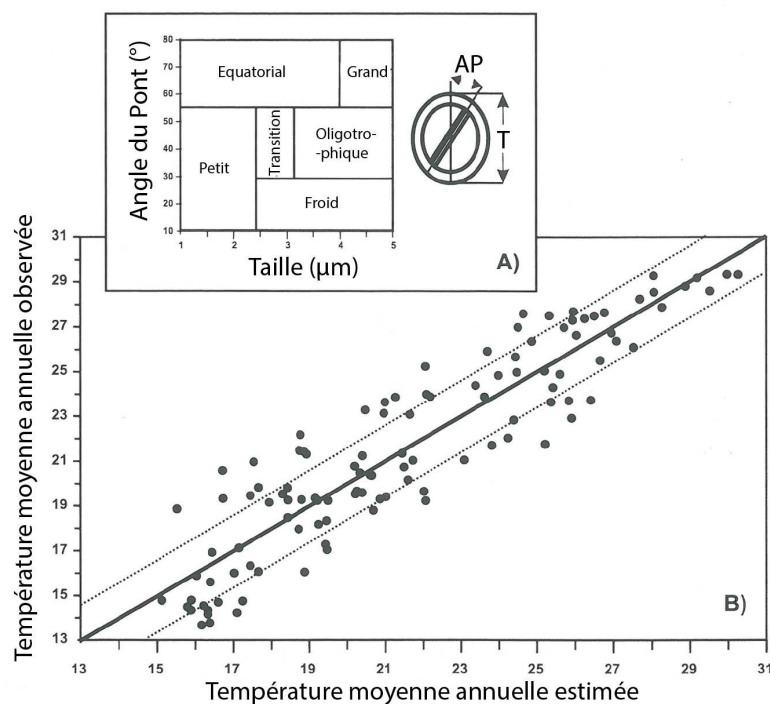


Figure 2-15. Fonction de transfert pour estimer la température de surface de la mer basée sur les abondances des morphotypes de *Gephyrocapsa* (Bollmann et al., 2002). A) Morphotypes holocènes de *Gephyrocapsa* distingués selon leur taille et l'angle du pont, B) Graphique des températures observées en fonction des températures estimées avec l'équation de régression. Les pointillés indiquent l'erreur standard des estimations ($\pm 1,78^\circ\text{C}$). Modifié d'après (Giraudeau et Beaufort, 2007).

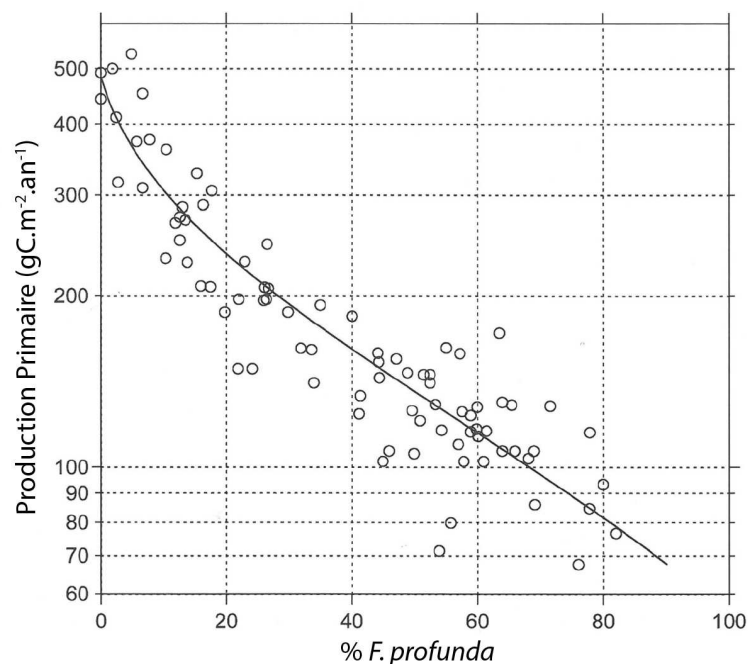


Figure 2-16. Fonction de transfert de la production primaire basée sur l'abondance relative de *F. profunda* (Beaufort *et al.*, 1997; Beaufort *et al.*, 2001). Graphique modifié d'après (Giraudeau et Beaufort, 2007).

2.5.2. L'estimation de la masse des coccolithes pour connaître les flux de carbonates

Le poids des coccolithes est longtemps resté difficile à estimer car leur taille ne permet pas une mesure directe sur une microbalance, du moins, pas à l'échelle de l'individu. Cette valeur est cependant essentielle pour l'estimation de la production carbonatée (chapitre 2.4. LEUR ROLE DANS LE CLIMAT ET LE CYCLE DU CARBONE). Des études en culture ont permis d'estimer une fourchette pour *Emiliania huxleyi* entre 2,8 pg (Balch *et al.*, 1992) et 8 pg (Honjo, 1976). Et autour de 130-150 pg en moyenne pour *Coccolithus pelagicus* par Samtleben et Bickert (1990) et Cubillos *et al.* (2012). Mais pour un travail en routine sur microscope optique, une méthode consiste à estimer le contenu en carbonate provenant des coccolithes. Elle est basée sur l'estimation du poids des coccolithes. Leur contribution totale au carbonate sédimentaire peut être connue en calculant leur abondance absolue. La meilleure approche est de mesurer et de compter une large gamme de coccolithes pour être représentatif d'un échantillon. Les résultats les plus précis ont été obtenus par Beaufort et Heussner (1999), Young et Ziveri (2000), Mattioli et Pittet (2002), Mattioli *et al.* (2004), Suan *et al.* (2008) et Gréselle *et al.* (2011) en rassemblant de nombreuses mesures morphométriques (taille, largeur, épaisseur) sur un grand nombre d'images prises sous MEB ou sous microscope optique. Ils ont utilisé des formes géométriques (pour le groupe *Nannoconus* (Gréselle *et al.*, 2011) ou pour *Schizosphaerella* et d'autres murolithes (Mattioli et Pittet, 2002; Suan *et al.*, 2008)) ou des facteurs de corrections pour le calcul de volume (Beaufort et Heussner (1999), Young et Ziveri (2000)). Le poids d'un coccolithe (PC) en picogrammes (pg) peut être estimé selon l'équation :

$$PC = V \times K \times \text{densité de la calcite}$$

avec V le volume moyen des coccolithes (m^3), K le facteur de correction spécifique d'espèce de Beaufort et Heussner (1999) ou selon :

$$PC = l^3 \times ks \times \text{densité de la calcite}$$

avec l la taille moyenne des coccolithes, et ks le facteur de correction spécifique d'espèce de Young et Ziveri (2000). Depuis, les données de Beaufort et Heussner (1999) et de Young et Ziveri (2000) ont été largement utilisées pour étudier la part des coccolithophoridés dans le système biogéochimique ou dans les calculs de

flux de carbonates, aussi bien à échelle locale que régionale (Broerse *et al.*, 2000; Ziveri *et al.*, 2000; Andrews et Giraudeau, 2003; Baumann *et al.*, 2004; Giraudeau *et al.*, 2004). Ces études montrent aussi l'importance de la composition des assemblages dans l'apport des carbonates. Car la forte variabilité inter-spécifique induit de fortes différences dans le contenu carbonaté des coccolithes au sein des sédiments. Par exemple, les assemblages peuvent contenir des espèces petites telles *E. huxleyi* et des espèces plus grosses comme *C. pelagicus*. Mais la variabilité intra-spécifique de la taille est aussi un paramètre qui rentre en ligne de compte dans les estimations et résulte de la variabilité génétique et des conditions écologiques (Young, 1994b; Knappertsbusch *et al.*, 1997; Quinn *et al.*, 2005; Giraud *et al.*, 2006; Henderiks et Torner, 2006; Fraguas et Erba, 2010; Bach *et al.*, 2012; Cubillos *et al.*, 2012). Une approche plus précise a été proposée par Beaufort (2005) et permet de contourner les problèmes de variabilités tailles/poids et de facteur de correction des méthodes précédentes. Elle utilise les propriétés optiques de la calcite en lumière polarisée en transposant la luminosité des coccolithes sur images en épaisseur puis en poids (Figure 2-17 et Figure 2-18). Cette particularité a pour origine le principe représenté par la charte des couleurs de biréfringence de Michel-Levy (Figure 2-19, Michel-Lévy et Lacroix (1888)), revue récemment par (Sørensen, 2013), où la couleur d'un minéral dépend directement de son épaisseur. Cette nouvelle méthode nécessite un effort de calibration de la couleur ou des niveaux de gris avec des valeurs d'épaisseurs connues (Beaufort, 2005). Par exemple, la couleur jaune paille correspond à un retard de phase de 300 nm et donc à une épaisseur de 1,74 μm . C'est une méthode rapide qui donne le poids individuel de toutes les particules en calcite, coccolithes et autres objets présents sur la lame mince. Selon Beaufort (2005), cette méthode combinée avec SYRACO apporte un large atout aux études de paléocéanographie pour l'estimation de la production de calcite et de la dissolution des nanfossiles. Récemment, Bollmann (2013) a établi une procédure très proche de celle décrite dans notre article chapitre 4. L'avantage de sa méthode est l'utilisation d'un type de polariseur nommé « Benford plate¹¹ » (Craig, 1961; Higgins, 2010) qui permet de voir en une seule image le maximum de biréfringence des coccolithes ; plus besoin de combiner les images en 0°, 35° et 45°. Mais, sa méthode reste limitée aux petits nanfossiles de moins de 1,55 μm d'épaisseur et présente des problèmes de calibration (voir chapitre 4).

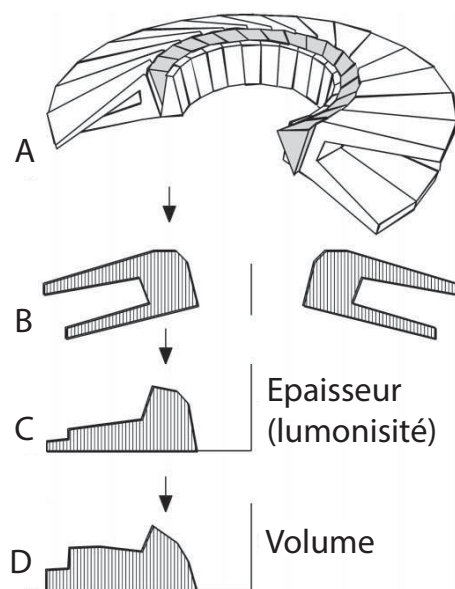


Figure 2-17. Représentation du calcul du poids d'un coccolithe à partir de sa forme. A) vue segmentée du coccolithe, B) vue en coupe, C) transposition en épaisseur à partir de l'intensité lumineuse et D) calcul du volume après calibration de l'intensité lumineuse. Il suffit de multiplier par la densité pour avoir le poids. Si l'on représente directement l'intensité lumineuse d'un coccolithe on n'obtient pas sa forme réelle mais son volume. Modifié d'après Young et Ziveri (2000).

¹¹ Cette configuration de polariseurs permet d'obtenir une polarisation circulaire de la lumière et non linéaire comme habituellement.

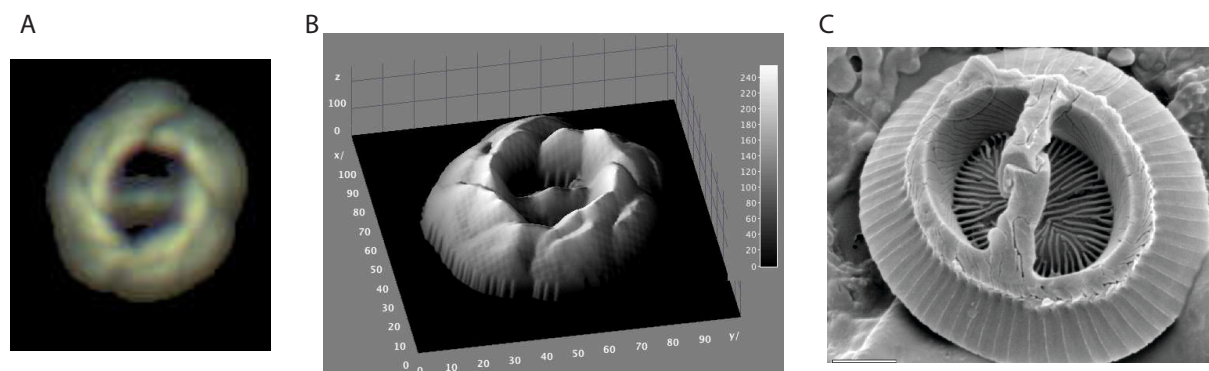


Figure 2-18. Transposition d'une image d'un coccolithe de *Gephyrocapsa oceanica* au microscope (A) en intensité lumineuse (B), la forme obtenue n'est pas directement celle d'un individu vu au MEB (C), mais son interprétation en volume total. Taille environ 4 μm , image MEB <http://nannotax.org>.

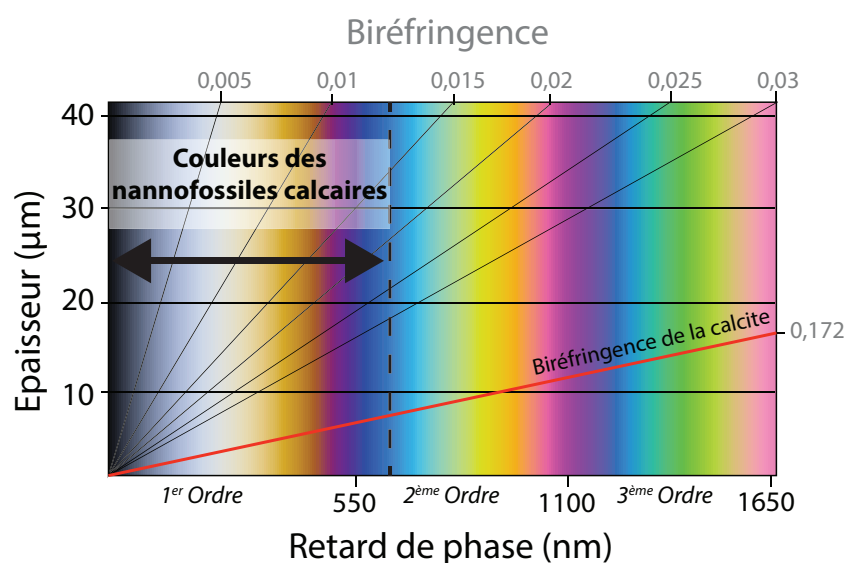


Figure 2-19. Charte simplifiée des couleurs de biréfringence de Michel-Lévy et Lacroix (1888). Les traits noirs obliques correspondent à différentes constantes de minéraux reliant l'épaisseur à la couleur (= valeur de biréfringence). La couleur étant due à un déphasage de l'onde lumineuse dépendant de sa direction de polarisation lorsqu'elle traverse un minéral (= retard de phase). Le trait surligné en rouge correspond à celui de la calcite (= 0,172) et celui en pointillés noirs correspond à la couleur des nannofossiles les plus épais. La zone d'intérêt se situe donc entre ces deux traits.

2.5.3. La datation des sédiments

Les nannofossiles calcaires possèdent un registre fossile très important : ils sont cosmopolites et abondants, ils ont une évolution rapide, une grande diversité, une stratigraphie et une taxonomie complète (Bown, 1998; Bown *et al.*, 2004). Ils forment ainsi d'excellents marqueurs fossiles pour déterminer l'âge des sédiments (=biostratigraphie), provenant de carottes de forages marins par exemple. Leur potentiel biostratigraphique a été remarqué par Bramlette et Riedel (1954), puis appliqué d'abord dans le Cénozoïque et ensuite au Mésozoïque. Ainsi, depuis, des biozonations temporelles standard exhaustives ont pu être synthétisées du Jurassique jusqu'à l'actuel, régulièrement complétées et mises à jour avec les nouvelles données isotopiques et chronostratigraphiques (Martini, 1971; Gartner et Emiliani, 1976; Sissingh, 1977; Thierstein *et al.*, 1977; Okada et Bukry, 1980; Lord, 1982; Haq, 1983; Perch-Nielsen, 1985a, b; Bown *et al.*, 1988; Siesser, 1993; Berggren *et al.*, 1995a; Berggren *et al.*, 1995b; Bown, 1998; Raffi *et al.*, 2006). Mais le schéma global de la zonation biostratigraphique reste relativement stable. A titre d'exemple, la biochronologie standard de référence pour le Cénozoïque a une résolution biostratigraphique entre 1 million et 60 000 ans.

La plupart de ces zones biostratigraphiques consistent en des intervalles dont les limites sont caractérisées soit par la première apparition soit par l'extinction d'une espèce considérée synchronique dans le monde. En commun avec les autres marqueurs biostratigraphiques en domaine pélagique, certains nanfossiles possèdent une distribution cosmopolite et sont observés indépendamment des paramètres des masses d'eau. Leur première apparition et extinction sont donc utilisées pour des corrélations longue distance (Braga et Riding, 2005). Les zones ont une bonne résolution temporelle (jusqu'à 100 ka). La corrélation de ces biozones aux unités chronostratigraphiques standard est bien établie, facilitant l'étendue de leur utilisation pour des stratigraphies intégrées mais aussi pour estimer l'âge absolu des limites des biozones (e. g. Berggren *et al.* (1995b)).

Une fois les sédiments datés après la détermination des marqueurs spécifiques et la délimitation des biozones (nanfossiles, foraminifères...), il est possible de réaliser un modèle d'âge, fonction de la profondeur (ou longueur) de la carotte (**Figure 2-20**). Ce modèle fera foi pour calibrer toutes les études concernant cette carotte et permet d'estimer le taux de sédimentation au fond de la mer (**Figure 2-20**, taux en mètre par millions d'années).

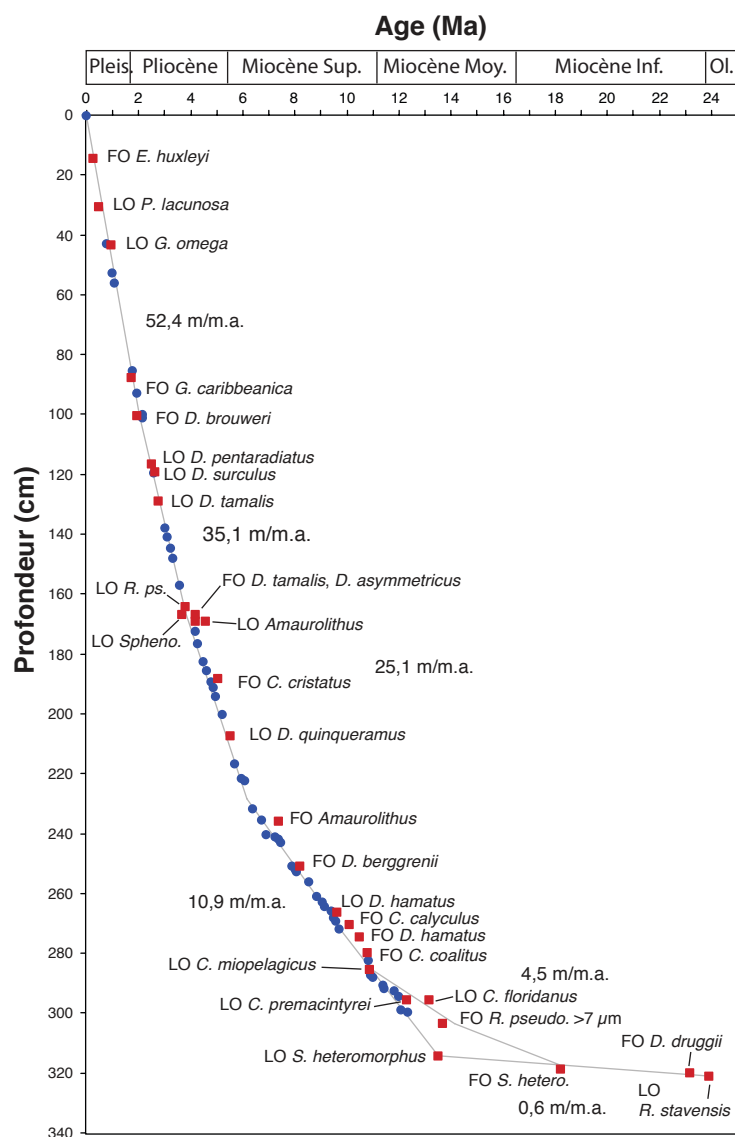


Figure 2-20. Exemple de modèle âge-profondeur à partir des premières (FO) et dernières occurrences (LO) de nanfossiles calcaires clefs. Pleis.= Pléistocène, Sup.= Supérieur, Moy.= Moyen, Inf.= Inférieur, Ol.=Oligocène. Modifié d'après Bown (2001).

2.6. L'OBSERVATION DES NANNOFOSSILES CALCAIRES

Les nannofossiles peuvent être retrouvés dans différentes lithologies essentiellement calcaires mais leur préparation reste facile et rapide en général.

2.6.1. L'échantillonnage et les préparations

On peut retrouver les nannofossiles dans quasiment tous les sédiments marins (**Figure 2-21**) avec une fraction carbonatée du Mésozoïque et du Cénozoïque qui n'ont pas subi de métamorphisme, de la diagénèse forte ou d'érosion et de lessivage (Hay, 1977; Bown, 1998). Les marnes et les craies sont les lithologies les plus favorables. La quantité de sédiments nécessaire est faible au vu de leur abondance, quelques grammes peuvent suffire (quelques mm³, moins qu'un grain de riz). Un cure-dent peut être employé pour récupérer un échantillon mou d'une carotte; l'emploi d'un marteau puis d'un pilon peut être nécessaire pour les marnes plus indurées afin d'obtenir une poudre. Il faut prendre la précaution de bien nettoyer le matériel entre chaque échantillon pour éviter les contaminations. Il faut aussi limiter les poussières et couvrir la zone de travail d'une feuille de papier jetable. La méthode basique de préparation des échantillons est le frottis; il consiste simplement à étaler une petite quantité de sédiments sur une lame mince, le plus généralement à l'aide d'eau et d'un cure-dent (Hay, 1977; Taylor et Hamilton, 1982; Perch-Nielsen, 1985a; Bown, 1998). Le but est d'obtenir une couche homogène ou en vaguelettes assez fines pour que les coccolithes ne soient pas entassés ou accolés (**Figure 2-22a**). Les frottis « légers » sont plus utilisés par les paléocéanographes pour l'estimation de l'abondance relative ou absolue (**Figure 2-22a**). Les frottis plus « chargés » sont souvent employés par les biostratigraphes pour passer moins de temps à retrouver les marqueurs fossiles (**Figure 2-22b**).

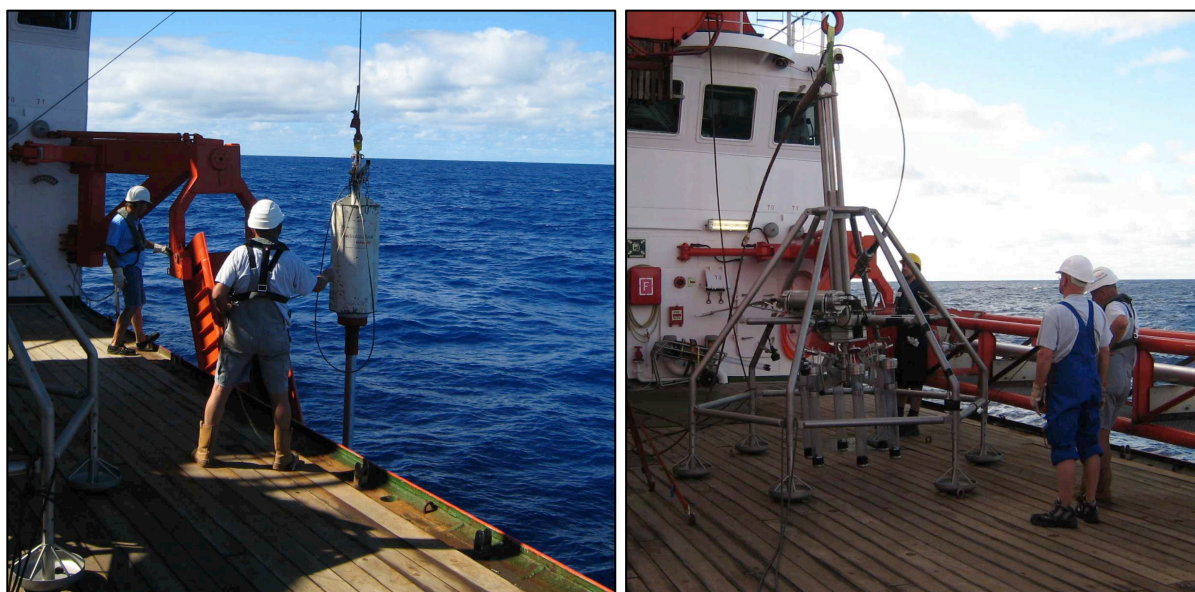


Figure 2-21. Aperçu de deux méthodes d'extraction de sédiments sur le fond océanique : à gauche, un carottier gravitaire qui permet d'obtenir des carottes de 5-7 m de longueur et, à droite, un « carottier multitubes » pour échantillonner six carottes de quelques décimètres de longueur. Images prises lors de la mission Pacenpal en Polynésie Française à bord du Sonne.

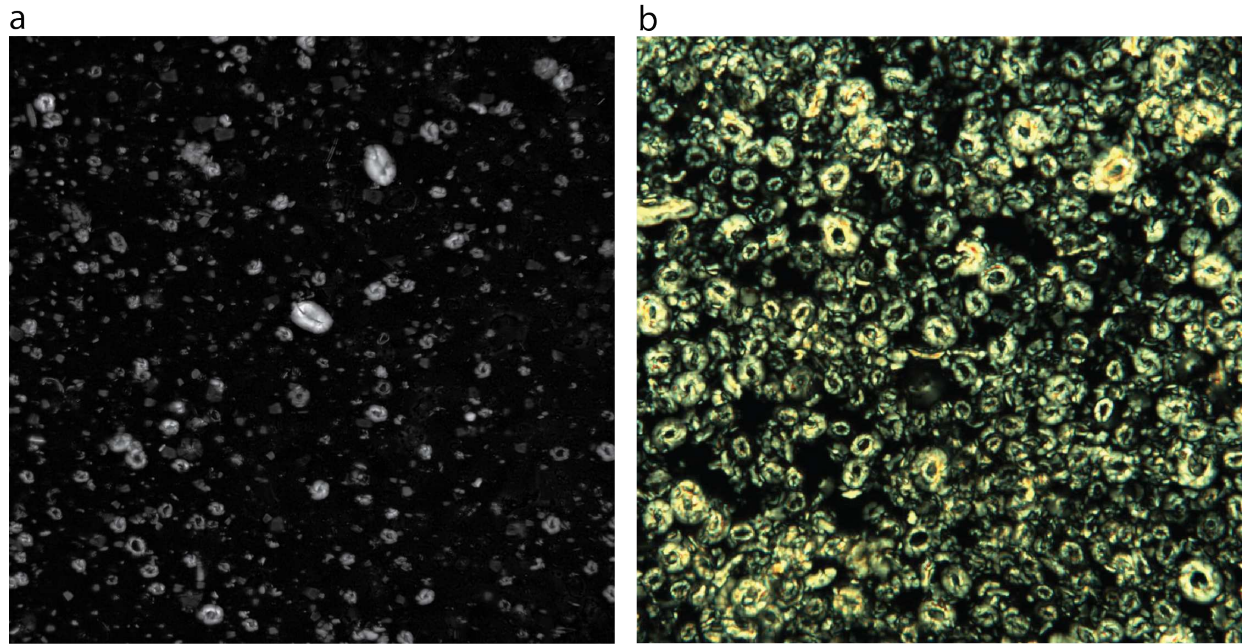


Figure 2-22. Aperçu de l'impact de la quantité de sédiment sur la qualité d'un frottis : a) relativement peu de matériel, b) beaucoup de matériel.

Pour des estimations absolues de l'abondance des coccolithes (en nombre par unité de poids d'échantillon, e. g. millions/gr), il existe trois principales méthodes comportant leurs avantages et leurs défauts (**Figure 2-23**)

Méthodes	Calcul de l'abondance absolue (Aabs) (Nombre/Unité de poids)	Références types	Défauts
	$Aabs = \frac{Cc}{MBc} \times \frac{Pe}{Pmb}$ <p> Cc: coccolithes comptés MBc: microbilles comptés Pe: poids de l'échantillon Pmb: poids des microbilles </p>	Okada (1992) Bollmann et al. (1999)	1) Manque de standardisation dans le type de microbilles et de matériel de préparations. 2) Système cher
	$Aabs = \frac{Cc \times Vsusp}{Pe \times F \times S \times H}$ <p> Cc: coccolithes comptés Vsusp: volume de suspension Pe: poids de l'échantillon F: nombre de champs de vue S: surface d'un champs de vue H: hauteur de la colonne d'eau au-dessus de la lamelle </p>	Beaufort (1991) Flores et Sierro (1998) Geisen et al. (1999)	1) Anomalies dues aux courants convectifs dans le récipient. 2) Anomalies dues aux cibles hautes (Geisen et al. 1999) 3) Très long si basé sur l'évaporation de la suspension.
	$Aabs = \frac{Stot \times Cc \times Split}{San \times Pe}$ <p> Cc: coccolithes comptés Stot: surface effective de filtration Pe: poids de l'échantillon Split: «Split» facteur San: surface analysée </p>	Andruleit (1996) Andruleit et Baumann (1998) Herrle et Baumann (2004)	1) Besoin d'ajuster l'ajout de sédiment pour éviter la saturation de la membrane. 2) Erreurs induit par le «split» successif. 3) Risques de répartition inégale du matériel sur la membrane attribués aux vitesses de flux, et la structure du support (Bollman et al. 2002).

Figure 2-23. Principales méthodes de préparation des échantillons pour l'estimation de l'abondance absolue des coccolithes : de haut en bas « spiking and spraying », « random settling » et « filtration ». Modifié d'après Giraudeau et Beaufort (2007).

2.6.2. Les méthodes d'observation

Il existe deux principaux équipements d'observation adéquats : le microscope optique et le microscope électronique à balayage (MEB). Le premier renseigne notamment sur la structure et la cristallographie, et le second détaille la morphologie superficielle des agencements des unités cristallines (Bown, 1998).

Le microscope optique est, de loin, la méthode la plus simple et la plus utilisée pour le travail de routine. Il permet des déterminations précises révélant l'assemblage des cycles structuraux et de nombreux aspects morphologiques significatifs (Bown, 1998). D'autre part, ces observations sont moins dépendantes de l'état de préservation que pour le MEB où les argiles et les recalcifications secondaires peuvent recouvrir

des spécimens (Bown, 1998). L'observation sous microscope optique nécessite un analyseur, un polariseur, un grossissement de 100, une immersion à l'huile, un bon condenseur et une bonne lampe. Il est possible de faire varier l'aspect des coccolithes avec des méthodes complémentaires en jouant sur la lumière (lumière naturelle (Figure 2-24a), contraste de phase, champ noir...).

La méthode de base est la lumière polarisée analysée (Nicolis croisés) induisant un pattern d'extinction qui varie en fonction de l'orientation des cristaux de calcite et une couleur dépendante de leur épaisseur. Ceux avec une orientation verticale ne montrent pas de biréfringence et sont toujours noirs. Les cristaux avec une orientation horizontale sont noirs quand ils sont orientés à 0° et 90° mais auront le maximum de biréfringence à 45°. Les coccolithes, composés d'unités de calcite ayant différentes orientations, ont ainsi un pattern d'extinction typique en forme de croix (Figure 2-24c, Figure 2-25).

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir une résolution supérieure au microscope optique, mais est aussi bien plus cher coûteux (environ 150 000 contre 50 000 euros). L'observation peut être longue afin de trouver un nombre suffisant de coccolithes pour des études de morphométrie par exemple. Mais les détails des structures sont mieux visibles et peuvent servir à affiner la détermination spécifique (Figure 2-24b, Figure 2-25).

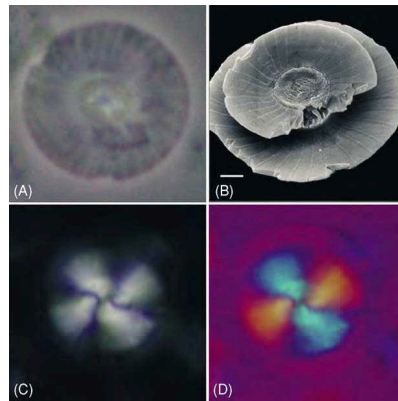


Figure 2-24. Le coccolithe *Calcidiscus leptoporus* visualisé par différentes méthodes : (A) Contraste de Phase ; (B) Vue proximale au Microscope Électronique à Balayage (MEB), échelle 1 μm ; (C) Lumière Polarisée Analysée ; (D) À travers une plaque de gypse. Photographies de J. Young (Braga et Riding, 2005).

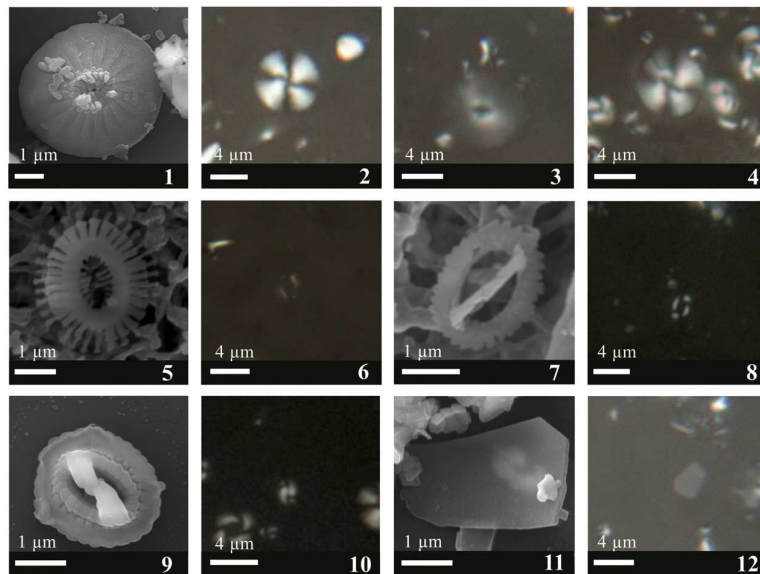


Figure 2-25. Exemple de coccolithes photographiés au microscope optique (MO) et au MEB. 1) *Calcidiscus Leptoporus* (MEB), 2-4) *C. leptoporus* (MO), 5) *Emiliana huxleyi* (MEB), 6) *E. huxleyi* (MO), 7) *Gephyrocapsa aperta* (MEB), 8) *G. aperta* (MO), 9) *Gephyrocapsa ericsonii* (MEB), 10) *G. ericsonii* (MO), 11) *Florisphaera profunda* (MEB), 12) *F. profunda* (MO). D'après Bordiga et al. (2013).

Ces méthodes d'observation classiques nécessitent un investissement en temps important ; il faut, sur chaque lame mince, compter suffisamment de spécimens, ou simplement trouver quelques individus perdus parmi les débris du sédiment (parfois plusieurs heures sont nécessaires). C'est pourquoi un système automatique de reconnaissance appliqué aux nannofossiles présente l'avantage de faire gagner un temps précieux, sans « limite » de nombre d'individus à compter.

« Certaines vérités exigent parfois qu'on reste dans le droit chemin, mais les voies de la connaissance scientifique sont aussi tortueuses et complexes que l'esprit humain. »

Extrait de *Quand les poules auront des dents*, Stephen Jay Gould.

Références citées

- Andrews, J.T., Giraudeau, J., 2003. Multi-proxy records showing significant Holocene environmental variability: the inner N, Iceland shelf(Hunafioi). *Quaternary Science Reviews* 22, 175-193.
- Andruleit, H., 1996. A filtration technique for quantitative studies of coccoliths. *Micropalaeontology* 42, 403-406.
- Andruleit, H., 1997. Coccolithophore fluxes in the Norwegian-Greenland Sea: Seasonality and assemblage alterations. *Marine Micropaleontology* 31, 45-64.
- Andruleit, H., Baumann, K.H., 1998. History of the last deglaciation and holocene in the Nordic Seas as revealed by coccolithophore assemblages. *Marine Micropaleontology* 35, 179-201.
- Andruleit, H., Rogalla, U., 2002. Coccolithophores in surface sediments of the Arabian Sea in relation to environmental gradients in surface waters. *Mar. Geol.* 31, 1-22.
- Aubry, M.-P., 2013. Handbook of Cenozoic Calcareous Nannoplankton. *Micropalaeontology Press*, p.
- Aubry, M.P., 2009. A sea of Lilliputians. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 284, 88-113.
- Aubry, M.P., Bord, D., Beaufort, L., Kahn, A., Boyd, S., 2005. Trends in size changes in the coccolithophorids, calcareous nannoplankton, during the Mesozoic: A pilot study. *Micropaleontology* 51, 309-318.
- Aubry, M.P., Rodriguez, O., Bord, D., Godfrey, L., Schmitz, B., Knox, R.W.O., 2012. The first radiation of the Fasciculiths: morphologic adaptations of the coccolithophores to oligotrophy. *Austrian Journal of Earth Sciences* 105, 29-38.
- Bach, L.T., Bauke, C., Meier, K.J.S., Riebesell, U., Schulz, K.G., 2012. Influence of changing carbonate chemistry on morphology and weight of coccoliths formed by *Emiliana huxleyi*. *Biogeosciences* 9, 3449-3463.
- Balch, W.M., Holligan, P.M., Kilpatrick, K.A., 1992. Calcification, photosynthesis and growth of the bloom-forming coccolithophore, *Emiliana huxleyi*. *Cont. Shelf Res.* 12, 1353-1374.
- Bard, E., Rostek, F., Sonzogni, C., 1997. Interhemispheric synchrony of the last deglaciation inferred from alkenone palaeothermometry. *Nature* 385, 707-710.
- Bates, N.R., Michaels, A.F., Knap, A.H., 1996. Alkalinity changes in the Sargasso Sea: Geochemical evidence of calcification? *Mar. Chem.* 51, 347-358.
- Baumann, K.-H., Andruleit, H., Böckel, B., Geisen, M., Kinkel, H., 2005. The significance of extant coccolithophores as indicators of ocean water masses, surface water temperature, and palaeoproductivity: a review. *Paläontologische Zeitschrift* 79, 93-112.
- Baumann, K.H., Bockel, B., Frenz, M., 2004. Coccolith contribution to south Atlantic carbonate sedimentation. Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact, 367-402.
- Baumann, K.H., Cepek, M., Kinkel, H., 1999. Coccolithophores as indicators of ocean water masses, surface water temperature, and paleoproductivity: Example from the South Atlantic, dans: Fisher, G., Wefer, G. (Eds.), *Use of proxies in paleoceanography: Exemples from the South Atlantic*. Springer-Verlag, Heidelberg, p. 117-144.
- Beaufort, L., 1991. Adaptation of the random settling method for quantitative studies of calcareous nannofossils. *Micropaleontology* 37, 415-418.
- Beaufort, L., 2005. Weight estimates of coccoliths using the optical properties (birefringence) of calcite. *Micropaleontology* 51, 289-297.
- Beaufort, L., de Garidel-Thoron, T., Mix, A.C., Pisias, N.G., 2001. ENSO-like forcing on oceanic primary

- production during the Late Pleistocene. *Science* 293, 2440-2444.
- Beaufort, L., Heussner, S., 1999. Coccolithophorids on the continental slope of the Bay of Biscay - production, transport and contribution to mass fluxes. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 46, 2147-2174.
- Beaufort, L., Heussner, S., 2001. Seasonal dynamics of calcareous nanoplankton on a West European continental margin: the Bay of Biscay. *Marine Micropaleontology* 43, 27-55.
- Beaufort, L., Lancelot, Y., Camberlin, P., Cayre, O., Vincent, E., Bassinot, F., Labeyrie, L., 1997. Insolation cycles as a major control equatorial Indian Ocean primary production. *Science* 278, 1451-1454.
- Beaufort, L., Probert, I., de Garidel-Thoron, T., Bendif, E.M., Ruiz-Pino, D., Metzl, N., Goyet, C., Buchet, N., Coupel, P., Grelaud, M., Rost, B., Rickaby, R.E.M., de Vargas, C., 2011. Sensitivity of coccolithophores to carbonate chemistry and ocean acidification. *Nature* 476, 80-83.
- Beltran, C., de Rafélis, M., Person, A., Stalport, F., Renard, M., 2009. Multiproxy approach for determination of nature and origin of carbonate micro-particles so-called "micarb" in pelagic sediments. *Sedimentary Geology* 213, 64-76.
- Berger, W.H., Roth, P.H., 1975. Oceanic Micropaleontology - Progress and Prospect. *Rev. Geophys.* 13, 561-585.
- Berggren, W.A., Hilgen, F.J., Langereis, C.G., Kent, D.V., Obradovich, J.D., Raffi, I., Raymo, M.E., Shackleton, N.J., 1995a. Late Neogene chronology - New perspectives in high-resolution stratigraphy. *Geol. Soc. Am. Bull.* 107, 1272-1287.
- Berggren, W.A., Kent, D.V., Swisher, C.C., Aubry, M., 1995b. A revised cenozoic geochronology and chronostratigraphy. *SEPM Special Publication* 54, 129-212.
- Billard, C., Inouye, I., 2004. What is new in coccolithophore biology?, dans: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer, p. 1-29.
- Bollmann, J., 1997. Morphology and biogeography of *Gephyrocapsa* coccoliths in Holocene sediments. *Marine Micropaleontology* 29, 319-350.
- Bollmann, J., 2013. Technical Note: Weight approximation of single coccoliths inferred from retardation estimates using a light microscope equipped with a circular polariser – (the CPR Method). *Biogeosciences Discuss.* 10, 11155-11179.
- Bollmann, J., Brabec, B., Cortes, M.Y., Geisen, M., 1999. Determination of absolute coccolith abundances in deep-sea sediments by spiking with microbeads and spraying (SMS-method). *Marine Micropaleontology* 38, 29-38.
- Bollmann, J., Henderiks, J., Brabec, B., 2002. Global calibration of *Gephyrocapsa* coccolith abundance in Holocene sediments for paleotemperature assessment. *Paleoceanography* 17.
- Bolton, C.T., Gibbs, S.J., Wilson, P.A., 2010. Evolution of nutricline dynamics in the equatorial Pacific during the late Pliocene. *Paleoceanography* 25, PA1207.
- Bolton, C.T., Stoll, H.M., Mendez-Vicente, A., 2012. Vital effects in coccolith calcite: Cenozoic climate-pCO₂ drove the diversity of carbon acquisition strategies in coccolithophores? *Paleoceanography* 27.
- Bordiga, M., Beaufort, L., Cobianchi, M., Lupi, C., Mancin, N., Luciani, V., Pelosi, N., Sprovieri, M., 2013. Calcareous plankton and geochemistry from the ODP site 1209B in the NW Pacific Ocean (Shatsky Rise): New data to interpret calcite dissolution and paleoproductivity changes of the last 450 ka. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 371, 93-108.
- Bown, P.R., 1998. *Calcareous Nannofossil Biostratigraphy*. Chapman and Hall, Dordrecht, 328 p.
- Bown, P.R., 2001. 2. Cenozoic Calcareous Nannofossil Biostratigraphy, ODP Leg 198 Site 1208 (Shatsky Rise, Northwest Pacific Ocean), dans: Bralower, T.J., Premoli Silva, I., Malone, M.J. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*. Ocean Drilling Program, College Station, TX, p. 1-44.
- Bown, P.R., Burnett, J.A., Gallagher, L.T., 1991. Critical events in the evolutionary history of calcareous Nannoplankton. *Historical Biology* 5, 279-290.
- Bown, P.R., Cooper, M.K.E., Lord, A.R., 1988. A calcareous nannofossil biozonation scheme for the early to mid Mesozoic. *Newsl. Stratigr.* 20, 91-114.
- Bown, P.R., Lees, J.A., Young, J.R., 2004. Calcareous nanoplankton evolution and diversity through time, dans: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, p. 481-508.
- Braarud, T., 1954. Coccolith morphology and taxonomie position of *Hymenomonas roseola* Stein and *Syracosphaera* Braarud and Fagerland. *Nytt Magazin fuer Botanik* 3, 1-6.
- Braga, J.C., Riding, R., 2005. Calcareous Algae, dans: Selley, R.C., Cocks, L.R.M., Plimer, I.R. (Eds.), *Encyclopedia of Geology*. Elsevier, p. 428-436.
- Bramlette, M.N., Riedel, W.R., 1954. Stratigraphic value of discoasters and some other microfossils related to Recent coccolithophores. *Journal of Paleontology* 28, 385-403.
- Brassell, S.C., Eglinton, G., Marlowe, I.T., Pflaumann, U., Sarnthein, M., 1986. Molecular stratigraphy - a new

- tool for climatic assessment. *Nature* 320, 129-133.
- Bratbak, G., Wilson, W., Heldal, M., 1996. Viral control or *Emiliania huxleyi* blooms ? *J. Mar. Syst.* 9, 75-81.
- Broerse, A.T.C., Ziveri, P., Van Hinte, J.E., Honjo, S., 2000. Coccolithophore export production, species composition, and coccolith-CaCO₃ fluxes in the NE Atlantic (34°N 21 °W and 48°N 21°W). *Deep Sea Research II* 47, 1877-1906.
- Buitenhuis, E.T., van der Wal, P., de Baar, H.J.W., 2001. Blooms of *Emiliania huxleyi* are sinks of atmospheric carbon dioxide: A field and mesocosm study derived simulation. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 577-587.
- Candelier, Y., Minoletti, F., Probert, I., Hermoso, M., 2013. Temperature dependence of oxygen isotope fractionation in coccolith calcite: A culture and core top calibration of the genus *Calcidiscus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 100, 264-281.
- Craig, D.B., 1961. The Benford plate. *The American Mineralogist*, 46, 757-758.
- Cubillos, J.C., Henderiks, J., Beaufort, L., Howard, W.R., Hallegraef, G.M., 2012. Reconstructing calcification in ancient coccolithophores: Individual coccolith weight and morphology of *Coccolithus pelagicus* (sensu lato). *Marine Micropaleontology* 92-93, 29-39.
- Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., Kleypas, J.A., 2009. Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 1, 169-192.
- Dudley, W.C., Blackwelder, P., Brand, L., Duplessy, J.C., 1986. Stable Isotopic Composition Of Coccoliths. *Marine Micropaleontology* 10, 1-8.
- Dudley, W.C., Goodney, D.E., 1979. Oxygen Isotope Content Of Coccoliths Grown In Culture. *Deep-Sea Research Part a-Oceanographic Research Papers* 26, 495-503.
- Ehrenberg, C.G., 1836. Bemerkungen über feste mikroskopische anorganische Formen in den erdigen und derben Mineralien. *Bericht. Verh. K. Preuss. Akad. Wiss.*, 84-85.
- Falkowski, P.G., Katz, M.E., Knoll, A.H., Quigg, A., Raven, J.A., Schofield, O., Taylor, F.J.R., 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305, 354-360.
- Fraguas, A., Erba, E., 2010. Biometric analyses as a tool for the differentiation of two coccolith species of the genus *Crepidolithus* (Pliensbachian, Lower Jurassic) in the Basque-Cantabrian Basin (Northern Spain). *Marine Micropaleontology* 77, 125-136.
- Gardin, S., Krystyn, L., Richoz, S., Bartolini, A., Galbrun, B., 2012. Where and when the earliest coccolithophores? *Lethaia* 45, 507-523.
- Gartner, S., Emiliani, C., 1976. Nannofossil Biostratigraphy And Climatic Stages Of Pleistocene Brunhes Epoch. *Aapg Bulletin-American Association of Petroleum Geologists* 60, 1562-1564.
- Gattuso, J.P., Buddemeier, R.W., 2000. Ocean biogeochemistry - Calcification and CO₂. *Nature* 407, 311-313.
- Geisen, M., Billard, C., Broerse, A.T.C., Cros, L., Probert, I., Young, J.R., 2002. Life-cycle associations involving pairs of holococcolithophorid species: intraspecific variation or cryptic speciation ? *Eur. J. Phycol.* 37, 531-550.
- Geisen, M., Bollmann, J., Herrle, J.O., Mutterlose, J., Young, J.R., 1999. Calibration of the random settling technique for calculation of absolute abundances of calcareous nannoplankton. *Micropaleontology* 45, 437-442.
- Geisen, M., Young, J.R., Probert, I., Saez, A.G., Baumann, K.H., Sprengel, C., Bollmann, J., Cros, L., De Vargas, C., Medlin, L.K., 2004. Species level variation in coccolithophores. Springer-Verlag Berlin, Berlin, 327-366 p.
- Geitzenauer, K.R., Roche, M.B., McIntyre, A., 1976. Modern Pacific coccolith assemblages: Derivation and application to Late Pleistocene paleotemperature analysis, dans: Cline, R.M., Hays, J.D. (Eds.), *Investigation of Late Quaternary Paleooceanography and Paleoclimatology*. Geological Society of America, p. 423-448.
- Geitzenauer, K.R., Roche, M.B., McIntyre, A., 1977. Coccolith biogeography from North Atlantic and Pacific surface sediments; a comparison of species distribution and abundances, dans: Ramsay, A.T.S. (Ed.), *Oceanic Micropaleontology*. Academic Press, London, p. 973-1008.
- Giraud, F., Pittet, B., Mattioli, E., Audouin, V., 2006. Paleoenvironmental controls on the morphology and abundance of the coccolith *Watznaueria britannica* (Late Jurassic, southern Germany). *Marine Micropaleontology* 60, 205-225.
- Giraudeau, J., 1992. Distribution of recent nannofossils beneath the Benguela system - Southwest African continental-margin. *Mar. Geol.* 108, 219-237.
- Giraudeau, J., Bailey, G.W., 1995. Spatial dynamics of coccolithophore communities during an upwelling event in the Southern Senguela system. *Cont. Shelf Res.* 15, 1825-&.
- Giraudeau, J., Beaufort, L., 2007. Coccolithophores: From Extant Populations to Fossil Assemblages, dans: Hillaire-Marcel, C., de Vernal, A. (Eds.), *Developments in Marine Geology*. Elsevier, p. 409-439.
- Giraudeau, J., Jennings, A.E., Andrews, J.T., 2004. Timing and mechanisms of surface and intermediate water circulation changes in the Nordic Seas over the last 10,000 cal years: A view from the North Iceland shelf.

- Quaternary Science Reviews 23, 2127-2139.
- Giraudeau, J., Pujos, A., 1990. Fonction de Transfert basée sur les nannofossiles calcaires du Pléistocène des Caraïbes. *Oceanologica Acta* 13, 453-469.
- Giraudeau, J., Rogers, P., 1994. Phytoplankton biomass and sea-surface temperature estimates from sea-bed distribution of nannofossils and planktonic foraminifera in the Benguela upwelling system. *Micropalaeontology* 40, 275-285.
- Gradstein, F.M., Ogg, J.G., Schmitz, M., Ogg, G., 2012. *The Geologic Time Scale 2012*. Elsevier, 1176 p.
- Green, J.C., Jordan, R.W., 1994. Systematic history and taxonomy. Green J. C. & Leadbeater B. S. C., *The Haptophyte Algae, Systematic Association Special* 51, 1-22.
- GREPMA, 1988. Satellite (AVHRR/NOAA-9) and ship studies of a coccolithophorid bloom in the western English channel. *Marine Nature* 1, 1-14.
- Gréselle, B., Pittet, B., Mattioli, E., Joachimski, M., Barbarin, N., Riquier, L., Reboulet, S., Pucéat, E., 2011. The Valanginian isotope event: A complex suite of palaeoenvironmental perturbations. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 306, 41-57.
- Grima, E.M., Sevilla, J.M.F., Perez, J.A.S., Camacho, F.G., 1996. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. *J. Biotechnol.* 119, 431-439.
- Guinotte, J.M., Fabry, V.J., 2008. Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems, *Year in Ecology and Conservation Biology 2008*. Blackwell Publishing, Oxford, p. 320-342.
- Gussone, N., Langer, G., Geisen, M., Steel, B.A., Riebesell, U., 2007. Calcium isotope fractionation in coccoliths of cultured *Calcidiscus leptoporus*, *Helicosphaera carteri*, *Syracosphaera pulchra* and *Umbilicosphaera foliosa*. *Earth and Planetary Science Letters* 260, 505-515.
- Haidar, A.T., Thierstein, H.R., Deuser, W.G., 2000. Calcareous phytoplankton standing stocks, fluxes and accumulation in Holocene sediments off Bermuda (N. Atlantic). *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 47, 1907-1938.
- Halloran, P.R., Rust, N., Rickaby, R.E.M., 2009. Isolating coccoliths from sediment for geochemical analysis. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 10, Q03001.
- Haq, B.U., 1983. *Nannofossil Biostratigraphy*, New York, NY, p.
- Haq, B.U., Hardenbol, J., Vail, P.R., 1987. Chronology of Fluctuating Sea Levels Since the Triassic. *Science* 235, 1156-1167.
- Harris, R.P., 1994. Zooplankton grazing on the coccolithophore *Emiliana huxleyi* and its role in inorganic carbon flux. *Marine Biology* 119, 431-439.
- Hay, W.W., 1977. Calcareous nannofossils, dans: Ramsay, A.T.S. (Ed.), *Oceanic Micropalaeontology 2*. Academy Press, London, p. 1055-1200.
- Hay, W.W., 2004. Carbonate fluxes and calcareous nannoplankton, 509-528 p.
- Henderiks, J., Rickaby, E.M., 2007. A coccolithophore concept for constraining the Cenozoic carbon cycle. *Biogeosciences* 4, 323-329.
- Henderiks, J., Torner, A., 2006. Reproducibility of coccolith morphometry: Evaluation of spraying and smear slide preparation techniques. *Marine Micropaleontology* 58, 207-218.
- Henriksson, A.S., 2000. Coccolithophore response to oceanographic changes in the equatorial Atlantic during the last 200,000 years. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 156, 161-173.
- Herbert, T.D., 2003. Alkenone paleotemperature determinations, dans: Elderfield, H. (Ed.), *Treatise on Geochemistry*. Elsevier, p. 391-432.
- Herrle, J.O., Bollmann, J., 2004. Accuracy and reproducibility of absolute nannoplankton abundances using the filtration technique in combination with a rotary sample splitter. *Marine Micropaleontology* 53, 389-404.
- Hibberd, D.J., 1976. The ultrastructure and taxonomy of the Chrysophyceae and Prymnesiophyceae (Haptophyceae): a survey with some new observations on the ultrastructure of the Chrysophyceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 72, 55-80.
- Higgins, M.D., 2010. Imaging birefringent minerals without extinction using circularly polarized light. *Canadian Mineralogist* 48, 231-235.
- Holligan, P.M., Fernandez, E., Aiken, J., Balch, W.M., Boyd, P.W., Burkill, P.H., Finch, M., Groom, S.B., Malin, G., Muleer, K., Purdie, D.A., Robinson, C., Trees, C.C., Turner, S.M., Vanderwal, P., 1993. A biogeochemical study of the coccolithophore, *Emiliana huxleyi*, in the North Atlantic. *Global Biogeochemical Cycles* 7, 879-900.
- Holligan, P.M., Viollier, M., Harbour, D.S., Camus, P., Champagnephippe, M., 1983. Satellite and ship studies of coccolithophore production along a continental-shelf edge. *Nature* 304, 339-342.
- Honjo, S., 1976. Coccoliths: Production, transportation and sedimentation. *Marine Micropaleontology* 1, 65-79.

- Honjo, S., 1996. Fluxes of particles to the interior of the open oceans, dans: Ittekkot, V., Schäfer, P., Honjo, S. (Eds.), Particle flux in the ocean. John Wiley & Sons, Chichester, p. 91-154.
- Iglesias-Rodriguez, M.D., Halloran, P.R., Rickaby, R.E.M., Hall, I.R., Colmenero-Hidalgo, E., Gittins, J.R., Green, D.R.H., Tyrrell, T., Gibbs, S.J., von Dassow, P., Rehm, E., Armbrust, E.V., Boessenkool, K.P., 2008. Phytoplankton calcification in a high-CO₂ world. *Science* 320, 336-340.
- Inouye, I., 1997. Systematics of haptophyte algae in Asia-Pacific waters. *Algae (The Korean J. of Phycol.)* 12, 247-261.
- Israel, A.A., Gonzalez, E.L., 1996. Photosynthesis and inorganic carbon utilization in *Pleurochrysis* sp. (Haptophyta), a coccolithophorid alga. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 137, 243-250.
- Jafar, S.A., 1983. Significance of Late Triassic calcareous nannoplankton from Austria and southern Germany. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie* 166, 218-259.
- Jordan, R.W., Chamberlain, A.H.L., 1997. Biodiversity among haptophyte algae. *Biodiversity and Conservation* 6, 131-152.
- Kinkel, H., Baumann, K.H., Cepek, M., 2000. Coccolithophores in the equatorial Atlantic Ocean: response to seasonal and late quaternary surface water variability. *Marine Micropaleontology* 39, 87-112.
- Kleijne, A., 1993. Morphology, taxonomy and distribution of extant coccolithophorids (calcareous nannoplankton). Ph.D. Thesis, Vrije Universiteit, Amsterdam, p. 321.
- Knappertsbusch, M., Brummer, G.J.A., 1995. A sediment trap investigation of sinking coccolithophorids in the North Atlantic. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 42, 1083-1109.
- Knappertsbusch, M., Cortes, M.Y., Thierstein, H.R., 1997. Morphologic variability of the coccolithophorid *Calcidiscus leptoporus* in the plankton, surface sediments and from the Early Pleistocene. *Marine Micropaleontology* 30, 293-317.
- Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R.N., Singh, G.G., 2011. Response to technical comment on 'meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms'. *Ecol. Lett.* 14, E1-E2.
- Langer, G., Geisen, M., Baumann, K.-H., Kläs, J., Riebesell, U., Thoms, S., Young, J.R., 2006. Species-specific responses of calcifying algae to changing seawater carbonate chemistry. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 7, 1-12.
- Lecourt, M., Muggli, D.L., Harrison, P.J., 1996. Comparison of growth and sinking rates of non-coccolith and coccolith forming strains of *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) grown under different irradiances and nitrogen sources. *J. Phycol.* 32, 17-21.
- Lloyd, G.T., Smith, A.B., Young, J.R., 2011. Quantifying the deep-sea rock and fossil record bias using coccolithophores. *Geological Society, London, Special Publications* 358, 167-177.
- Lloyd, G.T., Young, J.R., Smith, A.B., 2012. Comparative quality and fidelity of deep-sea and land-based nannofossil records. *Geology* 40, 155-158.
- Lohmann, H., 1909. Die Gehäuse und Gallertblase n der Appendicularien und ihre Bedeutung für die Erforschung des Lebens im Meer. *Verhandlungen Deutsche Zoologische Gesellschaft.* 19, 200-239.
- Lord, A.R., 1982. A Stratigraphical index of calcareous nannofossils. Ellis Horwood, Chichester, West Sussex; New York, N.Y., p.
- Mackinder, L., Wheeler, G., Schroeder, D., Riebesell, U., Brownlee, C., 2010. Molecular Mechanisms Underlying Calcification in Coccolithophores. *Geomicrobiology Journal* 27, 585-595.
- Manton, I., Peterfi, L.S., 1969. Observations on the fine structure of coccoliths, scales and the protoplast of a freshwater coccolithophorid, *Hymenomaus roseola* Stein, with supplementary observations on the protoplast of *Criosphaera carierae*. *Proceedings of the Royal Society B* 172, 1-115.
- Martini, E., 1971. Standard Tertiary and Quaternary calcareous nannoplankton zonation, dans: Farinacci, A. (Ed.), *Proceedings of the Second Planktonic Conference Roma 1970*, Edizioni Tecnoscienza ed, Rome, p. 739-785.
- Mattioli, E., Pittet, B., 2002. Contribution of calcareous nannoplankton to carbonate deposition: a new approach applied to the Lower Jurassic of central Italy. *Marine Micropaleontology* 45, 175-190.
- Mattioli, E., Pittet, B., Young, J.R., Bown, P.R., 2004. Biometric analysis of Pliensbachian-Toarcian (Lower Jurassic) coccoliths of the family Biscutaceae: intra- and interspecific variability versus palaeoenvironmental influence. *Marine Micropaleontology* 52, 5-27.
- McIntyre, A., Allan, W.H., Roche, M.B., 1970. Modern Pacific Coccolithophoride: a paleontological thermometer. *Transactions of the New York Academy of Sciences* 32, 720-731.
- McIntyre, A., Bé, A.W.H., 1967. Modern coccolithophoridae of the Atlantic Ocean - I. Placoliths and Cyrtoliths. *Deep Sea Research*, 561-597.
- McIntyre, A., McIntyre, R., 1970. Coccolith concentration and differential solution in oceanic sediments, dans: Funnel, B.M., Riedel, W.R. (Eds.), *Micropaleontology of the Oceans*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 253-261.

- Meyers, P.A., 1997. Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry* 27, 213-250.
- Michel-Lévy, A., Lacroix, A., 1888. Les minéraux des roches. Baudry et cie, 334 p.
- Minoletti, F., Gardin, S., Nicot, E., Renard, M., Spezzaferri, S., 2001. A new experimental protocol for granulometric separation of calcareous nannofossils assemblages: paleoecological and geochemical applications. *Bulletin De La Societe Geologique De France* 172, 437-446.
- Minoletti, F., Hermoso, M., Gressier, V., 2009. Separation of sedimentary micron-sized particles for palaeoceanography and calcareous nannoplankton biogeochemistry. *Nature Protocols* 4, 14-24.
- Molfinio, B., Kipp, N.G., Morley, J.J., 1982. Comparison of foraminiferal, coccolithophorid, and radiolarian temperature equations: Assemblages coherency and estimates concordancy. *Quaternary Research* 17, 279-313.
- Molfinio, B., McIntyre, A., 1990. Precessional forcing of nutricline dynamics in the equatorial Atlantic. *Science* 249, 766-769.
- Muller, P.J., Kirst, G., Ruhland, G., von Storch, I., Rosell-Mele, A., 1998. Calibration of the alkenone paleotemperature index U-37(K') based on core-tops from the eastern South Atlantic and the global ocean (60 degrees N-60 degrees S). *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 62, 1757-1772.
- Munnecke, A., Servais, T., 2008. Palaeozoic calcareous plankton: evidence from the Silurian of Gotland. *Lethaia* 41, 185-194.
- Nanninga, H.J., Tyrrell, T., 1996. Importance of light for the formation of algal blooms by *Emiliana huxleyi*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 136, 195-203.
- Nielsen, M.V., 1997. Growth, dark respiration and photosynthetic parameters of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) acclimated to different day length-irradiance combinations. *J. Phycol.* 33.
- Nimer, N.A., Merret, M.J., 1993. Calcification rate in *Emiliana huxleyi* Lohmann in response to light, nitrate and availability of inorganic carbon. *New Phytol.* 123, 673-677.
- Okada, H., 1992. Use of microbeads to estimate the absolute abundance of nannofossils. *INA Newsletter* 13, 96-97.
- Okada, H., Bukry, D., 1980. Supplementary modification and introduction of code numbers to the low-latitude coccolith biostratigraphic zonation (Bukry, 1973; 1975). *Marine Micropaleontology* 5, 321-325.
- Okada, H., Honjo, S., 1973. The distribution of oceanic coccolithophorids in the Pacific. *Deep Sea Research*, 355-374.
- Paasche, E., 1999. Reduced coccolith calcite production under light-limited growth: a comparative study of three clones of *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae). *Phycologia* 38, 508-516.
- Paasche, E., 2001. A review of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae), with particular reference to growth, coccolith formation, and calcification-photosynthesis interactions. *Phycologia* 40, 503-529.
- Parke, M., Adams, I., 1960. The motile (*Crystallolithus hyalinus* Gaarder and Markali) and non-motile phases in the life history of *Coccolithus pelagicus* (Wallich) Schiller/. *Journal of the Marine Sea Research* 39, 263-274.
- Paull, C.K., Hills, S.J., Thierstein, H.R., 1988. Progressive dissolution of fine carbonate particles in pelagic sediments. *Mar. Geol.* 81, 27-40.
- Perch-Nielsen, K., 1985a. Cenozoic calcareous nannofossils, dans: Bolli, H.M., Saunders, J.B., Perch-Nielsen, K. (Eds.), *Plankton Stratigraphy*. Cambridge University press, Cambridge, p. 427-554.
- Perch-Nielsen, K., 1985b. Mesozoic calcareous nannofossils, dans: Bolli, H.M., Saunders, J.B., Perch-Nielsen, K. (Eds.), *Plankton Stratigraphy*. Cambridge University press, Cambridge, p. 427-554.
- Pienaar, R.N., 1994. Ultrastructure and calcification of coccolithophores, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 13-37.
- Pond, D., Harris, R.P., Brownlee, C., 1995. A microinjection technique using a pH-sensitive dye to determine the gut pH of *Calanus helgolandicus*. *Mar. Biol.* 123, 75-79.
- Prahl, F.G., Wakeham, S.G., 1987. Calibration of unsaturation patterns in long-chain ketone compositions for paleotemperature assessment. *Nature* 330, 367-369.
- Prins, B., 1967. Evolution and stratigraphy of coccolithinids from Lower and Middle Lias, dans: Brönnimann, P., Renz, H.H. (Eds.), *First International Conference on Planktonic Microfossils*, Geneva, p. 547-558.
- Quinn, P.S., Cortes, M.Y., Bollmann, J., 2005. Morphological variation in the deep ocean-dwelling coccolithophore *Florisphaera profunda* (Haptophyta). *Eur. J. Phycol.* 40, 123-133.
- Raffi, I., Backman, J., Fornaciari, E., Palike, H., Rio, D., Lourens, L., Hilgen, F., 2006. A review of calcareous nannofossil astrobiochronology encompassing the past 25 million years. *Quaternary Science Reviews* 25, 3113-3137.
- Rickaby, R.E.M., Henderiks, J., Young, J.N., 2010. Perturbing phytoplankton: response and isotopic

- fractionation with changing carbonate chemistry in two coccolithophore species. *Climate of the Past* 6, 771-785.
- Riebesell, U., Zondervan, I., Rost, B., Tortell, P.D., Zeebe, R.E., Morel, F.M.M., 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature* 407, 364-367.
- Riegman, R., Stolte, W., Noordeloos, A.A.M., Slezak, D., 2000. Nutrient uptake and alkaline phosphatase (EC 3: 1:3: 1) activity of *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) during growth under N and P limitation in continuous cultures. *J. Phycol.* 36, 87-96.
- Ronov, A.B., 1994. Phanerozoic transgressions and regressions on the continents; a quantitative approach based on areas flooded by the sea and areas of marine and continental deposition. *Am. J. Sci.* 294, 777-801.
- Rost, B., Riebesell, U., 2004. Coccolithophores and the biological pump: Responses to environmental changes. Springer-Verlag Berlin, Berlin, 99-125 p.
- Rostek, F., Ruhland, G., Bassinot, F.C., Muller, P.J., Labeyrie, L.D., Lancelot, Y., Bard, E., 1993. Reconstructing sea-surface temperature and salinity using delta-¹⁸O and alkenone records. *Nature* 364, 319-321.
- Roth, P.H., 1989. Ocean circulation and calcareous nannoplankton evolution during the Jurassic and Cretaceous. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 74, 111-126.
- Roth, P.H., 1994. Distribution of coccoliths in oceanic sediments. Winter A. & Siesser W. G. - Coccolithophores, 199-218.
- Saavedra-Pellitero, M., Flores, J.A., Lamy, F., Sierro, F.J., Cortina, A., 2011. Coccolithophore estimates of paleotemperature and paleoproductivity changes in the southeast Pacific over the past similar to 27 kyr - art. no. PA1201. *Paleoceanography* 26, A1201-A1201.
- Sáez, A.G., Probert, I., Geisen, M., Quinn, P., Young, J.R., Medlin, L.K., 2003. Pseudo-cryptic speciation in coccolithophores. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 7163-7168.
- Samtleben, C., Bickert, T., 1990. Coccoliths in sediment traps from the Norwegian Sea. *Marine Micropaleontology* 16, 39-64.
- Schneidermann, N., 1977. Selective dissolution of recent coccoliths in the Atlantic Ocean, dans: Ramsay, A.T.S. (Ed.), *Oceanic Micropaleontology*. Academic Press, London, p. 1009-1053.
- Siesser, W.G., 1993. Calcareous nannoplankton, dans: Lipps, J.H. (Ed.), *Fossil Prokaryotes and Protists*. Blackwell Scientific Publications, Boston, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna, p. 169-201.
- Sissingh, W., 1977. Biostratigraphy of Cretaceous calcareous nannoplankton. *Geologie en Mijnbouw* 56, 37-65.
- Sørensen, B.E., 2013. A revised Michel-Lévy interference colour chart based on first-principles calculations. *European Journal of Mineralogy* 25, 5-10.
- Spencer-cervato, C., 1999. The Cenozoic Deep-Sea Microfossil record: Explorations of the DSDP/ODP sample set using the Neptune Database. *Paleontologica Electronica*.
- Stanley, S.M., Hardie, L.A., 1998. Secular oscillations in the carbonate mineralogy of reef-building and sediment-producing organisms driven by tectonically forced shifts in seawater chemistry. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 144, 3-19.
- Stanley, S.M., Hardie, L.A., 1999. Hypercalcification: paleontology links plate tectonics and geochemistry to sedimentology. *GSA Today* 9(2), 1-7.
- Steinmetz, J.C., 1994. Sedimentation of coccolithophores, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 179-198.
- Stoll, H.M., Ziveri, P., 2002. Separation of monospecific and restricted coccolith assemblages from sediments using differential settling velocity. *Marine Micropaleontology* 46, 209-221.
- Suan, G., Mattioli, E., Pittet, B., Mailliot, S., Lecuyer, C., 2008. Evidence for major environmental perturbation prior to and during the Toarcian (Early Jurassic) oceanic anoxic event from the Lusitanian Basin, Portugal. *Paleoceanography* 23, 14.
- Tappan, H., 1980. *The paleobiology of plant protists*. W. H. Freeman & Co, San Francisco, 1028 p.
- Taylor, A.R., Russell, M.A., Harper, G.M., Collins, T.F.T., Brownlee, C., 2007. Dynamics of formation and secretion of heterococcoliths by *Coccolithus pelagicus* ssp. *braarudii*. *Eur. J. Phycol.* 42, 125-136.
- Taylor, R.J., Hamilton, G.B., 1982. Techniques, dans: Lord, A.R. (Ed.), *A Stratigraphical Index of Calcareous Nannofossils*. Ellis Horwood Limited, Chichester, p. 11-15.
- Thierstein, H.R., Cortes, M.Y., Haidar, A.T., 2004. Plankton community behavior on ecological and evolutionary time-scales: when models confront evidence, dans: Thierstein, H.R., Young, A.J. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer, p. 455-480.
- Thierstein, H.R., Geitzenauer, K.R., Molino, B., 1977. Global Synchronicity Of Late Quaternary Coccolith Datum Levels - Validation By Oxygen Isotopes. *Geology* 5, 400-404.

- Tortell, P.D., DiTullio, G.R., Sigman, D.M., Morel, F.o.M.M., 2002. CO₂ effects on taxonomic composition and nutrient utilization in an Equatorial Pacific phytoplankton assemblage. *Marine Ecology Progress Series* 236, 37-43.
- Tremolada, F., Erba, E., Bralower, T.J., 2006. Late Barremian to early Aptian calcareous nanofossil paleoceanography and paleoecology from the Ocean Drilling Program Hole 641C (Galicia Margin). *Cretaceous Research* 27, 887-897.
- Tyrrell, T., Taylor, A.H., 1996. A modeling study of *Emiliana huxleyi* in the NE Atlantic. *J. Mar. Syst.* 9, 83-112.
- Vanderwal, P., Kempers, R.S., Veldhuis, M.J.W., 1995. Production and downward flux of organic-matter and calcite in a north-sea bloom of the coccolithophore *Emiliana-huxleyi*. *Marine Ecology Progress Series* 126, 247-265.
- Volk, T., Hoffert, M.I., 1985. Ocean carbon pumps: analysis of relative strengths and efficiencies in ocean-driven atmospheric CO₂ changes, dans: Sundquist, E.T., Broecker, W.S. (Eds.), *The Carbon Cycle and Atmospheric CO₂: Natural Variations Archean to Present*. American Geophysical Union Geophysical Monography, Washington, DC, p. 99-111.
- Volkman, J.K., Barrett, S.M., Blackburn, S.I., Sikes, E.L., 1995. Alkenones In *Gephyrocapsa-Oceanica* - Implications For Studies Of Paleoclimate. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 59, 513-520.
- Westbroek, P., Brown, C.W., Vanbleijswijk, J., Brownlee, C., Brummer, G.J., Conte, M., Egge, J., Fernandez, E., Jordan, R., Knappertsbusch, M., Stefels, J., Veldhuis, M., Vanderwal, P., Young, J., 1993. A Model System Approach to Biological Climate Forcing - the Example of *Emiliana Huxleyi*. *Global and Planetary Change* 8, 27-46.
- Wilson, W.H., Tarran, G., Zubkov, M.V., 2002. Virus dynamic• in a coccolithophore-dominated bloom in the North Sea. *Deep Sea Research* 49, 2951-2963.
- Winter, A., Jordan, R.W., Roth, P.H., 1994. Biogeography of living coccolithophores in ocean waters, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 161-177.
- Winter, A., Siesser, W.G., 1994. *Coccolithophores*. Cambridge University Press, New-York, p. 242.
- Young, A.J., Henriksen, K., Probert, I., 2004. Structure and morphogenesis of the coccoliths of the CODENET species, dans: Thierstein, H.R., Young, A.J. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer, p. 191-216.
- Young, J., Bergen, J.A., Bown, P.R., Burnett, J.A., Fiorentino, A., Jordan, R.W., Kleijne, A., van Niel, B.E., Ton Romein, A.J., Von Salis, K., 1997. Guidelines for coccolith and calcareous nanofossil terminology. *Palaeontology* 40, 875-912.
- Young, J., Bown, P.R., 1997. Cenozoic calcareous nannoplankton classification. *Journal of Nannoplankton Research* 19, 36-47.
- Young, J.R., 1994a. Functions of coccoliths, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*, p. 63-82.
- Young, J.R., 1994b. Variation in *Emiliana huxleyi* coccolith morphology in samples from the Norwegian EHUX experiment. *Sarsia*, 417-425.
- Young, J.R., Davis, S.A., Bown, P.R., Mann, S., 1999. Coccolith ultrastructure and biomineralisation. *J. Struct. Biol.* 126, 195-215.
- Young, J.R., Geisen, M., Probert, I., 2005. Review of selected aspects of coccolithophore biology with implications for paleobiodiversity estimation. *Micropaleontology* 51, 267-288.
- Young, J.R., Henriksen, K., 2003. Biomineralization Within Vesicles: The Calcite of Coccoliths. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 54, 189-215.
- Young, J.R., Ziveri, P., 2000. Calculation of coccolith volume and its use in calibration of carbonate flux estimates. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 47, 1679-1700.
- Zeebe, R., Wolf-Gladrow, D., 2001. *CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes*. Elsevier, 360 p.
- Ziveri, P., Baumann, K.H., Boeckel, B., Bollmann, J., Young, J.R., 2004. Biogeography of selected Holocene coccoliths in the Atlantic Ocean, dans: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores, from molecular processes to global impact*. Springer-Verlag, Berlin,, p. 403-428.
- Ziveri, P., Broerse, A.T.C., Van Hinte, J.E., Westbroek, P., Honjo, S., 2000. The fate of coccoliths at 48°N 21°W, northeastern Atlantic. *Deep Sea Research II* 47, 1853-1876.
- Ziveri, P., Stoll, H., Probert, I., Klass, C., Geisen, M., Ganssen, G., Young, J., 2003. Stable isotope 'vital effects in coccolith calcite. *Earth and Planetary Science Letters* 210, 137-149.
- Zondervan, I., 2007. The effects of light, macronutrients, trace metals and CO₂ on the production of calcium carbonate and organic carbon in coccolithophores - A review. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 54, 521-537.
- Zondervan, I., Zeebe, R.E., Rost, B., Riebesell, U., 2001. Decreasing marine biogenic calcification: A negative feedback on rising atmospheric pCO₂. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 507-516.

3. LA RECONNAISSANCE AUTOMATIQUE

3.1. QU'EST-CE QUE LA RECONNAISSANCE AUTOMATIQUE ?

La reconnaissance automatique de forme, ou *pattern recognition* en anglais, est un large domaine de recherche en mathématiques et statistique appliquées aux besoins des industriels et universitaires afin d'améliorer les rendements et la prise de décision lors du tri d'objets dans de nombreux domaines (signaux, images, identification des visages, inspection industrielle, scanners, intelligence artificielle, *data mining*... Fukunaga (1990); Jain *et al.* (2000); Duda *et al.* (2001); Webb (2002); Polikar (2006); Theodoris et Koutroumbas (2009)). Concrètement, c'est la capacité d'une machine qui observe des images à apprendre à distinguer des patterns, des propriétés, pour pouvoir prendre des décisions de classification sur de nouvelles images. Et ce, en étant plus rapide qu'un humain – et dans l'idéal tout aussi efficace – voire, en fournissant plus d'informations sur les caractéristiques des objets à classifier.

Nous ne ferons pas de développement concernant le *machine learning* et l'intelligence artificielle qui concernent des machines plus complexes capables de s'adapter à leurs environnements en apprenant de nouveaux exemples. Nous n'irons pas non plus dans les détails à propos des théories mathématiques et des algorithmes de classification. Mais en contrepartie, nous approfondirons quelques méthodes de classification.

3.1.1. Définition - généralités

Un système de reconnaissance automatique est typiquement composé de : du système d'acquisition de données (ex. : caméra), d'un prétraitement (ajustements de luminosité, normalisation, segmentation...), de l'extraction de caractéristiques (variables, mesures...), des algorithmes de classification (des modèles), d'apprentissage et d'évaluation des modèles et du système (**Figure 3-1**, Fukunaga (1990); Duda *et al.* (2001); Cornuéjols et Miclet (2002); Webb (2002); Polikar (2006); Theodoris et Koutroumbas (2009)). Les modèles sont une part essentielle du système; ils caractérisent sa qualité et donc sa mise en service. La principale problématique soulevée par la classification est: comment faire exécuter à un ordinateur une tâche apparemment simple pour un être humain ? Tels que le repérage de visages afin d'en définir le sexe ou l'âge, ou le repérage de formes à trier (**Figure 3-2**). Les programmes de reconnaissance sont aujourd'hui capables de reconnaître des commandes vocales, d'analyser automatiquement des photos satellites, d'assister des experts pour prendre des décisions dans des environnements complexes et évolutifs (bases de données d'Internet, analyse de marchés financiers, diagnostics médicaux, etc. ; Duda *et al.* (2001); Cornuéjols et Miclet (2002); Theodoris et Koutroumbas (2009)).

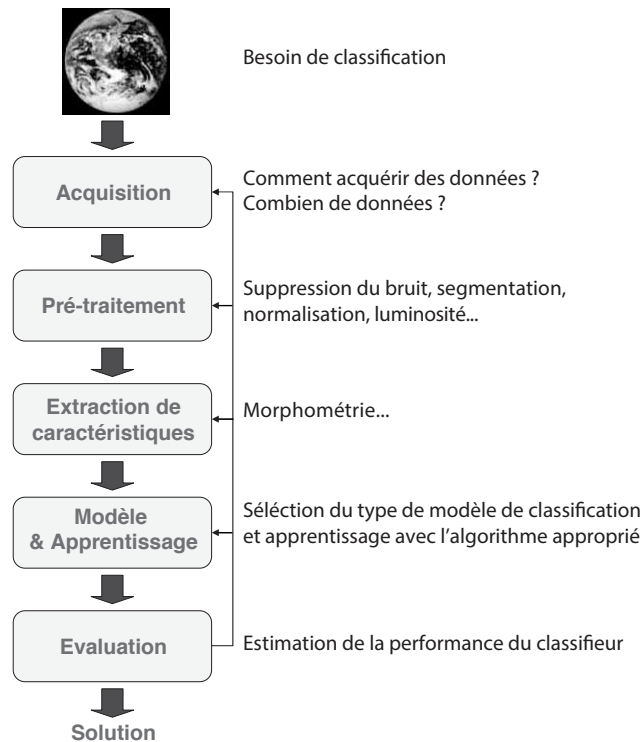


Figure 3-1. Composants d'un système de reconnaissance automatique. Modifié d'après Polikar (2006).



Figure 3-2. Jouet de formes pour enfant, un classifieur artificiel doit faire aussi bien !

Pour discriminer un objet ou une image et le classer, il faut d'abord le décrire d'une manière compréhensible par les ordinateurs et les algorithmes. Ces caractéristiques descriptives, variables ou attributs peuvent être des mesures morphométriques, de textures, des couleurs, etc. Les objets étant regroupés par classes (tailles, formes, couleurs...). Chaque objet se voit caractérisé par N variables, soit un vecteur à N dimensions. Ensuite la procédure d'apprentissage permet de « cartographier » les relations entre les différentes variables descriptives et les classes associées aux objets (Webb, 2002; Polikar, 2006). Les données d'apprentissage doivent logiquement représenter les conditions de tests et les données réelles (Webb, 2002). S'il y a des différences, c'est probablement à cause du bruit (images floues, formes différentes...) non présent dans les données d'apprentissage ou dû à des changements dans la population réelle (évolution, sensibilité à la température...).

Les algorithmes doivent déterminer les limites de décision (Figure 3-3a et Figure 3-6a), souvent non-linéaires, qui peuvent devenir des fonctions d'approximation de ces limites (Figure 3-3b). Les calculs de reconnaissance de patterns nécessitent d'abord suffisamment de données d'entraînement à partir d'exemples pour apprendre ces limites de décision et obtenir un classifieur (ou modèle Figure 3-4, Webb (2002)). Chaque algorithme optimise l'erreur de classification sur la base de données d'apprentissage pour obtenir ce classifieur. Ce dernier est testé sur des données de test (ou de validation) pour estimer ses performances de classification (Figure 3-4). Les performances de classification peuvent être simplement

décrites comme le pourcentage d'objets correctement reconnus.

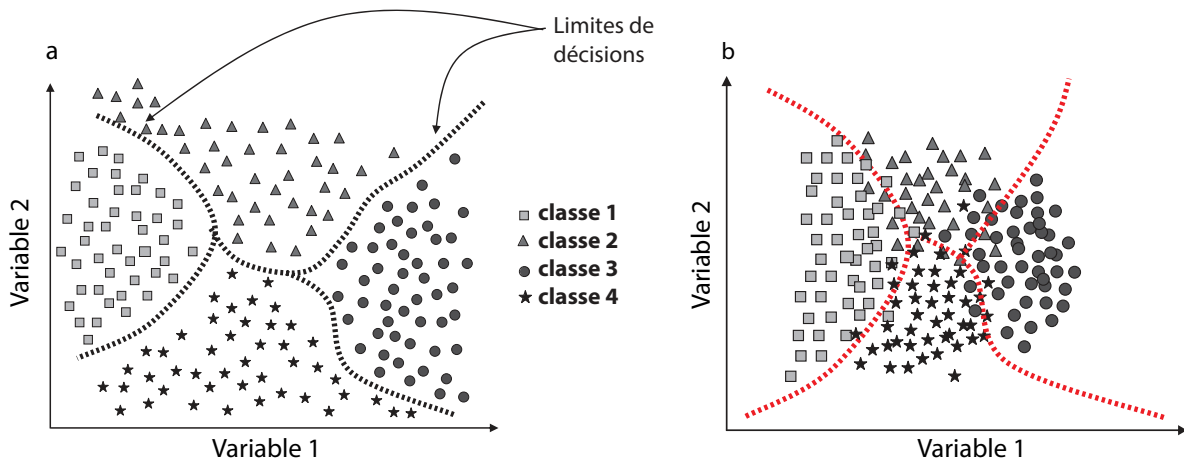


Figure 3-3. Représentation graphique des données décrites par deux variables et réparties en quatre classes, avec les limites de décision idéales : a) cas facile où les classes sont regroupées sans recouvrement aux limites, b) cas moins évident, plus proche de la réalité, où les classes se recouvrent aux limites. Modifié d'après Polikar (2006).

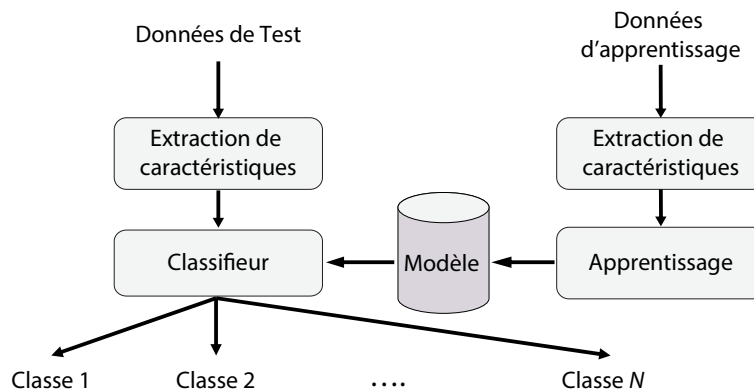


Figure 3-4. Schéma de la partie « classification » du système. Les données d'apprentissage servent à obtenir un modèle dont les performances de classification sont contrôlées à partir de données de test.

L'apprentissage consiste à faire « apprendre » à un algorithme des patterns de pixels ou des valeurs numériques afin d'obtenir un modèle (Figure 3-4). Il existe deux principales méthodes d'apprentissage : l'apprentissage supervisé (ou discrimination) et l'apprentissage non-supervisé (ou clustering). Dans l'apprentissage supervisé, les données d'apprentissage de chaque objet ou vecteur (mesures...) sont regroupées en classes qui sont utilisées comme exemples pour le calcul du classifieur (Figure 3-5a, Fukunaga (1990); Duda et al. (2001); Cornuéjols et Miclet (2002); Webb (2002); Polikar (2006); Theodoris et Koutroumbas (2009)). Le classifieur « apprend » alors à assigner une classe à une nouvelle observation (ou vecteur). Dans l'apprentissage non-supervisé, les données d'apprentissage de chaque objet ne sont pas explicitement regroupées en classes (Fukunaga, 1990; Duda et al., 2001; Zeng et Starzyk, 2001; Theodoris et Koutroumbas, 2009). La classification de ces exemples est basée sur leur similarité (Figure 3-5b).

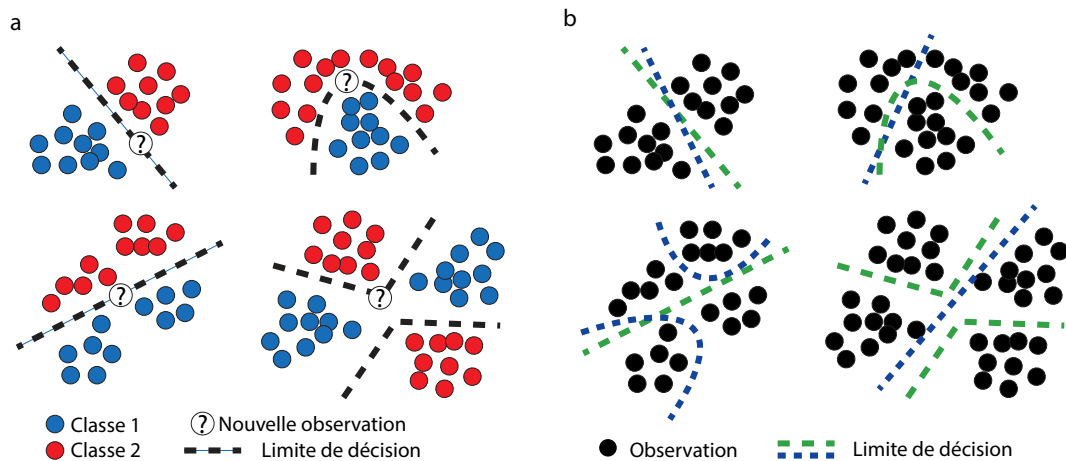


Figure 3-5. Schémas représentant quatre patterns d'observations par apprentissage supervisé a), et par apprentissage non-supervisé b), où plusieurs limites de décision sont possibles pour discriminer les clusters.

Les performances recherchées diffèrent si l'on veut arriver à un système précis ou généraliste. C'est le grand dilemme de l'apprentissage (Cornuéjols et Miclet, 2002). Car on recherche toujours un système parfait qui reconnaisse des formes un peu différentes de la base d'apprentissage et qui les trie correctement dans les bonnes classes (Figure 3-3a). Un classifieur de précision réduit les écarts entre les valeurs apprises et les nouvelles valeurs à classer ; cela peut conduire à un sur-apprentissage – du « par cœur » – où les valeurs non-significatives (« bruits ») et les cas particuliers (*outliers*) sont appris (Figure 3-3b et Figure 3-6c, Cornuéjols et Miclet (2002)). Le sur-apprentissage conduit à une classification correcte de 100 % des données d'apprentissage, mais à de mauvaises performances sur les données de test et les données réelles. Par opposition, apprendre avec trop peu de précision conduit à une sur-généralisation et le classifieur trie mal. Il faut donc trouver un « seuil optimal » rationnel (Cornuéjols et Miclet, 2002; Webb, 2002) ; un compromis où la généralisation d'un modèle permet d'obtenir un bon résultat de classification sur de nouvelles observations (Figure 3-6b). Cette capacité peut potentiellement être améliorée avec un nombre important d'exemples d'apprentissage et l'emploi de modèles simples (Webb, 2002). La génération des classifieurs est faite manuellement, ce qui peut représenter beaucoup de travail (données d'apprentissage, organisation en classes, tests de différents algorithmes...). Il est aussi à noter que la réduction des critères de classification (nombre de classes à trier, nombre de variables, etc.) permet de minimiser la complexité et l'ambiguïté des données. Les limites de décision obtenues par le modèle doivent refléter les principales propriétés des patterns (Buschmann *et al.*, 1996).

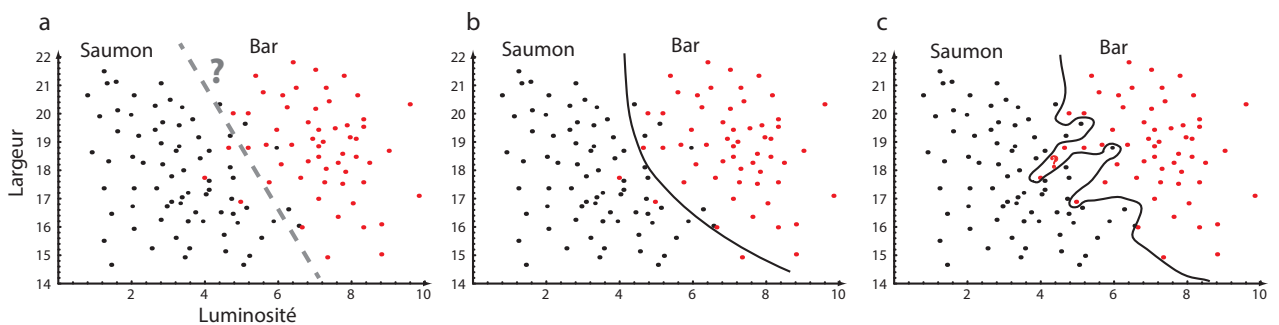


Figure 3-6. Exemples de deux variables (luminosité et largeur) discriminant les saumons des bars, la ligne pointillée en a) peut servir de limite de décision du classifieur ; la ligne noire en b) peut être le classifieur optimal entre classification correcte et simplicité ; et la ligne noire en c) représente un modèle complexe de sur-apprentissage. Modifiés d'après Duda *et al.* (2001).

3.2. LES METHODES DE CLASSIFICATION

Depuis des décennies, les méthodes de classification de patterns n'ont cessé de s'agrandir d'un point de vue conceptuel (ex. : nouveaux algorithmes) mais aussi dans leurs variantes dans de nombreux domaines. Le choix des méthodes est donc exhaustif et couvre quasiment tous les besoins. Nous donnerons un rapide aperçu du principe de méthodes clefs. Pour réaliser les classifieurs statistiques, il faut extraire des informations qui décrivent les nanofossiles.

3.2.1. Avant-propos : la morphométrie

Les mesures morphométriques peuvent être considérées comme des propriétés intrinsèques aux espèces ou aux écophénotypes (Narciso *et al.*, 2006). L'extraction de caractéristiques discriminantes (*feature extraction*) est une étape essentielle dans les ouvrages qui traitent de la reconnaissance de formes (Dollfus, 1997). Il existe un très large spectre de théories mathématiques, de statistiques (analyse de textures, analyse en composantes principales...) pour l'analyse d'images et de formes qui sont adaptés aux analyses d'images de microfossiles calcaires (e.g. Healy-Williams (1983); Belyea et Thunell (1984); Healy-Williams (1984); Burke *et al.* (1987); Hills (1988); Yu *et al.* (1996)).

Le choix des descripteurs est une étape cruciale pour caractériser au mieux une forme, mais le choix est souvent difficile, et parfois arbitraire quand le descripteur est compliqué à extraire. D'après Navarro *et al.* (2004), les descripteurs traditionnels (mesures linéaires : longueur, largeur...) sont souvent abandonnés en faveur de méthodes géométriques ou d'analyses de contour. En effet, les descripteurs traditionnels perdent de leur qualité si les groupes à mesurer ont des formes différentes.

Si certains auteurs conseillent de ne pas multiplier les descripteurs (e.g. Dollfus (1997); Navarro *et al.* (2004)), d'autres (Jeffries *et al.*, 1984; Chehdi *et al.*, 1986; Ishizuka *et al.*, 1986; Cornuéjols et Miclet, 2002) rajoutent des variables diverses (indices de texture, surface de l'objet, etc.) et créent de nouveaux attributs pour différencier des groupes taxonomiques de plancton dans le but d'obtenir un espace de représentation dans lequel les classes sont séparables (Dollfus, 1997). C'est ce que Cornuéjols et Miclet (2002) appellent l'induction constructive. Cependant Dollfus (1997) constate que l'amélioration des capacités de calcul limite les conséquences négatives liées à la sélection d'un grand nombre de paramètres de forme et à l'unicité des outils mathématiques pour la morphologie mathématique (Serra, 1969, 1983; Haralick *et al.*, 1987). Le système de Culverhouse *et al.* (1996), efficace pour reconnaître 23 espèces de dinoflagellés, repose sur une collection volontairement surdimensionnée de paramètres (transformées de Fourier 2D de l'image, descripteurs de Fourier, moments de Hu, indices de textures, etc.).

Pour finir, les programmes de morphométrie ont été développés sous LabVIEW[®], de National Instrument[®] (www.NI.com). C'est un logiciel de programmation graphique qui permet de concevoir des systèmes sur mesure, adaptés à nos besoins. Son utilisation est intuitive et consiste simplement à assembler des icônes graphiques reliées par des fils à la manière d'un organigramme. LabVIEW intègre des bibliothèques de fonctions intégrées et de visualisation des données qui ont été étoffées par le *VI Package Manager*, de JKI (jki.net/vipm).

3.2.2. Exemples de méthodes statistiques

Dans l'approche statistique, chaque observation est représentée par N variables descriptives (mesures morphométriques) dans un espace descriptif à N dimensions. Le but est de choisir quelles variables forment des patterns compacts et disjoints pour chaque catégorie afin d'établir des limites de décision dans l'espace descriptif. Ces limites sont déterminées par les probabilités de distribution de ces patterns de classes (e. g. Devroye *et al.* (1997); Schapire *et al.* (1998); Vapnik (1998); Jain *et al.* (2000); Duda *et al.* (2001); Bousquet *et al.*

(2004); Cutler *et al.* (2007); Ivanciuc (2007); Hastie *et al.* (2009); Li *et al.* (2009)). Il existe un grand nombre d'algorithmes pour résoudre des problématiques de classification. Nous allons expliquer rapidement les méthodes utilisées dans SYRACO et mentionnées dans l'article chapitre 5.

1) Les arbres de classification ou régression standard

Les arbres sont des algorithmes de partitionnement binaire qui divisent l'espace descriptif en sous-ensembles homogènes selon les classes (=nœuds) en fonction de valeurs seuils des variables descriptives (e. g. Breiman *et al.* (1984); Verbyla (1987); Clark et Pregibon (1992); Breiman (1996); Therneau et Atkinson (1997); De'ath et Fabricius (2000); Vayssieres *et al.* (2000); De'ath (2002); Prasad *et al.* (2006); Cutler *et al.* (2007); De'ath (2007); Elith *et al.* (2008)). Chaque nœud de l'arbre est fractionné en utilisant la meilleure valeur parmi les variables (**Figure 3-7**, Liaw et Wiener (2002)). Plus l'arbre est grand plus on s'approche d'un sur-apprentissage.

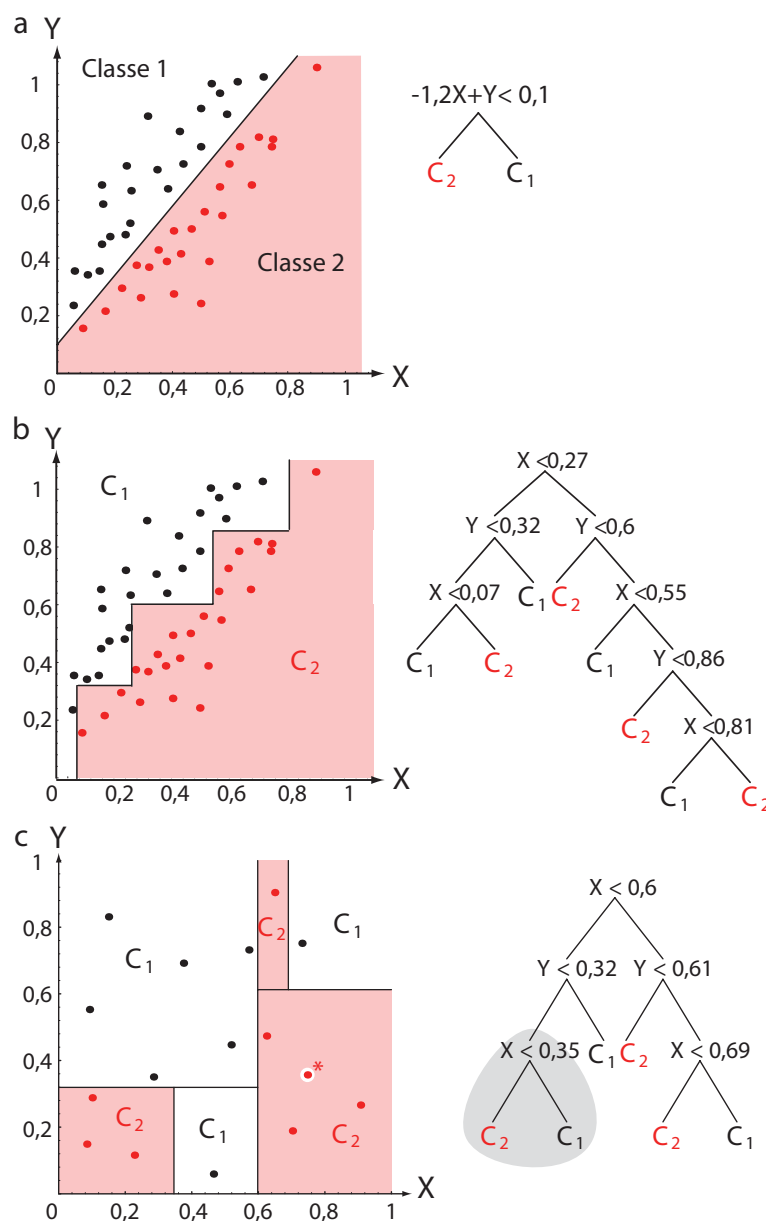


Figure 3-7. Trois exemples de classifications par arbres : a) une fonction linéaire définit la limite de décision, b) une succession de valeurs seuils en X et Y définit une limite de décision irrégulière et c) cette fois, l'espace est divisé en compartiments définis par des valeurs seuils en X et Y. Modifiés d'après Duda *et al.* (2001).

2) Adaptive boosting (adaboost)

L'*adaboost* est un algorithme itératif basé schématiquement sur les arbres de régression (Freund et Schapire, 1997a; Culp *et al.*, 2006; Hastie *et al.*, 2009). Au cours de l'apprentissage, l'algorithme cherche à chaque itération un classifieur optimal (=classifieur faible) en fonction de la distribution de la pondération des données d'apprentissage (Figure 3-8). Cette pondération est plus ou moins importante si le nouveau classifieur faible trie correctement les observations, ce qui influe sur le calcul d'un nouveau classifieur faible à la prochaine itération, etc.

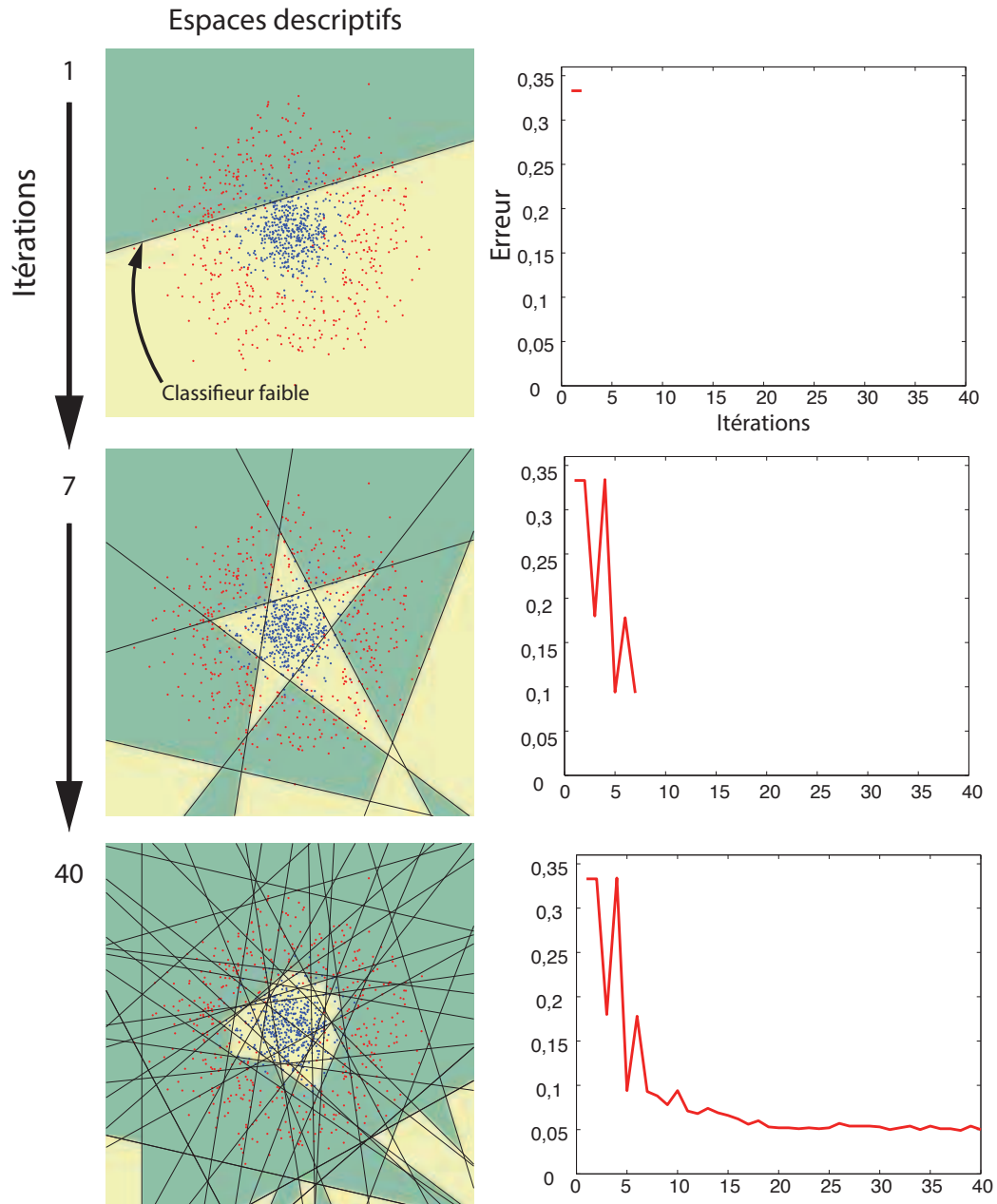


Figure 3-8. Schémas de trois étapes lors d'un apprentissage par *adaptive boosting*. Chaque itération correspond au calcul d'un classifieur faible et les points bien ou mal classés sont pondérés et influent sur le calcul des classifieurs faibles successifs. À partir d'un certain nombre d'itérations (ici 40), l'erreur de classification est faible et constante. Le modèle qui rassemble tous ces classifieurs faibles est optimal. Modifiés d'après Matas et Sochman (2009).

3) Les Support Vector Machines (SVM)

Les SVM utilisent un algorithme qui calcule des hyperplans optimaux qui séparent les classes selon les N -dimensions des données d'apprentissage (Cortes et Vapnik, 1995; Vapnik, 1995; Burges, 1998; Vapnik, 1998; Cristianini et Shawe-Taylor, 2000; Smola et Scholkopf, 2004; Chen *et al.*, 2005; Hasan et Boris, 2006; Noble, 2006). Les hyperplans sont définis par des « vecteurs supports » qui représentent les observations à la limite entre deux classes (Figure 3-9). Afin d'optimiser leur calcul et maximiser la séparation des classes (la marge), la distribution des points est modifiée par des fonctions (kernels) linéaires, polynomiales, gaussiennes ou encore sigmoïdes (Figure 3-10). Cela permet d'adapter le calcul à différentes configurations de l'espace descriptif des classes (Figure 3-11).

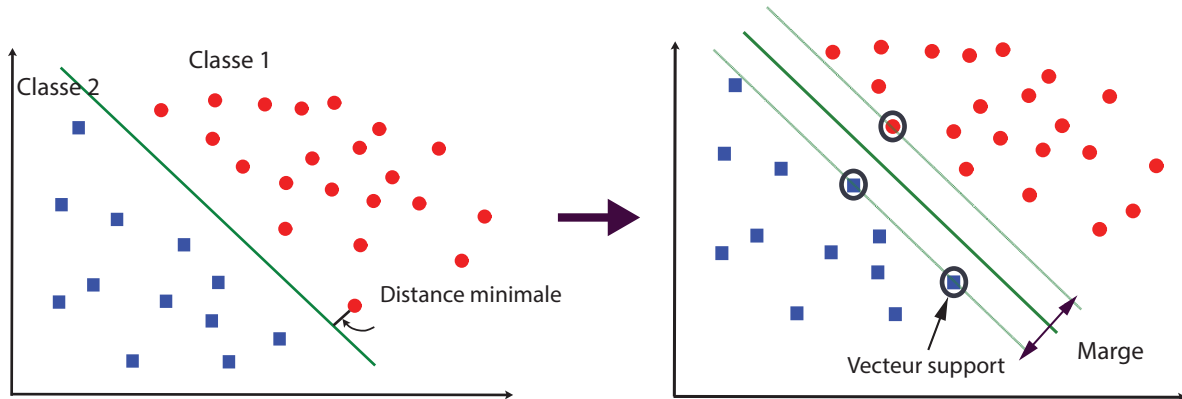


Figure 3-9. Schémas représentant deux classes séparées par un hyperplan linéaire. Modifiés d'après Meir (2002).

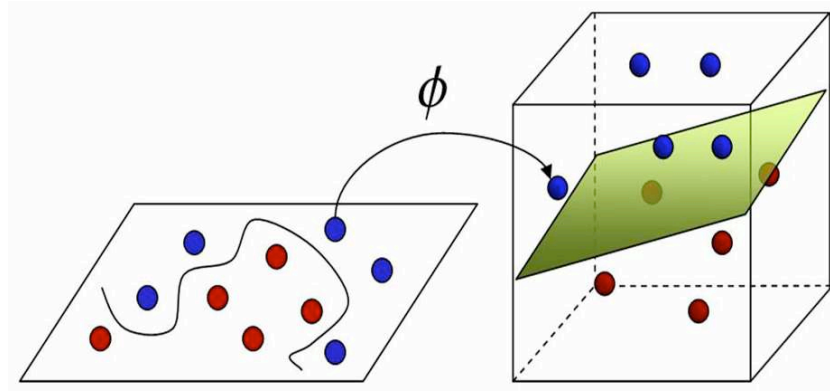


Figure 3-10. Cas non linéaire avec transformation de l'espace des données pour calculer un hyperplan optimal. Modifiés d'après Hasan et Boris (2006).

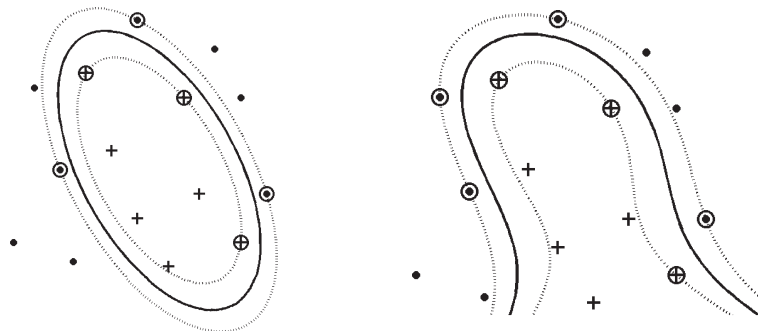


Figure 3-11. Autres exemples de cas non-linéaires donnant une idée des possibilités des SVM. Modifiés d'après Ivanciuc (2007).

4) Les forêts de décisions aléatoires ou Random forest

Le *random forest* est une méthode qui reprend schématiquement les algorithmes de l'*adaptive boosting* et des arbres de régressions (Breiman, 1996, 2001, 2004; Lawler *et al.*, 2006). L'algorithme effectue un apprentissage sur de multiples arbres de décision entraînés sur des sous-ensembles aléatoires de données légèrement différents (= *bagging*). Pour chaque nœud des « sous-arbres », il considère un m nombre de variables sélectionnées aléatoirement. Par défaut, la méthode calcule 500 arbres sur autant de sous-ensembles, chacun représentant 63 % des données. Les prédictions de chaque arbre sont ensuite combinées pour former le modèle (Liaw et Wiener, 2002; Cutler *et al.*, 2007). La classe prédite est la classe qui a la majorité des votes sur l'ensemble des arbres. L'avantage de cet algorithme est qu'un test de validation supplémentaire n'est pas nécessaire car il calcule automatiquement une estimation de l'erreur de généralisation non-biaisée.

5) L'analyse discriminante linéaire (LDA)

L'analyse discriminante linéaire, ou analyse canonique, est une méthode qui consiste à extraire les combinaisons linéaires des variables descriptives qui séparent plusieurs classes (Fisher, 1936; Legendre et Legendre, 1998; Martinez et Kak, 2001). L'algorithme permet de réduire le nombre de dimensions tout en préservant les informations discriminantes (Figure 3-12b). Les combinaisons minimisent la variance entre les classes (minimum de chevauchement, CP1) et maximisent la variance dans les classes (CP2). Elle peut être utilisée quand le nombre d'échantillons est supérieur au nombre de variables. L'analyse discriminante quadratique, quant à elle, recherche les combinaisons quadratiques; elle peut être utilisée quand le nombre d'échantillons par classe est supérieur au nombre de variables (Figure 3-13).

Elle diffère de l'analyse en composante principale car celle-ci recherche plutôt les combinaisons linéaires des variables descriptives qui expriment le mieux la répartition des données (Figure 3-12a).

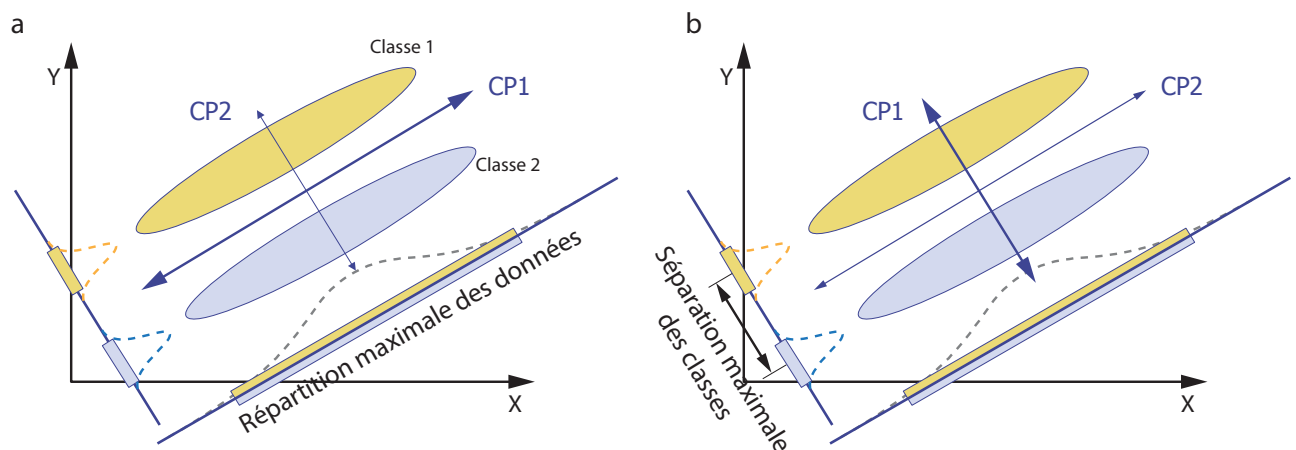


Figure 3-12. Schémas du même pattern descriptif de deux classes interprétés par analyse en composantes principales ou CP (a) et par analyse discriminante linéaire (b). Pour chaque cas, la composante principale primaire exprime une répartition des données fondamentalement différente. Modifiés d'après Gutierrez-Osuna (2006) et Julian (2009).

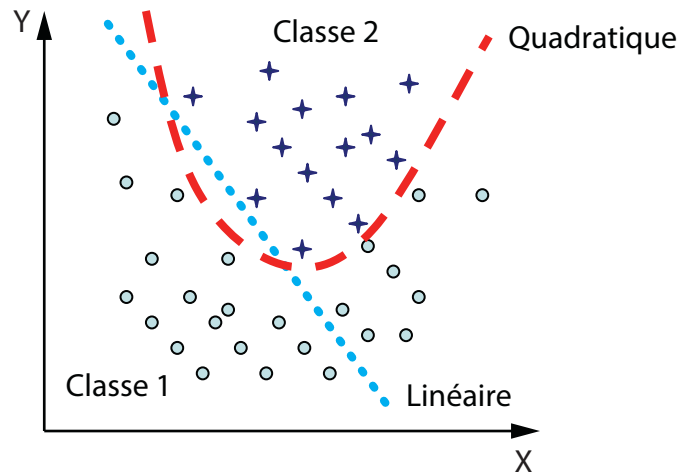


Figure 3-13. Schéma simplifié d'une limite de décision entre deux classes obtenue par analyse discriminante linéaire ou quadratique.

6) Classification des plus proches voisins ou *K-nearest neighbour classification*

La classification des plus proches voisins est une méthode simple de *clustering* pour classer les objets à partir de la recherche des données d'apprentissage les plus proches des nouvelles observations (Cover et Hart, 1967; Hand, 1981; Ripley, 1996; Venables et Ripley, 2002). Pour chaque classe des données d'apprentissage, l'algorithme réalise une recherche de clusters (de regroupements de données) en mesurant les distances euclidiennes des points (Zeng et Starzyk, 2001; Cunningham et Delany, 2007). Lors de la classification, les données de la nouvelle observation sont comparées aux clusters appris et la classe déterminée correspond au cluster le plus proche avec l'indice de confiance le plus haut.

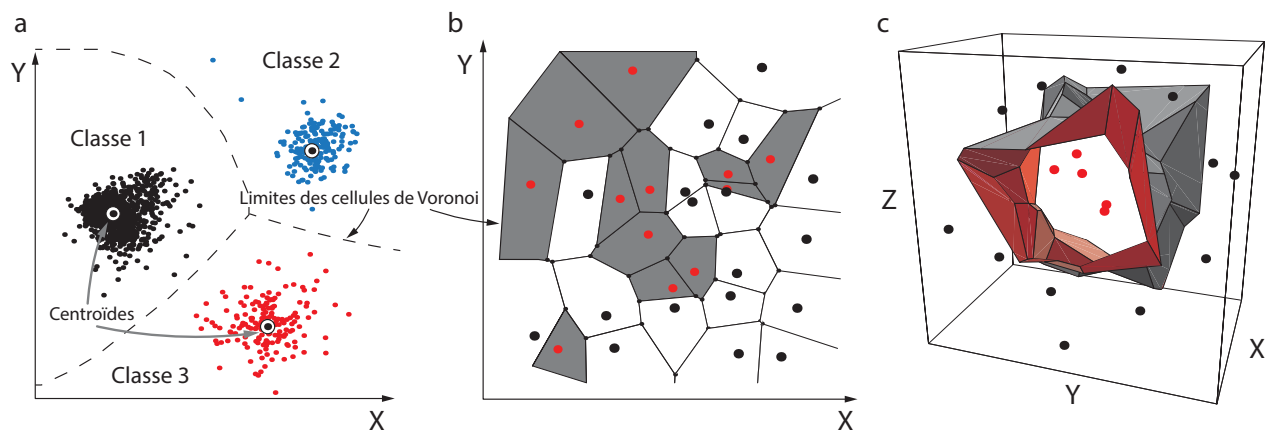


Figure 3-14. Schémas représentant la classification des plus proches voisins. En deux dimensions (a et b), l'algorithme conduit à un partitionnement de l'espace descriptif en des cellules de Voronoi contenant chacune une classe. En trois dimensions et plus (c), les cellules sont pluri-dimensionnelles et les cellules de décisions ressemblent à la surface d'un cristal. Modifiés d'après Duda *et al.* (2001).

3.2.3. La comparaison de formes

Appelée aussi *template matching*, c'est une opération qui détermine les similarités entre deux formes. Des formes à reconnaître sont comparées à un objet de référence (ou *template*), en tenant compte des changements d'échelles et de rotations. Cette méthode n'est pas très efficace s'il y a une forte variabilité intra-classe ou des images de mauvaise qualité (Jain *et al.*, 2000). Elle peut fonctionner sur des images

binaires (comparaison de forme pure) ou sur des images en noir et blanc (comparaison de pattern de pixels). Sous LabView, cette méthode est très irrégulière malgré les paramètres ajustables. Elle a été jugé peu fiable et n'est donc pas utilisée dans SYRACO.

3.2.4. Les réseaux de neurones artificiels

Les réseaux de neurones artificiels (RNA) sont des modèles de calculs schématiquement inspirés du fonctionnement des neurones biologiques (**Figure 3-15a**, McCulloch et Pitts (1943)). Un ensemble de ces neurones imite les capacités cérébrales à classifier des patterns après un apprentissage (Bishop, 1995; Kröse et van der Smagt, 1996; Ripley, 1996; Duda *et al.*, 2001). Mais leur utilisation pragmatique est, dans la plupart des cas, déconnectée de toute ambition de modélisation du cerveau (Dollfus, 1997). Classiquement, un neurone est divisé en trois parties (**Figure 3-15a**) : les dendrites qui reçoivent l'information, la cellule qui traite l'information et l'axone qui transmet l'information traitée à d'autres neurones. Son équivalent mathématique est aussi appelé un « nœud » (**Figure 3-15b**). Un neurone est donc avant tout un opérateur mathématique ; donc les réseaux de neurones sont considérés comme des outils algorithmiques (**Figure 3-15b**, Dollfus (1997)). Les patterns à classifier peuvent être « visuels », comme des images par exemple, ou encore des points, des signaux, etc. Techniquement, les réseaux de neurones extraient les informations qui caractérisent ces images. Leur structure comporte un ensemble d'entrées x caractérisées par un « poids » w , qui symbolise une information pondérée portée par les dendrites, une unité de traitement/calcul (Σ et f) puis une sortie y représentant la nouvelle information portée par l'axone. La sortie du nœud y est calculée comme la somme Σ des entrées w traitée ensuite par la fonction d'activation f (Polikar, 2006). Les poids peuvent être négatifs ou positifs et représentent respectivement la nature excitée ou inhibée de l'activité d'un neurone connecté à x . Dans un cerveau, les neurones sont schématiquement interconnectés en réseaux (**Figure 3-16a**). Les neurones artificiels peuvent aussi être reliés dans des réseaux plus ou moins complexes appelés des perceptrons (**Figure 3-16b**). Ils forment de véritables embranchements de réseaux pouvant être représentés en trois dimensions, parfois simples (**Figure 3-17a**) ou complexes (**Figure 3-17b**). Dollfus (1997) montre bien de manière simple le lien et l'échange d'information entre les différentes couches de réseaux de neurones (**Figure 3-18a** et **b**) ; dans l'exemple, il s'agit d'une configuration dite de Kohonen (Kohonen, 1982; Kohonen *et al.*, 1988).

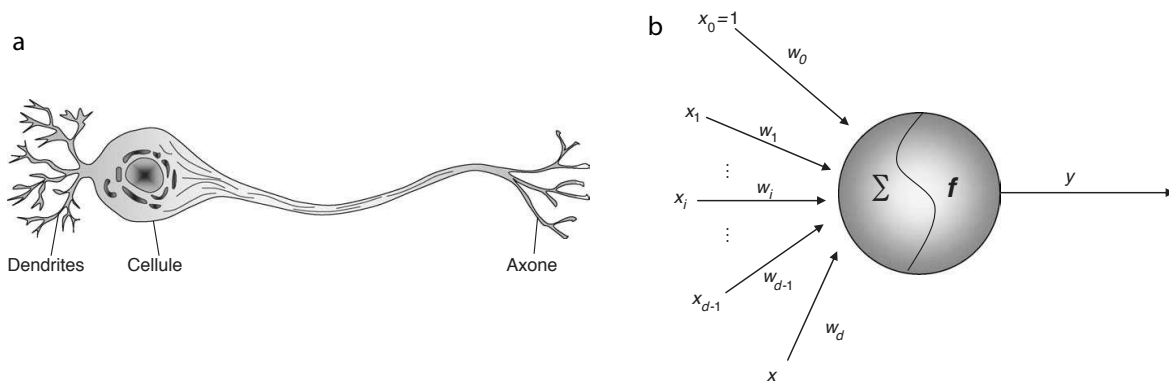


Figure 3-15. a) Schéma d'un neurone biologique et b) schéma d'un neurone mathématique. Modifiés d'après Polikar (2006).

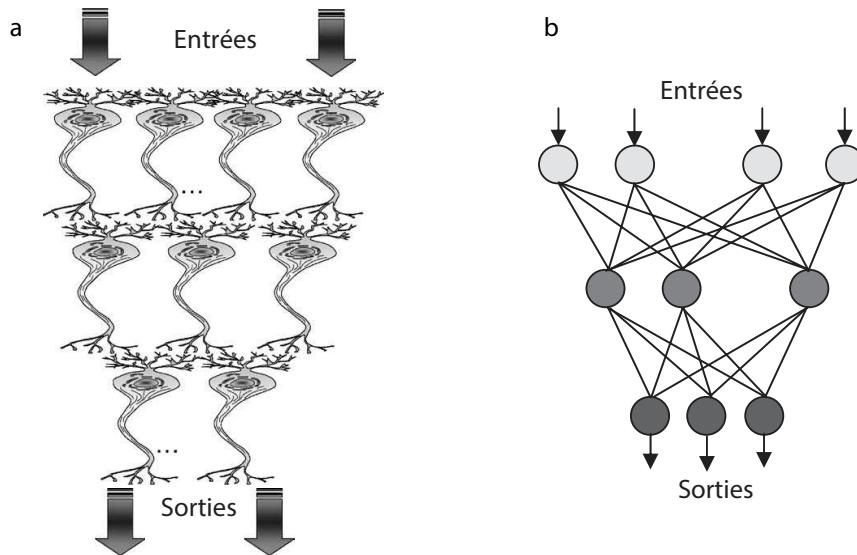


Figure 3-16. a) Schéma simplifié de la structure d'un système nerveux représentant l'interconnexion des neurones et b) schéma d'un réseau artificiel de neurones (perceptron) multicouches. Modifiés d'après Polikar (2006).

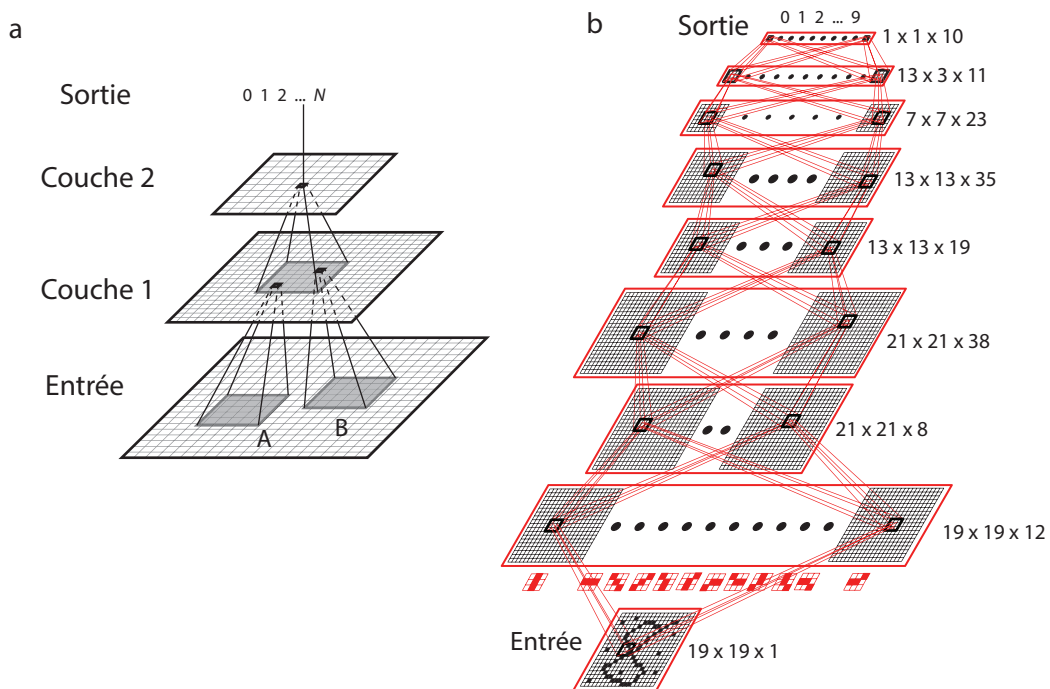


Figure 3-17. a) Architecture schématique d'un réseau de neurones multicouches à deux dimensions avec représentation du transfert d'informations (en noir). L'entrée peut être une image. b) Exemple d'architecture plus complexe avec sept couches de dimensions différentes. Ici, le but serait de reconnaître le numéro sur l'image en entrée. Les transferts d'informations sont en rouge. Modifiés d'après Duda *et al.* (2001) et Bishop (1995).

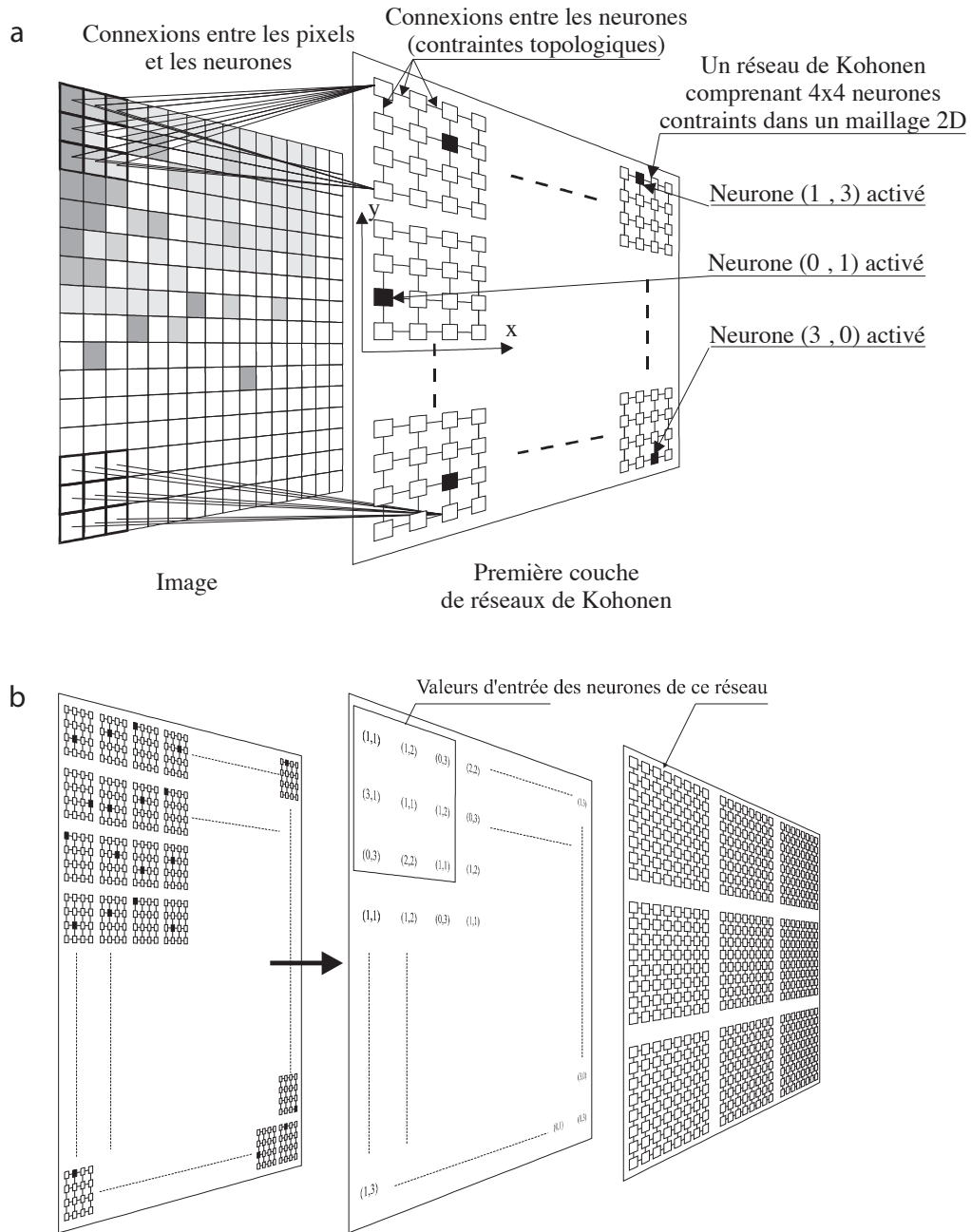


Figure 3-18. a) Schémas des connexions entre l'image (à gauche, un carré représente un pixel) et la première couche de réseaux de Kohonen (à droite, un petit carré représente un neurone). Chacun de ces réseaux est composé de 4 lignes et 4 colonnes de neurones. Tous les neurones d'un réseau ont pour entrées les valeurs des 3 x 3 pixels d'une sous-image (traits gras). Dans chaque réseau, l'unique neurone activé est celui dont le vecteur poids est le plus proche du vecteur d'entrée. L'activité d'un réseau peut être décrite par les coordonnées de ce neurone dans le maillage. b) Principe de connexion entre deux couches de réseaux de Kohonen. L'activité de chacun des réseaux est convertie en coordonnées. Ce sont ces coordonnées qui définissent les valeurs d'entrée de la couche suivante. Comme pour les connexions entre l'image et la première couche (a), chacun des réseaux de la couche ne prend en entrée qu'une partie de la couche précédente. Modifiés d'après Dollfus (1997).

Un RNA est entraîné à partir de données d'apprentissage (images, mesures, etc.) qui sont entièrement présentées à l'algorithme à chaque itération. L'algorithme le plus utilisé pour ces applications est la rétro-propagation du gradient (Dollfus, 1997). Le principe de l'algorithme de rétro-propagation, qui s'applique à des perceptrons multicouches (Figure 3-16), est de minimiser l'erreur sur l'ensemble des exemples présentés à l'algorithme en modifiant le poids des neurones proportionnellement à leur contribution dans l'erreur

totale (**Figure 3-19**, Dollfus (1997)). Comme une sorte de gradient dans un espace de poids synaptiques (**Figure 3-20**). Le gros avantage de cet algorithme est sa capacité à généraliser, c'est à dire la capacité d'extrapolation de classification des réseaux sur d'autres images.

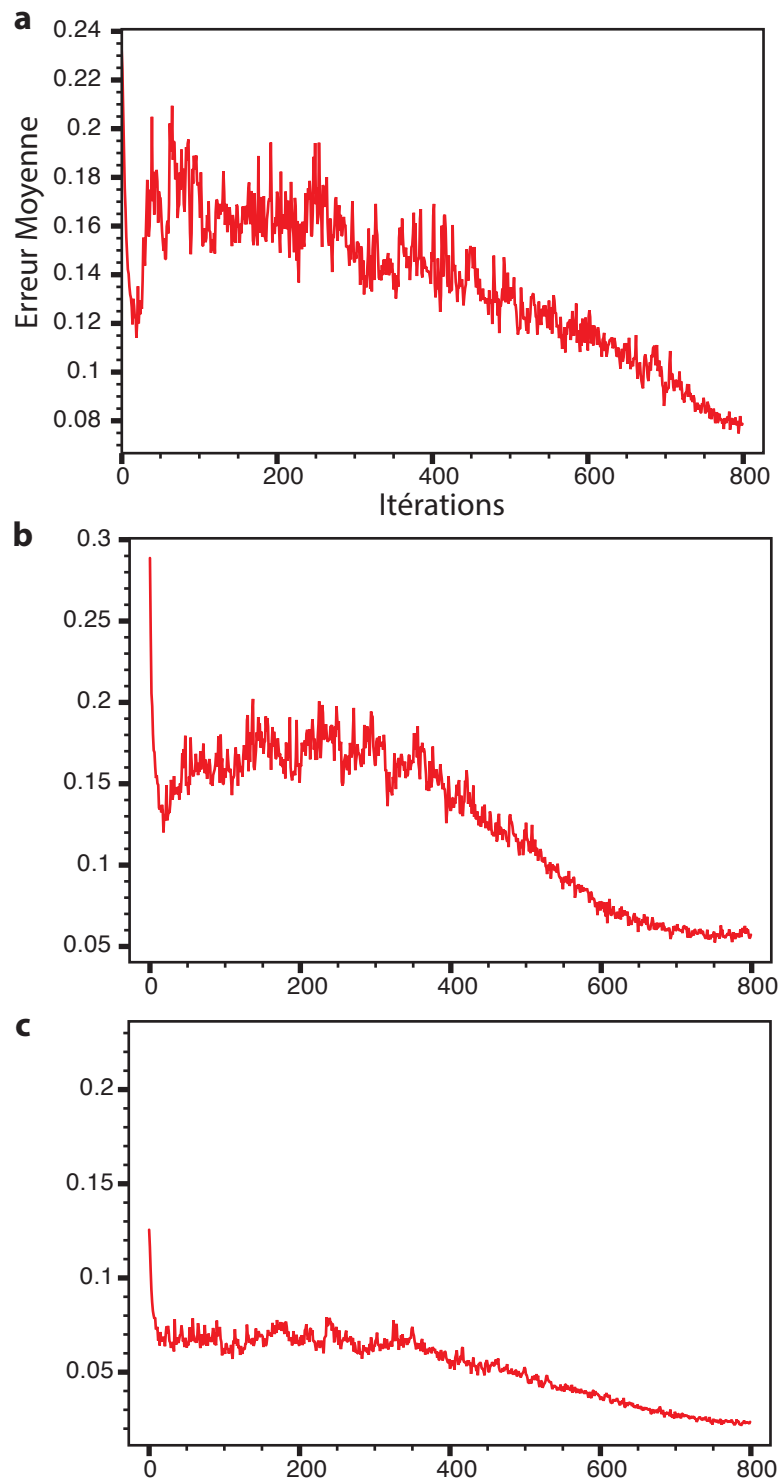


Figure 3-19. Exemples de stabilisation de l'erreur moyenne des poids des neurones en fonction du nombre d'itérations/époques lors de l'apprentissage. a) Apprentissage binaire nannofossiles/non-nannofossiles peu épais, b) apprentissage binaire nannofossiles/non-nannofossiles épais et c) apprentissage binaire nannofossiles/non-nannofossiles non-biréfringents. L'erreur converge autour de 800 itérations, au-delà on obtient un plateau marquant le début du sur-apprentissage.

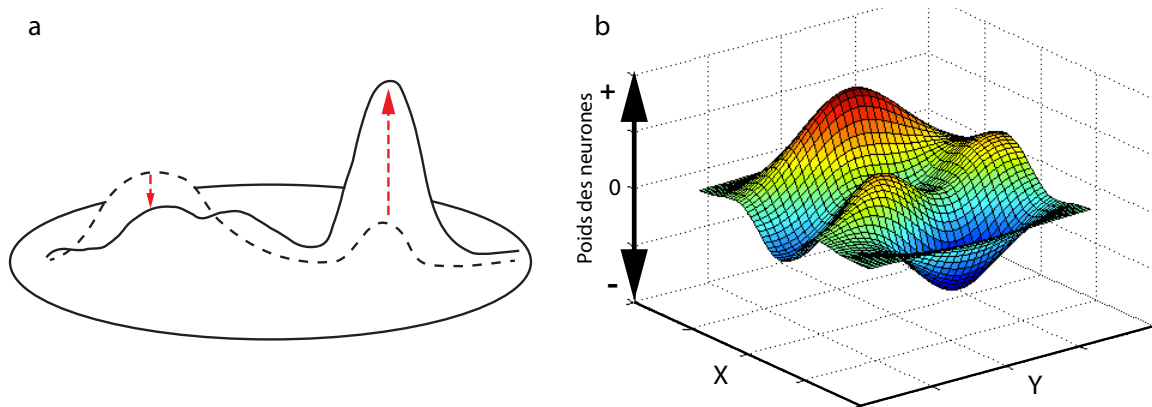


Figure 3-20. a) Schéma conceptuel du gain et de la perte de poids lors d'un apprentissage (représentés par les flèches rouges) et b) Schéma en trois dimensions d'un réseau de neurones de taille X par Y, les courbes et les couleurs schématisent le poids des neurones.

Un historique de synthèse et des explications plus étendues sur les réseaux de neurones peuvent être consultés dans le travail de [Dollfus \(1997\)](#).

3.2.5. Les combinaisons de méthodes

La combinaison de différentes méthodes de classification a déjà été discutée par plusieurs auteurs ([Cornuéjols et Miclet, 2002](#); [Kuncheva, 2004](#)). C'est un domaine de recherche relativement jeune, développé depuis les années 90 ([Kittler, 1998](#); [Kittler et al., 1998](#); [Gama, 1999](#); [Dietterich, 2000](#); [Valentini et Masulli, 2002](#); [Kuncheva, 2004](#)). L'intérêt grandissant pour des systèmes combinant de multiples algorithmes d'apprentissage et de classification vient du constat que certains algorithmes peuvent surpasser les autres pour des ensembles spécifiques. Des classifieurs différents feront des erreurs différentes sur une nouvelle observation : ils ne conviennent pas à toutes les situations. De plus, un problème complexe peut être décomposé en « sous-problèmes » plus simples à résoudre. L'intégration multiple doit pouvoir améliorer la précision de prédiction ; les prédictions de chaque classifieur sont combinées pour classer les nouvelles observations (**Figure 3-21**). Il existe de nombreux concepts dans l'intégration de plusieurs classifieurs, des plus simples aux plus complexes (**Figure 3-22**). Par exemple la recherche universitaire a créé de nombreuses procédures qui peuvent utiliser des « forêts de décisions », du *bagging* ([Breiman, 1996](#)) et du *boosting* ([Schapire, 1990](#); [Freund et Schapire, 1996](#); [Freund et Schapire, 1997a](#); [Freund et Schapire, 1997b](#); [Schapire et al., 1998](#)) en utilisant des procédures de vote pour choisir quel modèle appliquer sur une nouvelle donnée ([Cornuéjols et Miclet, 2002](#)).

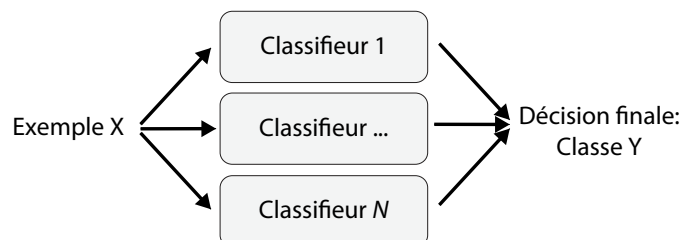


Figure 3-21. Schéma d'un système multi-classifieur simple où chaque classifieur donne une classe (ou un vote) pour la nouvelle donnée X.

Le vote de chaque classifieur peut être compensé par un poids selon ses performances sur les données d'apprentissage (= apprentissage par interprétation bayésienne¹²). L'intégration des classifieurs peut se faire de différentes façons, ils peuvent être :

- Groupés (intégration statique) : chaque classifieur est consulté pour classer un nouvel objet.
- Spécialisés (intégration dynamique) : certains classifieurs sont mauvais pour certaines classes, celles-ci sont triées par des sous-classifieurs.
- Homogènes : algorithmes d'apprentissage identiques sur différentes données d'apprentissage.
- Hétérogènes : différents algorithmes d'apprentissage sur les mêmes données d'apprentissage.

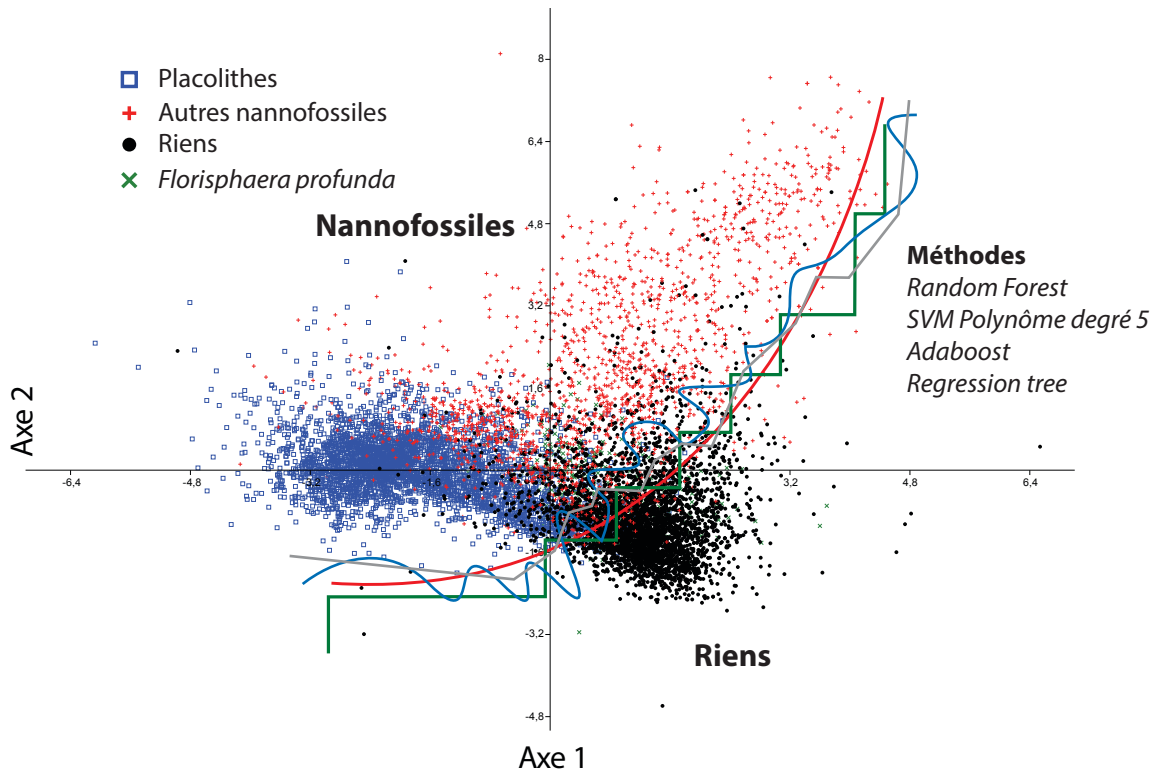


Figure 3-22. Analyse discriminante sur le jeu de données des nanfossiles et des non-nanfossiles (=Riens). Les courbes sont fictives et représentent potentiellement la séparation optimale pour chaque classifieur. La combinaison de chaque résultat de classification (la somme ou un minimum de trois concordances par exemple) pourrait aboutir à un résultat optimal.

3.2.6. Les principaux problèmes

Voici une liste, non exhaustive, des principaux problèmes rencontrés durant cette étude et dans la bibliographie :

- Les caractères descriptifs (mesures, pixels...) influencent les performances des algorithmes et des classifieurs en général. Quel est le meilleur caractère pour discriminer ? Les algorithmes des modèles recherchent par eux-mêmes les combinaisons les plus discriminantes.
- Les classifieurs doivent être invariants aux transformations (translations, rotations, taille...).
- Le bruit, de nature variée, peut être dû à des variations de luminosité, de préservation, de qualité d'image... Il peut réduire l'efficacité des caractères mesurés. Une normalisation de la prise d'images, par exemple par l'utilisateur, permet de réduire les erreurs. Pour le bruit intrinsèque aux objets à classifier, c'est à l'utilisateur de réfléchir s'il veut reconnaître des objets plus ou moins altérés.

¹² Ensemble de méthodes permettant de tirer des conclusions fiables ou estimer une probabilité à partir de données d'échantillons statistiques selon le théorème de Bayes.

- Le sur-apprentissage crée des modèles complexes qui fonctionnent très bien sur les données d'apprentissage mais qui n'ont plus la capacité de généralisation sur de nouvelles données. Cela pose la question de savoir à partir de quand un modèle ne sera plus viable. D'où l'importance de tests exhaustifs sur un autre jeu de données.
- La sélection du modèle nécessite de tester différentes méthodes et de jouer sur les paramètres et les exemples (plus ou moins de catégories...). Ce qui peut prendre du temps.
- Dans un cas de formes biologiques, sans reproductibilité parfaite des individus de référence (ou holotypes), mélangés avec beaucoup de choses ressemblantes, il faut accepter un compromis dans l'erreur de classification, voire une perte raisonnable d'objets à trier afin de supprimer un maximum de faux-positifs.

À l'issue de mon expérience sur la morphométrie et l'exploitation des modèles, je rejoins les propos de Dollfus (1997) : « *Les limitations d'une telle approche, qui consiste à augmenter le nombre et à varier la nature des paramètres fournis au classificateur, sont multiples. Tout d'abord, la sensibilité au bruit des procédés d'extraction de paramètres est telle qu'un système peut présenter une efficacité satisfaisante sur des images tests soigneusement sélectionnées, et médiocre en situation réelle, face à des débris isolés ou accolés aux objets à identifier. La robustesse de l'ensemble du système est donc subordonnée à celle des processus de traitement d'image. Ensuite, il est difficile de sélectionner des paramètres pertinents, c'est-à-dire de minimiser la charge de calcul tout en maximisant le pouvoir séparateur des paramètres. Un tel problème se résout le plus souvent par tâtonnements, ce qui rend minutieuse et longue la phase de mise au point, dont la réussite dépend de l'art et de l'intuition du concepteur.* »

C'est donc en bonne connaissance de ces limitations que les procédés de classification ont été appliqués à l'étude des nannofossiles.

3.3. LA RECONNAISSANCE AUTOMATISEE DES NANNOFOSSILES

L'étude des nannofossiles calcaires demande beaucoup de temps car le nombre d'individus comptés par échantillon doit être très important pour être scientifiquement représentatif (>500). Le temps nécessaire est d'autant plus important si le nombre d'échantillons à analyser augmente et/ou si l'on souhaite réaliser une étude biométrique sur un nombre statistiquement significatif d'individus et d'espèces.

Depuis longtemps, les nannopaléontologistes et biostratigraphes cherchent un moyen d'exécuter rapidement ce travail de routine et de classification des microfossiles de manière efficace. La très importante variabilité morphologique inter- et intra-spécifique (**Figure 3-23**) a avivé l'idée d'une reconnaissance automatisée, qui a fait son chemin, stimulée par les avancées technologiques et informatiques.

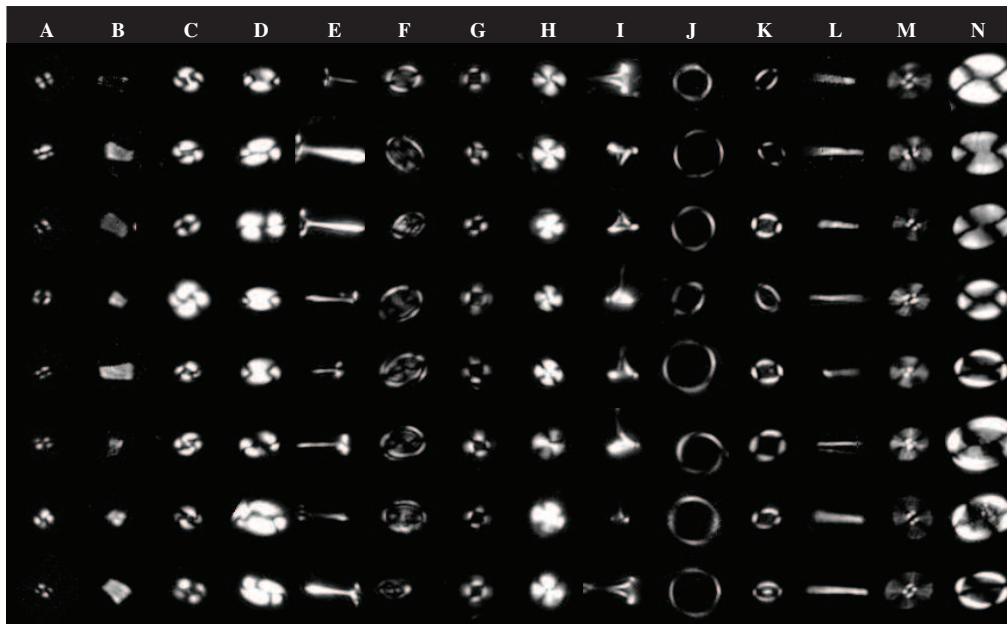


Figure 3-23. Exemples de coccolithes en lumière polarisée, avec la croix noire d'extinction de la calcite. A, *Emiliana huxleyi*; B, *Florisphaera profunda*; C, *Gephyrocapsa caribbeanica*; D, *Gephyrocapsa oceanica*; E, *Helicosphaera carteri*; F, *Rhabdosphaera* sp.; G, *Syracosphaera pulchra*; H, *Umbilicosphaera sibogae*; I, *Calcidiscus leptoporus*; J, *Syracosphaera* sp.; K, *Thorosphaera flabellata*; L, *Umbellosphaera tenuis*; et M, *Pontosphaera* sp.. D'après Dollfus et Beaufort (1999).

3.3.1. Bref historique de la reconnaissance automatisée

Cette partie est un condensé de l'historique de la reconnaissance du plancton réalisé par Dollfus (1997) et par Dollfus et Beaufort (1999).

Dans les années 80, il existe peu de systèmes de reconnaissance de formes appliqués aux organismes fossiles ou vivants (Brough et Alexander, 1986; Riedel, 1989; Swaby, 1990). Ils sont basés simplement sur une classification de caractéristiques fonctionnant par des questions-réponses, mais sont entièrement gérés par l'utilisateur. Les premiers travaux de reconnaissance automatique concernent quelques groupes de zooplanctons (foraminifères, copépodes, etc. Thonnat et Gandelin (1988); Liu-Yu (1992); Shan et al. (1994)). Ces systèmes analysent les images et classent les groupes en utilisant des modèles d'arbres de classification hiérarchique à partir de critères qualitatifs sans aucune validation des performances en situation réelle. Dollfus (1997) fait la remarque que ces méthodes qui utilisent des critères qualitatifs de classification propre à la taxonomie, parfaitement compréhensible pour un humain, ne sont pas adaptées aux ordinateurs.

Au début des années 90, l'utilisation d'appareils de mesures physiques (colorimétrie, ultrason, photoélectricité... ; Beers (1976); Fawell (1976)) a d'abord été tentée avec des analyses statistiques de classification en cytométrie sur cellules phytoplanctoniques vivantes (Demers et al., 1992; Robinson et al., 1992). Ensuite, ces classifications ont été améliorées via l'utilisation de réseaux neuronaux artificiels (ou ANN pour *Artificial Neural Network*; Frankel et al. (1989); Boddy et al. (1994); Dubelaar et al. (1995); Culverhouse et al. (1996)). Mais à l'époque, ces méthodes ne s'avéraient pas suffisantes pour être appliquées directement sur le registre fossile.

Le développement des techniques d'analyse d'images a permis aux premiers analyseurs d'images de renseigner divers paramètres biométriques (longueur, largeur, périmètre, « Hu moments » (Hu, 1961), descripteurs de Fourier (Zahn et Roskies, 1972)). Ces divers paramètres ont été utilisés pour la classification de plusieurs espèces (Jeffries et al., 1984; Chehdi et al., 1986; Ishizuka et al., 1986). Mais ces méthodes ne permettent pas de trier des patterns complexes non-linéaires. Par contre, les systèmes neuronaux artificiels multicouches peuvent réaliser des classifications plus complexes. Ces systèmes ont été introduits par

Simpson *et al.* pour la reconnaissance du plancton (Simpson *et al.*, 1991; Simpson *et al.*, 1992; Simpson *et al.*, 1994).

À partir de 1997, le système baptisé SYRACO (Système de Reconnaissance Automatique de COcolithes, Dollfus et Beaufort (1996); Dollfus (1997); Dollfus et Beaufort (1999) puis Beaufort et Dollfus (2004)) voit le jour et montre la faisabilité d'une classification complexe d'espèces de coccolithes différentes en formes et avec une importante variabilité intra-spécifique. Ces travaux répondent positivement à la question de l'article de Ellis *et al.* (1994) : « *Expert visual classification and neural networks: can general solutions be found ?* ». De plus, il s'avère que d'après Brechner (2000), les réseaux de neurones utilisés par SYRACO sont la meilleure solution pour classer les images de nannofossiles calcaires. Ce système est utilisé dans plusieurs laboratoires avec succès (e. g. (Beaufort *et al.*, 1997; Beaufort *et al.*, 2001; Beaufort *et al.*, 2011))

Les années 2000 ont vu l'accélération du développement de systèmes automatiques concernant les diatomées (Fischer et Bunke, 2001; du Buf et Bayer, 2002; Forero *et al.*, 2002; Forero *et al.*, 2003; Jalba et Roerdink, 2003; Jalba *et al.*, 2004; Jalba *et al.*, 2005; Hicks *et al.*, 2006; Alvarez-Borrego et Solorza, 2010), les foraminifères (Yu *et al.*, 1996; Ranaweera *et al.*, 2009) ou encore les pollens (France *et al.*, 2000; Moreno *et al.*, 2001; Boucher *et al.*, 2002; France *et al.*, 2005; Rodriguez-Damian *et al.*, 2006; Delaunay *et al.*, 2007; Ranzato *et al.*, 2007; Muradil *et al.*, 2010; Holt *et al.*, 2011; Kaya *et al.*, 2013). Sur les nannofossiles calcaires, Bollmann *et al.* (2004) développent un système utilisant des réseaux de neurones artificiels, qui s'avère relativement lent mais qui permet de travailler en lumière incidente, en lumière transmise (microscope optique) et au MEB.

3.4. LE SYRACO PRE-2013

Le Système de Reconnaissance Automatisée des Coccolithes est développé au CEREGE depuis 1996 (Dollfus et Beaufort, 1996; Dollfus, 1997; Dollfus *et al.*, 1997; Dollfus et Beaufort, 1999; Beaufort et Dollfus, 2004). Ce logiciel est basé sur un système d'apprentissage par réseaux neuronaux artificiels (RNA) développés par Denis Dollfus (Dollfus *et al.*, 1997; Dollfus et Beaufort, 1999) qui seront étoffés de modules parallèles (Beaufort et Dollfus, 2004).

La dernière version utilise des RNA entraînés sur une base de données d'une dizaine de coccolithes du Plio-Pléistocène. Le système intègre aussi la segmentation des images de champ de vue (**Figure 3-24**). Les images d'individus sont soumises à un prétraitement avant d'être soumises au RNA lors de l'apprentissage et de la classification ; elles sont notamment converties en noir et blanc si nécessaire et réduites en 64*64 pixels (**Figure 3-25**).

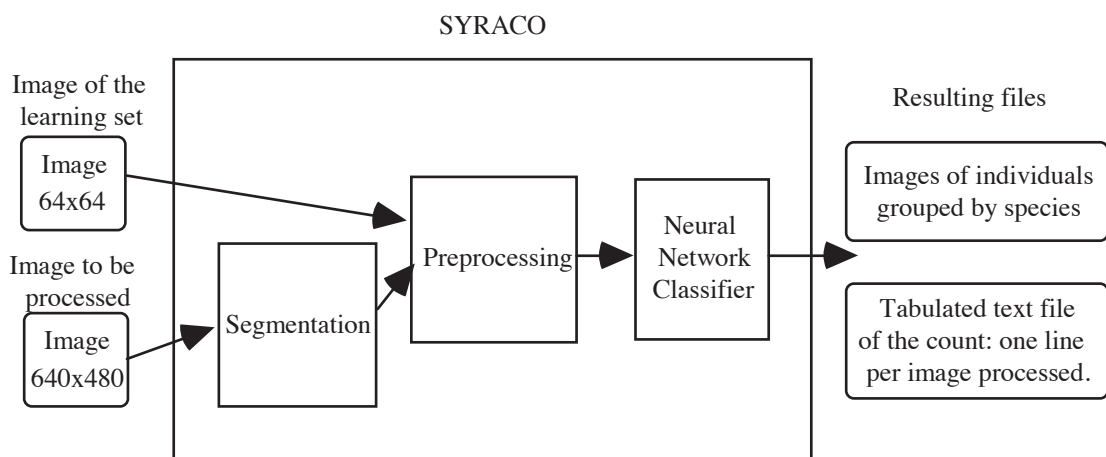


Figure 3-24. Schéma des processus de SYRACO pour des images 8-bits. Les images subissent un traitement afin d'être appropriées pour les classifieurs RNA (**Figure 3-25**). En sortie, les images sont classées par groupes dans des mosaïques d'images et dans un fichier texte listant le nombre d'identifications. D'après Dollfus et Beaufort (1999).

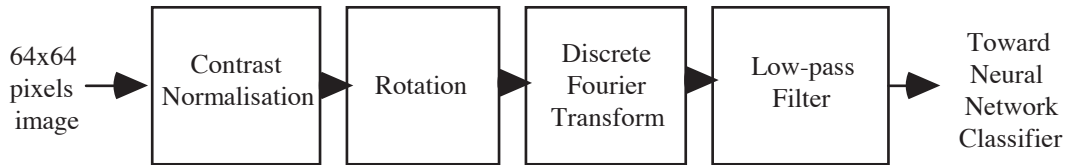


Figure 3-25. Schéma des différents traitements des images avant d'être soumises aux RNA. D'après Dollfus et Beaufort (1999).

La classification est basée sur une hiérarchie neuronale multicouche unique en son genre qui extrait ses propres caractéristiques morphologiques ou patterns lors de l'entraînement (**Figure 3-26**). Ce RNA est appelé « *Fat Neural Network* » car il génère une énorme quantité de données descriptives : environ 800 000 paramètres libres (Dollfus et Beaufort, 1999). La principale hiérarchie est le module VISION (**Figure 3-26**) qui compresse les informations des images en une probabilité d'appartenance à chaque groupe entre -1 et +1. La classe est déterminée par le neurone qui a la plus forte activité. Ce module est complété par des sous-modules MOTEURS où les images subissent de multiples transformations (translation, rotation, symétrie, contraste et dilatation **Figure 3-27**). Ces modules permettent de contrebalancer les problèmes dus aux agrégats et aux débris accolés aux coccolithes en observant le même objet dans différentes positions.

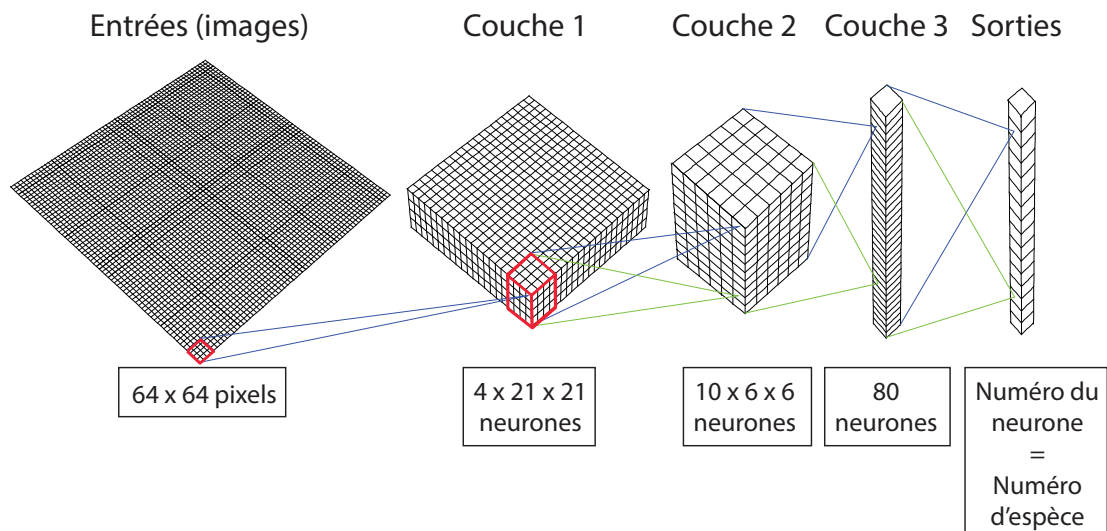


Figure 3-26. Architecture des réseaux de neurones du module VISION, désigné sous le nom de « *Fat Neural Network* ». Chaque cube représente un neurone. Les lignes représentent l'étendue des entrées pour chaque neurone. Chaque colonne contient les neurones qui ont la même zone de réception en entrée mais avec différents poids. Modifié d'après Beaufort et Dollfus (2004).

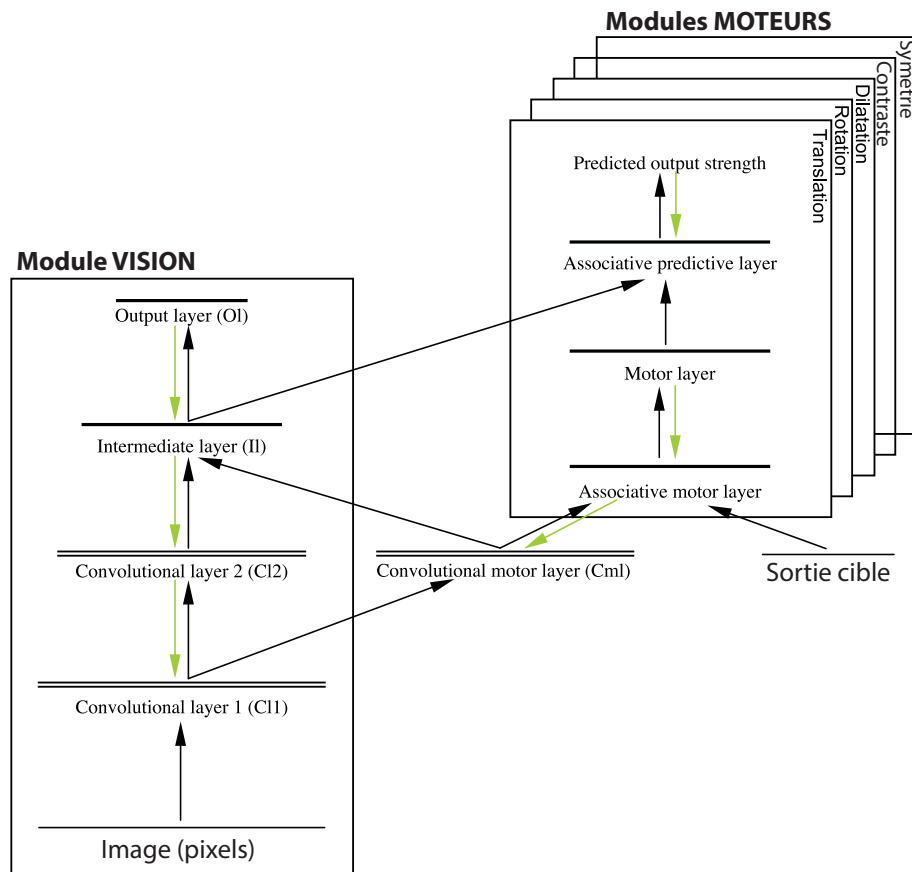


Figure 3-27. Schéma complet des réseaux de neurones parallèles. Avec, à gauche le module VISION détaillé **Figure 3-26**, et à droite les modules MOTEURS. Les flèches représentent les connexions entre les couches propageant les informations vers le haut (en noir) ou vers le bas (en vert). Modifié d'après [Beaufort et Dollfus \(2004\)](#)

Cette dernière version a un bon taux de reconnaissance moyen de 66 % mais garde encore trop de faux-positifs en proportion (37 %). Ses réseaux de neurones n'ont appris qu'une dizaine d'espèces du Pléistocène, limitant son utilisation.

Les méthodes mathématiques de classification ne sont qu'un élément d'un système de reconnaissance automatique. Une fois entraînées et optimisées, elles devront classer des milliers d'images de nannofossiles et d'objets hétéroclites. L'autre élément essentiel est le traitement des images qui seront soumises à la classification. Cette étape en amont est un ensemble de processus de morphologies mathématiques qui ont lieu à différents niveaux, de la segmentation des images de champs de vue au calcul de la masse des nannofossiles.

« Les mathématiques sont un outil que l'esprit de l'homme ne cesse de construire et de perfectionner afin de comprendre le monde. »

Jean-Michel Bony, rapporté par A. Moatti

Références citées

- Andrews, J.T., Giraudeau, J., 2003. Multi-proxy records showing significant Holocene environmental variability: the inner N, Iceland shelf (Hunafloi). *Quaternary Science Reviews* 22, 175-193.
- Andrulleit, H., 1996. A filtration technique for quantitative studies of coccoliths. *Micropalaeontology* 42, 403-406.
- Andrulleit, H., 1997. Coccolithophore fluxes in the Norwegian-Greenland Sea: Seasonality and assemblage alterations. *Marine Micropalaeontology* 31, 45-64.
- Andrulleit, H., Baumann, K.H., 1998. History of the last deglaciation and holocene in the Nordic Seas as revealed by coccolithophore assemblages. *Marine Micropalaeontology* 35, 179-201.
- Andrulleit, H., Rogalla, U., 2002. Coccolithophores in surface sediments of the Arabian Sea in relation to environmental gradients in surface waters. *Mar. Geol.* 31, 1-22.
- Aubry, M.-P., 2013. *Handbook of Cenozoic Calcareous Nannoplankton*. Micropalaeontology Press, p.
- Aubry, M.P., 2009. A sea of Lilliputians. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 284, 88-113.
- Aubry, M.P., Bord, D., Beaufort, L., Kahn, A., Boyd, S., 2005. Trends in size changes in the coccolithophorids, calcareous nannoplankton, during the Mesozoic: A pilot study. *Micropalaeontology* 51, 309-318.
- Aubry, M.P., Rodriguez, O., Bord, D., Godfrey, L., Schmitz, B., Knox, R.W.O., 2012. The first radiation of the Fasciculiths: morphologic adaptations of the coccolithophores to oligotrophy. *Austrian Journal of Earth Sciences* 105, 29-38.
- Bach, L.T., Bauke, C., Meier, K.J.S., Riebesell, U., Schulz, K.G., 2012. Influence of changing carbonate chemistry on morphology and weight of coccoliths formed by *Emiliana huxleyi*. *Biogeosciences* 9, 3449-3463.
- Balch, W.M., Holligan, P.M., Kilpatrick, K.A., 1992. Calcification, photosynthesis and growth of the bloom-forming coccolithophore, *Emiliana huxleyi*. *Cont. Shelf Res.* 12, 1353-1374.
- Bard, E., Rostek, F., Sonzogni, C., 1997. Interhemispheric synchrony of the last deglaciation inferred from alkenone palaeothermometry. *Nature* 385, 707-710.
- Bates, N.R., Michaels, A.F., Knap, A.H., 1996. Alkalinity changes in the Sargasso Sea: Geochemical evidence of calcification? *Mar. Chem.* 51, 347-358.
- Baumann, K.-H., Andrulleit, H., Böckel, B., Geisen, M., Kinkel, H., 2005. The significance of extant coccolithophores as indicators of ocean water masses, surface water temperature, and palaeoproductivity: a review. *Paläontologische Zeitschrift* 79, 93-112.
- Baumann, K.H., Bockel, B., Frenz, M., 2004. Coccolith contribution to south Atlantic carbonate sedimentation. Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact, 367-402.
- Baumann, K.H., Cepek, M., Kinkel, H., 1999. Coccolithophores as indicators of ocean water masses, surface water temperature, and paleoproductivity: Example from the South Atlantic, dans: Fisher, G., Wefer, G. (Eds.), *Use of proxies in paleoceanography: Exemples from the South Atlantic*. Springer-Verlag, Heidelberg, p. 117-144.
- Beaufort, L., 1991. Adaptation of the random settling method for quantitative studies of calcareous nannofossils. *Micropalaeontology* 37, 415-418.
- Beaufort, L., 2005. Weight estimates of coccoliths using the optical properties (birefringence) of calcite. *Micropalaeontology* 51, 289-297.
- Beaufort, L., de Garidel-Thoron, T., Mix, A.C., Piasias, N.G., 2001. ENSO-like forcing on oceanic primary production during the Late Pleistocene. *Science* 293, 2440-2444.
- Beaufort, L., Heussner, S., 1999. Coccolithophorids on the continental slope of the Bay of Biscay - production, transport and contribution to mass fluxes. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 46, 2147-2174.
- Beaufort, L., Heussner, S., 2001. Seasonal dynamics of calcareous nannoplankton on a West European continental margin: the Bay of Biscay. *Marine Micropalaeontology* 43, 27-55.
- Beaufort, L., Lancelot, Y., Camberlin, P., Cayre, O., Vincent, E., Bassinot, F., Labeyrie, L., 1997. Insolation cycles as a major control equatorial Indian Ocean primary production. *Science* 278, 1451-1454.
- Beaufort, L., Probert, I., de Garidel-Thoron, T., Bendif, E.M., Ruiz-Pino, D., Metzl, N., Goyet, C., Buchet, N., Coupel, P., Grelaud, M., Rost, B., Rickaby, R.E.M., de Vargas, C., 2011. Sensitivity of coccolithophores to carbonate chemistry and ocean acidification. *Nature* 476, 80-83.
- Beltran, C., de Rafélis, M., Person, A., Stalport, F., Renard, M., 2009. Multiproxy approach for determination of nature and origin of carbonate micro-particles so-called "micarb" in pelagic sediments. *Sedimentary Geology* 213, 64-76.
- Berger, W.H., Roth, P.H., 1975. *Oceanic Micropalaeontology - Progress and Prospect*. *Rev. Geophys.* 13, 561-585.
- Berggren, W.A., Hilgen, F.J., Langereis, C.G., Kent, D.V., Obradovich, J.D., Raffi, I., Raymo, M.E., Shackleton, N.J.,

- 1995a. Late Neogene chronology - New perspectives in high-resolution stratigraphy. *Geol. Soc. Am. Bull.* 107, 1272-1287.
- Berggren, W.A., Kent, D.V., Swisher, C.C., Aubry, M., 1995b. A revised cenozoic geochronology and chronostratigraphy. *SEPM Special Publication* 54, 129-212.
- Billard, C., Inouye, I., 2004. What is new in coccolithophore biology?, dans: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer, p. 1-29.
- Bollmann, J., 1997. Morphology and biogeography of *Gephyrocapsa* coccoliths in Holocene sediments. *Marine Micropaleontology* 29, 319-350.
- Bollmann, J., 2013. Technical Note: Weight approximation of single coccoliths inferred from retardation estimates using a light microscope equipped with a circular polariser – (the CPR Method). *Biogeosciences Discuss.* 10, 11155-11179.
- Bollmann, J., Brabec, B., Cortes, M.Y., Geisen, M., 1999. Determination of absolute coccolith abundances in deep-sea sediments by spiking with microbeads and spraying (SMS-method). *Marine Micropaleontology* 38, 29-38.
- Bollmann, J., Henderiks, J., Brabec, B., 2002. Global calibration of *Gephyrocapsa* coccolith abundance in Holocene sediments for paleotemperature assessment. *Paleoceanography* 17.
- Bolton, C.T., Gibbs, S.J., Wilson, P.A., 2010. Evolution of nutricline dynamics in the equatorial Pacific during the late Pliocene. *Paleoceanography* 25, PA1207.
- Bolton, C.T., Stoll, H.M., Mendez-Vicente, A., 2012. Vital effects in coccolith calcite: Cenozoic climate-pCO₂ drove the diversity of carbon acquisition strategies in coccolithophores? *Paleoceanography* 27.
- Bordiga, M., Beaufort, L., Cobianchi, M., Lupi, C., Mancin, N., Luciani, V., Pelosi, N., Sprovieri, M., 2013. Calcareous plankton and geochemistry from the ODP site 1209B in the NW Pacific Ocean (Shatsky Rise): New data to interpret calcite dissolution and paleoproductivity changes of the last 450 ka. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 371, 93-108.
- Bown, P.R., 1998. *Calcareous Nannofossil Biostratigraphy*. Chapman and Hall, Dordrecht, 328 p.
- Bown, P.R., 2001. 2. Cenozoic Calcareous Nannofossil Biostratigraphy, ODP Leg 198 Site 1208 (Shatsky Rise, Northwest Pacific Ocean), dans: Bralower, T.J., Premoli Silva, I., Malone, M.J. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*. Ocean Drilling Program, College Station, TX, p. 1-44.
- Bown, P.R., Burnett, J.A., Gallagher, L.T., 1991. Critical events in the evolutionary history of calcareous Nannoplankton. *Historical Biology* 5, 279-290.
- Bown, P.R., Cooper, M.K.E., Lord, A.R., 1988. A calcareous nannofossil biozonation scheme for the early to mid Mesozoic. *Newsl. Stratigr.* 20, 91-114.
- Bown, P.R., Lees, J.A., Young, J.R., 2004. Calcareous nannoplankton evolution and diversity through time, dans: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, p. 481-508.
- Braarud, T., 1954. Coccolith morphology and taxonomie position of *Hymenomonas roseola* Stein and *Syracosphaera* Braarud and Fagerland. *Nytt Magazin fuer Botanik* 3, 1-6.
- Braga, J.C., Riding, R., 2005. Calcareous Algae, dans: Selley, R.C., Cocks, L.R.M., Plimer, I.R. (Eds.), *Encyclopedia of Geology*. Elsevier, p. 428-436.
- Bramlette, M.N., Riedel, W.R., 1954. Stratigraphic value of discoasters and some other microfossils related to Recent coccolithophores. *Journal of Paleontology* 28, 385-403.
- Brassell, S.C., Eglinton, G., Marlowe, I.T., Pflaumann, U., Sarnthein, M., 1986. Molecular stratigraphy - a new tool for climatic assessment. *Nature* 320, 129-133.
- Bratbak, G., Wilson, W., Heldal, M., 1996. Viral control or *Emiliania huxleyi* blooms ? *J. Mar. Syst.* 9, 75-81.
- Broerse, A.T.C., Ziveri, P., Van Hinte, J.E., Honjo, S., 2000. Coccolithophore export production, species composition, and coccolith-CaCO₃ fluxes in the NE Atlantic (34°N 21 °W and 48°N 21°W). *Deep Sea Research II* 47, 1877-1906.
- Buitenhuis, E.T., van der Wal, P., de Baar, H.J.W., 2001. Blooms of *Emiliania huxleyi* are sinks of atmospheric carbon dioxide: A field and mesocosm study derived simulation. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 577-587.
- Candelier, Y., Minoletti, F., Probert, I., Hermoso, M., 2013. Temperature dependence of oxygen isotope fractionation in coccolith calcite: A culture and core top calibration of the genus *Calcidiscus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 100, 264-281.
- Craig, D.B., 1961. The Benford plate. *The American Mineralogist*, 46, 757-758.
- Cubillos, J.C., Henderiks, J., Beaufort, L., Howard, W.R., Hallegraef, G.M., 2012. Reconstructing calcification in ancient coccolithophores: Individual coccolith weight and morphology of *Coccolithus pelagicus* (sensu lato). *Marine Micropaleontology* 92-93, 29-39.
- Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., Kleypas, J.A., 2009. Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Annu.*

- Rev. Mar. Sci. 1, 169-192.
- Dudley, W.C., Blackwelder, P., Brand, L., Duplessy, J.C., 1986. Stable Isotopic Composition Of Coccoliths. *Marine Micropaleontology* 10, 1-8.
- Dudley, W.C., Goodney, D.E., 1979. Oxygen Isotope Content Of Coccoliths Grown In Culture. *Deep-Sea Research Part a-Oceanographic Research Papers* 26, 495-503.
- Ehrenberg, C.G., 1836. Bemerkungen über feste mikroskopische anorganische Formen in den erdigen und derben Mineralien. *Bericht. Verh. K. Preuss. Akad. Wiss.*, 84-85.
- Falkowski, P.G., Katz, M.E., Knoll, A.H., Quigg, A., Raven, J.A., Schofield, O., Taylor, F.J.R., 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305, 354-360.
- Fraguas, A., Erba, E., 2010. Biometric analyses as a tool for the differentiation of two coccolith species of the genus *Crepidolithus* (Pliensbachian, Lower Jurassic) in the Basque-Cantabrian Basin (Northern Spain). *Marine Micropaleontology* 77, 125-136.
- Gardin, S., Krystyn, L., Richoz, S., Bartolini, A., Galbrun, B., 2012. Where and when the earliest coccolithophores? *Lethaia* 45, 507-523.
- Gartner, S., Emiliani, C., 1976. Nannofossil Biostratigraphy And Climatic Stages Of Pleistocene Brunhes Epoch. *Aapg Bulletin-American Association of Petroleum Geologists* 60, 1562-1564.
- Gattuso, J.P., Buddemeier, R.W., 2000. Ocean biogeochemistry - Calcification and CO₂. *Nature* 407, 311-313.
- Geisen, M., Billard, C., Broerse, A.T.C., Cros, L., Probert, I., Young, J.R., 2002. Life-cycle associations involving pairs of holococcolithophorid species: intraspecific variation or cryptic speciation ? *Eur. J. Phycol.* 37, 531-550.
- Geisen, M., Bollmann, J., Herrle, J.O., Mutterlose, J., Young, J.R., 1999. Calibration of the random settling technique for calculation of absolute abundances of calcareous nannoplankton. *Micropaleontology* 45, 437-442.
- Geisen, M., Young, J.R., Probert, I., Saez, A.G., Baumann, K.H., Sprengel, C., Bollmann, J., Cros, L., De Vargas, C., Medlin, L.K., 2004. Species level variation in coccolithophores. Springer-Verlag Berlin, Berlin, 327-366 p.
- Geitzenauer, K.R., Roche, M.B., McIntyre, A., 1976. Modern Pacific coccolith assemblages: Derivation and application to Late Pleistocene paleotemperature analysis, dans: Cline, R.M., Hays, J.D. (Eds.), *Investigation of Late Quaternary Paleoceanography and Paleoclimatology*. Geological Society of America, p. 423-448.
- Geitzenauer, K.R., Roche, M.B., McIntyre, A., 1977. Coccolith biogeography from North Atlantic and Pacific surface sediments; a comparison of species distribution and abundances, dans: Ramsay, A.T.S. (Ed.), *Oceanic Micropaleontology*. Academic Press, London, p. 973-1008.
- Giraud, F., Pittet, B., Mattioli, E., Audouin, V., 2006. Paleoenvironmental controls on the morphology and abundance of the coccolith *Watznaueria britannica* (Late Jurassic, southern Germany). *Marine Micropaleontology* 60, 205-225.
- Giraudeau, J., 1992. Distribution of recent nannofossils beneath the Benguela system - Southwest African continental-margin. *Mar. Geol.* 108, 219-237.
- Giraudeau, J., Bailey, G.W., 1995. Spatial dynamics of coccolithophore communities during an upwelling event in the Southern Senguela system. *Cont. Shelf Res.* 15, 1825-&.
- Giraudeau, J., Beaufort, L., 2007. Coccolithophores: From Extant Populations to Fossil Assemblages, dans: Hillaire-Marcel, C., de Vernal, A. (Eds.), *Developments in Marine Geology*. Elsevier, p. 409-439.
- Giraudeau, J., Jennings, A.E., Andrews, J.T., 2004. Timing and mechanisms of surface and intermediate water circulation changes in the Nordic Seas over the last 10,000 cal years: A view from the North Iceland shelf. *Quaternary Science Reviews* 23, 2127-2139.
- Giraudeau, J., Pujos, A., 1990. Fonction de Transfert basée sur les nannofossiles calcaires du Pléistocène des Caraïbes. *Oceanologica Acta* 13, 453-469.
- Giraudeau, J., Rogers, P., 1994. Phytoplankton biomass and sea-surface temperature estimates from sea-bed distribution of nannofossils and planktonic foraminifera in the Benguela upwelling system. *Micropalaeontology* 40, 275-285.
- Gradstein, F.M., Ogg, J.G., Schmitz, M., Ogg, G., 2012. *The Geologic Time Scale 2012*. Elsevier, 1176 p.
- Green, J.C., Jordan, R.W., 1994. Systematic history and taxonomy. *Green J. C. & Leadbeater B. S. C., The Haptophyte Algae, Systematic Association Special* 51, 1-22.
- GREPMA, 1988. Satellite (AVHRR/NOAA-9) and ship studies of a coccolithophorid bloom in the western English channel. *Marine Nature* 1, 1-14.
- Gréselle, B., Pittet, B., Mattioli, E., Joachimski, M., Barbarin, N., Riquier, L., Reboulet, S., Pucéat, E., 2011. The Valanginian isotope event: A complex suite of palaeoenvironmental perturbations. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 306, 41-57.
- Grima, E.M., Sevilla, J.M.F., Perez, J.A.S., Camacho, F.G., 1996. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. *J.*

- Biotechnol. 119, 431-439.
- Guinotte, J.M., Fabry, V.J., 2008. Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems, Year in Ecology and Conservation Biology 2008. Blackwell Publishing, Oxford, p. 320-342.
- Gussone, N., Langer, G., Geisen, M., Steel, B.A., Riebesell, U., 2007. Calcium isotope fractionation in coccoliths of cultured *Calcidiscus leptoporus*, *Helicosphaera carteri*, *Syracosphaera pulchra* and *Umbilicosphaera foliosa*. Earth and Planetary Science Letters 260, 505-515.
- Haidar, A.T., Thierstein, H.R., Deuser, W.G., 2000. Calcareous phytoplankton standing stocks, fluxes and accumulation in Holocene sediments off Bermuda (N. Atlantic). Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography 47, 1907-1938.
- Halloran, P.R., Rust, N., Rickaby, R.E.M., 2009. Isolating coccoliths from sediment for geochemical analysis. Geochemistry, Geophysics, Geosystems 10, Q03001.
- Haq, B.U., 1983. Nannofossil Biostratigraphy, New York, NY, p.
- Haq, B.U., Hardenbol, J., Vail, P.R., 1987. Chronology of Fluctuating Sea Levels Since the Triassic. Science 235, 1156-1167.
- Harris, R.P., 1994. Zooplankton grazing on the coccolithophore *Emiliana huxleyi* and its role in inorganic carbon flux. Marine Biology 119, 431-439.
- Hay, W.W., 1977. Calcareous nannofossils, dans: Ramsay, A.T.S. (Ed.), Oceanic Micropalaeontology 2. Academy Press, London, p. 1055-1200.
- Hay, W.W., 2004. Carbonate fluxes and calcareous nannoplankton, 509-528 p.
- Henderiks, J., Rickaby, E.M., 2007. A coccolithophore concept for constraining the Cenozoic carbon cycle. Biogeosciences 4, 323-329.
- Henderiks, J., Torner, A., 2006. Reproducibility of coccolith morphometry: Evaluation of spraying and smear slide preparation techniques. Marine Micropaleontology 58, 207-218.
- Henriksson, A.S., 2000. Coccolithophore response to oceanographic changes in the equatorial Atlantic during the last 200,000 years. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 156, 161-173.
- Herbert, T.D., 2003. Alkenone paleotemperature determinations, dans: Elderfield, H. (Ed.), Treatise on Geochemistry. Elsevier, p. 391-432.
- Herrle, J.O., Bollmann, J., 2004. Accuracy and reproducibility of absolute nannoplankton abundances using the filtration technique in combination with a rotary sample splitter. Marine Micropaleontology 53, 389-404.
- Hibberd, D.J., 1976. The ultrastructure and taxonomy of the Chrysophyceae and Prymnesiophyceae (Haptophyceae): a survey with some new observations on the ultrastructure of the Chrysophyceae. Botanical Journal of the Linnean Society 72, 55-80.
- Higgins, M.D., 2010. Imaging birefringent minerals without extinction using circularly polarized light. Canadian Mineralogist 48, 231-235.
- Holligan, P.M., Fernandez, E., Aiken, J., Balch, W.M., Boyd, P.W., Burkill, P.H., Finch, M., Groom, S.B., Malin, G., Muleer, K., Purdie, D.A., Robinson, C., Trees, C.C., Turner, S.M., Vanderwal, P., 1993. A biogeochemical study of the coccolithophore, *Emiliana huxleyi*, in the North Atlantic. Global Biogeochemical Cycles 7, 879-900.
- Holligan, P.M., Viollier, M., Harbour, D.S., Camus, P., Champagnephilippe, M., 1983. Satellite and ship studies of coccolithophore production along a continental-shelf edge. Nature 304, 339-342.
- Honjo, S., 1976. Coccoliths: Production, transportation and sedimentation. Marine Micropaleontology 1, 65-79.
- Honjo, S., 1996. Fluxes of particles to the interior of the open oceans, dans: Ittekkot, V., Schäfer, P., Honjo, S. (Eds.), Particle flux in the ocean. John Wiley & Sons, Chichester, p. 91-154.
- Iglesias-Rodriguez, M.D., Halloran, P.R., Rickaby, R.E.M., Hall, I.R., Colmenero-Hidalgo, E., Gittins, J.R., Green, D.R.H., Tyrrell, T., Gibbs, S.J., von Dassow, P., Rehm, E., Armbrust, E.V., Boessenkool, K.P., 2008. Phytoplankton calcification in a high-CO₂ world. Science 320, 336-340.
- Inouye, I., 1997. Systematics of haptophyte algae in Asia-Pacific waters. Algae (The Korean J. of Phycol.) 12, 247-261.
- Israel, A.A., Gonzalez, E.L., 1996. Photosynthesis and inorganic carbon utilization in *Pleurochrysis* sp. (Haptophyta), a coccolithophorid alga. Mar. Ecol. Progr. Ser. 137, 243-250.
- Jafar, S.A., 1983. Significance of Late Triassic calcareous nannoplankton from Austria and southern Germany. Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie 166, 218-259.
- Jordan, R.W., Chamberlain, A.H.L., 1997. Biodiversity among haptophyte algae. Biodiversity and Conservation 6, 131-152.
- Kinkel, H., Baumann, K.H., Cepek, M., 2000. Coccolithophores in the equatorial Atlantic Ocean: response to seasonal and late quaternary surface water variability. Marine Micropaleontology 39, 87-112.
- Kleijne, A., 1993. Morphology, taxonomy and distribution of extant coccolithophorids (calcareous

- nannoplankton). Ph.D. Thesis, Vrije Universiteit, Amsterdam, p. 321.
- Knappertsbusch, M., Brummer, G.J.A., 1995. A sediment trap investigation of sinking coccolithophorids in the North Atlantic. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 42, 1083-1109.
- Knappertsbusch, M., Cortes, M.Y., Thierstein, H.R., 1997. Morphologic variability of the coccolithophorid *Calcidiscus leptoporus* in the plankton, surface sediments and from the Early Pleistocene. *Marine Micropaleontology* 30, 293-317.
- Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R.N., Singh, G.G., 2011. Response to technical comment on 'meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms'. *Ecol. Lett.* 14, E1-E2.
- Langer, G., Geisen, M., Baumann, K.-H., Kläs, J., Riebesell, U., Thoms, S., Young, J.R., 2006. Species-specific responses of calcifying algae to changing seawater carbonate chemistry. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 7, 1-12.
- Lecourt, M., Muggli, D.L., Harrison, P.J., 1996. Comparison of growth and sinking rates of non-coccolith and coccolith forming strains of *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) grown under different irradiances and nitrogen sources. *J. Phycol.* 32, 17-21.
- Lloyd, G.T., Smith, A.B., Young, J.R., 2011. Quantifying the deep-sea rock and fossil record bias using coccolithophores. *Geological Society, London, Special Publications* 358, 167-177.
- Lloyd, G.T., Young, J.R., Smith, A.B., 2012. Comparative quality and fidelity of deep-sea and land-based nanofossil records. *Geology* 40, 155-158.
- Lohmann, H., 1909. Die Gehäuse und Gallertblase n der Appendicularien und ihre Bedeutung für die Erforschung des Lebens im Meer. *Verhandlungen Deutsche Zoologische Gesellschaft.* 19, 200-239.
- Lord, A.R., 1982. A Stratigraphical index of calcareous nanofossils. Ellis Horwood, Chichester, West Sussex; New York, N.Y., p.
- Mackinder, L., Wheeler, G., Schroeder, D., Riebesell, U., Brownlee, C., 2010. Molecular Mechanisms Underlying Calcification in Coccolithophores. *Geomicrobiology Journal* 27, 585-595.
- Manton, I., Peterfi, L.S., 1969. Observations on the fine structure of coccoliths, scales and the protoplast of a freshwater coccolithophorid, *Hymenomaus roseola* Stein, with supplementary observations on the protoplast of *Criosphæra carierae*. *Proceedings of the Royal Society B172*, 1-115.
- Martini, E., 1971. Standard Tertiary and Quaternary calcareous nannoplankton zonation, dans: Farinacci, A. (Ed.), *Proceedings of the Second Planktonic Conference Roma 1970*, Edizioni Tecnoscienza ed, Rome, p. 739-785.
- Mattioli, E., Pittet, B., 2002. Contribution of calcareous nannoplankton to carbonate deposition: a new approach applied to the Lower Jurassic of central Italy. *Marine Micropaleontology* 45, 175-190.
- Mattioli, E., Pittet, B., Young, J.R., Bown, P.R., 2004. Biometric analysis of Pliensbachian-Toarcian (Lower Jurassic) coccoliths of the family Biscutaceae: intra- and interspecific variability versus palaeoenvironmental influence. *Marine Micropaleontology* 52, 5-27.
- McIntyre, A., Allan, W.H., Roche, M.B., 1970. Modern Pacific Coccolithophoride: a paleontological thermometer. *Transactions of the New York Academy of Sciences* 32, 720-731.
- McIntyre, A., Bé, A.W.H., 1967. Modern coccolithophoridae of the Atlantic Ocean - I. Placoliths and Cyrtoliths. *Deep Sea Research*, 561-597.
- McIntyre, A., McIntyre, R., 1970. Coccolith concentration and differential solution in oceanic sediments, dans: Funnel, B.M., Riedel, W.R. (Eds.), *Micropaleontology of the Oceans*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 253-261.
- Meyers, P.A., 1997. Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry* 27, 213-250.
- Michel-Lévy, A., Lacroix, A., 1888. *Les minéraux des roches*. Baudry et cie, 334 p.
- Minoletti, F., Gardin, S., Nicot, E., Renard, M., Spezzaferri, S., 2001. A new experimental protocol for granulometric separation of calcareous nanofossils assemblages: paleoecological and geochemical applications. *Bulletin De La Societe Geologique De France* 172, 437-446.
- Minoletti, F., Hermoso, M., Gressier, V., 2009. Separation of sedimentary micron-sized particles for palaeoceanography and calcareous nannoplankton biogeochemistry. *Nature Protocols* 4, 14-24.
- Molfino, B., Kipp, N.G., Morley, J.J., 1982. Comparison of foraminiferal, coccolithophorid, and radiolarian temperature equations: Assemblages coherency and estimates concordancy. *Quaternary Research* 17, 279-313.
- Molfino, B., McIntyre, A., 1990. Precessional forcing of nutricline dynamics in the equatorial Atlantic. *Science* 249, 766-769.
- Muller, P.J., Kirst, G., Ruhland, G., von Storch, I., Rosell-Mele, A., 1998. Calibration of the alkenone paleotemperature index U-37(K') based on core-tops from the eastern South Atlantic and the global ocean (60 degrees N-60 degrees S). *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 62, 1757-1772.

- Munnecke, A., Servais, T., 2008. Palaeozoic calcareous plankton: evidence from the Silurian of Gotland. *Lethaia* 41, 185-194.
- Nanninga, H.J., Tyrrell, T., 1996. Importance of light for the formation of algal blooms by *Emiliana huxleyi*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 136, 195-203.
- Nielsen, M.V., 1997. Growth, dark respiration and photosynthetic parameters of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) acclimated to different day length-irradiance combinations. *J. Phycol.* 33.
- Nimer, N.A., Merret, M.J., 1993. Calcification rate in *Emiliana huxleyi* Lohmann in response to light, nitrate and availability of inorganic carbon. *New Phytol.* 123, 673-677.
- Okada, H., 1992. Use of microbeads to estimate the absolute abundance of nanofossils. *INA Newsletter* 13, 96-97.
- Okada, H., Bukry, D., 1980. Supplementary modification and introduction of code numbers to the low-latitude coccolith biostratigraphic zonation (Bukry, 1973; 1975). *Marine Micropaleontology* 5, 321-325.
- Okada, H., Honjo, S., 1973. The distribution of oceanic coccolithophorids in the Pacific. *Deep Sea Research*, 355-374.
- Paasche, E., 1999. Reduced coccolith calcite production under light-limited growth: a comparative study of three clones of *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae). *Phycologia* 38, 508-516.
- Paasche, E., 2001. A review of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae), with particular reference to growth, coccolith formation, and calcification-photosynthesis interactions. *Phycologia* 40, 503-529.
- Parke, M., Adams, I., 1960. The motile (*Crystallolithus hyalinus* Gaarder and Markali) and non-motile phases in the life history of *Coccolithus pelagicus* (Wallich) Schiller/. *Journal of the Marine Sea Research* 39, 263-274.
- Paull, C.K., Hills, S.J., Thierstein, H.R., 1988. Progressive dissolution of fine carbonate particles in pelagic sediments. *Mar. Geol.* 81, 27-40.
- Perch-Nielsen, K., 1985a. Cenozoic calcareous nanofossils, dans: Bolli, H.M., Saunders, J.B., Perch-Nielsen, K. (Eds.), *Plankton Stratigraphy*. Cambridge University press, Cambridge, p. 427-554.
- Perch-Nielsen, K., 1985b. Mesozoic calcareous nanofossils, dans: Bolli, H.M., Saunders, J.B., Perch-Nielsen, K. (Eds.), *Plankton Stratigraphy*. Cambridge University press, Cambridge, p. 427-554.
- Pienaar, R.N., 1994. Ultrastructure and calcification of coccolithophores, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 13-37.
- Pond, D., Harris, R.P., Brownlee, C., 1995. A microinjection technique using a pH-sensitive dye to determine the gut pH of *Calanus helgolandicus*. *Mar. Biol.* 123, 75-79.
- Prahl, F.G., Wakeham, S.G., 1987. Calibration of unsaturation patterns in long-chain ketone compositions for paleotemperature assessment. *Nature* 330, 367-369.
- Prins, B., 1967. Evolution and stratigraphy of coccolithinids from Lower and Middle Lias, dans: Brönnimann, P., Renz, H.H. (Eds.), *First International Conference on Planktonic Microfossils*, Geneva, p. 547-558.
- Quinn, P.S., Cortes, M.Y., Bollmann, J., 2005. Morphological variation in the deep ocean-dwelling coccolithophore *Florisphaera profunda* (Haptophyta). *Eur. J. Phycol.* 40, 123-133.
- Raffi, I., Backman, J., Fornaciari, E., Palike, H., Rio, D., Lourens, L., Hilgen, F., 2006. A review of calcareous nanofossil astrobiochronology encompassing the past 25 million years. *Quaternary Science Reviews* 25, 3113-3137.
- Rickaby, R.E.M., Henderiks, J., Young, J.N., 2010. Perturbing phytoplankton: response and isotopic fractionation with changing carbonate chemistry in two coccolithophore species. *Climate of the Past* 6, 771-785.
- Riebesell, U., Zondervan, I., Rost, B., Tortell, P.D., Zeebe, R.E., Morel, F.M.M., 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature* 407, 364-367.
- Riegman, R., Stolte, W., Noordeloos, A.A.M., Slezak, D., 2000. Nutrient uptake and alkaline phosphatase (EC 3: 1:3: 1) activity of *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae) during growth under N and P limitation in continuous cultures. *J. Phycol.* 36, 87-96.
- Ronov, A.B., 1994. Phanerozoic transgressions and regressions on the continents; a quantitative approach based on areas flooded by the sea and areas of marine and continental deposition. *Am. J. Sci.* 294, 777-801.
- Rost, B., Riebesell, U., 2004. *Coccolithophores and the biological pump: Responses to environmental changes*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, 99-125 p.
- Rostek, F., Ruhland, G., Bassinot, F.C., Muller, P.J., Labeyrie, L.D., Lancelot, Y., Bard, E., 1993. Reconstructing sea-surface temperature and salinity using delta-¹⁸O and alkenone records. *Nature* 364, 319-321.
- Roth, P.H., 1989. Ocean circulation and calcareous nanoplankton evolution during the Jurassic and Cretaceous. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 74, 111-126.

- Roth, P.H., 1994. Distribution of coccoliths in oceanic sediments. Winter A. & Siesser W. G. - Coccolithophores, 199-218.
- Saavedra-Pellitero, M., Flores, J.A., Lamy, F., Sierro, F.J., Cortina, A., 2011. Coccolithophore estimates of paleotemperature and paleoproductivity changes in the southeast Pacific over the past similar to 27 kyr - art. no. PA1201. *Paleoceanography* 26, A1201-A1201.
- Sáez, A.G., Probert, I., Geisen, M., Quinn, P., Young, J.R., Medlin, L.K., 2003. Pseudo-cryptic speciation in coccolithophores. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 7163-7168.
- Samtleben, C., Bickert, T., 1990. Coccoliths in sediment traps from the Norwegian Sea. *Marine Micropaleontology* 16, 39-64.
- Schneidermann, N., 1977. Selective dissolution of recent coccoliths in the Atlantic Ocean, dans: Ramsay, A.T.S. (Ed.), *Oceanic Micropaleontology*. Academic Press, London, p. 1009-1053.
- Siesser, W.G., 1993. Calcareous nannoplankton, dans: Lipps, J.H. (Ed.), *Fossil Prokaryotes and Protists*. Blackwell Scientific Publications, Boston, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna, p. 169-201.
- Sissingh, W., 1977. Biostratigraphy of Cretaceous calcareous nannoplankton. *Geologie en Mijnbouw* 56, 37-65.
- Sørensen, B.E., 2013. A revised Michel-Lévy interference colour chart based on first-principles calculations. *European Journal of Mineralogy* 25, 5-10.
- Spencer-cervato, C., 1999. The Cenozoic Deep-Sea Microfossil record: Explorations of the DSDP/ODP sample set using the Neptune Database. *Paleontologica Electronica*.
- Stanley, S.M., Hardie, L.A., 1998. Secular oscillations in the carbonate mineralogy of reef-building and sediment-producing organisms driven by tectonically forced shifts in seawater chemistry. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 144, 3-19.
- Stanley, S.M., Hardie, L.A., 1999. Hypercalcification: paleontology links plate tectonics and geochemistry to sedimentology. *GSA Today* 9(2), 1-7.
- Steinmetz, J.C., 1994. Sedimentation of coccolithophores, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 179-198.
- Stoll, H.M., Ziveri, P., 2002. Separation of monospecific and restricted coccolith assemblages from sediments using differential settling velocity. *Marine Micropaleontology* 46, 209-221.
- Suan, G., Mattioli, E., Pittet, B., Mailliot, S., Lecuyer, C., 2008. Evidence for major environmental perturbation prior to and during the Toarcian (Early Jurassic) oceanic anoxic event from the Lusitanian Basin, Portugal. *Paleoceanography* 23, 14.
- Tappan, H., 1980. *The paleobiology of plant protists*. W. H. Freeman & Co, San Francisco, 1028 p.
- Taylor, R.J., Hamilton, G.B., 1982. Techniques, dans: Lord, A.R. (Ed.), *A Stratigraphical Index of Calcareous Nannofossils*. Ellis Horwood Limited, Chichester, p. 11-15.
- Thierstein, H.R., Cortes, M.Y., Haidar, A.T., 2004. Plankton community behavior on ecological and evolutionary time-scales: when models confront evidence, dans: Thierstein, H.R., Young, A.J. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer, p. 455-480.
- Thierstein, H.R., Geitzenauer, K.R., Molfino, B., 1977. Global Synchronicity Of Late Quaternary Coccolith Datum Levels - Validation By Oxygen Isotopes. *Geology* 5, 400-404.
- Tortell, P.D., DiTullio, G.R., Sigman, D.M., Morel, F.o.M.M., 2002. CO₂ effects on taxonomic composition and nutrient utilization in an Equatorial Pacific phytoplankton assemblage. *Marine Ecology Progress Series* 236, 37-43.
- Tremolada, F., Erba, E., Bralower, T.J., 2006. Late Barremian to early Aptian calcareous nannofossil paleoceanography and paleoecology from the Ocean Drilling Program Hole 641C (Galicia Margin). *Cretaceous Research* 27, 887-897.
- Tyrrell, T., Taylor, A.H., 1996. A modeling study of *Emiliana huxleyi* in the NE Atlantic. *J. Mar. Syst.* 9, 83-112.
- Vanderwal, P., Kempers, R.S., Veldhuis, M.J.W., 1995. Production and downward flux of organic-matter and calcite in a north-sea bloom of the coccolithophore *Emiliana-huxleyi*. *Marine Ecology Progress Series* 126, 247-265.
- Volk, T., Hoffert, M.I., 1985. Ocean carbon pumps: analysis of relative strengths and efficiencies in ocean-driven atmospheric CO₂ changes, dans: Sundquist, E.T., Broecker, W.S. (Eds.), *The Carbon Cycle and Atmospheric CO₂: Natural Variations Archean to Present*. American Geophysical Union Geophysical Monography, Washington, DC, p. 99-111.
- Volkman, J.K., Barrett, S.M., Blackburn, S.I., Sikes, E.L., 1995. Alkenones In *Gephyrocapsa-Oceanica* - Implications For Studies Of Paleoclimate. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 59, 513-520.
- Westbroek, P., Brown, C.W., Vanbleijswijk, J., Brownlee, C., Brummer, G.J., Conte, M., Egge, J., Fernandez, E., Jordan, R., Knappertsbusch, M., Stefels, J., Veldhuis, M., Vanderwal, P., Young, J., 1993. A Model System

- Approach to Biological Climate Forcing - the Example of *Emiliana Huxleyi*. *Global and Planetary Change* 8, 27-46.
- Wilson, W.H., Tarran, G., Zubkov, M.V., 2002. Virus dynamic• in a coccolithophore-dominated bloom in the North Sea. *Deep Sea Research* 49, 2951-2963.
- Winter, A., Jordan, R.W., Roth, P.H., 1994. Biogeography of living coccolithophores in ocean waters, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 161-177.
- Winter, A., Siesser, W.G., 1994. *Coccolithophores*. Cambridge University Press, New-York, p. 242.
- Young, A.J., Henriksen, K., Probert, I., 2004. Structure and morphogenesis of the coccoliths of the CODENET species, dans: Thierstein, H.R., Young, A.J. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer, p. 191-216.
- Young, J., Bergen, J.A., Bown, P.R., Burnett, J.A., Fiorentino, A., Jordan, R.W., Kleijne, A., van Niel, B.E., Ton Romein, A.J., Von Salis, K., 1997. Guidelines for coccolith and calcareous nannofossil terminology. *Palaeontology* 40, 875-912.
- Young, J., Bown, P.R., 1997. Cenozoic calcareous nannoplankton classification. *Journal of Nannoplankton Research* 19, 36-47.
- Young, J.R., 1994a. Functions of coccoliths, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*, p. 63-82.
- Young, J.R., 1994b. Variation in *Emiliana huxleyi* coccolith morphology in samples from the Norwegian EHUX experiment. *Sarsia*, 417-425.
- Young, J.R., Davis, S.A., Bown, P.R., Mann, S., 1999. Coccolith ultrastructure and biomineralisation. *J. Struct. Biol.* 126, 195-215.
- Young, J.R., Geisen, M., Probert, I., 2005. Review of selected aspects of coccolithophore biology with implications for paleobiodiversity estimation. *Micropaleontology* 51, 267-288.
- Young, J.R., Henriksen, K., 2003. Biomineralization Within Vesicles: The Calcite of Coccoliths. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 54, 189-215.
- Young, J.R., Ziveri, P., 2000. Calculation of coccolith volume and its use in calibration of carbonate flux estimates. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 47, 1679-1700.
- Zeebe, R., Wolf-Gladrow, D., 2001. *CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes*. Elsevier, 360 p.
- Ziveri, P., Baumann, K.H., Boeckel, B., Bollmann, J., Young, J.R., 2004. Biogeography of selected Holocene coccoliths in the Atlantic Ocean, dans: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores, from molecular processes to global impact*. Springer-Verlag, Berlin,, p. 403-428.
- Ziveri, P., Broerse, A.T.C., Van Hinte, J.E., Westbroek, P., Honjo, S., 2000. The fate of coccoliths at 48°N 21°W, northeastern Atlantic. *Deep Sea Research II* 47, 1853-1876.
- Ziveri, P., Stoll, H., Probert, I., Klass, C., Geisen, M., Ganssen, G., Young, J., 2003. Stable isotope 'vital effects in coccolith calcite. *Earth and Planetary Science Letters* 210, 137-149.
- Zondervan, I., 2007. The effects of light, macronutrients, trace metals and CO₂ on the production of calcium carbonate and organic carbon in coccolithophores - A review. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 54, 521-537.
- Zondervan, I., Zeebe, R.E., Rost, B., Riebesell, U., 2001. Decreasing marine biogenic calcification: A negative feedback on rising atmospheric pCO₂. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 507-516.

4. LE TRAITEMENT DES IMAGES

4.1. LE TRAITEMENT DES IMAGES DE CHAMPS DE VUE

Le traitement d'image fait partie des processus en amont nécessaires au système de reconnaissance automatique : de la prise de photographies à la classification des images. Cette partie exploite et illustre des instruments développés dans le domaine de la morphologie mathématique couramment employés dans le traitement d'images (e. g. Gonzalez and Woods (2007); Najman and Talbot (2008, 2010); Russ (2011)) qui font partie intégrante de SYRACO (cf. chapitre 5).

4.1.1. La combinaison des images avec différentes polarisations

Le développement de polariseurs et d'analyseurs rotatifs et automatisés, montés sur le microscope Leica, permet désormais de prendre des images sous trois angles de polarisations différents (0° , 35° et 45°), sans avoir à manipuler l'échantillon (**Figure 4-1**). Il suffit ensuite de les assembler en une seule image complète en sélectionnant la valeur maximale de chaque pixel qui correspond à une approximation du maximum de biréfringence (**Figure 4-1**).

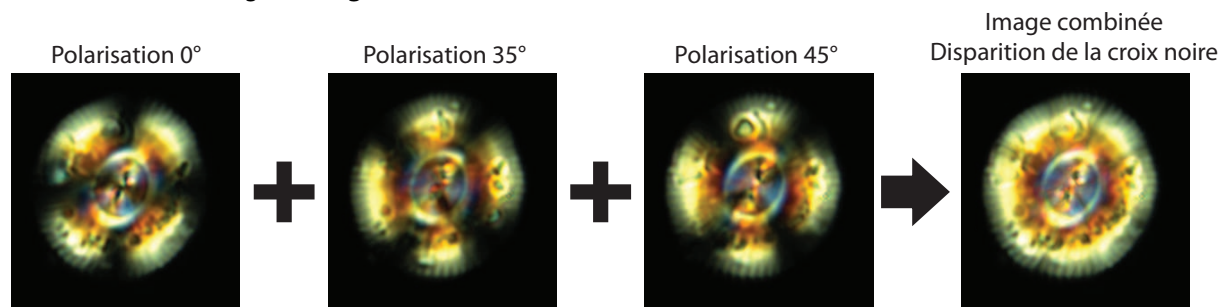


Figure 4-1. Exemple de combinaison des images d'un coccolithe sous plusieurs angles de polarisations différents avec disparition de la croix noire (en exemple *Dictyococcites* sp.).

4.1.2. La segmentation multi-fenêtres

La segmentation consiste à séparer les objets du fond de l'image afin de les étudier individuellement. Il est important que la méthode de seuillage utilisée conserve la forme et le contour des objets. Cela est primordial pour les coccolithes qui possèdent parfois des bordures faiblement lumineuses qui pourraient facilement être tronquées. D'autre part, l'objectif est de récupérer 100 % des objets et de réaliser un tri *a posteriori*, bien qu'un seuil de taille minimum permette de supprimer une partie des débris tout en conservant les coccolithes les plus petits.

Parfois, le fond des photographies des champs de vue présente un halo lumineux plus ou moins prononcé pouvant perturber la segmentation (**Figure 4-2**). Il peut être lié à un manque d'huile d'immersion, une bulle ou une poussière par exemple. La segmentation est réalisée en calculant une valeur de fond pour isoler les objets en calcite potentiellement intéressants (coccolithes, non-coccolithes). Un halo lumineux diffus augmente cette valeur de fond et s'il est calculé sur l'ensemble de l'image, il est alors très probable de perdre des coccolithes peu contrastés/lumineux, tel *Florisphaera profunda* (**Figure 4-3**).

La segmentation multi-fenêtres permet de découper l'image principale en plusieurs sous-fenêtres afin

d'ajuster localement le calcul de la valeur du fond (**Figure 4-4**). On utilise pour notre étude neuf fenêtres pour rester rapide, mais il est possible d'augmenter le nombre de sous-fenêtres. La valeur de fond ou de seuil est calculée de la manière suivante : $Fond = \bar{x} + 10 \times \sqrt{\sigma}$

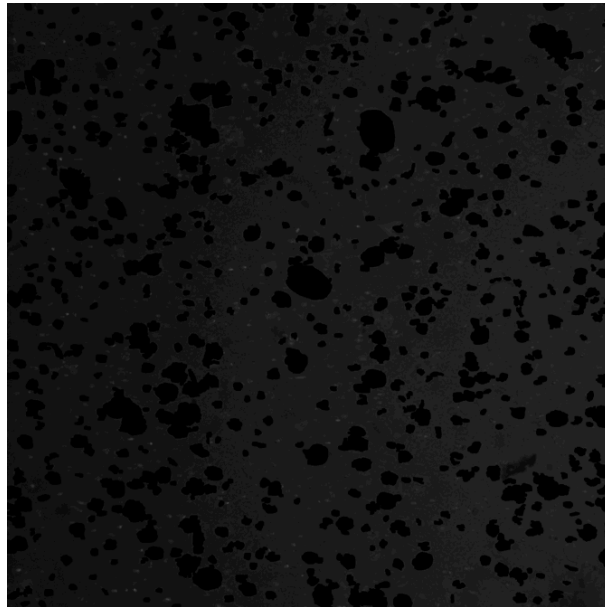


Figure 4-2. Mise en évidence d'un « halo lumineux » léger perturbant le fond de l'image, accentué par un gamma. Les formes noires correspondent aux objets isolés les plus lumineux.

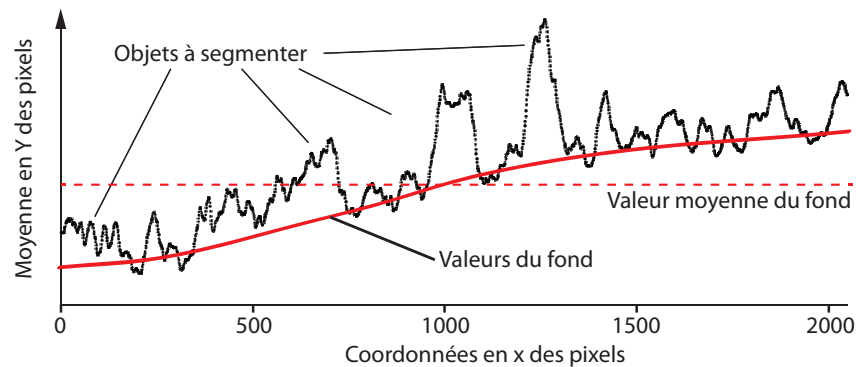


Figure 4-3. Graphique présentant la moyenne de la valeur des pixels en Y en fonction de la position en X de la **Figure 4-2**. La courbe rouge correspond aux valeurs locales de fond et la courbe pointillée à une valeur moyenne sur toute l'image du fond. Une partie des objets seront perdus en utilisant cette dernière.

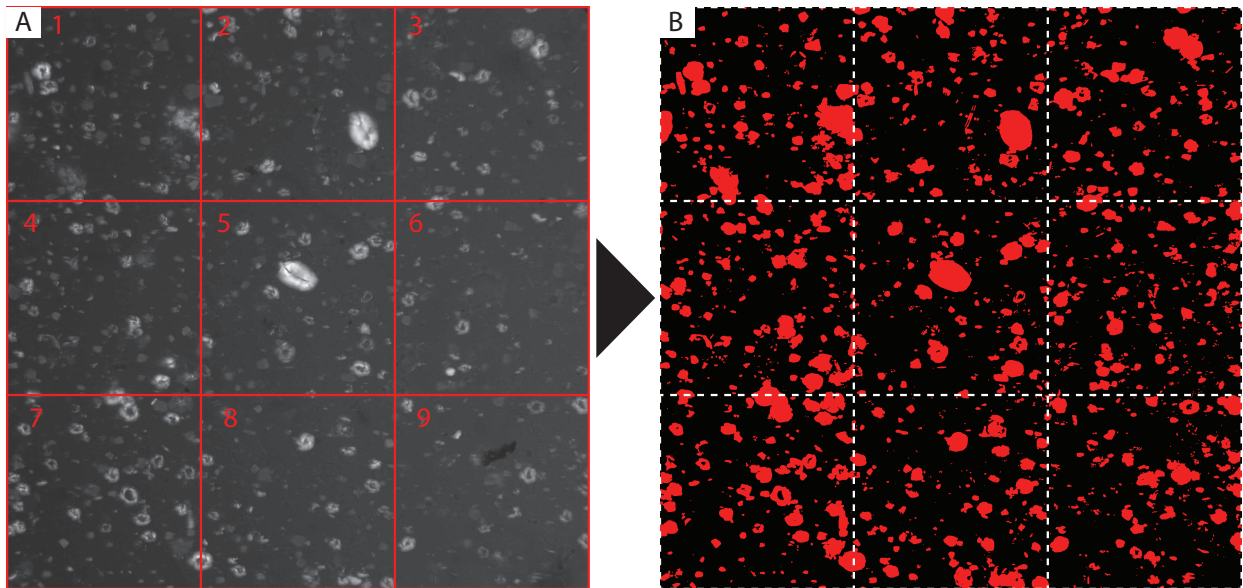


Figure 4-4. (A) Image initiale 2048*2048 pixels, les cadres rouges représentent les neuf sous-fenêtres en 683*683 pixels. (B) Image binaire résultante servant de masque. Chaque cadre limité en pointillé blanc possède une valeur de fond différente. Le résultat est excellent.

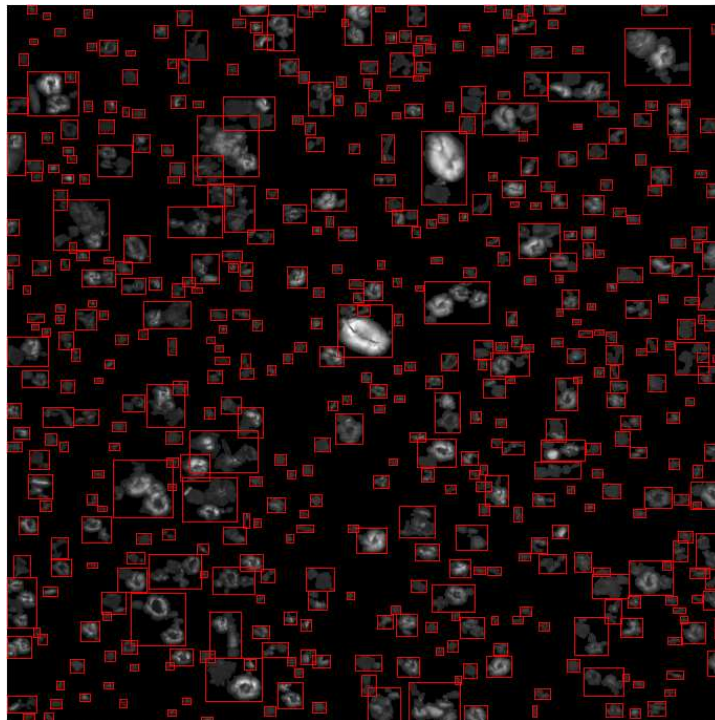


Figure 4-5. Image résultante de l'opération **Figure 4-4** après un filtre de taille minimum, les cadres rouges encadrent les différents objets isolés.

4.1.3. La segmentation des agrégats

Lors de la segmentation principale, des agrégats de coccolithes peuvent être toujours présents et risquent de ne pas être reconnus. L'idée est de les séparer en conservant au mieux la forme initiale des individus. La méthode est principalement basée sur une succession d'érosions des images binaires et de

« séparation de particules » afin de réaliser un découpage simple lorsque les objets sont peu en contact. Mais dans certains cas, cela ne suffit pas. Alors la seconde méthode consiste à mesurer les distances de Danielsson (Danielsson, 1980), appelée carte ou transformée de distances. Cette méthode associe à chaque pixel de l'image la distance au point obstacle le plus proche comme le contour d'une forme, croissant du bord vers l'intérieur (Figure 4-6 et Figure 4-7), définissant des sortes de centroïdes. La carte de distances est qualifiée avec une métrique donnée, le plus couramment il s'agit de la distance euclidienne. Et une fois cette carte obtenue, on applique la détection de vallées, ou *watersheding* (Meyer, 1994), en réinterprétant les distances en topographie : les distances les plus faibles définissent les limites de séparation (Figure 4-6).

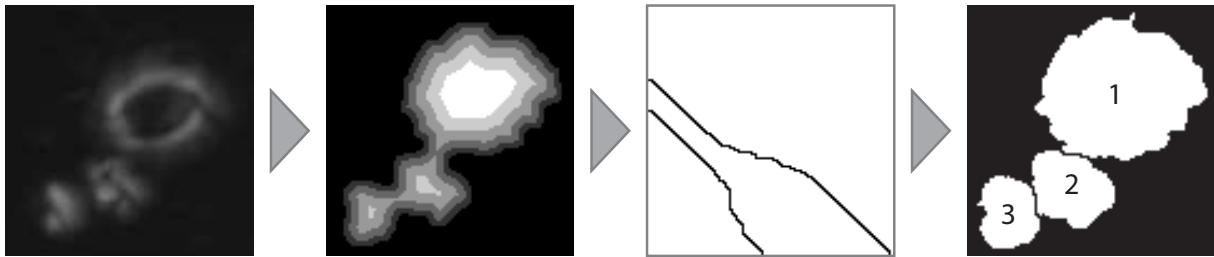


Figure 4-6. Étapes principales de la segmentation des agrégats : seuillage et distance de Danielsson, *watersheding* et superposition des limites de séparation.

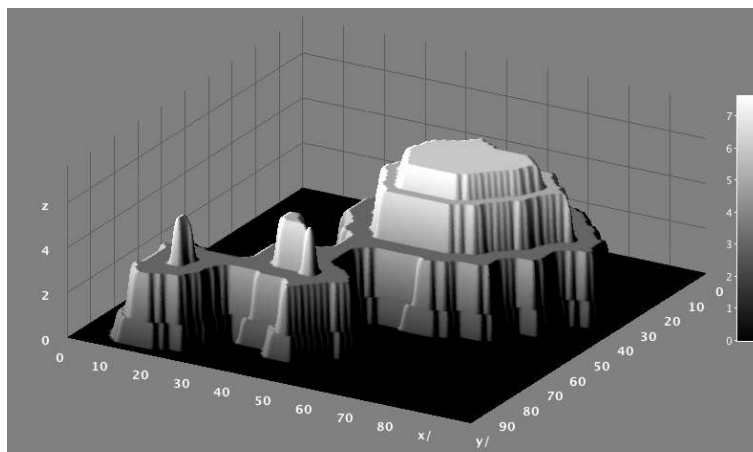


Figure 4-7. Représentation en trois dimensions des distances de Danielsson de l'image Figure 4-6 mettant en évidence une topographie. Réalisée avec ImageJ3D.

Cette méthode est efficace pour les petits agrégats et quand une partie du fond est segmentée avec quelques coccolithes, alors ces coccolithes sont de nouveau séparés du fond (Figure 4-8). Cependant, les instruments virtuels de LabView pour calculer les distances de Danielsson et de détection de vallées sont très sensibles et ont demandé un travail de « lissage » des résultats pour ne pas générer trop de limites de découpe. Ce système est complété par un pattern matching de quelques *templates*¹³ à ne pas découper, comme les *Rhabdosphaera* sp. en forme de T.

¹³ Anglicisme qui désigne une image ou une forme de référence.

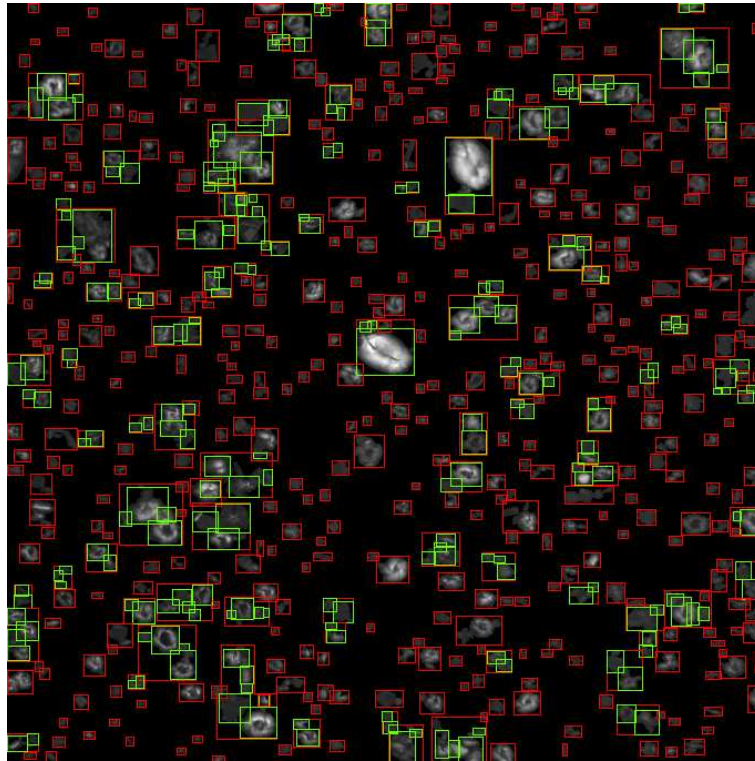


Figure 4-8. Image segmentée **Figure 4-5**, avec les cadres rouges correspondant aux objets isolés par le premier seuillage et les cadres verts correspondant aux objets ayant subi une seconde segmentation.

4.1.4. Le tri entre les objets épais (colorés) et peu épais (gris)

Chaque objet découpé est ensuite « testé » s'il contient un pattern particulier de couleurs afin de le soumettre à un calcul de poids différent et une cascade de classifications différentes (réseaux de neurones et statistiques). Ce pattern recherché correspond à des teintes particulières allant du jaune paille au rouge (**Figure 4-9**), ce qui correspond à des valeurs de teintes et de saturations particulières, développées dans la partie 4.2.

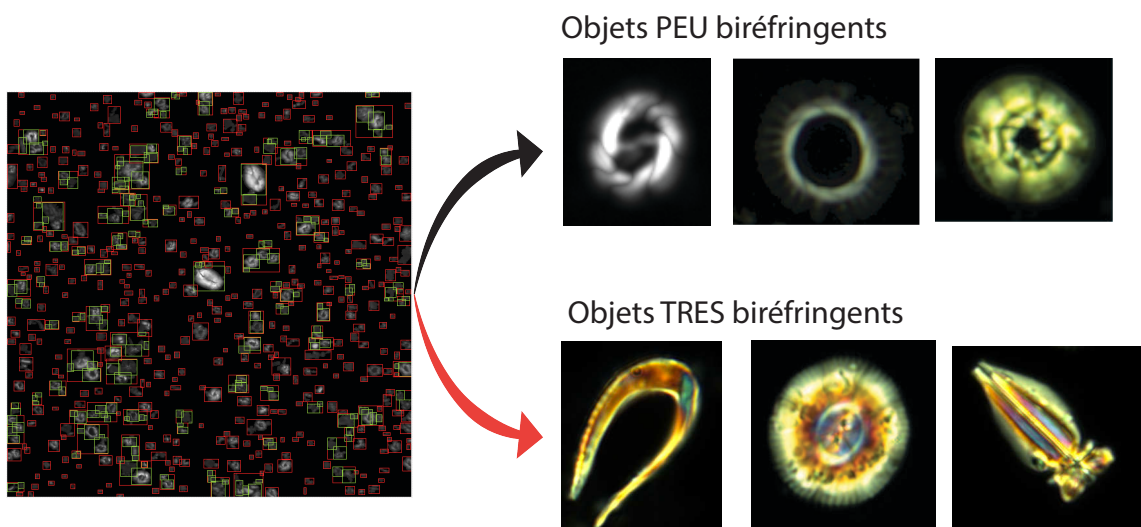


Figure 4-9. Exemples d'objets peu épais grisâtres donc peu biréfringents et d'objets plus épais, avec des couleurs jaune paille à bleu, donc très biréfringents.

4.1.5. La segmentation des images en lumière naturelle

Les images en lumière naturelle sont utiles pour localiser des espèces de nannofossiles calcaires qui ne sont pas ou très peu biréfringents (*Discoaster*, *Amaurolithes*, *Isthmolithus*...). Au cours du développement de SYRACO, deux méthodes différentes ont été testées pour segmenter ces images :

- 1) La première consistait à utiliser la reconnaissance de formes (*pattern matching*) directement sur les images à partir d'images de référence (ou *templates*). Cette méthode utilisait une trentaine d'images de morceaux de discoasters pour repérer des formes proches sur des images normales ou égalisées¹⁴. Les vrais discoasters rassemblaient des clusters plus denses de détections positives. Simplifiées sous forme de points dans des images binaires, ces zones étaient regroupées pour former de grandes particules pour délimiter les zones à segmenter. Mais cette méthode était lourde et lente. D'autant que l'instrument virtuel de *pattern matching* reste imprécis et difficile à paramétrer.
- 2) La deuxième méthode est plus rapide et elle est basée sur un conseil d'Antoine Eloi (CEA), lors d'un séminaire TOTAL « MATHIAS » en octobre 2012. Elle est un équivalent de la détection de contours du filtrage Prewitt ou de Sobel par exemple. Techniquement, c'est une opération de différenciation discrète qui calcule une approximation du gradient de l'intensité de l'image : à chaque point de l'image le résultat correspond à la valeur (la norme) du vecteur gradient. C'est une approximation de la variation en z de la valeur des pixels selon x et y (**Figure 4-10**). Donc une image constante aura un vecteur nul. La dérivée de l'image permet d'estimer un « volume » de l'objet.

Cette méthode est meilleure que la première mais aussi très sensible aux petites variations de pixels et aux débris (**Figure 4-11**). Il faut chercher au préalable un seuil limite pour conserver les gradients définissant au mieux les contours des objets (**Figure 4-10**).

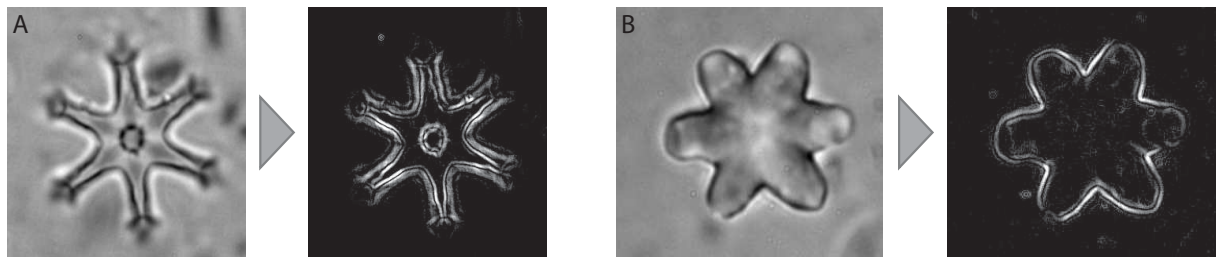


Figure 4-10. Exemples de discoasters segmentés avec le filtrage par gradient d'intensité : A) *Discoaster surculus* et B) *Discoaster* sp.

¹⁴ L'égalisation d'histogramme est une méthode d'ajustement du contraste des images.

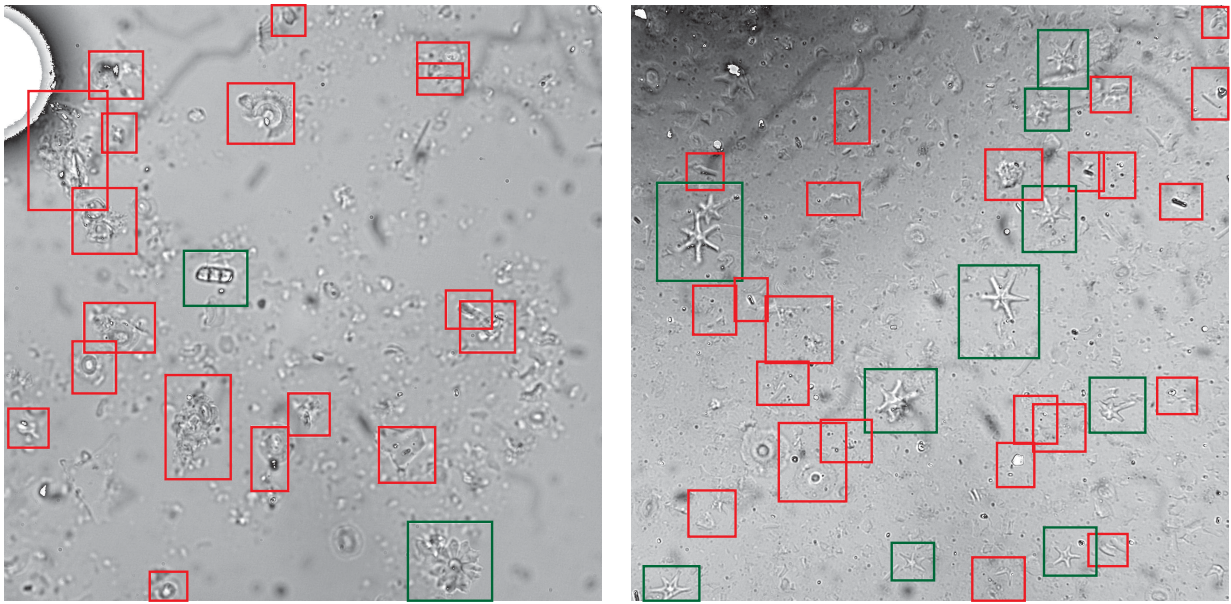


Figure 4-11. Tests de segmentation sur deux images complexes (avec débris, agrégats et variations de luminosité). Tous les spécimens complets (en vert) de *Discoaster* et d'*Isthmolithus* sont segmentés.

4.1.6. La correction des images

Les défauts de linéarité des capteurs de caméra ou des moniteurs nécessitent parfois d'appliquer une correction, ou recalibrage, sur les images de champs de vue. La correction est une opération mathématique qui change la valeur des niveaux de gris des pixels. Dans notre étude, nous avons utilisé une correction non-linéaire, nommée gamma, qui permet de rehausser ou de diminuer la luminosité pour les objets et les éléments structurels faiblement lumineux/contrastés (exemple : *Florisphaera profunda* et le bord externe de *Pseudoemiliana lacunosa*, **Figure 4-12** et **Figure 4-13**). Il est préférable d'appliquer la correction gamma sur des images 14-bits car la perte de donnée est plus faible (1 % de perte) que sur des images 8-bits (8 % de perte). L'opération correspond à l'équation suivante :

$$\text{Intensité Corrigée} = \text{MAX} \times \left(\frac{\text{intensité non corrigée}}{\text{MAX}} \right)^{\text{gamma}}$$

$$\text{Exemple pour du 14-bits : Intensité Corrigée} = 16383 \times \left(\frac{\text{intensité non corrigée}}{16383} \right)^{\text{gamma}}$$

Dans notre étude, il s'avère que la relation entre la luminosité captée par la caméra et l'épaisseur de la calcite semble non-linéaire. Pour une meilleure précision des mesures d'épaisseur (voir aussi chapitre 4.2), on applique une correction aux images *via* une fonction *logit*¹⁵ (fonction sigmoïdale, **Figure 4-14**, Beaufort et al. (Accepted)). Il en résulte des images corrigées visuellement très proche des images avec un gamma de 0,45. L'opération pour une caméra 14-bits correspond à l'équation suivante :

$$\text{Int. Corrigée} = 122 + 48.3 \times \ln\left(\frac{20326}{(18143 - \text{Int. initiale})} - 1\right) + 0.32 \times \tan\left(91 + \frac{\text{Int. initiale}}{92}\right)$$

Avec Int. pour Intensité.

¹⁵ Fonction mathématique qui emploie le logarithme népérien. Elle est aussi la réciproque de la sigmoïde.

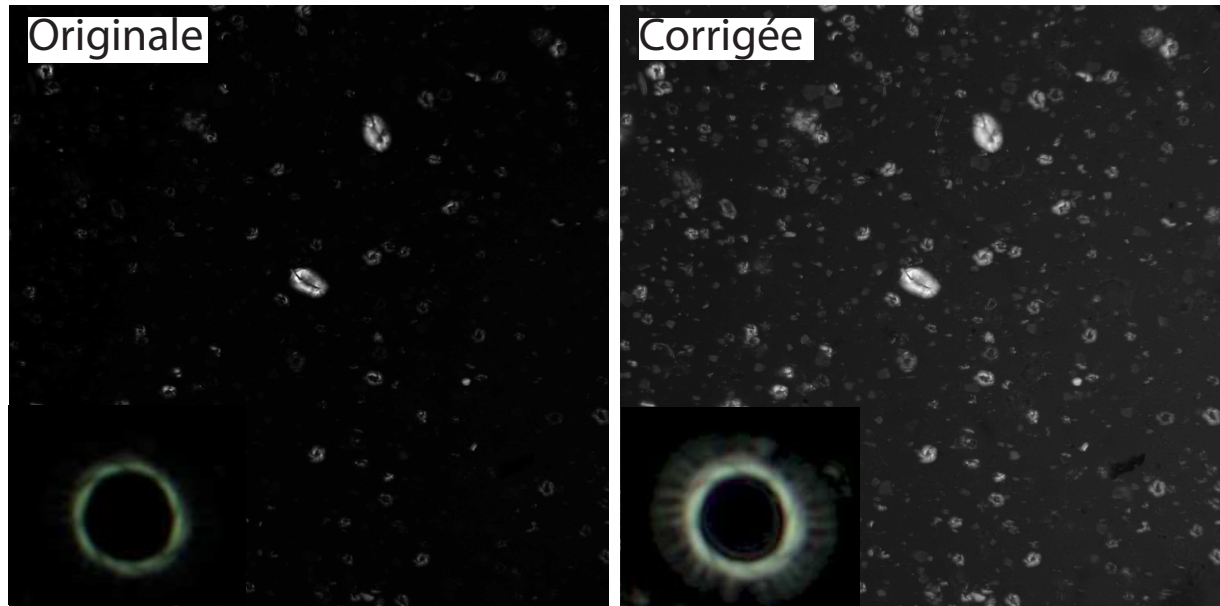


Figure 4-12. Comparaison de la même image avec et sans correction (ici un gamma de 0,45). L'image corrigée montre nettement les objets peu lumineux. En vignette *Pseudoemiliana lacunosa*.

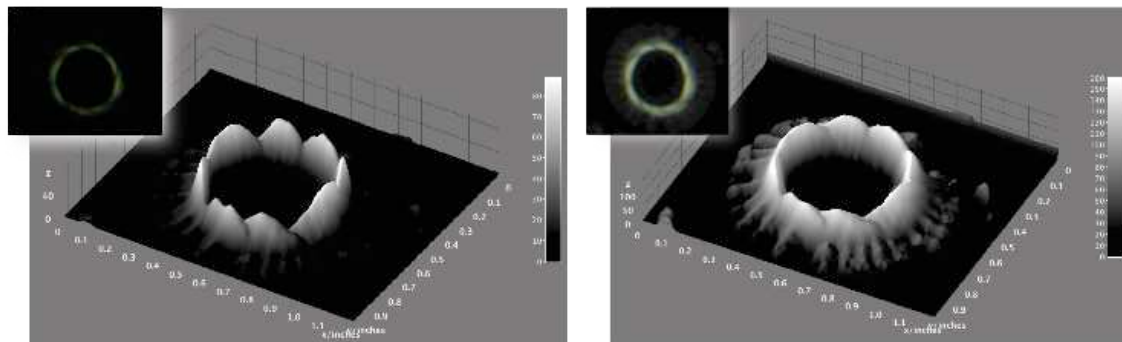


Figure 4-13. Représentations en trois dimensions d'une image de *Pseudoemiliana lacunosa* normale (à gauche) et avec correction (à droite). Le disque distal irrégulier est bien mis en évidence. Images réalisées avec ImageJ3D.

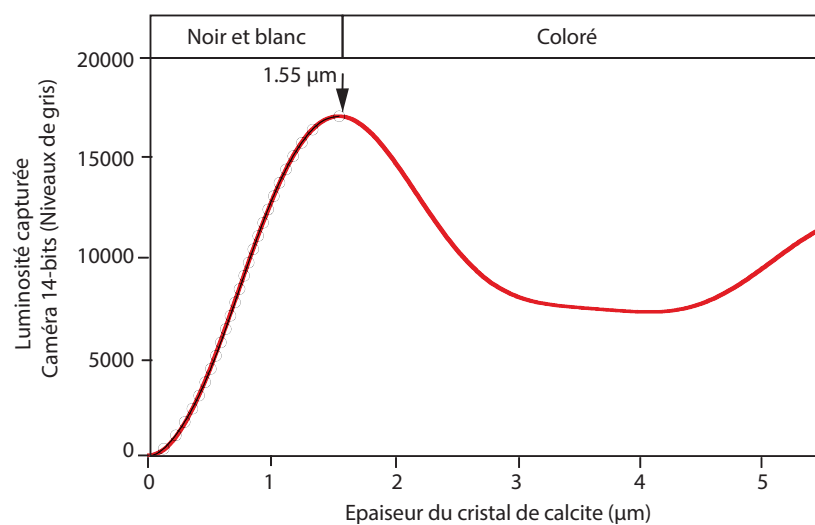


Figure 4-14. Schéma simplifié caractérisant la luminosité capturée par la caméra et l'épaisseur de calcite correspondante. Pour les épaisseurs de moins de 1,55 µm de calcite, la relation entre la luminosité et les teintes de gris n'est pas linéaire mais forme une fonction *logit*. Modifié d'après (Beaufort et al., Accepted).

Un test sur 634 individus, répartis en 6 groupes de formes (*Neosphaera*, *Pseudoemiliana*, *Reticulofenestra*, *Umbilicosphaera*, *Orthorhabdus*, *Rhabdosphaera* et *Scapholithus/Calciosolenia*), avec une correction sur les images 8-bits en 65*65 pixels montre que le taux de reconnaissance moyen est amélioré de 45±38 à 71±25 % (**Figure 4-15**). Si l'on regroupe les résultats, le taux de reconnaissance total passe de 64 à 80 %.

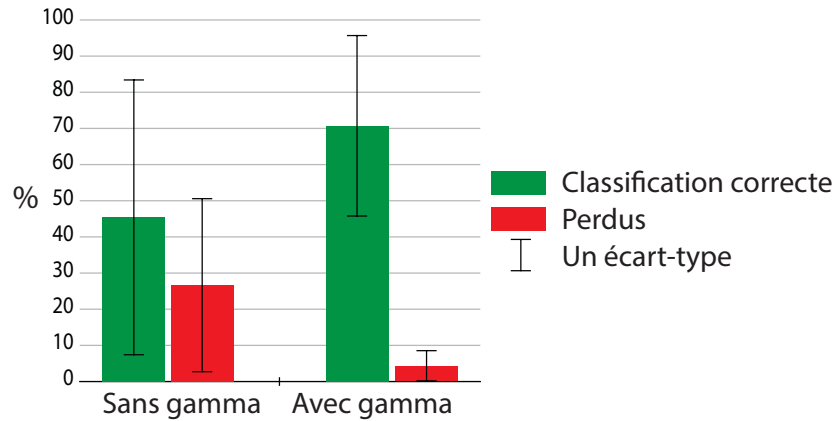


Figure 4-15. Tests de reconnaissance sur six groupes d'images de nanfossiles avec et sans gamma. Le nombre d'images varie entre 4 et 260 par groupe pour un total de 634. Le gamma améliore sensiblement la classification et réduit très fortement la perte d'images non reconnues.

4.1.7. La normalisation

Cette opération change l'intensité des pixels d'une image pour augmenter le contraste. Elle s'applique dans notre cas de manière linéaire aux images en lumière naturelle où l'intensité des pixels n'a pas une signification intrinsèque (l'épaisseur). Par exemple, si la gamme d'intensité des pixels est entre 50 et 180, le calcul ajuste la gamme entre 0 et 255.

$$Image\ normalisée = \frac{MAX}{MAX(Pixels - MIN(Pixels))} \times (Pixels - MIN(Pixels))$$

Un test sur 1737 individus, répartis en quatre groupes de formes (*Amaurolithus/Ceratolithus*, *Discoaster*, *Isthmolithus* et des non-nanfossiles), avec une normalisation des images 8-bits en 65*65 pixels montre que le taux de reconnaissance moyen passe de 69±28 à 72±16 % (**Figure 4-16**). Si l'on regroupe les résultats, le taux de reconnaissance total varie autour de 80 %.

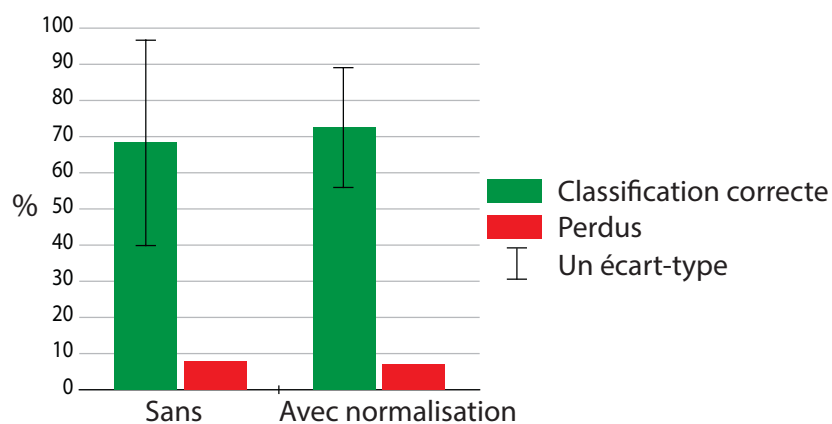


Figure 4-16. Tests de reconnaissance sur trois groupes d'images de nanfossiles avec et sans normalisation. Le nombre d'images varie entre 4 et 260 par groupe pour un total de 634. Le gamma améliore sensiblement la classification et réduit le nombre d'images non reconnues.

4.2. L'ESTIMATION DE LA MASSE DES NANNOFOSSILES CALCAIRES

Cette partie introduit les concepts utilisés dans l'article sur l'estimation du poids des nanofossiles. Nous présentons d'abord des généralités sur les images en couleur puis nous détaillons le principe et la méthode liant les couleurs à l'épaisseur, puis au poids.

4.2.1. Les images *rvb* et *hsl* (teinte, saturation, luminance)

En colorimétrie, il existe plusieurs systèmes pour exprimer les couleurs. Ils ont été définis par l'International Commission on Illumination (CIE) en 1931. Parmi ces espaces colorimétriques mathématiques, il y a les systèmes trichromatiques RVB (Rouge, Vert et Bleu, **Figure 4-17**) et TSL¹⁶ (Teinte, Saturation, Luminance) basés sur une représentation de coordonnées cylindriques de l'espace de couleurs CIE 1976 ($L^*a^*b^*$ ou $L^*u^*v^*$, **Figure 4-18** et **Figure 4-19**). Ce sont des systèmes additifs des trois couleurs primaires qui existent sous différents gamuts (sRGB, Adobe RGB, scRGB... (Schanda, 2007)).

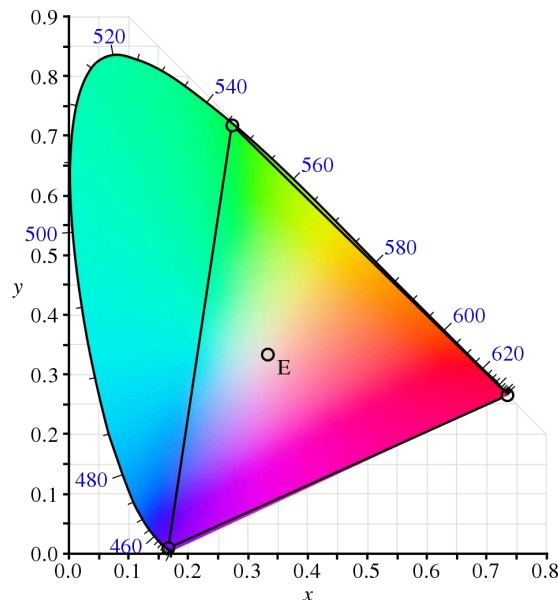


Figure 4-17. Diagramme de chromaticité xy du CIE 1931 représentant les couleurs réelles avec la longueur d'onde (nm) en bleu. Le triangle (ou gamut) réfère aux couleurs primaires Rouge, Vert et Bleu utilisées pour définir le système trichromatique du CIE. D'après Wikipedia.

¹⁶ Connue aussi sous le nom HSL ou HSV pour Hue, Saturation et Luminosité/Valeur.

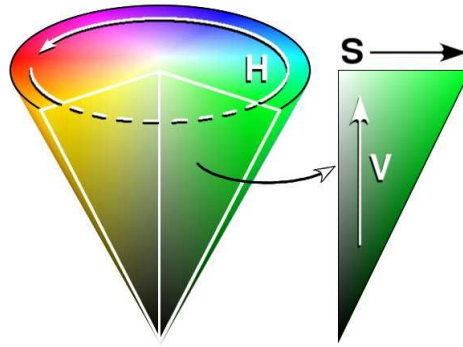


Figure 4-18. Représentation conique du système HSV, H= angle de Hue pour la teinte, S= saturation et V= Valeur de la luminosité. D'après Wikipedia.



Figure 4-19. Représentation de l'échelle des teintes du système HSL, avec l'angle de Hue en degrés (**Figure 4-18**) et la conversion en 8-bits (maximum de 255).

Ce système est utilisé pour le calcul de la masse des coccolithes car la valeur de teinte, basée sur l'angle de Hue, est constante. Elle n'est donc pas ou très peu influencée par les variations de luminosité ou de gamma appliquées sur les images d'échantillons.

4.2.2. La conversion des images couleurs en images d'épaisseur

Les réseaux de neurones de SYRACO fonctionnent uniquement avec des images 8 bits en noir et blanc. Il faut donc convertir les images couleurs RGB. L'idée est de convertir la valeur RGB 16-bits des pixels en une échelle de 0 à 255 correspondant à l'épaisseur.

D'après la charte de biréfringence de Michel-Lévy ([Michel-Lévy and Lacroix, 1888](#)), la couleur de la calcite change en fonction de son épaisseur (**Figure 4-20**). Ce phénomène est dû au retard de phase de la lumière polarisée à travers le cristal, exprimé en nanomètre (**Figure 4-20**). Avec l'augmentation de l'épaisseur et du retard de phase, la calcite passe, dans le 1^{er} Ordre, d'un dégradé de gris à du jaune puis du rouge. Dans le 2^{ème} Ordre, dès 550 nm, la couleur passe du violet à un bleu clair. Les coccolithes dépassent très rarement le bleu clair correspondant à un retard de phase d'environ 750 nm. Les couleurs bleutées étant certainement dues à la recristallisation tardive de la calcite.

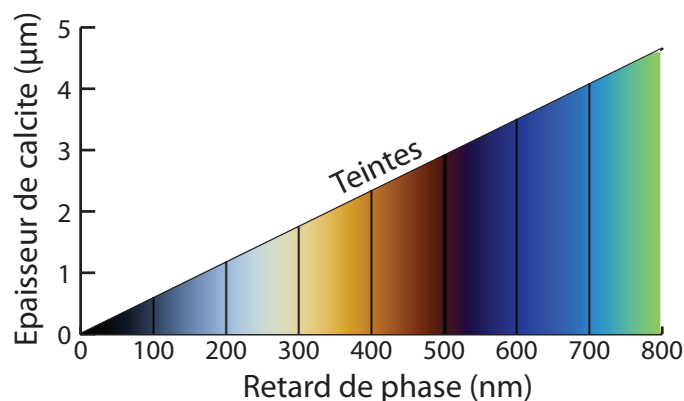


Figure 4-20. Conversion de la valeur du retard de phase en épaisseur de calcite. Les teintes, provenant d'une

charte de biréfringence (Kato, 2001b), donnent un aperçu de la couleur de la calcite.

Pour estimer ces teintes et connaître l'épaisseur, il serait possible de passer par les valeurs RGB, mais pour les valeurs de gris, les valeurs de chaque couleur rouge, vert et bleu ne sont pas égales ; cela est probablement dû à un problème de source lumineuse ou de caméra. Nous sommes donc passés par une conversion des valeurs RGB des pixels en valeurs HSL. La valeur de Hue permet de déterminer de manière relativement simple la valeur du retard de phase et donc de l'épaisseur. De manière semi-empirique, des équations du type $Y = f(X)$ soit $\text{Retard} = f(\text{Hue})$ ont été déterminées en estimant la valeur de retard en fonction de la valeur de Hue correspondante. Les valeurs de retard sont obtenues en comparant à l'œil les teintes d'images prises sur le microscope et une charte d'interférence servant de référence, générée par un logiciel de synthèse de charte d'interférence développé par T. Kato (2001b, a) (<http://www.nendai.nagoya-u.ac.jp/gsd/sicc/index.html>). Les caractéristiques optiques du microscope et de la caméra font que les valeurs de Hue peuvent être très élevées pour les couleurs très sombres. Nous avons donc choisi de travailler différemment sur les faibles épaisseurs. Les équations ont été calculées à l'aide du logiciel PAST (Hammer et al. (2001), <http://folk.uio.no/ohammer/past>, **Figure 4-21**). Les valeurs de Hue données par les instruments virtuels de LabView ne sont pas données en angles (0-360°) mais en valeurs 8-bits entre 0 et 255. Au total, trois équations ont été déterminées de manière semi-empirique (**Figure 4-21**). Ce qui donne une première équation non-linéaire correspondant aux valeurs de gris jusqu'à saturation de la Luminance (< 268,32 nm soit 1,55 µm environ ; Hue=42). Il est possible de la simplifier en utilisant la fonction linéaire de Beaufort (2005) et de Beaufort et al. (Accepted), à partir de la calibration de la saturation de l'image vers la couleur jaune paille à 268,32 nm soit 1,55 µm. La seconde équation correspond aux valeurs de Hue de 42 à 0 pour les retards de 268,32 à 500 nm (1,55 à 2,907 µm). La troisième et dernière équation correspond aux valeurs de Hue strictement supérieures à 42 mais limitées à 61, pour les retards de phase de second ordre (> 500 nm, de 2,907 à 4,448 µm). Cette zone est différenciée du « gris » en étant toujours entourée par du rouge de 1^{er} Ordre (Hue de 42 à 0).

Équation 1 ; $42 < X \leq 255$, saturation < 100 environ, niveaux de gris :

$$Y = \frac{X \times 1,55}{255} \quad \text{pour une image 8-bits. } X \text{ est dans ce cas la valeur du niveau de gris (luminosité) corrigée avec la fonction } \logit \text{ (voir 4.1.6).}$$

OU

$$Y = -766,276(\log X)^4 + 5854,95(\log X)^3 - 15952,5(\log X)^2 + 17744,6(\log X) - 6215,61$$

Mais étant donné la dispersion des points, on préfère utiliser la première équation en convertissant les pixels en noir et blanc. Ceci permettant de réduire l'effet de Fresnel.

Équation 2 ; $0 \leq X \leq 42$, fin du 1^{er} Ordre (jaune paille à rouge) :

$$Y = -0,115209X^2 - 0,713359X + 500,682$$

Équation 3 ; $42 < X \leq 255$, 2^{ème} Ordre (rouge à bleu clair/vert) :

$$Y = -573,4(\log X)^2 + 1983,79(\log X) - 949,377$$

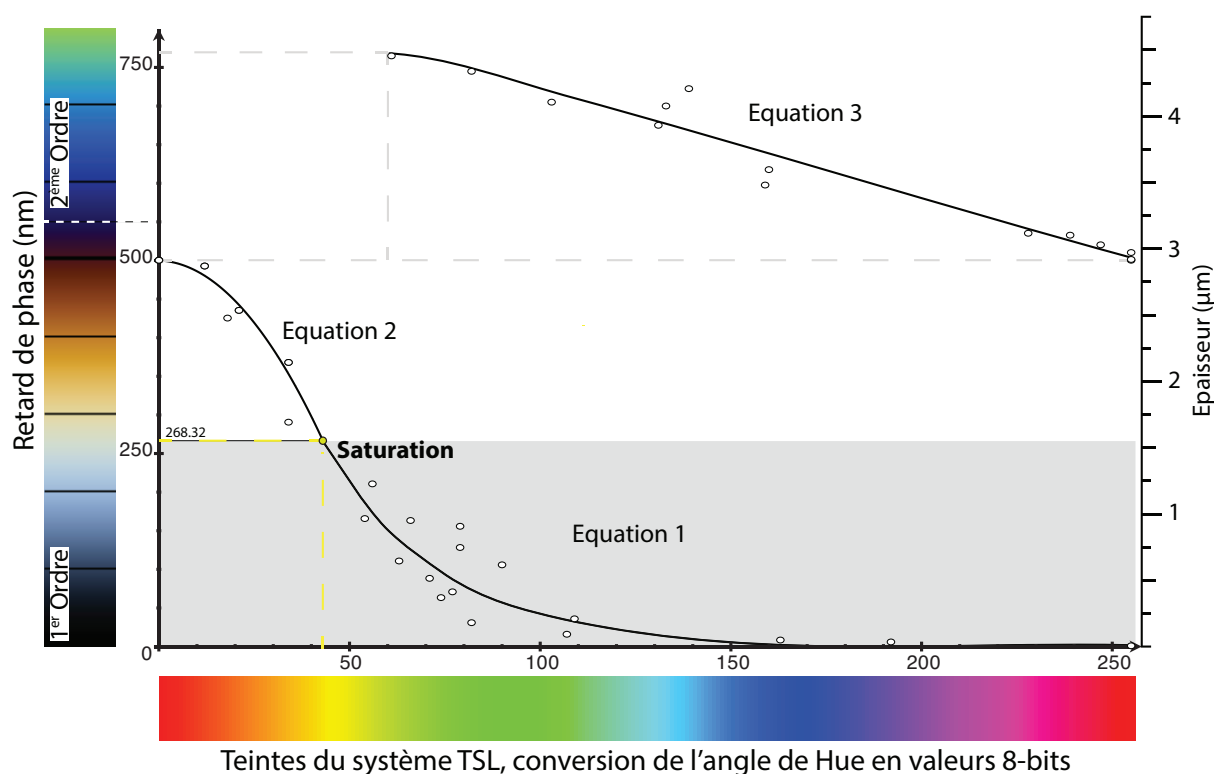


Figure 4-21. Représentation graphique des équations de l'estimation du retard de phase (nm) en fonction de la teinte des pixels (angle de hue converti en 8-bits). L'équation 1 ne dépend pas de la teinte mais de la luminosité, le retard de phase étant directement proportionnel à celle-ci. Les points proviennent de la comparaison de couleurs sur certains pixels entre des nanofossiles et la charte à gauche, en déterminant l'angle de Hue sur les nanofossiles et la valeur de retard sur la charte.

La conversion des valeurs de retard obtenues est réalisée par une division par 172 pour obtenir l'épaisseur en micromètre, selon l'équation de biréfringence :

$$\Gamma = d \times (n\gamma - n\alpha)$$

Avec Γ le retard de phase en nanomètre, d l'épaisseur de calcite en nanomètre, et $n\gamma-n\alpha$ la biréfringence.

Avec ce modèle, sur une image 8-bits, un niveau de gris correspond à 0,017443 μm d'épaisseur. Ensuite, la conversion en valeur 8-bits est réalisée par un produit en croix en divisant chaque valeur d'épaisseur par 57,329 (**Figure 4-22**). Ce chiffre correspond à la valeur maximale des pixels en 8-bits divisée par l'épaisseur maximale mesurable (4,448 μm) pour le retard maximal mesurable de 765 nm (Hue de 61).

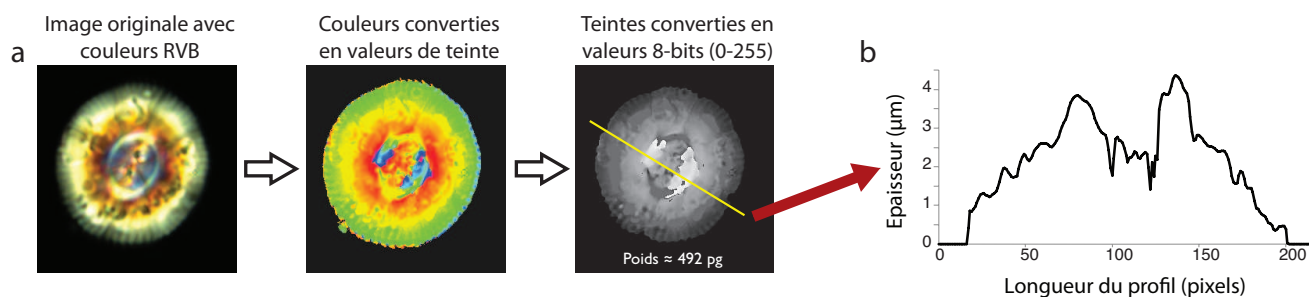


Figure 4-22. (a) Exemple de conversion d'une image couleur prise par le microscope en une image 8-bits noir et blanc pour être utilisée par SYRACO. (b) Le profil montre la conversion des valeurs de gris en épaisseurs.

Un problème relativement mineur a été observé lors de cette étude : des bordures colorées

apparaissent sur les images en couleurs (**Figure 4-22** et **Figure 4-23**). Ce pattern peut être dû à une légère inclinaison des spécimens ou à un phénomène de diffraction suivant la loi de Fresnel (Fresnel, 1819a; Fresnel, 1819b) ou un phénomène similaire. Cette remarque m'a été faite lors du séminaire du club IMAGE TOTAL. Pour y remédier au premier abord, nous avons utilisé l'équation 1 **Figure 4-21** pour les fortes valeurs de Hue (bleu) et afin d'éviter une surestimation du poids. Mais le rebord rouge entraîne potentiellement aussi une légère surestimation de l'épaisseur, justifiant l'utilisation de l'équation de Beaufort (2005), en contraignant la saturation. Le passage en échelle de gris supprime cet effet.

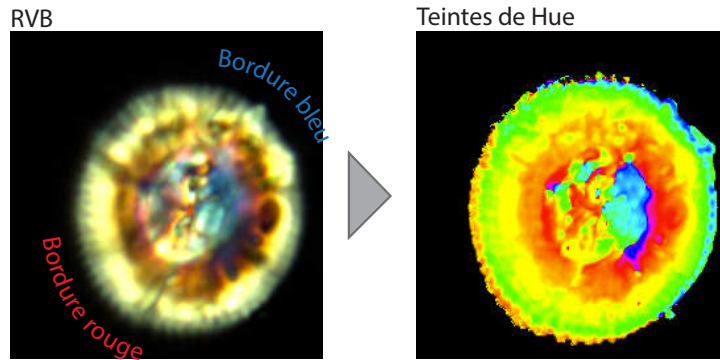


Figure 4-23. Mise en évidence des bordures colorées par image RVB (à gauche), d'autant plus visibles en teinte de Hue (à droite).

Des tests sur l'influence de la luminosité ont été réalisés pour montrer l'importance de la normalisation dès le départ de la prise d'image (**Figure 4-24**). Les résultats **Figure 4-25a** montrent clairement de grosses variations supérieures à 5 % sur la mesure de la surface pour les petits nanfossiles (*Emiliana*, *Pseudoemiliana* et *Rhabdosphaera*) mais la reproductibilité est très bonne pour les autres groupes. Concernant l'estimation du poids **Figure 4-25b**, la variation devient trop importante pour presque tous les groupes sauf pour *Dictyococcites* et *Zygrablihus*.

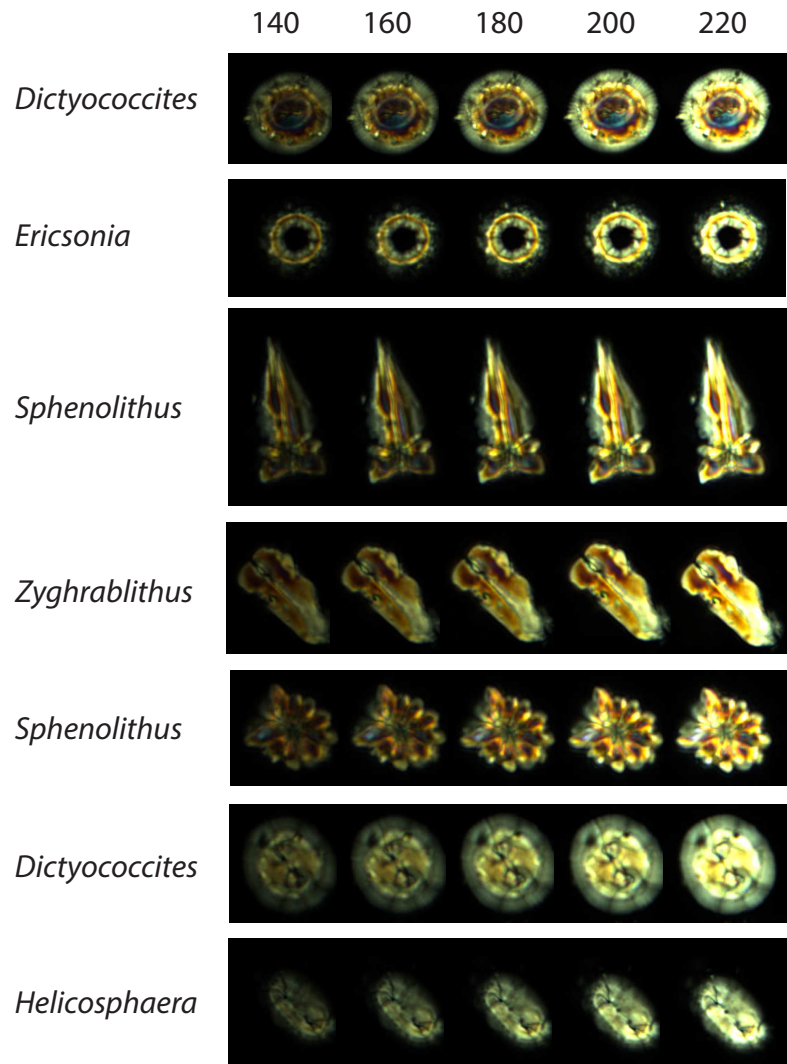


Figure 4-24. Quelques exemples de nanofossiles pris en photo avec différents réglages de luminosité. Par défaut, le réglage du microscope est positionné sur 200.

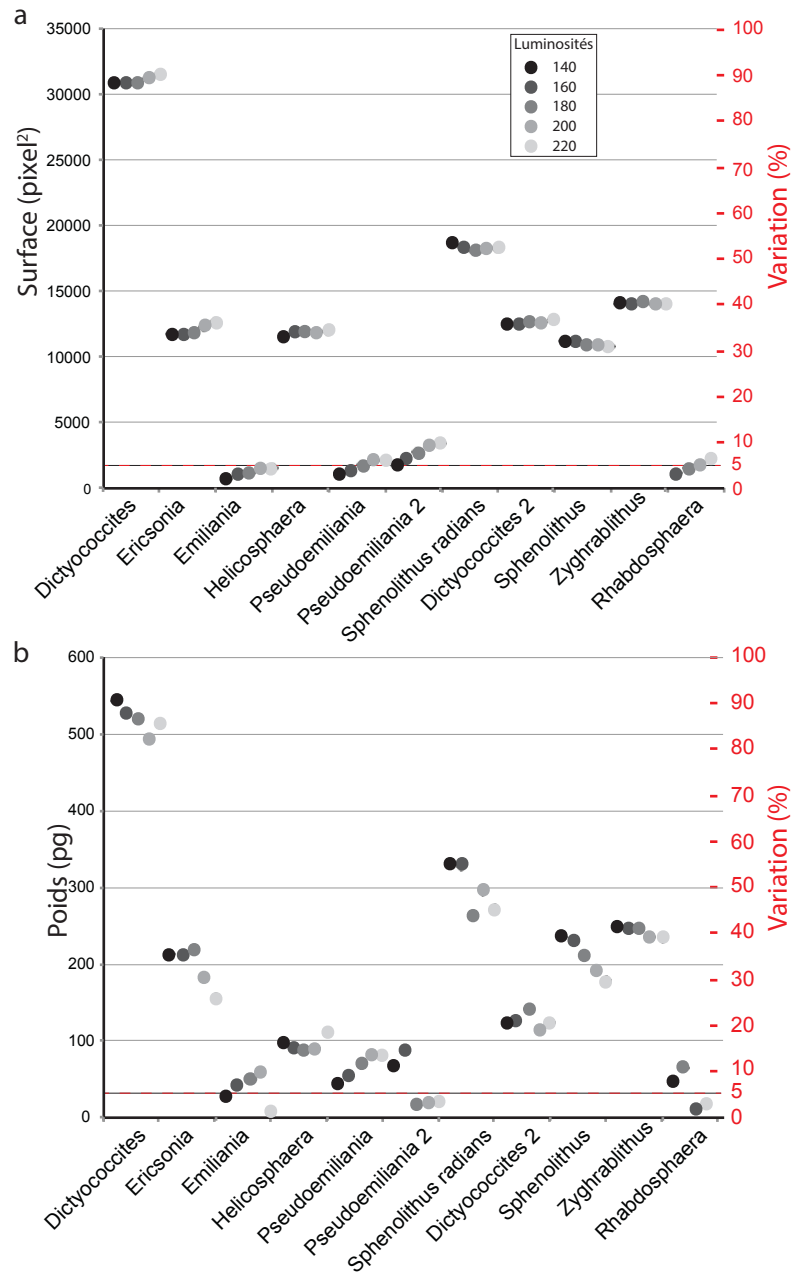


Figure 4-25. Résultats obtenus pour le calcul de la surface (a) et du poids (b) de quelques nanfossiles en fonction de différentes luminosités. La variation, en rouge, correspond au coefficient de variation également nommé écart type relatif qui est une mesure de dispersion relative des mesures ; ici multipliée par 100 pour obtenir un pourcentage de variation. Le coefficient de variation est égal à l'écart type divisé par la moyenne.

4.2.3. Article

Optical measurements to determine the thickness of calcite crystals and the mass of thin carbonate particles such as coccoliths

Luc Beaufort, Nicolas Barbarin & Yves Gally

Aix-Marseille Université, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Centre Européen de Recherche et d'Enseignement des Géosciences de l'Environnement (CEREGE) UM34, Aix-en-Provence, France. Correspondence should be addressed to L.B. (beaufort@cerge.fr).

Published online 20 February 2014; doi:10.1038/nprot.2014.028

We describe a procedure for measuring the thickness and mass of calcite particles that works for most calcite particles <4.5- μm thick. The calcite particles are observed in cross-polarized light, which enables the light transmitted through the calcite particles to be correlated with their thickness. Three polarizing planes are used to minimize the darkening of crystals at some orientations (black cross). This allows direct measurement of the thickness without recourse to a transfer function. This procedure has been used recently to determine the degree of calcification of coccoliths, which provides an indicator of ocean acidification. It takes only a few minutes per sample, and it is an improvement over the former protocol, which did not allow measurement of the thickness and mass of particles thicker than 1.5 μm .

INTRODUCTION

Coccoliths are minute plates of calcite produced by certain single-celled algae called coccolithophores. They are released when the algae die, and some species shed them continually. Carbonates are the dominant forms of carbon in the ocean and are massively precipitated in the form of calcite crystals (coccoliths) by coccolithophores. Thus, coccolithophores are a key component of the carbon cycle, which is a key geochemical cycle in the environmental sciences. The precipitation and/or the dissolution in the deep sea of coccoliths changes the ocean carbonate chemistry (e.g., pH and alkalinity). In addition, coccolithophore calcification is sensitive to changes in pH related to ocean acidification¹.

The measurement of coccolith thickness and mass can be used as an indicator of current and previous ocean carbonate chemistry. There are a limited number of methods to quantify this contribution, including the present protocol. In addition to enabling measurement of the mass of most coccoliths, this protocol can also be used to assess the mass of small carbonate particles known as micarb^{2,3} or micrite present in a sample. These particles are abundantly present in seawater⁴ and sediments.

Methods to quantify coccolith calcite mass

The main difficulty in quantifying coccolith calcite mass is that the size of coccoliths ranges between ~1 and 25 μm , and their mass ranges from one to a few hundred picograms. It is difficult to isolate discrete specimens and impossible to weigh individual specimens on a weighing scale. Previous attempts to estimate their mass have been based on measurements of their 3D geometry^{5,6}. However, it is not possible to do a 3D estimate of mass for every single coccolith in a sample. Alternative ways of measuring the mass of coccoliths have been to glue a single specimen on a microscopic cantilever and place it under a scanning electron microscope to measure its oscillations⁷, or to pick a certain number of large enough coccoliths—as done for secondary ion mass spectrometry (MS) measurements⁸—and weigh them in a micro-weighing scale, or to use an atomic force microscope to calculate the coccolith shape⁹. These three methodologies are

time-consuming and require several days of tedious preparation to obtain robust statistical estimates of the mean coccolith mass in any given sample.

We developed a method that uses the birefringence property of calcite to estimate the mass of individual coccoliths¹⁰. The rationale for measuring birefringence is that it directly links the color (and lightness) of a crystal observed in cross-polarized light microscopy with its thickness. This method is fast and precise. It relies on the calibration of the microscope light intensity. Slides prepared with different amounts of a fine powdered calcite made of micro-metric calcite needles serve to establish a transfer function linking gray levels (GL; lightness) to the mass of coccoliths or to any fine calcite particle isolated in digital images. This method has been successfully used in studies of coccolith calcification^{1,4,11} in mesocosm experiments¹² and in dissolution experiments¹³. However, this method uses a black-and-white camera to measure calcite thickness, which prevents colored crystals from being accurately sized in cross-polarized light. This limits measurements to calcites that are <1.56- μm thick, as those above this thickness tend to be colored in cross-polarized light. The use of a color camera allows a reading in the calcite crystal color spectrum for thickness measuring up to 4.5 μm . Above that thickness, the colors repeat in sequences with the same hue values, making the thickness attribution almost impossible. However, because coccoliths are rarely thicker than 4.5 μm , this limitation is not usually a concern when quantifying coccolith calcite mass.

Principles of the procedure

Each mineral type has specific birefringence properties, which are used in mineralogy to identify crystals: if the thickness of a thin section of rock is known, the color of a crystal in cross-polarized light indicates its birefringence (B ; $B = n_{\text{high}} - n_{\text{low}}$ where n_{high} is the largest and n_{low} is the lowest refractive index). This protocol uses an inverse method: knowing the birefringence of calcite ($\Delta n = -0.172$), the thickness of a crystal is deduced from its color or GL in cross-polarized light. This is possible because there is a

PROTOCOL

linear relationship at a given birefringence between the thickness of a crystal (t in nm) and retardation (Γ), which is its measure in nanometers (nm). The retardation or 'path difference' represents the difference between the fast ray and the slow ray produced along the path of light in a crystal and is therefore dependent on t and Δn . Either equation links thickness to Γ .

$$\Gamma = t \times \Delta n$$

or

$$t = \Gamma / \Delta n \quad (1)$$

A birefringence table (e.g., see figures in Michel-Levy and Lacroix¹⁴ (**Supplementary Fig. 1**) or in Sorensen¹⁵) gives the relation between the Newton color in nanometers and the thickness at a birefringence of -0.172 . Thus, every color that can be measured corresponds to a thickness, and the color scale can therefore be used as a thickness scale. However, owing to the colors repeating in a succession of orders (**Supplementary Fig. 1**), this linear relationship only applies to thicknesses below $4.5 \mu\text{m}$. This is because $4.5 \mu\text{m}$ is the transition between green and yellow, and yellow is a color that appears at $\sim 1.6 \mu\text{m}$ (ref. 14).

In addition, the relationship between crystal thickness and light intensity is not linear¹⁵ between 0 and $1.55 \mu\text{m}$ (for calcite) (**Fig. 1**). Thus, a correction of nonlinearity is needed in this protocol (Step 6 of the PROCEDURE). We produced a curve of the degree of transmitted light intensity for a white light spectrum by using the following set of equations (see ref. 15 for more details).

At a given wavelength, λ the degree of transmission is

$$L(\Gamma, \lambda) = \sin^2(180^\circ \Gamma / \lambda) \quad (2)$$

We then reduced the spectral transmission matrix¹⁵ (I_λ) to the white light (wl) by summing all the values of the visible spectrum (360–830 nm)

$$I_{\text{wl}} = [\sum(L(\Gamma_1, 360\text{nm}) \dots L(\Gamma_1, 830\text{nm})) \dots \sum(L(\Gamma_n, 360\text{nm}) \dots L(\Gamma_n, 830\text{nm}))] \quad (3)$$

By using equation 1 in equation 3 with $\Delta n = -0.172$ and $t = 0 \dots 5,500 \text{ nm}$, we produced the graph in **Figure 1**. The maximum of the curve corresponds to a thickness of $1.55 \mu\text{m}$. This boundary value was expected, as the limit between white and yellow is at 266 nm , a value that gives $1.55 \mu\text{m}$ when divided by Δn for calcite (-0.172) ($266/172 = 1.55$) (ref. 14). The function (equation 3) was fitted with a logit function (inverse of the sigmoid function): the shape of the function between 0 and 1.55 presented in **Figure 1** is sigmoidal, but as we wanted to convert GL (in ordinates in **Fig. 1**) into thickness (in abscissa in **Fig. 1**) we use the reverse of the sigmoid function, which is a logit function.

Experimental design

In this protocol, the calcite crystals are observed with a polarized transmission microscope. The light passes successively through the polarizer, the crystal and the analyzer (oriented at 90° from

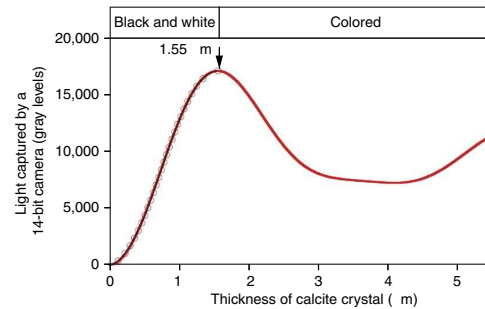


Figure 1 | Relationship between the thickness of a calcite crystal and the amount of transmitted light. The relationship is calculated for the white spectrum (360–830 nm; red line). The black line with open circles is the sigmoid function that best fits the thickness from GLs (equations 6 and 7) in the black-and-white segment.

the polarizer—i.e., 'crossed Nicols'). The light intensity is dependent on the orientation of the optical axis in anisotropic crystals (such as calcite crystals). If the optical axis is oriented at 0° , 90° , 180° and 270° away from polarizing plane, the outgoing light intensity is lowest, and if it is oriented at 45° , 135° and 305° , the light intensity is highest. Many coccoliths are discs, composed of subradially or subtangentially oriented microcrystals (e.g., placoliths, helicoliths and cribilliths). These discs, when observed by polarizing microscopy, produce a black extinction cross; this results from the lowest light intensity going out of the crystals that are oriented at 0° , 90° , 180° and 270° . In coccoliths consisting of only one crystal (e.g., *Florisphaera*, ceratoliths) or of crystals that are oriented in parallel (e.g., *Ortholithus*), the intensity of the outgoing light depends on the orientation of the coccoliths relative to the polarizer.

Merging several images of a coccolith grabbed at different orientations relative to the polarizer and analyzer enables circumvention of these orientation-related problems. However, the use of a rotating stage is inappropriate when imaging coccoliths because of their irregular shape, which could change during rotation. To avoid this problem, this protocol uses a fixed stage and rotates the polarizer and analyzer in their respective planes. By merging images grabbed at maximum luminosity and different polarizing orientations, the problems of the black cross and monocrystal coccoliths are artificially eliminated. It is more efficient for image analysis to simultaneously rotate the polarizer and the analyzer.

Orientation-related problems can also be circumvented by using circular polarization. This produces a constant rotation of the polarized light. A birefringent crystal observed in such a circular polarization does not show the black cross. This method has been recently described by two teams independently^{16,17}.

There is a limitation to this method in that it is not applicable to coccoliths that are not completely birefringent, such as those belonging to the Coccolithaceae family or the *Discoaster* genus. For the former it is possible to use a correction factor¹⁸, whereas for the latter the mass estimates have to rely on the direct measurements of their volume^{5,6}.

MATERIALS**EQUIPMENT**

- Fully automated polarizing microscope (Leica DM6000B), with an objective HCX PL APO 100/1.47, three pairs of polarizer/analyzers and/or a pair of circular polarizers (note that filter settings can be customized upon request) for automatized scanning or a regular polarizing microscope for manual scanning
- Digital camera: e.g., SPOT Flex color camera (Diagnostic Instruments)
- Norland Optical Adhesive (NOA74)
- Coverslips and standard microscopic slides
- Image analysis software or the macro Calciprobe with two LabView runtimes
- WCN membrane filter, 0.8- μm pore, 25 mm (Whatman; only used for measuring calcite in living coccolithophores)

REAGENT SETUP

Coccolith sample mounted on a slide. We have used samples prepared from water from the ocean photic zone or culture, or from fossil material in sediment cores and sediment traps. Sample preparation is dependent on the source and samples can be prepared in various ways (for a review, see ref. 19). Mounting of the sample on standard smear slides is easy to prepare and gives reliable results. Random settling techniques²⁰ (see **Box 1** for our preferred protocol) are best for this proposal, as they allow control of the distribution of particles on the slides. We mount our slides with Norland Optical Adhesive (NOA74).

In some cases (for example, for living coccolithophores), it is necessary to use membranes to collect the coccoliths and the coccospheres⁴. Polycarbonate filters should be avoided because they are opaque when mounted. Cellulosic membrane becomes transparent when mounted with a medium such as Canada Balsam or NOA74. We recommend the WCN membrane filter, a plain white cellulose nitrate filter with a 0.8- μm pore size and 25-mm diameter from Whatman. These filters are almost completely transparent when mounted with NOA74. Because the membranes are slightly birefringent and also because they cause shading of the transmitted light, some correction applies⁴, such as increasing the gain (e.g., 2) of the camera (this can also be done during image analysis) and setting a higher background threshold.

It is also possible to separate coccoliths by size fraction by treating the samples before mounting them on slides according to the protocol described by Minoletti *et al.*³.

Equipment Setup

Microscope We use a fully automated polarizing microscope Leica DM6000B, with an objective HCX PL APO 100/1.47. The resolution of the microscope with this lens is $d = 0.19 \mu\text{m}$ using

$$d = \lambda / (2 \times \text{NA}) \quad (4)$$

where λ is the wave length of light (550 nm) and NA is the lens numerical aperture (1.47). The condenser is a Leica P 1.40 oel.

Three pairs of polarizers and analyzers are oriented at 0°, 35° and 45°. The polarizers are placed in the automated condenser block having a revolving filter table. The analyzers are cubes placed in the automated turret generally used for fluorescence analysis. We use three different spaces usually occupied by other filters (e.g., phase-contrast filters, dark-field filters, etc.). With this setting the polarization planes are controlled rapidly by computer; in our setting, the LabView program controls the rotation of the revolving filter tables in the condenser and the turret. After each rotation, a waiting time of 210 ms is set before grabbing images in order to avoid vibration of the microscope during photography. This filter setting is unusual.

The polarizers and analyzers are customized by Leica upon request.

This protocol can also be performed by using other microscopes. For example, a classical petrographic polarizing microscope with a rotating stage can be used, although with added difficulties; each coccolith must be precisely centered with a constant focus on all orientations. Merging the different images will require precise numerical rotation and possibly some lateral translation to correct the expected centering imprecisions; it is much easier to take the different images after synchronous rotation of the polarizer and the analyzer (all microscope companies propose manually rotating polarizers and analyzers).

An alternative to using three pairs of polarizers and analyzers is using one polarizer-analyzer pair and adding to each part a quarter-wave plate ($\lambda/4$) rotated by 45° from the axes of the polarizer and the analyzer^{16,17}.

Digital camera We acquire the fields of view with a SPOT Flex color camera from Diagnostic Instruments. A lens of $\times 1.2$ is located between the microscope and the camera to avoid vignetting. The width of a pixel (square) is 0.061 μm , which is lower than the resolution of the microscope ($\sim 0.19 \mu\text{m}$). The images are squares of 2,048 pixels (125 μm) in width. We have also

Box 1 | Preparing slides with the random settling technique ● TIMING ~5 h

This technique has the advantage that the particles will be well dispersed, and that it will be possible to quantify the amount of material per gram of sediment and/or per volume of sediment. The latter advantage can be very interesting when one wants to study the flux of coccoliths or to estimate the contribution of coccoliths to the total fine carbonate sediment (see ANTICIPATED RESULTS).

PROCEDURE

1. Take $\sim 0.5 \text{ mm}^3$ of sediment with a micro-spoon. This quantity is about half the volume of a full micro-spoon.
2. Place it in a small vial and add $\sim 1 \text{ ml}$ of water. Use unbuffered low-carbonated water (e.g., Volvic, pH = 7, bicarbonate = 71 mg per liter, total dissolved solid = 109 mg per liter); this water is preferred because when drying it does not leave a lot of carbonate crystals.
3. Gently crush the sediment and stir it with a toothpick.
4. Ultrasonicate the suspension for 5 s. This is done to obtain a homogeneous suspension.
5. Sieve on a 32- μm mesh metal sieve. This step is carried out to break apart aggregates and exclude larger crystals.
6. Pour the suspension into a flat beaker that is 75 mm in diameter.
7. Add $\sim 30 \text{ ml}$ of unbuffered low-carbonate water. The height of the water column should be $\sim 1 \text{ cm}$.
8. Stir and ultrasonicate the suspension for 5 s. This step is carried out to obtain a homogeneous suspension.
9. (Optional) Weigh the coverslip with an ultra-microbalance.
10. Place a fine nylon mesh at the bottom. This will ease draining, drying and grabbing the coverslip in steps 13 and 14).
11. Place a coverslip on top of the nylon mesh.
12. Wait for 4 h. During this time, all the coccoliths will have fallen through a 1-cm water column. Traces of dissolution in water at a pH of 7 are found after 6 h as the water saturation state of calcite is far < 1 .
13. Drain out the water from the top of the beaker with a pump (e.g., aspirator). Only a small meniscus remains.
14. Put the beaker in an oven at 70 °C in order to dry the coverslip.
15. (Optional) Weigh the coverslip. The mass deposited on the coverslip is the mass increase between steps 8 and 14.
16. Mount the coverslip with NOA74. We use 12 \times 12 mm coverslips and mount eight samples on the same slide for automated scanning.

PROTOCOL

used a SPOT Flex black-and-white camera (Diagnostic Instruments) with the same performance for a study of Pleistocene and recent samples that involved coccoliths generally thinner than 1.55 μm and appearing in gray values (see below). A 14-bit camera can detect 16,384 GLs per pixel for the three primary colors. This is important because the sigmoidal function used to convert light into thickness produces low resolution ($>0.1 \mu\text{m}$) for the thinnest crystals ($<0.2 \mu\text{m}$) imaged with an 8-bit camera (255 GLs).

In contrast, a 14-bit camera has a theoretical thickness resolution of $<1 \text{ nm}$. **▲ CRITICAL** Although any type of digital camera can be used, it is important to know precisely the surface of a pixel because it is used to calculate the volume of coccoliths. Color is important only for coccoliths thicker than 1.55 μm , which are, for example, very rare in Pleistocene sediments. For studies of recent nanofossils, a black-and-white camera may be entirely sufficient and will provide images that can be more easily stored.

PROCEDURE

Setting the light intensity

▲ CRITICAL The object is to set the light intensity so that a GL saturation is obtained when a pale yellow color is present.

- 1| Choose a cylindrical particle lying flat in the preparation (e.g., a rhabdolith stem, which is a type of coccolith), with a slightly conical shape.
- 2| Select the area where the width of the stem is 1.55 μm and choose a time exposure of the camera that produces light saturation at this position but not in the thinner part of the stem (**Fig. 2**). To obtain this result with our camera, we proceed as follows: microscope settings: field is 10, aperture is 10, light is 200 and the trinocular tube is 50/50%; the condenser has been adjusted for Koeller illumination²¹. The camera settings are: gain 1, gamma 1 and a time exposure of 210 ms for the color camera and 70 ms for the black-and-white camera.
- 3| Check the light intensity frequently (an early consequence of bulb aging is that the light will become dimmer) by measuring the GL values of the background (BL) with polarizers and analyzers oriented at 90° (in our setting BL = 400 GL in 14 bits or 6 GL in 8 bits) (throughout, 'in \times bits' means 'in a file with \times -bit resolution') and at 80° (in order to avoid a full cross-polarization and to obtain gray background): BL = 2,000 GL in 14 bits (or 31 in 8 bits). When these values are not reached anymore, change the light bulb. To obtain the 80° between the polarizer and the analyzer, we orient the polarizer at 45° and the analyzer at 35° (+90°).

Setting the focus

4| Focus on one individual coccolith of interest. Because most coccoliths consist of thin plates that lie flat on the slide, they are often on the same focusing plane. When focus is made on one individual, the other individuals present in the same field of view (FOV) are also in focus.

Grabbing images in three orientations of the polarizing planes

▲ CRITICAL If a point measurement in a specific section of a coccolith is desired, only one orientation of the polarizing planes is needed and Step 7 can be skipped. The position of interest (the point) is selected at the highest-luminosity area away from the black cross (in other words, between the arms of the black cross). Similarly, if circular polarization is used, only one image is needed and Step 7 can be skipped.

5| Grab the FOVs successively, at three different orientations of the polarizing planes. As described in the Equipment Setup, our setting consists of three polarizers and three analyzers oriented at 0°, 35° and 45°. The LabView program controls the rotation of the revolving filter tables in the condenser and the turret. After each rotation, a waiting time of 210 ms is set before grabbing images in order to avoid vibration of the microscope during photography.

This can also be achieved easily and manually with a standard microscope mounted with a rotating analyzer (e.g., Leica analyzer IC/P 180°). The three images are grabbed successively at three angles of polarization (e.g., 0°, 23° and 45°). It is recommended to first turn the polarizer and then rotate the analyzer until complete extinction of the background.

Correcting nonlinearity

6| Use a logit function to correct for the nonlinearity (sigmoidal function) of the relation between light intensity and thickness of each image.

The transformed images must remain readable and therefore they are not converted in thickness but in 8-bit GL values. For an 8-bit camera the conversion is

$$CV = 123 + 46.8 \times \ln(309 / (281 - OV) - 1) + 0.34 \times \tan(92 + OV/1.44) \quad (5)$$

where OV is the original GL value and CV is the corrected GL value. The tangent is in degrees, and it is used to accentuate the two tails of the logit function for a better fit ($R = 0.9999$). Because of the sigmoidal shape of the correction there are only

PROTOCOL

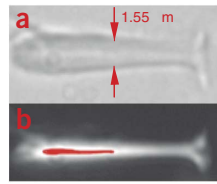


Figure 2 | Images of a rhabdolith. (a,b) The rhabdolith is shown in natural light (a) and in crossed Nicols oriented at its maximum illumination (b). The saturated pixel area (red) boundary is set at the position where the diameter is 1.55 μm by choosing the exposure time of the camera.

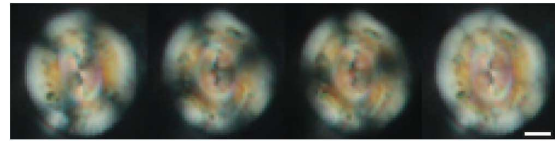


Figure 3 | Three original images of a placolith from left to right: 0°, 35° and 45°, and its merged image on the right. Scale bar, 1 μm .

196 GLs on the corrected scale. About one-quarter of the depth of resolution has been lost during the correction especially at the two ends of the scale. This is why we recommend the use of 14-bit (or higher) cameras that give higher resolution.

The correction for a 14-bit camera (16,384 GLs) that provides the results in 255 GLs (the correction equation also converts 14 bits into 8 bits by dividing all values by 64 during this process) is

$$CV = 122 + 48.3 \times \ln(20326 / (18143 - OV) - 1) + 0.32 \times \tan(91 + OV / 92) \quad (6)$$

This process gives 256 GLs with an accuracy of 0.006 μm in thickness between GLs (= 1.55/256).

The images are now in 8-bit format (depth of 256 GLs in three color channels) for easy storage or for faster image manipulations.

Merging images

7| If you are using circular polarization (which is a way to avoid a residual black cross), proceed to the next step.

Otherwise, compare the three grabbed images pixel by pixel, selecting the pixels with highest GL of the three images and placing them in a (resulting) merged image. An example is given in **Figure 3**.

▲ **CRITICAL STEP** This step can be carried out by using ImageJ, a public-domain application. When using ImageJ, use the 'image calculator' and compare the images by using 'Max'.

▲ **CRITICAL STEP** This step is not needed if circular polarization is used.

Setting background to zero

8| Set the background of the merged image to a GL value of zero.

▲ **CRITICAL STEP** Setting the GL to zero permits the isolation of the studied particle from the background for further measurements. The value of the threshold can be chosen manually (caution should be taken that the threshold value is not too high, a condition that would eliminate some thin coccoliths). With our setting the background is around 25 GL.

The easiest procedure is to set to zero all pixels that have a GL value <25 GL. This corresponds to a thickness of 150 nm.

In addition, note that this value is not withdrawn from the objects present in the image, but only from the background.

A more elegant procedure is to detect the background value dynamically on several portions of the image by using automatic background detection routines on those portions.

Estimating the thickness

9| Estimate the thickness by using option A if you are using a black and white camera or one of options B, C or D if you are using a color camera. The maximum thickness that can be estimated with a black and white camera is 1.55 μm . Most living and late Pleistocene coccoliths are thinner than 1.55 μm , and they therefore appear in black and white in cross-polarized light (note: a calcite crystal that is slightly thicker than 1.55 μm appears pale yellow). However, many coccoliths and other calcareous nanofossils from older geological times are thicker and strongly colored in cross-polarized light. A color camera is needed for them.

To transform color into thickness, color must be characterized numerically. We use the HSL (hue, saturation, lightness) representations of points in an RGB (red, green, blue) color model. Saturation is used to determine whether a pixel is 'colored' or not (in the latter case it is black, gray or white). Below saturation and under lightness values of 100, a crystal is considered to be thinner than 1.55 μm . Above these values, a pixel is considered colored and therefore thicker than 1.55 (Fig. 4). Three cases can occur and the steps are slightly different for each: option A is for a black-and-white camera; option B

PROTOCOL

Figure 4 | Relation between hue angle (H° in 8 bits) and retardation (nm). The two lines are the polynomial functions that best fit the dots. The retardation has been determined visually and the hue value has been measured on crystals (coccoliths or not).

is used when image saturation is <100 (noncolored); option C is used when saturation is >100 and hue is <42 ; and option D is used when saturation is >100 and hue is >42 .

(A) Black-and-white camera

- (i) Compute the thickness (T) from CV by using the following equation:

$$T = CV \times (1.55/255) \mu\text{m} \quad (7)$$

(B) Color camera, in which the image saturation is <100 (noncolored)

- (i) Compute the thickness (T) from CV by using the following equation:

$$T = CV \times (1.55/255) \mu\text{m} \quad (7)$$

(C) Saturation is >100 and hue is <42 (yellow, orange and red)

- (i) Compute the thickness (T) with hue values by using the following equation:

$$T = (-0.1152 \times H^2 - 0.71335 \times H + 502) / 172 \quad (8)$$

where H is the hue value in 8 bits (transformed from the hue value in degree (H°) with the relation $H = 256 \times H^\circ/360$ because it is what most image software uses, including ImageJ and LabView NIVision).

(D) Saturation is >100 and hue is >42 (green, blue, purple or magenta)

- (i) Compute the thickness (T) with hue values by using the following equation:

$$T = (-573 \times (\text{Log}(H))^2 + 1984 \times \text{Log}(H) - 949) / 172 \quad (9)$$

where H is the hue value in 8 bits (transformed from the hue value in degree (H°) with the relation $H = 256 \times H^\circ/360$).

With our camera, the accuracy of this method is $0.006 \mu\text{m}$ between 0 and $1.55 \mu\text{m}$, $0.008 \mu\text{m}$ between 2.91 and $4.5 \mu\text{m}$, and ranging from 0.06 to 0.006 between 1.55 and $2.91 \mu\text{m}$.

Converting thickness into mass

10| Convert the thickness into mass (M) in picograms (pg) with the following equation:

$$M = T \times A \times d = 0.001 \times T \text{ pg} \quad (10)$$

where d is the density of the calcite (2.71), and A is the area of a pixel in μm^2 ($A = 0.00372 \mu\text{m}^2$ in the present case).

Establishing the mass of an entire particle

11| Sum up the mass estimates for all pixels to obtain the mass of a coccolith (or any particle of calcite)

$$M_{\text{coc}} = \sum (M_{p1} \cdot M_{pn}) \quad (11)$$

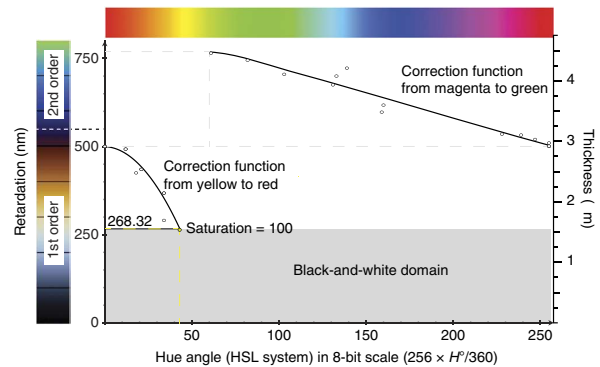
where M_{coc} is the coccolith mass and M_{p1} at the first pixel, and M_{pn} the mass of pixel n . The selection of the region of interest (ROI) can be done manually or automatically²². Macros performing all the successive steps can be easily written in one's favorite image software (e.g., ImageJ). A macro written for LabView (with the NI vision module) is provided in the **Supplementary Data** (see also **Supplementary Methods**). With this macro, once the ROI is selected the results are produced almost instantly.

TIMING

Slide preparation

Smear slide: ~ 5 min

Filtration: 2 h 30 min (e.g., 2 liters on a 2.5-cm membrane: 25 min, drying in oven 2 h, mounting 5 min)



Box 1, random settling technique: ~5 h

Tuning the light of the microscope

Steps 1 and 2, for the first time: 1 h

Step 3, checking the tuning for a new session: 5 min

Manual

Steps 4–5, focus, grabbing images and selection of individuals (ROIs): this depends on the richness of the sediments and the type of microscope, and it ranges from 1 to 3 min depending on the method

Steps 6–11, measure mass from ROI: computer time is <1 s

Automated

Steps 4–11, by using an automated system²², the process takes 30 min for all coccoliths along a 1-cm transect (81 FOVs).

This includes slide positioning (5 min), automated scan of the sample (10 min), image analysis, pattern recognition and morphometry (15 min)

ANTICIPATED RESULTS

Depth of focus

Coccoliths must be in focus to get the best evaluation of their shape and therefore their mass. The aim here is to quantify the effect of focus on the estimation of thickness, in case an image is grabbed slightly out of focus. A potential error could occur when work is conducted with sharp lenses (the one used here has a NA = 1.47) that have a relatively narrow range of depth of focus (here it is 0.365 μm).

In developing this protocol, we tested this with a coccolith of *Florisphaera profunda*, which is one of the thinnest coccoliths. Thirty images were grabbed in a range of focus depth around good focus (**Fig. 5a**). The thickness is estimated by using our method in a central part (which is slightly depressed) and on the entire coccolith. The thickness is estimated to be, on average, 0.211 μm (s.d. = 0.0007) and 0.234 μm (s.d. = 0.0016) for a focus depth of 0.14 μm (**Fig. 5b**). When in focus, the observed precision (reproducibility) of the measurement is on the order of a few nanometers, which is in the same range of thickness as the accuracy of the method given in Step 4 of the PROCEDURE. As the focus departs from the image point, the measured thickness progressively drifts. The 400 pixels in the central area do not show the same drift pattern as the entire coccolith because the surface of the entire coccolith is dependent on the focus level. When the coccolith is out of focus the central area gains some lightness compared with the rest of the coccolith, which at its periphery loses some lightness. The results of this test show that the estimation of thickness is robust even when the object is slightly out of focus; the error in the estimation is <10 nm.

Inclination of the crystals

The optical and crystallographic axes are parallel in the orthorhombic system (i.e., calcite). The inclination of the crystallographic axis (*c* axis) has been estimated in several coccolith species by atomic force microscopy²³ or electron backscattering diffraction²⁴. These studies confirm that the *c* axis is either parallel (R-units) or perpendicular (V-units) to the elongation axis of the crystals²⁵. Some components of coccoliths may be inclined, especially within the shields of placoliths (**Fig. 6**) and therefore the *c* axes are tilted as well^{23,24}.

This tilt could potentially result in a slight underestimation of the thickness because the optical axes would not be perpendicular to the light trajectory (it would be dark if parallel). To test the importance of this inclination on the brightness of crystals, a placolith was observed tilted by 15° on the stage. We used a 20× objective. The light intensity was measured on the two opposite sides of the shields along the tilted axis. A large difference of light intensity should be observed on the opposite sides of the placolith. The upper side should be brighter because it is close to the horizontal, whereas the lower side should be dark because it is largely tilted (**Fig. 6**). However, this was not the case; no major brightness difference between the two sides of the shields

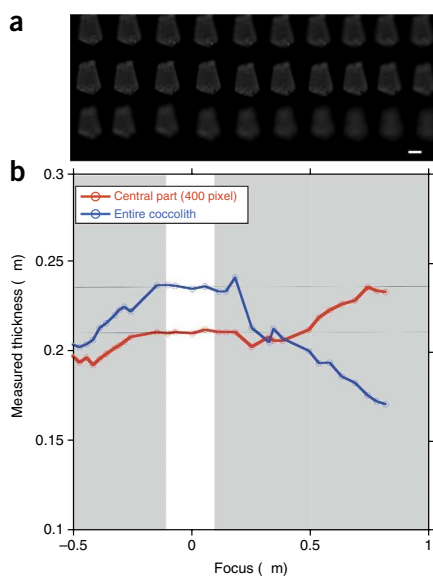
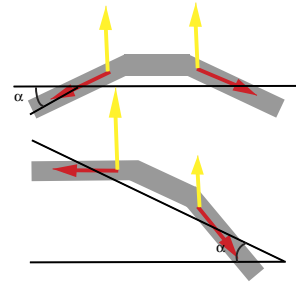


Figure 5 | Effect of focus on measurements of thickness. (a) Images of a coccolith of *F. profunda elongata* in different focus planes. (b) Measured thicknesses of images are shown in a red central area and blue (entire coccolith). The x axis is the depth of focus. The vertical white band marks the in-focus depth. Scale bar, 1 μm .

PROTOCOL

Figure 6 | Schematic representation of the potential effect of the inclination of a coccolith. The coccolith is shown in cross-section. The margin forms an angle with the central area. The red arrows represent the optical axis. The yellow arrows represent the resulting brightness. When the coccolith is tilted by an angle equivalent to the tilt of the shield, the horizontal side of the shield should be at full brightness (maximum length of the yellow arrow on the left) and the most tilted part of the shield should be much darker.



was observed during that test, which we performed on more than 20 placoliths of different species (*Emiliana huxleyi*, *Gephyrocapsa oceanica*, *Pseudoemilinia lacunosa*, *Reticulofenestra pseudoumbilica* and *R. bisecta*). The inclination of the shields does not substantially lower the brightness: the estimated thickness of the inclined crystals is thus not markedly underestimated either.

Thickness

The protocol estimates first the thickness of a calcite particle; mass is then calculated from this value. Therefore, the estimation of thickness has to be reliable. What reliability can be anticipated from this protocol? Circular cylinders such as rhabdolith stems (**Fig. 2**) can be used to test the reliability of the measurements of thickness. The stems of rhabdoliths are plain cylinders that are often slightly conical, and they therefore provide the possibility of estimating different diameters in the same stem. In addition, rhabdoliths are common in sediments. The rhabdoliths are oriented to show maximum brightness. The precision of the measurement of their width, which equals their diameter, is limited by the resolution of the microscope and by the diffraction pattern on the sides of the stems. It is best to estimate the width in natural light at the inner part of the thick line (**Fig. 2a**) corresponding to the edge of the rhabdoliths. The precision of each size measurement is $\sim 0.2 \mu\text{m}$. The precision of the thickness is higher. With this setting, the thickness estimates are reliable and with a precision on the order of 10 nm (**Fig. 7**). It is possible to convert the image to get a scaling of the coccolith thickness and to study the shape of the coccolith. An example is given in **Figure 8**.

Mass of coccoliths

We found that the mass varies widely (up to 1 order of magnitude) among specimens of a single species¹. In dissolution experiments, the mass of coccoliths does not change markedly¹³. It will be important to provide a large database of coccolith mass, size and thickness from many species, with individuals collected from diverse oceanic environments to understand the relation between coccolithophore calcification and oceanic environments.

The astonishing mass of some thick coccoliths was not anticipated. We found, for example, that a *R. bisecta* 12 μm in diameter weighs 492 pg (**Fig. 8**), which is more than three times heavier than a *Coccolithus pelagicus* of the same size and shape (145 pg in Cubillos *et al.*¹⁸). In general, we found that the colored coccoliths commonly found in the Paleogene and Miocene, for example, are much heavier than their late Neogene counterparts of the same size. The use of this protocol with a color camera is important to quantify these changes in the fossil record.

Estimating the amount of calcite

The amount of calcite in a sample can be estimated with this protocol. A known amount of sediment is deposited on a coverslip. The luminosity of several FOVs is converted into mass, in which case the FOV is considered as a single particle. Comparing this estimated mass with the sediment weight provides an estimation of the carbonate content of fine sediments.

This amount can also be compared with the total coccolith mass estimated for the entire sample, giving an estimate of the coccolith contribution to the total fine carbonate in a sample⁴.

The reliability of the method can be tested by estimating the amount of calcite present on a small coverslip and comparing it with its precisely weighed amount. In the experiment shown in **Figure 9**, we prepared the samples according to the random settling method²⁰ (**Box 1**). A small amount of pure calcite powder was homogenized (ultrasonication and stirring)

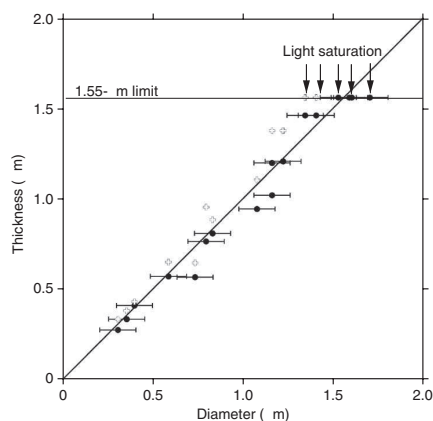


Figure 7 | Width (diameter) of rhabdolith stems measured with a microscopic scale compared with the estimated thickness at the same position on the stems. Black dots: measurements at 70 ms; white crosses: measurements at 90 ms. The horizontal line marks the limit of 1.55 μm above which light saturation occurs. Error bars represent the microscope resolution.

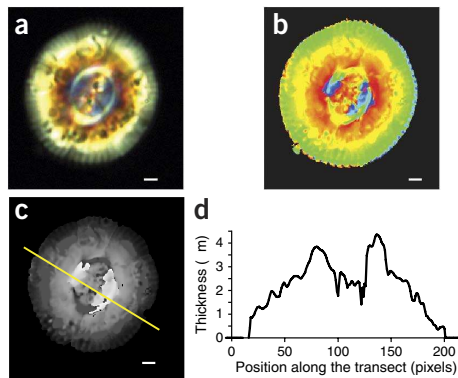


Figure 8 | Illustration of coccolith thickness. (a) *R. bisecta* is shown after having being merged (Step 5) in RGB color. (b) Hue values. (c) Thickness in 8 bits (255 GL = 4.48 μm). (d) Transect of the thickness along the yellow line shown in c. Scale bars, 1 μm .

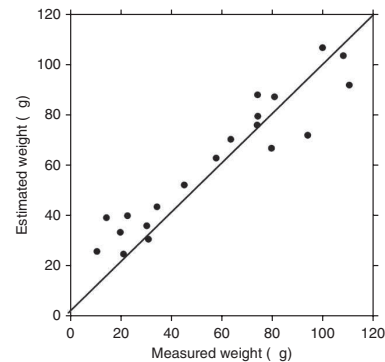


Figure 9 | Comparison of the measured (ultra-microbalance) and estimated (with the protocol) weights of thin and pure calcite powder deposited by decantation (random settling method) on 144 mm² coverslips.

in water and poured into a beaker containing at the bottom one or two coverslips (12 × 12 mm) that were previously weighed. After 4 h of settling, the water is pumped out of the beaker and the coverslips are dried and reweighed. We used an ultra-microbalance METTLER TOLEDO (precision 0.1 μg). The difference between the two measurements of weight is the amount of carbonate present on the coverslips. The slides are then taken to the microscope. One transect, 5 mm long and 125 μm wide, is scanned on every slide. The total carbonate amount estimated in this transect with our method is multiplied by 230 (= (12 × 12)/(5 × 0.125)). In the example experiment shown in **Figure 9**, there was good correlation between the values estimated by using our approach and the values corresponding to accurate weighing, demonstrating the reliability of the method. Most of the dispersion around the 1:1 relation is due to the unevenness of the distribution of the particles during settling.

It is therefore possible to determine the total amount of calcite present on a slide with this protocol. By determining the mass of all the coccoliths present in the sample, it is possible to accurately determine the contribution of coccoliths to the carbonate production (net or exported, depending on whether one is working with samples from the water column samples or from the sediments).

Note: Any Supplementary Information and Source Data files are available in the online version of the paper.

ACKNOWLEDGMENTS We thank M.-P. Aubry and J. Henderiks for useful discussions. This work has received financial support from the EU Seventh Framework program Past4Future and from the Agence Nationale de la Recherche under project ANR-12-B06-0007 (CALHIS).

AUTHOR CONTRIBUTIONS L.B. conceived the different aspects of this protocol and wrote the manuscript. N.B. commented on the manuscript, established the equation for the color camera and wrote codes for the color thickness calculation. Y.G. wrote the codes for microscope automation and wrote most of the codes for image analysis. All authors contributed to the protocol and its writing by frequent discussions as well as manuscript reading and correcting.

COMPETING FINANCIAL INTERESTS The authors declare no competing financial interests.

Reprints and permissions information is available online at <http://www.nature.com/reprints/index.html>.

1. Beaufort, L. *et al.* Sensitivity of coccolithophores to carbonate chemistry and ocean acidification. *Nature* **476**, 80–84 (2011).
2. Beltran, C., de Rafelis, M., Person, A., Stalport, F. & Renard, M. Multiproxy approach for determination of nature and origin of carbonate micro-particles so-called ‘micarb’ in pelagic sediments. *Sediment. Geol.* **213**, 64–76 (2009).
3. Minoletti, F., Hermoso, M. & Gresier, V. Separation of sedimentary micron-sized particles for palaeoceanography and calcareous nannoplankton biogeochemistry. *Nat. Protoc.* **4**, 14–24 (2008).

4. Beaufort, L., Couapel, M.J.J., Buchet, N., Claustre, H. & Goyet, C. Calcite production by coccolithophores in the south east Pacific Ocean. *Biogeosciences* **5**, 1101–1117 (2008).
5. Beaufort, L. & Heussner, S. Coccolithophorids on the continental slope of the Bay of Biscay, I. Production, transport and contribution to mass fluxes. *Deep Sea Res. II* **46**, 2147–2174 (1999).
6. Young, J. & Ziveri, P. Calculation of coccolith volume and its use in calibration of carbonate flux estimates. *Deep Sea Res.* **47**, 1679–1700 (2000).
7. Hassenkam, T., Johnsson, A., Bechgaard, K. & Stipp, S.L.S. Tracking single coccolith dissolution with picogram resolution and implications for CO₂ sequestration and ocean acidification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 8571–8576 (2011).
8. Stoll, H.M. & Shimizu, N. Micropicking of nanofossils in preparation for analysis by secondary ion mass spectrometry. *Nat. Protoc.* **4**, 1038–1043 (2009).
9. Takahashi-Shimase, K. & Nakashima, S. Shape changes of calcareous nanofossils upon aqueous dissolution as revealed by atomic force microscope measurements. *Geophys. Res. L.* **31**, L14313 (2004).
10. Beaufort, L. Weight estimates of coccoliths using the optical properties (birefringence) of calcite. *Micropaleontol.* **51**, 289–298 (2005).
11. Grelaud, M., Schimmelmann, A. & Beaufort, L. Coccolithophore response to climate and surface hydrography in Santa Barbara Basin, California, AD 1917–2004. *Biogeosciences* **6**, 2025–2039 (2009).
12. Engel, A. *et al.* Testing the direct effect of CO₂ concentration on a bloom of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* in mesocosm experiments. *Limnol. Oceanogr.* **50**, 493–507 (2005).
13. Beaufort, L., Probert, I. & Buchet, N. Effects of acidification and primary production on coccolith weight: implications for carbonate transfer from the surface to the deep ocean. *Geochem. Geophys. Geosyst.* **8**, Q08011 (2007).

PROTOCOL

14. Michel-Levy, A. & Lacroix, A. *Les Minéraux des Roches. 1: Application des Méthodes Minéralogiques et Chimiques à leur Étude Microscopique. 2: Données Physiques et Optiques* (Librairie Polytechnique Baudry, 1888).
15. Sorensen, B.B. A revised Michel-Lévy interference colour chart based on first-principles calculations. *Eur. J. Mineral.* **25**, 5–10 (2013).
16. Fuertes, M.A., Flores, J.-A. & Sierro, F.J. A new technique for observing calcareous nannofossils: methodology and application. (Oral presentation at International Nannoplankton Association, 15–19 September 2013, Reston, Virginia, USA). Abstract in *J. Nannoplankton Res.* **33**, 59 (2013).
17. Bollmann, J. Technical note: weight approximation of single coccoliths inferred from retardation estimates using a light microscope equipped with a circular polariser – (the CPR Method). *Biogeosciences Discuss.* **10**, 11155–11179 (2013).
18. Cubillos, J.C., Henderiks, J., Beaufort, L., Howard, W.R. & Hallegraeff, G.M. Reconstructing calcification in ancient coccolithophores: individual coccolith weight and morphology of *Coccolithus pelagicus* (sensu lato). *Marine Micropaleontol.* **92–93**, 29–39 (2012).
19. Giraudeau, J. & Beaufort, L. Coccolithophores from extant populations to fossil assemblages. in *Developments in Marine Geology* Vol. 1 (eds. Hilaire-Marcel, C. & de Vernal, A.) 409–439 (Elsevier, 2007).
20. Beaufort, L. Adaptation of the random settling method for quantitative studies of calcareous nannofossils. *Micropaleontol.* **37**, 415–418 (1992).
21. Rottenfusser, R., Price, S.P. & Davidson, M.W. *Microscope Alignment for Köhler Illumination* <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/tutorials/basics/microscopealignment/index.html>.
22. Beaufort, L. & Dollfus, D. Automatic recognition of coccoliths by dynamical neural network. *Mar. Micropaleontol.* **51**, 57–73 (2004).
23. Henriksen, K., Stipp, S.L.S., Young, J.R. & Bown, P.R. Tailoring calcite: nanoscale AFM of coccolith biocrystals. *Am. Mineral.* **88**, 2040–2044 (2003).
24. Saruwatari, K., Ozaki, N., Nagasawa, H. & Kogure, T. Comparison of crystallographic orientations between living (*Emiliania huxleyi* and *Gephyrocapsa oceanica*) and fossil (*Watznaueria barnesiae*) coccoliths using electron microscopes. *Am. Mineral.* **93**, 1670–1677 (2008).
25. Young, J., Didymus, J.M., Bown, P.R., Prins, B. & Mann, S. Crystal assembly and phylogenetic evolution in heterococcoliths. *Nature* **356**, 516–518 (1992).

Les éléments techniques nécessaires à un système de reconnaissance automatique et d'acquisition rapide de mesures sont réunis. La dernière étape consiste à réunir une base d'images de référence pour entraîner les classificateurs statistiques. Elle se doit d'être complète et optimisée en fonction des tests de performances des classificateurs. Pour cela, il peut être nécessaire de regrouper des espèces ensemble afin de former des « morphogroupes » et de combiner différentes méthodes statistiques.

« Dans un monde toujours plus complexe, les scientifiques ont besoin des deux outils : des images aussi bien que des nombres, de la vision géométrique aussi bien que de la vision analytique. »

Une approche fractale des marchés : risquer, perdre et gagner, Benoît Mandelbrot.

Références citées

- Beaufort, L., 2005. Weight estimates of coccoliths using the optical properties (birefringence) of calcite. *Micropaleontology* 51, 289-297.
- Beaufort, L., Barbarin, N., Gally, Y., 2014. Optical measurements to determine the thickness of calcite crystals and the mass of thin carbonate particles such as coccoliths. *Nature Protocols* 9, 633-642.
- Danielsson, P.-E., 1980. Euclidean distance mapping. *Computer Graphics and Image Processing* 14, 227-248.
- Fresnel, A.-J., 1819a. Memoir on the Diffraction of Light, in: Huygens, C., Young, T., Fresnel, A.-J., Arago, F. (Eds.), *The Wave Theory of Light*. American Book Company, pp. 79-145.
- Fresnel, A.-J., 1819b. On the Action of Rays of Polarized Light upon Each Other, in: Huygens, C., Young, T., Fresnel, A.-J., Arago, F. (Eds.), *The wave theory of light*, pp. 145-156.
- Gonzalez, R.C., Woods, R.E., 2007. *Digital Image Processing*, 3 ed. Pearson Education.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 1-9.
- Kato, T., 2001a. A method to synthesize interference color chart with personal computer. *Journal of Geological Society of Japan* 107, 64-67.
- Kato, T., 2001b. Synthesized interference color chart with personal computer. *Journal of Geological Society of Japan* 107, I - II.
- Meyer, F., 1994. Topographic distance and watershed lines. *Signal Processing* 38, 113-125.
- Michel-Lévy, A., Lacroix, A., 1888. *Les minéraux des roches*. Baudry et cie.
- Najman, L., Talbot, H., 2008. *Morphologie mathématique : Tome 1, Approches déterministes* Hermes Science Publications.
- Najman, L., Talbot, H., 2010. *Morphologie mathématique 2: estimation, choix et mise en œuvre*. Hermes Science Publications.
- Russ, J.C., 2011. *The Image Processing Handbook*, 6 ed. CRC Press Inc.
- Schanda, J., 2007. *Colorimetry : understanding the CIE system*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, p. 467.

5. LE NOUVEAU SYRACO

5.1. AVANT-PROPOS

5.1.1. Les avancées techniques

L'équipement du nouveau SYRACO est composé globalement de quatre éléments (**Figure 5-1**). Tout d'abord le microscope Leica équipé de deux échangeurs rotatifs à « cubes » contenant des polariseurs et des analyseurs, et une platine automatisable en x, y et z. Le microscope est relié à un ordinateur par une interface d'acquisition écrite en LabVIEW. Les images sont prises par une caméra RGB 48-bits ou Noir et Blanc 14-bits. L'ordinateur sert aussi au traitement d'image, dont la segmentation. Il est quant à lui connecté via le réseau informatique à un serveur de calcul, qui servira à classifier les centaines de milliers d'images segmentées. Une autre version de SYRACO permet de réaliser tous les traitements sur serveur plus rapidement encore.

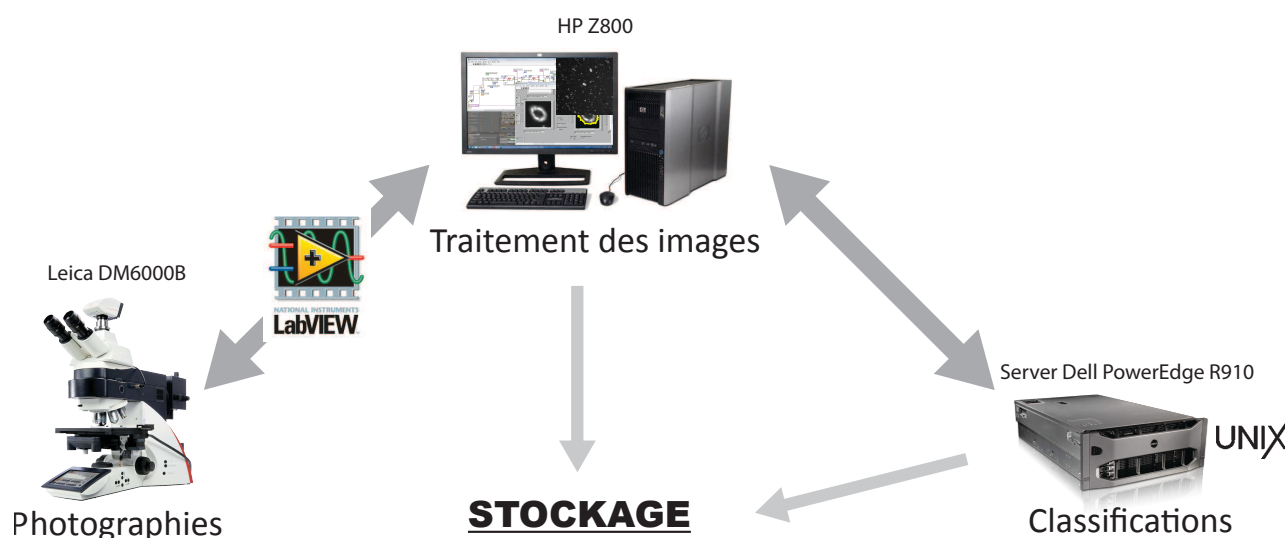


Figure 5-1. Schéma général des équipements de SYRACO.

5.1.2. La base de référence de nanfossiles

Les équipements du système sont complétés par une base de données composée d'images et de mesures qui serviront à l'apprentissage des algorithmes de classification. Les individus composant cette banque d'images proviennent d'échantillons répartis entre l'Éocène et l'actuel sur différentes carottes provenant de tous les océans (*cf.* article). La banque d'images contient alors toutes les formes possibles de cette période regroupées en morphogroupes, le temps d'acquisition ne permettant pas de collecter suffisamment d'individus par espèce.

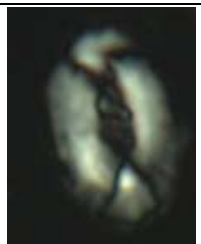
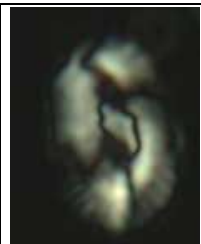









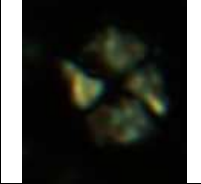
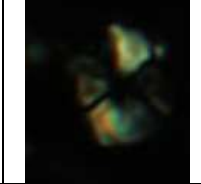
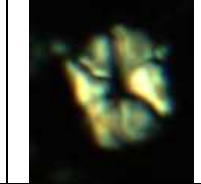
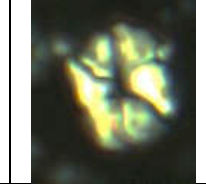

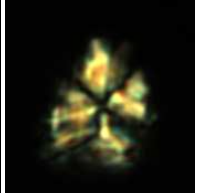
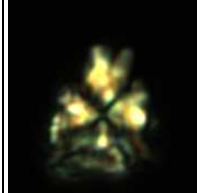
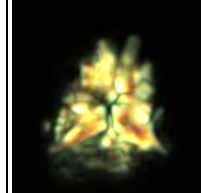
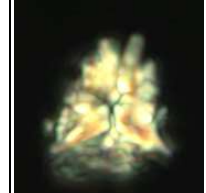





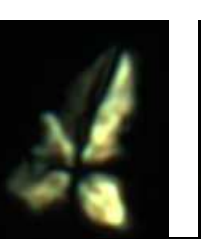
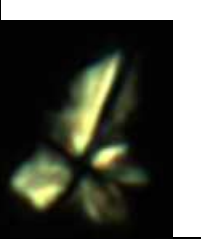
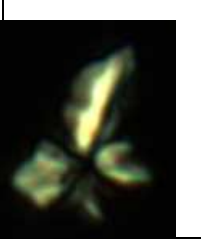
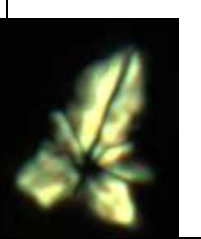


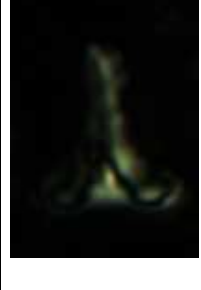

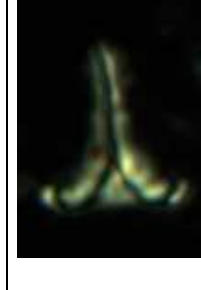
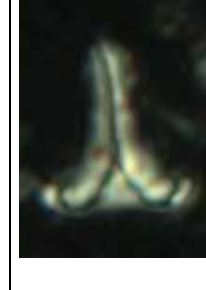
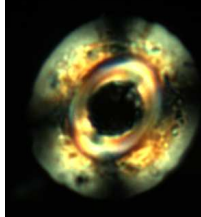
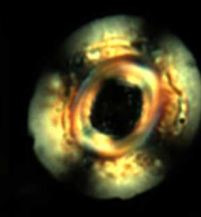
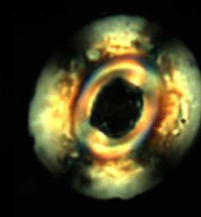
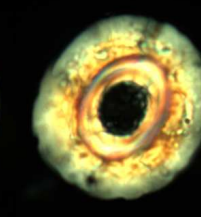
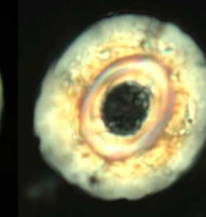
Les nanfossiles peu biréfringents regroupent environ 6000 spécimens répartis en 16 groupes de formes dont un groupe « Placolithes » de 3340 spécimens en 20 groupes. Les nanfossiles très biréfringents regroupent environ 2500 spécimens répartis en 11 groupes de formes dont un groupe « Placolithes » de 1000 spécimens en 9 groupes. Les nanfossiles non-biréfringents regroupent environ 1500 spécimens en




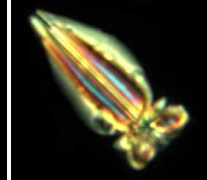
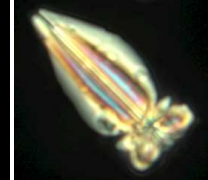
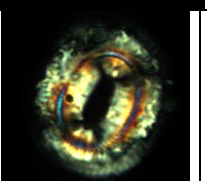
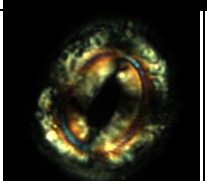
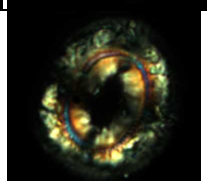
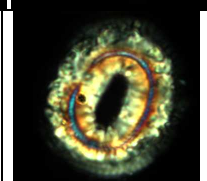
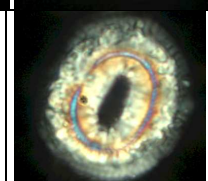
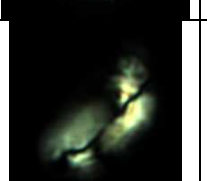
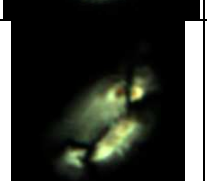
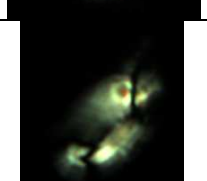




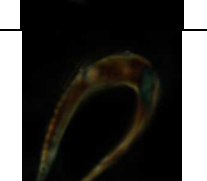
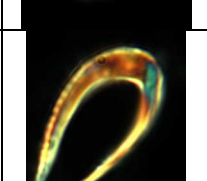



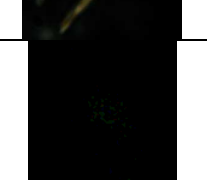


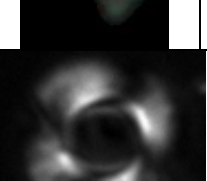
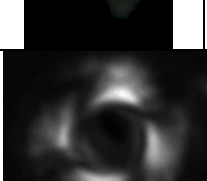
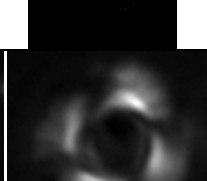
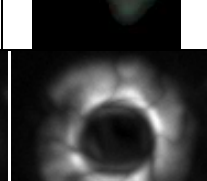
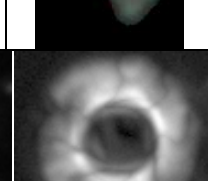
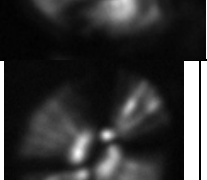
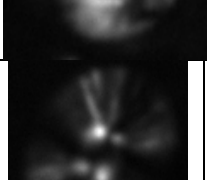
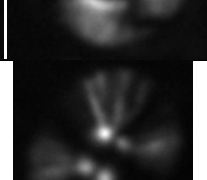
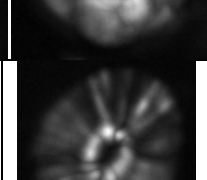
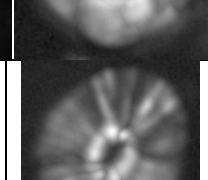
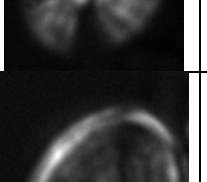
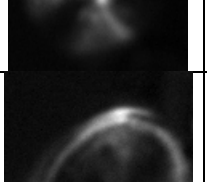
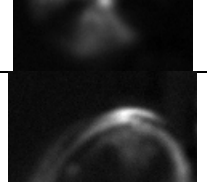
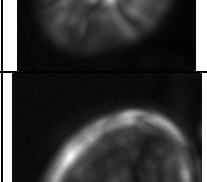
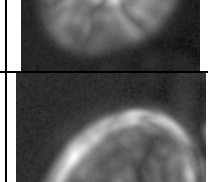
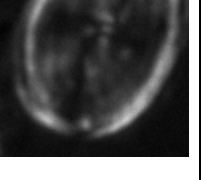
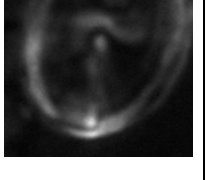
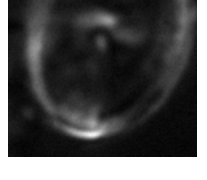
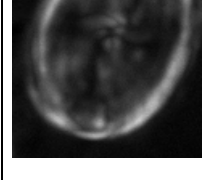
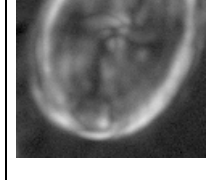
trois groupes : Discoasters, Amaurolithes + Ceratholithes et *Isthmolithus*.




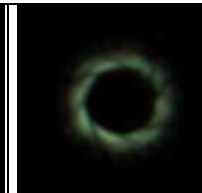
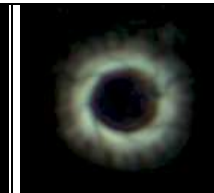
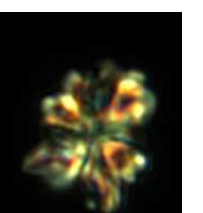
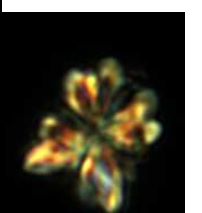
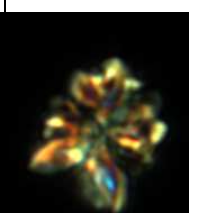
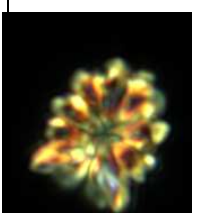

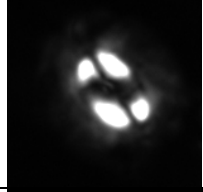
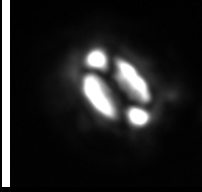
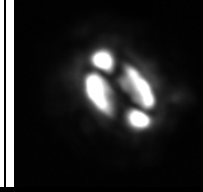
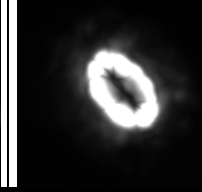
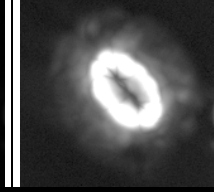

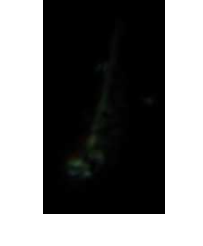
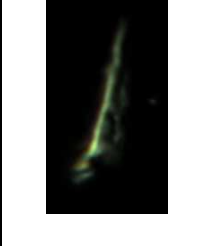
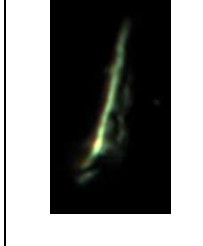
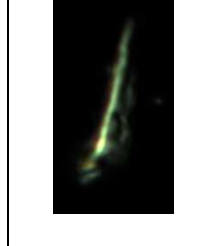


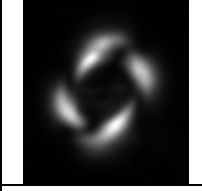
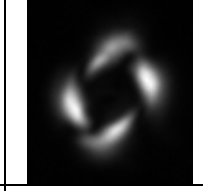
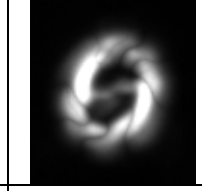
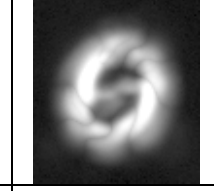
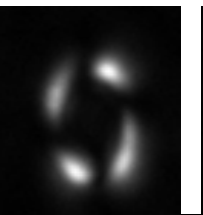
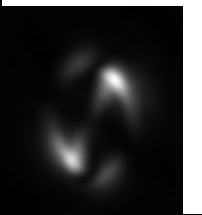
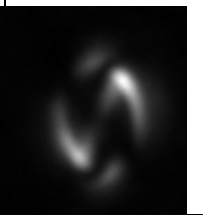
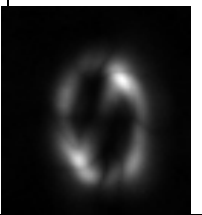
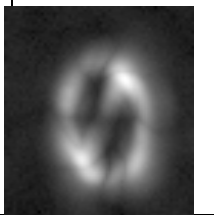
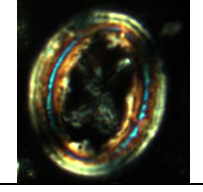
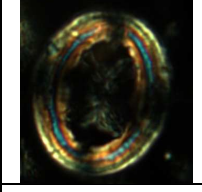
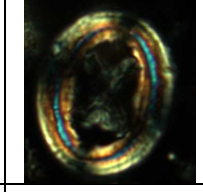
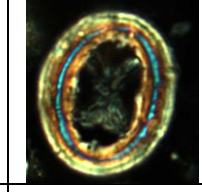
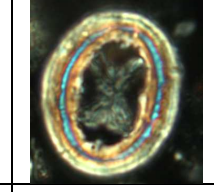
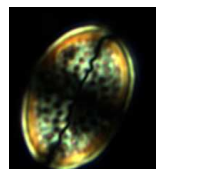
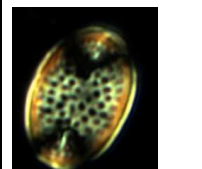
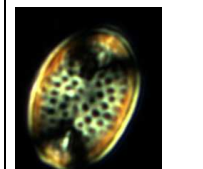
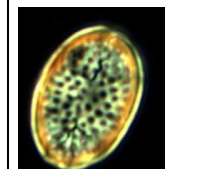

Cette banque d'images contient aussi des non-nannofossiles qui devront être appris par les réseaux de neurones et les modèles statistiques afin de les filtrer au maximum. Il y en a environ 4000 pour les nannofossiles peu biréfringents, 1400 pour nannofossiles très biréfringents et 12000 pour les nannofossiles non-biréfringents.

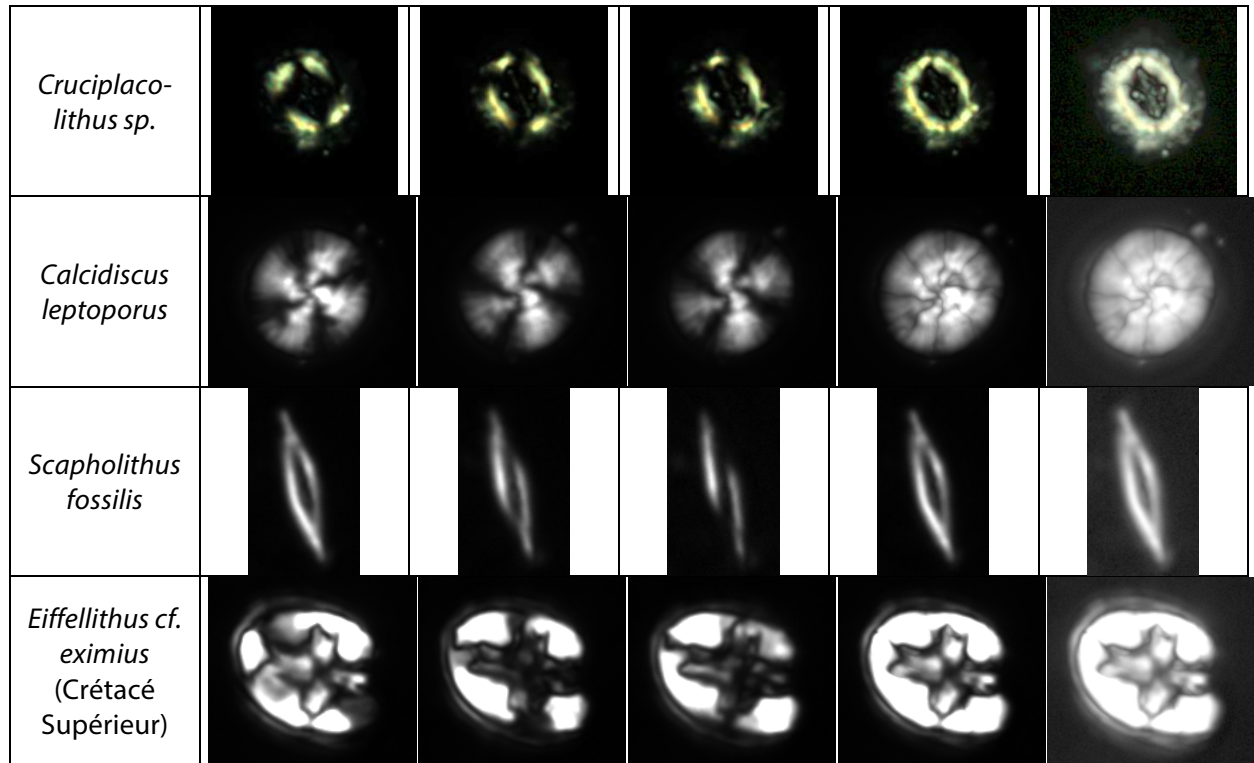
Le travail de classification est réalisé à partir des images combinées des vignettes (MAX) et avec ajout d'un gamma de 0,45. Voici quelques exemples de combinaisons :

Espèce	0°	35°	45°	MAX	Gamma
<i>Emiliana huxleyi</i>					
<i>Ericsonia lacunosa</i>					
<i>Hayella situliformis</i>					
<i>Bicolumnus ovatus</i>					
<i>Braaduro-sphaera bigelowi</i>					
<i>Dictyo-coccytes bisectus</i>					
<i>Reticulo-fenestra floridanus</i>					

<p><i>Helico-sphaera bramlettei</i></p>					
<p><i>Isthmolithus recurvus</i></p>					
<p><i>Lanternithus minutus</i></p>					
<p><i>Sphenolithus sp.</i></p>					
<p><i>Sphenolithus heteromorphus</i></p>					
<p><i>Sphenolithus cf. radians</i></p>					
<p><i>Zygrhablithus bijugatus</i></p>					
<p><i>Reticulo- fenestra umbilica</i></p>					

<i>Sphenolithus pseudoradians</i>					
<i>Coccolithus eopelagicus</i>					
<i>Helicosphaera carteri</i>					
<i>Ceratolithus cristatus</i>					
<i>Florisphaera profunda</i>					
<i>Umbilicosphaera sibogae</i>					
<i>Umbellosphaera tenuis</i>					
<i>Syracosphaera pulchra</i>					
<i>Rhabdosphaera claviger</i>					

<i>Pseudo-emiliana lacunosa</i>					
<i>Sphenolithus moriformis</i>					
<i>Coccolithus pelagicus</i>					
<i>Triquetrorhabdulus rugosus</i>					
<i>Orthorhabdus serratus</i>					
<i>Gephyrocapsa oceanica</i>					
<i>Gephyrocapsa ericsonii</i>					
<i>Chiasmolithus grandis</i>					
<i>Pontosphaera japonica</i>					



5.1.1. Les paramètres descriptifs

Lors de la segmentation des champs de vue, tous les objets sont soumis à de nombreuses mesures afin de les décrire de manière complète et diversifiée. La plupart des paramètres descriptifs sont intuitifs (taille, poids, présence d'une ouverture centrale, présence d'un pont, élongation, circularité...), d'autres sont moins évidents à appréhender concrètement (paramètres de texture de Haralick selon plusieurs fenêtres/kernels, paramètres d'une polynomiale ajustée sur le profil des objets, moyennes des mesures de signaux sur les pixels, mesures de signaux et spectrales sur le contour...). Cette exhaustivité de variables sert donc à établir des modèles de classification décrits chapitre 3.

Le cas des objets non-biréfringents est particulier car les images utiles sont celles en lumière naturelle et il n'est pas possible de les segmenter par la détermination d'une valeur seuil pour soustraire le fond (comme en Nicol croisés). On ne peut distinguer clairement que les bords des objets. Les tests de *pattern matching* n'ont pas abouti car les instruments LabView se sont avérés incapables de généraliser les formes. Le séminaire au club MATHIAS de TOTAL, à Paris en octobre 2012 m'a conforté dans l'idée de travailler sur la détection de gradients de pixels pour extraire les contours des objets, suite à une discussion avec Antoine Eloi (CEA). Cela m'a permis aussi de trouver de nouveaux paramètres descriptifs.

Dans les situations biréfringentes et non-biréfringentes, un ensemble de filtres à particules est appliqué aux images pour délimiter au mieux les contours des spécimens. Les particules ainsi supprimées n'influencent pas cet ajustement des mesures. Malgré cette précaution, cela ne suffit pas toujours et il peut rester des pixels confondus avec les bordures « réelles ».

5.1.2. Les tests des modèles de classifications

Le processus de classification définitif est le produit de très nombreux tests de différentes combinaisons de groupes d'images et de mesures avec des algorithmes diversifiés (décrits chapitre 3.2), en jouant parfois sur la variabilité de quelques paramètres.

Lors des apprentissages, les réseaux de neurones sont sauvegardés toutes les 20 itérations. Bien que le dernier (en général à 800 tours) soit souvent le meilleur, certains réseaux intermédiaires ont de meilleurs résultats (**Figure 5-2a**). Il est possible de jouer sur plusieurs paramètres lors de l'apprentissage (nombre de rotations, de dilatations... cf. chapitre 3), influant sur la durée d'apprentissage et lors des tests de classifications sur le nombre d'action (de 0 à l'infini) et le seuil de décision (de -1 à 1). Ce qui augmente de manière exponentielle les possibilités. Nous nous sommes limités au nombre d'action et au seuil de décision (**Figure 5-2b**). Les comptages sont réalisés sur des mosaïques qui regroupent les images par classe prédite (**Figure 5-3** et **Figure 5-4**).

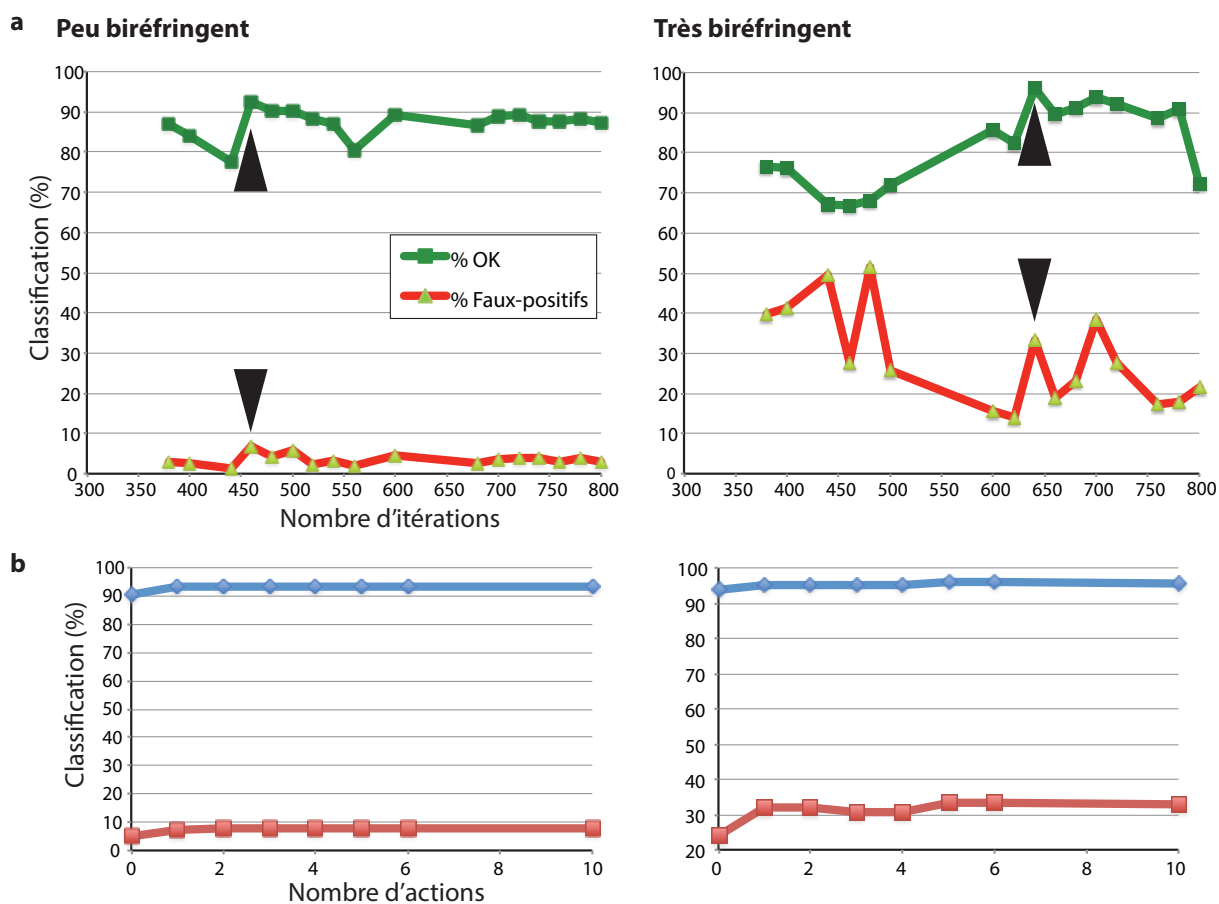


Figure 5-2. Exemples de tests de classifications binaires par ANN pour deux groupes de nanofossiles et de non-nanofossiles. Les meilleures classifications sont marquées par les flèches noires. Les réseaux correspondants ont été testés en fonction du nombre d'action (b). Les changements sont minimes. Il est intéressant de remarquer que les meilleurs ANN pour récupérer les nanofossiles sont aussi parmi les plus mauvais pour filtrer les non-nanofossiles.

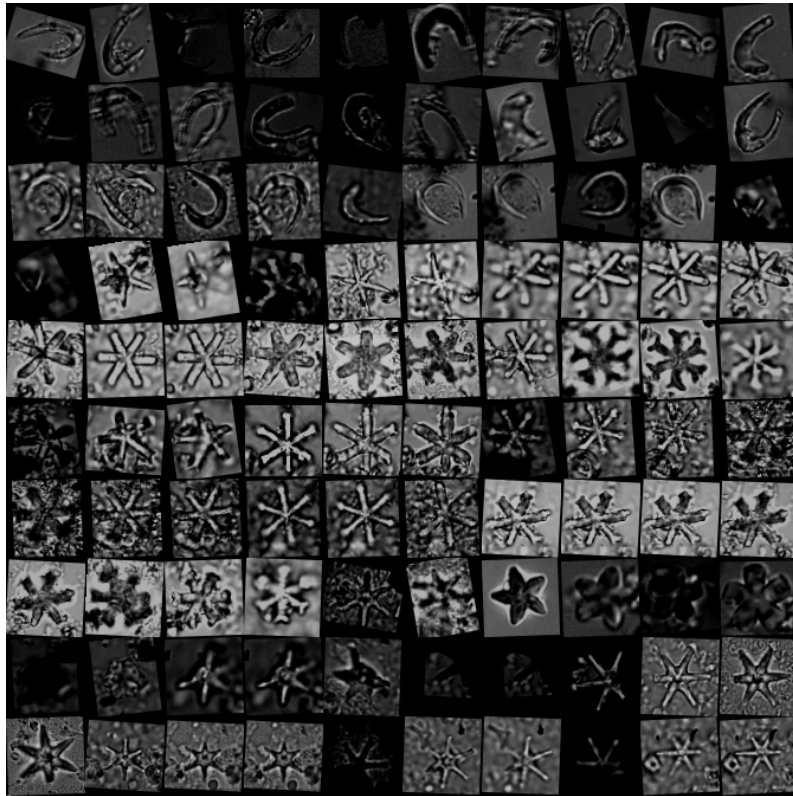


Figure 5-3. Exemple de sortie d'une classification correcte sur la banque d'images de nanofossiles non-biréfringents (ici Discoasters, Amaurolithes et Ceratolithes).

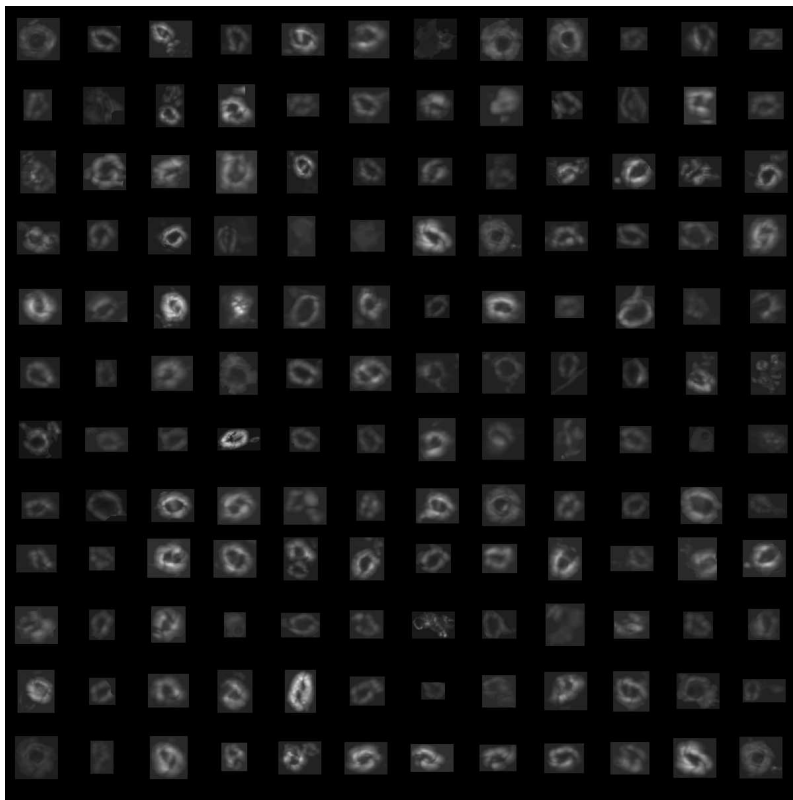


Figure 5-4. Exemple de sortie d'une classification correcte de placolithes d'une carotte du golfe de Papouasie (MD052930). La généralisation est très bonne, même avec des particules accolées aux coccolithes, avec très peu de faux-positifs.

Pour les tests de classifications statistiques, la méthode était de regrouper d'abord les images en classes, puis de lancer le programme de morphométrie sur toutes les images afin d'obtenir toutes les mesures déjà triées par groupes. Des modèles sont calculés puis testés sur différentes combinaisons de groupes, en prenant en compte quels groupes sont confondus entre eux, via les matrices de confusions (**Table 1**). Dans ce cas-là, un autre modèle peut les différencier plus efficacement, et ainsi de suite.

de \ Vers	cla	cor	cpe	emi	eri	geo	gep	ger	hel	lep	neo	pon	pse	reo	ret	rfl	syb	sye	syr	umb	usi	Total	% correct
cla	86	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	98	87,76%
cor	0	72	0	1	0	0	0	0	0	4	0	0	10	0	0	0	0	0	0	1	0	88	81,82%
cpe	7	0	488	2	2	2	0	0	13	18	0	0	0	2	32	2	0	0	0	0	3	571	85,46%
emi	0	0	0	576	0	26	60	43	0	0	1	0	10	8	0	0	9	0	3	2	0	738	78,05%
eri	0	0	3	0	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	61	91,80%
geo	2	0	0	44	0	563	41	0	1	1	0	0	8	36	3	0	0	0	0	1	2	702	80,20%
gep	0	0	0	6	0	16	284	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	316	89,87%
ger	0	0	0	22	0	0	9	304	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	337	90,21%
hel	1	0	4	0	1	1	0	0	341	1	0	4	0	0	30	1	0	0	2	0	0	386	88,34%
lep	0	0	2	1	0	0	4	0	0	319	0	0	0	0	6	2	0	0	0	4	6	344	92,73%
neo	0	4	0	0	1	2	0	0	0	1	309	0	0	0	0	0	0	0	0	10	14	341	90,62%
pon	7	0	3	0	0	0	0	0	24	0	0	126	0	0	15	2	0	6	8	0	0	191	65,97%
pse	0	0	4	10	0	37	0	0	0	2	18	0	309	7	0	0	0	4	0	0	5	396	78,03%
reo	0	0	4	15	0	47	7	0	0	2	0	0	10	91	52	1	0	4	0	1	0	234	38,89%
ret	8	0	14	0	0	17	24	0	3	33	0	2	2	4	503	8	0	0	0	0	3	621	81,00%
rfl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	6	133	0	0	0	0	2	146	91,10%
syb	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	86	0	6	0	0	96	89,58%
sye	2	0	0	4	0	2	0	0	0	0	4	4	5	0	0	4	264	11	4	0	304	86,84%	
syr	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	14	10	308	35	0	373	82,57%	
umb	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	39	198	4	249	79,52%
usi	0	0	3	0	1	2	0	0	0	7	20	0	2	0	2	0	0	0	3	7	249	296	84,12%
Total	115	76	527	681	61	715	429	365	384	393	348	138	355	153	659	150	119	288	380	263	289	6888	82,24%

Table 1. Exemple de matrice de confusion de classification croisée sur 21 groupes de placolithes. Les lignes correspondent aux groupes de la base d'apprentissage (ou de test) et les colonnes correspondent à la classification des observations par le modèle. Le bout de chaque ligne correspond au nombre et au pourcentage bien classé. Les bons classements sont sur la diagonale.

Pour représenter visuellement les différentes combinaisons de classes, nous présentons des analyses discriminantes linéaires sur l'ensemble des variables (**Figure 5-5** à **Figure 5-10**). Les classes ont été regroupées de manière optimum selon les résultats des tests de classifications statistiques. Cela permet de mettre en évidence certains patterns discriminés par certaines combinaisons de variables. De plus, ces figures montrent bien la nécessité d'utiliser des méthodes spécialisées de classification statistique à cause du fort recouvrement de certains groupes.

• Les nanfossiles biréfringents et peu épais :

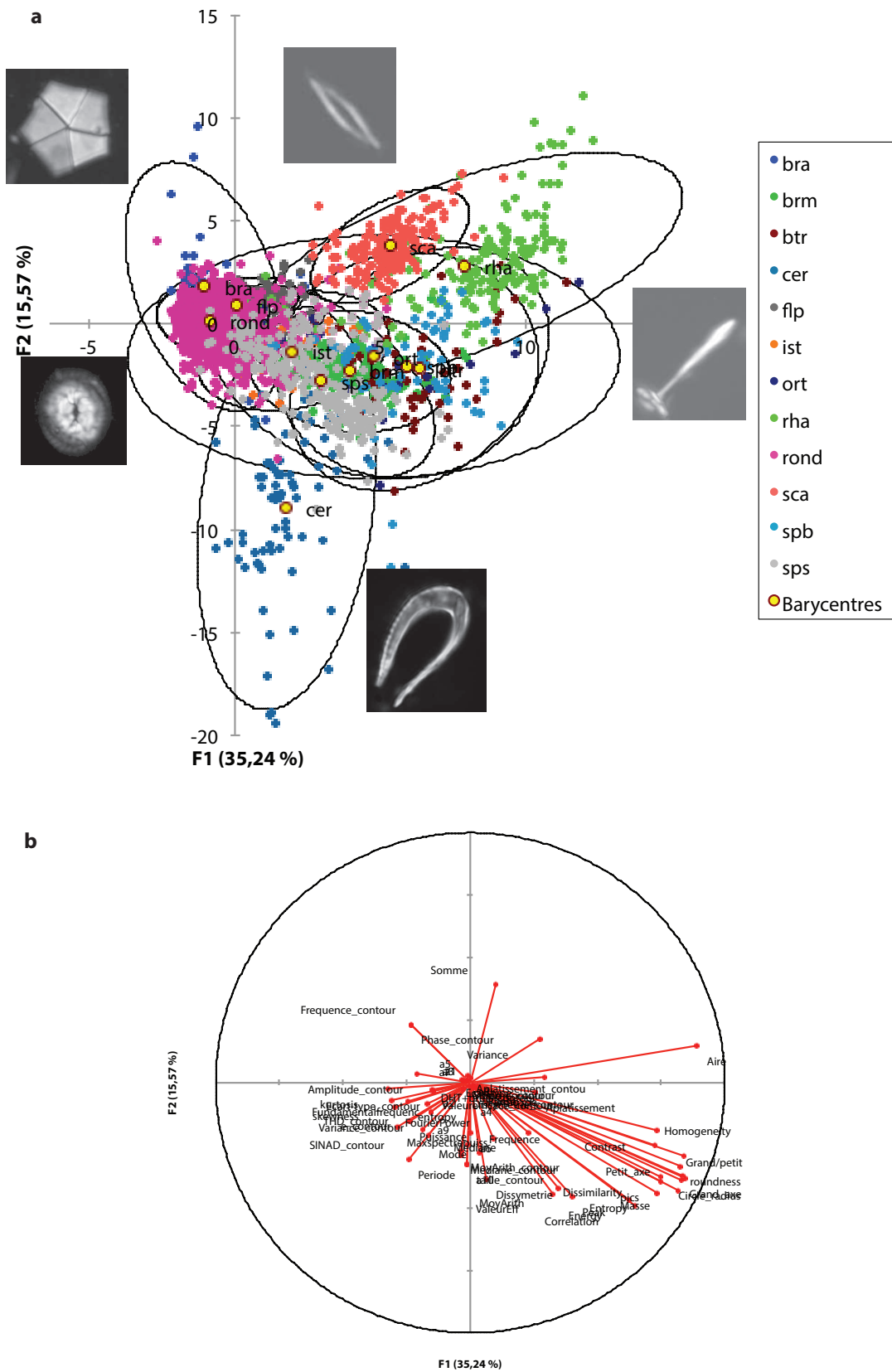


Figure 5-5. Analyse discriminante de tous les nanfossiles biréfringents peu épais avec leurs différents morphogroupes (a) et les corrélations entre les combinaisons de variables et les facteurs (b). Les axes choisis pour les représentations (F1 et F2) correspondent aux deux facteurs les plus importants.

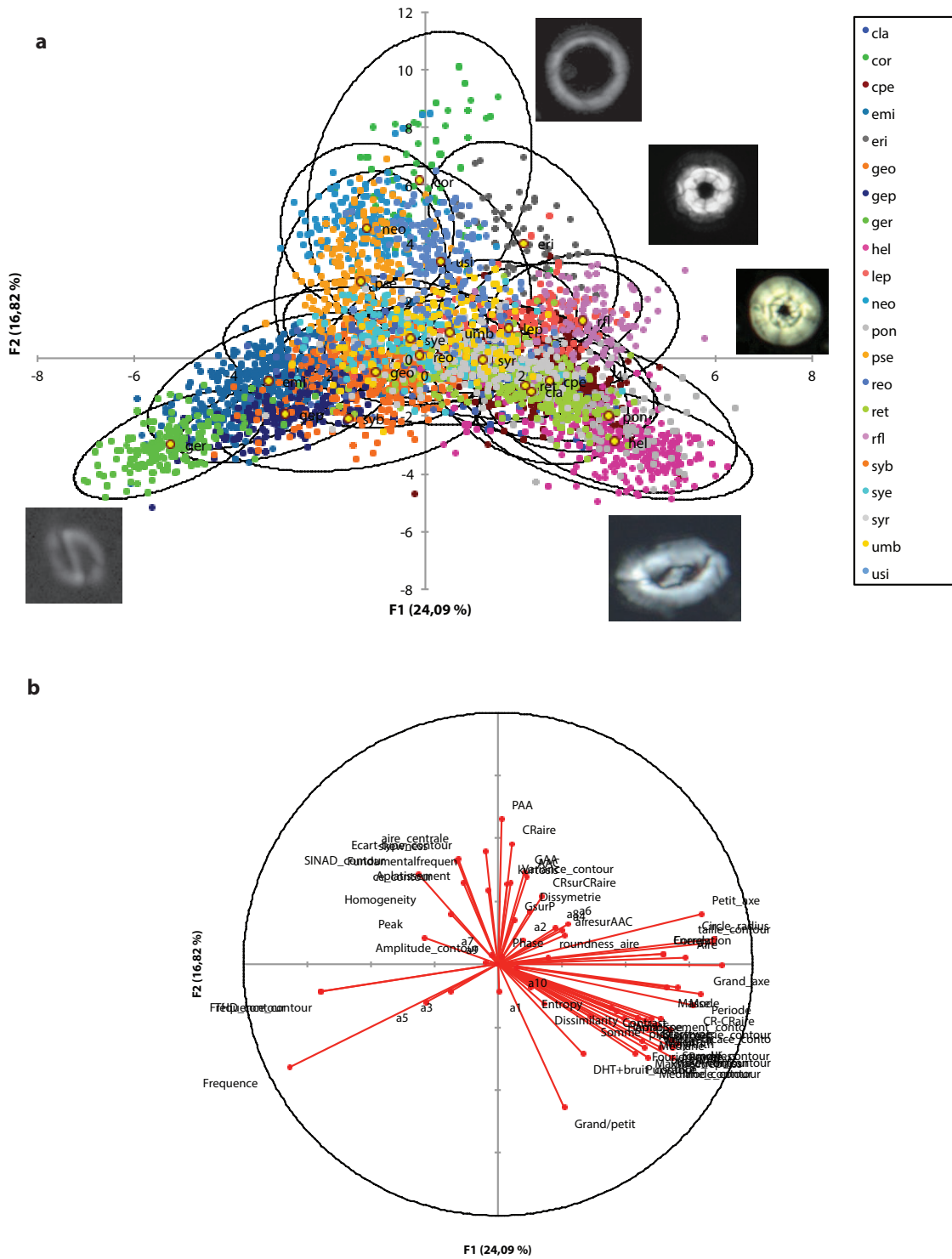
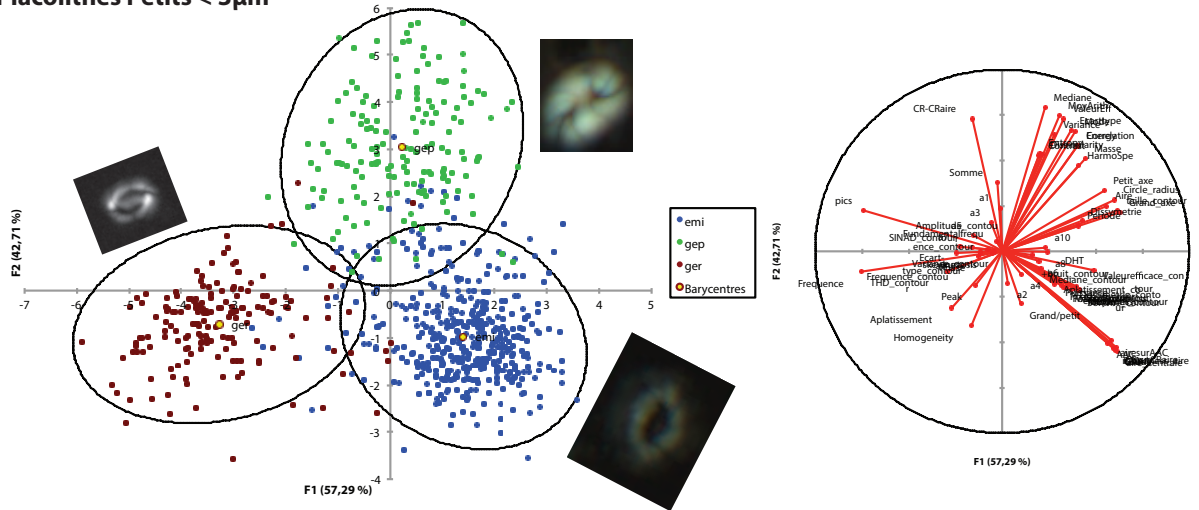
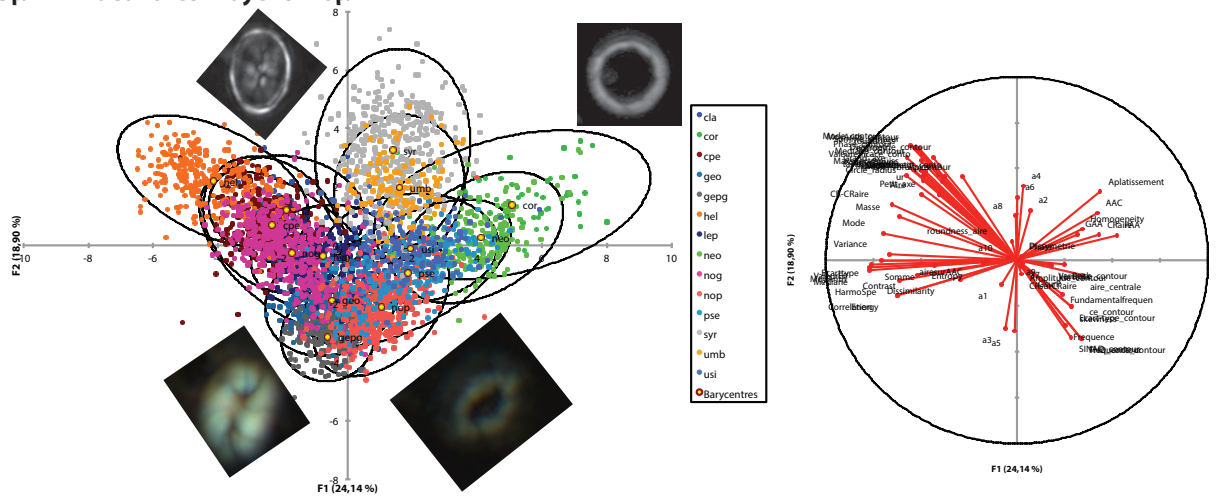


Figure 5-6. Analyse discriminante de tous les placolithes biréfringents peu épais avec leurs différents morphogroupes (a) et les corrélations entre les combinaisons de variables et les facteurs (b). Les axes choisis pour les représentations (F1 et F2) correspondent aux deux facteurs les plus importants.

Placolithes Petits < 3µm



3µm < Placolithes Moyens < 6µm



6µm < Placolithes Gros

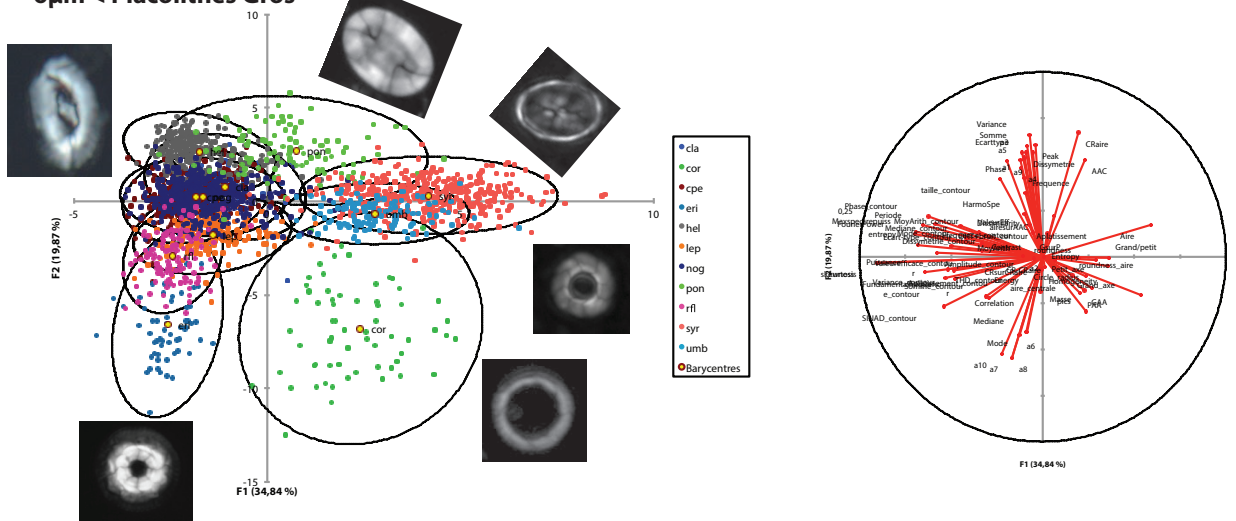
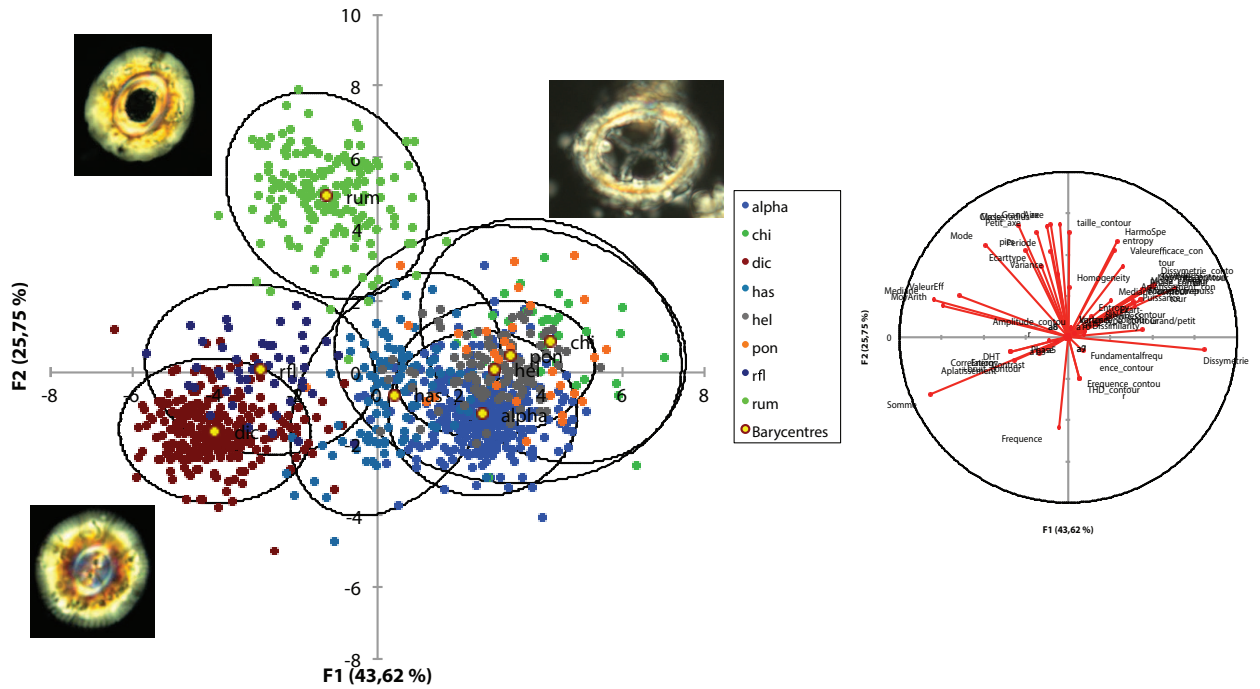


Figure 5-7. Analyse discriminante de tous les placolithes biréfringents peu épais répartis en trois gammes de tailles avec leurs différents morphogroupes, avec leur figure de corrélations entre les variables et les facteurs. Les axes choisis pour les représentations (F1 et F2) correspondent aux deux facteurs les plus importants.

Tous les Placolithes «épais»



Placolithes du groupe «alpha»

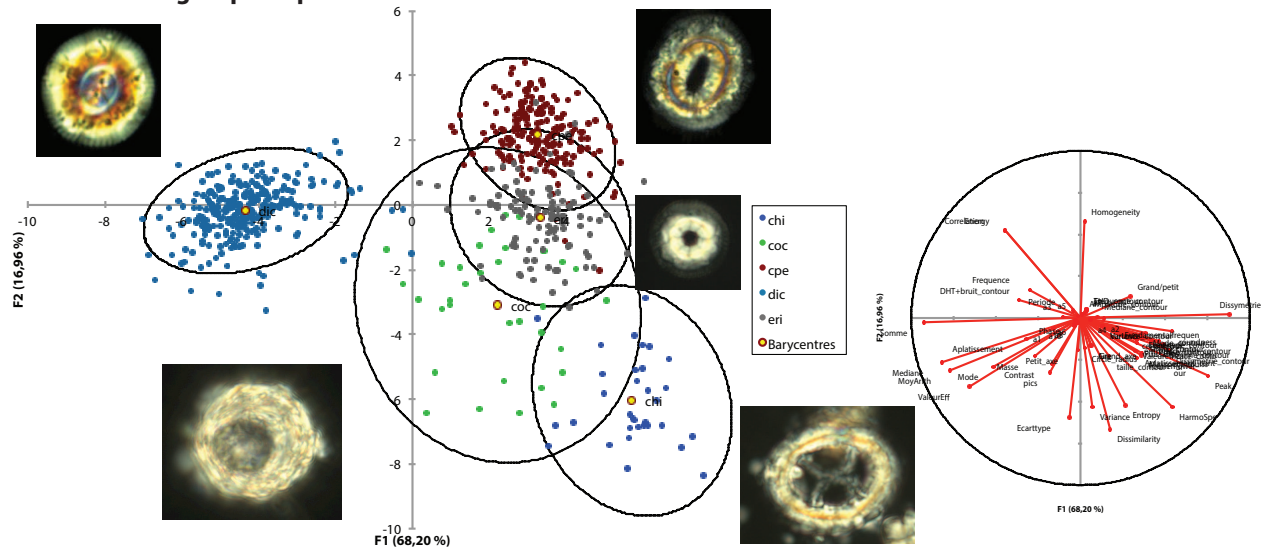


Figure 5-9. Analyse discriminante de tous les placolithes épais et du regroupement « alpha » avec leurs différents morphogroupes, avec leur figure de corrélations entre les variables et les facteurs. Les axes choisis pour les représentations (F1 et F2) correspondent aux deux facteurs les plus importants.

• Les nanfossiles non-biréfringents :

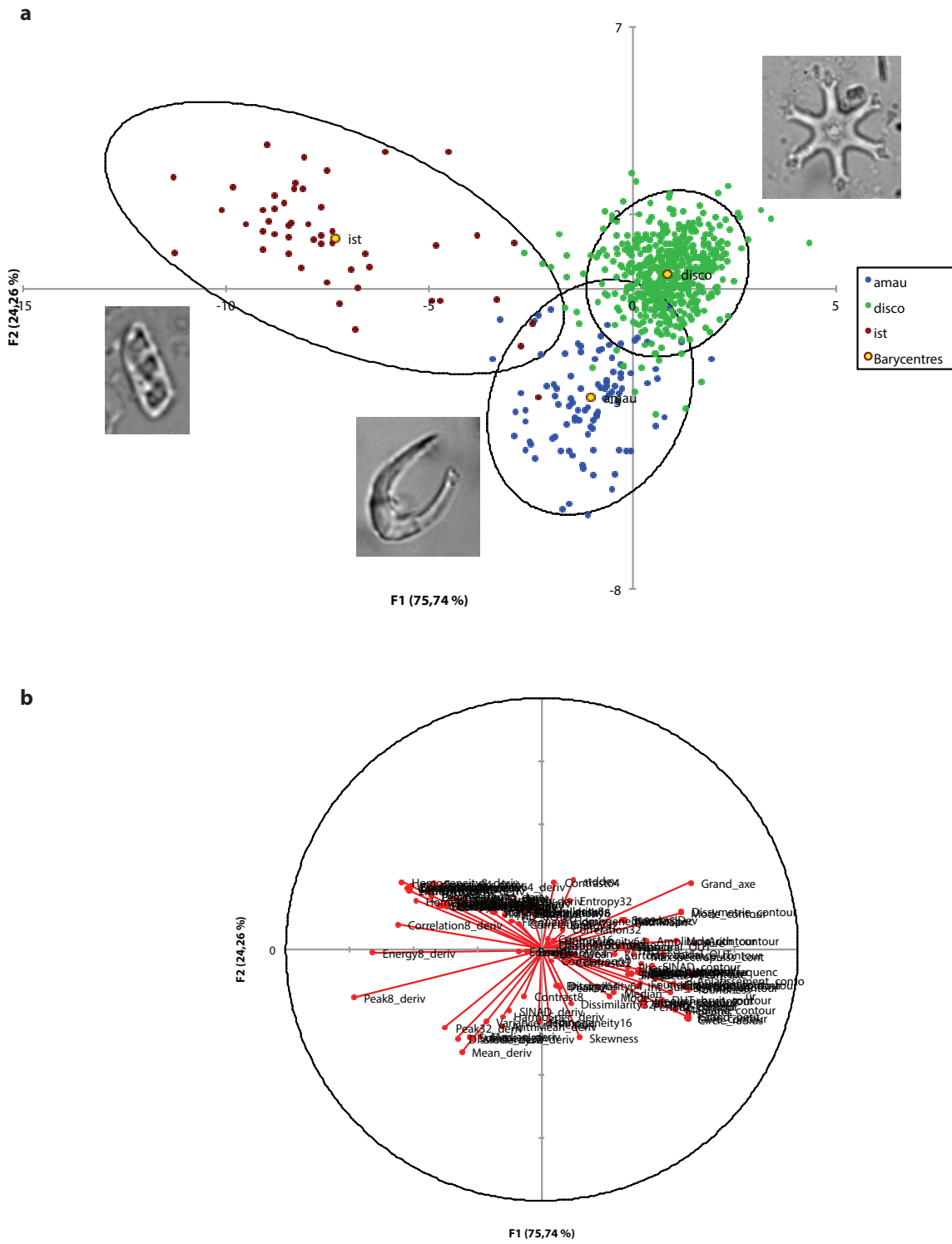


Figure 5-10. Analyse discriminante des nanfossiles non-biréfringents avec leurs différents morphogroupes (a) et les corrélations entre les combinaisons de variables et les facteurs (b). Les axes choisis pour les représentations (F1 et F2) correspondent aux deux facteurs les plus importants.

5.2. ARTICLE

Automatic recognition system of cenozoic calcareous nannofossils by dynamical neural networks, statistical classification and shape pattern recognition.

Nicolas Barbarin¹, Luc Beaufort¹, Yves Gally¹, Jean-Marc Moron²

¹ CNRS-CEREGE, UMR 6635, BP 80, Europôle de l'Arbois, 13545 Aix-en-Provence cedex 04, France
barbarin@cerege.fr (corresponding author), beaufort@cerege.fr, gally@cerege.fr,

² TOTAL, Centre Scientifique et Technique Jean-Féger, Avenue Larribau, 64018 Pau Cedex, France
jean-marc.moron@total.com

Abstract

Automated recognition systems are used to classify quickly a very large number of objects such as calcareous nannofossils spread on smear slides. SYRACO (SYstème de Reconnaissance Automatique de Coccolithes) is a tool designed for automatic recognition of coccoliths by neural networks. A previous version of this system were able to identify individual species of coccoliths with a high reliability (11 Pleistocene species), but was not trained to identify older cenozoic nannofossils species. Here we enlarge the geologic range of nannofossils taxa that now cover most of the taxa from the Neogene the Oligocene and the upper Eocene. Also we added the recognition with a combination of neural networks and statistical classifications methods. We implemented new features allowing increased resolution and disappearance of extinction pattern in cross-polarized light. This version of SYRACO is able to identify about 90% (75%) of all the individual birefringent (non-birefringent) nannofossils present without including less than 10% (5%) false positives. ; The system then classifies the coccoliths in 30 birefringent and 3 non-birefringent groups with an accuracy of 60 to 100%. The performance of the new system is demonstrated using different set of samples tests.

1. Introduction

Calcareous nannofossils are dominantly composed by the fossilized calcareous nanoplankton (most of them belonging to the haptophyte algae) smaller than 30 μm . They are very abundant in the fossil record and they are represented by a large range of various shapes of taxa that succeeded relatively quickly in geologic time since the Late Triassic (Bown, 1998; Bown et al., 2004; Gardin et al., 2012; Jafar, 1983). Their relatively global distribution and their abundance in marine sediments is an advantage for a well-constrained biostratigraphy (Bramlette and Riedel, 1954; Martini, 1971; Okada and Bukry, 1980), for diverse paleoceanographic/paleoclimatic studies (e. g. McIntyre, 1967; Beaufort et al., 2001; Bornemann et al., 2003; Erba, 2004; Giraud et al., 2006; Barbarin et al., 2012) or morphometric measurements studies (Aubry et al., 2005; Beaufort, 1992; Bollmann, 1997; Henderiks, 2008; Herrmann and Thierstein, 2012; Knappertsbusch et al., 1997; Sucheras-Marx et al., 2010).

The work on the microscope needed to get comprehensive data on presence/absence, relative or absolute abundances of the coccoliths are tedious and time-consuming. A reliable automated system of recognition would be very useful to quickly locate the specimens and possibly identify some taxonomic feature, measure pertinent morphological parameters and save their images. An automated system of recognition of coccoliths named "SYstème de Reconnaissance Automatique de COccolithes" (SYRACO) based on neural networks have been developed at the CEREGE (Beaufort and Dollfus, 2004; Dollfus, 1997; Dollfus and Beaufort, 1996, 1999; Dollfus et al., 1997). Although highly reliable at the level of species identification (93 % average; Beaufort and Dollfus, 2004), it is limited to find around ten species from present days to Late Pleistocene and the amount of false-positives is very high (71 \pm 28 % average; non-nannofossils classified as nannofossil). It has been used routinely since then in diverse paleoceanographic and oceanographic studies (e.g. Beaufort et al., 2001, Beaufort et al., 2011), but was not adapted to biostratigraphic work.

Taxonomic classification performed by trained human beings is highly complex and cannot be easily reproduced by automated system for many different reasons and often related to the fact that the diagnostic pattern is not the most prominent feature appearing in the shape of the organism. In the case of calcareous nannofossils this

complexity is even enhanced because fossils are not isolated from the rest of the sediment. The automated system has therefore not only a task of classification but also has to distinguish the nannofossils in an environment made of abundant particles having highly variable shapes. Difficulties for a reliable pattern recognition result mainly from: the facts that calcareous nannofossils present often a large intraspecific plasticity resulting from evolution, environmental constraints and preservation, and that non coccoliths debris can appear similar to coccoliths. The quality of the sample preparation is also determinant for pattern recognition: for example high particles density on the slides induces aggregation of particles. The nannofossils have to lay flat onto the slide, on one focus level and without touching other particles, and all these 3 later conditions are not always met. A robust pattern recognition system must be built with large generalization capacities. It needs also a good and an exhaustive database of specimens to cover the variabilities of shapes and optic properties of the different taxa to find. Another prerequisite is to regroup close shapes and morphotypes of species into morphogroups classes in order to avoid misclassification and confusion. Further classifications, at species level could only be achieved after preclassification, which solve the problems, discussed above and by specialized algorithms.

In this paper, we present a modified version of SYRACO for which the level of recognition has been extended to cenozoic calcareous nannofossils from Upper Eocene (NP19; Martini, 1971) and with uses some new features such as the addition of new classification methods (e.g. combining neural networks and statistical classifications) and new hardware (e.g. increased resolution).

2. Material

2.1. Hardware

Smear slides are scanned by an automated optical microscope Leica DM6000B equipped with an automatic stage and two rotating filters exchangers for polarizers and analyzers. Frames are grabbed by a digital RGB color camera 48-bits (Spot Flex 1520) with a 100x lens (Leica HCX PL APO 100/1.47). Image processing is computed on a server Dell PowerEdge R910 (4xcore Intel Xeon E7520 and 32GB of memory).

2.2. Samples

In this paper, the recognition tests are applied on the same set of slides used in the study of Beaufort and Dollfus (2004). The samples were collected by a sediment traps during the French-JGOFS program EUtroph MEsotroph oLIgotroph (EUMELI) in the Mauritanian Cap Blanc upwelling cell (Bory et al., 2001). We tested also samples from different area and time periods: South French Polynesia (SO204, modern to Upper Eocene), Gulf of Papua (MD052930, last 0.8 Ma) and on a collection of Indian Ocean coretops used for paleoceanographic reconstruction (Beaufort et al., 1997).

3. Method

3.1. Terminology

Learning: a procedure – the “learning algorithm” – that is used to build “by training” an Artificial Neural Network (ANN, for the detailed description see the work of Beaufort and Dollfus 2004, Dollfus and Beaufort 1999) or a statistical classifier (Bishop, 1996, 2007; Hastie et al., 2009).

Training set: the set of all input images used by the learning algorithm.

Test set: collection of randomly chosen nannofossils images excluded in the training used to test the ANN.

Object: a group of pixels with grey levels distinct from background (nannofossils, non-nannofossils...)

Classification: regroup objects with similar patterns of pixels or morphometric measurements in classes. The classes may be nannofossils species, group of nannofossils species, subspecies of nannofossils or non-nannofossils objects. An object is recognized or classified once it has been assigned to a class.

False-positives: in the output, non-nannofossils objects classified in a nannofossils class.

Other: in the training set, the class of non-nannofossils objects.

Aggregates: objects composed of aggregated nannofossils.

3.2. Sample's images acquisition

3.2.1. Acquisition

The pilots of hardware automation have been developed with NI LabView for frame acquisition (polarizer rotation, stage movements, the focus and high definition color camera SPOTflex). The images of the slides are grabbed in RGB colors or in Black and White with a resolution of $0.0034 \mu\text{m}^2$ at a 14-bits depth ($>16\,000$ grey levels). The frames are 2048×2048 pixels ($125 \times 125 \mu\text{m}$) large. Four images are grabbed for each field of view: three at different polarizations angles (0° , 35° and 45°) and one in natural light (Figure 1). The frames coordinates are saved in the name of the images for traceability.

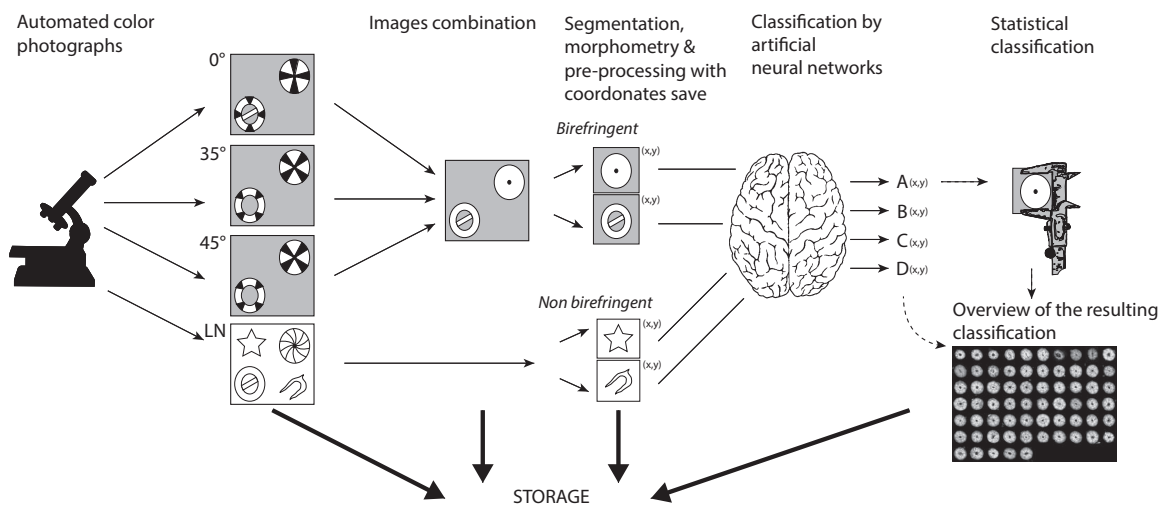


Figure 1. Scheme of the successive steps of image processing and classifications of SYRACO.

3.2.2. Images processing

First, the three images grabbed in cross-polarized light are combined by a pixel comparison that keep the maximal Grey Level from those three images. This is a way to eliminate the extinction pattern resulting from the orientation of the optical axes of the calcite crystals, in the polarization plane. Secondly, a gamma correction of $1/2.2 = 0.45$ is applied to the 14-bits images – monitors and cameras are commonly calibrated with a gamma of 2.2 – in order to enhance the luminance of low birefringent nanofossils (e.g. *Florisphaera profunda*) and the threshold precision for the images segmentation. A gamma correction on 14-bits images and the images are transformed in 16-bits resolution by multiplying the pixels values by four ($>65\,000$ grey levels) to improve images clarity for users.

3.2.3. Images segmentation for birefringent objects (crossed Nicols)

The frames are segmented using a local threshold to avoid backgrounds variations (immersion oil blurs, “halo effects”, unevenness of light repartition...). The segmented objects are processed through an aggregate detector that segments again in smaller objects in certain cases. All segmented objects are splitted into two categories: grey and color. A colored object possesses areas that have a yellowish-reddish taint revealed by its hue value. Seventy morphologic parameters (size, ellipticity, roundness, polynomial equation fitted on a profile, textures variables, outlines measurements with spectral analyses...) are measured for all objects. These parameters will be subsequently used by statistical models. For neural network processes, the images of the objects are converted in grey scale and reduced in size to fit a 65×65 pixels thumbnail (Figure 1). All coordinates of the objects in the field of view frame are saved for traceability.

3.2.4. Images segmentation for non-birefringent objects (natural light)

The frame are segmented using edge detection with noise filtering. Hundred twenty five morphologic parameters (size, ellipticity, roundness, textures variables with different kernels, outlines measurements with spectral analyses...) are measured for all objects (Figure 1). All images are normalized in 8-bits.

3.3. *Automated classification using neural networks*

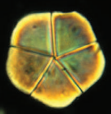
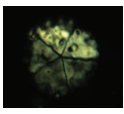


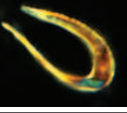
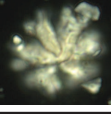
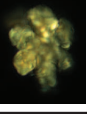


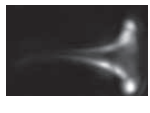






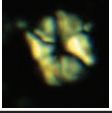
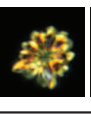
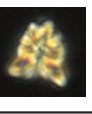
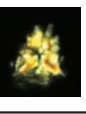
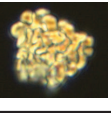
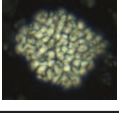
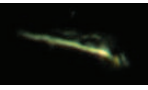

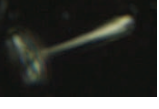
3.3.1. *Reference database*



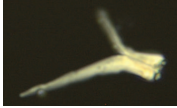




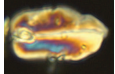
A large database of around 10.000 birefringent and 2000 non-birefringent nannofossils has been gathered on numerous samples to cover the shape diversity between the Upper Eocene and actual specimens. They cover all Orders and Families of birefringent groups (except Holococcoliths) and three important taxa non-birefringent groups (Discoasteraceae, Amaurolithus and Isthmolithus). Consequently, Triquetrorhabdulaceae sp. and Minylitha sp. are not yet detected. Because it is not possible to grab enough specimens (>150) for all cenozoic species (>1000) because it would very time consuming according the number of described species superior than one thousand for the Cenozoic. We limited the training set to a mixture of species sufficiently large that it will cover all possible shape present in the cenozoic nannofossil species with that goal that the system will identify as a nannofossil a specimen belonging to a species which was not originally in the training set.

3.3.2. *Training and classification*

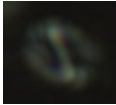
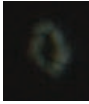





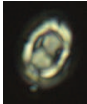
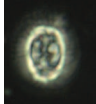
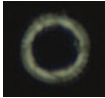
The training set consists of at least 100 specimens per group of nannofossils species and about 4000 to 9000 specimens of non-nannofossils. To avoid taxonomic problems, nannofossils genus and species are regrouped in morphogroups classes of close related shapes and optic properties (Figure 2). The images in the training set are converted to 8-bits grey levels and the large objects are reduced in size to fit a window of 65*65 pixels. With this training set, three levels of classification were produced. A primary classification permits to sort objects between nannofossils and non-nannofossils both in the grey and color groups (Primary Networks NI). A secondary neural network (NII) has been trained to differentiate between the forms by their general shapes. A tertiary neural network (NIII) classifies each shapes categories into several taxonomic groups (Figure 3).

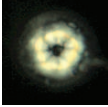
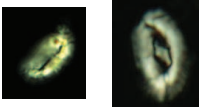
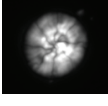
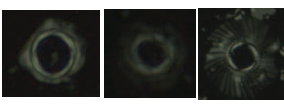
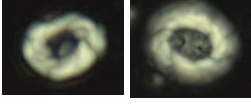
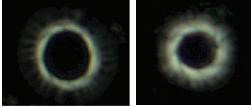
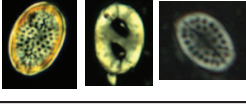
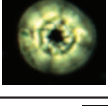
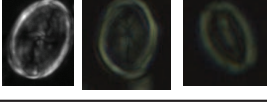
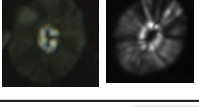
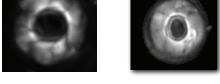
GREY AND COLOR GROUPS

Morphogroup	Description	Species/ Genus Examples	Images
bra	Pentagonal shape Axial and central symetries Low to High luminosities	<i>Braarudosphaera bigelowii</i> <i>Pemma sp.</i> <i>Micrantholithus sp.</i>	 
brm	heptagonal shape Asymetry Relatively low luminosities	<i>Bramletteius serraculoides</i>	 
cer	Horseshoe/hook shape Almost axial symetry High luminosities	<i>Ceratolithus cristatus</i>	
dis	From 12 to five arms Recrystalized disacoasters Axial and central symetries	<i>Discoaster sp.</i>	  
dsc	trumpet shape Axial symetry Elongated Low luminosities	<i>Discosphaera tubifera</i>	 
flp	Polygonal shape (5 sides) Almost axial symetry Low luminosities	<i>Florisphaera profunda</i>	 
ist	«Ladder» shape Almost axial symetry +Recrystalized specimens Low luminosities	<i>Isthmolithus recurvus</i>	  
lan	«Ladder» shape Axial and central symetries Middle to high luminosities	<i>Lanternithus minutus</i>	 
lanspctho	Triangle to square shape Axial symetry Middle to high luminosities	<i>Sphenolithus moriformis</i> <i>S. primus</i> , <i>S. neoabies</i> <i>S. conicus</i>	  
tho	Broken Specimens Granular texture Middle to high luminosities	<i>Thoracosphaera sp.</i>	 
ort	Rectangular triangle shape Elongated Low luminosities	<i>Orthorhabdus serratus</i>	
btr/bar	Tubular/cylindric shape Elongated =Broken specimens Low luminosities	<i>Blackites sp.</i> <i>Triquetrorhabdulus sp.</i>	
rha	«T» shape Axial symetry Elongated Middle to high luminosities	<i>Rhabdosphaera claviger</i> <i>Rhabdosphaera sp.</i>	

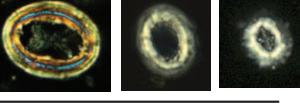
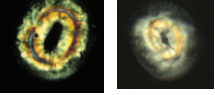
sca	Losangic shape Axial symetry Elongated Low luminosities	<i>Calciosolenia brasiliensis</i> <i>Scapholithus fossilis</i>	
spb	Antenna shape Elongated with long spines Middle to high luminosities	<i>Sphenolithus furcatolithoides</i> <i>S. predistentus</i>	 
sps	Spear head shape One developed apical spine Axial symetry broken spb without branch Middle to high luminosities	<i>Sphenolithus radians</i> <i>S. heteromorphus</i> <i>S. obtusus</i>	  
zyg	Axial symetry +Recrystalized specimens Middle to high luminosities	<i>Zygrabliothus bijugatus</i>	 

GREY «PLACOLITHS»

Morphogroup	Description	Species/ Genus Examples	Images
ger	< 3 µm Brige Low luminosities	<i>G. ericsonii</i>	
emi	< 3 µm Elliptic shape Opened central area Low luminosities	<i>Emiliana huxleyi</i> <i>Reticulofenestra minuta</i>	
gep	< 3 µm Small bridge Small central area Low luminosities	<i>Gephyrocapsa caribbeanica</i> <i>Emiliana huxleyi R</i>	
nop	>3 µm Elliptic shape Opened central area Low luminosities	<i>Emiliana huxleyi</i> <i>Gephyrocapsa mullerae</i>	
gepg	> 3 µm Small bridge Small central area Low luminosities	<i>Gephyrocapsa caribbeanica</i>	
geo	> 3 µm Bridge Large central area Middle to high luminosities	<i>Gephyrocapsa oceanica</i> <i>G. mullerae</i>	 
cla	> 3 µm Elliptic shape Perforded distal plate in central area Middle luminosities	<i>Clausicoccus fenestratus</i> <i>Hughesius tasmaniae</i>	 
cor	> 3 µm Circular/ring shape Wide central opening Middle luminosities	<i>Coronocyclus serratus</i>	

eri	> 3 μm Circular shape Narrow central area Low and high luminosities	<i>Ericsonia formosa</i>	
hel	> 3 μm Very elliptic and variable shapes with a flange Various central areas Low and high luminosities	<i>Helicosphaera carteri</i> <i>H. euphratis</i> <i>H. bramlettei</i>	
lep	> 3 μm Circular shape No central opening Middle to high luminosities	<i>Calcidiscus leptoporus</i>	
neo	> 3 μm Circular/ring shape Wide central opening Low luminosities	<i>Neosphaera / Ceratolithus</i> <i>Pedinocyclus larvalis</i>	
nog	> 3 μm Elliptic shape Central opening (perforated plate) Middle to high luminosities	<i>Reticulofenestra haqii</i> <i>R. minutula</i> , <i>R. gelida</i> <i>R. hampdenensis</i>	
pse	> 3 μm Circular/ring shape Discontinuous external shield Wide central opening Middle luminosities	<i>Pseudoemiliana lacunosa</i> <i>P. ovata</i>	
pon	> 3 μm Very elliptic and variable shapes Thick border Various central areas Low and high luminosities	<i>Pontosphaera japonica</i> <i>P. pectinata</i> <i>P. exilis</i>	
rfl	> 3 μm Circular shape Small central opening Middle to high luminosities	<i>Reticulofenestra floridanus</i> <i>R. reticulata</i> <i>Calcidiscus macintyreii</i>	
syr	> 3 μm Very elliptic shape Perforated proximal plate in central area Middle luminosities	<i>Syracosphaera pulchra</i>	
umb	> 3 μm Very elliptic shape Small & thick with large & thin areas Very small central opening Low to middle luminosities	<i>Umbellosphaera tenuis</i>	
usi	> 3 μm Circular shape Central opening Middle to high luminosities	<i>Umbilicosphaera sibogae</i>	

COLOR «PLACOLITHS»

Morphogroup	Description	Species/ Genus Examples	Images
chi	Broad centro-distal cycles Wide central opening with cross bars Middle to high luminosities	<i>Chiasmolithus grandis</i> <i>Cruciplacolithus sp.</i>	
cpe	Large elliptic shape Very elliptic central area Low to high luminosities	<i>Coccolithus eopelagicus</i> <i>C. miopelagicus</i>	

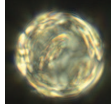
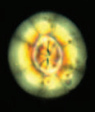
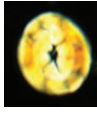
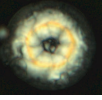
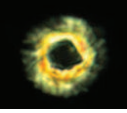
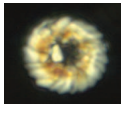
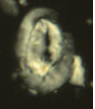
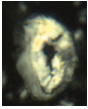


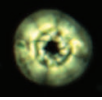
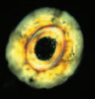
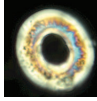
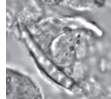



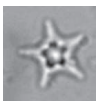
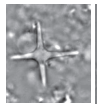
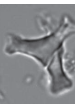



coc	=Coccosphere Circular shape High luminosities	<i>Reticulofenestra</i> sp.	
dic	Elliptic shape Closed central area with delicate grill High luminosities	<i>Dictyococcites bisectus</i> <i>D. scrippsae</i> , <i>D. stavensis</i> <i>Bicolomnus ovatus</i>	 
eri	> 3 µm Circular shape Narrow central area Low and high luminosities	<i>Ericsonia formosa</i>	
has	Circular shape Large central area Distinct oblique shield elements Low to high luminosities	<i>Hayella situliformis</i>	 
hel	Large and thick <i>Helicosphaera</i> Very elliptic and variable shapes with a flange Various central areas Middle to high luminosities	<i>Helicosphaera euphratis</i> <i>H. compacta</i>	 
pon	Very elliptic and variable shapes Thick border Various central areas High luminosities	<i>Pontosphaera pectinata</i> <i>P. exilis</i>	 
rfl	Circular shape Small central opening Middle to high luminosities	<i>Reticulofenestra floridanus</i> <i>R. reticulata</i>	
rum	Large Elliptic shape Broad cycles Large central opening Middle to high luminosities	<i>Reticulofenestra umbilicus</i> <i>R. pseudumbilica</i>	 
NON-BIREFRINGENT			
Morphogroup	Description	Species/ Genus Examples	Images
amau	Horseshoe/hook shape Almost axial symetry	<i>Ceratolithus cristatus</i> <i>Amaurolithus amplificus</i>	  
dis	Axial and central symetries From 12 to 3 arms +Recrystalized specimens	<i>Discoaster surculus</i> <i>D. pentaradiatus</i> <i>D. variabilis</i> <i>D. deflandrei</i>	   
ist	«Ladder» shape Almost axial symetry +Recrystalized specimens	<i>Isthmolithus recurvus</i>	  

Figure 2. Morphogroups classified in the final output results. Each group is described with some examples of which species are represented and with some images to illustrate the morphology.

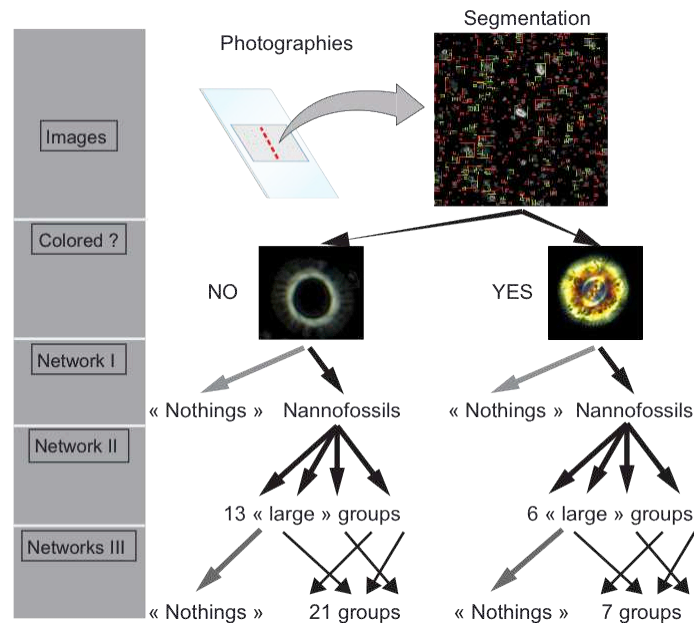


Figure 3. Scheme of the successive steps of the artificial neural networks of SYRACO.

3.4. Automated classification using statistical pattern recognition

3.4.1. Descriptive variables

In complement to artificial neural networks applied directly on the images, statistical pattern recognition algorithms can be used for classification. They can be trained on descriptive numerical variables measured on the objects. Different descriptive variables are measured: Length (major axis), width (minor axis), brightness (related to thickness (Beaufort, 2005)) roundness, ellipticity, presence/absence of a central area, presence/absence of a bridge, profile polynomial equation, textures and outline features... For birefringent objects we measured 70 variables and 125 for non-birefringent objects.

3.4.2. Statistical method for pattern recognition and classification

Statistical methods for pattern recognition/classification (Bousquet et al., 2004; Hastie et al., 2009; Jain et al., 2000) also known as learning algorithm or prediction algorithm (Schapire et al., 1998), have been widely used for the exploration, description, and prediction of ecological data (Cutler et al., 2007; De'ath, 2002; De'ath, 2007; De'ath and Fabricius, 2000; Vayssieres et al., 2000). These mathematical functions (=machine learning algorithms) help to develop classifiers to define pattern classes using variables (Cutler et al., 2007; Ivanciuc, 2007; Jain et al., 2000; Li et al., 2009; Schapire et al., 1998). After training, the classifier is ready to predict the class for new patterns/observations, different from those used in training (Ivanciuc, 2007; Jain et al., 2000; Li et al., 2009). A wide range of supervised pattern recognition algorithms are used to solve these issues (linear discriminant analysis, artificial neural networks, multiple linear regression, k-nearest neighbors (k-NN), support vector machines...). In this paper we use several published methods written in language R. We compute an accuracy of prediction computed for each to find the best classifier (%Accuracy=[Correctly classified/All dataset]*100). Each method is tested using a bank of image (test set) distinct from the training bank of image (training set).

3.4.2.1. Adaptive Boosting (AdaBoost) (R package *ada*)

AdaBoost is an iterative algorithm that constructs a classifier with good generalization properties. It provides strong predictive performance (Freund and Schapire, 1997; Hastie et al., 2009). The classifiers are the recursive

partitioning and regression trees found in the *rpart* package (Culp et al., 2006). During training, AdaBoost attempts to find an optimal classifier according to the current distribution of weights on the observations of the test set (Culp et al., 2006). Like neural networks algorithm, it gives more or less weight to the observations if they are missed or well classified. Boosting algorithms have been used in a wide range of applications including pharmacology (Sugata and Abe, 2001) tumor identification and gene expression data (Dettling 2004), proteomics data (Ulitz et al., 2006), financial and marketing data (Boonyanunta and Zeephongsekul, 2003; Lemmons and Croux, 2005), fisheries data (Kawakita et al., 2005), and microscope imaging data (Huang and Murphy, 2004). Here we use the basic *ada* package that provides binary classification.

3.4.2.2. *K-nearest neighbour classification with Cross-Validatory classification (Knn.CV, R package e1071)*

The *k*-nearest neighbour classifier (Cover and Hart, 1967; Hand, 1981; Ripley, 1996; Venables and Ripley, 2002) is a simple method for classifying objects based on the search of closest training examples in the dataset. For each classes/patterns in the test set, the algorithm performs *K*-means clustering on the training set and search for the *k*-nearest patterns to the input pattern (= learning set) using an Euclidean distance measure (Cunningham and Delany, 2007; Zeng and Starzyk, 2001). The classification for the input pattern is the class with the highest confidence. For classification, the confidence for each class is computed as C_i/K , where C_i is the number of classes/patterns among the *k*-nearest patterns belonging to class *i*. So this method has two steps: the first is the determination of the nearest neighbours and the second is the determination of the class of the nearest cluster using those neighbours (Cunningham and Delany, 2007; Zeng and Starzyk, 2001).

3.4.2.3. *Linear Discriminant Analysis (LDA) (R package MASS)*

Linear discriminant analysis (LDA) or Canonical Analysis is a method that find a linear combination of features that characterizes or separates two or more classes before classification (Fisher, 1936). It seeks to reduce dimensionality while preserving as much of the classes discriminatory informations as possible. It is a sort of multiple analyze of variance (MANOVA) and regression analysis which look for linear combinations (linear class boundaries) of variables which best explain the data and maximize the separation of defined classes (Legendre and Legendre, 1998; Martinez and Kak, 2001). This method allows detecting which descriptive variables optimize the classes distinctions.

3.4.2.4. *Standard regression and classification trees (R packages rpart and tree)*

Classification trees are recursive binary partitioning algorithms that divide features space into sets of homogeneous classes (nodes) according to threshold values of the descriptive variables with respect to the classes (Breiman, 1996; Breiman et al., 1984; Clark and Pregibon, 1992; Cutler et al., 2007; Therneau and Atkinson, 1997; Verbyla, 1987). Each node of the tree is split using the best split among all variables (Liaw and Wiener, 2002). The result is a tree-like structure with one root node and a number of terminal nodes. In a classification tree, the proportional class membership of the observations in a terminal node forms the basis for predicted probabilities (Lawler et al., 2006). They have been widely used by ecologists because of their simple interpretation and high classification accuracy (Cutler et al., 2007; De'ath, 2002; De'ath, 2007; De'ath and Fabricius, 2000; Elith et al., 2008; Prasad et al., 2006; Vayssieres et al., 2000). In this paper the method classifies morphogroups/classes according their morphometric properties. The tree is grown until minimum node size (by example: Number of Classes – 1= Number of Nodes) is reached. It is possible to split separately and efficiently morpho-groups, classes and sometimes species using optimal thresholds values of the variables plotted on a graphical decision tree (Breiman, 1996; Breiman et al., 1984; De'ath and Fabricius, 2000). The larger is the tree, the higher the number of classes is leading to overfitting of training set, and to classification errors.

3.4.2.5. *Random Forests (R package RandomForest)*

This method has been used for ecological applications (Cutler et al., 2007; Lawler et al., 2006; Prasad et al., 2006). Its classification algorithm consists to build multiple collections of regression trees with a simple structure as a forest of trees (Breiman, 1996, 2001, 2004; Lawler et al., 2006). Random Forests fits many

classification or regression trees to a data set (500 trees by default), and then combines the predictions from all the trees (Cutler et al., 2007; Liaw and Wiener, 2002). Each node of “subtrees” is split using the best among a subset of predictors randomly chosen at that node (Liaw and Wiener, 2002). It is a combination of parallel tree predictors of learners named bagging for each split. They are independently trained on new training sets from distinct bootstrapped random samples (with replacement) of the original training set to reduce variance (Breiman, 2001). In a typical bootstrap sample, approximately 63% of the original observations occur at least once (Breiman, 1996, 2001; Cutler et al., 2007). The splitting process continues until further subdivision of the trees (nodes) no longer reduces the Gini index (Breiman, 2001; Cutler et al., 2007). The mean predicted value is the class getting the majority of the forest votes from all individually trained trees. The splits are chosen according to a purity measure: squared error and Gini index or deviance. It is also possible to have a visualization of the output decision trees and the variables importance. The cross validation is unnecessary because it generates an internal unbiased estimate of the generalization error (=test error) as the forest building progresses (Breiman, 1996, 2001, 2004; Cutler et al., 2007).

3.4.2.6. *Support Vector Machines (R package e1071 and kernlab)*

The Support Vector Machines (SVM) are a category of complex learning algorithms to build a classifier on real values (Burges, 1998; Chen et al., 2005; Cortes and Vapnik, 1995; Cristianini and Shawe-Taylor, 2000; Noble, 2006; Smola and Scholkopf, 2004; Vapnik, 1995; Vapnik, 1998). The algorithms compute optimal hyperplanes that separates the d-dimensional data into its defined classes. These algorithms are based on different basis functions (kernels) for optimal separation of the data: linear, polynomial, Gaussian radial, sigmoid... Basically a hyperplane is a vector (w), and a constant (b), expressed in the equation $w \cdot x + b = 0$. Each hyperplane has a different functional distance that corresponds to the maximum of separation between the data points and the hyperplane. The closest data points that are involved in the determination of the hyperplanes are named support vectors. The classification of new observations is given according to its position between the support vectors and to the optimal hyperplane (Hasan and Boris, 2006). This method is very flexible that allow relatively quick similitudes measurements and non-linear discrimination (Hasan and Boris, 2006; Meyer et al., 2003; Vapnik, 1998). They have been applied by example in chemistry (Ivanciuc, 2007; Li et al., 2009; Xu et al., 2006), image analysis (Liu et al., 2005), time series analysis (Kim, 2003), biology (Noble, 2006) and can outperform the traditional statistical learning methods (Amendolia et al., 2003; Liu et al., 2006; Meyer et al., 2003).

3.4.3. *Shape pattern matching for classification*

We developed a specific and automated program on LabView to classify *Florisphaera profunda*. The program fits templates of shapes of common *F. profunda* to the segmented images previously classified by a specific ANN. More over some measurements thresholds are applied on the thumbnails to improve selectivity and decrease number of false-positives (size, mean and standard deviation of the thickness, line profiles regularity...).

4. Results

4.1. *Test on birefringent nanofossils by ANN*

4.1.1. *On Test set*

The performance of the neural network for the first level (primary classification) is evaluated on the grey test set which is composed of 2372 nanofossils covering the largest variety of forms for the last 35 Ma and 340 non-nanofossils. The primary classification network correctly identifies 95,5% of nanofossils present in the test set and only 20% of the non-nanofossils (false-positives, Figure 4a). The successive networks keep 92% of the nanofossils and only 13% of the non-nanofossils (=2% of false-positives), for a correct group classification of 90,1% with 9,9% of misclassified.

The color collection test is composed of 875 nanofossils and 411 non-nanofossils. The primary classification network finds 99% of the nanofossils and 64% of the non-nanofossils (false-positives, Figure 4b). The

successive networks keep 90% of the nannofossils and only 30% of the non-nannofossils, for a correct group classification of 80% with 20% of misclassified.

A specialized primary network for *Florisphaera profunda* (Figure 4c). was able to classify 98% of the specimens and 98,4% of the other nannofossils group present in the collection set with a percentage of non-nannofossils reduced to 36%. But this is too much of false-positives to be used alone. A complementary approach is needed to classify better the *Florisphaera profunda* and remove more false-positives (see 3.4.3).

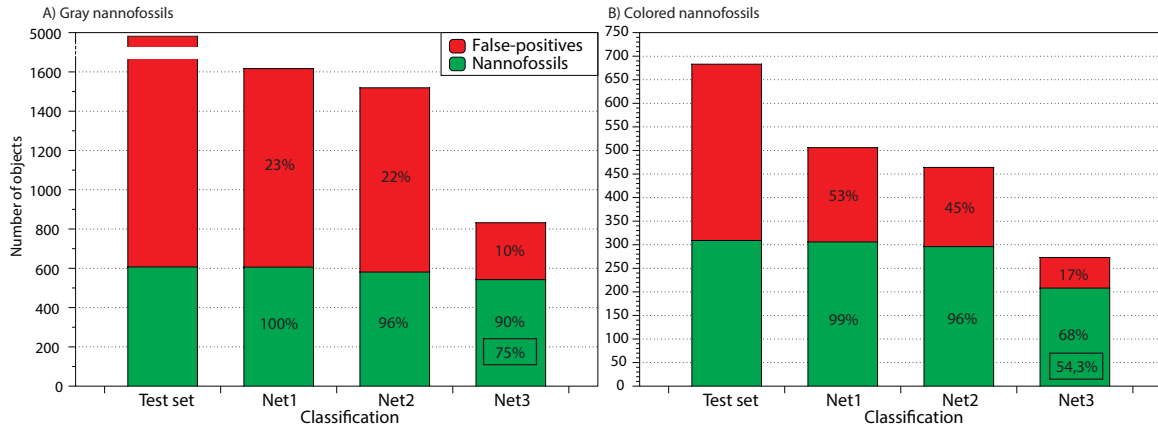


Figure 4. Results of the multi-networks classification on the collection set of birefringent nannofossils for the grey objets (a), for the colored objects (b) and (c) for the *F. profunda* network. The given % is the remaining objects from the input images.

4.1.2. Tests on samples set

We tested the performances of the neural networks on 22 samples to get the largest variability of nannofossils shapes in various cenozoic samples. The smear slides were scanned and segmented automatically. The images of the object were then identified by a human specialist to compose a sorted collection. The new collection of grey objects is composed of 607 nannofossils and 4341 non-nannofossils. The primary classification network finds 100% of the nannofossils and only 23% of the non-nannofossils (Figure 5a). The successive networks keep 90% of the nannofossils and only 10% of the non-nannofossils, for a correct group classification of 75% with 25% of misclassified.

The new collection of colored objects is composed of 309 nannofossils and 374 non-nannofossils. The primary classification network finds 99% of the nannofossils and 53% of the non-nannofossils (Figure 5b). The successive networks keep only 68% of the nannofossils and only 17% of the non-nannofossils, for a correct group classification of only 54,3% with 45,7% of misclassified.

The first neural network is able to detect broken and aggregated nannofossils that are filtered out at the third level of networks.

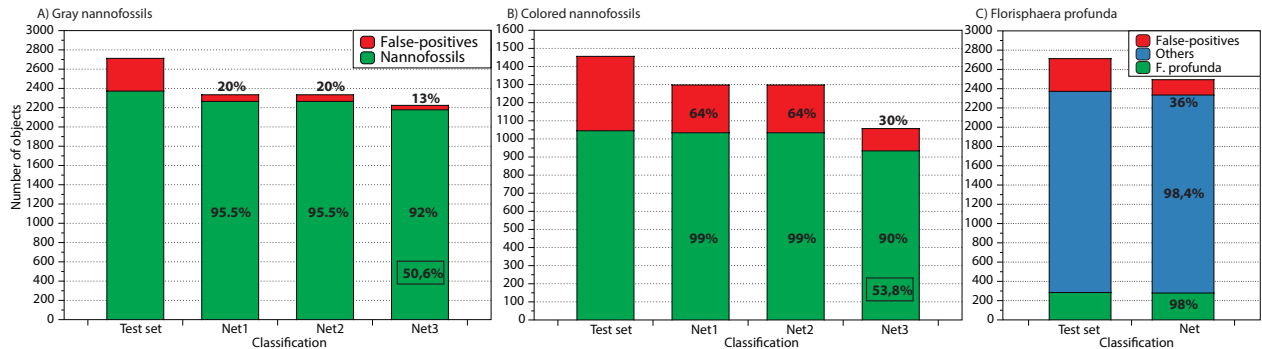


Figure 5. Results of the multi-networks classification on the samples set of birefringent nannofossils for the grey objets (a) and for the colored objects (b). The given % is the remaining objects from the input images.

4.1.3. Tests on sediment trap samples

A test on the sediment trap samples from EUMELI has been ran to compare the efficiency the new SYRACO with the same samples with the previous version by Beaufort and Dollfus (2004).

The color sample test is composed of 559 nannofossils and 3138 non-nannofossils. The primary classification network finds 98% of the nannofossils and only 11% of the non-nannofossils (Figure 6a). The successive networks keep only 98% of the nannofossils and only 8% of the non-nannofossils, for a correct group classification of 82% with 18% of misclassified.

The color sample test is composed of 116 nannofossils and 283 non-nannofossils. The primary classification network finds 95% of the nannofossils and 63% of the non-nannofossils (Figure 6b). The successive networks keep only 59% of the nannofossils but only 19% of the non-nannofossils, for a correct group classification of only 42,6% with 57,4% of misclassified.

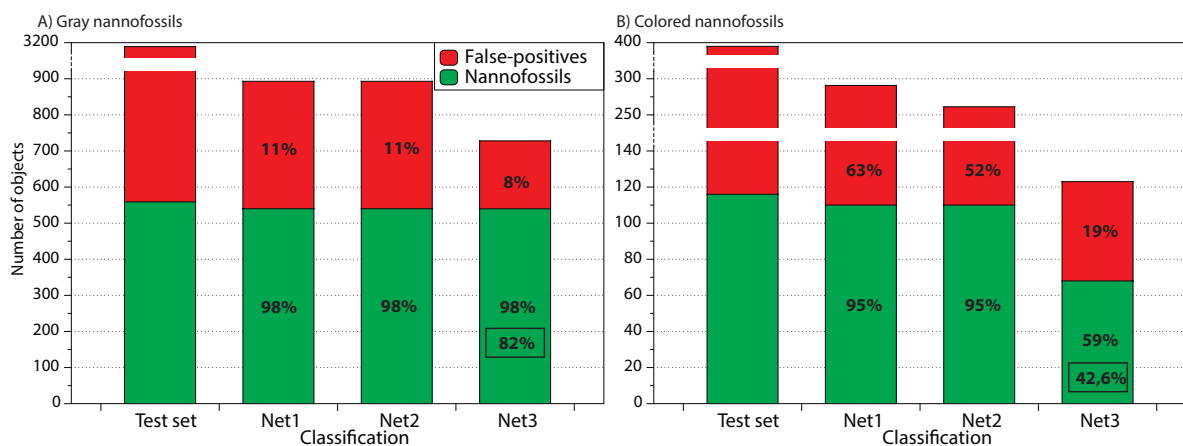


Figure 6. Results of the multi-networks classification on the EUMELIE samples of birefringent nannofossils for the grey objects (a) and for the colored objects (b). The given % is the remaining objects from the input images.

4.1.4. Generalization test

In order to test the generalization performances of our system we built a collection of nannofossils species that were not included in our database for training neural networks. The nannofossils of the test come from the Late Cretaceous, the Paleocene (NP7-8), the Early Eocene (NP16) species from ODP leg 145 and some samples from Aptian's sediments at Saint-André (France). This database is composed of 349 nannofossils of various shapes and 566 non-nannofossils. The main tested taxa are *Watznaueria*, *Nannoconus*, *Micula*, *Fasciculithus*, *Heliolithus*, *Discoaster* and *Ceratolithoides* (the other taxa are represented by *Tegumentum*, *Zeugrhabdotus*, *Neococcolithes*, *Markalius*, *Ellipsolithus*, *Sphenolithus*, *Neochiastozygus*, *Placozygus*, ...). The specimens present different degrees of preservation (aggregates, well/moderately preserved, broken/fragmented and/or recrystallized). We tried six decisions thresholds using the same neural network to show the efficiency. The global tests show a recognition rate between 93 and 97% with a rate of false-positives between 39 and 43% (Table 1 and Figure 7).

The test shows generally high rates of classifications of 100% for the taxa *Watznaueria*, *Heliolithus*, *Discoaster* and for other taxa of the Paleogene. For other taxa the results are between 83 and 97% (*Micula*, *Nannoconus*, other Cretaceous taxa, and *Fasciculithus*). But the classification rate is lower for *Ceratolithoides* (40%) and the percentages of false-positives are generally high. A *Zeugrhabdotus* in side view is not recognized.

Age	Genus	n	Threshold											
			0.99		0.9		0.8		0.7		0.6		0.5	
		%	%Fp	%	%Fp	%	%Fp	%	%Fp	%	%Fp	%	%Fp	
Cretaceous	<i>Watznaueria</i>	53	100	53.1	100	58.3	100	59.2	100	60.2	100	60.7	100	61.3
	<i>Micula</i>	63	90.5	51.3	93.7	55.6	93.7	56.6	93.7	57.6	95.2	57.7	95.2	58.3
	<i>Nannoconus</i>	24	83.3	88.2	91.7	88.1	95.8	87.9	95.8	87.9	95.8	88.3	95.8	88.3
	<i>Ceratolithoides</i>	5	40	96.8	40	97.4	40	97.5	40	97.6	40	97.6	40	97.6
	Other Cretaceous	51	84.3	58.3	90.2	61.7	90.2	62.6	90.2	63.5	90.2	64.1	90.2	64.6
Paleogene	<i>Heliolithus</i>	30	100	66.7	100	71.2	100	72	100	72.7	100	73.2	100	73.7
	<i>Fasciculithus</i>	36	88.9	82.3	94.4	82.7	94.4	83.1	94.4	83.4	97.2	83.3	97.2	83.3
	<i>Discoaster</i>	9	88.9	88.2	100	89.2	100	89.5	100	89.9	100	90.1	100	90.3
	<i>Chiasmolithus</i>	35	100	81	100	82.3	100	82.7	100	83	100	83.3	100	83.3
	Other NP16	8	100	88.2	100	90.2	100	90.6	100	90.9	100	91.1	100	91.3
	Other NP7-NP8	35	100	63.2	100	67.9	100	68.8	100	69.6	100	70.1	100	70.6
	All	349	93.7	39	96.3	41.4	96.6	42	96.6	42.7	97.1	43	97.1	43.2

Table 1. Results of different generalisation tests with only a primary network with different thresholds on taxa of the Cretaceous and Paleogene. *n* is the number of test specimens, % is the percentage of found nannofossils and %Fp is the associated percentage of false-positives mixed with them.

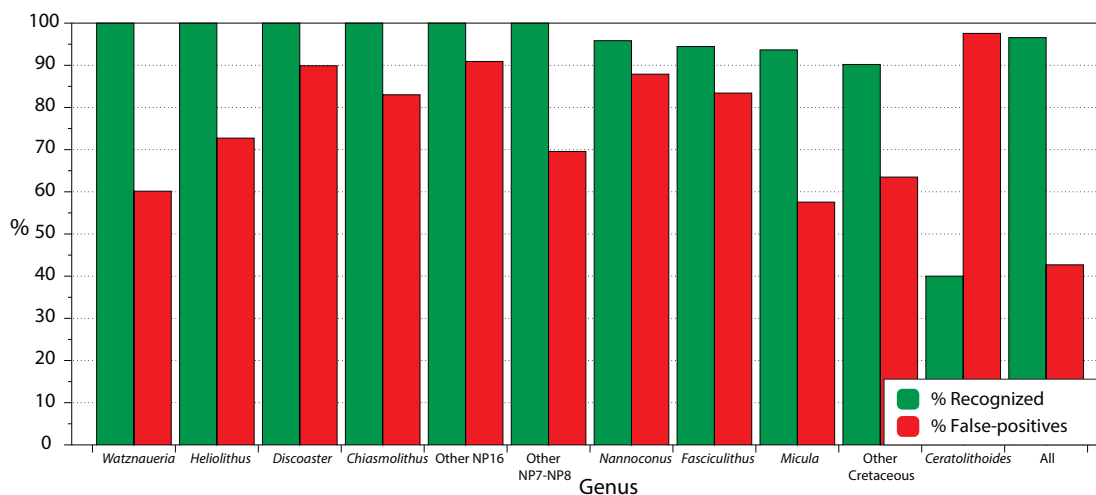


Figure 7. Histogram of the recognition rate (%) and the linked rate of false-positives (%) on different taxa for the threshold 0.7.

4.2. Test on non-birefringent nannofossils with ANN

4.2.1. Test on collection test

Primary recognition is computed with sets of various nannofossils in the database. We test only the primary classification NI. The collection test is composed of 767 nannofossils and 970 non-nannofossils. A recognition test with a threshold of 0.7 found 713 nannofossils (93%) with only 30% of false-positives (Figure 8a).

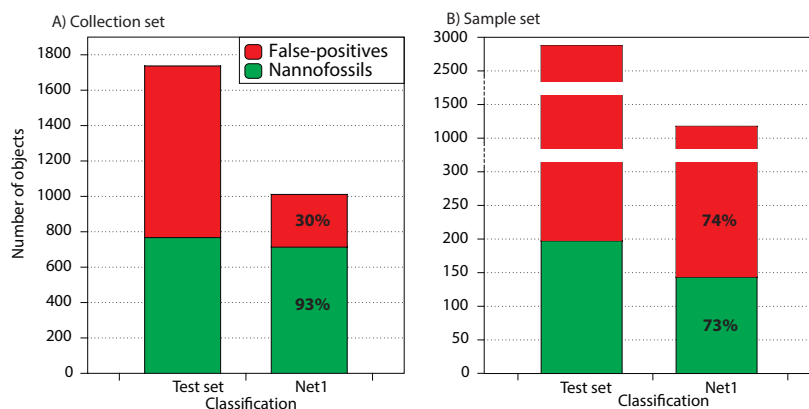


Figure 8. Test using ANN on collection (a) and sample sets (b) of non-birefringent nannofossils

4.2.2. Test on samples

The same NI network gives a recognition percentage of 73% with a threshold of 0.8 but even 74% of non-nannofossils are suppressed, the 36% remaining ones compose 88% of false-positives (Figure 8b).

4.3. Statistical classification using descriptive variables

4.3.1. Test of various algorithms on the placoliths collection set

The grey placoliths database set is composed of 3338 specimens (1669 in training and test set) divided in 20 classes that correspond more likely to the following genus morphotypes: *Coccolithus*, *Emiliana*, *Ericsonia*, *Gephyrocapsa* (large), *Gephyrocapsa* (small), *Gephyrocapsa ericsonii*, *Helicosphaera*, *Calcidiscus*, *Neosphaera*, *Pontosphaera*, *Pseudoemiliana*, *Reticulofenestra* with opening, *Reticulofenestra* without opening, *Reticulofenestra floridanus*, *Syracosphaera*, *Umbellosphaera*, *Umbilicosphaera*. The results (Table 2) show a high classification rate with the SVM method using a linear kernel at 84.4% for the test set and 90.6% for the whole dataset (cross-validation of the optimal classifiers). The SVM method using Gaussian radial kernel, LDA and the Random Forests show competitive rates of classifications.

The colored placoliths database set is composed of 1000 specimens (500 in training and test set) divided in 9 classes: *Chiasmolithus*, *Coccosphere*, *Coccolithus*, *Dictyococcytes*, *Ericsonia*, *Hayella*, *Pontosphaera*, *Reticulofenestra floridana*, *Reticulofenestra umbilica*. The results (Table 2) show a high classification rate with the SVM method using a linear kernel: 88.8% for the test set and 97.5% for the whole dataset. The SVM method using Gaussian radial kernel, LDA and the Random Forests show competitive rates of classifications.

R library	Method	Accuracy of prediction			
		Gray placoliths		Colored placoliths	
		Test set	All Dataset	Test set	All Dataset
e1071	KNN with CV	50.8	56.9	71.7	61.1
MASS	LDA	81.1	82.6	88.4	91.9
RandomForest	Random Forests	82.1	84.0	87.6	90.4
tree	Regression tree	63.5	63.9	79.6	85.9
rpart	Regression tree	67.2	69.5	78.0	86.8
e1071	SVM linear	84.4	90.6	88.8	97.5
e1071	SVM polynomial	76.0	83.9	78.6	86.0
e1071	SVM radial	80.8	86.4	86.2	93.2
e1071	SVM sigmoid	64.9	62.4	76.8	77.9
	SYRACO Neural Network	71.1		87.4	

Table 2. Results of the statistical classification for the grey and the colored placoliths. Accuracy of prediction (%), in this test, corresponds to the correct group classification. Best scores in bold.

4.3.2. Test on the birefringent nannofossil set: hierarchical classification

The numerous tests we realized showed that the classification was performing better when the number of groups was smaller. That's why we prefer to combine large morphogroups and use other algorithms to sub-divide them in smaller groups with successive pattern recognition steps. We will show only the best results for our classifiers. The grey nannofossils set is composed of 5695 specimens and 3130 non-nannofossils. The nannofossils are divided in 16 classes: *Braadurosphaera*, *Bramletteius*, *lithraphidites*-like, *Ceratolithus*, *Discosphaera*, *Florisphaera*, *Isthmolithus*, *Lanternithus*, Placoliths (19 sub-classes), *Orthorhabdus*, *Rhabdosphaera*, *Scapholithus*, Sphenoliths with "branch" (ex. *S.*), Sphenoliths "cubic-shaped" (ex. *S. moriformis*), Sphenoliths with "spine" (ex. *S. heteromorphus*) and *Thoracosphaera*. The results (Figure 9) show classification rates ranging from 72% to 98%. The primary classifier seems to be optimal because it can keep 93% of the nannofossils and discard 85% of the non-nannofossils.

The colored nannofossils set is composed of 2354 specimens and 223 non-nannofossils. The nannofossils are divided in 11 classes: *Braadurosphaera*, *Ceratolithus*, *Lanternithus*, Placoliths (12 sub-classes), Sphenoliths with “branch” (ex. *S. furcatolithoides*), Sphenoliths “cubic-shaped” (ex. *S. moriformis*), Sphenoliths with “spine” (ex. *S. radians*), *Thoracosphaera* and *Zyghrablitus*. The results (Figure 9) show classification rates ranging from 70% to 97%. The primary classifier is maybe not optimal because even it can keep 96% of the nannofossils, it suppresses “only” 48% of the non-nannofossils.

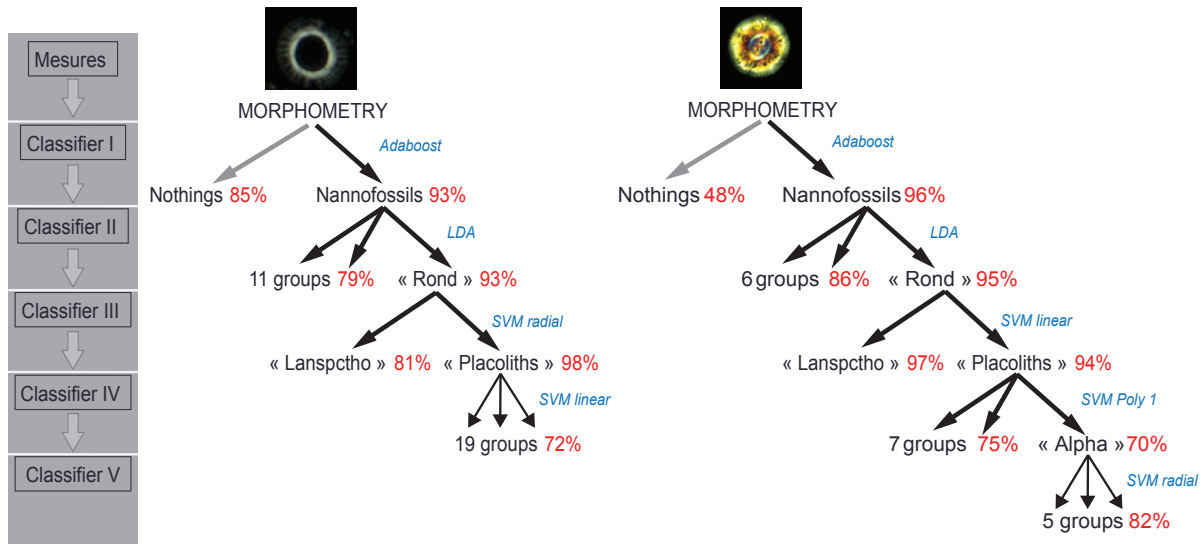


Figure 9. Results of the best hierarchic statistical classification for colored and non-colored nannofossils. Results of good classification in red, and the algorithms used in blue.

4.3.3. Test on the non-birefringent nannofossil set: hierarchical classification

The test set is composed of 155 nannofossils and 3126 non-nannofossils. The results (Figure 10) show that the classification rates range from 75% to 95%. The primary classifier seems to be optimal because it can keep 75% of the nannofossils and suppresses 95% of the non-nannofossils. The classifiers to subdivide the class “Discoaster” by classes of number of arms (broken, three, four, five, six and more) were not good enough to be incorporated in the system.

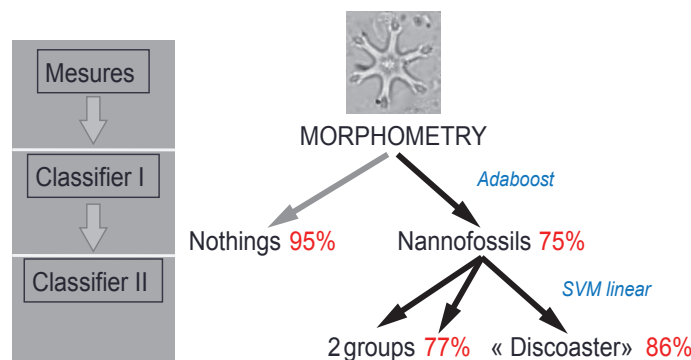


Figure 10. Results of the best hierarchic statistical classification for non-birefringent nannofossils. Results of good classification in red, and the algorithms used in blue.

A test on the core MD052124 (Tasmanian Sea) has been able to highlight quickly the highest occurrence of Discoaster (Figure 11). A large number of debris is removed, but some misclassified images are still remaining (0-12 objects). This test also shows that the losses during the segmentation (red curve over the black curve) and during classification (red curve over the blue curve) are relatively low. Fragmented (more than 3 arms) and heavily fragmented Dicoasters (les than 3 arms) can be identified.

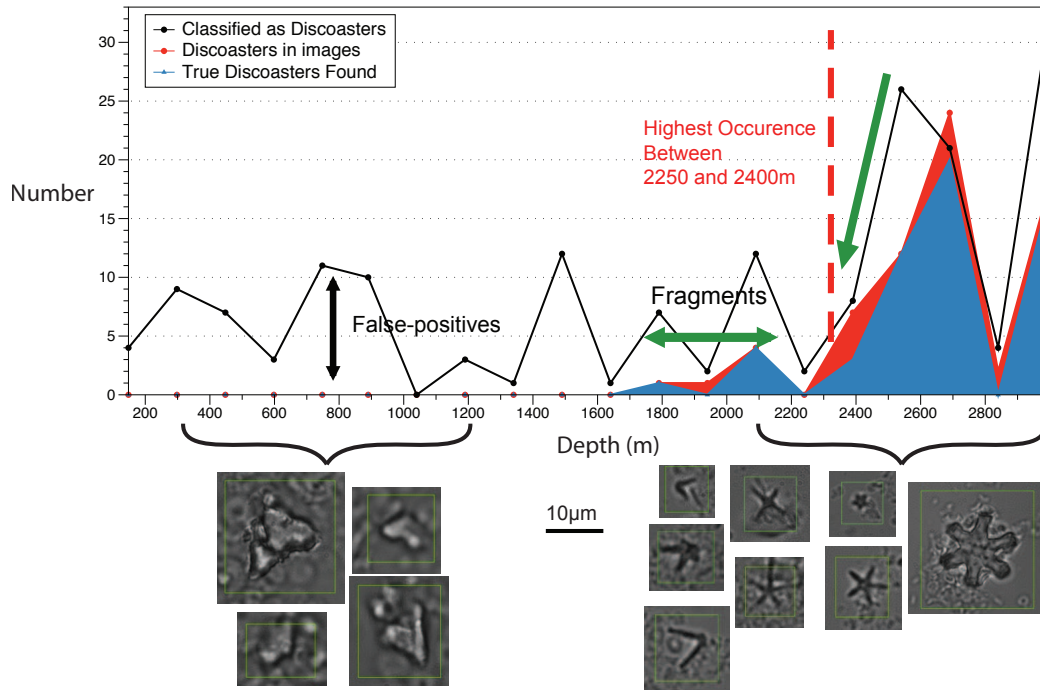


Figure 11. Result of classification for non-birefringent nanofossils (essentially Discoasters) on the core MD052124.

4.4. Combination of the ANN and statistical classification

According to the previous results, the best classification in successive groups is done by statistical classification. Consequently the optimal combination for birefringent nanofossils consists to keep the positive results from the binary ANN classification with more generalization potential (“coccolith” groups) and keep the positive results from another binary classification with less generalization (followed by further groups classifications). This help essentially to suppress a maximum of false-positives (Figure 12a). It is also possible to output each positive co-occurrences for some large groups (“sps”, “placoliths”, “spc”, “sca”, “tho”, “ist”, “ort”, “brm”, “spb”, “sps”, “rha”). It is a conjunction condition (logical “AND”) for both methods to filter miss-classification in order to do paleoceanographic studies, like the example for the “Placoliths” group Figure 12b. But it is also possible to output a disjunction condition (logical “OR”) to gather the maximum of objects, given positive for one or the other method, in order to not miss important species for biostratigraphic studies by example (all results of Figure 12b).

But for non-birefringent nanofossils the ANN are potentially not efficient enough for the same type of combination, we prefer to use only the statistical classification (the binary classification is more efficient: it suppresses 95% of the false positives contrary to 74% for ANN).

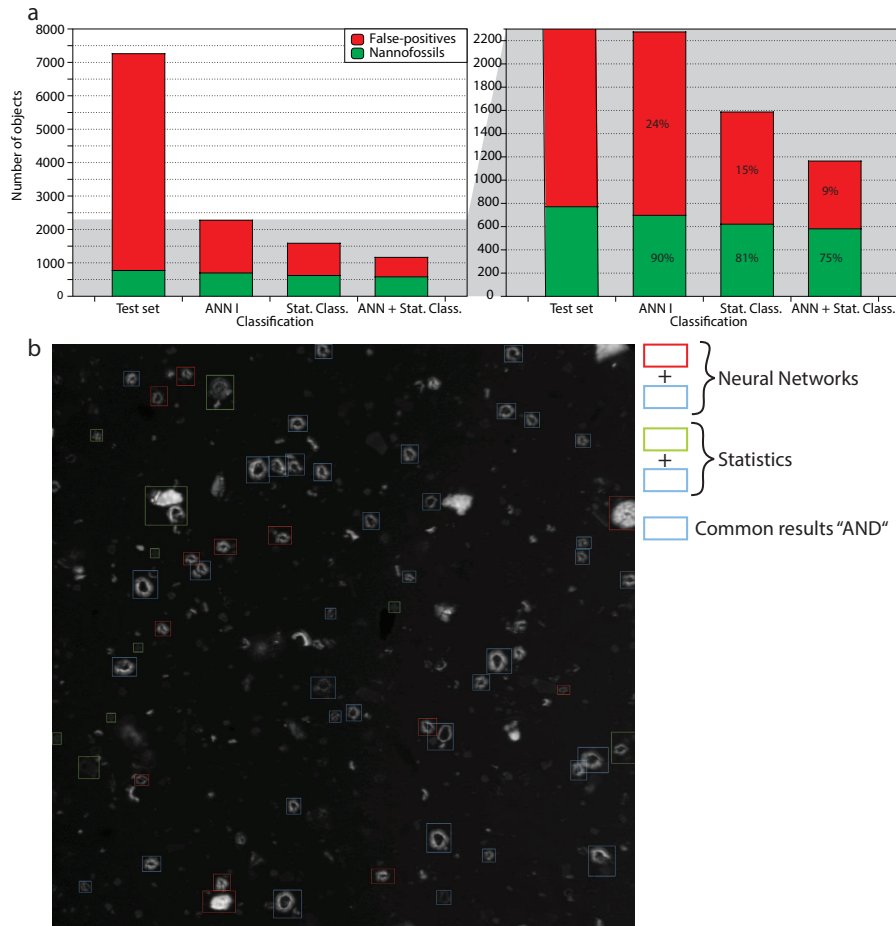


Figure 12. a) Histogram of the results of the primary classification from ANN I and statistical classification (Stat. Class.) and the combination of both. b) Example of classifications for the “Placoliths” groups on a field of view, with the different methods. The red squares are the results of the artificial neural networks, the green squares are the results of the statistical classifications and the blue squares are the common positives results of both methods.

4.5. Specific automated system for *Florisphaera profunda*: calibration using Core tops

In a Pleistocene low latitude sample, the relative abundance of *F. profunda* in the coccolith assemblage allows estimations of primary productivity (Beaufort et al., 1997; Molino and McIntyre, 1990). This species is particularly difficult to identify automatically mainly because it is a thin plate of calcite so weakly luminescent that can be confused with debris. A fast and reliable automated counting can be done on cores with the other nannofossils classifications. The first method uses a specific ANN on all images to find close *F. profunda* pattern and a program is applied on these images to refine the classification. This program has been calibrated first on two samples with a very low and a very high *F. profunda* abundances. This method have been tested on 96 samples from Indian Ocean coretops and compared with human countings did by Beaufort et al. (1997). This method eliminates around 50% of the *F. profunda* but also almost all the false-positives. If we multiply the number of specimen by two the correlation is highly significant with a 95% of confidence ($p(\text{correlation}) \gg 0,99$ and $p(a=1)=0,45$; Figure 13a). This indicates the robustness of the automatic counting of *F. profunda*. But this method is very sensitive to aggregates and luminosity variations.

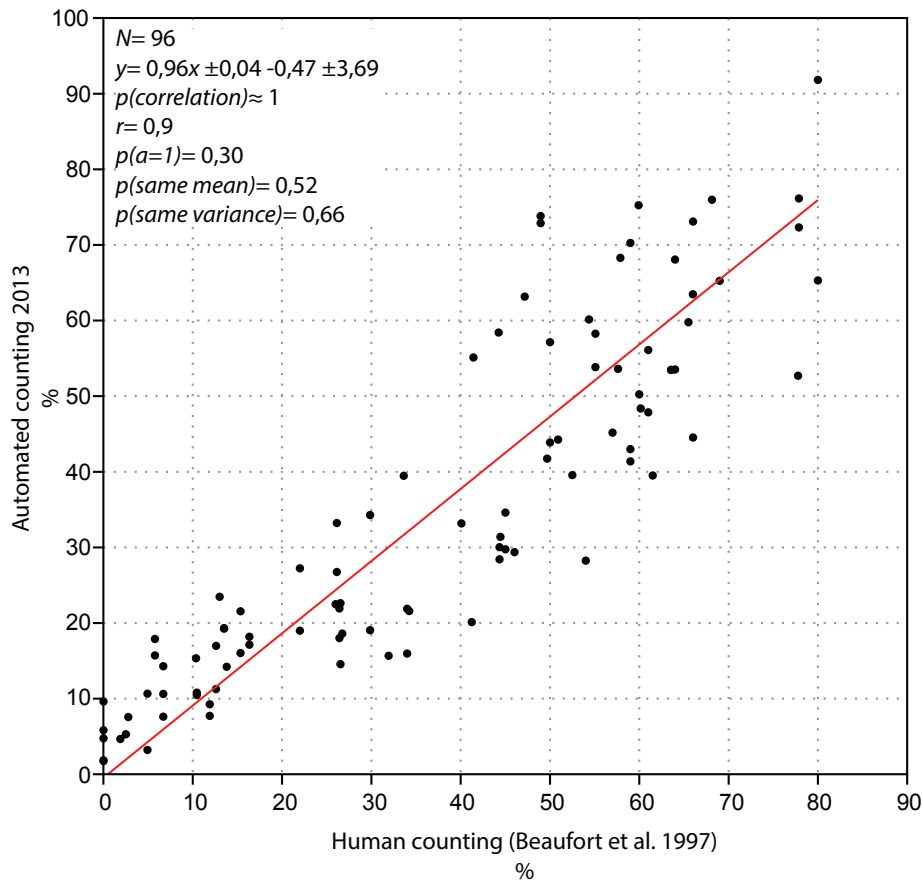


Figure 13. Human counting versus automated counting (ANN with shape pattern matching) on 96 Indian Ocean coretops samples. N is the number of sample, y is the equation of the linear fit, $p(\text{correlation})$ is the probability of linear correlation linked with the Pearson's r coefficient, $p(a=1)$ is the probability that the coefficient of the linear fit is 1, $p(\text{same mean})$ is the probability of the Student's t test for equal mean and $p(\text{same variance})$ is the probability of the Fisher's F test for equal variance. All probability tests are significant with 95% of confidence (over 0,05).

5. Conclusion

The new SYRACO has been improved with a new automated hardware able to avoid the extinction pattern of the calcite. It combines image analysis by ANN (Beaufort and Dollfus, 2004) and the statistical classifications on the morphometric matrix. The system then combines the ability of generalization of the neural networks and selective algorithms of the statistical classifiers. It recognizes approximately 75% to 90% of the calcareous nannofossils belonging to most of the Eocene to Pleistocene taxa during routine work and can filter until 95% of the false-positives (misidentification of non-nannofossils as nannofossils). The binary adaboost, LDA/QDA, SVM (linear and radial; kSVM), and Random Forests are algorithms that provide the best statistical classifications for nannofossils. These procedures further classify the coccoliths in morphogroups. Taxonomic determinations by specialist are facilitated by the use of these morphogroups. In practice, the biostratigraph can rapidly scan the mosaic output frames for each sample in search for key biostratigraphic species. The morphometric procedure extracts biometric data (size, surface, thickness...) for every individual. The system generates per sample, counts of morphogroups and statistics (mean, standard deviation) on biometric parameters. This will help to identify potential paleoecological/paleoceanographical events (calcification, acmes, turnover, low and high occurrences...). SYRACO is a robust and time saving procedure to explore paleoceanography and biostratigraphy. We have shown the reliability of automated recognition systems, their advantages to diversify and combine different methods of machine learning and the possibility to extend the recognition to older taxa or other groups such as diatoms.

Acknowledgements

We thank N. Buchet, Magalie Ermini, Clement Gally, Julien Charpin and Marine Pasturel for technical assistance. We also thank M.-P. Aubry (Rutgers University) for advices and providing samples. This work has been supported by fundings from TOTAL and CNRS.

References

- Amendolia, S.R., Cossu, G., Ganadu, M.L., Golosio, B., Masala, G.L., Mura, G.M., 2003. A comparative study of K-Nearest Neighbour, Support Vector Machine and Multi-Layer Perceptron for Thalassemia screening. *Chemometrics Intell. Lab. Syst.* 69, 13-20.
- Aubry, M.P., Bord, D., Beaufort, L., Kahn, A., Boyd, S., 2005. Trends in size changes in the coccolithophorids, calcareous nannoplankton, during the Mesozoic: A pilot study. *Micropaleontology* 51, 309-318.
- Barbarin, N., Bonin, A., Mattioli, E., Pucéat, E., Cappetta, H., Gréselle, B., Pittet, B., Vennin, E., Joachimski, M., 2012. Evidence for a complex Valanginian nannoconid decline in the Vocontian basin (South East France). *Marine Micropaleontology* 84-85, 37-53.
- Beaufort, L., 1992. Size variation in late Miocene Reticulofenestra and implication for paleoclimatic interpretation. *Mem. Sci. Geol.* 43, 339-350.
- Beaufort, L., 2005. Weight estimates of coccoliths using the optical properties (birefringence) of calcite. *Micropaleontology* 51, 289-297.
- Beaufort, L., de Garidel-Thoron, T., Mix, A.C., Pisias, N.G., 2001. ENSO-like forcing on oceanic primary production during the Late Pleistocene. *Science* 293, 2440-2444.
- Beaufort, L., Dollfus, D., 2004. Automatic recognition of coccoliths by dynamical neural networks. *Marine Micropaleontology* 51, 57-73.
- Beaufort, L., Lancelot, Y., Camberlin, P., Cayre, O., Vincent, E., Bassinot, F., Labeyrie, L., 1997. Insolation cycles as a major control equatorial Indian Ocean primary production. *Science* 278, 1451-1454.
- Beaufort, L., Probert, I., de Garidel-Thoron, T., Bendif, E.M., Ruiz-Pino, D., Metzl, N., Goyet, C., Buchet, N., Coupel, P., Grelaud, M., Rost, B., Rickaby, R.E.M., de Vargas, C., 2011. Sensitivity of coccolithophores to carbonate chemistry and ocean acidification. *Nature* 476, 80-83.
- Bishop, C.M., 1996. *Neural Networks for Pattern Recognition*. Oxford University Press.
- Bishop, C.M., 2007. *Pattern Recognition and Machine Learning*. Springer.
- Bollmann, J., 1997. Morphology and biogeography of Gephyrocapsa coccoliths in Holocene sediments. *Marine Micropaleontology* 29, 319-350.
- Boonyanunta, N., Zeephongsekul, P., 2003. Improving the Predictive Power of AdaBoost: A Case Study in Classifying Borrowers. *Proceedings of the 16th International Conference on Developments in Applied Artificial Intelligence*. Springer Verlag Inc., pp. 674-685.
- Bornemann, A., Aschwer, U., Mutterlose, J., 2003. The impact of calcareous nannofossils on the pelagic carbonate accumulation across the Jurassic-Cretaceous boundary. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 199, 187-228.
- Bousquet, O., Boucheron, S., Lugosi, G., 2004. Introduction to Statistical Learning Theory, in: Bousquet, O., von Luxburg, U., Rätsch, G. (Eds.), *Advanced Lectures on Machine Learning*, pp. 169-207.
- Bown, P.R., 1998. *Calcareous Nannofossil Biostratigraphy*. Chapman and Hall, Dordrecht.
- Bown, P.R., Lees, J.A., Young, J.R., 2004. Calcareous nannoplankton evolution and diversity through time, in: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, pp. 481-508.
- Bramlette, M.N., Riedel, W.R., 1954. Stratigraphic value of discoasters and some other microfossils related to Recent coccolithophores. *Journal of Paleontology* 28, 385-403.
- Breiman, L., 1996. Bagging predictors. *Machine Learning* 24, 123-140.
- Breiman, L., 2001. Random forests. *Machine Learning* 45, 5-32.
- Breiman, L., 2004. Consistency for a simple model of random forests. *Technical Report 670*, 1-10.
- Breiman, L., Friedman, J.H., Olshen, R.A., Stone, C.G., 1984. *Classification and Regression Trees*. Wadsworth International Group, Belmont, California, USA.
- Burges, C.J.C., 1998. A tutorial on Support Vector Machines for pattern recognition. *Data Min. Knowl. Discov.* 2, 121-167.
- Chen, P.H., Lin, C.J., Scholkopf, B., 2005. A tutorial on v-support vector machines. *Applied Stochastic Models in Business and Industry* 21, 111-136.
- Clark, L.A., Pregibon, D., 1992. Tree-based models, in: Chambers, J.M., Hastie, T.J. (Eds.), *Statistical models in S*. Pacific Grove. Wadsworth and Brooks, Pacific Grove, CA, pp. 377-419.
- Cortes, C., Vapnik, V., 1995. Support-vector networks. *Machine Learning* 20, 273-297.
- Cover, T., Hart, P., 1967. Nearest neighbor pattern classification. *IEEE Transactions on Information Theory* 13,

- 21-27.
- Cristianini, N., Shawe-Taylor, J., 2000. An introduction to Support Vector Machines and other kernel-based learning methods. Cambridge University Press.
- Culp, M., Johnson, K., Michailidis, G., 2006. ada: An R Package for Stochastic Boosting. *Journal of Statistical Software* 17, 1-27.
- Cunningham, P., Delany, S.J., 2007. k-Nearest Neighbour Classifiers. Technical Report UCD-CSEI-2007-4.
- Cutler, D.R., Edwards, T.C., Beard, K.H., Cutler, A., Hess, K.T., 2007. Random forests for classification in ecology. *Ecology* 88, 2783-2792.
- De'ath, G., 2002. Multivariate regression trees: a new technique for modeling species-environment relationships. *Ecology* 83, 1105-1117.
- De'ath, G., 2007. Boosted trees for ecological modeling and prediction. *Ecology* 88, 243-251.
- De'ath, G., Fabricius, K.E., 2000. Classification and regression trees: A powerful yet simple technique for ecological data analysis. *Ecology* 81, 3178-3192.
- Dollfus, D., 1997. Reconnaissance de formes naturelles par des réseaux de neurones artificiels: application au nannoplancton calcaire, Aix-Marseille. Université d'Aix-Marseille III, Marseille, France, p. 162.
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1996. Automatic pattern recognition of calcareous nanoplankton, Proceedings of the Conference on Neural Networks and their Applications (NEURAP 96), Marseille, France, pp. 306-311.
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1999. Fat neural network for recognition of position-normalised objects. *Neural Networks* 12, 553-560.
- Dollfus, D., Cambay, H., Pezard, P., 1997. From FMS images to formation density: a neural network approach. *Scientific Drilling* 6, 59-66.
- Elith, J., Leathwick, J.R., Hastie, T., 2008. A working guide to boosted regression trees. *J. Anim. Ecol.* 77, 802-813.
- Erba, E., 2004. Calcareous nannofossils and Mesozoic oceanic anoxic events. *Marine Micropaleontology* 52, 85-106.
- Fisher, N.R., 1936. The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems. *Annals of Eugenics* 7, 179-188.
- Freund, Y., Schapire, R.E., 1997. A Decision-Theoretic Generalization of On-Line Learning and an Application to Boosting. *Journal Computer and System Sciences* 55, 119-139.
- Gardin, S., Krystyn, L., Richoz, S., Bartolini, A., Galbrun, B., 2012. Where and when the earliest coccolithophores? *Lethaia* 45, 507-523.
- Hand, D.J., 1981. Discrimination and Classification. John Wiley & Sons, New York.
- Hasan, M., Boris, F., 2006. SVM: Machines à Vecteurs de Support ou Séparateurs à Vastes Marges, http://georges.gardarin.free.fr/Surveys_DM/Survey_SVM.pdf. Université de Versailles Saint-Quentin.
- Hastie, T., Tibshirani, R., Friedman, J., 2009. The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction. Second Edition. Springer.
- Henderiks, J., 2008. Coccolithophore size rules - Reconstructing ancient cell geometry and cellular calcite quota from fossil coccoliths. *Marine Micropaleontology* 67, 143-154.
- Herrmann, S., Thierstein, H.R., 2012. Cenozoic coccolith size changes - evolutionary and/or ecological controls? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 333-334, 92-106.
- Huang, K., Murphy, R., 2004. Boosting Accuracy of Automated Classification of Fluorescence Microscope Images for Location Proteomics. *BMC Bioinformatics* 5.
- Ivanciuc, O., 2007. Applications of Support Vector Machines in Chemistry, in: Lipkowitz, K.B., Cundari, T.R. (Eds.), *Reviews in Computational Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim, pp. 291-400.
- Jafar, S.A., 1983. Significance of Late Triassic calcareous nannoplankton from Austria and southern Germany. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie* 166, 218-259.
- Jain, A.K., Duin, R.P.W., Mao, J.C., 2000. Statistical pattern recognition: A review. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 22, 4-37.
- Kawakita, M., Minami, M., Eguchi, S., Lennert-Cody, C., 2005. An Introduction to the Predictive Technique AdaBoost with a Comparison to Generalized Additive Models. *Fisheries Research* 76, 323-343.
- Kim, K.-j., 2003. Financial time series forecasting using support vector machines. *Neurocomputing* 55, 307-319.
- Knappertsbusch, M., Cortes, M.Y., Thierstein, H.R., 1997. Morphologic variability of the coccolithophorid *Calcidiscus leptoporus* in the plankton, surface sediments and from the Early Pleistocene. *Marine Micropaleontology* 30, 293-317.
- Lawler, J.J., White, D., Neilson, R.P., Blaustein, A.R., 2006. Predicting climate-induced range shifts: model differences and model reliability. *Glob. Change Biol.* 12, 1568-1584.
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. *Numerical Ecology*, 2nd Revised edition Elsevier Science Ltd.
- Lemmons, A., Croux, C., 2005. Bagging and Boosting Classification Trees to Predict Churn. *Journal of Marketing Research* 43, 276-268.
- Li, H.D., Liang, Y.Z., Xu, Q.S., 2009. Support vector machines and its applications in chemistry. *Chemometrics Intell. Lab. Syst.* 95, 188-198.

- Liaw, A., Wiener, M., 2002. Classification and Regression by randomForest. *R News* 2, 18-22.
- Liu, H.X., Yao, X.J., Zhang, R.S., Liu, M.C., Hu, Z.D., Fan, B.T., 2006. The accurate QSPR models to predict the bioconcentration factors of nonionic organic compounds based on the heuristic method and support vector machine. *Chemosphere* 63, 722-733.
- Liu, J.J., Bharati, M.H., Dunn, K.G., MacGregor, J.F., 2005. Automatic masking in multivariate image analysis using support vector machines. *Chemometrics Intell. Lab. Syst.* 79, 42-54.
- Martinez, A.M., Kak, A.C., 2001. PCA versus LDA. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 23, 228-233.
- Martini, E., 1971. Standard Tertiary and Quaternary calcareous nannoplankton zonation, in: Farinacci, A. (Ed.), *Proceedings of the Second Planktonic Conference Roma 1970*, Edizioni Tecnoscienza ed, Rome, pp. 739-785.
- McIntyre, A., 1967. Coccoliths as Paleoclimatic Indicators of Pleistocene Glaciation. *Science* 158, 1314-1317.
- Meyer, D., Leisch, F., Hornik, K., 2003. The support vector machine under test. *Neurocomputing* 55, 169-186.
- Molfino, B., McIntyre, A., 1990. Precessional forcing of nutricline dynamics in the equatorial Atlantic. *Science* 249, 766-769.
- Noble, W.S., 2006. What is a support vector machine? *Nat. Biotechnol.* 24, 1565-1567.
- Okada, H., Bukry, D., 1980. Supplementary modification and introduction of code numbers to the low-latitude coccolith biostratigraphic zonation (Bukry, 1973; 1975). *Marine Micropaleontology* 5, 321-325.
- Prasad, A.M., Iverson, L.R., Liaw, A., 2006. Newer classification and regression tree techniques: Bagging and random forests for ecological prediction. *Ecosystems* 9, 181-199.
- Ripley, B.D., 1996. *Pattern Recognition and Neural Networks*. Cambridge University Press.
- Schapire, R.E., Freund, Y., Bartlett, P., Lee, W.S., 1998. Boosting the margin: A new explanation for the effectiveness of voting methods. *Ann. Stat.* 26, 1651-1686.
- Smola, A.J., Scholkopf, B., 2004. A tutorial on support vector regression. *Stat. Comput.* 14, 199-222.
- Sucheras-Marx, B., Mattioli, E., Pittet, B., Escarguel, G., Suan, G., 2010. Astronomically-paced coccolith size variations during the early Pliensbachian (Early Jurassic). *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 295, 281-292.
- Sugata, S., Abe, Y., 2001. Computer Simulation of Hydrodynamic Models for Chemical/Pharmaco-Kinetics. *Journal of Chemical Software* 7.
- Therneau, T.M., Atkinson, E.J., 1997. An introduction to recursive partitioning using the RPART routines. Mayo Clinic, Rochester, MM.
- Ulitz, P., Zhu, J., Qin, Z., Andrews, P., 2006. Improved Classification of Mass Spectrometry Database Search Results Using Newer Machine Learning Approaches. *Molecular and Cellular Proteomics* 5, 497-509.
- Vapnik, V., 1995. *The Nature of Statistical Learning Theory*. Springer-Verlag, New York.
- Vapnik, V., 1998. *Statistical Learning Theory*. Wiley-Interscience.
- Vayssières, M.P., Plant, R.E., Allen-Diaz, B.H., 2000. Classification trees: An alternative non-parametric approach for predicting species distributions. *J. Veg. Sci.* 11, 679-694.
- Venables, W.N., Ripley, B.D., 2002. *Modern Applied Statistics with S*, 4th edition. Springer.
- Verbyla, D.L., 1987. Classification trees - a new discrimination tool. *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.* 17, 1150-1152.
- Xu, Y., Zomer, S., Brereton, R.G., 2006. Support Vector Machines: A recent method for classification in chemometrics. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 36, 177-188.
- Zeng, Y., Starzyk, J., 2001. Statistical Approach to Clustering in Pattern Recognition, *Proceedings of the 33rd Southeastern Symposium on System Theory*, pp. 177 - 181.

5.2.1. Retour sur l'article en quelques points

- Malgré les très bons résultats de classification, nous avons rencontré des difficultés de normalisation pour les raisons suivantes : la base de données a été réalisée avec des intensités lumineuses variables dues à la fatigue de la lampe et à des modifications mineures des paramétrages du microscope. À cela s'ajoute le fait que les acquisitions proviennent de deux caméras, une noir et blanc et une couleur.
- Initialement, le nouveau SYRACO devait utiliser fondamentalement et uniquement les réseaux de neurones de [Dollfus et Beaufort \(1999\)](#) et [Beaufort et Dollfus \(2004\)](#) avec une base de données étendue. Mais après le workshop I-Phyto de mars 2012 à Paris, j'ai exploité la possibilité de la classification

statistique. Près de 9 mois ont été nécessaires à la réalisation de cette tâche, entre les programmes de morphométrie, le choix des méthodes et du programme pour les classifications (parmi MATLAB, R, Scilab, etc.). Mon choix s'est arrêté sur le logiciel R pour sa gratuité et sa simplicité ; d'autant que les connaissances de Marine Pasturel (doctorante au CEREGE) sur ce logiciel concernant certaines méthodes de classification m'ont permis de les tester rapidement. Mais R n'est malencontreusement pas compatible avec LabView. De nombreux tests de méthodes, de variables, de regroupements de classes et de codage sous R ont alors été nécessaires pour utiliser mes modèles en cascade.

- La morphométrie, lors de la segmentation des images, permet donc de « faire d'une pierre deux coups » : la classification et une énorme quantité de mesures sur des nannofossiles.
- Il m'a fallu faire des choix pour avancer « vite », car avec beaucoup d'idées abordées, de discussions passionnantes et d'articles auscultés, tout ne s'avérait pas être à ma portée (comme implémenter des algorithmes sans être sûr du résultat), J'ai dû aussi limiter les combinaisons possibles de méthodes, sans toujours exploiter jusqu'au bout certaines possibilités si les résultats initiaux n'étaient pas concluants. Certaines idées sont reprises dans le chapitre des perspectives.
- Les aléas de l'informatique ont aussi ponctué régulièrement le développement numérique de SYRACO : problèmes de disques durs (stockage parfois insuffisant, difficultés de détection par Windows, etc.), de lenteur du réseau informatique, des bugs (un grand classique de la programmation ! donc revoir les lignes de codes et recommencer, etc.), de formatages des fichiers...
- Il y a régulièrement eu des mises à jour des programmes informatiques qui ont empêché de traiter les échantillons commencés avec les versions précédentes ; obligeant à recommencer le traitement de l'ensemble des échantillons avec le nouveau programme. Par exemple, la version serveur de SYRACO sous LINUX était appelée par le Z800 dans la salle des microscopes. Mais le formatage du serveur en Windows server 2008 (pour réaliser tous les traitements rapidement sur une seule machine) a détruit cette possibilité parallèle, gênant la fin du traitement de certaines carottes qui avaient été mises de côté momentanément. Dans ce type de situations, un équipement « tampon » serait nécessaire pour tester de nouveaux programmes sans affecter – et recommencer – ce qui a été entamé auparavant.
- Le problème des photos floues persiste lors de la prise automatique des photos de champs. La « prédiction » n'est pas satisfaisante à elle seule car de petits mouvements verticaux interviennent décalant le focus « réel ». Un autofocus calculant la variance des images serait beaucoup trop long. Les essais de détection de dioptrie par laser n'ont pas été concluants et le système testé était complexe à mettre en œuvre. D'autre part, lorsque l'on s'aperçoit que les photos en cours sont floues, il n'y a pour l'instant aucun moyen d'arrêter la séquence, mis à part d'arrêter le processus dans le gestionnaire des tâches de Windows (Ctrl+Alt+Suppr).
- Une autre difficulté, au sujet des photos, concerne la mise au point sur le fond et les coccolithes fins qui empêche une mise au point de qualité sur les coccolithes plus épais. Une solution multifocus est en cours de réalisation.

5.2.2. Améliorations techniques possibles

Comme tout système, il serait possible de l'améliorer encore. Certaines solutions ont été testées mais se sont avérées non-concluantes. Cependant, je pense qu'il est nécessaire de persister, par d'autres moyens peut-être. D'autres solutions n'étaient pas à notre portée, d'un point de vue technologique ou mathématique, et n'ont donc pas pu être testées. Mes réflexions sur le sujet sont consignées ci-dessous.

Côté technique, il faudra probablement faire de nouveaux efforts afin d'améliorer la prise de vue. Car il est malheureusement encore possible d'obtenir des photos floues pour diverses raisons : les gros nannofossiles peuvent devenir flous si le focus est réalisé sur un fond composé de petits nannofossiles ; les irrégularités de la lame mince ou une composition de plusieurs petites lamelles pour 4, 6 ou 8 échantillons ; des vibrations dues aux rotations des cubes des polariseurs et des analyseurs ; un sol instable, etc. Il y a plusieurs pistes à suivre sur le plan numérique et optique :

- L'hyperfocus (multifocus ou *photo stacking*) qui consiste à combiner plusieurs images prises à différentes distances de mises au point qui permet d'obtenir une image avec une plus grande profondeur de champ qu'avec des images individuelles (De et Chanda, 2013; Li et al., 2013).

- Un système d'autofocus ultrarapide par détection de phase ou détection de contraste comme sur les capteurs des appareils photos numériques ; ou des systèmes par détection de dioptries avec faisceaux lasers (Nantel et al., 2003; Alonso et al., 2005; Antti et al., 2012).

Des méthodes de traitement d'images et de classifications nous ont paru intéressantes mais compliquées à mettre en œuvre :

- La segmentation des agrégats pourrait bénéficier d'algorithmes plus complexes mais probablement plus efficaces (Wang, 1998, 1999; Wang et Li, 2006; Wang, 2008).

- Une correction de fond plus précise par *rolling-ball* (Sternberg, 1983), méthode notamment présente dans ImageJ.

- Une méthode de classification des images par *clustering* (Melnyk et Tushnytsky, 2009, 2013).

- L'utilisation de la polarisation circulaire avec le montage *Benford* (Craig, 1961; Oldenbourg et Mei, 1995; Marsh, 2003; Higgins, 2010; Bollmann, 2013) pour un calcul encore plus précis de la masse des nannofossiles (pas de croix noire résiduelle, ni de combinaison d'images nécessaire).

- Ou encore l'emploi de nouveaux paramètres descriptifs pour affiner la classification des morphogroupes (Goncalves et Bruno, 2013; Perez-Suarez et al., 2013) (Bereta et al., 2013; Qian et al., 2013; Raffei et al., 2013; Rafiee et al., 2013; Zhao et al., 2013).

Il serait aussi très utile de concevoir un programme pour tester automatiquement les réseaux de neurones, générés lors d'un apprentissage, sur des dossiers d'images test. Ce test existe déjà dans la version précédente de SYRACO mais les mosaïques d'images des résultats de classification sont écrasées toutes les 20 itérations ; ce qui nécessite d'être présent devant l'ordinateur et va à l'encontre du souci de rentabilité. À l'époque, le temps de calcul plus long permettait de vérifier les résultats environ toutes les heures. Grâce à cette thèse et au développement des calculs sur le serveur, la réduction du temps de calcul ne permet plus de compter les images. Nous avons maintenant les connaissances pour obtenir, à la fin de l'apprentissage, un fichier qui donne les pourcentages de classification pour chaque itération. Il faudrait aussi poursuivre les tests de reconnaissance sur les vignettes de taille supérieure à 65*65 pixels. Mais le temps de calcul devient alors plus long, surtout si l'on reconsidère les paramètres par défaut (nombre de neurones, nombre de rotations, nombre d'actions...). Pour les méthodes statistiques, il existe aussi un grand nombre de paramètres pour chaque algorithme qui ne peuvent pas être testés efficacement manuellement. Un programme de test permettrait de trouver des paramètres optimaux de classification.

SYRACO est maintenant opérationnel. Il est possible de traiter une carotte de 500 échantillons en environ une semaine. La quantité de mesures associée aux classifications robustes permet d'obtenir de nombreux résultats d'abondances et de mesures morphométriques pour chaque morphogroupe. Ces données apportent donc beaucoup d'informations pour les besoins actuels des scientifiques et des industriels. Mais peut-être que SYRACO permettra d'aller encore plus loin et d'ouvrir de nouvelles perspectives dans la compréhension et l'utilisation des nannofossiles calcaires.

« Il existe deux manières de concevoir un logiciel. La première, c'est de le faire si simple qu'il est évident qu'il ne présente aucun problème. La seconde, c'est de le faire si compliqué qu'il ne présente aucun problème évident. La première méthode est de loin la plus complexe. »

Charles Antony Richard Hoare

Références citées

- Alonso, J., Crespo, D., Jimenez, I., Bernabeu, E., 2005. Optical autofocus for high resolution laser photoplotting, dans: Badenes, G., Abbott, D., Serpenguzel, A. (Eds.), *Photonic Materials, Devices, and Applications*, Pts 1 and 2. Spie-Int Soc Optical Engineering, Bellingham, p. 871-878.
- Antti, M., Ville, H., Jorma, V., 2012. Precise Online Auto-focus System in High Speed Laser Micromachining Applications. *Physics Procedia* 39, 807-813.
- Beaufort, L., Dollfus, D., 2004. Automatic recognition of coccoliths by dynamical neural networks. *Marine Micropaleontology* 51, 57-73.
- Bereta, M., Karczmarek, P., Pedrycz, W., Reformat, M., 2013. Local descriptors in application to the aging problem in face recognition. *Pattern Recognit.* 46, 2634-2646.
- Bollmann, J., 2013. Technical Note: Weight approximation of single coccoliths inferred from retardation estimates using a light microscope equipped with a circular polariser – (the CPR Method). *Biogeosciences Discuss.* 10, 11155-11179.
- Craig, D.B., 1961. The Benford plate. *The American Mineralogist*, 46, 757-758.
- De, I., Chanda, B., 2013. Multi-focus image fusion using a morphology-based focus measure in a quad-tree structure. *Information Fusion* 14, 136-146.
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1999. Fat neural network for recognition of position-normalised objects. *Neural Networks* 12, 553-560.
- Goncalves, W.N., Bruno, O.M., 2013. Combining fractal and deterministic walkers for texture analysis and classification. *Pattern Recognit.* 46, 2953-2968.
- Higgins, M.D., 2010. Imaging birefringent minerals without extinction using circularly polarized light. *Canadian Mineralogist* 48, 231-235.
- Li, S., Kang, X., Hu, J., Yang, B., 2013. Image matting for fusion of multi-focus images in dynamic scenes. *Information Fusion* 14, 147-162.
- Marsh, M.E., 2003. Regulation of CaCO₃ formation in coccolithophores. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 136, 743-754.
- Melnyk, R., Tushnytsky, R., 2009. Image classification by pattern and structure features clustering. *International Journal of Computing* 8, 53-60.
- Melnyk, R., Tushnytsky, R., 2013. 4-D pattern structure features by three stages clustering algorithm for image analysis and classification. *Pattern Analysis and Applications* 16, 201-211.
- Nantel, M., Sue-Chu-Lam, K., Grozdanovski, D., 2003. New autofocusing system for laser micromachining, dans: Blau, W.J., Donegan, J.F., Duke, A.F., MacCraith, J.A., McMillan, N.D., Oconnor, G.M., Omongain, E., Toal, V., McLaughlin, J.A. (Eds.), *Opto-Ireland 2002: Optics and Photonics Technologies and Applications*, Pts 1 and 2. Spie-Int Soc Optical Engineering, Bellingham, p. 582-592.
- Oldenbourg, R., Mei, G., 1995. New polarized light microscope with precision universal compensator. *Journal of Microscopy* 180, 140-147.
- Perez-Suarez, A., Martinez-Trinidad, J.F., Carrasco-Ochoa, J.A., Medina-Pagola, J.E., 2013. An algorithm based on density and compactness for dynamic overlapping clustering. *Pattern Recognit.* 46, 3040-3055.
- Qian, J.J., Yang, J., Gao, G.W., 2013. Discriminative histograms of local dominant orientation (D-HLDO) for biometric image feature extraction. *Pattern Recognit.* 46, 2724-2739.
- Raffei, A.F.M., Asmuni, H., Hassan, R., Othman, R.M., 2013. Feature extraction for different distances of visible reflection iris using multiscale sparse representation of local Radon transform. *Pattern Recognit.* 46, 2622-

2633.

- Rafiee, G., Dlay, S.S., Woo, W.L., 2013. Region-of-interest extraction in low depth of field images using ensemble clustering and difference of Gaussian approaches. *Pattern Recognit.* 46, 2685-2699.
- Sternberg, S.R., 1983. Biomedical Image-Processing. *Computer* 16, 22-34.
- Wang, W.X., 1998. Binary image segmentation of aggregates based on polygonal approximation and classification of concavities. *Pattern Recognit.* 31, 1503-1524.
- Wang, W.X., 1999. Image analysis of aggregates. *Computers & Geosciences* 25, 71-81.
- Wang, W.X., 2008. Aggregate particle image segmentation - art. no. 67234X, dans: Pan, J., Wyant, J.C., Wang, H.X. (Eds.), 3rd International Symposium on Advanced Optical Manufacturing and Testing Technologies: Optical Test and Measurement Technology and Equipment, Parts 1-3. Spie-Int Soc Optical Engineering, Bellingham, p. X7234-X7234.
- Wang, W.X., Li, L., 2006. A binary image segmentation algorithm for touching aggregate particles. *Dynamics of Continuous Discrete and Impulsive Systems-Series B-Applications & Algorithms* 13E, 753-757.
- Zhao, X.Y., He, Z.X., Zhang, S.Y., Kaneko, S., Satoh, Y., 2013. Robust face recognition using the GAP feature. *Pattern Recognit.* 46, 2647-2657.

6. APPLICATIONS ET RESULTATS

La phase de développement de SYRACO étant arrivée à son terme, il est maintenant nécessaire de démontrer son efficacité et son utilité pour les spécialistes. Nous commencerons tout d'abord, de manière non exhaustive, par traiter son utilité en biostratigraphie (déterminer des espèces marqueurs, des variations d'abondances...), puis en paléocéanographie (comparaison avec la température, évolution de la masse et de la calcification des coccolithophoridés de la famille des Noelaerhabdaceae, et étude de la paléoproduktivité primaire).

6.1. APPLICATION DE SYRACO POUR LA BIOSTRATIGRAPHIE

Les nannofossiles calcaires sont d'excellents marqueurs chronostratigraphiques car très diversifiés et abondants (voir Chapitre 2). Les biozonations sont exhaustives, complètes et, pour la plupart, bien contraintes géochronologiquement (Martini, 1971; Berggren *et al.*, 1995; Raffi *et al.*, 2006). Elles sont définies par des variations majeures d'abondances/dominances et par les premières et dernières occurrences d'espèces à l'échelle globale.

6.1.1. Exemple de la carotte MD052930 (Golfe de Papouasie Nouvelle-Guinée)

La carotte MD052930 a été collectée dans le Golfe de Papouasie Nouvelle-Guinée, dans la Mer de Corail (**Figure 6-1**) à une profondeur de -1490 m lors de la campagne MD148 du programme IMAGES XIII PECTEN (Beaufort *et al.*, 2005) afin de reconstruire les variations passées du climat à différentes échelles de temps. Elle se situe à la latitude: -10°42.17' Sud et à la longitude: 146°26.22' Est. Sa longueur est de 36,8 m.

La zone de la Mer de Corail est localement traversée par le *New Guinea Coastal Under Current* (NGCUC **Figure 6-1**) bloqué à l'ouest par le détroit de Torres et en surface par la gyre de *Hiri*. À plus grande échelle, elle se situe entre les masses d'eaux océaniques pacifiques et indiennes. Elle est aussi sous influence des moussons (Houghton et Guptha, 1991; Beaufort *et al.*, 2010) et des cycles El-Niño (Beaufort *et al.*, 2001; Tudhope *et al.*, 2001; Gagan *et al.*, 2004).

Le modèle d'âge de la carotte a été établi à partir des valeurs isotopiques de l'oxygène de foraminifères benthiques (**Figure 6-2** et **Figure 6-3**). Les cycles glaciaires et les différents stades isotopiques sont très bien figurés. Ainsi, le sommet de la carotte a été daté à 3 177 ans et la base à 798 370 ans.

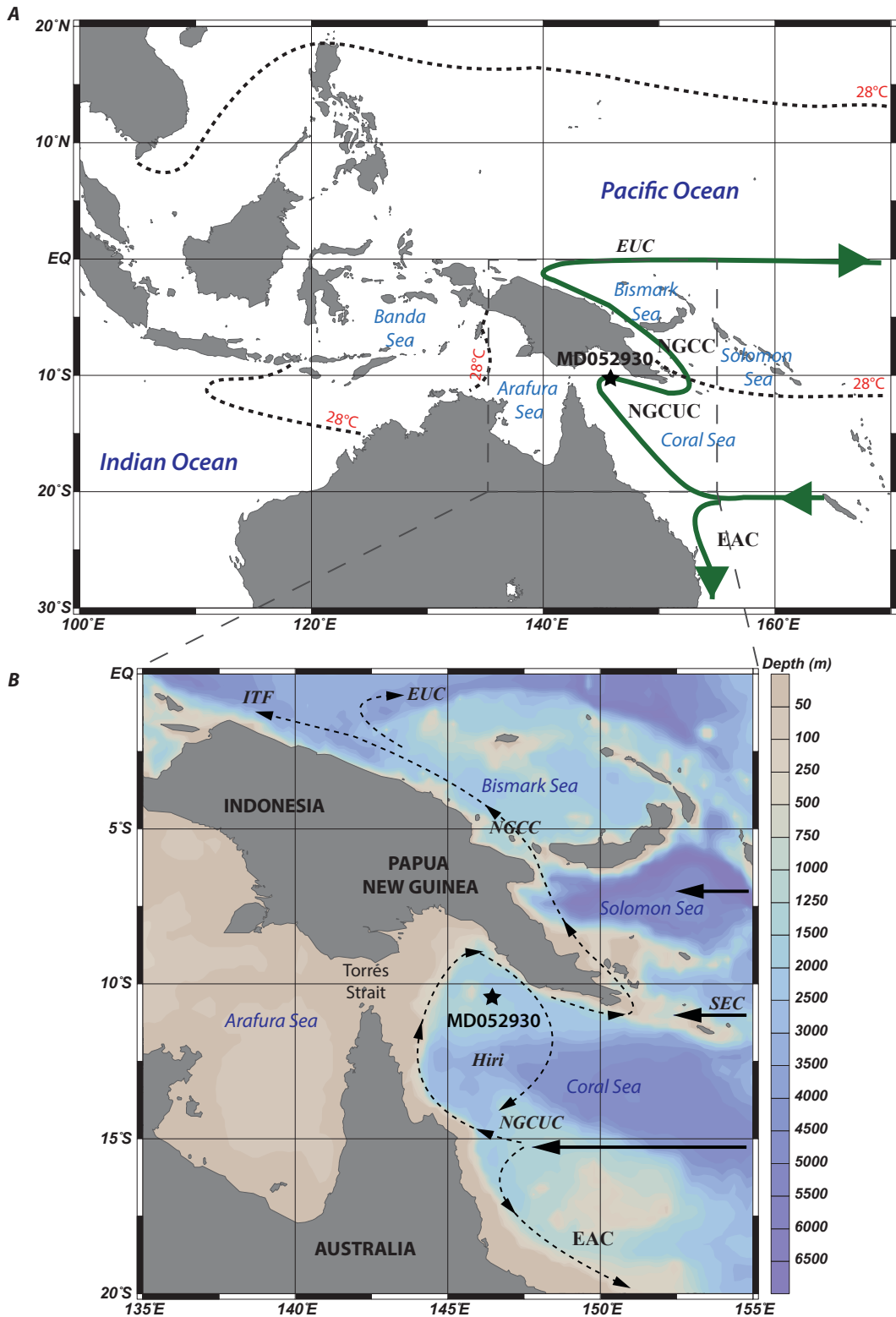


Figure 6-1. (A) Aperçu général du secteur Ouest Pacifique et (B) zoom sur la localisation de la carotte MD052930 avec la bathymétrie. Les flèches représentent les principaux courants océaniques NGCC= New Guinea Coastal Current, NGCUC= New Guinea Coastal Under Current, Hiri= Hiri Current et Gyre, EUC= Equatorial Under Current, ITF= Indonesian Throughflow, SEC=South Equatorial Current, EAC= East Australian Current. Les lignes pointillées indiquent la ligne isotherme de la température moyenne annuelle de l'eau de surface, soit 28°C (Locarnini *et al.*, 2010) délimitant l'actuel Western Pacific Warm Pool. Modifié d'après Tachikawa *et al.* (2011), Brunskill (2004) and Burrage (1993).

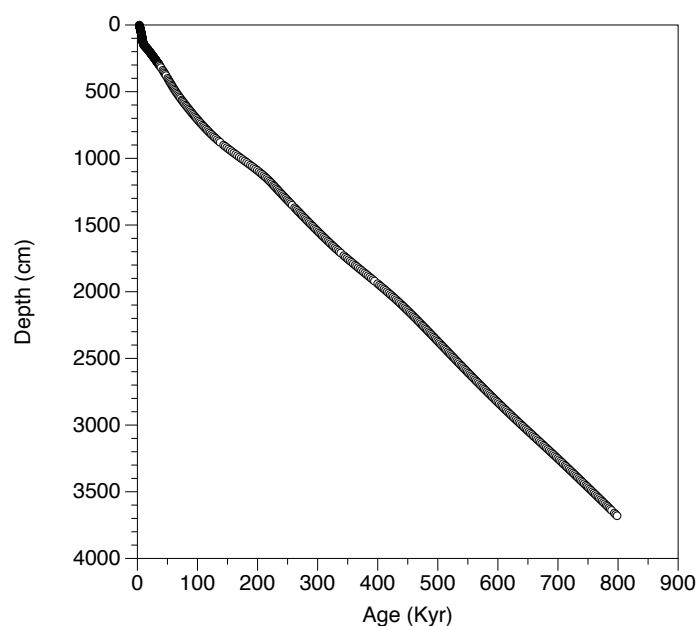


Figure 6-2. Modèle d'âge de la carotte MD052930, calibré sur le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques (Ménabréaz *et al.*, 2014; Regoli *et al.*, Submitted).

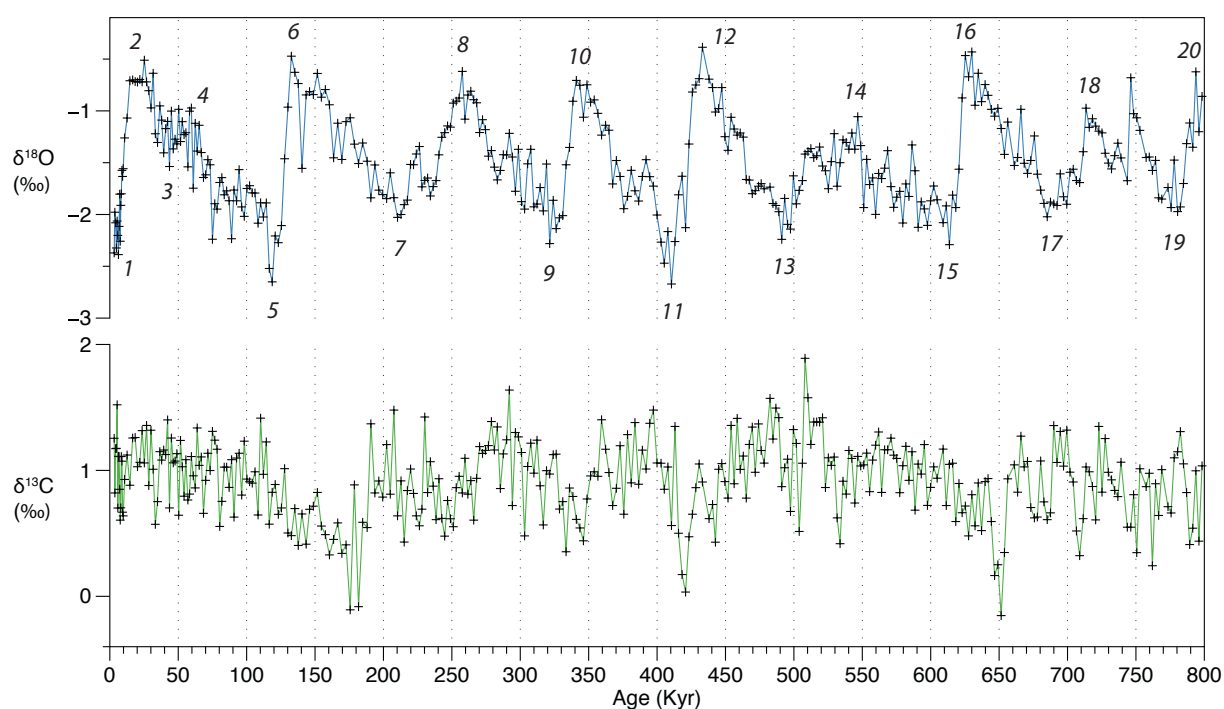


Figure 6-3. Courbes isotopiques du $\delta^{18}\text{O}$ et du $\delta^{13}\text{C}$ de foraminifères benthiques de la carotte MD30. Les stades isotopiques du $\delta^{18}\text{O}$ sont en italiques, définis d'après Lisiecki et Raymo (2005).

La carotte a été échantillonnée tous les 2 cm sur les trois premiers mètres puis environ tous les 10 cm, soit un total de 480 échantillons approximativement. Pour l'observation des nannofossiles calcaires, des frottis classiques ont été réalisés et soumis à SYRACO.

La classification du groupe de placolithes est relativement homogène, avec peu de faux-positifs (**Figure 6-4**). SYRACO reconnaît même toutes sortes d'états de préservation (**Figure 6-4**). Le nombre de placolithes classifiés entre les réseaux de neurones et les statistiques est relativement similaire (**Figure 6-5**). En comptant les mêmes images classifiées par les deux méthodes, on obtient les mêmes tendances (**Figure**

6-6). Cette observation indique que le système est optimal pour ce groupe. La **Figure 6-7** présente les données brutes de comptages automatiques pour cinq morphogroupes, présentés en abondances relatives calculées à partir de tous les placolithes. Chaque groupe montre de fortes variations, de la droite vers la gauche :

- Le groupe « pse » décroît de 4 % environ à 1 % vers 480 ka (milliers d'années, ou Kyr) puis reste stable autour de 1 %. Sauf autour de 650 ka, où a lieu une forte baisse.
- Le groupe « geo+gepg » montre une augmentation progressive de 10 à 25 % environ vers 400 ka, puis diminue à nouveau autour de 5 %.
- Le groupe « ger » oscille entre 3 et 1 % avant 600 ka, se stabilise autour de 1 % entre 600 et 300 ka, puis augmente autour de 2 et 3 %.
- Le groupe « emi » baisse brutalement de 3 % à 1 % vers 750 ka et oscille globalement autour de 1 % jusqu'à 260 ka, puis augmente à nouveau jusqu'à 2 %.
- Le groupe « nop » oscille autour de 10 % jusqu'à 65 ka où il augmente brutalement jusqu'à 20 %, et diminue de nouveau par la suite.

Si l'on interprète ces variations en tenant compte de la littérature et des espèces présentes dans les morphogroupes, il est possible de déterminer – au maximum à 20 ka près – trois limites de biozones (**Figure 6-8**). La baisse de « pse » à 480 ka (**Figure 6-8**, 3) marque très probablement une chute de l'abondance de *Pseudoemiliana lacunosa* avant son extinction à 460 ka qui marque la limite NN19/NN20 (Gartner, 1977a; Thierstein *et al.*, 1977; Berggren *et al.*, 1995). Par conséquent, les valeurs d'abondances inférieures à environ 1 % peuvent être interprétées comme un bruit de fond dû à des erreurs de classification. La baisse importante de « geo+gepg » vers 266 ka, au stade 8 (**Figure 6-8**, 2), signale certainement la fin de l'acmé de *Gephyrocapsa caribbeanica* datée à 268 ka et très proche de la première occurrence de *E. huxleyi* datée à 260 ka définissant la limite NN20/NN21 (Boudreaux et Hay, 1967; Thierstein *et al.*, 1977). Lors de la baisse de ces grandes *Gephyrocapsa*, les plus petites représentées par le groupe « ger » augmentent en abondance. Cette observation a déjà été signalée par Pujos et Giraudeau (1993) et pour des espèces telles que *G. aperta* et *G. mullerae* par Pujos-Lamy (1976, 1977) entre les stades climatiques 7 et 6,5, jusqu'à 150 ka pour *G. aperta* et jusqu'à 100 ka environ pour *G. mullerae*. Pour finir, la rapide augmentation du groupe « nop » à 65 ka (**Figure 6-8**, 1) correspond très probablement au début de l'acmé d'*Emiliana huxleyi*, daté à 61 ka définissant la limite NN21a/NN21b (Gartner and Emiliani, 1976).

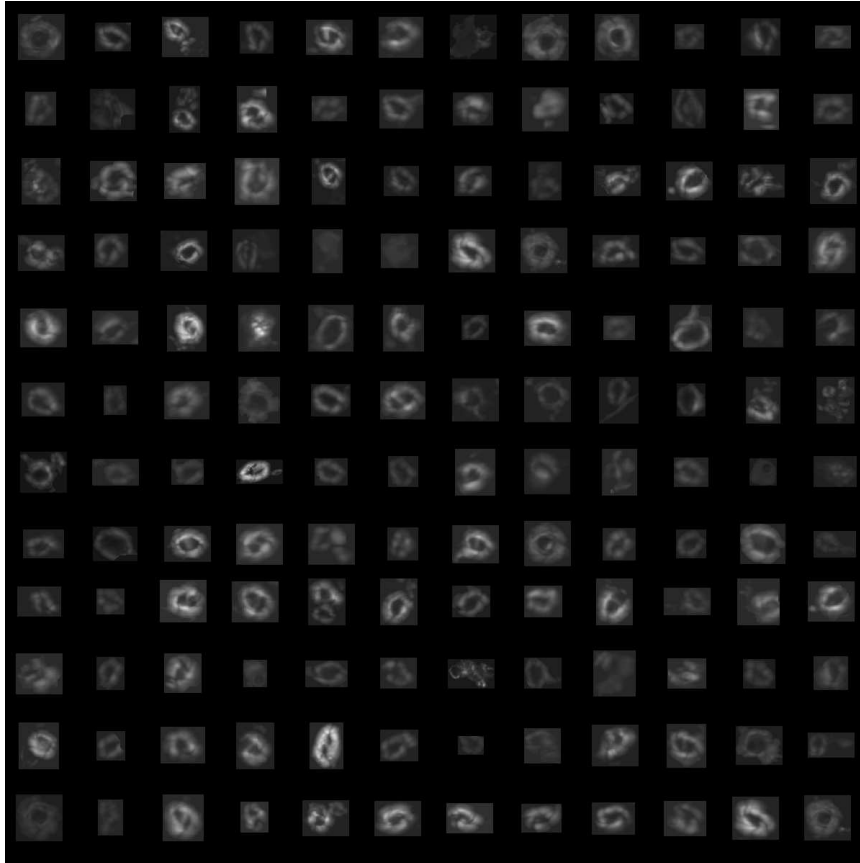


Figure 6-4. Exemple d'une mosaïque d'images de placolithes (12x12) classées par le système. Ce tri contient peu de faux-positifs et montre que le système reconnaît bien toutes sortes de coccolithes avec différents états de préservation. L'échelle de ces vignettes est de 65*65 pixels pour être soumises aux réseaux de neurones de SYRACO, donc certaines images ont dû être réduites d'où l'absence d'échelle en micromètre.

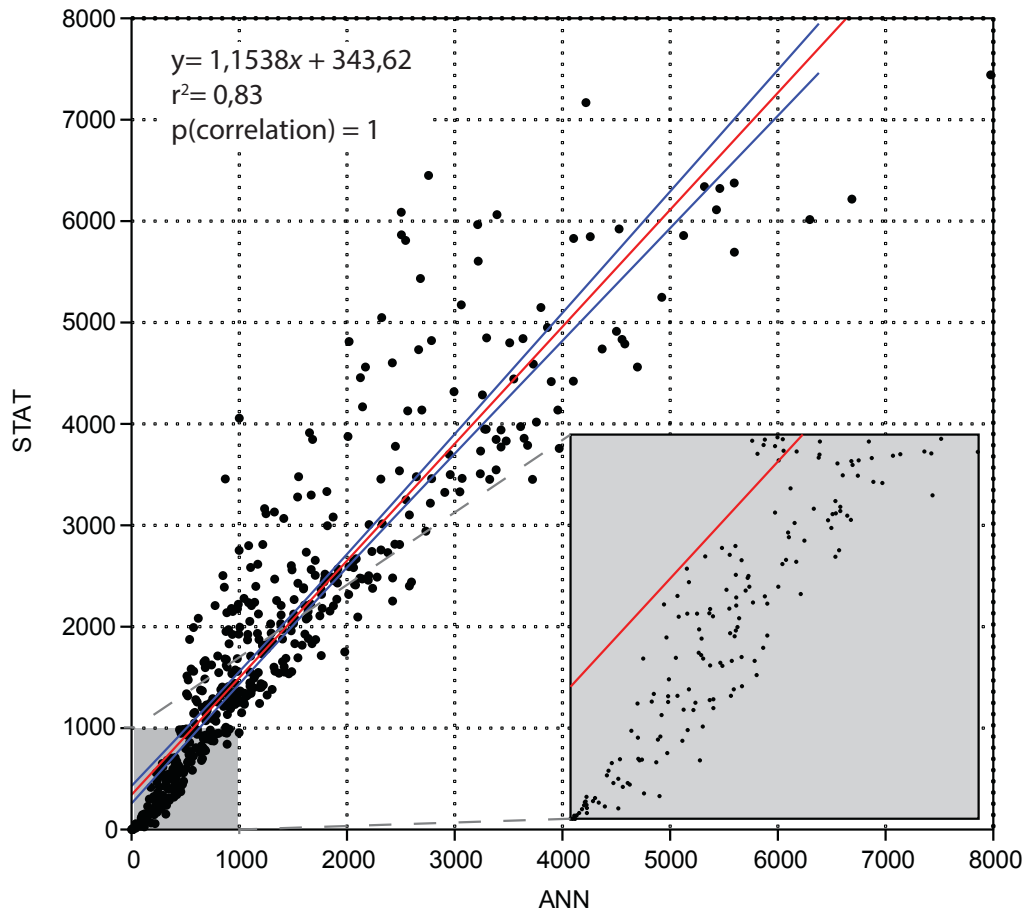


Figure 6-5. Graphique comparant les résultats du comptage des placolithes pour un même échantillon entre les réseaux de neurones (ANN) et les classifications statistiques (STAT). Le carré gris est un zoom sur les faibles valeurs. Globalement l'estimation d'une méthode à l'autre donne un résultat du même ordre de grandeur, avec une « surestimation » pour la classification statistique.

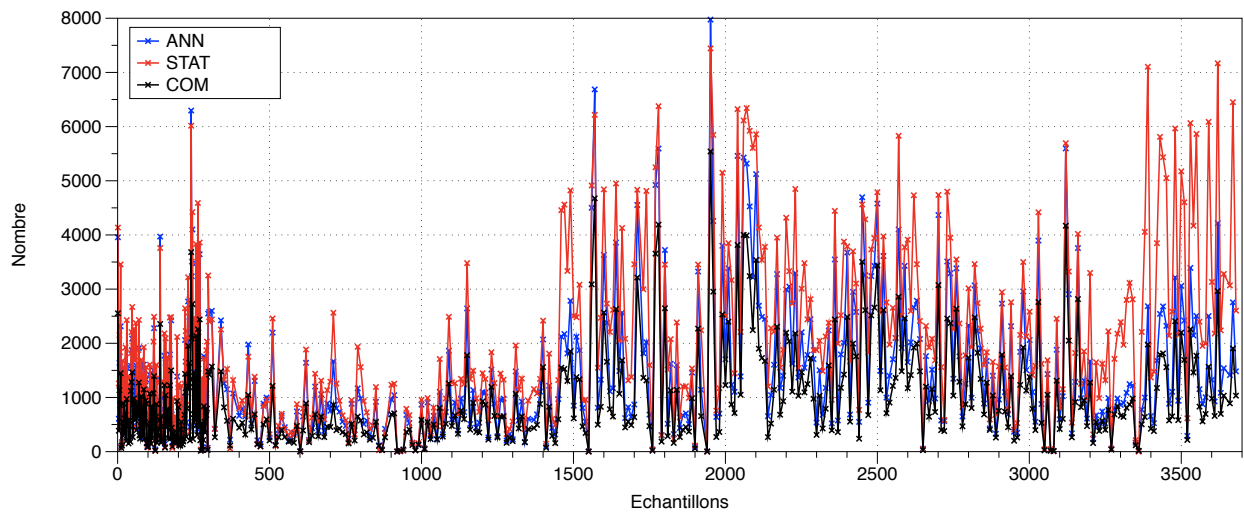


Figure 6-6. Comparaison pour chaque échantillon de l'estimation du nombre de placolithes de la carotte MD052930. ANN= Réseaux de Neurones Artificiels, STAT= Classifications Statistiques, COM= détections communes des deux méthodes.

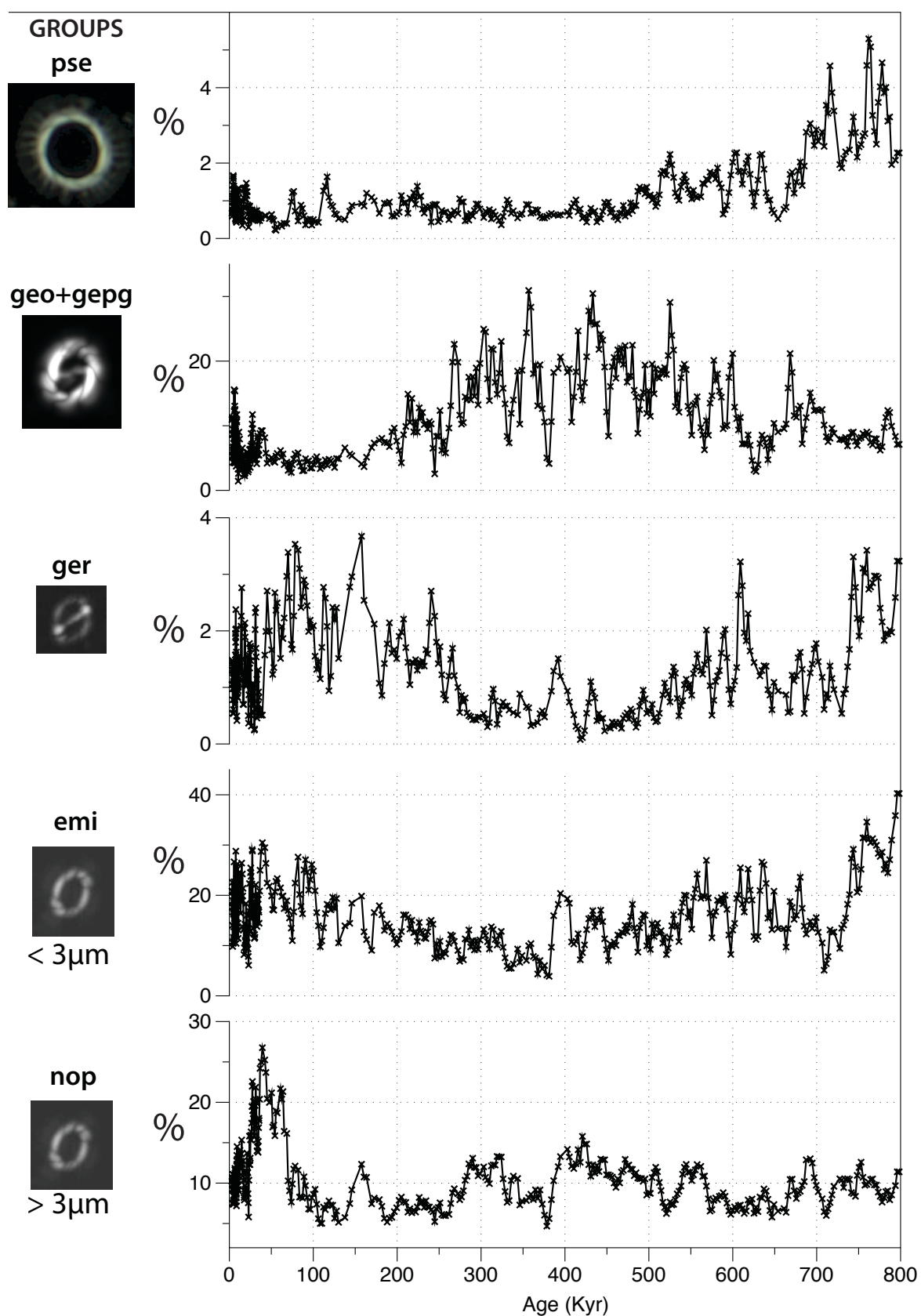


Figure 6-7. Données d'abondances relatives pour cinq groupes parmi les placolithes, avec une image pour identifier le morphotype correspondant. Une moyenne mobile sur trois points permet de retirer le bruit de fond.

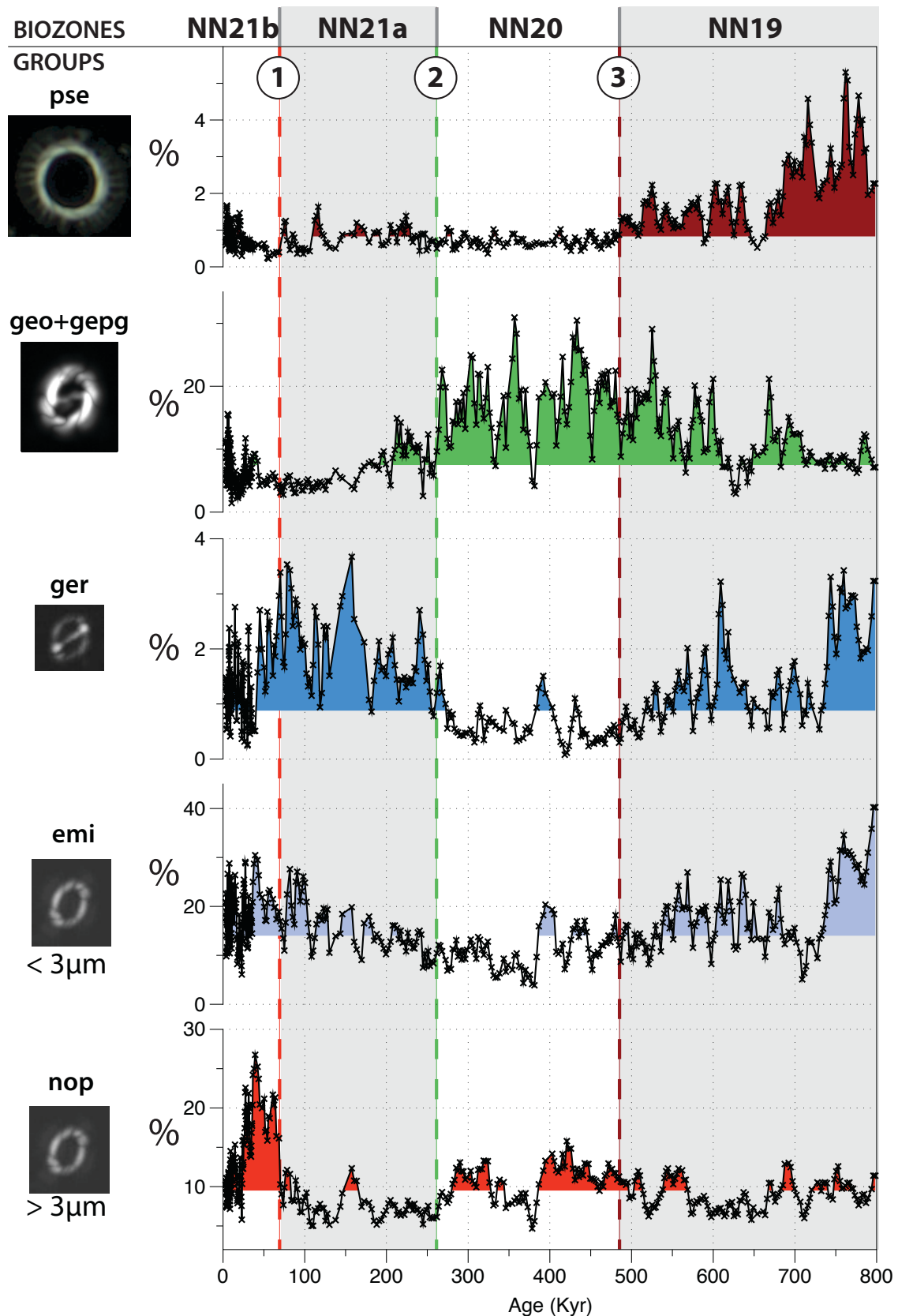


Figure 6-8. Interprétations des variations d'abondances. Le niveau de couleur est défini par la moyenne harmonique des pourcentages, il permet d'aider à l'interprétation. 1= forte augmentation du groupe « nop » à 65 ka, très probablement le début de l'acmé d'*E. huxleyi* daté à 61 ka définissant la limite NN21a/NN21b (Gartner et Emiliani, 1976) ; 2= baisse importante vers 266 ka, certainement la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* datée à 268 ka et très proche de la première occurrence de *E. huxleyi* datée à 260 ka définissant la limite

NN20/NN21 (Boudreaux et Hay, 1967; Thierstein *et al.*, 1977); 3= baisse progressive du groupe « pse » jusqu'à 480 ka, précédant probablement la dernière occurrence de *P. lacunosa* à 460 ka, définissant la limite NN19/NN20 (Gartner, 1977a; Thierstein *et al.*, 1977; Berggren *et al.*, 1995).

6.1.2. Exemple de la carotte GDEC4 (Mer Tyrrhénienne, au large de la Corse)

La carotte GDEC4 a été collectée au large de Bastia et du Cap Corse, entre les îles d'Elbe et de Pianosa, au niveau de l'embouchure de la rivière Golo (**Figure 6-9**), entre la Mer Tyrrhénienne et la Mer Ligure. Ce forage est issu du programme GoloDrill commencé en 2009 en partenariat avec Total, l'Ifremer, ExxonMobil et Fugro (Jouet *et al.*, soumis). Ce programme a pour but de comprendre la formation du système sédimentaire de la rivière Golo, de la source jusqu'au réservoir. Des nouvelles études, pour le Quaternaire récent (0-120 ka), ont permis de quantifier et de dater la dynamique de sédimentation/dénudation, et de détailler la géomorphologie du système sédimentaire du bassin (Somme *et al.*, 2011; Calvès *et al.*, 2013). Le « système Golo » s'avère être un bon candidat pour l'étude de la sédimentation sur l'ensemble d'un bassin-versant.

La carotte a une longueur de 125,5 m et son modèle d'âge (**Figure 6-10**) a été établi à partir des valeurs isotopiques de l'oxygène de foraminifères benthiques et planctoniques, et des sapropels¹⁷ (Rossignolstrick, 1985; Hilgen, 1991; Rohling, 1994; Lourens *et al.*, 1996). Les cycles glaciaires et les différents stades isotopiques sont bien figurés, mais deviennent plus confus à la base de la carotte (Toucanne *et al.*, soumis). Ainsi le sommet de la carotte a été daté à l'actuel et la base à 549 138 ans, sachant que certains modèles d'âges précédents avaient estimé la base à environ 500 ka.

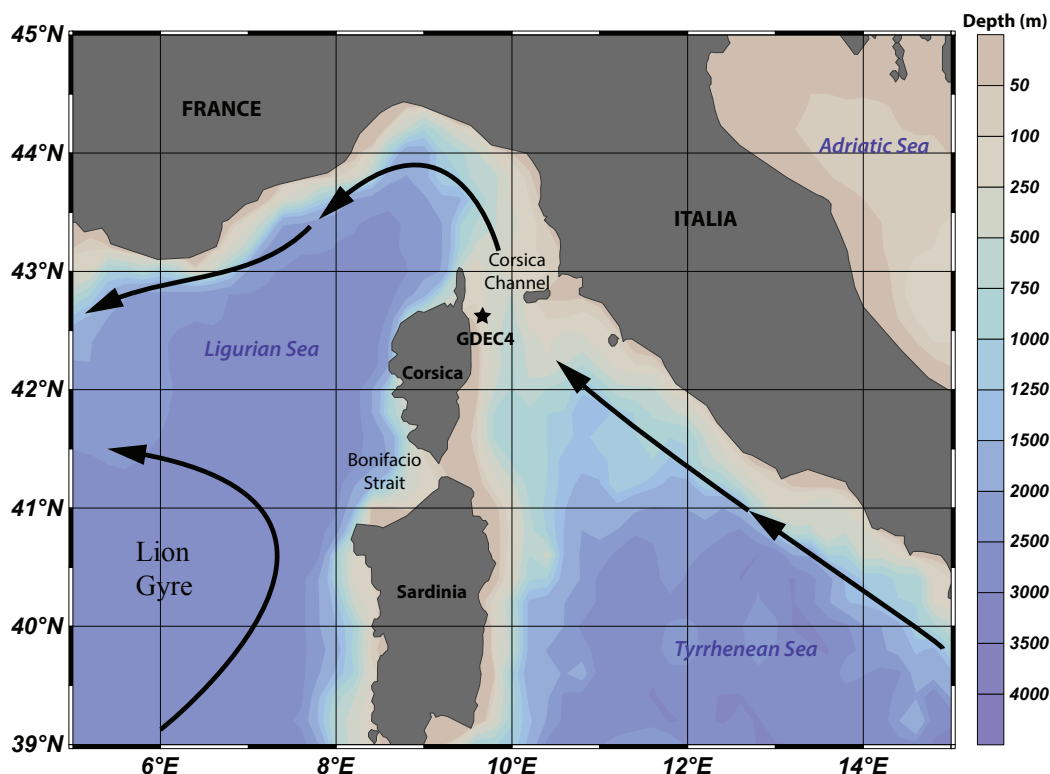


Figure 6-9. Localisation de la carotte GDEC4 avec la bathymétrie. Les flèches représentent les principaux courants (Millot, 1987; Robinson *et al.*, 1992; Millot, 1999; Pinardi et Masetti, 2000; Toucanne *et al.*, 2012; Incarbona *et al.*, 2013).

¹⁷ Couches caractéristiques très riches en matières organiques

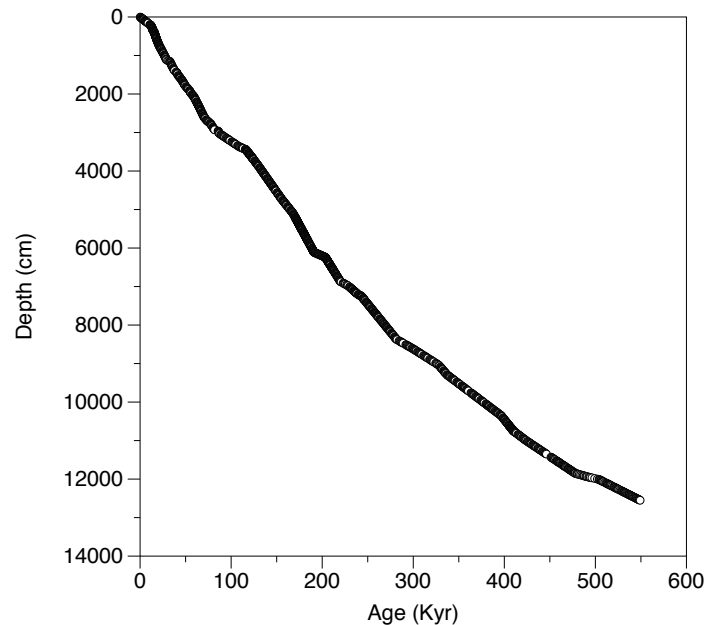


Figure 6-10. Modèle d'âge de la carotte GDEC4, calibré sur le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques et planctoniques (Toucanne et al., soumis).

La carotte a été échantillonnée tous les 10 cm, mais nous avons travaillé sur des échantillons tous les 20 cm soit un total de 564 échantillons. Pour l'observation des nannofossiles calcaires, des frottis classiques ont été réalisés et soumis à SYRACO.

Le nombre de placolithes classifiés entre les réseaux de neurones et les statistiques est relativement similaire (**Figure 6-11**). En comptant les mêmes images classifiées par les deux méthodes, on obtient les mêmes tendances (**Figure 6-12**). Cette observation indique que le système est optimal pour ce groupe. La **Figure 6-13** présente les données brutes de comptages automatiques pour cinq morphogroupes, présentés en abondances relatives calculées à partir de tous les placolithes. Nous présentons les résultats pour un minimum de 130 coccolithes par échantillon, soit 475. Chaque groupe montre de fortes variations, de la droite vers la gauche :

- Le groupe « pse » oscille entre 0,25 et 1 %, avec de fortes variations.
- Le groupe « geo+gepg » oscille entre 15 et 25 % avant 266 ka puis chute brutalement autour de 10 % vers 265 ka, puis varie autour de 5 et 20 %.
- Le groupe « ger » oscille entre 3 et 1 % sauf autour de 420 ka où il monte à 10 % et entre 330 et 200 ka où il atteint 20 %.
- Le groupe « emi » oscille entre 5 et 10 % sauf entre 265 et 160 ka où il varie entre 20 et 40 %.
- Le groupe « nop » baisse de 15 à 8 % entre 550 et 525 ka, puis oscille entre 7 et 12 % en moyenne jusqu'à 190 ka, où il augmente rapidement à 20 % puis continue à varier entre 12 et 20 %.

Si l'on interprète ces variations en tenant compte de la littérature et des espèces présentes dans les morphogroupes, il est possible de déterminer – au mieux à 10 ka près – deux ou trois limites de biozones (**Figure 6-14**).

L'abondance du groupe « pse » ne permet pas de déterminer la dernière occurrence de *P. lacunosa*. Il s'avère en effet que peu d'individus sont présents dans les échantillons (Luc Beaufort, communication personnelle), donc le comptage « réel » se trouve mêlé au bruit de fond. En vérifiant manuellement et en comparant avec SYRACO (**Figure 6-15**), on peut observer des *P. lacunosa* jusqu'à environ 410 ka. Ce qui serait en accord avec de Kaenel et al. (1999) qui placent cette dernière occurrence à 408 ka, mais la fin de *P. lacunosa lacunosa* (>7 μm) à 430 ka, dans une carotte de la Mer Tyrrhénienne (ODP 974). Les âges de cette étude sont aussi calibrés sur le $\delta^{18}\text{O}$ de foraminifères benthiques. Sur la **Figure 6-16**, qui concerne le groupe

« usi » (groupe concernant le genre *Umbilicosphaera*) on observe une baisse significative de 7 à 2 % autour de 425 ka. Il est possible qu'il s'agisse de grosses *P. lacunosa* mal classifiées dans le groupe « usi ». Cet âge semble correspondre à la même observation que de Kaenel *et al.* (1999), vers 430 ka, ou que Amore *et al.* (2012), dans un cas plus controversé, qui situent la dernière occurrence de *P. lacunosa* à 452,46 ka bien que la figure 2 de leur article la montre clairement proche de 425 ka avec la calibration temporelle du $\delta^{18}\text{O}$, dans une carotte sur la côte atlantique de l'Espagne (MD032699). Cette remarque nécessite de rappeler la définition de la dernière occurrence de cette espèce par Thierstein *et al.* (1977) : « *It is evident, however, that the P. lacunosa datum occurs within stage 12 and prior to the last strong isotope minimum in that stage* », suivi de « *An estimated average age of 458,000 yr for the extinction level of P. lacunosa is derived using the chronology of Shackleton et Opdyke (1976)* ». Plus tard ajustée à 460 ka par Berggren *et al.* (1995), cette date est donc une moyenne, ce qui pourrait expliquer les estimations différentes comparées aux isotopes. Toutefois, nos observations se déroulent au cours et à la fin du stade 12, ce qui reste cohérent avec la définition de base, mais après le minimum isotopique. D'autre part, les spécimens observés au-delà de 425 ka environ ne sont pas en excellent état (Figure 6-15), ayant peut-être été remaniés, comme peut l'attester la présence d'espèces asynchrones dans les échantillons observés (Figure 6-17). Celles-ci sont probablement amenées par le courant littoral ou par la rivière Golo (Figure 6-9).

La baisse importante du groupe « geo+gepg » marque certainement la fin de l'acmé de *Gephyrocapsa caribbeanica* datée à 268 ka (stade isotopique 8) et très proche de la première occurrence de *E. huxleyi* datée à 260 ka définissant la limite NN20/NN21 (Boudreaux et Hay, 1967; Thierstein *et al.*, 1977). L'acmé suivant du groupe « ger » représentant les « petits » *Gephyrocapsa* (*G. aperta* et *G. mullerae*) entre 250 et 180 ka devance celui connu des stades 7 et 6,5 (Pujos-Lamy, 1976, 1977; Pujos et Giraudeau, 1993), mais étendu entre 250 et 190 ka environ dans une synthèse de Pujos et Giraudeau (1993), et observé jusqu'à 150 ka pour *G. aperta* et jusqu'à 100 ka environ pour *G. mullerae*.

L'augmentation importante de « nop » autour de 190 ka ne semble pas connue ailleurs dans la littérature concernant *E. huxleyi*. À moins qu'elle ne corresponde plus tardivement à la première occurrence « fiable » observée par de Kaenel *et al.* (1999) datée à 218 ka. Mais, une augmentation à cette même période a été établie pour les *Gephyrocapsa* « ouvertes » par Pujos et Giraudeau (1993). Peut-être s'agit-il d'individus ayant perdu leur pont qui auraient été confondus par le système. Malheureusement, un problème est survenu sur le disque dur contenant les données de GDEC4, nous empêchant de vérifier sur les images l'origine de la décroissance à 425 ka pour le groupe « usi » et l'augmentation de « emi » vers 190 ka.

Dans certains travaux (de Kaenel *et al.*, 1999), le rapport d'abondance entre *E. huxleyi* et les *Gephyrocapsa* est utilisé pour définir le début de l'acmé d'*E. huxleyi* marquant la limite NN21a/NN21b (Gartner et Emiliani, 1976), précisément lorsque le pourcentage d'*E. huxleyi* est supérieur à celui des *Gephyrocapsa*. La Figure 6-18 tente de montrer ce pattern pour la carotte GDEC4. On remarque très nettement la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* avec un changement rapide de dominance à 265 ka (Figure 6-18, 2). L'acmé d'*E. huxleyi* n'est pas évidente, mais elle pourrait être interprétée à partir de 50 ka, après le dernier chevauchement des groupes, lorsque les *Emiliana* augmentent et les *Gephyrocapsa* diminuent par opposition (voir aussi « geo+gepg » Figure 6-14, et Luc Beaufort l'observe à 55 ka, communication personnelle).

Les augmentations importantes des groupes « nop » de 12 à 23 % et de « emi » de 6 à 12 %, vers 15 ka peuvent être attribuées à une augmentation d'*Emiliana huxleyi*. L'augmentation de cette espèce est aussi observée dans d'autres travaux, à la fin de la dernière période glaciaire (Flores *et al.*, 1997; Sbaffi *et al.*, 2001).

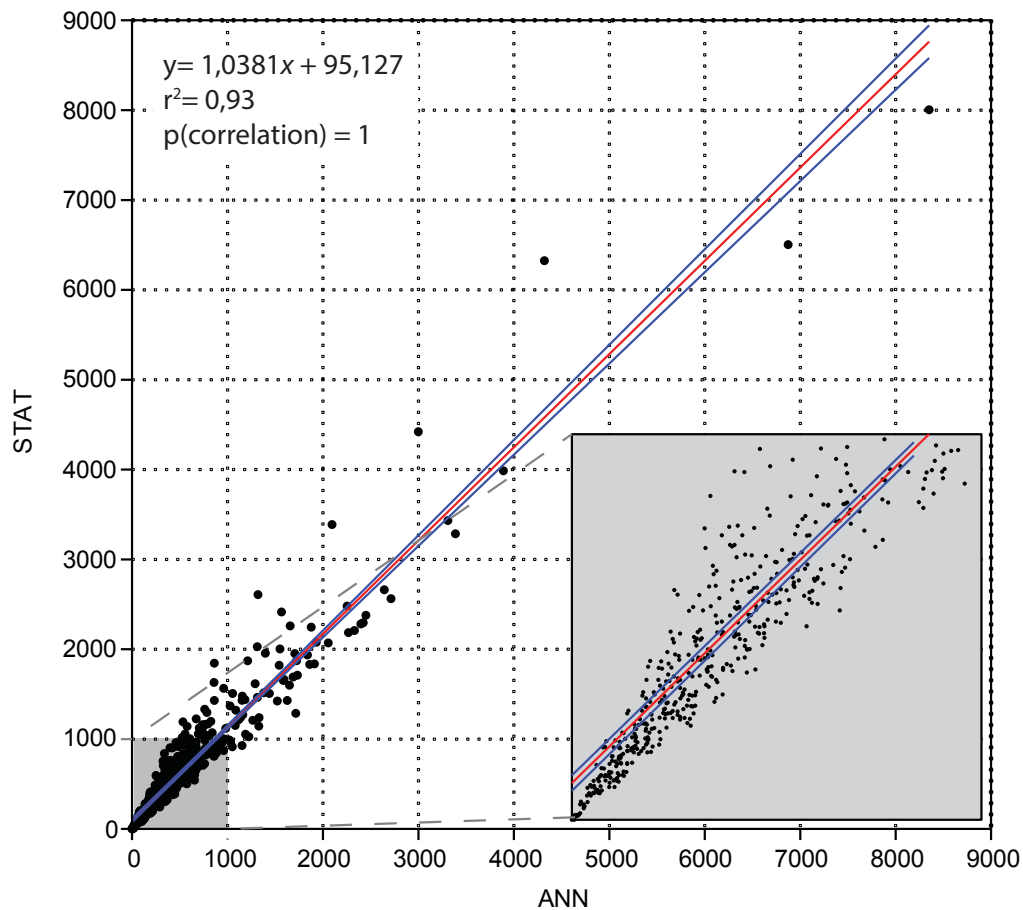


Figure 6-11. Graphique comparant les résultats du comptage des placolithes pour un même échantillon entre les réseaux de neurones (ANN) et les classifications statistiques (STAT). Le carré gris est un zoom sur les faibles valeurs. Globalement, l'estimation d'une méthode à l'autre donne un résultat du même ordre de grandeur, avec une légère « surestimation » pour la classification statistique.

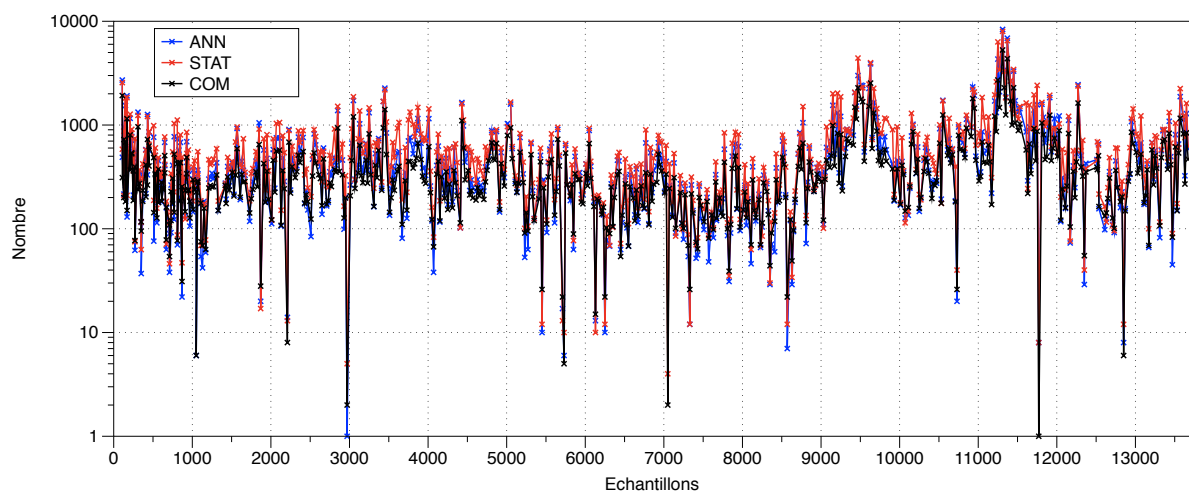


Figure 6-12. Comparaison pour chaque échantillon de l'estimation du nombre de placolithes de la carotte GDEC4. L'ordonnée est en logarithme pour réduire l'échelle à cause des fortes valeurs vers 11500. ANN= Réseaux de Neurones Artificiels, STAT= Classifications Statistiques, COM= détections communes aux deux méthodes.

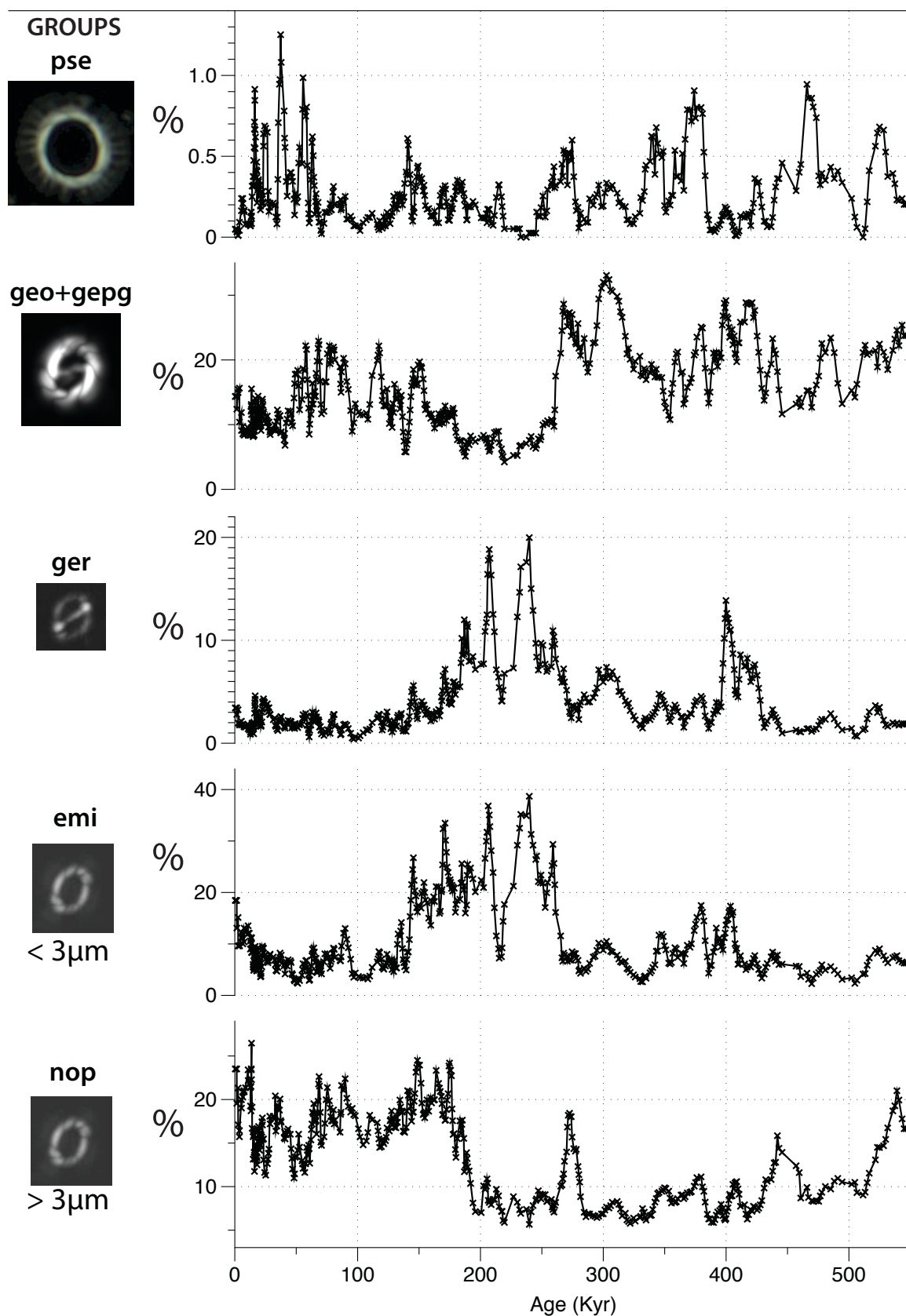


Figure 6-13. Données d'abondances relatives pour cinq groupes parmi les placolithes, avec une image pour identifier le morphotype correspondant. Une moyenne mobile sur trois points permet de retirer le bruit de fond.

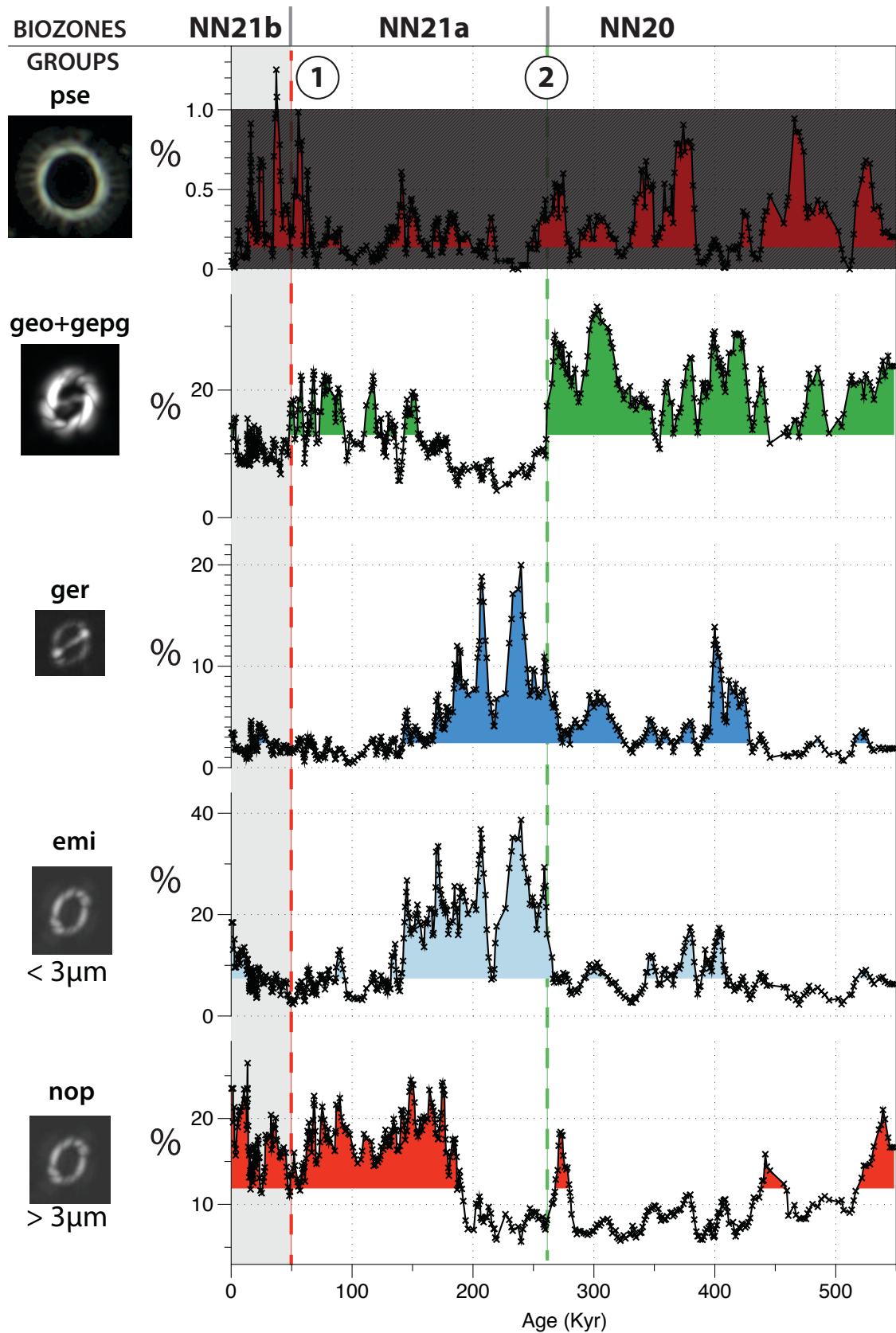


Figure 6-14. Interprétations des variations d'abondances. Le niveau de couleur est défini par la moyenne harmonique des pourcentages, il permet d'aider à l'interprétation. 1= augmentation du groupe « nop » à 50 ka, très probablement le début de l'acmé d'*E. huxleyi* daté à 61 ka définissant la limite NN21a/NN21b (Gartner et Emiliani, 1976) ; 2= baisse importante vers 260 ka, certainement la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* datée à 268 ka et très proche de la première occurrence de *E. huxleyi* datée à 260 ka définissant la limite

NN20/NN21 (Boudreaux et Hay, 1967; Thierstein et al., 1977).

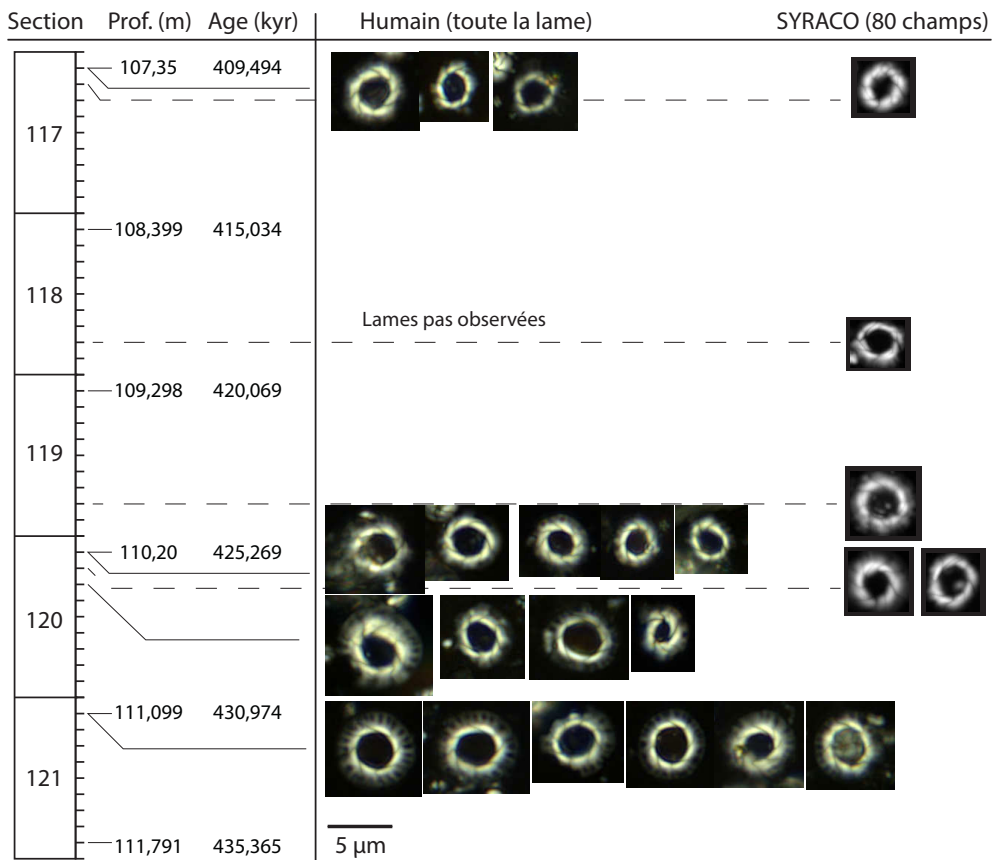


Figure 6-15. Comparaison entre les *P. lacunosa* trouvés par un humain (sur toute une lame) et par SYRACO (sur 80 champs de vue). SYRACO trouve aussi les derniers individus vers environ 410 ka, concordant avec les résultats de de Kaenel et al. (1999). Prof.= profondeur.

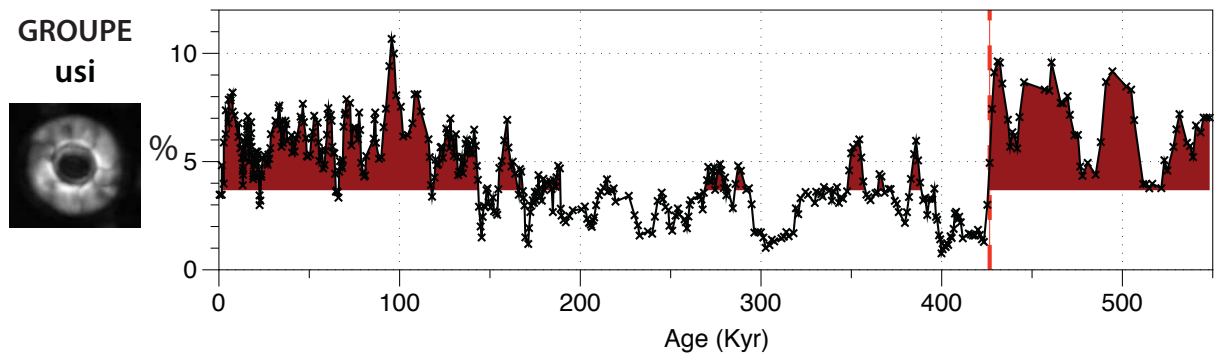


Figure 6-16. Variations d'abondances relatives du groupe « usi ». Une forte baisse se remarque autour de 425 ± 5ka, peut-être marque-t-elle la dernière occurrence d'une forme de *P. lacunosa* ?

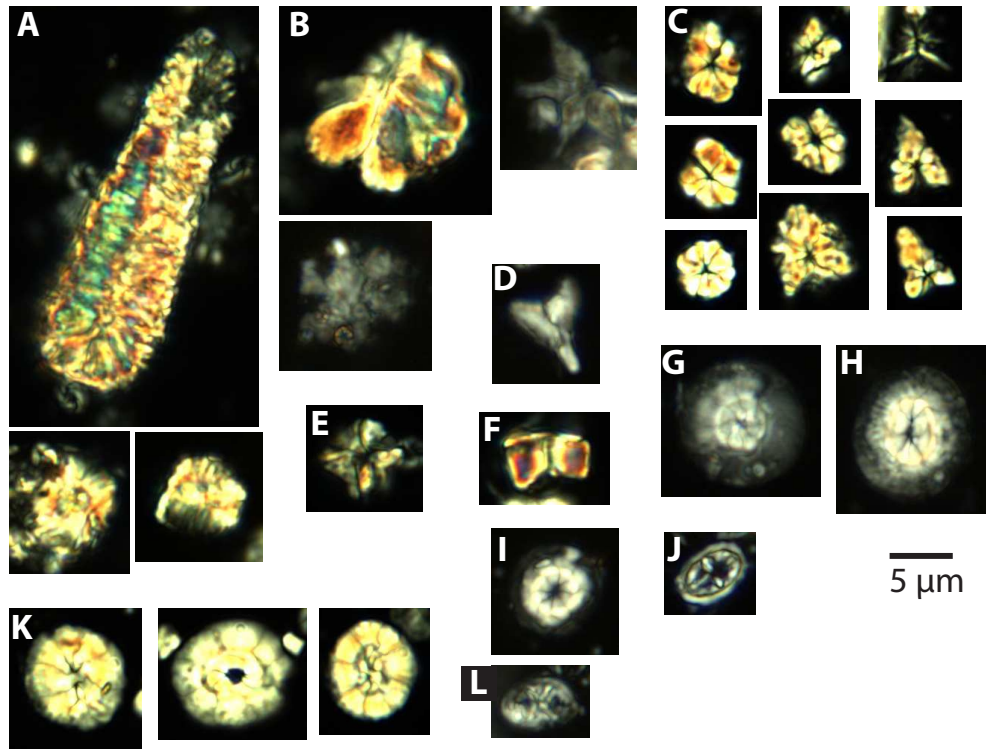


Figure 6-17. Exemples d'espèces remaniées trouvées dans les sédiments observés **Figure 6-15** datés entre 435 et 410 ka. A= trois *Nannoconus* du Crétacé (dont *N. cf. Steinmannii*, *N. cf. globulus*), B= différents *Discoasters* brisés et recristallisés (éteints à la limite Pliocène/Pléistocène), C= différentes espèces de sphénolithes (éteints au Pliocène), D= *Ceratolithoides* sp. du Crétacé, E= *Micula* sp. du Crétacé, F= *Fasciculithus* sp. du Paléogène, G= *Markalius* sp. (Paléogène), H= *Coccolithus cf. miopelagicus* (Miocène), I= *Ericsonia formosa* (éteints à la limite Éocène/Oligocène), J= *Cruciplacolithus cf. primus* (Paléogène), K= grands *Reticulofenestra* sp. et *Dictyocites* sp. (Miocène) L= *Neochiastozygus* sp. (Paléogène).

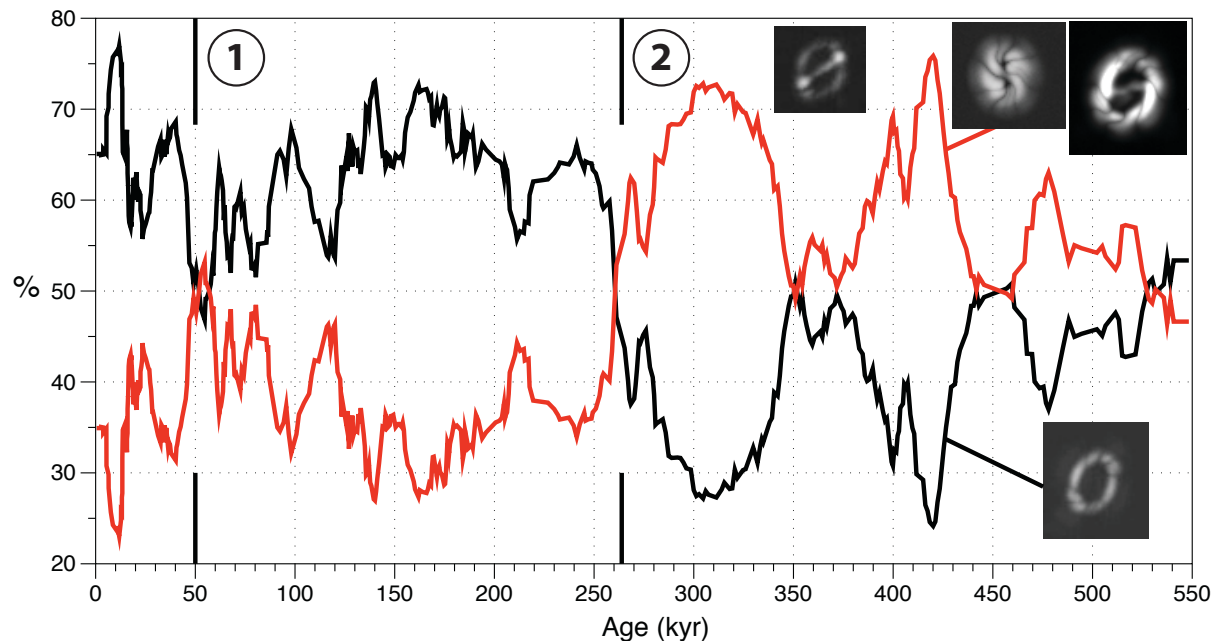


Figure 6-18. Pourcentage des groupes « emi » et « nop » versus les groupes « gep », « ger », gepg » et « geo ». Le rapport entre *Emiliania huxleyi* et le genre *Gephyrocapsa* est souvent utilisé pour mettre en évidence l'acmé de *E. huxleyi* (de Kaenel et al., 1999). Le point 1 marque le début de l'acmé d'*E. huxleyi* vers 50 ka, et le point 2 marque nettement la fin de l'acmé de *G. caribbeanica*, vers 265 ka.

6.1.3. Exemple de la carotte MD972124 (Mer de Tasmanie)

La carotte MD972124 a été collectée dans la Mer de Tasmanie, sur les hauts-fonds du Lord Howe Rise (Figure 6-19) à une profondeur d'environ 1200 m lors de la campagne MD106 du programme IMAGES III IPHIS (Michel *et al.*, 1997). Elle se situe à la latitude $-26^{\circ}75.80'$ Sud et à la longitude $163^{\circ}63.30'$ Est. Sa longueur est de 29,8 m.

La zone où se situe la carotte délimite l'est et l'ouest de la Mer de Tasmanie (Hamilton, 2006) ; entre la convergence tropicale et le Front de Tasmanie. Ce front oscillant entre 26 et 30° S délimite la zone de rencontre entre les eaux chaudes du Warm-pool et les eaux froides de l'Océan Antarctique (Rotschi et Lemasson, 1967; Kennett, 1977; Martinez, 1994; Nürnberg et Groeneveld, 2006). Elle est aussi dans la zone d'influence des cycles El-Niño (Gagan *et al.*, 2004).

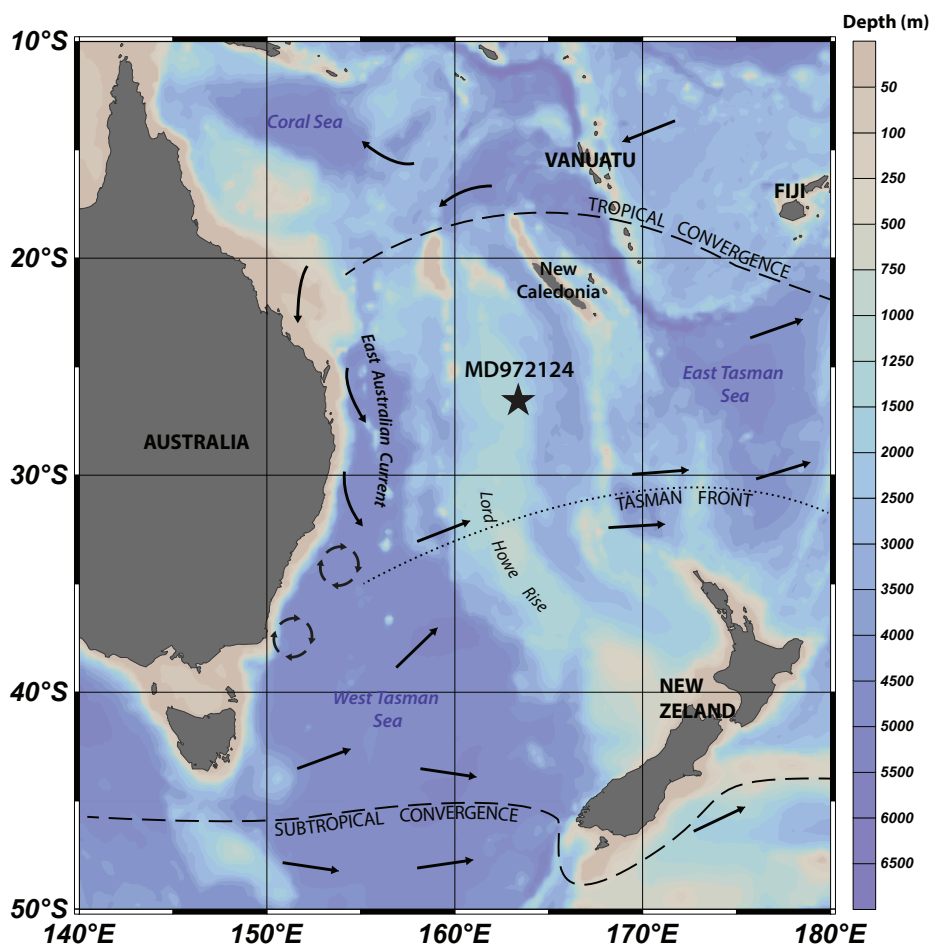


Figure 6-19. Localisation de la carotte MD972124 avec la bathymétrie. Les flèches représentent les principaux courants océaniques. Les lignes pointillées indiquent les zones de convergences océaniques. Modifié d'après Rotschi et Lemasson (1967), Kennett et Von der Borch (1986), Martinez (1994) et Cortese *et al.* (2013).

La carotte a été échantillonnée tous les 150 cm environ pour les besoins du test, soit un total de 20 échantillons. Pour l'observation des nannofossiles calcaires non-biréfringents, des frottis classiques ont été réalisés et soumis à SYRACO. Ici nous focalisons la classification uniquement sur les Discoasters, en lumière naturelle.

La Figure 6-20 présente les données brutes de comptages automatiques. Le nombre varie entre 29 et 0 images, ce qui est vraiment très peu si l'on considère les milliers d'images à classer par échantillon. Seule

une forte baisse de 25 à 2 images entre 2450 et 2250 m ressort de la figure. Ensuite le nombre d'images semble se stabiliser entre 0 et 12 images. La baisse à 2850 m correspond à un échantillon moins abondant quand on compare avec le comptage humain (Figure 6-20). La faible quantité d'images permet de vérifier rapidement les résultats de la classification (Figure 6-20, courbe bleue) et d'estimer la plus haute occurrence des Discoasters entre 2400 et 2250 m définissant la limite NN18/NN19 (Backman et Shackleton, 1983; Takayama, 1993). Celle-ci peut être affinée *a posteriori* avec un échantillonnage plus fin où directement sur les échantillons.

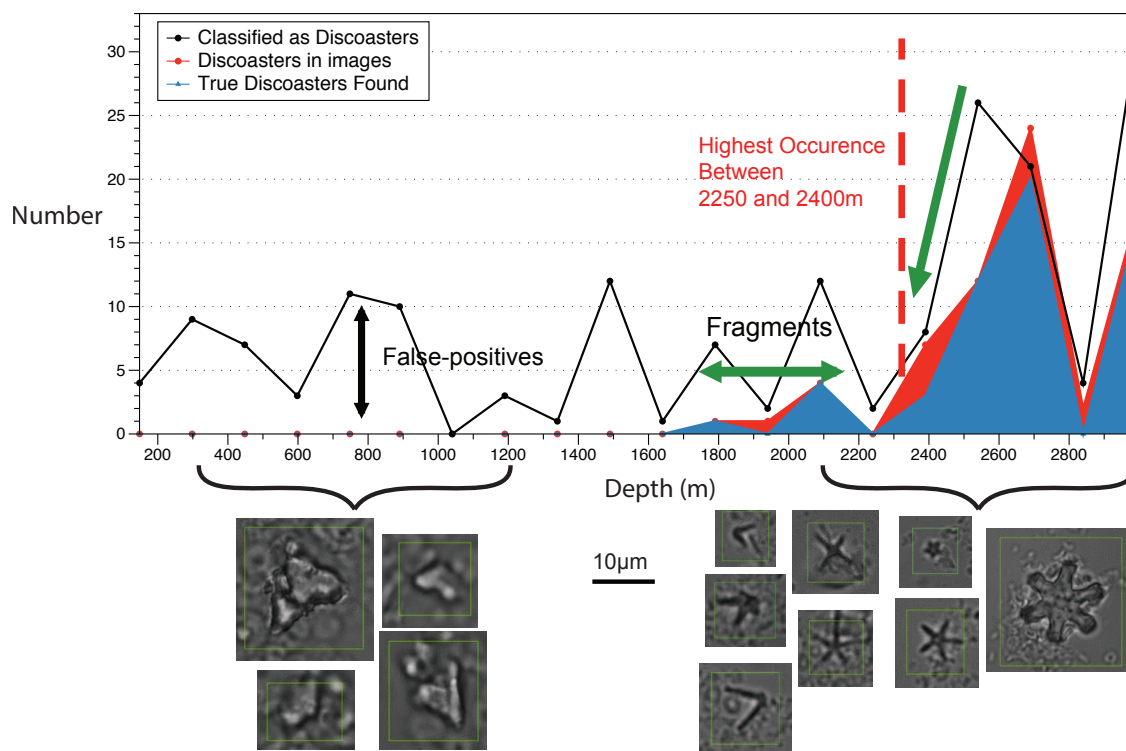


Figure 6-20. Résultat de comptage automatique en nombre par échantillons après la classification par SYRACO des Discoasters de la carotte MD972124. La courbe noire est la sortie brute (vrais et faux-positifs), la courbe rouge correspond au comptage humain et la courbe bleue correspond aux résultats positifs trouvés par SYRACO (=vrais positifs). Les images en dessous sont des exemples d'images classifiées en Discoasters par SYRACO. Cette figure est issue de l'article sur le nouveau SYRACO chapitre 5.

6.2. APPLICATION DE SYRACO POUR LA PALEOCEANOGRAPHIE

Nous avons montré la possibilité de réaliser avec SYRACO une biostratigraphie relativement précise et cohérente avec la bibliographie, pour trois carottes à des latitudes différentes. Dans ce chapitre nous allons présenter des résultats à but paléocéanographiques, à partir de données obtenues automatiquement.

6.2.1. Étude des Noelaerhabdaceae de la carotte MD052930

Dans cette partie, nous nous concentrons sur la famille des Noelaerhabdaceae (Jerkovic, 1970; Young et Bown, 1997). Elle regroupe notamment les genres *Gephyrocapsa*, *Emiliana*, *Pseudoemiliana*, *Dictyococcites*, *Cyclicargolithus*, et *Reticulofenestra*. Ces groupes souvent dominants sont très utiles pour la biostratigraphie depuis l'Oligocène tant par les changements de dominances (« *turnovers* »), par leurs acmé que par leurs périodes d'occurrence, à toutes latitudes (Pujos-Lamy, 1976; Gartner, 1977b, a; Thierstein *et al.*, 1977; Rio *et al.*, 1990; Matsuoka et Fujioka, 1992; Pujos et Giraudeau, 1993; Plancq *et al.*, 2013). Malgré leur utilité, ils peuvent parfois présenter des problèmes taxonomiques, notamment soulevés par Pujos et

Giraudeau (1993) et Planq *et al.* (2013). Ces problèmes, souvent dus à la création – ou la redéfinition – de nouvelles espèces simplement selon des critères de taille, peuvent amener à une taxonomie complexe, confuse et arbitraire (Young, 1998; de Kaenel, 2013). Parfois, sous l'influence de l'industrie pétrolière, la variabilité des espèces et des groupes tend à être perdue de vue. Cette vision « statique » de « l'espèce » conduit donc à nommer des morphotypes en de nouvelles espèces potentielles, à partir de seuils de tailles (de Kaenel, 2013). Or, il est parfaitement admis que les coccolithophoridés sont très sensibles aux changements environnementaux (voir Chapitre 2).

Sans entrer dans la définition philosophico-biologique d'une espèce, nous allons montrer l'influence de phénomènes globaux (température, cycles astronomiques **Figure 6-21**...) sur la taille, le poids et l'épaisseur moyenne à l'échelle de la famille des Noelaerhabdaceae.

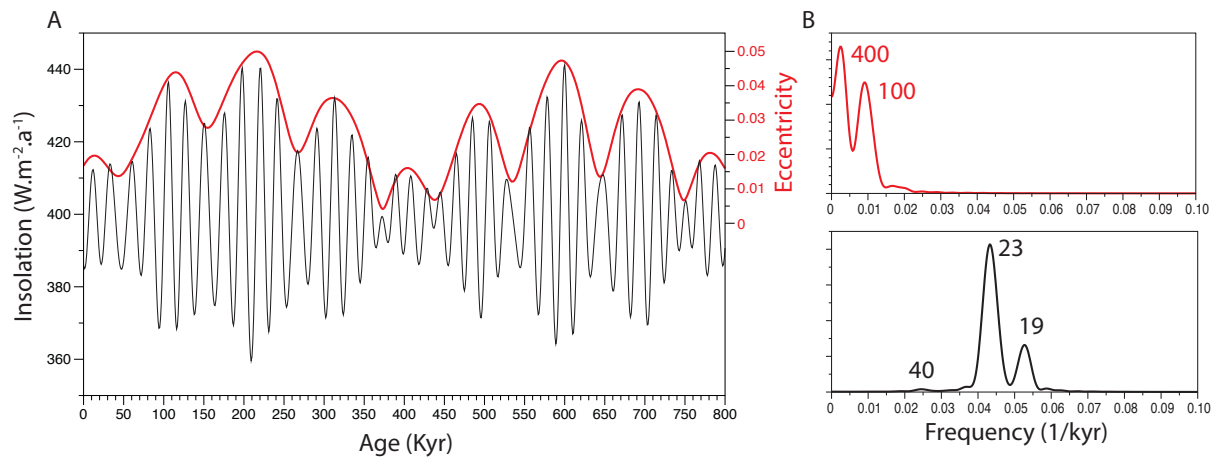


Figure 6-21. A) Variations de l'insolation à l'équateur (en noir) et de l'excentricité qui forme son « enveloppe » (en rouge) sur 800 000 ans. B) Analyses spectrales Blackman-Tukey¹⁸ de l'insolation (un faible cycle d'obliquité de 40 ka et deux cycles forts de précession de 23 et 19 ka) et de l'excentricité (cycles de 400 et 100 ka).

Les Noelaerhabdaceae de la carotte MD052930 (**Figure 6-1**) regroupent les morphogroupes « ger », « gep », « emi », « nop », « nog », « geo » et « gepg », soit environ 350 000 individus ; avec pour chacun les données de taille (axe majeur de l'ellipse), de poids et d'épaisseur (**Figure 6-22**). Un minimum de 100 individus par échantillon a été choisi, soit 443 échantillons couvrant 800 000 ans.

La taille, la masse et l'épaisseur montrent clairement des variations rapides à court terme (**Figure 6-22**). La taille moyenne varie entre 2,5 et 4,5 μm , la masse moyenne entre 2,5 et 25 pg , et l'épaisseur moyenne entre 0,8 et 1,7 μm . Les variations de l'épaisseur moyenne montrent nettement une tendance parallèle avec le $\delta^{18}\text{O}$ entre 300 et 500 ka.

Les analyses spectrales de ces variations montrent différents cycles significatifs (**Figure 6-23**) :

- Pour la taille, les cycles de 393 et 106 ka indiquent un signal de l'excentricité et les cycles de 22,1 et 20 ka indiquent un signal de précession. Les autres cycles de 25, 16,4, 15,4, 14,3 et 11 ka sont probablement dus à des phénomènes de modulation entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit.

- Pour la masse, le cycle de 405 ka indique un signal de l'excentricité et les cycles de 22,2 et 20 ka indiquent un signal de précession. Les autres cycles de 61, 35, 25, 16,2, 15,5, 14,2, 12,6 et 11 ka sont probablement dus à des phénomènes de modulation entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit.

- Pour l'épaisseur, le cycle de 430 ka indique un signal proche de celui de l'excentricité et d'une fondamentale, le cycle de 40 ka indique un signal de l'obliquité et les cycles de 22,9 et 19,3 ka indiquent un

¹⁸ Méthode mathématique qui permet de décrire des signaux dans différents domaines de fréquence ainsi que leur puissance et leur significativité.

signal de précession. Les autres cycles de 83, 65,7, 27, 18, 17, 15,5, 12, 11,4 et 11 ka sont aussi probablement dus à des phénomènes de modulation entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit. Parfois les variations morphométriques sont en phase avec l'insolation (obliquité et précession), parfois non (d'où le cycle de 30 ka probablement).

Il est intéressant de remarquer, sur cette manière « classique » de présenter les données, que l'importance de l'écart-type pour les trois variables n'est pas constant. Celui-ci semble modulé par la précession et l'excentricité : il est, par exemple, réduit entre 300 et 500 ka mais plus important entre 50-300 ka et 500-750 ka.

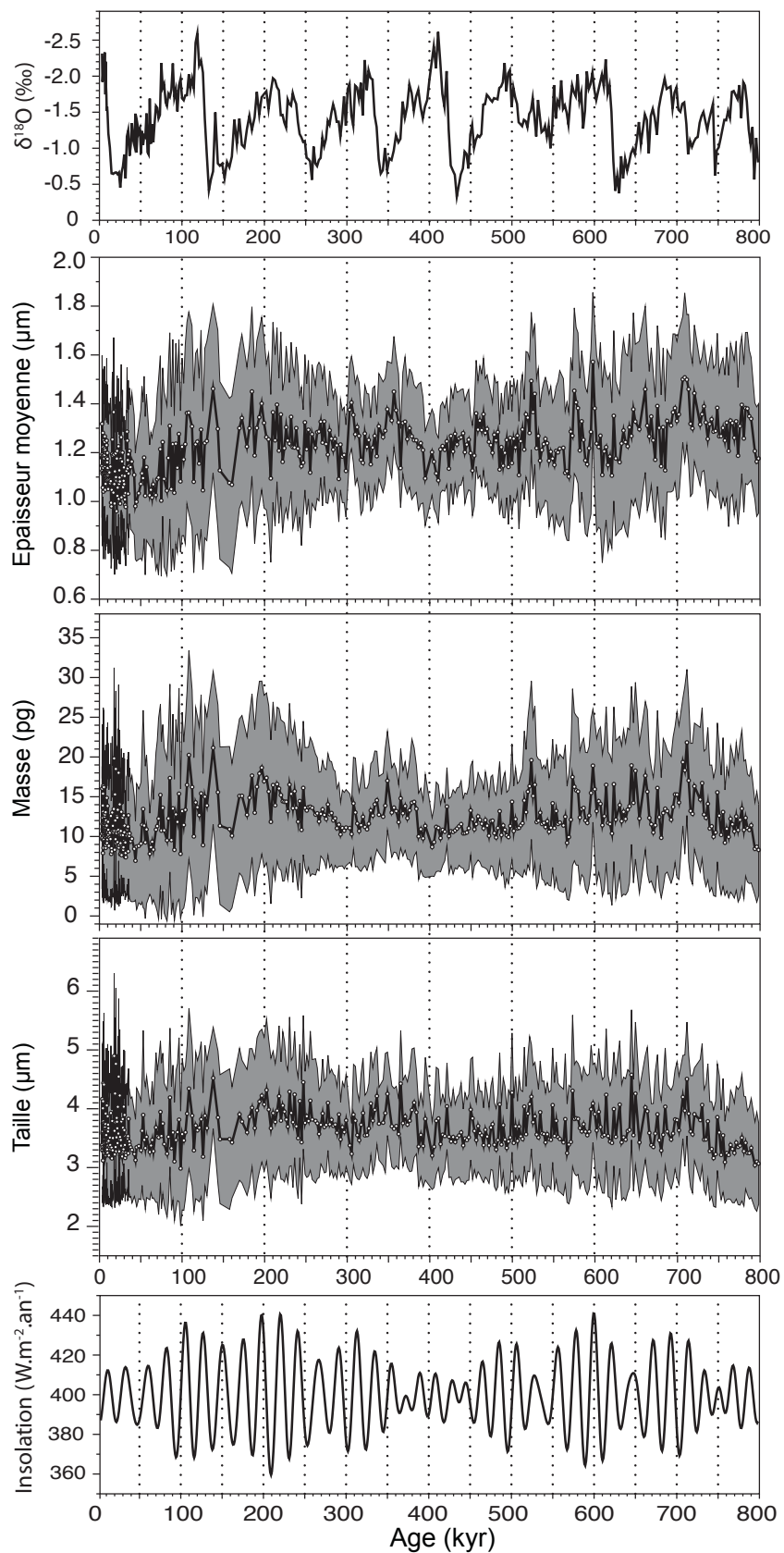
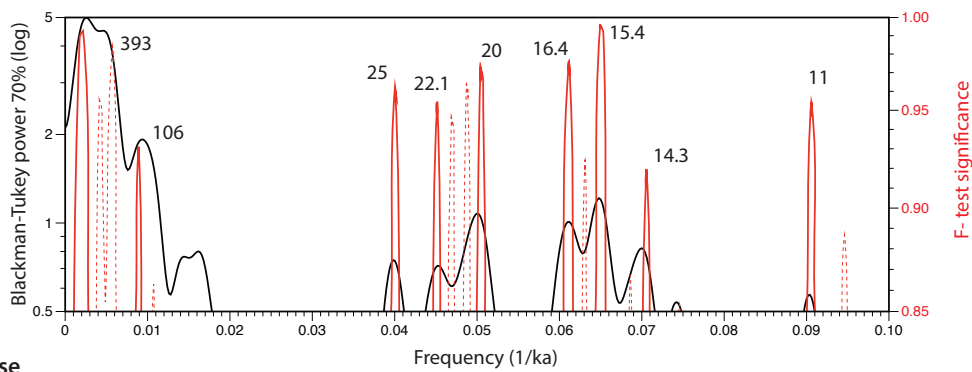
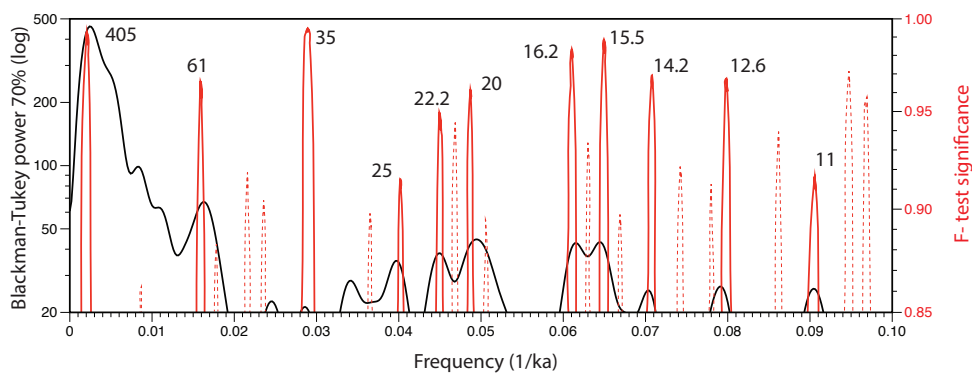


Figure 6-22. Moyennes avec un écart-type (en gris) de la taille, de la masse et de l'épaisseur, comparées avec le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques et l'insolation journalière à l'équateur (Laskar *et al.*, 2004).

Taille



Masse



Épaisseur

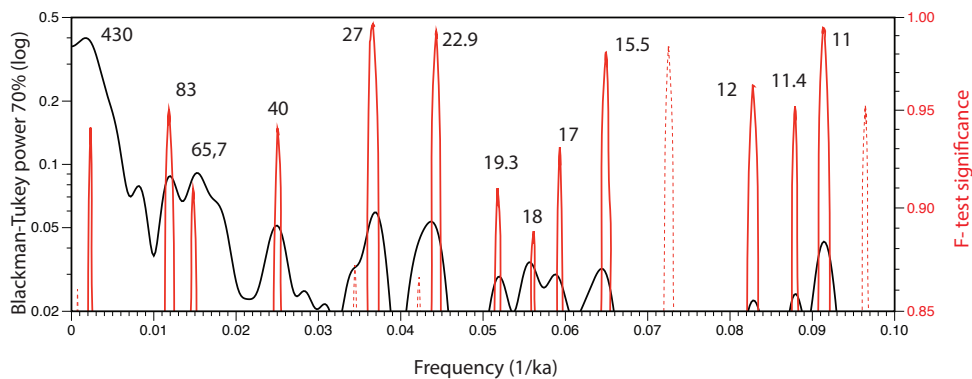


Figure 6-23. Analyse spectrale Blackman-Tukey (en noir) de la taille, de la masse et de l'épaisseur moyenne (données présentées **Figure 6-22**), avec la significativité des pics (en rouge). Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. Les chiffres à côté des pics sont les périodes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

Une manière plus originale et instructive pour étudier des patterns dans les changements morphologiques consiste à étudier la distribution de l'abondance des coccolithophoridés. Par exemple, la distribution de la taille **Figure 6-24** montre d'autres informations que la figure **Figure 6-22**. De cette manière on constate que la taille se distribue entre 2 et 7 μm environ, avec de fortes variations. On peut mettre en évidence une distribution globalement bimodale des tailles, les modes étant proches (notamment vers 400 ka, avec une variance moindre) et éloignés (autour de 150 et 600 ka, avec une variance plus étendue). Ce pattern bimodal dessine un cycle global de 400 ka. La variance semble la plus réduite quand la variation de l'insolation est la plus faible et inversement. Elle semble avoir un cycle de 100 ka et à court terme des cycles de 20 ka suivant l'insolation. Il est à noter que lorsque l'abondance est plus importante en dessous de 3,5 μm , elle devient « faible » au-dessus de cette limite selon certains cycles de précessions; et inversement.

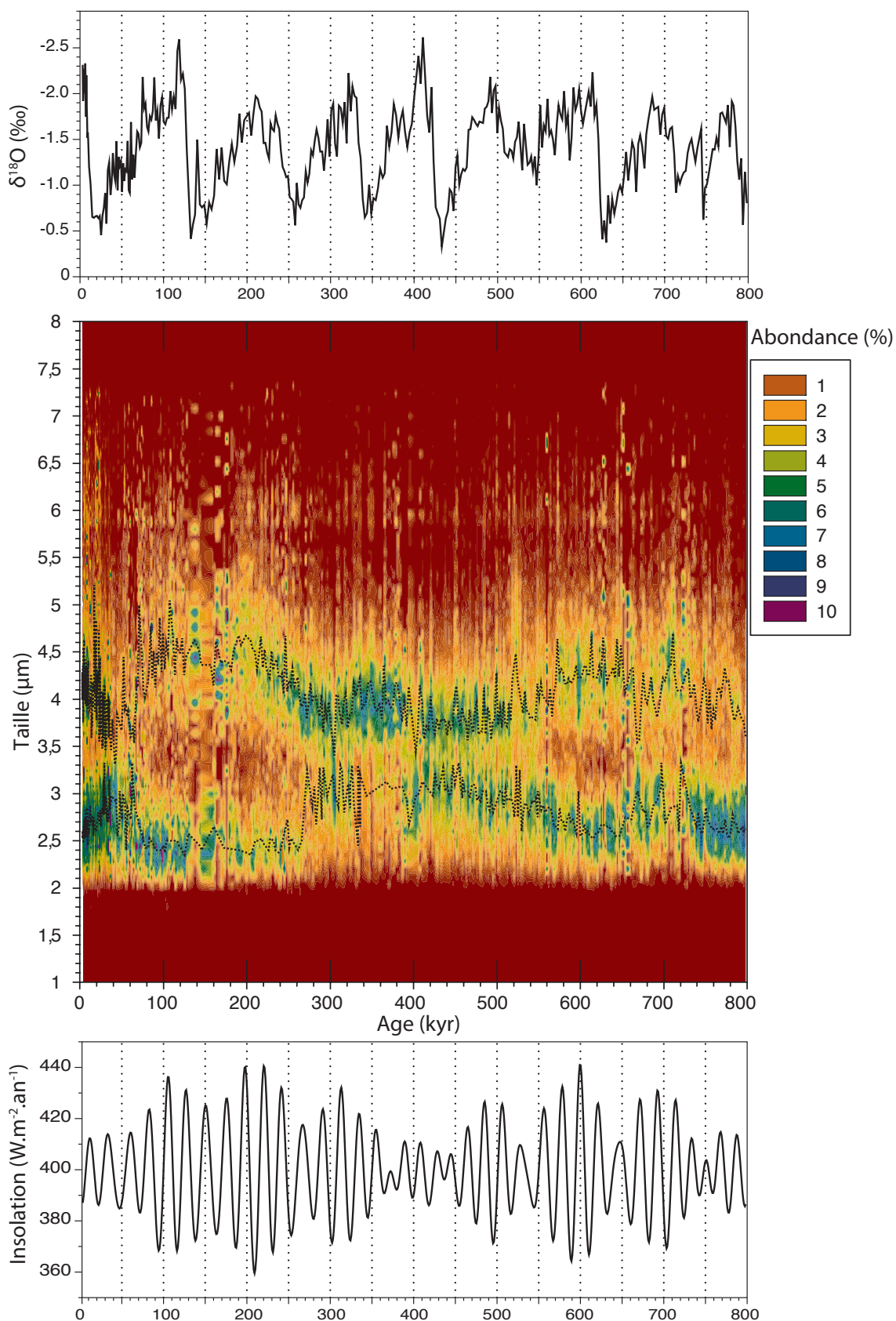


Figure 6-24. Cartographie des histogrammes des tailles pour tous les échantillons de la carotte, en pourcentage avec un minimum de 50 individus par échantillon. En haut, en comparaison, le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques du même forage et, en bas, l'insolation journalière à l'équateur (Laskar *et al.*, 2004). Les pointillés noirs représentent le mode des histogrammes (= gamme de tailles la plus représentée), en dessous et au-dessus de 3,5 μm .

La **Figure 6-25** montre cette fois la distribution de la masse des Noelaerhabdaceae. La masse se distribue entre 2 et 40 pg environ, avec de fortes variations. Il est plus difficile de mettre en évidence une distribution bimodale. Mais la distribution dessine de nouveau un cycle global de 400 ka. La variance semble plus réduite quand l'insolation est plus faible et inversement. Quand la distribution est peu étendue entre 300 et 500 ka, la médiane des masses des individus de plus de 3 μm semble suivre la tendance du $\delta^{18}\text{O}$: on remarque notamment vers 400 ka une baisse de la masse suivie d'une augmentation parallèle avec la tendance du $\delta^{18}\text{O}$. L'étendue de la distribution semble aussi suivre un cycle à court terme de 20 ka coïncidant avec l'insolation. Il est à noter que lorsque l'abondance est plus importante en dessous de 8 pg environ, elle devient « faible » au-dessus de cette limite ; et inversement.

Il est intéressant de constater que ce pattern suit aussi la succession écologique, autour de trois dates importantes :

- la fin de *P. lacunosa* observée automatiquement à 480 ka, succédant à une période de forte variance (de 2 à 39 pg) avec beaucoup de petites espèces,
- la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* à 280 ka, espèce dominante lorsque la variance est la plus faible (de 2,5 à 20 pg) et que les formes « moyennes » sont plus abondantes,
- entre la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* et le début de celle d'*E. huxleyi* à partir de 60 ka, on retrouve une période de forte variance (de 2 à plus de 40 pg) avec beaucoup de petites espèces,
- et pendant l'acmé de *E. huxleyi*, où semble débiter une nouvelle baisse de la variance de la distribution (de 2,5 à 15 pg), et une légère augmentation de la masse.

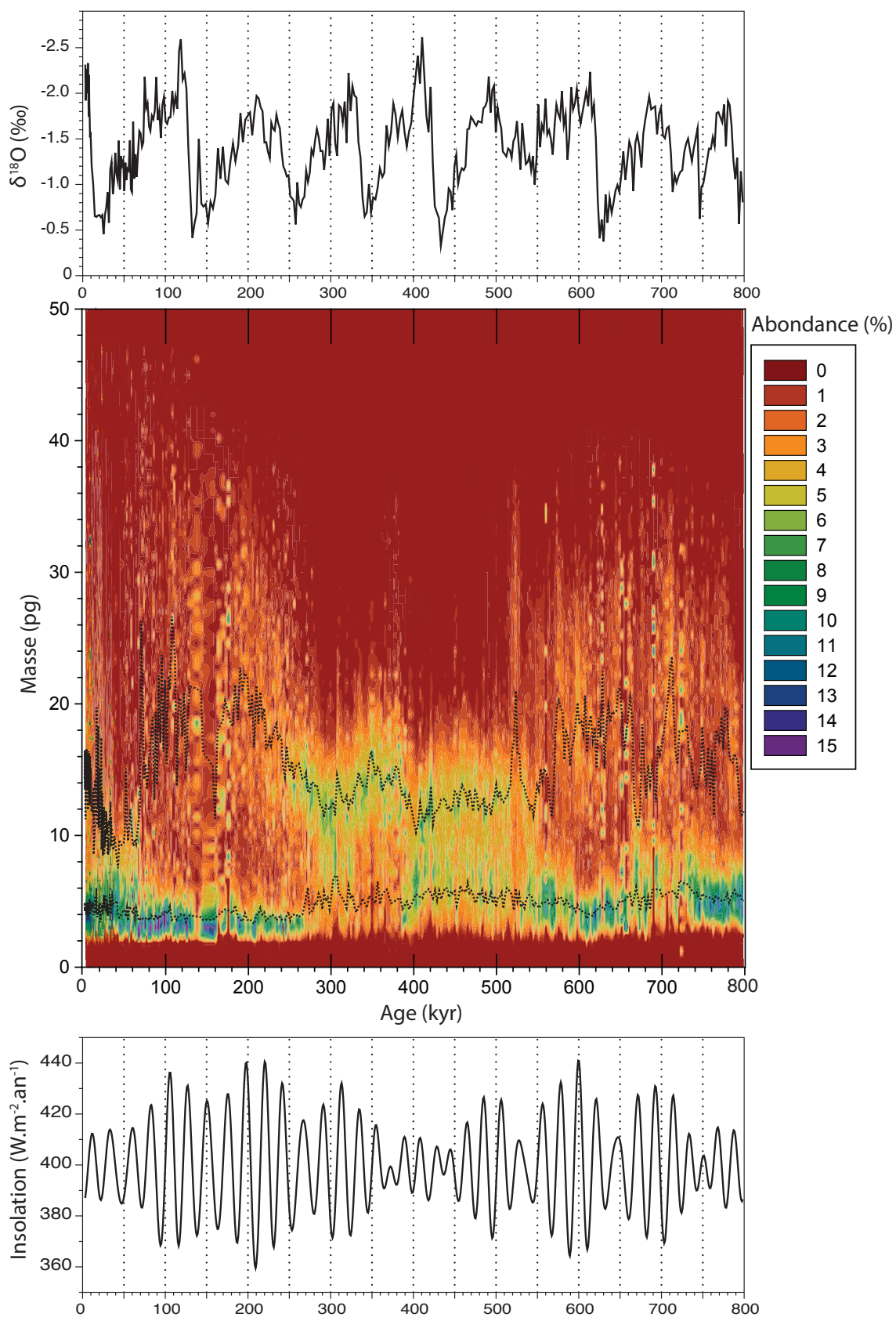


Figure 6-25. Cartographie des histogrammes des masses pour tous les échantillons de la carotte, en pourcentage avec un minimum de 50 individus par échantillon. En haut, en comparaison, le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques du même forage et, en bas, l'insolation journalière à l'équateur (Laskar *et al.*, 2004). Les pointillés noirs représentent le mode pour les individus dont la taille est en dessous (en bas) et au-dessus de $3\ \mu\text{m}$ (en haut).

La figure **Figure 6-26** montre cette fois la distribution de l'épaisseur moyenne des Noelaerhabdaceae. L'épaisseur se distribue entre 0,6 et 2,1 μm environ, avec de fortes variations. On retrouve de nouveau un cycle global de 400 ka. La variance semble la plus réduite quand l'insolation est la plus faible et inversement. Quand la distribution est peu étendue entre 300 et 500 ka (variations d'insolation minimales), la médiane des épaisseurs des individus de plus de 3 μm semble suivre la tendance inverse du $\delta^{18}\text{O}$: on remarque notamment vers 400 ka une baisse de la masse suivie d'une augmentation parallèle avec la tendance du $\delta^{18}\text{O}$, et inversement à 350 ka. L'étendue de la distribution semble aussi suivre un cycle à court terme de 20 ka suivant l'insolation. Ces variations d'abondances semblent suivre les mêmes périodes décrites pour la masse (**Figure 6-25**) :

- la fin de *P. lacunosa* observée à 480 ka, succède à une période de forte variance (de 0,55 à 2,1 μm),
- la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* à 280 ka, succède à une période où la variance est la plus faible (0,7 à 1,7 μm),
- entre la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* et le début de celle d'*E. huxleyi* à partir de 60 ka, on retrouve une période de forte variance (de 0,55 à 2,1 μm),
- et pendant l'acmé de *E. huxleyi*, la variance de la distribution semble se réduire (de 0,6 à 1,8 μm).

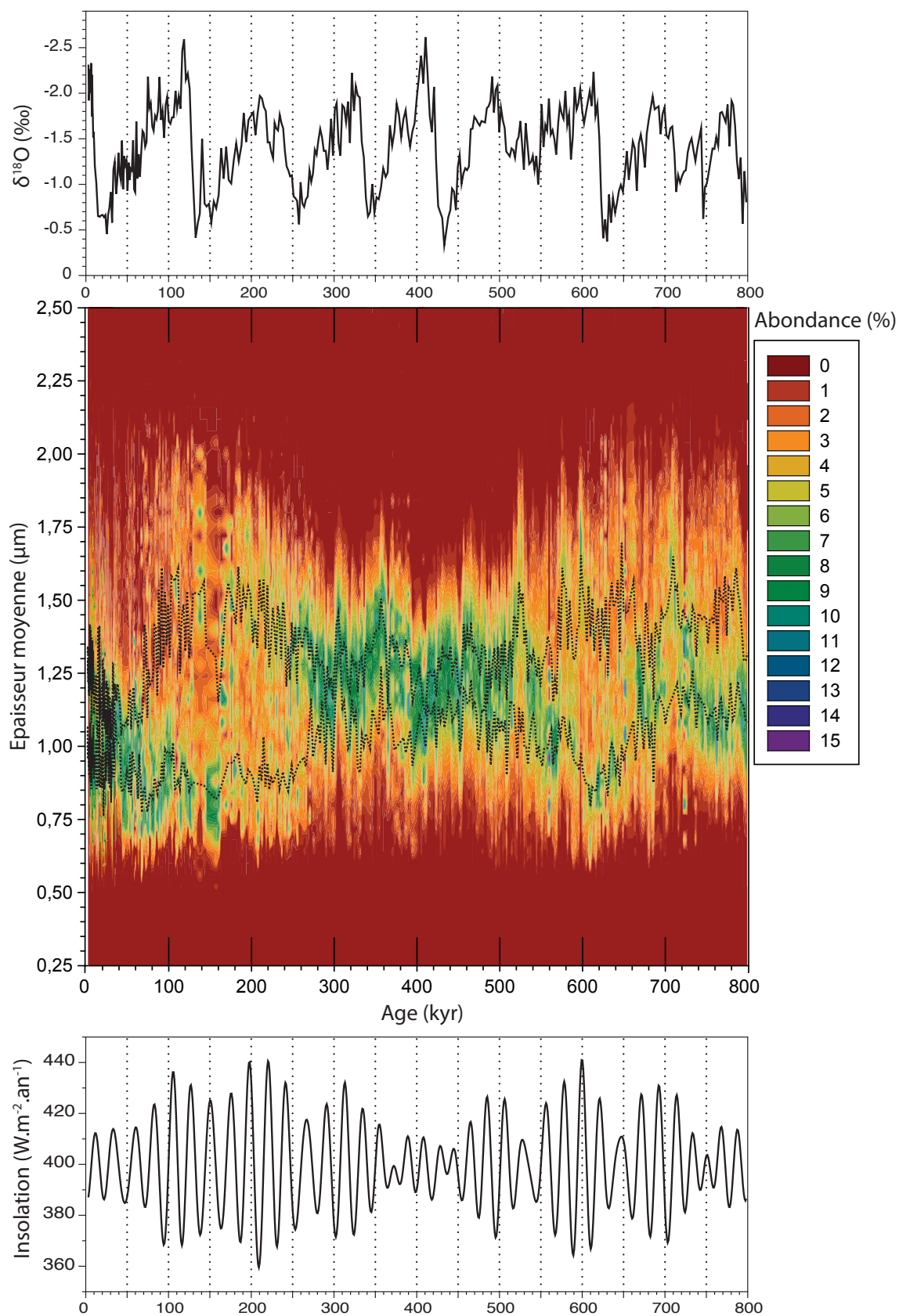


Figure 6-26. Cartographie des histogrammes des épaisseurs moyennes (masse normalisée par la surface) pour tous les échantillons de la carotte, en pourcentage avec un minimum de 50 individus par échantillon. Avec, en haut, en comparaison, le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques du même forage et, en bas, l'insolation journalière à l'équateur (Laskar *et al.*, 2004). Les pointillés noirs représentent le mode pour les individus dont la taille est en dessous (en bas) et au-dessus de $3\ \mu\text{m}$ (en haut).

La **Figure 6-27** met directement en relation les moyennes de l'épaisseur moyenne (**Figure 6-26**) pour les individus dont la taille est en dessous et au-dessus de $3 \mu\text{m}$ avec l'insolation journalière à l'équateur. Cela montre une relation entre l'amplitude de l'insolation et l'éloignement des moyennes. L'éloignement varie entre $0,1$, quand l'amplitude est faible et $0,6 \mu\text{m}$ quand elle est forte. Il est possible de mettre en évidence plusieurs cycles dans ces variations (**Figure 6-28**), légèrement différents du signal global de la moyenne pour l'ensemble des Noelaerhabdaceae (**Figure 6-23**). Un cycle à long terme de 500 ka semble ressortir, probablement la fondamentale ; on s'éloigne d'un cycle d'excentricité de 400 ka . Il est possible de faire ressortir le cycle d'obliquité autour de 40 ka et les cycles de précessions autour de 23 et $19,3 \text{ ka}$. Ainsi que les nombreux autres cycles (autour de 65 ka , autour 27 ka , $16,8 \text{ ka}$, autour de $15,5 \text{ ka}$, au tour de 14 ka , 12 ka et 11 ka) probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit.

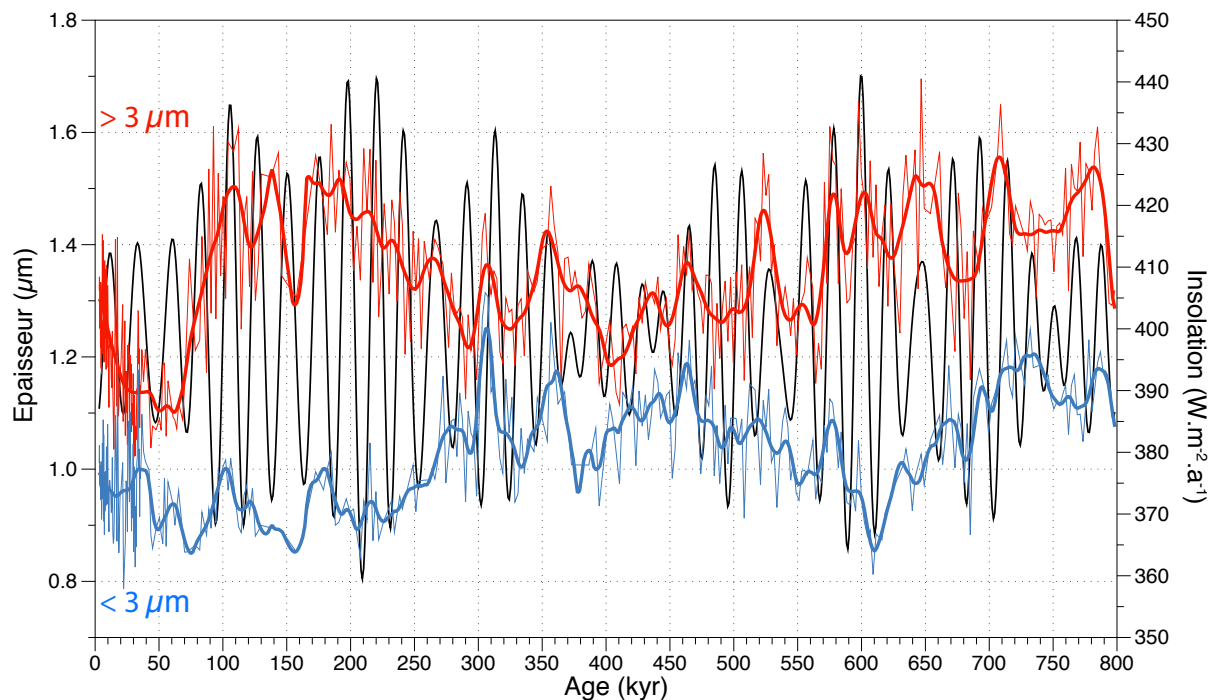


Figure 6-27. Comparaisons entre les médianes de l'épaisseur moyenne pour les individus dont la taille est en dessous (en bleu) et au-dessus de $3 \mu\text{m}$ (en rouge), avec l'insolation journalière à l'équateur (Laskar *et al.*, 2004). Le trait épais correspond à un lissage.

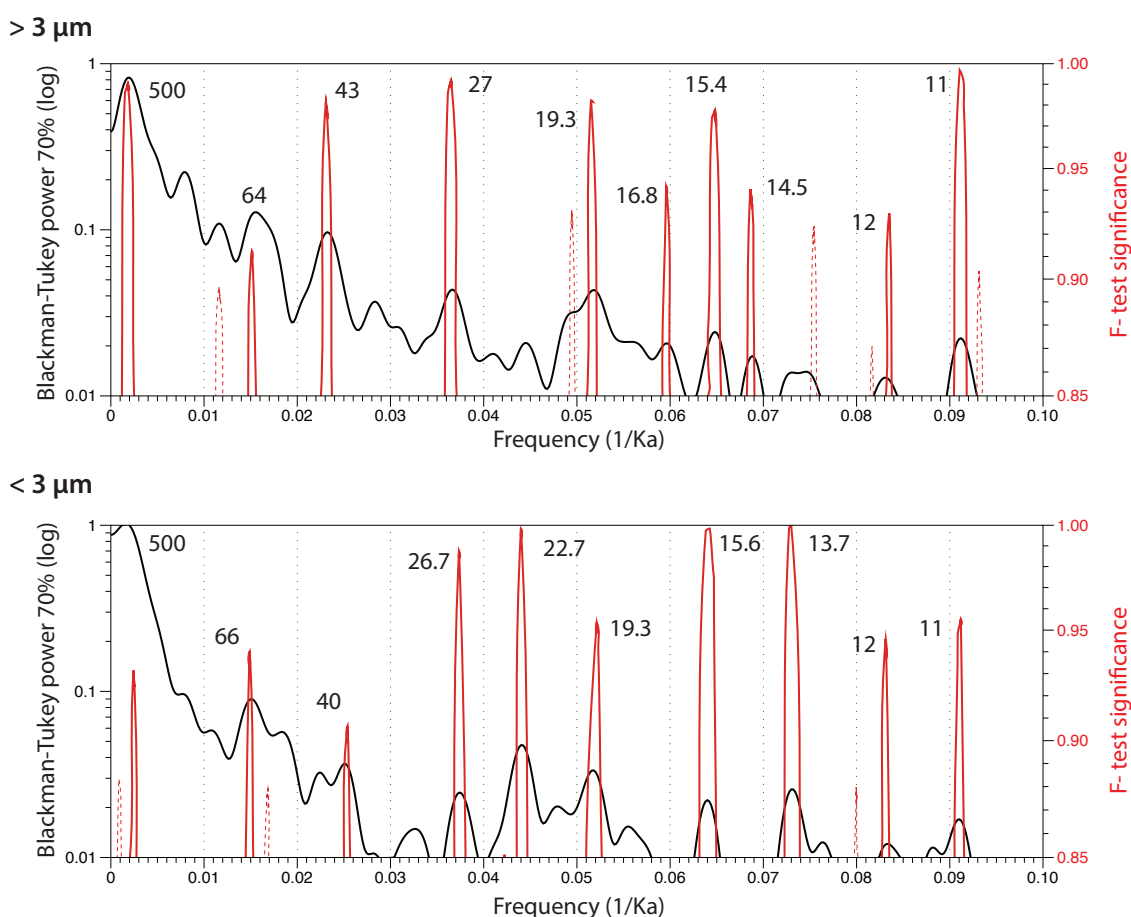


Figure 6-28. Analyse spectrale Blackman-Tukey (en noir) de l'épaisseur moyenne pour les individus supérieurs (en haut) et inférieurs à 3 μm (en bas) avec la significativité des pics (en rouge). Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. Les chiffres à côté des pics sont les périodes correspondantes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

6.2.2. Étude de la paléoproduktivité dans la Mer de Corail

Le pourcentage de *Florisphaera profunda* est un excellent indicateur de paléoproduktivité primaire (PP, voir Chapitre 2). La carotte MD052930 offre un enregistrement complet sur les derniers 800 000 ans. SYRACO a permis de compter automatiquement le nombre de placolithes et de *F. profunda* (Figure 6-29). La productivité est maximale quand l'insolation est minimale. L'analyse spectrale Figure 6-30,B met en évidence différents cycles significatifs : des cycles à long terme de 618 et 131,8 ka, assez éloignés des cycles d'excentricité et sûrement des fondamentales, un cycle de 38,3 ka correspondant certainement à l'obliquité, des cycles de 22,7 et 19,4 correspondant aux cycles de précessions, et d'autres cycles (29,8, 15,9 et 11,4 ka) probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit. L'analyse de cohérence¹⁹ Blackman-Tukey entre l'insolation journalière et la PP (Figure 6-30, A) montre une très forte cohérence avec la précession (>0,9 pour le cycle de 22,5 ka contre 0,7 pour celui de 19,2 ka). Elle montre aussi une forte cohérence avec les cycles d'excentricité (400 et 118 ka) et de l'obliquité (41,6 ka). Le diagramme de phase de la PP pour la précession (Figure 6-30, C) montre que la PP maximale est en phase avec le maximum d'insolation de janvier.

¹⁹ Méthode statistique pour examiner la relation entre deux signaux temporels.

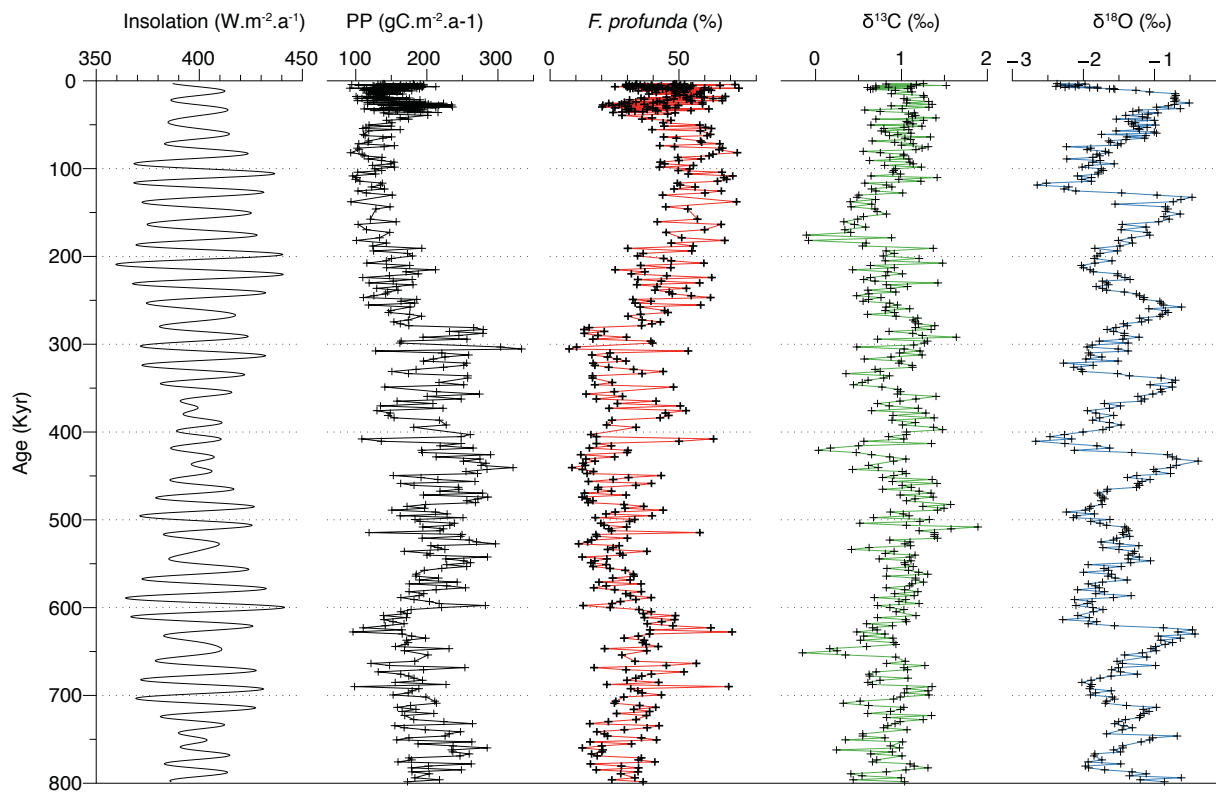


Figure 6-29. Pourcentage de *F. profunda* et paléoproduktivité (PP) comparés avec le $\delta^{18}O$ et le $\delta^{13}C$ des foraminifères benthiques du même forage et l'insolation journalière à l'équateur (Laskar *et al.*, 2004)

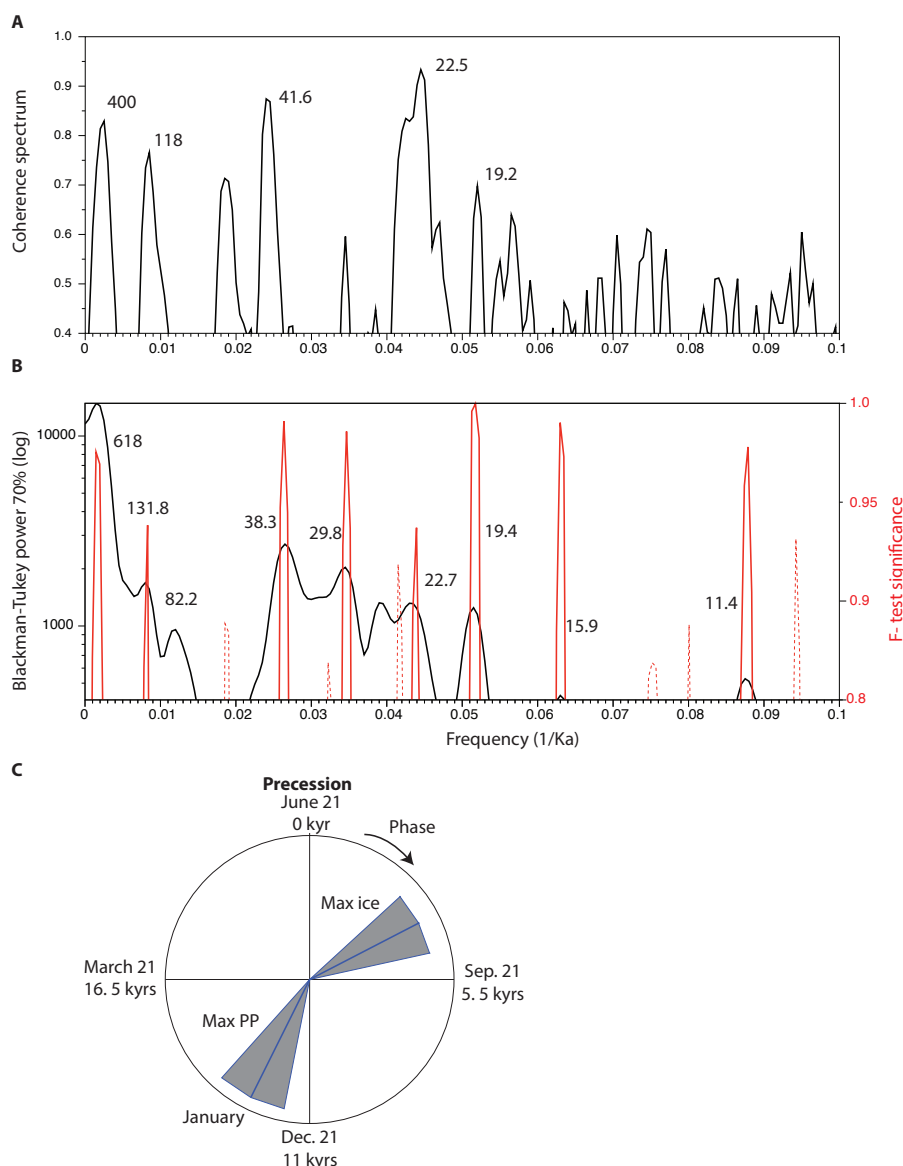


Figure 6-30. A) Spectre de cohérence (cross-Blackman-Tukey) entre la paléoproduktivité (PP) et l'insolation à l'équateur. B) Analyse spectrale Blackman-Tukey (en noir) du pourcentage de *F. profunda* avec la significativité des pics (en rouge). Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. C) Diagramme de phase de la PP et du $\delta^{18}O$ pour la précession (les zones grisées indiquent la bande passante). L'origine est choisie pour un maximum d'insolation au solstice d'été. La PP maximale est en phase avec le maximum d'insolation de janvier. Les chiffres à côté des pics sont les périodes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

6.2.3. Etude sur les Noelaerhabdaceae de la carotte GDEC4

Les Noelaerhabdaceae de la carotte GDEC4 (**Figure 6-9**) regroupent les morphogroupes « ger », « gep », « emi », « nop », « nog », « geo » et « gepg », soit environ 200 000 individus ; avec pour chacun les données de taille (axe majeur de l'ellipse), de poids et d'épaisseur (**Figure 6-31**). Un minimum de 100 individus par échantillon a été choisi, soit 556 échantillons couvrant environ 550 000 ans.

La taille, la masse et l'épaisseur montrent clairement des variations rapides à court terme (**Figure 6-31**). La taille moyenne varie entre 2 et 5,5 μm , la masse moyenne entre 2,5 et 25 μg , et l'épaisseur moyenne entre 0,8 et 1,7 μm . Il est difficile de lire une quelconque corrélation avec le $\delta^{18}O$. On peut voir cependant une concordance entre l'augmentation rapide de l'épaisseur à 430 ka et la baisse rapide du $\delta^{18}O$ (stade 11-12), un

pic d'épaisseur à 490 ka semble synchrone avec une basse valeur du $\delta^{18}\text{O}$ (stade 13), de même autour de 200 ka. Certains patterns de variations semblent évoluer de manière synchrone avec l'insolation, cela est bien visible entre 180 et 230 ka, quand la variation d'insolation est la plus importante ; et de manière moins évidente entre 350 et 450 ka quand la variation d'insolation est la plus faible.

Les analyses spectrales de ces variations montrent différents cycles significatifs (**Figure 6-32**) :

- Pour la taille, le cycle de 240 ka est certainement une fondamentale, le cycle de 37 ka est proche d'un signal d'obliquité et les cycles de 22 et 19 ka indiquent un signal de précession. Les autres cycles de 76,2, 28, 16, 12,6 et 10,8 ka sont probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit.

- Pour la masse, le cycle de 315 ka est certainement une fondamentale et les cycles de 22,3 et 19 ka indiquent un signal de précession. Les autres cycles de 77, 28,5, 25,3 et 10,9 ka sont probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit.

- Pour l'épaisseur, le cycle de 496 ka est certainement une fondamentale, le cycle de 91 ka est proche du signal d'excentricité et les cycles de 22,5 et 20 ka (voir même 18,5 ka) indiquent un signal de précession. Les autres cycles de 52,6, 33, 25,3, 14,6 13,3 12,3 et 10,6 ka sont aussi probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001), des harmoniques et/ou à du bruit.

Parfois les variations morphométriques sont en phase avec l'insolation (obliquité et précession), parfois non (d'où le cycle de 30 ka probablement).

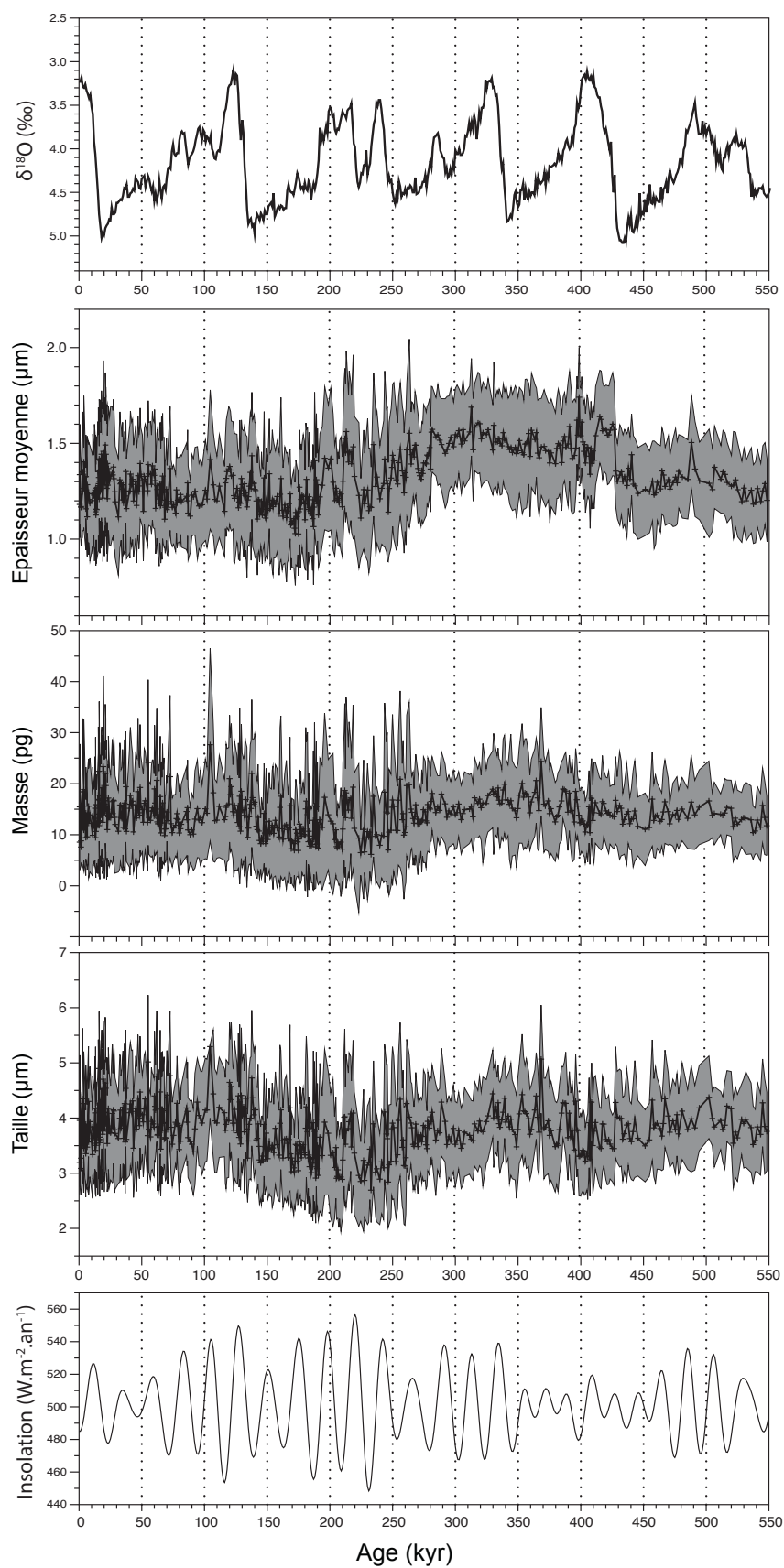


Figure 6-31. Moyennes avec un écart-type (en gris) de la taille, de la masse et de l'épaisseur, comparés avec le *stack* (=synthèse de plusieurs enregistrements) du $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques de [Lisiecki et Raymo \(2005\)](#) et l'insolation journalière à $42,5^\circ$ de latitude Nord ([Laskar et al., 2004](#)).

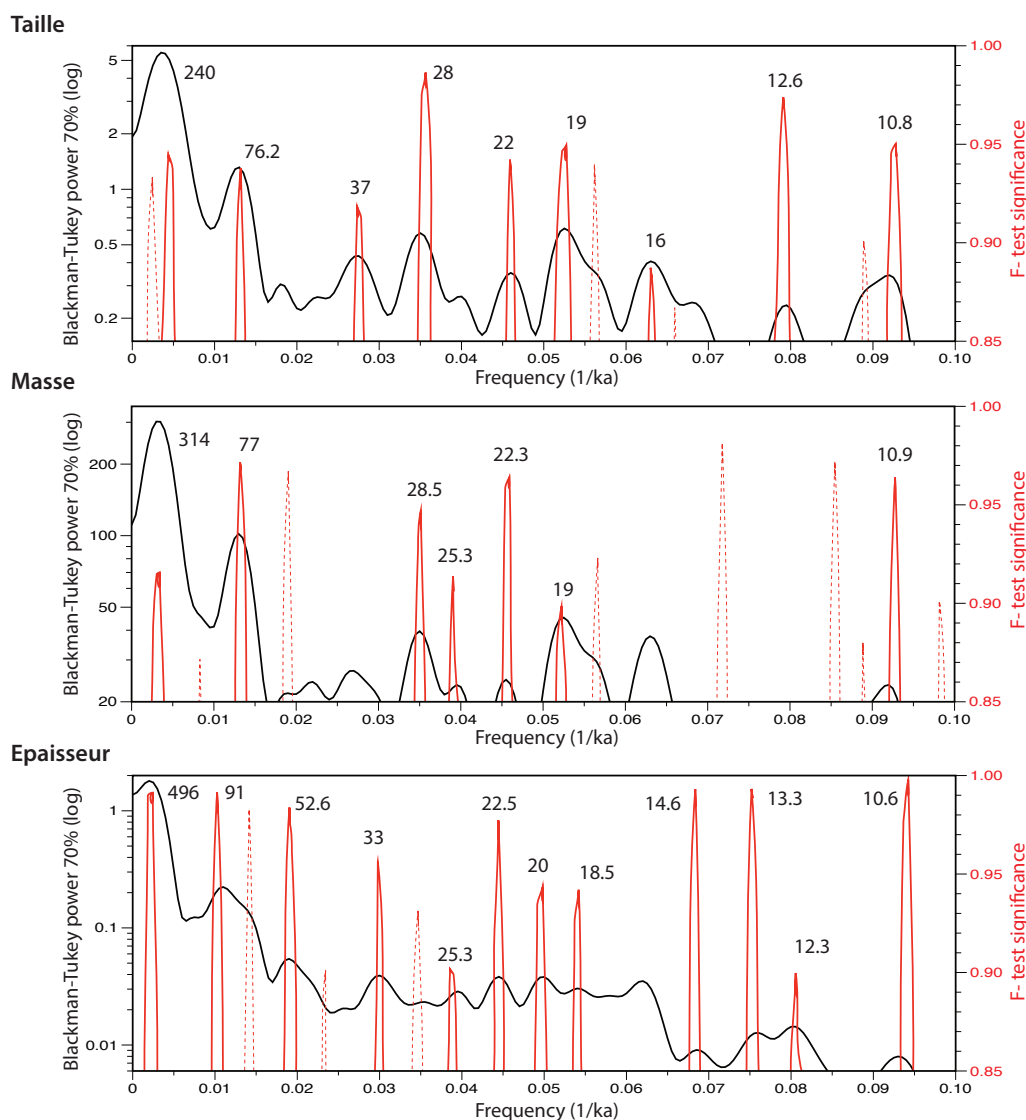


Figure 6-32. Analyse spectrale Blackman-Tukey (en noir) de la taille, de la masse et de l'épaisseur moyenne (données présentées **Figure 6-31**), avec la significativité des pics (en rouge). Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. Les chiffres à côté des pics sont les périodes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

Comme pour la carotte MD052930, la **Figure 6-33** présente la distribution des tailles de Noelaerhabdaceae. La taille se distribue globalement entre 2 et 7 μm environ, avec de fortes variations. On peut mettre en évidence une distribution bimodale des tailles de part et d'autre de 3,5 μm , mais moins prononcée que pour la MD052930. Les modes semblent se rapprocher autour de 420, 300 et 150 ka environ et s'éloignent entre ces âges avec une plus grande variance de taille. La distribution dessine deux augmentations entre 550 et 500 ka, et 450 et 350 ka, chacune suivie d'une baisse de 500 à 450 ka et 350 et 270 ka. Après 150 ka, la distribution semble stable, mais avec un nouveau rapprochement des modes à partir de 50 ka. Sur l'ensemble de la carotte, les tailles supérieures à 3,5 μm semblent abondantes sauf entre 270 et 140 ka, quand la variation de l'insolation est la plus forte, et à partir de 50 ka, marquant la fin rapide de l'acmé de *G. caribbeanica* suivie de l'augmentation des petits *Gephyrocapsa* et le début de l'acmé de *E. huxleyi*. Ce pattern dessine un cycle global de 100 ka jusqu'à 120 ka environ. La variance semble la plus réduite quand l'insolation est la plus faible et inversement sauf autour de 300 ka. A plus court terme, les patterns de la distribution (modes) et de la variance montrent des changements « rapides ». La distribution des tailles

semble avoir un cycle de 100 ka et des cycles de 20 ka suivant l'insolation. Il est à noter que lorsque l'abondance est plus importante en dessous de $3,5 \mu\text{m}$, elle devient « faible » au-dessus de cette limite selon certains cycles de précessions ; et inversement. Le lien avec le $\delta^{18}\text{O}$, n'est pas évident.

Ces patterns de distribution suivent aussi la succession écologique, autour de deux dates importantes :

- la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* à 265 ka, espèce dominante dès 550 ka,
- entre la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* et le début de celle d'*E. huxleyi* à partir de 50 ka, on retrouve une période de forte variance (de 2 à plus de $7,5 \mu\text{m}$) avec beaucoup de petites espèces,
- et pendant l'acmé de *E. huxleyi*, où semble débiter une nouvelle baisse de la variance de la distribution (de $2,5$ à $6 \mu\text{m}$).

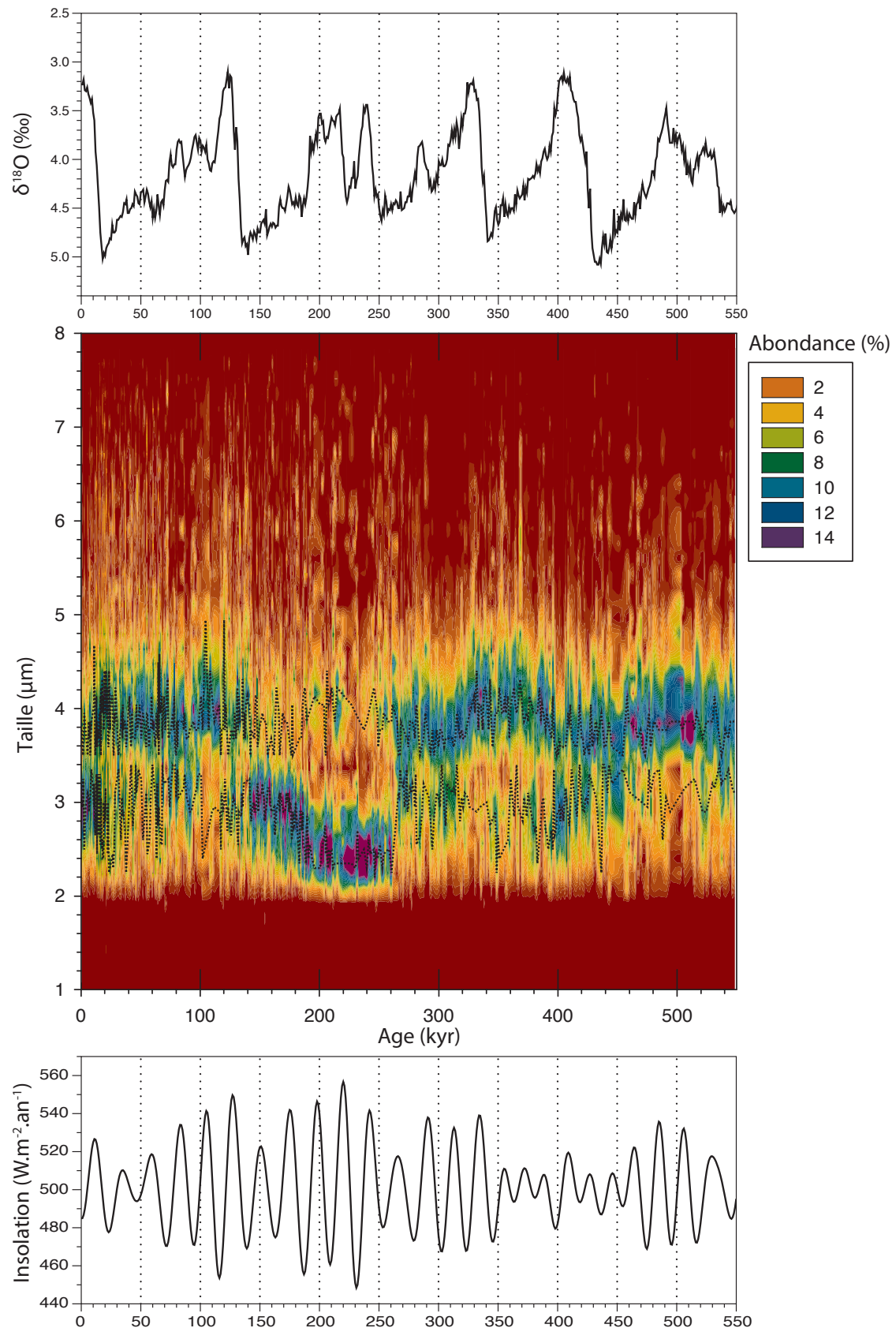


Figure 6-33. Cartographie des histogrammes des tailles pour tous les échantillons de la carotte, en pourcentage avec un minimum de 50 individus par échantillon. En haut, en comparaison, le stack du $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques de [Lisiecki et Raymo \(2005\)](#) et l'insolation journalière à 42,5° de latitude Nord ([Laskar et al., 2004](#)). Les pointillés noirs représentent le mode des histogrammes (= gamme de tailles la plus représentée), en dessous et au-dessus de 3,5 µm.

La figure **Figure 6-34** montre la distribution de la masse des Noelaerhabdaceae. La masse se distribue entre 2 et 45 pg environ, avec de très fortes variations. Le pattern global de la distribution ne semble pas dessiner de cycles à long terme. La distribution dessine deux augmentations, en abondance et variance, entre 550 et 500 ka (jusqu'à 24 pg), et 450 et 350 ka (jusqu'à 34 pg), chacune suivies d'une baisse de 500 à 450 ka et 350 et 270 ka. Un net changement arrive à 270 ka environ, avec une forte augmentation du nombre de petites masses (2-6 pg), même si l'on trouve quelques fortes masses (jusqu'à 50 pg environ). Suivie d'une augmentation progressive jusqu'à 140 ka environ. Puis la distribution semble stable, répartie surtout entre 2 et 18 pg, avec deux événements de forte variance jusqu'à 50 pg environ. Ces observations sont marquées par les modes des masses des individus de plus de 3 μm . Ceux-ci sont éloignés quand la variance est maximale, et se rapprochent quand les petites masses sont plus abondantes (autour de 550, 450, 150 et 50 ka). Il y a cependant une forte variabilité entre 270 et 180 ka, quand l'insolation est maximale. Le lien avec le $\delta^{18}\text{O}$ n'est pas évident.

Ces patterns de distribution suivent aussi la succession écologique, autour de deux dates importantes :

- la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* à 265 ka, espèce dominante dès 550 ka,
- Entre la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* et le début de celle d'*E. huxleyi* à partir de 50 ka, on retrouve une période de forte variance (de 2 à plus de 40 pg) avec beaucoup de petites espèces,
- Et pendant l'acmé de *E. huxleyi*, où semble débiter une nouvelle baisse de la variance de la distribution (de 2,5 à 15 pg).

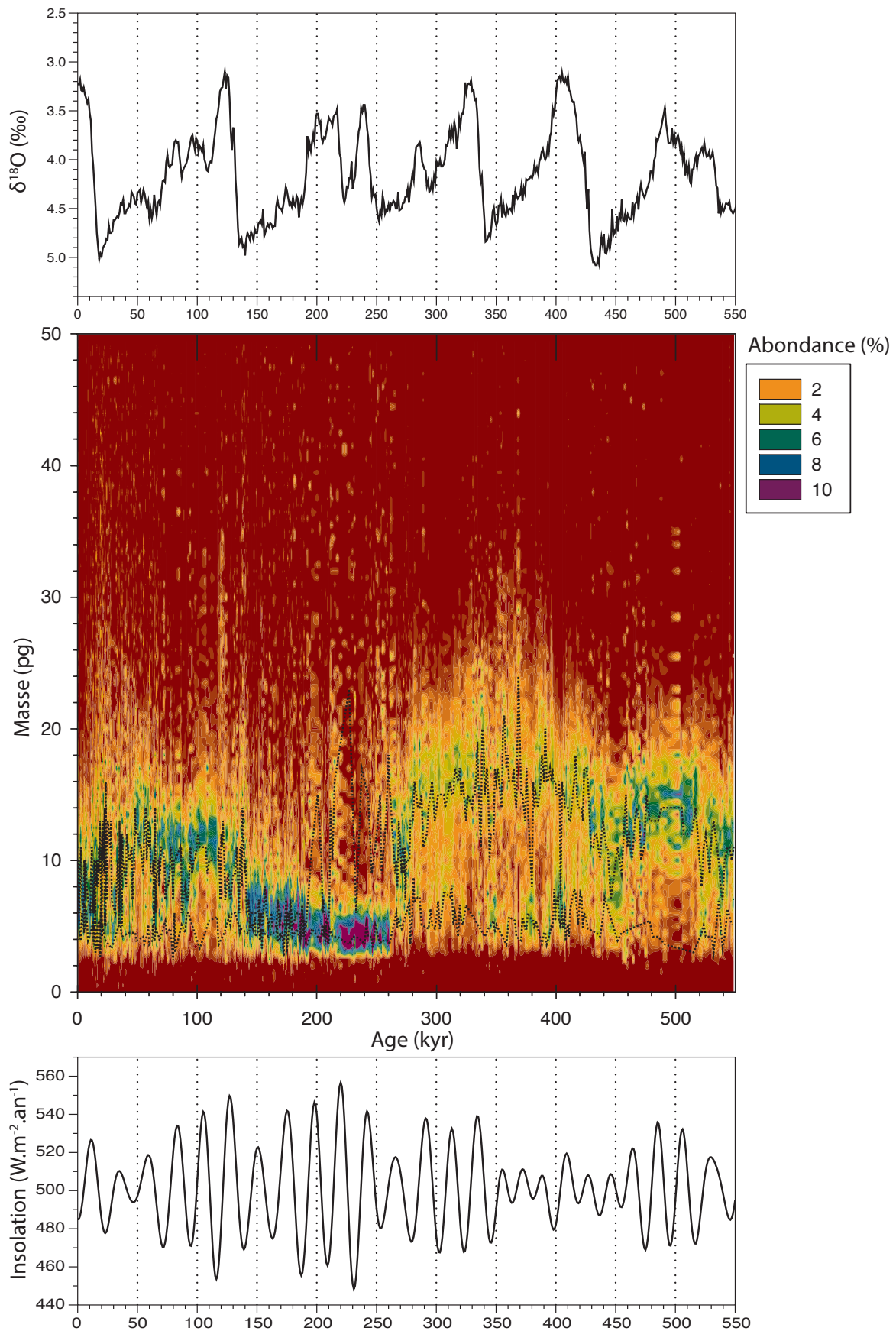


Figure 6-34. Cartographie des histogrammes des masses pour tous les échantillons de la carotte, en pourcentage avec un minimum de 50 individus par échantillon. En haut, en comparaison, le *stack* du $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques de [Lisiecki et Raymo \(2005\)](#) et l'insolation journalière à $42,5^\circ$ de latitude Nord

(Laskar *et al.*, 2004). Les pointillés noirs représentent la moyenne pour les individus dont la taille est en dessous (en bas) et au-dessus de 3 μm (en haut).

La figure **Figure 6-35** montre cette fois la distribution de l'épaisseur moyenne des Noelaerhabdaceae. L'épaisseur se distribue entre 0,6 et 2,6 μm environ, avec de fortes variations. Entre 550 et 430 ka l'épaisseur varie entre 0,6 et 2 μm avec une variance réduite. Entre 430 et 265 ka, l'épaisseur augmente brusquement pour varier entre 0,8 et 2,4 μm avec une variance limitée aussi. Entre 265 et 0 ka, l'épaisseur réduit relativement rapidement pour varier entre 0,6 et 2,6 μm , avec une plus grande variance, surtout lorsque les variations d'insolation sont maximales, entre 250 et 200 ka environ. Quand la distribution est peu étendue entre 260 et 550 ka (variations d'insolation minimales), le mode des masses des individus de plus de 3 μm semble suivre une tendance parallèle au $\delta^{18}\text{O}$: on remarque notamment vers 430 ka une augmentation de l'épaisseur pendant une augmentation parallèle du $\delta^{18}\text{O}$, et inversement à 350 ka. L'étendue de la distribution semble aussi suivre un cycle à court terme de 20 ka suivant l'insolation.

Ces variations d'abondances d'épaisseurs mettent bien en évidence la fin de l'acmé de *G. caribbeanica* autour de 265 ka. Il est difficile cependant de voir l'acmé de *E. huxleyi*, ou encore la dernière occurrence de *P. lacunosa*, malgré la forte augmentation d'épaisseur entre 420 et 425 ka relativement proche de sa dernière occurrence. Par contre, cet âge correspond à la forte baisse observée pour le groupe « usi » (**Figure 6-16**).

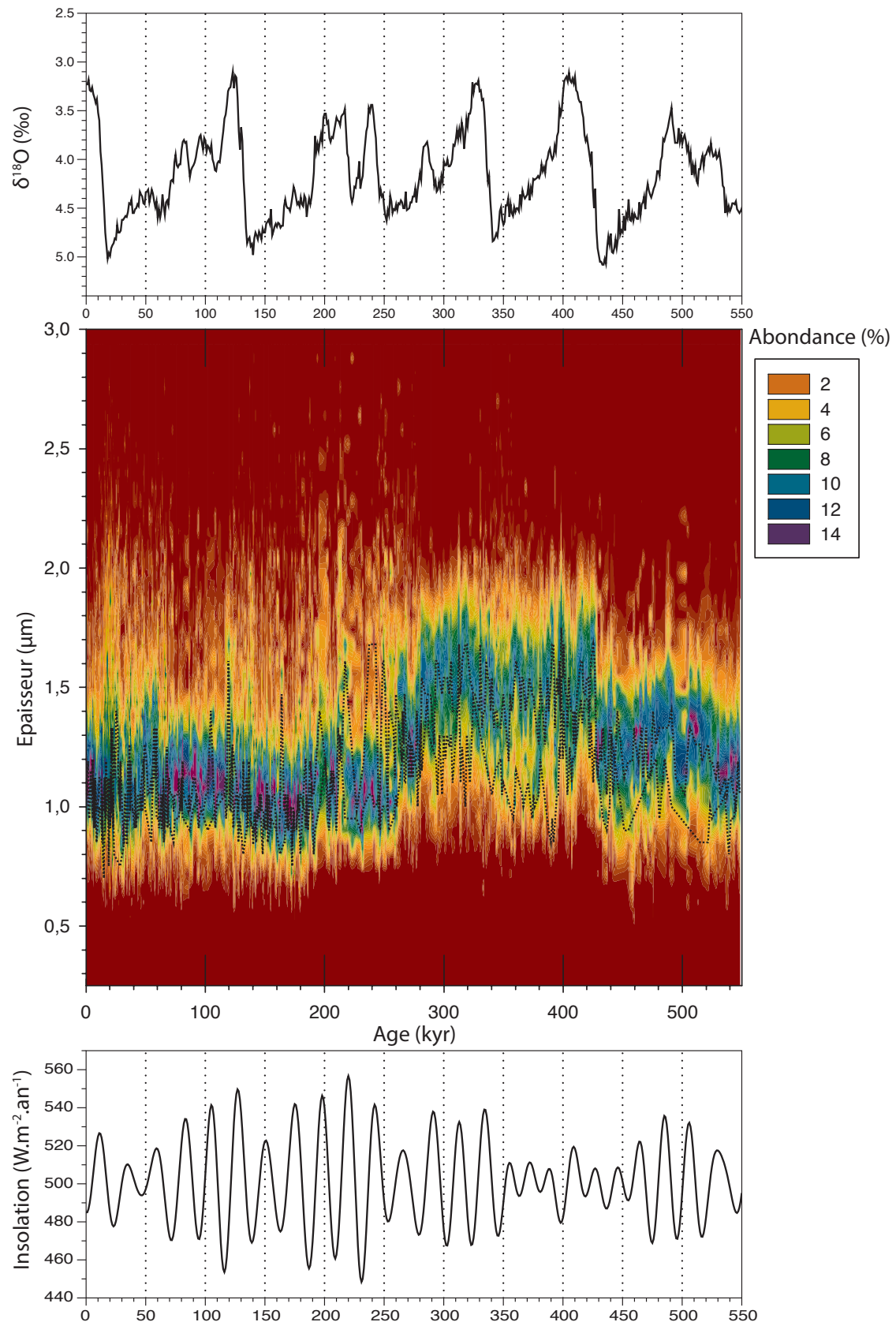


Figure 6-35. Cartographie des histogrammes des épaisseurs moyennes (masse normalisée par la surface) pour tous les échantillons de la carotte, en pourcentage avec un minimum de 50 individus par échantillon. Avec, en haut, en comparaison le stack du $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques de [Lisiecki et Raymo \(2005\)](#) et l'insolation journalière à $42,5^\circ$ de latitude N ([Laskar et al., 2004](#)). Les pointillés noirs représentent la moyenne pour les individus dont la taille est en dessous (en bas) et au-dessus de $3\ \mu\text{m}$ (en haut).

La **Figure 6-36** met directement en relation les moyennes de l'épaisseur moyenne (**Figure 6-35**) pour les individus dont la taille est en dessous et au-dessus de $3 \mu\text{m}$ avec l'insolation journalière à $42,5^\circ$ de latitude N. Cela met en évidence une relation entre la distribution des épaisseurs et la précession, parfois synchronisée parfois décalée. On peut aussi voir plus clairement un cycle de rapprochement et d'éloignement des moyennes selon un cycle de 100 ka. On remarque l'augmentation rapide commune des courbes entre 450 et 410 ka, relativement cohérente avec le passage stade 11-12 du $\delta^{18}\text{O}$. Ces observations ressortent effectivement sur les analyses spectrales **Figure 6-37**. Des cycles à long terme de 455 et 496 ka correspondent probablement à la fondamentale et s'éloignent d'un cycle d'excentricité de 400 ka. Par contre, les cycles de 93 et 101 ka sont significatifs marquant certainement le cycle d'excentricité de 100 ka. Il est possible de faire ressortir les cycles de précession entre de 23 et 19,3 ka. Les nombreux autres cycles (70 ka, 51 ka, 36 ka, 33 ka, 27 ka, 14,6 ka, 13,3 ka, 11,9 ka et 11 ka) sont probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (*Beaufort et al., 2001*), des harmoniques et/ou à du bruit.

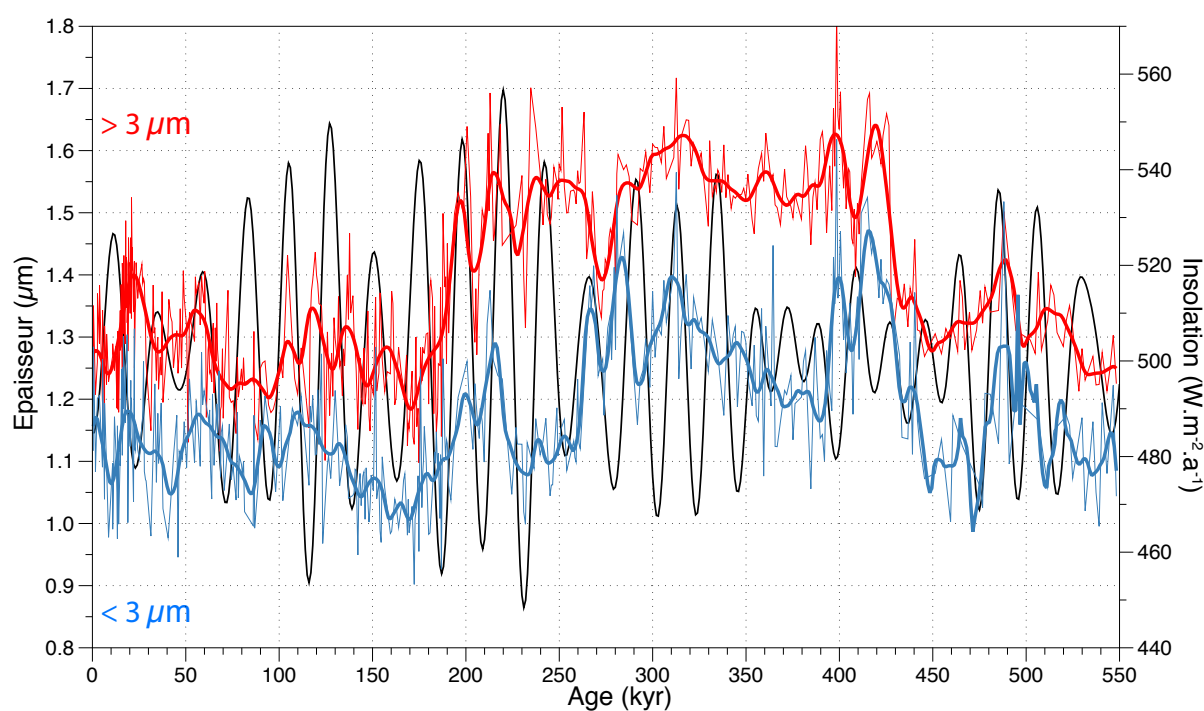


Figure 6-36. Comparaisons entre les moyennes de l'épaisseur moyenne pour les individus dont la taille est en dessous (en bleu) et au-dessus de $3 \mu\text{m}$ (en rouge), et avec l'insolation journalière à $42,5^\circ$ de latitude Nord (*Laskar et al., 2004*). Le trait épais correspond à un lissage.

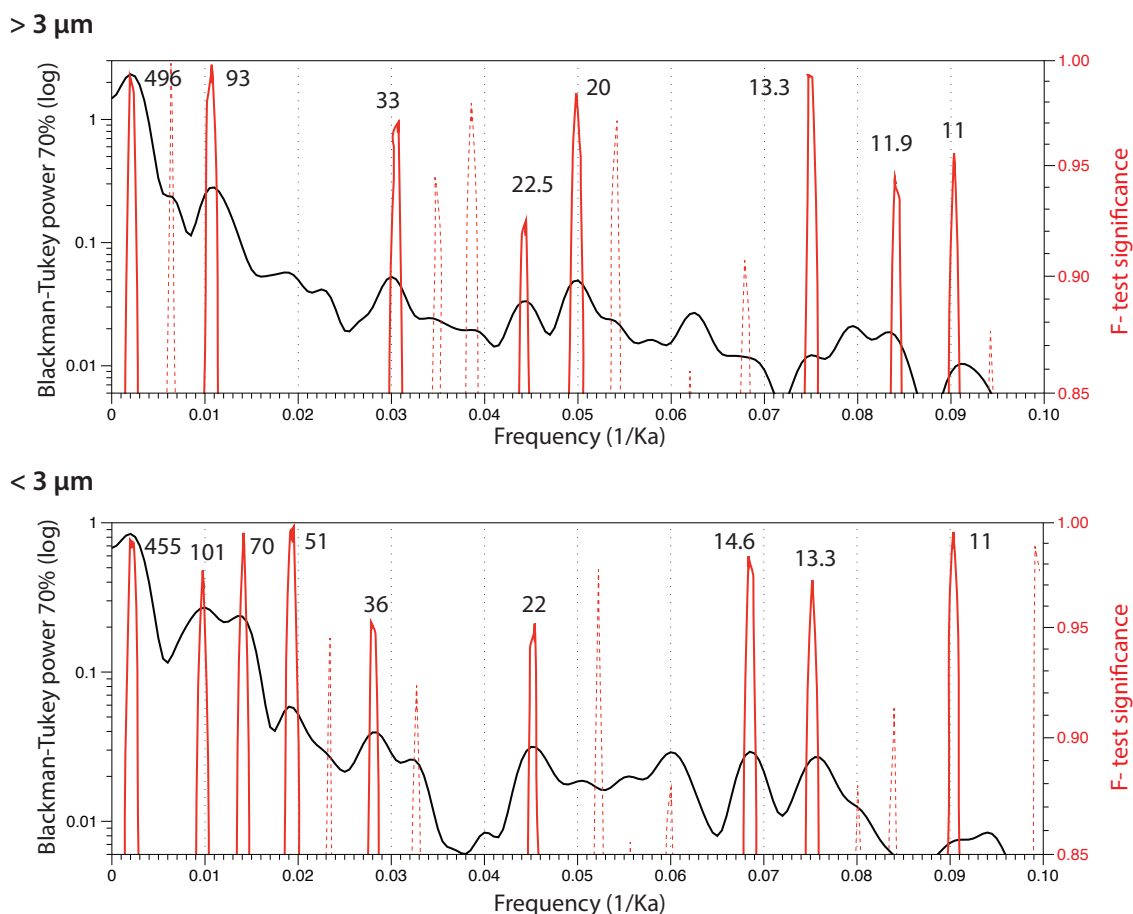


Figure 6-37. Analyse spectrale Blackman-Tukey (en noir) de l'épaisseur moyenne pour les individus supérieurs (en haut) et inférieurs à 3 µm (en bas) avec la significativité des pics (en rouge). Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. Les chiffres à côté des pics sont les périodes correspondantes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

6.2.4. Autre étude paléocéanographique sur la carotte GDEC4

Coccolithus pelagicus est une espèce dont l'abondance tend à dépendre de la température. L'abondance semble plus importante quand la température est faible avec une forte fertilité (McIntyre et Bé, 1967; McIntyre *et al.*, 1970; Blasco *et al.*, 1980; Winter *et al.*, 1994; Andruleit, 1997; Cachao et Moita, 2000; Cachão et Moita, 2000; Parente *et al.*, 2004; Narciso *et al.*, 2006; Saavedra-Pellitero *et al.*, 2010). Le morphogroupe « cpe » regroupe des morphologies très proches de *C. pelagicus*. Le comptage automatique de ce groupe comparé avec le $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques permet d'obtenir la **Figure 6-38**. On observe une correspondance entre les variations des deux proxies : même si l'intensité de variation du groupe « cpe » n'épouse pas parfaitement le $\delta^{18}\text{O}$, on peut tout de même retrouver les pics correspondants. Il en est de même pour l'insolation ; il est facile de relier les maxima d'insolation avec les maxima d'abondance dans la plupart des cas.

Le décalage des pics est probablement dû aux imprécisions du modèle d'âge, notamment à partir de 450 ka, si l'on part de l'hypothèse que les changements sont synchrones.

L'analyse spectrale de l'abondance du morphogroupe « cpe » (**Figure 6-39**) montre différents cycles significatifs : un cycle de 110 ka caractéristique de l'excentricité, un fort cycle de 40 ka caractéristique de l'obliquité et des cycles de 22,7 et de 19 ka caractéristiques de la précession. Les autres cycles (30,5, 15 et 11, 2 ka) sont probablement dus à des phénomènes de modulations entre différents systèmes climatiques (Beaufort *et al.*, 2001) et à des harmoniques.

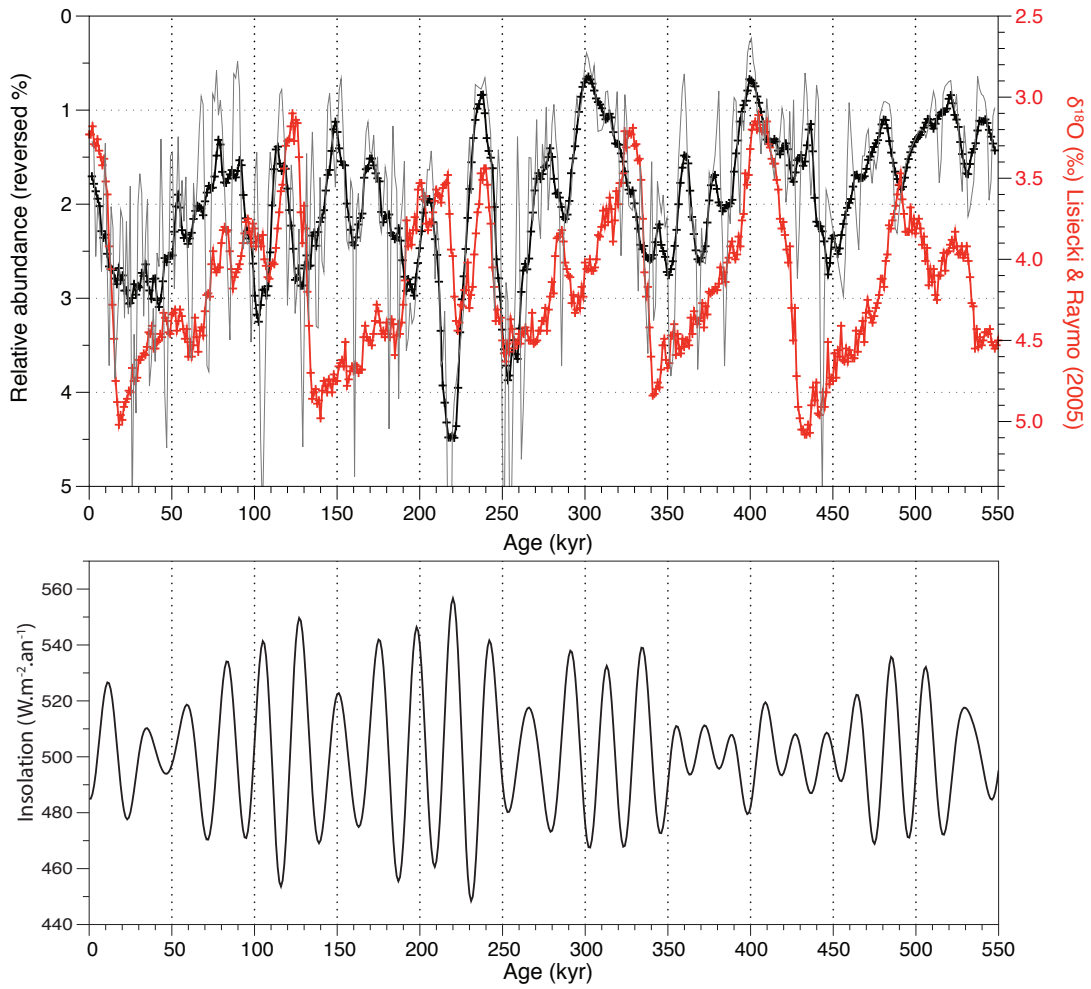


Figure 6-38. Exemple de comparaison entre l'abondance (échelle inversée) du morphogroupe « cpe » (brute, en gris et une moyenne mobile sur sept points, en noir) avec le $\delta^{18}O$ des foraminifères benthiques de Lisiecki et Raymo (2005) et avec l'insolation journalière à 42,5° de latitude Nord (Laskar *et al.*, 2004).

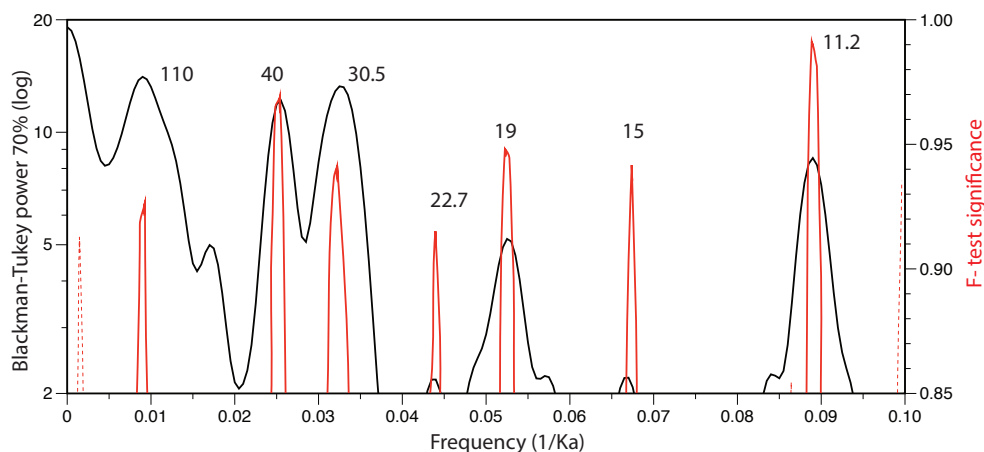


Figure 6-39. Analyse spectrale Blackman-Tukey (en noir) du pourcentage du morphogroupe « cpe » avec la significativité des pics (en rouge). Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. Les chiffres à côté des pics sont les périodes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

6.2.5. Discussion synthétique

Il y aurait beaucoup de choses à dire sur les nombreux résultats obtenus. Ils sont l'équivalent de plusieurs thèses de travail. Ceux présentés ne sont qu'une fraction possible des données à explorer et il est difficile de saisir l'importance des détails visibles dans une partie des données. D'autant qu'elles présentent plusieurs niveaux de lecture selon les échelles de temps choisies pour la description. La synthèse sera présentée sous forme de points importants et de pistes d'interprétation.

Concernant la carotte MD052930

⇒ L'observation successivement bimodale puis unimodale de la taille a déjà été mise en évidence par [Beaufort \(1992\)](#) pour le genre *Reticulofenestra* du Miocène dans l'Océan Atlantique Nord (**Figure 6-40**). Il montre que les variations de tailles révèlent aussi des cycles orbitaux, notamment des cycles de précession et des cycles de 37 et de 30 ka. Il conclut que les changements d'abondances des gammes de tailles, suggérant des éco-morphotypes, reflètent la saisonnalité. La différence entre son étude et celle-ci vient essentiellement du fait que la distribution se répartit entre des placolithes 7 à 9 μm et d'autres de 2 à 5 μm à partir d'une population entre 4 et 8 μm , alors que dans le Pléistocène, les Noelaerhabdaceae n'excèdent plus 7 μm . L'indice d'une influence astronomique sur la taille des coccolithes a aussi été mise en évidence pour une période beaucoup plus ancienne, le Pliensbachien, au Jurassique Inférieur ([Sucheras-Marx et al., 2010](#)).

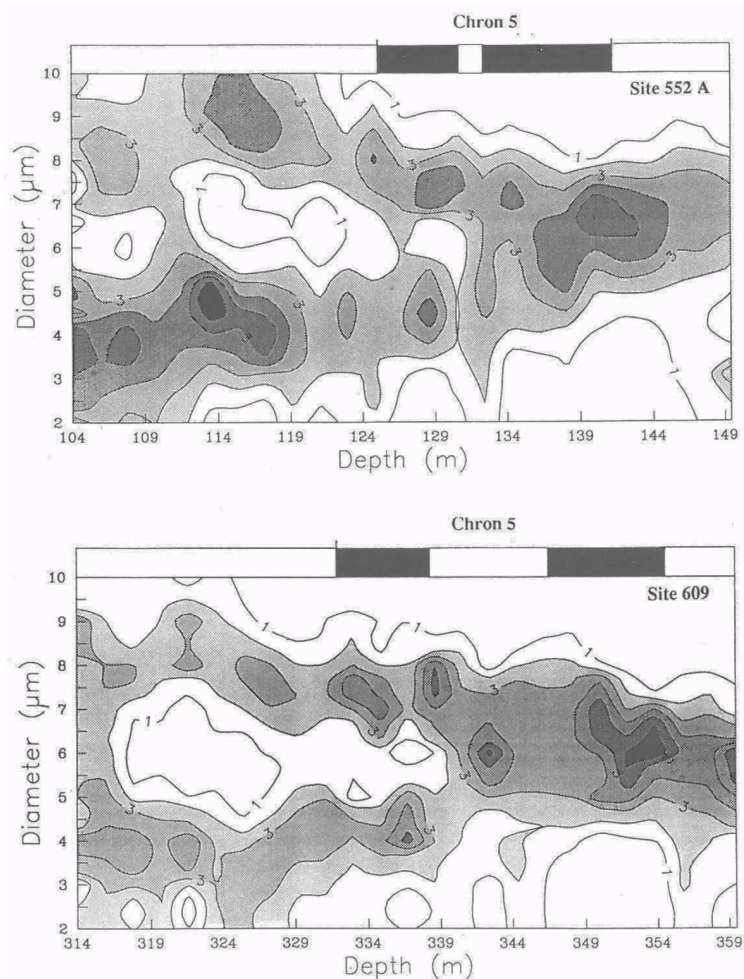


Figure 6-40. Graphique de contour de la distribution des tailles des placolithes *Reticulofenestra* du Miocène Supérieur des carottes 552A et 609, Figure 3 page 344 extraite de [Beaufort \(1992\)](#).

- ⇒ La précession a une forte influence sur la diversité morphotypique des Noelaerhabdaceae. S'exprime-t-elle directement sur la moyenne des mesures ou sur l'abondance des espèces ? Par exemple, quand la taille augmente, s'agit-il de la taille globale des individus qui augmente ou d'une augmentation du nombre de formes plus grosses comme *Gephyrocapsa*?
- ⇒ Le cycle 400 ka présent dans la taille, la masse (**Figure 6-23**) et la paléoproduktivité (**Figure 6-30**) n'est pas visible dans le climat ($\delta^{18}\text{O}$, **Figure 6-41**).
- ⇒ Les variances de la taille, de la masse et de l'épaisseur (**Figure 6-23**) font ressortir l'enveloppe de l'insolation journalière (cycles de 400 et 100 ka). L'excentricité semble donc moduler la variance des formes de Noelaerhabdaceae.
- ⇒ Les variations morphométriques font ressortir les changements écologiques majeurs.
- ⇒ Des périodes de faible productivité ressortent pendant les plus fortes variations d'insolation (**Figure 6-29**). La productivité est maximale quand l'insolation est minimale.
- ⇒ La paléoproduktivité semble maximale en janvier, ce qui est proche du résultat de [Beaufort et al. \(2001\)](#) qui trouvent un maximum en février dans l'Océan Indien (**Figure 6-30**).
- ⇒ Les résultats montrent une influence directe des cycles astronomiques et du volume de glace.
- ⇒ Les signaux de l'excentricité et de la précession semblent indiquer un effet des saisons.
- ⇒ La productivité qui est estimée à partir du rapport entre l'abondance des placolithes de surface et ceux de la zone photique inférieure (*F. profunda*, [Molfinio et McIntyre \(1990\)](#); [Beaufort et al. \(1997\)](#)) montre la dynamique de la nutricline, mais aussi indirectement les changements de la stratification des eaux de surface. En mettant en relation les variations de la productivité (**Figure 6-29**) avec les variations d'abondances dans les gammes de tailles notamment (**Figure 6-24**), on remarque que la productivité est globalement faible quand les distributions de tailles sont les plus larges et fortement bimodales avec beaucoup de petites espèces (selon le cycle de 400 ka). À l'inverse, quand la productivité augmente, le pourcentage d'espèces « moyennes », entre 3 et 4 μm , semble plus important. De plus, à plus haute fréquence (précession), les baisses rapides de productivité semblent coïncider le plus souvent avec des abondances plus importantes pour les Noelaerhabdaceae « moyens à gros ». Cela pourrait être interprété comme une préférence de certaines espèces à être plus abondantes dans certaines niches écologiques à différentes profondeurs (dans la zone photique supérieure ou moyenne, [Okada et Honjo \(1973\)](#); [Honjo et Okada \(1974\)](#); [Winter et al. \(2002\)](#)). Lors des périodes de faible productivité, avec une nutricline profonde, l'abondance en coccolithophoridés diminue, mais la stratification semble produire différentes niches écologiques qui semblent être occupées par les Noelaerhabdaceae « moyens à gros ». À l'inverse, les augmentations de productivité semblent favoriser les petites espèces.

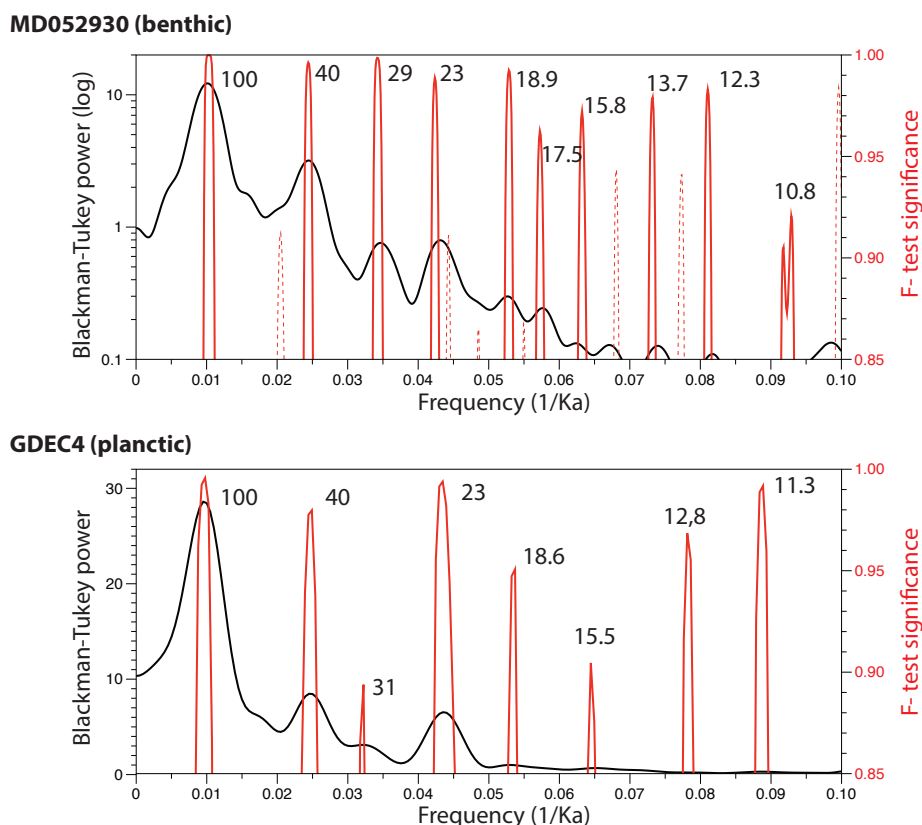


Figure 6-41. Analyses spectrales Blackman-Tukey du $\delta^{18}\text{O}$ des foraminifères benthiques de la carotte MD052930 et des foraminifères planctoniques de la carotte GDEC4. Les lignes rouges pointillées correspondent à des pics relativement significatifs mais non cohérents avec les pics du Blackman-Tukey. Les chiffres à côté des pics sont les périodes en milliers d'années (ka). Réalisés avec Analyseries 2.0 (Paillard *et al.*, 1996).

Concernant la carotte GDEC4

- ⇒ La précession a une forte influence sur la diversité morphotypique des Noelaerhabdaceae.
- ⇒ La distribution bimodale est moins prononcée que pour la carotte MD052930.
- ⇒ Un fort cycle de 100 ka ressort pour l'épaisseur (**Figure 6-37**) qui n'est pas significatif pour la MD052930 (**Figure 6-28**).
- ⇒ Il n'y a pas de relation visible entre la variance des formes et l'enveloppe de l'insolation.
- ⇒ Les variations morphométriques font ressortir les changements écologiques majeurs.
- ⇒ Les résultats montrent une influence directe des cycles astronomiques et du volume de glace.
- ⇒ L'étude révèle aussi que l'abondance de *Coccolithus pelagicus* ou des variations morphométriques peuvent potentiellement offrir la possibilité d'affiner les modèles d'âges à partir des corrélations de pics ou de tendances avec l'insolation et le $\delta^{18}\text{O}$. Des études complémentaires seront nécessaires, d'autant qu'il existe probablement un décalage (un demi-cycle de précession) entre hémisphère Nord et Sud.

Comparaison entre MD052930 et GDEC4

Il est possible d'observer des similitudes dans les résultats des deux carottes bien qu'elles se trouvent à des latitudes très différentes, dans des bassins et des systèmes climatiques différents.

Par exemple, il semble y avoir un pattern similaire sur les cartes d'histogrammes de la taille et surtout de la masse (**Figure 6-24, Figure 6-25, Figure 6-33 et Figure 6-34**), principalement entre 250 et 550 ka environ où les histogrammes décrivent deux augmentations successives. Une période de « minimum » à 400-410 ka sur MD052930 se retrouve aussi sur GDEC4 mais autour de 420 ka. Est-ce un problème de modèle d'âge ? Sur MD052930, ce minimum coïncide avec un minimum de $\delta^{18}\text{O}$ (stade 11) mais pas pour GDEC4. Cet écart est proche d'un demi-cycle de précession (environ 10 ka) qui pourrait expliquer une différence entre l'hémisphère Nord et Sud. Cela pourrait être aussi un artefact dû à des échantillons peu riches. Après 260 ka, les abondances plus faibles pour GDEC4 font probablement moins ressortir l'augmentation de variance vers les « grands » coccolithes.

D'autre part, il existe des tendances similaires en observant la différence entre les moyennes des individus de moins et de plus de 3 μm que ce soit pour la taille et pour la masse (**Figure 6-42**). Ces différences indiquent aussi la variance morphologique globale. On observe des tendances proches selon des cycles de 100 ka environ : celles visibles sur les histogrammes, entre 500 et 400 ka et entre 400 et 300 ka, entre 300 et 150 ka et entre 150 et 60 ka environ. Mais pour les périodes plus récentes, il y a un décalage d'environ 30 ka entre les baisses de différences de taille et de masse. À l'échelle de la précession (23-19 ka), on observe de nouveau des tendances en phase ou en opposition de phase pour les deux carottes. Cela est particulièrement remarquable pour GDEC4, où la résolution est plus fine.

Un autre détail mérite d'être mis en évidence, bien que les tendances dans la différence de taille et la masse semblent suivre globalement l'enveloppe de la précession selon les cycles de 400 ka et de 100 ka, il semble y avoir une anomalie autour 300 ka pour les deux carottes, où les variations ne suivent pas l'enveloppe de la précession selon le cycle de 100 ka. En effet, les tendances entre 350 et 275 ka montrent une baisse puis une augmentation de la différence, donc une baisse de la variance morphologique, alors que l'enveloppe de la précession montre une augmentation suivie d'une baisse.

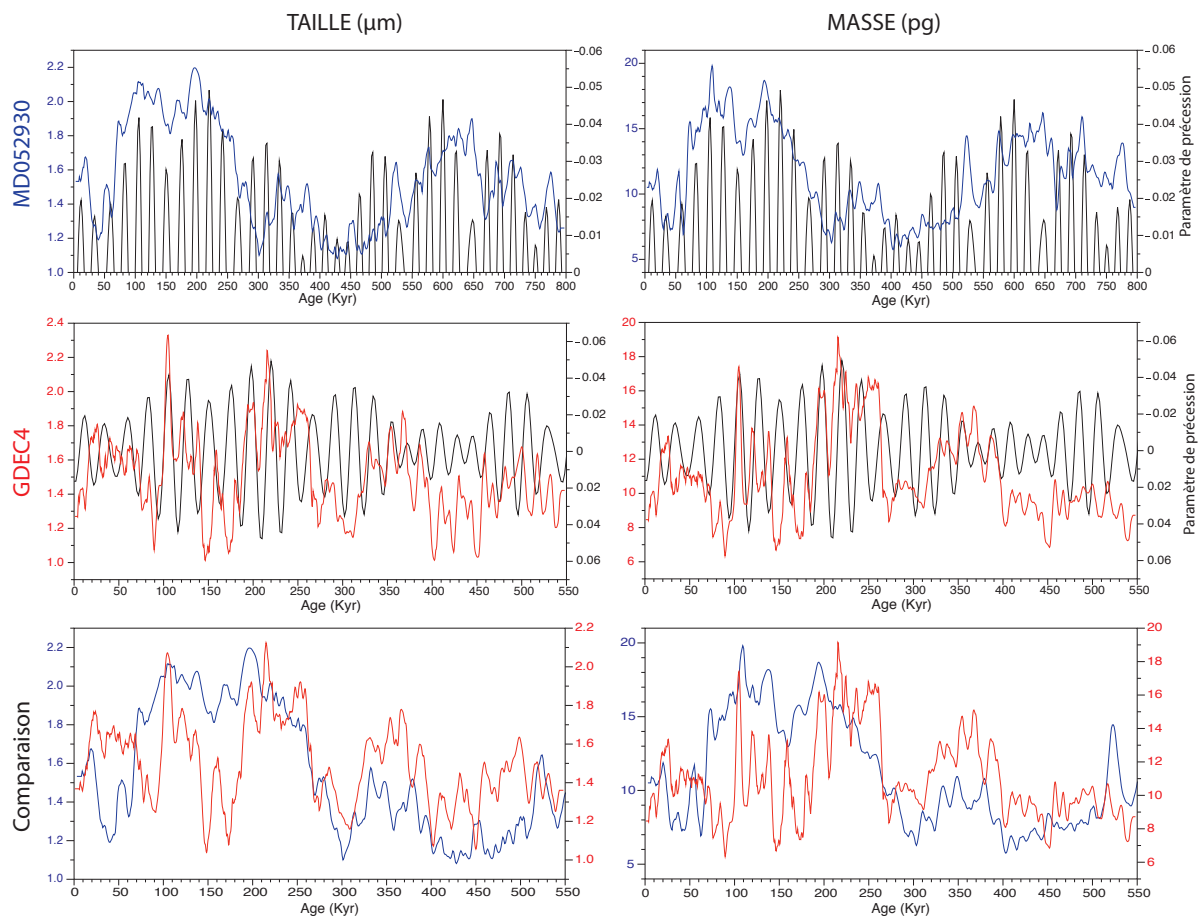


Figure 6-42. Comparisons des différences entre les moyennes de taille et de masse des individus de moins

et de plus de 3 μm pour les carottes MD052930 (en bleu) et GDEC4 (en rouge). Pour chaque carotte, la différence de taille et de masse est comparée avec le paramètre de précession (Laskar *et al.*, 2004), il est commun à toutes les latitudes contrairement à l'insolation.

Quelques pistes de discussion

D'autres auteurs observent des variations de la production carbonatée ou de la dénitrification selon des patterns relativement similaires à nos données, avec des périodes plus ou moins marquées correspondant aux cycles orbitaux, notamment à l'excentricité. Ces travaux donnent des pistes de discussion et d'interprétation, parfois bien développées, parfois à approfondir.

⇒ Production carbonatée des coccolithophoridés.

Barker *et al.* (2006) et Rickaby *et al.* (2007) observent de plus fortes valeurs d'alkénones, C_{37} , du Sr/Ca et du $\delta^{13}\text{C}$ des coccolithes pendant les périodes de fortes variations d'insolation, suivant visiblement des cycles de 100 ka et de 400 ka, avec de faibles valeurs autour de 400 ka. Barker *et al.* (2006) observent aussi ce pattern avec la masse des tests de *Globigerina bulloides*, un foraminifère planctonique.

Barker *et al.* (2006) suggèrent que l'augmentation globale de la production carbonatée pélagique pendant le minimum d'amplitude d'insolation (autour de 400 ka environ) serait reliée à l'acmé de *Gephyrocapsa caribbeanica*. L'acmé aurait pu modifier la chimie carbonatée marine de telle façon que cela a pu conduire à l'augmentation de la dissolution des foraminifères sous la contrainte de l'état d'équilibre chimique. Une augmentation de la production carbonatée en surface aurait causé un abaissement de la saturation globale en carbonate et une augmentation de la dissolution sur le fond océanique.

Rickaby *et al.* (2007) suggèrent un lien entre la production des coccolithophoridés (*Gephyrocapsa caribbeanica* et *Emiliana huxleyi*) et l'excentricité. Elle pourrait être due au contrôle orbital de la perte de silice depuis l'Océan Austral avec la corrélation inverse entre l'insolation et l'allongement des saisons, et la réponse asymptotique croissante de ces paramètres ; ou encore les changements dans l'apport en nutriment par l'érosion.

Barker *et al.* (2006) et Rickaby *et al.* (2007) concluent aussi à une sorte d'état d'équilibre global entre la production de CO_2 induite par la production carbonatée des coccolithophores (*via* les coccolithes) et sa consommation lors de la production de matière organique induite par ces mêmes organismes ou des diatomées (*via* les cellules). Au cours du Pléistocène, les acmés de coccolithophores induits par l'excentricité n'ont pas d'influence apparente sur le CO_2 atmosphérique à cause de la transition vers de petits blooms de coccolithophores, et/ou au couplage avec l'augmentation de la productivité des diatomées, ou encore grâce à l'augmentation de l'effet « ballast » – induit par une augmentation du flux de calcite vers le fond océanique – de sorte que le climat du Pléistocène ne montre pas de variation significative lors des plus grandes amplitudes de forçage de l'excentricité. Les coccolithophores et leur influence sur le cycle du carbone ont pu jouer un rôle de filtre, de tampon, entre le forçage orbital et la résultante climatique.

⇒ Alkénones et nitrates

Des cycles d'excentricité sur les derniers 800 ka sont visibles sur les courbes de concentrations en alkénones C_{37} et du $\delta^{15}\text{N}^{20}$ des travaux de Lawrence *et al.* (2006), Eturneau *et al.* (2013) et de Robinson *et al.* (2014). Avec de plus fortes valeurs pendant les périodes de fortes variations d'insolation suivant visiblement des cycles de 400 ka, avec de faibles valeurs autour de 400 ka. Cependant, les auteurs ne consacrent pas de description et de discussion pour cette période de temps.

²⁰ Proxy de la consommation relative en nitrates bio-disponibles (dénitrification) et indicateur de productivité.

- ⇒ Changement de niche écologique ?
- ⇒ Changement de l'état de saturation en carbonate dans les océans ?

⇒ **Une autre idée à explorer serait l'influence gène-environnement/climat-phénotype.**

Est-ce que ces observations donnent une piste sur le moteur de la complexité, voir de l'évolution des Noelaerhabdaceae ?

- Les coccolithes sont très sensibles aux changements environnementaux (température, nutriments, etc.), et apparemment selon des cycles orbitaux à court et long terme (précession, excentricité et obliquité). Ces cycles influent sur le climat et la productivité, modifiant les taux d'érosion, les équilibres physico-chimiques (apports de nutriments, concentration en carbonates, etc.) par l'intensité et la fréquence des précipitations et des moussons selon les régions. Par conséquent, l'écologie des environnements est perturbée régulièrement, agissant sur les assemblages phytoplanctoniques.

- Est-il possible de « prédire » les futurs patterns à partir des cycles astronomiques ? Quel peut être l'impact du changement climatique sur les espèces ? La notion d'espèce doit-elle être revisitée ? Sachant que de nouveaux morphotypes adaptés à l'acidification des eaux apparaissent déjà pour *Emiliana huxleyi* (Beaufort *et al.*, 2011), qu'il existe des formes intermédiaires entre *Gephyrocapsa* et *Emiliana*, *Gephyrocapsa protohuxleyi* (McIntyre, 1970) et qu'à partir d'une seule souche d'*Helicosphaera carteri* on peut obtenir plusieurs souches différentes très proches d'espèces décrites auparavant, simplement en modifiant la concentration en phosphates (Supraha *et al.*, 2013). Une autre étude récente plus généraliste de Rossberg *et al.* (2013) doute même de l'existence d'espèces pour les organismes de moins d'1 mm environ. À partir de données génétiques et de modèles mathématiques, ils estiment qu'en dessous de ce seuil, la notion d'espèce disparaîtrait : le taux de mutation des génomes devient tellement important qu'il rend impossible de dessiner un arbre évolutif.

- Au regard de ces résultats est-il toujours justifiable de définir des espèces à partir de seuils de tailles ?

- Avons-nous plutôt affaire à des écophénotypes qu'à des spéciations rapides ?

L'existence de liens entre les gènes, la spéciation, l'environnement (facteurs extrinsèques) et l'écologie (facteurs intrasèques) est communément admise mais la compréhension de ces liens reste à approfondir (Palumbi, 1994; Mallet, 2001; Wu, 2001; Gavrillets, 2003; Rundle et Nosil, 2005; Schluter, 2009; Mallet, 2010; Weissing *et al.*, 2011; Banks *et al.*, 2013; Langerhans et Riesch, 2013; Luque *et al.*, 2013; Myers et Saupe, 2013). Peut-être que des études de ce genre (dans le registre fossile) permettraient de mieux comprendre la capacité des organismes marins à s'adapter à court et long terme aux changements climatiques, et aussi en quoi la plasticité phénotypique permet à certaines espèces de persister lors de ces changements (Banks *et al.*, 2013; Condamine *et al.*, 2013; Munday *et al.*, 2013).

⇒ **Une nouvelle méthode de datation ? La cyclo-morpho-chronostratigraphie.**

Les événements morphologiques remarquables pourraient servir de datum de référence (marqueurs temporels) une fois une calibration chronostratigraphique établie et en les trouvant sur d'autres enregistrements contemporains, à différentes latitudes. En corrélant les variations morphologiques avec des paramètres orbitaux cycliques bien connus (Laskar *et al.*, 2004; Laskar *et al.*, 2011; Hinnov, 2013) on obtiendrait une méthode de cyclo-morpho-chronostratigraphie qui permettrait d'atteindre des résolutions de 20 000 ans, voire de 5 000 ans, pour le Cénozoïque. Il serait aussi possible de travailler sur d'autres groupes pour l'ensemble du Mésozoïque. Cela permettrait de compléter et d'améliorer très

significativement des travaux comme la synthèse astrobiochronologique des nannofossiles calcaires de Raffi *et al.* (2006) qui regroupe les calibrations des datations des événements importants des derniers 25 millions d'années.

« *La variation est le phénomène primordial, l'essence est un concept illusoire. Un éventail de variations irréductibles, voilà la vraie définition de l'espèce.* »

Le sourire du flamant rose, Stephen Jay Gould

Références citées

- Amore, F.O., Flores, J.A., Voelker, A.H.L., Lebreiro, S.M., Palumbo, E., Sierro, F.J., 2012. A Middle Pleistocene Northeast Atlantic coccolithophore record: Paleoclimatology and paleoproductivity aspects. *Marine Micropaleontology* 90–91, 44-59.
- Andrulleit, H., 1997. Coccolithophore fluxes in the Norwegian-Greenland Sea: Seasonality and assemblage alterations. *Marine Micropaleontology* 31, 45-64.
- Backman, J., Shackleton, N.J., 1983. Quantitative biochronology of Pliocene and early Pleistocene calcareous nannofossils from the Atlantic, Indian and Pacific Oceans. *Marine Micropaleontology* 8, 141-170.
- Banks, S.C., Cary, G.J., Smith, A.L., Davies, I.D., Driscoll, D.A., Gill, A.M., Lindenmayer, D.B., Peakall, R., 2013. How does ecological disturbance influence genetic diversity? *Trends in Ecology & Evolution* 28, 670-679.
- Barker, S., Archer, D., Booth, L., Elderfield, H., Henderiks, J., Rickaby, R.E.M., 2006. Globally increased pelagic carbonate production during the Mid-Brunhes dissolution interval and the CO₂ paradox of MIS 11. *Quaternary Science Reviews* 25, 3278-3293.
- Beaufort, L., 1992. Size variation in late Miocene Reticulofenestra and implication for paleoclimatic interpretation. *Mem. Sci. Geol.* 43, 339-350.
- Beaufort, L., Chen, M.-T., Drozler, A.W., Party, S.S., 2005. MD148/PECTEN - IMAGES XIII Cruise, Les rapports de campagnes à la mer. Institut Polaire Français Paul Emile Victor, Brest, France.
- Beaufort, L., de Garidel-Thoron, T., Mix, A.C., Pisias, N.G., 2001. ENSO-like forcing on oceanic primary production during the Late Pleistocene. *Science* 293, 2440-2444.
- Beaufort, L., Lancelot, Y., Camberlin, P., Cayre, O., Vincent, E., Bassinot, F., Labeyrie, L., 1997. Insolation cycles as a major control equatorial Indian Ocean primary production. *Science* 278, 1451-1454.
- Beaufort, L., Probert, I., de Garidel-Thoron, T., Bendif, E.M., Ruiz-Pino, D., Metzl, N., Goyet, C., Buchet, N., Coupel, P., Grelaud, M., Rost, B., Rickaby, R.E.M., de Vargas, C., 2011. Sensitivity of coccolithophores to carbonate chemistry and ocean acidification. *Nature* 476, 80-83.
- Beaufort, L., van der Kaars, S., Bassinot, F.C., Moron, V., 2010. Past dynamics of the Australian monsoon: precession, phase and links to the global monsoon concept. *Climate of the Past* 6, 695-706.
- Berggren, W.A., Kent, D.V., Swisher, C.C., Aubry, M., 1995. A revised cenozoic geochronology and chronostratigraphy. *SEPM Special Publication* 54, 129-212.
- Blasco, D., Estrada, M., Jones, B., 1980. Relationship between the phytoplankton distribution and composition and the hydrography in the northwest African upwelling region near Cabo Corbeiro. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 27, 799-821.
- Boudreaux, J.E., Hay, W.W., 1967. Calcareous Nannoplankton Zonation of Cenozoic of Gulf Coast and Caribbean-Antillean Area, and Transoceanic Correlation, dans: Hay, W.W., Mohler, H.P., Roth, P.H., Schmidt, R.R., Boudreaux, J.E. (Eds.), *Gulf Coast Association of Geological Societies Transactions*, p. 428-480.
- Brunskill, G.J., 2004. New Guinea and its coastal seas, a testable model of wet tropical coastal processes: an introduction to Project TROPICS. *Cont. Shelf Res.* 24, 2273-2295.
- Burrage, D.M., 1993. Coral Sea Currents. *Corella* 15, 135-145.
- Cachao, M., Moita, M.T., 2000. *Coccolithus pelagicus*, a productivity proxy related to moderate fronts off Western Iberia. *Marine Micropaleontology* 39, 131-155.

- Cachão, M., Moita, M.T., 2000. *Coccolithus pelagicus*, a productivity proxy related to moderate fronts off Western Iberia. *Marine Micropaleontology* 39, 131-155.
- Calvès, G., Toucanne, S., Jouet, G., Charrier, S., Thereau, E., Etoubleau, J., Marsset, T., Droz, L., Bez, M., Abreu, V., Jorry, S., Mulder, T., Lericolais, G., 2013. Inferring denudation variations from the sediment record; an example of the last glacial cycle record of the Golo Basin and watershed, East Corsica, western Mediterranean sea. *Basin Research* 25, 197-218.
- Condamine, F.L., Rolland, J., Morlon, H., 2013. Macroevolutionary perspectives to environmental change. *Ecol. Lett.* 16, 72-85.
- Cortese, G., Dunbar, G.B., Carter, L., Scott, G., Bostock, H., Bowen, M., Crundwell, M., Hayward, B.W., Howard, W., Martínez, J.I., Moy, A., Neil, H., Sabaa, A., Sturm, A., 2013. Southwest Pacific Ocean response to a warmer world: Insights from Marine Isotope Stage 5e. *Paleoceanography*, n/a-n/a.
- de Kaenel, E., 2013. A revision of reticulofenestrads taxonomy and biostratigraphy, 14th International Nannoplankton Association Meeting. Harcourt Colour Print, UK, Reston, Virginia, USA, p. 45-46.
- de Kaenel, E., Siesser, W.G., Murat, A., 1999. 13. Pleistocene Calcareous Nannofossil Biostratigraphy And The Western Mediterranean Sapropels, Sites 974 To 977 And 979, dans: Zahn, R., Comas, M.C., Klaus, A. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, College Station, TX, p. 159-183.
- Etourneau, J., Robinson, R.S., Martinez, P., Schneider, R., 2013. Equatorial Pacific peak in biological production regulated by nutrient and upwelling during the late Pliocene/early Pleistocene cooling. *Biogeosciences* 10, 5663-5670.
- Flores, J.A., Sierro, F.J., Frances, G., Vazquez, A., Zamarreno, I., 1997. The last 100,000 years in the western Mediterranean: Sea surface water and frontal dynamics as revealed by coccolithophores. *Marine Micropaleontology* 29, 351-366.
- Gagan, M.K., Hendy, E.J., Haberle, S.G., Hantoro, W.S., 2004. Post-glacial evolution of the Indo-Pacific Warm Pool and El Niño-Southern oscillation. *Quaternary International* 118-119, 127-143.
- Gartner, S., 1977a. Calcareous Nannofossil Biostratigraphy And Revised Zonation Of Pleistocene. *Marine Micropaleontology* 2, 1-25.
- Gartner, S., 1977b. Nannofossils And Biostratigraphy - Overview. *Earth-Science Reviews* 13, 227-250.
- Gartner, S., Emiliani, C., 1976. Nannofossil Biostratigraphy And Climatic Stages Of Pleistocene Brunhes Epoch. *Aapg Bulletin-American Association of Petroleum Geologists* 60, 1562-1564.
- Gavrilets, S., 2003. Perspective: Models of speciation: What have we learned in 40 years? *Evolution* 57, 2197-2215.
- Hamilton, L.J., 2006. Structure of the Subtropical Front in the Tasman Sea. *Deep-Sea Res. Part I-Oceanogr. Res. Pap.* 53, 1989-2009.
- Hilgen, F.J., 1991. Astronomical Calibration Of Gauss To Matuyama Sapropels In The Mediterranean And Implication For The Geomagnetic Polarity Time Scale. *Earth and Planetary Science Letters* 104, 226-244.
- Hinnov, L.A., 2013. Cyclostratigraphy and its revolutionizing applications in the earth and planetary sciences. *Geol. Soc. Am. Bull.* 125, 1703-1734.
- Honjo, S., Okada, H., 1974. Community structure of coccolithophores in the photic layer of the mid-Pacific. *Micropalaeontology* 20, 209-230.
- Houghton, S.D., Guptha, M.V.S., 1991. Monsoonal and fertility controls on Recent marginal sea and continental shelf coccolith assemblages from the western Pacific and northern Indian oceans. *Mar. Geol.* 97, 251-259.
- Incarbona, A., Sprovieri, M., Di Stefano, A., Di Stefano, E., Manta, D.S., Pelosi, N., d'Alcalà, M.R., Sprovieri, R., Ziveri, P., 2013. Productivity modes in the Mediterranean Sea during Dansgaard-Oeschger (20,000-70,000 years ago) oscillations. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*.
- Jerkovic, L., 1970. nov. gen. type d'une nouvelle famille de Coccolithophoridés fossiles: Noëlaerhabdaceae du Miocène supérieur de Yougoslavie. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences, Paris série D* 270, 468-470.
- 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., Von der Borch, C.C., 1986. Southwest Pacific Cenozoic paleoceanography. *Init. Rep. Deep Sea Drilling Project* 90, 1493-1517.
- Langerhans, R.B., Riesch, R., 2013. Speciation by selection: A framework for understanding ecology's role in speciation. *Curr. Zool.* 59, 31-52.
- Laskar, J., Fienga, A., Gastineau, M., Manche, H., 2011. La2010: a new orbital solution for the long-term motion of the Earth. *Astronomy & Astrophysics* 532, 15.
- Laskar, J., Robutel, P., Joutel, F., Gastineau, M., Correia, A.C.M., Levrard, B., 2004. A long-term numerical solution for the insolation quantities of the Earth. *Astronomy & Astrophysics* 428, 261-285.

- Lawrence, K.T., Liu, Z., Herbert, T.D., 2006. Evolution of the Eastern Tropical Pacific Through Plio-Pleistocene Glaciation. *Science* 312, 79-83.
- Lisiecki, L.E., Raymo, M.E., 2005. A Pliocene-Pleistocene stack of 57 globally distributed benthic $\delta^{18}\text{O}$ records. *Paleoceanography* 20, PA1003.
- Locarnini, R.A., Mishonov, A.V., Antonov, J.I., Boyer, T.P., Garcia, H.E., Baranova, O.K., Zweng, M.M., Johnson, D.R., 2010. *World Ocean Atlas 2009, Volume 1: Temperature*. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 184 p.
- Lourens, L.J., Antonarakou, A., Hilgen, F.J., VanHoof, A.A.M., VergnaudGrazzini, C., Zachariasse, W.J., 1996. Evaluation of the Plio-Pleistocene astronomical timescale. *Paleoceanography* 11, 391-413.
- Luque, G.M., Hochberg, M.E., Holyoak, M., Hossaert, M., Gaill, F., Courchamp, F., 2013. Ecological effects of environmental change. *Ecol. Lett.* 16, 1-3.
- Mallet, J., 2001. The speciation revolution - Commentary. *J. Evol. Biol.* 14, 887-888.
- Mallet, J., 2010. Why was Darwin's view of species rejected by twentieth century biologists? *Biol. Philos.* 25, 497-527.
- Martinez, J.I., 1994. Late Pleistocene paleoceanography of the Tasman Sea - implications for the dynamics of the warm pool in the Western Pacific. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 112, 19-62.
- Martini, E., 1971. Standard Tertiary and Quaternary calcareous nannoplankton zonation, dans: Farinacci, A. (Ed.), *Proceedings of the Second Planktonic Conference Roma 1970*, Edizioni Tecnoscienza ed, Rome, p. 739-785.
- Matsuoka, H., Fujioka, K., 1992. 17. Morphometric changes of the genus *Gephyrocapsa* at site 790, Subtropical Pacific Ocean, dans: Taylor, B., Fujioka, K., Janecek, T.R., Langmuir, C. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, Texas A&M University, p. 263-269.
- McIntyre, A., 1970. *Gephyrocapsa protohuxleyi* sp. n. a possible phyletic link and index fossil for the Pleistocene. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* 17, 187-190.
- McIntyre, A., Allan, W.H., Roche, M.B., 1970. Modern Pacific Coccolithophoride: a paleontological thermometer. *Transactions of the New York Academy of Sciences* 32, 720-731.
- McIntyre, A., Bé, A.W.H., 1967. Modern coccolithophoridae of the Atlantic Ocean - I. Placoliths and Cyrtoliths. *Deep Sea Research*, 561-597.
- Ménabréaz, L., Thouveny, N., Bourlès, D.L., Vidal, L., 2014. The geomagnetic dipole moment variation between 250 and 800 ka BP reconstructed from the authigenic $^{10}\text{Be}/^{9}\text{Be}$ signature in West Equatorial Pacific sediments. *Earth and Planetary Science Letters* 385, 190-205.
- Michel, E., Turon, J.L., Beaufort, L., 1997. Les rapport de campagne à la mer à bord du Marion Dufresne - MD106 (1997), IPHIS I & II, Les rapports de campagnes à la mer. Institut Français pour la Recherche et la technologie Polaires, Brest, France.
- Millot, C., 1987. Circulation In The Western Mediterranean Sea. *Oceanologica Acta* 10, 143-149.
- Millot, C., 1999. Circulation in the Western Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems* 20, 423-442.
- Molfinio, B., McIntyre, A., 1990. Precessional forcing of nutricline dynamics in the equatorial Atlantic. *Science* 249, 766-769.
- Munday, P.L., Warner, R.R., Monroe, K., Pandolfi, J.M., Marshall, D.J., 2013. Predicting evolutionary responses to climate change in the sea. *Ecol. Lett.* 16, 1488-1500.
- Myers, C.E., Saupe, E.E., 2013. A Macroevolutionary Expansion Of The Modern Synthesis And The Importance Of Extrinsic Abiotic Factors. *Palaeontology* 56, 1179-1198.
- Narciso, A., Cachao, M., de Abreu, L., 2006. *Coccolithus pelagicus* subsp *pelagicus* versus *Coccolithus pelagicus* subsp *braarudii* (Coccolithophore, Haptophyta): A proxy for surface subarctic Atlantic waters off Iberia during the last 200 kyr. *Marine Micropaleontology* 59, 15-34.
- Nürnberg, D., Groeneveld, J., 2006. Pleistocene variability of the Subtropical Convergence at East Tasman Plateau: Evidence from planktonic foraminiferal Mg/Ca (ODP Site 1172A). *Geochem. Geophys. Geosyst.* 7.
- Okada, H., Honjo, S., 1973. The distribution of oceanic coccolithophorids in the Pacific. *Deep Sea Research*, 355-374.
- Paillard, D., Labeyrie, L., Yiou, P., 1996. Macintosh Program performs time-series analysis. *Eos, Transactions American Geophysical Union* 77, 379-379.
- Palumbi, S.R., 1994. Genetic-Divergence, Reproductive Isolation, And Marine Speciation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 25, 547-572.
- Parente, A., Cachao, M., Baumann, K.H., de Abreu, L., Ferreira, J., 2004. Morphometry of *Coccolithus pelagicus* s.l. (Coccolithophore, Haptophyta) from offshore Portugal, during the last 200 kyr. *Micropaleontology* 50, 107-120.
- Pinardi, N., Masetti, E., 2000. Variability of the large scale general circulation of the Mediterranean Sea from observations and modelling: a review. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 158, 153-173.

- Plancq, J., Mattioli, E., Henderiks, J., Grossi, V., 2013. Global shifts in Noelaerhabdaceae assemblages during the late Oligocene-early Miocene. *Marine Micropaleontology* 103, 40-50.
- Pujos, A., Giraudeau, J., 1993. Distribution Of Noelaerhabdaceae (Calcareous Nannofossils) In The Upper And Middle Quaternary Of The Atlantic And Pacific Oceans. *Oceanologica Acta* 16, 349-362.
- Pujos-Lamy, A., 1976. *Emiliania* et *Gephyrocapsa* (nannoplancton calcaire) : biométrie et intérêt biostratigraphique dans le Pléistocène supérieur marin des Açores. *Revta esp. Micropaleont.* 9, 69-84.
- Pujos-Lamy, A., 1977. Essai d'établissement d'une biostratigraphie du nannoplancton calcaire dans le Pleistocène de l'Atlantique Nord-oriental. *Boreas* 6, 323-331.
- Raffi, I., Backman, J., Fornaciari, E., Palike, H., Rio, D., Lourens, L., Hilgen, F., 2006. A review of calcareous nannofossil astrobiochronology encompassing the past 25 million years. *Quaternary Science Reviews* 25, 3113-3137.
- Regoli, F., de Garidel-Thoron, T., Tachikawa, K., Jian, Z.M., Ye, L., Droxler, A.W., Lenoir, G., Crucifix, M., Barbarin, N., Beaufort, L., Submitted. Progressive thermocline shoaling in the Equatorial Pacific during the last eight glacial periods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Rickaby, R.E.M., Bard, E., Sonzogni, C., Rostek, F., Beaufort, L., Barker, S., Rees, G., Schrag, D.P., 2007. Coccolith chemistry reveals secular variations in the global ocean carbon cycle? *Earth and Planetary Science Letters* 253, 83-95.
- Rio, D., Raffi, I., Villa, G., 1990. 32. Pliocene-Pleistocene Calcareous Nannofossil Distribution Patterns In The Western Mediterranean, dans: Kastens, K.A., Mascle, J. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*, p. 513-533.
- Robinson, A.R., Malanotte-Rizzoli, P., Hecht, A., Michelato, A., Roether, W., Theocharis, A., Ünlüata, Ü., Pinardi, N., Artegiani, A., Bergamasco, A., Bishop, J., Brenner, S., Christianidis, S., Gacic, M., Georgopoulos, D., Golnaraghi, M., Hausmann, M., Junghaus, H.G., Lascaratos, A., Latif, M.A., Leslie, W.G., Lozano, C.J., Oguz, T., Özsoy, E., Papageorgiou, E., Paschini, E., Rozentroub, Z., Sansone, E., Scarazzato, P., Schlitzer, R., Spezie, G.C., Tziperman, E., Zodiatis, G., Athanassiadou, L., Gerges, M., Osman, M., 1992. General circulation of the Eastern Mediterranean. *Earth-Science Reviews* 32, 285-309.
- Robinson, R.S., Etourneau, J., Martinez, P.M., Schneider, R., 2014. Expansion of pelagic denitrification during early Pleistocene cooling. *Earth and Planetary Science Letters* 389, 52-61.
- Rohling, E.J., 1994. Review And New Aspects Concerning The Formation Of Eastern Mediterranean Sapropels. *Mar. Geol.* 122, 1-28.
- Rosberg, A.G., Rogers, T., McKane, A.J., 2013. Are there species smaller than 1 mm? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280.
- Rosignolstrick, M., 1985. Mediterranean Quaternary Sapropels, An Immediate Response Of The African Monsoon To Variation Of Insolation. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 49, 237-263.
- Rotschi, H., Lemasson, L., 1967. Oceanography of the Coral and Tasman Seas. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 5, 49-97.
- Rundle, H.D., Nosil, P., 2005. Ecological speciation. *Ecol. Lett.* 8, 336-352.
- Saavedra-Pellitero, M., Flores, J.A., Baumann, K.H., Sierro, F.J., 2010. Coccolith distribution patterns in surface sediments of Equatorial and Southeastern Pacific Ocean. *Geobios* 43, 131-149.
- Sbaffi, L., Wezel, F.C., Kallel, N., Paterne, M., Cacho, I., Ziveri, P., Shackleton, N., 2001. Response of the pelagic environment to palaeoclimatic changes in the central Mediterranean Sea during the Late Quaternary. *Mar. Geol.* 178, 39-62.
- Schluter, D., 2009. Evidence for Ecological Speciation and Its Alternative. *Science* 323, 737-741.
- Shackleton, N.J., Opdyke, N.D., 1976. Oxygen-Isotope and Paleomagnetic Stratigraphy of Pacific Core V28-239 Late Pliocene to Latest Pleistocene. *Geological Society of America Memoirs* 145, 449-464.
- Somme, T.O., Piper, D.J.W., Deptuck, M.E., Helland-Hansen, W., 2011. Linking Onshore-Offshore Sediment Dispersal In The Golo Source-To-Sink System (Corsica, France) During The Late Quaternary. *Journal of Sedimentary Research* 81, 118-137.
- Sucheras-Marx, B., Mattioli, E., Pittet, B., Escarguel, G., Suan, G., 2010. Astronomically-paced coccolith size variations during the early Pliensbachian (Early Jurassic). *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 295, 281-292.
- Supraha, L., Gerecht, A., Edvardsen, B., Henderiks, J., 2013. Is phosphate availability significant to the morphological diversity within *Helicosphaera carteri*, 14th International Nannoplankton Association Meeting. *Harcourt Colour Print, UK, Reston, Virginia, USA*, p. 117.
- Tachikawa, K., Cartapanis, O., Vidal, L., Beaufort, L., Barlyaeva, T., Bard, E., 2011. The precession phase of hydrological variability in the Western Pacific Warm Pool during the past 400 ka. *Quaternary Science Reviews* 30, 3716-3727.
- Takayama, T., 1993. Notes on Neogene calcareous nannofossil biostratigraphy of the Ontong Java Plateau

- and size variations of *Reticulofenestra* coccoliths. Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results 130, 179-229.
- Thierstein, H.R., Geitzenauer, K.R., Molino, B., 1977. Global Synchronicity Of Late Quaternary Coccolith Datum Levels - Validation By Oxygen Isotopes. *Geology* 5, 400-404.
- Toucanne, S., Jouet, G., Ducassou, E., Bassetti, M.-A., Dennielou, B., Angue Minto'o, C.M., Lahmi, M., Touyet, N., Charlier, K., Lericolais, G., Mulder, T., 2012. A 130,000-year record of Levantine Intermediate Water flow variability in the Corsica Trough, western Mediterranean Sea. *Quaternary Science Reviews* 33, 55-73.
- Tudhope, A.W., Chilcott, C.P., McCulloch, M.T., Cook, E.R., Chappell, J., Ellam, R.M., Lea, D.W., Lough, J.M., Shimmield, G.B., 2001. Variability in the El Niño - Southern oscillation through a glacial-interglacial cycle. *Science* 291, 1511-1517.
- Weissing, F.J., Edelaar, P., van Doorn, G.S., 2011. Adaptive speciation theory: a conceptual review. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 461-480.
- Winter, A., Jordan, R.W., Roth, P.H., 1994. Biogeography of living coccolithophores in ocean waters, dans: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 161-177.
- Winter, A., Rost, B., Hilbrecht, H., Elbrächter, M., 2002. Vertical and horizontal distribution of coccolithophores in the Caribbean Sea. *Geo-Marine Letters* 22, 150-161.
- Wu, C.I., 2001. The genic view of the process of speciation. *J. Evol. Biol.* 14, 851-865.
- Young, J., Bown, P.R., 1997. Cenozoic calcareous nannoplankton classification. *Journal of Nannoplankton Research* 19, 36-47.
- Young, J.R., 1998. Neogene, dans: Bown, P. (Ed.), *Calcareous Nannofossil Biostratigraphy*. Springer Netherlands, p. 225-265.

7. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les nannofossiles calcaires sont les restes d'organismes de forte sensibilité environnementale dont l'abondance dans les sédiments marins (Lohmann, 1909; Braga and Riding, 2005; Aubry, 2009) et la diversité les rendent indispensables en paléocéanographie et en biostratigraphie (e.g. McIntyre and Bé (1967); Martini (1971); Okada and Honjo (1973); Winter et al. (1994); Berggren et al. (1995); Bown (1998); Beaufort et al. (2001); Bollmann et al. (2002); Bown et al. (2004); Braga and Riding (2005); Raffi et al. (2006)). Les méthodes de préparation et d'observation pour leur étude demandent beaucoup de temps (Hay, 1977; Taylor and Hamilton, 1982; Perch-Nielsen, 1985; Bown, 1998); que ce soit pour le comptage d'espèces ou simplement pour le repérage d'espèces marqueurs parfois rares dans certains sédiments. Depuis des années, les techniques et technologies pour automatiser la reconnaissance des microfossiles se sont améliorées et multipliées pour les diatomées (Fischer and Bunke, 2001; du Buf and Bayer, 2002; Forero et al., 2002; Forero et al., 2003; Jalba and Roerdink, 2003; Jalba et al., 2004; Jalba et al., 2005; Hicks et al., 2006; Alvarez-Borrego and Solorza, 2010), les foraminifères (Yu et al., 1996; Ranaweera et al., 2009) ou encore les pollens (France et al., 2000; Moreno et al., 2001; Boucher et al., 2002; France et al., 2005; Rodriguez-Damian et al., 2006; Delaunay et al., 2007; Ranzato et al., 2007; Muradil et al., 2010; Holt et al., 2011; Kaya et al., 2013). La reconnaissance automatique des nannofossiles calcaires est cependant moins répandue (Dollfus and Beaufort, 1999; Beaufort and Dollfus, 2004; Bollmann et al., 2004). Souvent, ces systèmes sont limités par l'insuffisance de puissance de calcul pour traiter la grande quantité de données ou le traitement des images même à faible résolution. La qualité d'un système peut aussi pâtir de la volonté de retranscrire exactement la taxonomie car certains critères morphologiques sont complexes à extraire mathématiquement. Il peut même arriver que certaines clefs de détermination soient difficiles à voir, à cause du manque d'expérience de l'observateur ou de qualité de préservation. La reconnaissance automatique des nannofossiles est donc un but ambitieux pour les spécialistes qui veulent acquérir rapidement des données tout en pouvant contrôler les résultats. Bien que la perspective d'un système remplaçant totalement l'œil, l'intuition et le jugement critique humain soit encore lointaine et probablement non réaliste, le développement du nouveau SYRACO est arrivé à son terme et il est maintenant opérationnel pour des travaux en routine. SYRACO reste avant tout un outil pour assister experts et techniciens, mais ne s'y substitue pas et ne vise donc pas à pousser chercheurs et biostratigraphes à une retraite anticipée !

La tâche fut compliquée pour obtenir un système qui convienne aussi bien aux scientifiques qu'aux industriels. En effet, il a fallu trouver des compromis entre une classification très sélective et tout à la fois suffisamment souple pour plaire aux exigences des spécialistes. Le système comporte un nouveau microscope automatisé et une caméra haute résolution gérés par ordinateur. Après l'acquisition des images, la première étape cruciale de la reconnaissance est la segmentation qui localise tous les objets présents sur les champs de vue. C'est une phase complexe où trouver la valeur de fond optimale est primordial. Parallèlement, une large banque d'images de référence a été constituée. Elle couvre toutes les formes et tailles de nannofossiles calcaires parmi les plus abondants de l'Éocène Supérieur à nos jours. Elle compose ainsi le cœur même de la classification de SYRACO. Le système intègre des méthodes de classification variées : des méthodes statistiques utilisant les mesures morphométriques, et des réseaux de neurones artificiels qui classifient directement les images. Cet algorithme unique de réseaux de neurones est un des héritages majeurs des versions antérieures de SYRACO (Dollfus and Beaufort, 1996; Dollfus, 1997; Dollfus and Beaufort, 1999; Beaufort and Dollfus, 2004). Le choix des classifications statistiques s'est porté sur des méthodes répandues, à la fois faciles à utiliser et rapides à mettre en exécution. L'optimisation des classifieurs a nécessité de nombreux tests de combinaisons d'espèces et de méthodes. Les algorithmes les plus efficaces sont les *support vector machines*, *l'adaboost*, le *random forest*, et les analyses discriminantes linéaires. Il s'est avéré que la classification était meilleure quand les morphotypes proches étaient regroupés en « morphogroupes ». Cette astuce a aussi l'avantage de ne pas interférer avec les problèmes taxonomiques à l'échelle de l'espèce. Les meilleures combinaisons qui ont été sélectionnées permettent un tri suffisamment

efficace pour récupérer environ 75 % des nannofossiles et pour supprimer plus de 90 % des non-nannofossiles. Le système trie ensuite les images en 39 morphogroupes qui peuvent être visualisés avec des mosaïques de vignettes. Les coordonnées des coccolithes sur la lame sont sauvegardées ce qui permet aussi une vérification directe et une détermination plus fine. La version actuelle de SYRACO peut fonctionner entièrement sur un serveur de calcul, permettant de traiter une carotte de 500 échantillons en une semaine environ, à raison de 80 champs de vue par échantillon.

En pratique, le système s'est montré capable de faire ressortir les changements écologiques majeurs sur des carottes du Pléistocène. Grâce à l'estimation automatique de l'abondance des morphogroupes croisée à une vérification des résultats sur mosaïques, il est possible de mettre en évidence des événements importants tels que la dernière occurrence de *Pseudoemiliana lacunosa* (Gartner, 1977; Thierstein et al., 1977; Berggren et al., 1995) et de *Discoaster* (Backman and Shackleton, 1983; Takayama, 1993), la fin de l'acmé de *Gephyrocapsa caribbeanica* (Boudreaux and Hay, 1967; Thierstein et al., 1977) et le début de l'acmé d'*Emiliana huxleyi* (Gartner and Emiliani, 1976). Ces événements remarquables constituent des limites de biozones indispensables à la biostratigraphie. SYRACO représente ainsi un gain de temps et d'information non-négligeable pour les biostratigraphes, qui devront cependant continuer à apporter leur regard et leur expérience sur l'interprétation des résultats bruts.

SYRACO apporte aussi une énorme quantité de données morphométriques générées lors de la segmentation. Les classifications permettent alors d'extraire les données souhaitées pour les différents morphogroupes. Sur une carotte cela peut représenter plusieurs centaines de milliers d'individus mesurés et classifiés. Une quantité impossible à obtenir par d'autres moyens. Cela permet notamment d'étudier de manière robuste l'évolution de la taille ou de l'épaisseur des coccolithes au cours du temps. Le système aide alors à réaliser des études paléocéanographiques plus larges et aussi à faire rapidement des estimations de paléoproduktivité. Par exemple, nous avons pu montrer à l'échelle de la famille des Noelaerhabdaceae (Jerkovic, 1970; Young and Bown, 1997), environ 350 000 individus, que les événements écologiques utilisés en biostratigraphie (acmé) sont observables par le biais de la distribution de la taille ou de la masse car ils peuvent être considérés comme des événements morphologiques et paléocéanographiques.

Nous avons mis aussi en évidence une relation entre la taille, la masse et l'épaisseur moyenne des coccolithes avec les paramètres orbitaux, tels que l'excentricité de l'orbite de la Terre autour du Soleil, l'obliquité de l'axe de rotation de la Terre et la précession des équinoxes. Ces résultats montrent que l'excentricité et la précession modulent la variance de la distribution morphologique (taille, masse et épaisseur moyenne). Ces influences se répercutent par des périodes de distributions bimodales de la taille lors d'une forte excentricité. Bien que ces résultats restent à approfondir, cette relation pourrait s'expliquer par des changements périodiques des assemblages ou de la morphologie (= éco-phénotype) en fonction des affinités de certaines espèces (contraintes écologiques) et/ou par une influence de la température et de l'alcalinité sur la production des coccolithes (contraintes physico-chimiques) et/ou par la durée des saisons et des journées (Rickaby et al., 2007).

D'autre part, nous avons aussi montré que les comptages automatiques de certaines espèces sensibles à la température (e.g. *Coccolithus pelagicus* (McIntyre and Bé, 1967; McIntyre et al., 1970; Blasco et al., 1980; Winter et al., 1994; Andruleit, 1997; Cachao and Moita, 2000; Cachão and Moita, 2000; Parente et al., 2004; Narciso et al., 2006; Saavedra-Pellitero et al., 2010)) ou à la profondeur de la nutricline (e.g. *Florisphaera profunda* (Molfinio and McIntyre, 1990)) permettent d'étudier rapidement l'influence de la température ou du volume de glace et de l'insolation journalière (précession des équinoxes); ou encore de reconstituer de manière fiable l'évolution de la productivité primaire en mettant en évidence l'influence des cycles de précession, de l'obliquité, et de l'excentricité (Beaufort et al., 1997; Beaufort et al., 2001).

Les résultats de SYRACO serviront peut-être, à terme, à affiner les modèles d'âges à partir de changements morphométriques, ou d'abondances, en les corrélant avec des paramètres orbitaux cycliques bien connus (Laskar et al., 2004). Il sera aussi possible de mieux analyser le comportement des nannofossiles calcaires par rapport aux changements climatiques et environnementaux. SYRACO permettra d'aller encore plus loin et d'ouvrir de nouvelles perspectives dans leur compréhension et leur utilisation. Par cette étude,

SYRACO dévoile un nouveau potentiel pour la stratigraphie grâce aux coccolithes : la cyclo-morpho-chronostratigraphie, qui permettrait d'atteindre des résolutions de 20 000 ans, voire de 5 000 ans, et de mettre en évidence des hiatus sédimentaires.

Dans un futur proche, il est envisageable d'étendre la reconnaissance des nannofossiles calcaires à des espèces plus anciennes. Cela a déjà été réalisé avec succès de manière exploratoire sur des carottes du Jurassique Inférieur avec SYRACO (Sucheras-Marx et al., *accepted*). Il faudra, pour cela, établir une nouvelle base d'images de référence. Le système pourrait aussi être amélioré d'un point de vue technique, notamment par un autofocus rapide, et d'un point de vue logiciel, en cherchant de nouvelles méthodes de classification, de segmentation ou encore de nouveaux paramètres descripteurs.

A plus longue échéance, il faudrait établir un enregistrement plus complet des tailles des coccolithes sur le Cénozoïque, voir même pour le Mésozoïque, qui pourrait servir de référence pour la méthode de cyclo-morpho-chronostratigraphie. Il est tout aussi réaliste d'appliquer les techniques de SYRACO au développement de systèmes de reconnaissance pour d'autres microfossiles, comme les diatomées, les phytolithes, les pollens et les foraminifères. Ces organismes ne sont pas biréfringents et ne s'observent pas aussi facilement que les nannofossiles calcaires. Il faudra suivre les mêmes étapes de conception de SYRACO, en commençant par une normalisation de l'acquisition et disposer d'une base d'images de référence exhaustive. Étant donné que les techniques usuelles d'observation peuvent être différentes de celles des nannofossiles calcaires, il faudra certainement faire face à de nouvelles contraintes inhérentes aux méthodes de détermination et de préparation ; et par conséquent il faudra accepter de nouveaux compromis.

« Rien n'est impossible à celui qui a la volonté d'essayer. »
Alexandre le Grand

Références citées

- Alvarez-Borrego, J., Solorza, S., 2010. Comparative analysis of several digital methods to recognize diatoms. *Hidrobiologica* 20, 158-170.
- Andrulleit, H., 1997. Coccolithophore fluxes in the Norwegian-Greenland Sea: Seasonality and assemblage alterations. *Marine Micropaleontology* 31, 45-64.
- Aubry, M.P., 2009. A sea of Lilliputians. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 284, 88-113.
- Backman, J., Shackleton, N.J., 1983. Quantitative biochronology of Pliocene and early Pleistocene calcareous nannofossils from the Atlantic, Indian and Pacific Oceans. *Marine Micropaleontology* 8, 141-170.
- Beaufort, L., de Garidel-Thoron, T., Mix, A.C., Pisias, N.G., 2001. ENSO-like forcing on oceanic primary production during the Late Pleistocene. *Science* 293, 2440-2444.
- Beaufort, L., Dollfus, D., 2004. Automatic recognition of coccoliths by dynamical neural networks. *Marine Micropaleontology* 51, 57-73.
- Beaufort, L., Lancelot, Y., Camberlin, P., Cayre, O., Vincent, E., Bassinot, F., Labeyrie, L., 1997. Insolation cycles as a major control equatorial Indian Ocean primary production. *Science* 278, 1451-1454.
- Berggren, W.A., Kent, D.V., Swisher, C.C., Aubry, M., 1995. A revised cenozoic geochronology and chronostratigraphy. *SEPM Special Publication* 54, 129-212.
- Blasco, D., Estrada, M., Jones, B., 1980. Relationship between the phytoplankton distribution and composition and the hydrography in the northwest African upwelling region near Cabo Corbeiro. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 27, 799-821.
- Bollmann, J., Henderiks, J., Brabec, B., 2002. Global calibration of *Gephyrocapsa* coccolith abundance in Holocene sediments for paleotemperature assessment. *Paleoceanography* 17.

- Bollmann, J., Quinn, P.S., Vela, M., Brabec, B., Brechner, S., Cortes, M.Y., Hilbrecht, H., Schmidt, D.N., Schiebel, R., Thierstein, H.R., 2004. Automated particle analysis: Calcareous microfossils. *Image Analysis, Sediments and Paleoenvironments* 7, 229-252.
- Boucher, A., Hidalgo, P., Thonnat, M., Belmonte, J., Galan, C., Bonton, P., Tomczak, R., 2002. Development of a semi-automatic system for pollen recognition. *Aerobiologia* 18, 195-201.
- Boudreaux, J.E., Hay, W.W., 1967. Calcareous Nannoplankton Zonation of Cenozoic of Gulf Coast and Caribbean-Antillean Area, and Transoceanic Correlation, in: Hay, W.W., Mohler, H.P., Roth, P.H., Schmidt, R.R., Boudreaux, J.E. (Eds.), *Gulf Coast Association of Geological Societies Transactions*, pp. 428-480.
- Bown, P.R., 1998. *Calcareous Nannofossil Biostratigraphy*. Chapman and Hall, Dordrecht.
- Bown, P.R., Lees, J.A., Young, J.R., 2004. Calcareous nannoplankton evolution and diversity through time, in: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, pp. 481-508.
- Braga, J.C., Riding, R., 2005. Calcareous Algae, in: Selley, R.C., Cocks, L.R.M., Plimer, I.R. (Eds.), *Encyclopedia of Geology*. Elsevier, pp. 428-436.
- Cachao, M., Moita, M.T., 2000. *Coccolithus pelagicus*, a productivity proxy related to moderate fronts off Western Iberia. *Marine Micropaleontology* 39, 131-155.
- Cachão, M., Moita, M.T., 2000. *Coccolithus pelagicus*, a productivity proxy related to moderate fronts off Western Iberia. *Marine Micropaleontology* 39, 131-155.
- Delaunay, J.J., Sasajima, H., Okamoto, Y., Yokota, M., 2007. Side-by-side comparison counters for use in pollen of automatic pollen information systems. *Annals of Allergy Asthma & Immunology* 98, 553-558.
- Dollfus, D., 1997. Reconnaissance de formes naturelles par des réseaux de neurones artificiels: application au nannoplancton calcaire. Ph.D. Thesis, Université d'Aix-Marseille III, Marseille, France, p. 162
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1996. Automatic pattern recognition of calcareous nanoplankton, *Proceedings of the Conference on Neural Networks and their Applications (NEURAP 96)*, Marseille, France, pp. 306-311.
- Dollfus, D., Beaufort, L., 1999. Fat neural network for recognition of position-normalised objects. *Neural Networks* 12, 553-560.
- du Buf, H., Bayer, M.M., 2002. Automatic diatom identification, *Series in machine perception and artificial intelligence*. World Scientific, p. 328.
- Fischer, S., Bunke, H., 2001. Automatic identification of diatoms using decision forests, in: Perner, P. (Ed.), *Machine Learning and Data Mining in Pattern Recognition*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, pp. 173-183.
- Forero, M.G., Alvarado, J.E., Tamayo, A.L., Perez, G.C., 2002. Automatic diatom recognition on digital images, in: Tescher, A.G. (Ed.), *Applications of Digital Image Processing Xxv*. Spie-Int Soc Optical Engineering, Bellingham, pp. 133-142.
- Forero, M.G., Sroubek, F., Flusser, J., Redondo, R., Cristobal, G., 2003. Automatic screening and multifocus fusion methods for diatom identification, in: Bosacchi, B., Fogel, D.B., Bezdek, J.C. (Eds.), *Applications and Science of Neural Networks, Fuzzy Systems, and Evolutionary Computation Vi*. Spie-Int Soc Optical Engineering, Bellingham, pp. 197-206.
- France, I., Duller, A.W.G., Duller, G.A.T., 2005. Software Aspects of Automated Recognition of Particles: The Example of Pollen, in: Francus, P. (Ed.), *Image Analysis, Sediments and Paleoenvironments*. Springer Netherlands, pp. 253-272.
- France, I., Duller, A.W.G., Duller, G.A.T., Lamb, H.F., 2000. A new approach to automated pollen analysis. *Quaternary Science Reviews* 19, 537-546.
- Gartner, S., 1977. Calcareous Nannofossil Biostratigraphy And Revised Zonation Of Pleistocene. *Marine Micropaleontology* 2, 1-25.
- Gartner, S., Emiliani, C., 1976. Nannofossil Biostratigraphy And Climatic Stages Of Pleistocene Brunhes Epoch. *Aapg Bulletin-American Association of Petroleum Geologists* 60, 1562-1564.
- Hay, W.W., 1977. Calcareous nannofossils, in: Ramsay, A.T.S. (Ed.), *Oceanic Micropalaeontology 2*. Academy Press, London, pp. 1055-1200.
- Hicks, Y.A., Marshall, D., Rosin, P.L., Martin, R.R., Mann, D.G., Droop, S.J.M., 2006. A model of diatom shape and texture for analysis, synthesis and identification. *Machine Vision and Applications* 17, 297-307.
- Holt, K., Allen, G., Hodgson, R., Marsland, S., Flenley, J., 2011. Progress towards an automated trainable pollen location and classifier system for use in the palynology laboratory. *Review of Palaeobotany and Palynology* 167, 175-183.
- Jalba, A.C., Roerdink, J., 2003. Automatic segmentation of diatom images, in: Petkov, N., Westenberg, M.A. (Eds.), *Computer Analysis of Images and Patterns, Proceedings*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, pp. 329-336.
- Jalba, A.C., Wilkinson, M.H., Roerdink, J., 2004. Automatic segmentation of diatom images for classification. *Microscopy Research and Technique* 65, 72-85.

- Jalba, A.C., Wilkinson, M.H.F., Roerdink, J., Bayer, M.M., Juggins, S., 2005. Automatic diatom identification using contour analysis by morphological curvature scale spaces. *Machine Vision and Applications* 16, 217-228.
- Jerkovic, L., 1970. nov. gen. type d'une nouvelle famille de Coccolithophoridés fossiles: Noëlaerhabdaceae du Miocène supérieur de Yougoslavie. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences, Paris série D* 270, 468-470.
- Kaya, Y., Erez, M.E., Karabacak, O., Kayci, L., Fidan, M., 2013. An automatic identification method for the comparison of plant and honey pollen based on GLCM texture features and artificial neural network. *Grana* 52, 71-77.
- Laskar, J., Robutel, P., Joutel, F., Gastineau, M., Correia, A.C.M., Levrard, B., 2004. A long-term numerical solution for the insolation quantities of the Earth. *Astronomy & Astrophysics* 428, 261-285.
- Lohmann, H., 1909. Die Gehäuse und Gallertblase n der Appendicularien und ihre Bedeutung für die Erforschung des Lebens im Meer. *Verhandlungen Deutsche Zoologische Gesellschaft*. 19, 200-239.
- Martini, E., 1971. Standard Tertiary and Quaternary calcareous nannoplankton zonation, in: Farinacci, A. (Ed.), *Proceedings of the Second Planktonic Conference Roma 1970*, Edizioni Tecnoscienza ed, Rome, pp. 739-785.
- McIntyre, A., Allan, W.H., Roche, M.B., 1970. Modern Pacific Coccolithophoride: a paleontological thermometer. *Transactions of the New York Academy of Sciences* 32, 720-731.
- McIntyre, A., Bé, A.W.H., 1967. Modern coccolithophoridae of the Atlantic Ocean - I. Placoliths and Cyrtoliths. *Deep Sea Research*, 561-597.
- Molfino, B., McIntyre, A., 1990. Precessional forcing of nutricline dynamics in the equatorial Atlantic. *Science* 249, 766-769.
- Moreno, J., Silva, A.M., Masero, V., Leon-Rojas, J.M., Andres, F., 2001. Autofocus algorithm to complete the automation of a pollen grains classifier system. C S R E a Press, Athens.
- Muradil, M., Okamoto, Y., Yonekura, S., Chazono, H., Hisamitsu, M., Horiguchi, S., Hanazawa, T., Takahashi, Y., Yokota, K., Okumura, S., 2010. Reevaluation of pollen quantitation by an automatic pollen counter. *Allergy and Asthma Proceedings* 31, 422-427.
- Narciso, A., Cachao, M., de Abreu, L., 2006. *Coccolithus pelagicus* subsp *pelagicus* versus *Coccolithus pelagicus* subsp *braarudii* (Coccolithophore, Haptophyta): A proxy for surface subarctic Atlantic waters off Iberia during the last 200 kyr. *Marine Micropaleontology* 59, 15-34.
- Okada, H., Honjo, S., 1973. The distribution of oceanic coccolithophorids in the Pacific. *Deep Sea Research*, 355-374.
- Parente, A., Cachao, M., Baumann, K.H., de Abreu, L., Ferreira, J., 2004. Morphometry of *Coccolithus pelagicus* s.l. (Coccolithophore, Haptophyta) from offshore Portugal, during the last 200 kyr. *Micropaleontology* 50, 107-120.
- Perch-Nielsen, K., 1985. Cenozoic calcareous nannofossils, in: Bolli, H.M., Saunders, J.B., Perch-Nielsen, K. (Eds.), *Plankton Stratigraphy*. Cambridge University press, Cambridge, pp. 427-554.
- Raffi, I., Backman, J., Fornaciari, E., Palike, H., Rio, D., Lourens, L., Hilgen, F., 2006. A review of calcareous nannofossil astrobiochronology encompassing the past 25 million years. *Quaternary Science Reviews* 25, 3113-3137.
- Ranaweera, K., Harrison, A.P., Bains, S., Joseph, D., 2009. Feasibility of computer-aided identification of foraminiferal tests. *Marine Micropaleontology* 72, 66-75.
- Ranzato, M., Taylor, P.E., House, J.M., Flagan, R.C., LeCun, Y., Perona, P., 2007. Automatic recognition of biological particles in microscopic images. *Pattern Recognition Letters* 28, 31-39.
- Rickaby, R.E.M., Bard, E., Sonzogni, C., Rostek, F., Beaufort, L., Barker, S., Rees, G., Schrag, D.P., 2007. Coccolith chemistry reveals secular variations in the global ocean carbon cycle? *Earth and Planetary Science Letters* 253, 83-95.
- Rodriguez-Damian, M., Cernadas, E., Formella, A., Fernandez-Delgado, M., De Sa-Otero, P., 2006. Automatic detection and classification of grains of pollen based on shape and texture. *IEEE Transactions on Systems Man and Cybernetics Part C-Applications and Reviews* 36, 531-542.
- Saavedra-Pellitero, M., Flores, J.A., Baumann, K.H., Sierro, F.J., 2010. Coccolith distribution patterns in surface sediments of Equatorial and Southeastern Pacific Ocean. *Geobios* 43, 131-149.
- Sucheras-Marx, B., Mattioli, E., Giraud, F., Gally, Y., Barbarin, N., Beaufort, L., accepted. Absolute abundance and flux quantification of Middle Jurassic coccoliths, an automated approach. *Marine Micropaleontology*.
- Takayama, T., 1993. Notes on Neogene calcareous nannofossil biostratigraphy of the Ontong Java Plateau and size variations of Reticulofenestra coccoliths. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results* 130, 179-229.

- Taylor, R.J., Hamilton, G.B., 1982. Techniques, in: Lord, A.R. (Ed.), A Stratigraphical Index of Calcareous Nannofossils. Ellis Horwood Limited, Chichester, pp. 11-15.
- Thierstein, H.R., Geitzenauer, K.R., Molfino, B., 1977. Global Synchronicity Of Late Quaternary Coccolith Datum Levels - Validation By Oxygen Isotopes. *Geology* 5, 400-404.
- Winter, A., Jordan, R.W., Roth, P.H., 1994. Biogeography of living coccolithophores in ocean waters, in: Winter, A., Siesser, W.G. (Eds.), *Coccolithophores*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 161-177.
- Young, J., Bown, P.R., 1997. Cenozoic calcareous nannoplankton classification. *Journal of Nannoplankton Research* 19, 36-47.
- Yu, S., SaintMarc, P., Thonnat, M., Berthod, M., 1996. Feasibility study of automatic identification of planktic foraminifera by computer vision. *Journal of Foraminiferal Research* 26, 113-123.

ANNEXES

COLLABORATIONS

Pendant le déroulement de ma thèse au CEREGE, j'ai collaboré avec de nombreuses personnes, souvent des étudiants, que Luc Beaufort a accueillis. Mes propositions et leurs demandes m'ont permis d'améliorer mes connaissances et de parfaire la conception de SYRACO (regroupement des espèces en morphogroupes, programmes LabView...). Ces échanges m'ont donc été particulièrement bénéfiques, sur le plan de la recherche et du développement, notamment en permettant d'élargir à d'autres cas concrets le système ou les concepts développés pour SYRACO. Nos échanges leur ont aussi été bénéfiques par l'obtention et le traitement rapidement des données aboutissant souvent à des publications. Ces échanges sont résumés ci-après.

Yannick Berthoumieux (Laboratoire IMS, Bordeaux)

TOTAL et l'IMS ont eu, par le passé, un contrat pour le développement d'un logiciel de détection des Discoasters. Je leur ai envoyé des images prises avec notre dispositif pour tester leur programme et le comparer au notre. Le résultat de reconnaissance est globalement bon (**Figure A-1**), de qualité équivalente à notre système, mais potentiellement plus lent (environ 20 secondes par image) ; SYRACO étant au moins cinq fois plus rapide. D'autant que leur programme ne détecte pas les *Amaurolithus* (un spécimen présent dans les images n'a pas été reconnu), ni les *Isthmolithus*.

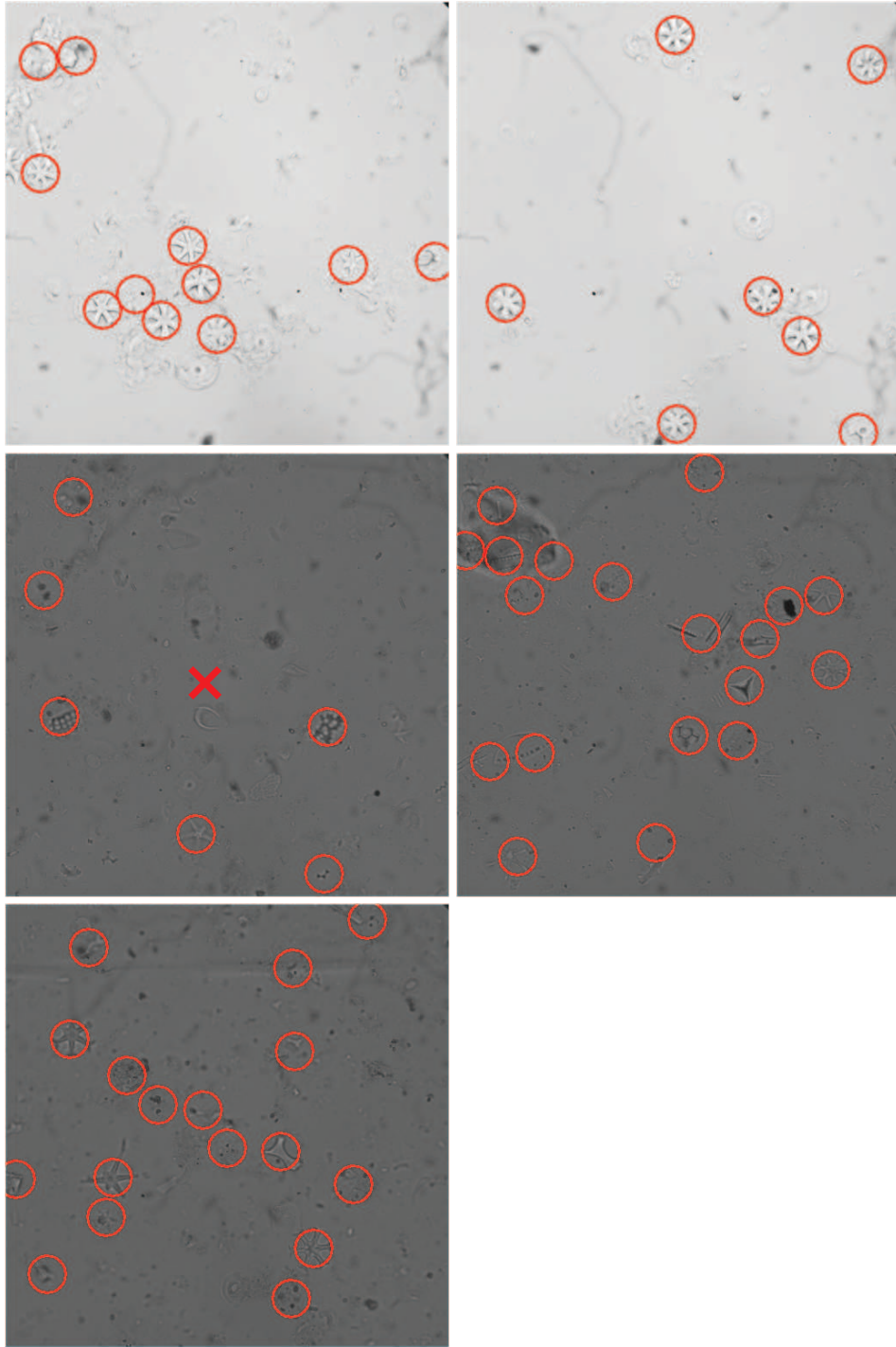


Figure A-1. Résultats de détection par le programme de l'équipe de Yannick Berthoumieux sur cinq images.

Baptiste Sucheras-marx (Université de Lyon 1 - University of Uppsala, Suède)

Baptiste, pendant un séjour court au CEREGE, a réalisé des apprentissages sur des espèces du Jurassique Inférieur. Après quelques optimisations, les tests de reconnaissance ont été concluants, aboutissant à un article [Sucheras-Marx et al. \(submitted\)](#).

Luna Brentegani (Australian National University, Canberra, Australie)

Un court passage de Luna pour comparer les résultats entre l'ancien et le nouveau SYRACO. Je lui ai aussi montré quelques méthodes statistiques sur PAST et R.

Elisa Fernandez Guallart (Institut de Ciències del Mar, CSIC, Barcelona, Espagne)

Lisa est venue étudier le nombre de coccolithes en fonction de la taille des cellules d'*Emiliania huxleyi* ou de *Coccolithus pelagicus*. Elle a utilisé SYRACO pour compter les coccolithes. Une publication devrait présenter ses résultats. Je lui ai aussi montré quelques méthodes statistiques sur PAST et R.

Xiang Su (Université de Tongji, Rep. de Chine)

Xiang a passé un an au CEREGE pour acquérir et traiter des données sur une carotte de la mer de Chine. En complément de SYRACO, il a utilisé une de nos méthodes pour compter *F. profunda* et la comparer au comptage humain. Le résultat est très bon, les variations du pourcentage de *F. profunda* à haute fréquence sont identiques. Il y a seulement une petite surestimation du pourcentage. Un article devrait être soumis dans les mois prochains.

Fabienne Regoli (CEREGE)

Fabienne a pris en photo de nombreux foraminifères (*Globigeneroides ruber*) avant de les réduire en poudre pour des études géochimiques. Afin de mettre en évidence les différents morphotypes, j'ai proposé d'adapter un programme de morphométrie dérivé de celui réalisé pour les nannofossiles. Ce nouveau programme a l'avantage de « séparer » les loges afin de quantifier les différences entre groupes. Pour orienter les individus et réaliser des mesures reproductibles (dans un repère où les limites supérieures sont toujours alignées), j'ai programmé la recherche des limites de sutures entre les différentes loges. Cet outil m'a ensuite servi pour la morphométrie des nannofossiles. L'étude des 6600 individus mesurés (dont leurs trois loges) aboutira à un article (Regoli et al., In prep.).

J'ai aussi aidé Fabienne pour les statistiques concernant ses données de températures (Regoli et al., Submitted).

Harry McClelland (University of Oxford, Royaume-Uni)

Harry a fait un séjour long pour acquérir et traiter des données sur des échantillons. Il a obtenu de nombreux résultats. Il y aura très certainement une publication prochainement.

Sarah O'dea (National Oceanography Centre, Southampton, Royaume-Uni)

Sarah est passée au CEREGE pour estimer l'épaisseur de coccolithes dans le cadre de sa thèse. Mais elle n'a pas utilisé ces données.

Dan Liang (Université de Tongji, Rep. de Chine)

Tout comme Xiang, Dan est venue comparer SYRACO avec un comptage humain, notamment sur *F. profunda* sur la carotte 973. Les résultats sont très bons, on peut notamment voir les cycles de précessions.

Manuela Bordiga (University of Uppsala, Suède)

Manuela a fait un court séjour pour utiliser l'ancien SYRACO (Bordiga et al., 2013).

Logiciel pour Lise Sanchi, Sophie Darfeuill et Guillemette Menot (CEREGE-Collège de France)

Lors d'analyses de matières organiques sur des échantillons de carottes (Mer Noire notamment), les résultats d'intégration de pics sont contenus dans un fichier texte pour chaque échantillon. Afin de ne plus rassembler les informations à la main, tâche très chronophage, j'ai proposé de réaliser un petit logiciel qui rassemble rapidement les informations en un seul fichier texte ; chaque ligne correspondant à un échantillon, et chaque colonne à une valeur d'intégration. Il a été utilisé dans la publication de Sanchi et al. (2013).

Logiciel pour Nathan Bossa (CEREGE)

Le but de ce programme d'analyse d'images est de mesurer rapidement la porosité d'une image 2D extraite par couche d'une microtomographie 3D. Les résultats servent à observer des changements de taille et de forme dans l'interface entre la partie altérée et saine. Les informations pour tous les pores sont sauvegardées dans un fichier texte pour chaque image. Les colonnes correspondent à la position des pores dans l'image et aux nombreuses mesures de tailles et formes. Il y a un fichier pour chaque image, et un fichier pour toutes les images de l'expérience. Cependant l'analyse des images en deux dimensions ne semble pas montrer les résultats escomptés. Le programme ne parvient pas en effet à mettre en évidence la connectivité des pores, notion plus compliquée à programmer.

Morphométrie exploratoire d'amidon avec Héctor Arráiz (Madrid) et Doris Barboni (CEREGE)

L'amidon est composé en partie d'amylopectine. Au microscope, cette molécule est biréfringente. Elle produit aussi une croix d'extinction et son intensité lumineuse dépend de l'épaisseur. Ces caractéristiques se rapprochent de celles des coccolithes. L'idée est donc d'utiliser notre équipement (microscope et logiciels) pour réaliser des mesures morphométriques sur des grains d'amidon de différentes espèces de plantes. Ces mesures pourront peut-être permettre d'estimer dans le futur les paramètres discriminants voire, si possible, de réaliser une classification automatique des espèces.

Étude exploratoire sur les diatomées avec Christine Pailles (CEREGE)

Dans l'avenir, nous envisageons d'adapter SYRACO pour la reconnaissance des diatomées. La première étape consiste à réaliser la segmentation des images de champs de vue pour extraire des vignettes de diatomées. Nous avons fait un essai sur 15 champs de vue et les résultats sont de qualité (**Figure 0-1**). Sur environ 55 diatomées dans les photos, la segmentation en récupère 54 sur 81 vignettes (si l'on compte celles dans les agrégats).

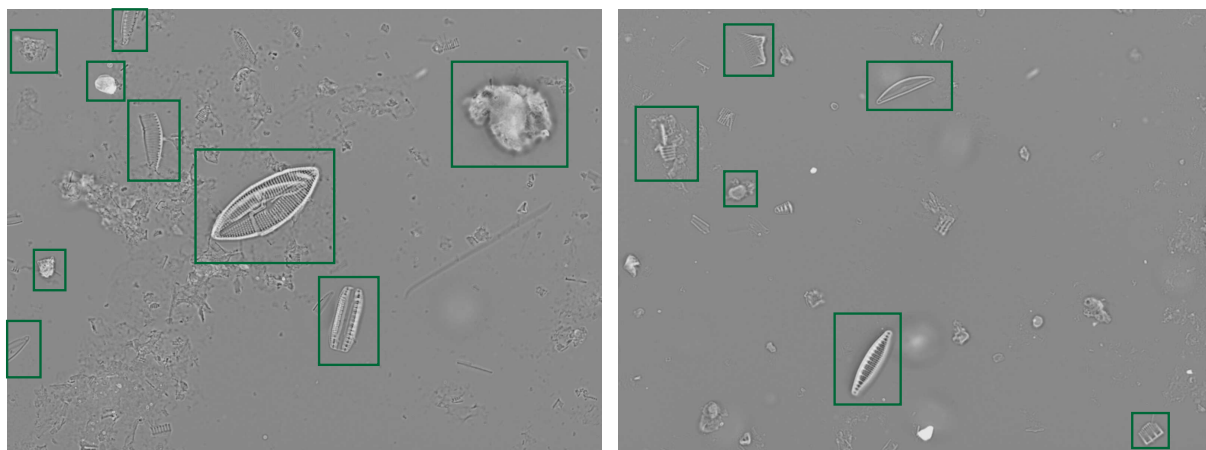


Figure 0-1. Exemples d'images de champs de vue avec les résultats de segmentation (carrés verts). Toutes les diatomées sont segmentées mais il y a aussi des débris.

« Le grand danger de l'ordinateur, c'est sa gigantesque productivité. Plus il accumule les données, plus la part consacrée à la réflexion doit être grande. »

Entretien, Emmanuel Le Roy-Ladurie

ARTICLES PUBLIES AU COURS DE LA THESE



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Marine Micropaleontology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marmicro

Evidence for a complex Valanginian nannoconid decline in the Vocontian basin (South East France)

Nicolas Barbarin ^{a,*}, Aurélie Bonin ^a, Emanuela Mattioli ^b, Emmanuelle Pucéat ^a, Henri Cappetta ^c, Benjamin Gréselle ^d, Bernard Pittet ^b, Emmanuelle Vennin ^a, Michael Joachimski ^e

^a UMR CNRS 5561 Biogéosciences, Université de Bourgogne, 6 Bd Gabriel, 21000 DIJON, France

^b UMR CNRS 5276 LGL-TPE, Université Claude Bernard Lyon 1, Ecole Normale Supérieure Lyon, Campus de la Doua 69622 Villeurbanne cedex, France

^c UMR CNRS 5554, Institut des sciences de l'évolution, Université Montpellier 2, place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier cedex 5, France

^d Institut EGID, Bordeaux 3, 1 allée Daguin, F-33607 Pessac Cedex, France

^e GeoZentrum Nordbayern, Universität Erlangen-Nürnberg, Schlossgarten 5, 91054 Erlangen, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 March 2011

Received in revised form 20 November 2011

Accepted 21 November 2011

Keywords:

nannoconid decline

Valanginian

Vocontian basin

biometry

oxygen isotopes

paleoceanography

ABSTRACT

The Early Cretaceous is punctuated by widespread biocalcification crises. These are characterized by decrease in the carbonate platform growth and, in the pelagic realm, by a decline in *Nannoconus* relative abundance in the calcareous nannofossil assemblages. The Valanginian *Nannoconus* decline started before the positive $\delta^{13}\text{C}$ excursion characterizing the Weissert Event. The nannoconid decline is investigated in two sections of the Vocontian Basin, La Charce and Vergol, which are biostratigraphically well-constrained and contain well-preserved calcareous nannofossils. Absolute and relative abundances of *Nannoconus* show a polyphased decline, with a first decrease in the interval from the Campylotoxus to the Verrucosum Ammonite Subzones before the positive $\delta^{13}\text{C}$ shift, and a second decrease from the end of the Peregrinus to the base of the Radiatus Ammonite Zones concomitant with the long-term decrease in $\delta^{13}\text{C}$. These two declines are separated by an important increase in the *Nannoconus* abundance from the Verrucosum to the Peregrinus Ammonite Subzones concomitant with a slight short-term decrease of $\delta^{13}\text{C}$. Biometric analysis shows size changes of *N. steinmannii* and *N. kamptneri* along the nannoconid decline. The patterns of abundances and size changes seem to be related to paleoenvironmental changes, mainly characterized by a temperature decrease and variable nutrient supply. The described Valanginian nannoconid recovery seems to occur during the most intense phase of the cooling event and is recorded in the Vocontian basin as well as in the Atlantic and Tethys Oceans. These spatial correlations suggest a supra-regional character for the Valanginian nannoconid recovery event best recorded in the Vocontian Basin and at low latitudes.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The Valanginian is marked by a 1.5 to 2‰ positive carbon isotope excursion (CIE) measured in carbonates of Tethyan sections and some ODP/DSDP sites in the Atlantic and Pacific Oceans (Lini et al., 1992; Channell et al., 1993; Lini, 1994; Hennig et al., 1999; Wortmann and Weissert, 2000; Erba et al., 2004; Bornemann and Mutterlose, 2008). Gröcke et al. (2005) documented a similar CIE in fossil wood. Thus both ocean and atmosphere reservoirs recorded the isotope anomaly. The beginning of the positive CIE and its climax have been

used to define the Weissert event (Erba et al., 2004). This event corresponds to the upper part of magnetic chron CM12 and the base of magnetic chron CM11 in Tethyan sections (Lini et al., 1992; Channell et al., 1993; Erba et al., 2004). Biostratigraphic studies show that this event spans the NK3B and NC4A nannofossil Zones, the Campylotoxus ammonite Zone, and the radiolarian UAZs 16–18 (see Erba et al., 2004 for a synthesis). The duration of the event has been estimated to ~2 Ma (Erba et al., 2004) or 2.3 Ma (Sprovieri et al., 2006). A recent cyclostratigraphic study of the Vergol/La Charce composite section (Vocontian Basin), also studied here, provides a precise duration of 1.8 Ma for the positive CIE until the interval where $\delta^{13}\text{C}$ values start decreasing (Gréselle and Pittet, 2010; Gréselle et al., 2011).

Some studies have tentatively related the Weissert event to volcanic activity in the Paranà–Etendeka trapps (South America and South Africa; approximately 134.7 ± 1 Ma) (Renne et al., 1992; Weissert et al., 1998; Erba et al., 2004; Weissert and Erba, 2004; Thiede and Vasconcelos, 2010) or to the 132 Ma old Comei–Bunbury Large Igneous Province

* Corresponding author at: CEREGE, UMR CNRS 6635, Université Aix-Marseille, Europôle Méditerranéen de l'Arbois BP 80, 13545 Aix-en-Provence Cedex 04, France.

E-mail addresses: barbarin@cerge.fr (N. Barbarin), aurelie.bonin@u-bourgogne.fr (A. Bonin), emanuela.mattioli@univ-lyon1.fr (E. Mattioli), emmanuelle.puceat@u-bourgogne.fr (E. Pucéat), henri.cappetta@univ-montp2.fr (H. Cappetta), benjamin.greselle.pro@gmail.com (B. Gréselle), bernard.pittet@univ-lyon1.fr (B. Pittet), emmanuelle.vennin@u-bourgogne.fr (E. Vennin), joachimski@geol.uni-erlangen.de (M. Joachimski).

(LIP) (Zhu et al., 2009). However, there are no radiometric ages to directly calibrate the CIE with geochronology and at present the correlation of the Weissert event and volcanic activity is controversial.

Environmental and biotic perturbations occurred in the Valanginian oceans, namely a significant cooling suggested by both faunal and floral migrations (Kemper and Schmitz, 1981; Kemper, 1987; Hoedemaeker, 1990; Mutterlose and Kessels, 2000; Melinte and Mutterlose, 2001), by the occurrence of glendonites at high latitudes (Price, 1999) and by the geochemical records of fish teeth and belemnites (Pucéat et al., 2003; McArthur et al., 2007). However, Littler et al. (2011) recorded little variability in the sea-surface temperature records, even during the Valanginian carbon-isotope excursion. The positive carbon excursion is concomitant to a carbonate production crisis both in neritic and pelagic domains at least in western Tethys and Caribbean/proto-Atlantic areas (Weissert et al., 1979; Erba and Tremolada, 2004; Erba et al., 2004; Föllmi et al., 2006; Gréselle and Pittet, 2010) and the sparse occurrence of organic carbon enriched sediments (Channell et al., 1993; Weissert et al., 1998; Weissert and Erba, 2004; Westermann et al., 2010). In the Vocontian basin, thin levels enriched in organic matter, namely the Barande layers, mark the very beginning of the event (Reboulet et al., 2003).

Calcareous nannoplankton were important primary producers in the pelagic realm and were highly diversified in the Cretaceous (Bown et al., 2004; Erba, 2004). Among these, *Nannoconus* (*incertae sedis*) is represented by robust nannoliths commonly recorded in Cretaceous rocks in epicontinental areas from the western Tethyan to the Caribbean region (Thierstein, 1976; Roth and Krumbach, 1986; Applegate and Bergen, 1988; Noël and Busson, 1990; Mutterlose, 1992; Erba, 1994; Bown et al., 1998; Street and Bown, 1998; Bown, 2005). Nannoconid relative abundance and fluxes dramatically decreased in the nannofossil assemblage during the Weissert event (Bersezio et al., 2002; Erba and Tremolada, 2004; Erba et al., 2004; Duchamp-Alphonse et al., 2007; Bornemann and Mutterlose, 2008). This decline started before the positive shift in $\delta^{13}\text{C}$ and persisted during an interval corresponding to magnetic chrons CM12 through CM10 (Erba and Tremolada, 2004). A morphological shift from specimens with “narrow canal” to “wide canal” *Nannoconus* has been observed in association with the nannoconid decline (Erba and Tremolada, 2004; Duchamp-Alphonse et al., 2007), however nothing is known so far about species-specific changes within the nannoconid group, nor about changes in *Nannoconus* size. Yet identification of such changes is crucial to better constrain the evolution of pelagic carbonate production during the Weissert event, as those large-sized nannoliths were important carbonate producers during the Early Cretaceous (Noël and Busson, 1990; Busson and Noël, 1991).

This work presents new data on relative and absolute abundances, species richness and biometry of different species of the genus *Nannoconus* in the Valanginian. Two sections deposited in hemipelagic environments of the Vocontian Basin are studied here, namely Vergol and La Charce. These environments were very sensitive to weathering changes and related continent-derived nutrient flux (Reboulet et al., 2003; Duchamp-Alphonse et al., 2007; Gréselle and Pittet, 2010; Gréselle et al., 2011). The studied sections are characterized by an excellent ammonite biostratigraphical control (Reboulet, 1996; Reboulet and Atrops, 1999; Hoedemaeker et al., 2003; Reboulet et al., 2006; 2009). The micropaleontological results acquired here are then compared to the evolution of both previously published geochemical temperature proxy data and newly acquired fish tooth $\delta^{18}\text{O}$. These comparisons are used to discuss environmental and climatic perturbations characterizing the nannoconid decline that occurred during the Weissert Event.

2. Materials and methods

2.1. Geological setting and stratigraphy

The Vergol and La Charce sections are located in the central part of the Vocontian basin of southeast France, at a distance of ~30 km from each other (Fig. 1A). Both outcrops are well-studied and the abundant record of macro- and microfossils provides a good biostratigraphic frame (Magniez-Jannin and Dommergues, 1994; Reboulet, 1996; Reboulet and Atrops, 1999; Janssen and Clement, 2002; Gardin, 2008; Reboulet et al., 2009). The sections are characterized by continuous sedimentation from Valanginian to Hauterivian. Precise lithologic and biostratigraphic correlations exist between these two sections from the Petransiens to the Furcillata Ammonite Zones (Cotillon et al., 1980; Gréselle et al., 2011). Numerous first and last occurrences of nannofossil taxa were documented at Vergol and La Charce (Fig. 1) that allowed the recognition of zones NK 3A and NK 4 (Gréselle et al., 2011).

The Vocontian basin was surrounded by carbonate platforms including the Jura platform to the north, the Vivarais platform to the west and the Provence platform to the south (Wilpshaar et al., 1997; Reboulet et al., 2003; Fesneau et al., 2009; Gréselle and Pittet, 2010). Sediments are bioturbated marl–limestone alternations (Cotillon et al., 1980), occasionally interrupted by slumps (Atrops and Reboulet, 1995). In order to avoid the slumped intervals and to have a continuous sedimentary succession for most part of the Valanginian, the Vergol and La Charce sections are tied together in a composite section as proposed by Gréselle and Pittet (2010) (Fig. 1B). Nannofossil absolute abundance, assemblage composition and preservation are comparable in both sections.

2.2. Sample preparation

2.2.1. Stable isotopes

Fifty fish remains, consisting of millimeter-size teeth, cuspid fragments and one cutaneous cuticle were picked from the 125–500 μm fraction of 20 marly levels from the La Charce section. The sediments (about 10 kg per level) were degraded over 24 h in acetic acid 10% before sieving. Of the 20 studied levels, only 9 levels grouped in 5 samples (Fig. 1B) yielded enough material (4 to 15 fish elements) to perform analyses. The fish remains were taxonomically determined at the genus level (Table 1). All identified elements appear to belong to demersal fishes and sharks according to the Cappetta (1987) taxonomic determination. Eleven cuspids belong to an undetermined group, which was likely endemic to the Vocontian Basin. Their shapes are comparable to the Squatinidae group (except for the apron), with a relatively flat basal face, a cuspid perpendicular to the tooth base and a pair of lateral cusplets. Their originality is the presence of two labial protuberances of the root. This character is close to the morphology of the Symmoridae family, a Paleozoic selachian group. The dental morphology of these selachians also argues for a necto-benthic life-style.

Oxygen isotope analyses of fish remains were performed at the North Bavarian Center of Earth Sciences (University of Erlangen-Nürnberg/Germany). The apatite samples were dissolved in nitric acid and chemically converted into Ag_3PO_4 using a modified version of the method described by O'Neil et al. (1994). Oxygen isotope ratios were measured on CO using a High Temperature Conversion Elemental Analyzer (TC-EA) connected online to a ThermoFinnigan Delta

Fig. 1. (A) Geographic location of the studied sections and paleogeography of the Vocontian basin in the Early Cretaceous, modified after Ferry (1991) and Fesneau et al. (2009). (B) Stratigraphy of the composite section of Vergol and La Charce (Gréselle and Pittet, 2010) and positions of samples in which calcareous nannofossils (left) and fish teeth (right) were studied. $\delta^{13}\text{C}$ data from Hennig et al. (1999) and Gréselle et al. (2011). According to the definition of Erba et al. (2004), the Weissert event is placed between the base of the positive excursion of the $\delta^{13}\text{C}$ curve and the end corresponds to the $\delta^{13}\text{C}$ climax. Nannofossil zones are established according to the work of Bralower et al. (1989; 1995). The symbols I to V represents the concatenate layers of fish teeth samples.

Table 1
Description and oxygen isotope compositions of the La Charce fish samples.

Samples	Specimen determination	Elements	Number of specimens	$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}\text{‰}$	Temperature, °C
I	Scyliorhinidae	Cuspid	1	22.01	21.4 22.7
	Paraorthacodontidae	Cuspid	1		
	Actinopterygian	Cuspid	1		
II	Undetermined	Undetermined	11	21.96	21.6 22.9
		Cuspid	5		
		Cuspid	5		
		Cuspid fragment	5		
		Cuspid fragment	5		
III	<i>Chlamydo selachus?</i>	Cuspid	1	22.73	18.4 19.6
	Undetermined	Cuspid fragment	2		
IV	Symmoridae	Cuspid	2	22.53	19.2 20.5
	Actinopterygian	Cuspid	1		
	Squalidae ind.	Cuspid	4		
	Undetermined	Cuspid	3		
	Undetermined	fragment	3		
V	Orectolobiforms	Cuspid	2	22.63	18.8 20.0
	Squalidae ind.	Cuspid	1		
	Undetermined	Cuspid	8		
	Undetermined	fragment	1		
	Undetermined	Cutaneous denticular	1		

plus mass spectrometer (for details see Joachimski et al., 2009). Oxygen isotope compositions of fish tooth apatite are reported in the delta notation relative to V-SMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water). All data have been normalized using a value of NBS120c of 22.6‰ (Vennemann et al., 2002; Joachimski et al., 2009; Pucéat et al., 2010). Reproducibility of analyses (1 σ) was better than $\pm 0.2\%$.

2.2.2. Calcareous nannofossils

In this work, we focus on the genus *Nannoconus* that is recorded between the Tithonian and the Campanian stages. These *incertae sedis* nannoliths are very common in the lower Cretaceous. They are composed of tiny calcite elements arranged around a central canal (that can be wide or narrow) to form a cylinder or a conical shape. Their size usually ranges between 5 and 30 μm . Nannoconids are commonly found as isolated liths (Noël and Busson, 1990; Busson and Noël, 1991; Mutterlose et al., 2005) or, rarely, forming rosette-like aggregates (Tréjo, 1960, 1969; Dérès and Achéritéguy, 1980; Lambert, 1987; Noël and Busson, 1990).

Samples for nannofossils were collected from marl–limestone couplets and are regularly distributed along the composite section (Fig. 1B). Slide preparation was performed by applying the random-settling technique (Beaufort, 1991; Williams and Bralower, 1995; Geisen et al., 1999), allowing absolute quantification of nannofossils per gram of rock. Briefly, a homogeneous suspension is made with a small amount of rock powder (~20 mg) and water. The suspension is left in a settling device for 24 h for decantation. After deposition of the powder on a glass slide, water is very slowly evacuated. Once dried, slides are mounted on microscope slides using Rhodopass. Slides were observed under a ZEISS AXIOSKOP 40 polarizing light microscope at a magnification of 1000 \times . *Nannoconus* abundance and size was studied in 37 samples. In each slide, between 50 and 100 well-recognizable specimens of *Nannoconus* were counted in a variable number of fields of view, and at least 30 specimens were measured. Nannofossils images were captured using a MOTICAM 2000 camera mounted on a light microscope connected to a PC with MC CAMERA11 Software. At the microscope magnification of 1000 \times the average pixel scale is 11.7 pixel. μm^{-1} (1 pixel = 0.0832 μm in X and

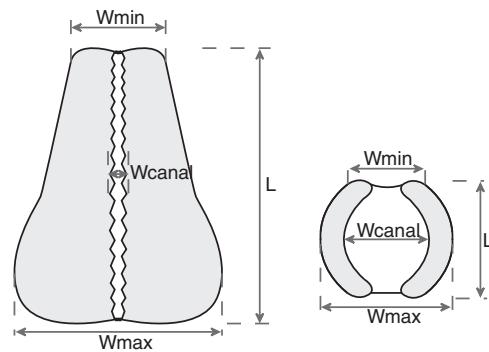


Fig. 2. Descriptive variables of *Nannoconus*. Here *N. steinmannii* (left) and *N. globulus* (right) are shown as examples. Abbreviations: W_{min} = minimal width, W_{max} = maximal width, W_{canal} = width of the central canal and L = length.

0.0883 μm in Y). An average measurement error of $0.198 \pm 0.09 \mu\text{m}$ is obtained by repeated measurements on nine specimens.

Biometry is applied to four descriptive variables on nannoconid lateral views (Bornemann et al., 2003), namely the length (L), the maximum and the minimum width (W_{max} and W_{min}), and the width of the central canal (W_{canal} ; Fig. 2). In total, we acquired 5256 measurements on 1314 specimens.

2.2.3. Bulk CaCO_3 content

Weight% CaCO_3 was measured using the “Dietrich-Fruhling” calcimeter. The CaCO_3 content in bulk rock is estimated according to the volume of CO_2 released from 300 mg of sediment powder dissolved by 10 ml of HCl (1 N). The CaCO_3 content is estimated using successively three formulae. The first one gives the volume of released CO_2 (ml): $\text{CO}_2 = (V \times (P - P_s) \times 273) / (760 \times (273 + T))$. Where V is the volume of observed CO_2 release (ml ± 0.2 ml), P is the pressure (mm of Hg), P_s is the correction factor of saturation pressure (Torr) and T is the temperature ($^{\circ}\text{C}$). The second formula gives the percentage of released CO_2 : $\% \text{CO}_2 = (\text{CO}_2 \times 44 \times 100) / (22,414 \times M)$. Where M is the mass of powder (g). And the last formula gives the percentage of CaCO_3 content: $\text{wt.} \% \text{CaCO}_3 = \% \text{CO}_2 \times 2.273 \times f$. Where f is the correction factor. The correction factor takes into account the analytic error (balance, calcimeter) and the operator error (gas volume lecture, weighting). It is computed after repeated measurements of CaCO_3 on pure CaCO_3 powder (98 wt.%) and compared with the standard value. In this work the mean correction factor is 1.0101.

2.3. Mixture analysis

Several *Nannoconus* sub-species have been described in the literature according to their variable size: *N. globulus globulus* (width 8–14 μm , height 6–12 μm ; Brönnimann, 1955) and *N. globulus minor* (width 4–8.5 μm , height 3–6 μm ; Bralower et al., 1989), *N. kamptneri kamptneri* (length > 10 μm ; Bralower et al., 1989) and *N. kamptneri minor* (length < 10 μm ; Bralower in Bralower et al., 1989), *N. steinmannii steinmannii* (length > 10 μm ; Kamptner, 1931) and *N. steinmannii minor* (length < 10 μm ; Dérès and Achéritéguy, 1980). In this study it was difficult to distinguish clearly the sub-species because of the existence of a size continuum. We therefore used an approximate Length/Width ratio (Dérès and Achéritéguy, 1970, 1980). The “minor” sub-species tend to be stocky and “major” sub-species tend to be elongated.

Mixture analysis (Harper, 1999) is based on a maximum-likelihood method for estimating the parameters (mean and standard deviation) of two, or more, normal (Gaussian) distributions. It has been used here to test the hypothesis of statistical significant difference between *Nannoconus* sub-species for each variable measured. PAST program (Hammer et al., 2001) uses the Expectation Maximization algorithm (Dempster et al., 1977), in which the higher is the log-

likelihood value, the better is the solution, and the Akaike Information Criterion (Akaike, 1974), where minimum values indicate the best-fit solution without overfitting.

2.4. Absolute abundance and error bars

Between 50 and 100 specimens of *Nannoconus* were counted in each slide and the absolute abundance was computed using the equation of Geisen et al. (1999): $X = (N \times V) / (M \times A \times H)$. Where X is the absolute abundance in number of specimens per gram or rock, N is the number of counted specimens, V is the water volume used for the suspension in the settling box (ml), M is the mass of the rock powder used in the suspension (g), A is the area of a field of view in the slide (cm²) and H is the water height over the slide (cm). Hence confidence interval for absolute abundance was calculated using the classical χ^2 -based statistics (Zar, 1999).

2.5. Mathematical smoothing

Statistical smoothing methods assist in the identification of important and non-obvious structure in complex datasets, but sometimes trends are generated that could be spurious sampling artifacts (Marron and Chaudhuri, 1998a; Rondonotti et al., 2007; Morton et al., 2009). A smoothing either computes a local average or locally fits a function indexed by a “smoothing parameter”, a “window width” or a “bandwidth” called *h* (Marron and Chaudhuri, 1998a,b; Rondonotti et al., 2007). Here, an approach is made with MATLAB® software: the penalized spline regression or P-spline (Ruppert et al., 2003). P-spline is a semiparametric smoothing regression fitted by least-squared with a roughness penalty (Eilers and Marx, 1996; Ruppert, 2002; Ruppert et al., 2003). The method uses piecewise polynomial function at fixed “knots”; the “y” distance between these knots is progressively lowered tending to zero by using a penalty function (Ruppert and Carroll, 1997; Ruppert, 2002). This penalty function is imposed to spline coefficients by the software to achieve a smooth fit (Kauermann et al., 2009). This method gives by default an optimal curve fitted to the data with the 95% confidence interval and the 95% prediction interval.

3. Results

3.1. Isotope geochemistry

Fish tooth $\delta^{18}\text{O}$ values range between 22.0 and 22.7‰ (Table 1). The lowest $\delta^{18}\text{O}$ values of about 22.0‰ are observed during the *Campylotoxus* Ammonite Zone (Fig. 3). The sample from the *Verrucosum* Zone yields the highest value of 22.7‰. The two samples from the *Peregrinus* and *Furcillata* Ammonite Zones present similar values of 22.5 and 22.6‰ respectively.

3.2. Nannofossil preservation

In the Vergol and La Charce sections, calcareous nannofossil preservation, checked both in optical microscope and SEM, is generally good (Fig. 4). Delicate coccoliths, like *Staurolithites* or *Zeugrhabdotus*, show pristinely preserved central area structure. *Nannoconus* preservation is generally good and both shape and structure are preserved. Mechanical fragmentation can occur during compaction of sediments or powdering of the sample (Noël and Busson, 1990; Busson and Noël, 1991). Fragmented *Nannoconus* represent in our samples a very small proportion of the studied population. The fragmented specimens were not considered for measurements, but integrated in estimates of relative and absolute abundances when fragmentation was limited and nearly entire specimens were recorded.

3.3. *Nannoconus* assemblages and absolute abundances

Nannoconid assemblages are dominated by three species: *N. steinmannii*, *N. kamptneri* and *N. globulus* representing on average 95% of the total population. In detail, the average assemblage in the studied samples is composed of 43% *N. steinmannii* ($n=561$), 39% *N. kamptneri* ($n=510$), and by 13% *N. globulus* ($n=173$). The other species representing less than 5% on average are: *N. cornuta*, *N. colomii*, *N. quadratus*, *N. broennimannii*, *N. bermudezii*, *N. dolomiticus*, *N. bucheri*, *N. bonetii*, and few specimens tentatively attributed to *N. circularis* (Fig. 5).

Nannoconus absolute abundance tends to increase with increasing calcium carbonate content of the rock up to 68 wt.% CaCO₃ but this trend is not recognized as significant by our statistical treatment ($p(\text{uncorr}) \approx 0.075$, r_s Spearman correlation test with one outlier excluded from the analysis). Then, for higher values of CaCO₃ abundance values significantly decrease ($p(\text{uncorr}) \approx 0.001$, Spearman test) (Fig. 5). This trend is already known for *Nannoconus* (Noël and Busson, 1990; Busson and Noël, 1991) and is commonly observed for other Mesozoic *incertae sedis* (for example, *Schizosphaerella*; Mattioli and Pittet, 2002).

In the Biassalense Ammonite Subzone, *N. kamptneri* and *N. globulus* represent an important constituent of the *nannoconid* assemblage. However in the subsequent *Verrucosum* Ammonite Subzone there is an increase in the percentage of *N. steinmannii*, which represents up to 80% of the *nannoconid* assemblage (Fig. 3). Upwards, a slow decrease in *N. steinmannii* and an increase in *N. kamptneri* and *N. globulus* are recorded from the end of the *Verrucosum* Ammonite Zone to the basal *Radiatus* Ammonite Zone.

Concerning absolute abundance, *nannoconids* are ten times less abundant than coccoliths in the Vergol and La Charce sections (Reboulet et al., 2003; Gréselle et al., 2011; this work). The observed trends of *nannoconid* absolute abundance indicate three phases: 1) an initial *nannoconid* decline (from $\sim 190.10^6$ specimens per gram of rock to $\sim 60.10^6$ specimens per gram of rock) from the Biassalense Ammonite Subzone to the beginning of the *Verrucosum* Ammonite Subzone (Fig. 3); 2) a recovery period from the end of the *Verrucosum* Ammonite Subzone to the beginning of the *Peregrinus* Ammonite Subzone (highest value $\sim 270.10^6$ specimens.g⁻¹); 3) a second, more important decline from the *Peregrinus* Ammonite Subzone to the basal *Radiatus* Ammonite Zone ($\sim 30.10^6$ specimens.g⁻¹). These trends are statistically tested with the P-Spline regression with respect to the number of analyzed samples (Fig. 3). The P-spline regression shows a significant first decrease (90–120 m) in the *Campylotoxus* Ammonite Zone, a significant first increase (125–150 m) in the *Verrucosum* Ammonite Subzone and a significant decrease after the *Peregrinus* Ammonite Subzone. Nannolith (= *nannoconid*) fluxes per m² and per yr⁻¹, estimated by Gréselle et al. (2011) for a higher number of samples including the ones we have studied, show the same trend as absolute abundances (Fig. 3).

The general evolution of the *nannoconid* species richness (Fig. 3; see additional material in the appendix) shows relatively stable values between three and five species from the *Campylotoxus* Ammonite Zone to the end of the *Verrucosum* Ammonite Zone ($p(\text{uncorr}) \approx 0.09$, r_s Spearman test). This is apparently followed by an increase from the *Peregrinus* Ammonite Zone to the basal *Radiatus* Ammonite Zone (four to eight species, $p(\text{uncorr}) \approx 0.04$, r_s Spearman test). *Nannoconus steinmannii*, *N. kamptneri* and *N. globulus* are persistently recorded species whereas *N. cornuta*, *N. colomii*, *N. quadratus*, *N. broennimannii*, *N. bermudezii*, *N. dolomiticus*, *N. bucheri*, *N. bonetii* and *N. circularis* are not regularly present in the assemblages.

3.4. Biometry

Nannoconid mean sizes measured in this work are smaller than those of the literature (see Tables 2 and 3). Biometric studies on this genus are rare (Brönnimann, 1955; Dérès and Achéritéguy, 1980; Bralower et al., 1989; Ozkan-Altiner, 1999; Tremolada and

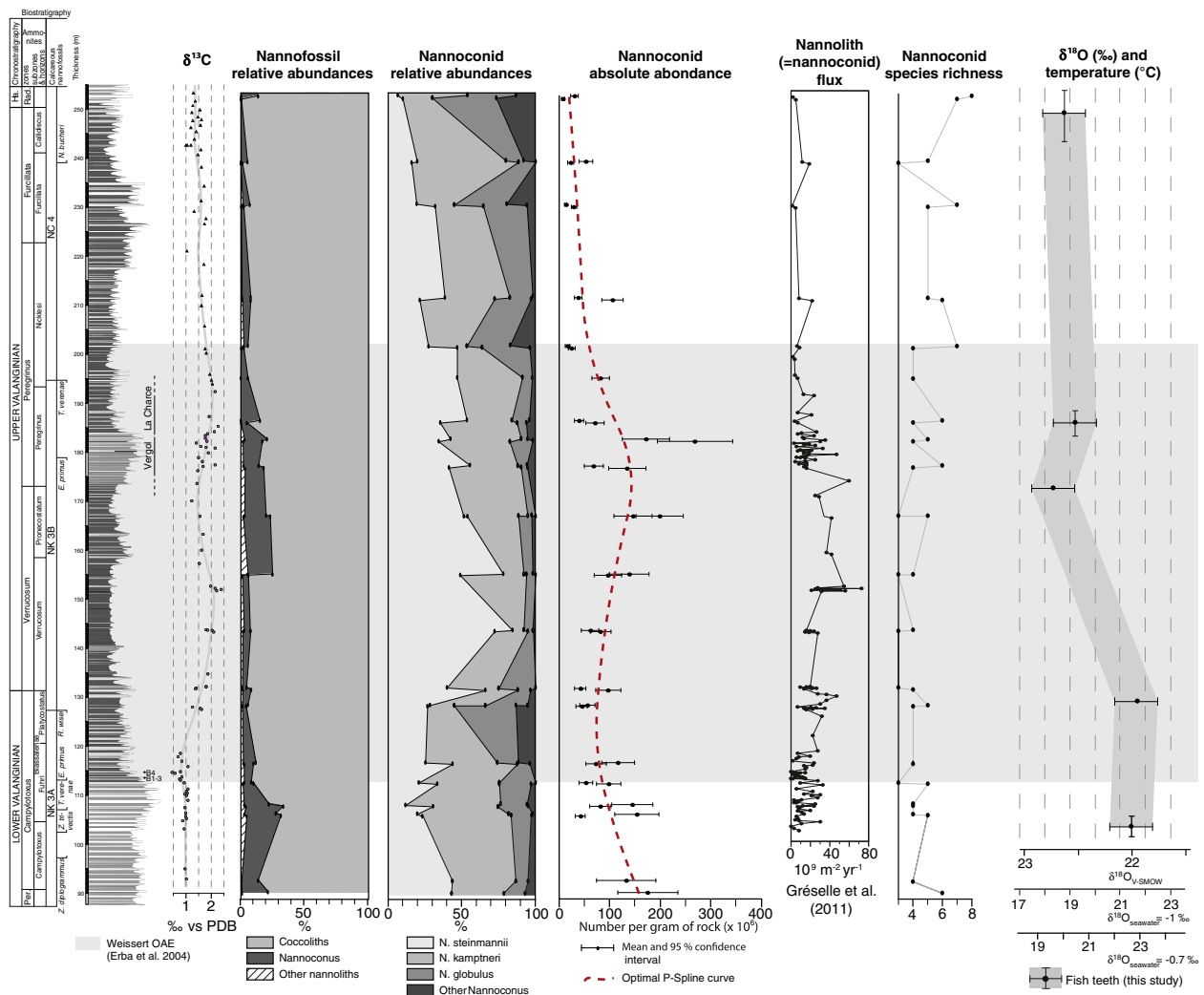


Fig. 3. Stratigraphic distribution of nannoconids and coccoliths in relative cumulated abundance and in absolute abundance and species richness. $\delta^{13}\text{C}$ values are from Hennig et al. (1999) and Gréselle et al. (2011). The shaded area indicates the extent of the Weissert event after Erba et al. (2004). Nannolith (=nannoconid) fluxes per m^2 and per yr^{-1} estimated by Gréselle et al. (2011) for a higher number of samples including the ones we have studied. Temperatures calculated in this work from the $\delta^{18}\text{O}$ of fish teeth using the equation of Pucéat et al. (2010) and a $\delta^{18}\text{O}$ of seawater of -1 or -0.7% . B1 to B4 indicate the Barrande layers 1 to 4 (Reboulet et al., 2003).

Young, 2002; Bornemann et al., 2003; Casellato, 2010) and often they only concern maximum length and width (Table 3). Mixture analysis was applied to all the specimens of the three most abundant species: *N. steinmannii*, *N. kamptneri* and *N. globulus*. For all the parameters measured, the mixture analysis tests (maximum-likelihood and Akaike Information Criterion) show a better fit with a single normal distribution, therefore indicating that data are log-normal distributed (Fig. 6).

There is no significant correlation between the calcium carbonate content and nannoconid size. For this reason and in order to have an average size value for each marl–limestone alternation, nannoconid measurements of specimens coming from the two lithologies were pooled. For length measurements, a mean of 30 specimens per alternation have been counted respectively for *N. steinmannii* and *N. kamptneri* (Fig. 7). According to Erba (1989, 1994), *N. steinmannii* is a narrow-canal nannoconid and *N. globulus* a wide-canal nannoconid. According to our biometric study (Table 2), we propose *N. kamptneri* as an intermediate-canal nannoconid.

Nannoconid length trends are statistically tested with respect to the number of analyzed samples with the P-Spline regression. Smoothing regressions are done on the logarithm of the length because this variable is log-normal distributed. Significant trends and fluctuations appear when applying statistical smoothing for the two main species (Fig. 7): *N. steinmannii* has a significant increase in size around 180 m, near the transition from the Pronocostatum to the Peregrinus Ammonite Subzones. This is followed by a small decrease and a second increase at the end of the Nicklesi Ammonite Subzone. *Nannoconus kamptneri* shows a significant increase in size from the Pronocostatum to the Nicklesi Ammonite Subzones.

4. Discussion

4.1. Temperature evolution

Fish tooth $\delta^{18}\text{O}$ values (Fig. 3) have been translated into temperature using the equation of Pucéat et al. (2010) and a seawater $\delta^{18}\text{O}$

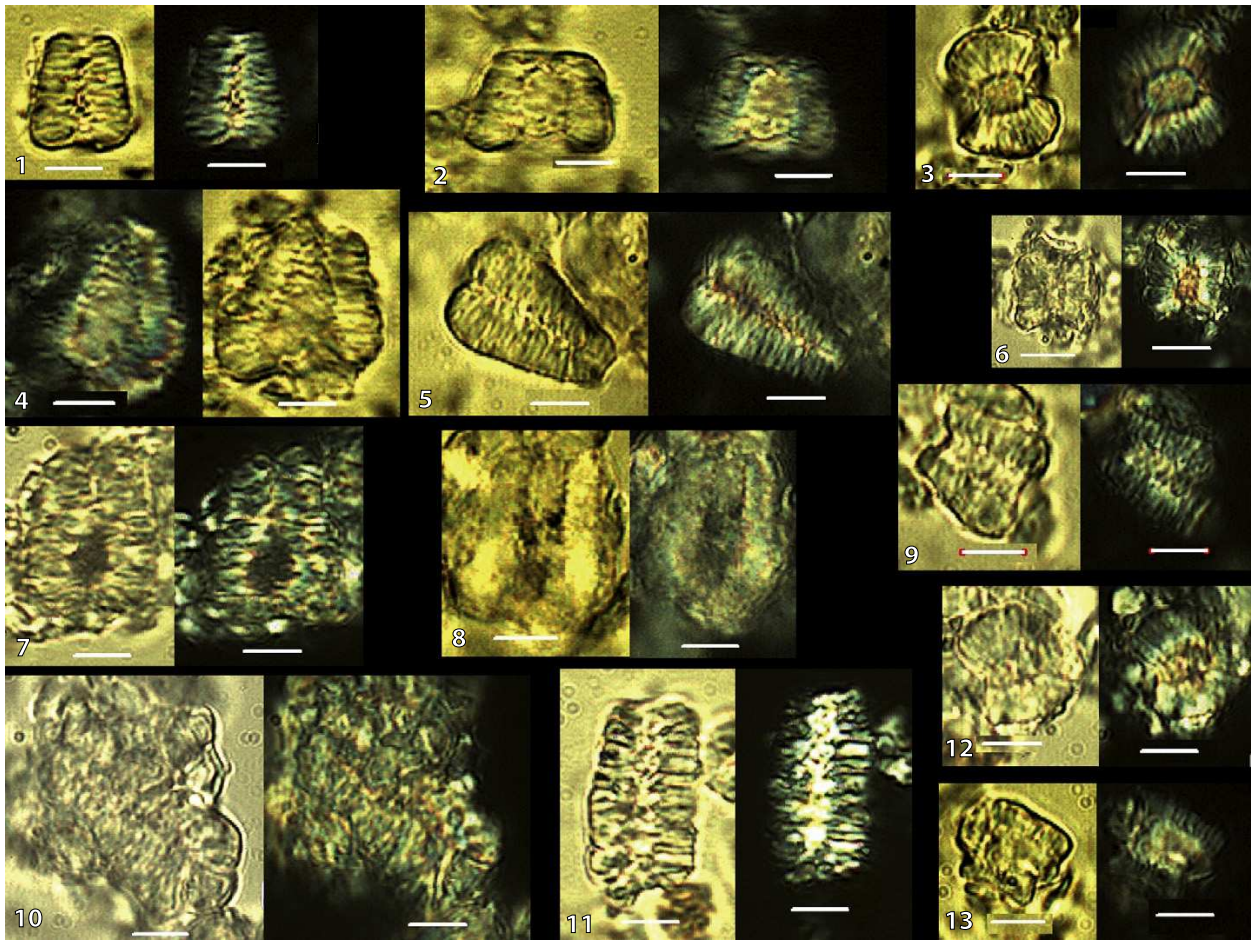


Fig. 4. Micrographs of different species of *Nannoconus* both in non-polarized and polarized optical light. White bars = 4 μ m. 1. *N. steinmannii minor*, 2. *N. broennimannii*, 3. *N. globulus globulus*, 4. *N. bucheri*, 5. *N. steinmannii steinmannii*, 6. *N. cornuta*, 7. *N. colomi*, 8. *N. kamptneri kamptneri*, 9. *N. kamptneri minor*, 10. *N. bermudezii*, 11. *N. dolomiticus*, 12. *N. globulus minor* and 13. *N. quadratus*.

of -1‰_{SMOW} , as suggested for an ice-free world (Shackleton and Kennett, 1975). However, high-latitude ice caps (though probably smaller than today; Price et al., 1998) may have been episodically present during the Valanginian as suggested by the observation of

diamictites (Price, 1999; Alley and Frakes, 2003), glendonite and ikaite (Kemper and Schmitz, 1975; Dalland, 1977; Embry, 1984; Shearman and Smith, 1985; Kemper, 1987), dropstones (Frakes and Francis, 1988) and the evidence of major sea-level fluctuations

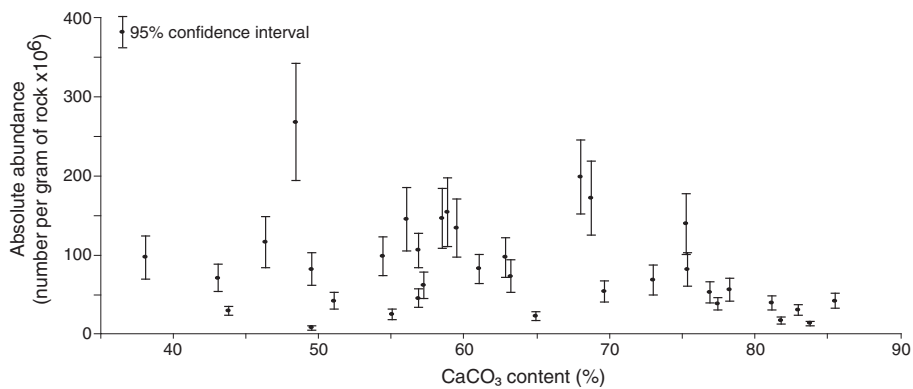


Fig. 5. Absolute abundance of nannoconid plotted against the calcium carbonate percentage.

Table 2Comparisons of mean length sizes (L) and diameters (Wcanal, Wmin and Wmax) of the measured specimens. Unit in μm .

Species	n	L				Wmax		Wmin		Wcanal	
		Mean	Std. dev.	Min.	Max.	Mean	Std. dev.	Mean	Std. dev.	Mean	Std. dev.
<i>N. bermudezii</i>	5	15.03	2.25	11.70	18.55	7.34	1.02	5.39	1.12	0.78	0.19
<i>N. broenimannii</i>	23	8.00	1.28	6.14	11.25	8.54	1.03	5.83	0.81	2.58	0.88
<i>N. bucheri</i>	4	9.39	1.58	6.91	10.88	9.24	1.78	5.94	0.92	3.07	1.32
<i>N. colomii</i>	5	10.00	1.79	7.89	12.32	7.92	0.84	5.64	0.89	0.53	0.04
<i>N. cornuta</i>	16	8.67	1.56	6.16	13.17	8.31	1.20	6.24	1.13	2.08	0.67
<i>N. dolomiticus</i>	3	13.26	1.44	11.48	15.00	7.69	0.80	5.61	0.41	1.57	0.44
<i>N. globulus</i>	173	6.74	1.70			8.88	1.49	6.41	1.26	2.48	0.76
<i>N. globulus g.</i>	53	8.39	1.49	5.07	12.04	9.78	1.21	7.07	1.09	2.98	0.86
<i>N. globulus minor</i>	120	6.01	1.21	3.36	9.09	8.49	1.43	6.12	1.21	2.25	0.59
<i>N. kamptneri</i>	510	7.95	1.74			7.35	1.03	5.13	0.85	1.71	0.44
<i>N. kamptneri k.</i>	96	10.20	1.42	6.56	14.40	7.83	1.04	5.33	0.91	1.85	0.52
<i>N. kamptneri minor</i>	414	7.43	1.34	4.10	11.33	7.23	0.99	5.08	0.83	1.67	0.42
<i>N. quadratus</i>	14	7.13	1.10	5.49	9.11	7.66	0.99	5.96	0.71	2.94	0.68
<i>N. steinmannii</i>	561	8.19	2.01			6.87	1.05	4.61	0.87	0.73	0.18
<i>N. steinmannii s.</i>	391	7.27	1.37	3.89	13.89	6.71	1.03	4.55	0.87	0.70	0.17
<i>N. steinmannii minor</i>	170	10.33	1.55	5.41	15.67	7.26	0.99	4.75	0.86	0.79	0.19
Total	1314										

In bold the name of the species presenting two subspecies.

(Gréselle and Pittet, 2010). An ice-cap approximately one third the size of the present day has been advocated for the cool episodes of the Cretaceous (Price et al., 1998; Price, 1999). If confirmed, this would have resulted in an increase of seawater $\delta^{18}\text{O}$ of about 0.3‰ during these intervals. Therefore, two temperature scales are presented on Figs. 3 and 7 showing temperatures calculated with a seawater $\delta^{18}\text{O}$ of -1‰ and -0.7‰ respectively.

Fish teeth are precipitated in less than a season. This usually results in a dispersion of the $\delta^{18}\text{O}$ values between the teeth of contemporaneous fishes, if they form teeth in different seasons. However, as we combined several millimeter-size fish remains in each sample, seasonal temperature variations should be averaged. In addition, the analyzed fish remains belong to demersal fish. These fishes lived within bottom waters, where seasonal temperature and seawater $\delta^{18}\text{O}$ variations are limited. The reconstructed temperatures, in the $18.4\text{--}21.6\text{ °C}$ range when calculated using a $\delta^{18}\text{O}_{\text{seawater}}$ of -1‰ throughout the Valanginian, are higher than those obtained from bellemnite $\delta^{18}\text{O}$ from the Vocontian Basin, typically in the $10\text{--}14\text{ °C}$ range

when calculated using the equation of Anderson and Arthur (1983) and a $\delta^{18}\text{O}_{\text{seawater}}$ of -1‰ (van de Schootbrugge et al., 2000; McArthur et al., 2007). These new temperatures are in the lower range of the temperatures inferred from pelagic fish (Pucéat et al., 2003) recalculated using the equation of Pucéat et al. (2010) (Figs. 3 and 7). These temperatures of $18.4\text{--}21.6\text{ °C}$ are plausible for bottom waters of an epicontinental environment. The basin probably attained its maximum depth ($\sim 500\text{--}800\text{ m}$) in the Early Cretaceous (Hauterivian–Barremian; Mattioli et al., 2008). As the fish teeth were very small, enamel could not be separated from dentine and the teeth were analyzed as a whole. Because dentine is more porous and has a lower crystallinity than enamel, this material is more prone to recrystallization during diagenesis. Therefore we cannot exclude a partial recrystallization of the fish tooth samples analyzed in this study, that could result in an offset of the calculated temperatures toward higher values. If the trend in paleotemperature fluctuations is conserved, data would indicate a cooling of about 3 °C of bottom temperatures in the Campylotoxus Zone to the Verrucosum Zone. Cooling

Table 3Comparisons of nannoconid range sizes (L) as reported in the literature, with the age and location. Numbers between () correspond to the mean values and the unit is in μm .

Species	L						
<i>N. bermudezii</i>	20–28	12–32					13–40 (21.92)
<i>N. broenimannii</i>		6–8					
<i>N. bucheri</i>	11–14	11–15					8.0–18.5 (11.73)
<i>N. colomii</i>	10–12	11–20					
<i>N. cornuta</i>		10–14					
<i>N. dolomiticus</i>		12–23					6.3–11.2 (8.1)
<i>N. globulus</i>		7–13					
<i>N. globulus g.</i>					6–12		
<i>N. globulus minor</i>			4–8.5				
<i>N. kamptneri</i>	15–22	15–22					4.9–10.9 (6.83)
<i>N. kamptneri k.</i>							10–22 (14.66)
<i>N. kamptneri minor</i>			6–10				4.4–12.5 (7.52)
<i>N. quadratus</i>		4–5					6.5–10 (8.66)
<i>N. steinmannii</i>	10–20 (10.5)						
<i>N. steinmannii minor</i>		8–10					6–10 (8.55)
<i>N. steinmannii s.</i>		10–20					10.5–20 (13.69)
Age	Lower Cretaceous	Tithonian–Aptian	Lower–Middle Berriasian	Upper Thitonian–Lower Berriasian	Berrisian–Aptian	Barremian–Aptian	Tithonian–Barremian
Location	Cuba		Western N. Atlantic, Tethys			Turkey	DSDP Sites 105 (Central Atlantic Ocean)
References	Brönnimann (1955)	Dérès and Achérítéguy (1980)	Bralower et al. (1989)			Ozkan–Altiner (1999)	Bornemann et al. (2003)

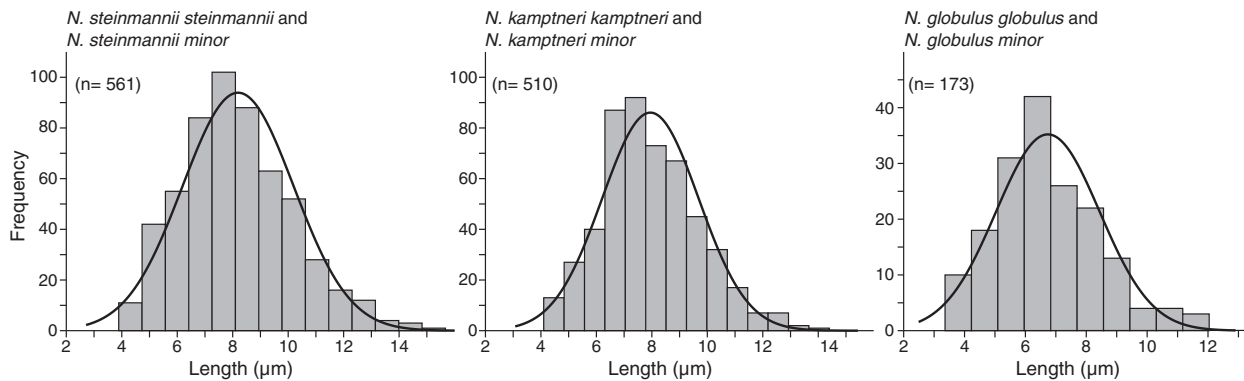


Fig. 6. Frequency distribution of the length values (L) for *N. steinmannii*, *N. kamptneri* and *N. globulus*. Mixture analysis indicates a single log-normal distribution (black curves).

is coherent with belemnite Mg/Ca evolution that highlights minimum bottom temperatures in the Pronocostatum and lower Peregrinus Subzones (Fig. 7; McArthur et al., 2007). If ice caps formed 30% of modern ice coverage during this cooling episode, the temperature decrease during the Verrucosum Zone would be of about 2 °C.

4.2. Nannoconid subspecies discrimination

Our results of biometric measurements (length, maximum and minimum width and the width of the central canal) show no significant difference between *N. globulus globulus* and *N. globulus minor*, *N. kamptneri kamptneri* and *N. kamptneri minor*, *N. steinmannii steinmannii* and *N. steinmannii minor*. However, the majority of the studied interval corresponds to the nannoconid decline event (Erba and Tremolada, 2004; Erba et al., 2004). Therefore, the results of mixture analyses might be an artifact related to a peculiar nannoconid size pattern during this decline. Yet, as reported in previous works (Brönnimann, 1955; Dérès and Achéritéguy, 1980; Perch-Nielsen, 1985; Bralower et al., 1989), the different biostratigraphic distribution of the *minor* and *major* subspecies that in many cases have well defined stratigraphic occurrences would suggest that they are actually different subspecies.

4.3. Nannoconid absolute abundance vs. bulk CaCO₃

Nannoconid absolute abundance shows no linear correlation with increasing calcium carbonate content (Fig. 5). These bulky nannoliths were major carbonate pelagic producers in epicontinental area at low latitudes during the Early Cretaceous (Noël and Busson, 1990; Erba, 1994). However, as it can be seen in Fig. 5, nannoconid absolute abundance decreases significantly with values of CaCO₃ higher than ~70%. Gréselle et al. (2011) measured coccolith and nannolith (= nannoconid) fluxes (per m⁻²yr⁻¹) in the Vergol/La Charce composite section and showed overall higher fluxes in clay-dominated intervals between the uppermost Early Valanginian and the base of Late Valanginian (Fig. 3). The results of this last paper match with the abundance and flux trend measured for *Schizosphaerella* another rock-forming nannolith of *incertae sedis* (Noël and Busson, 1990; Mattioli, 1997). Mattioli and Pittet (2002) interpreted the decrease in *Schizosphaerella* absolute abundance in the carbonate-rich lithologies as the result of a dilution of pelagic material by carbonate supply exported from shallow platforms towards the basin. Similarly, the nannoconid decrease in absolute abundance with calcium carbonate content higher than 70% could be the result of increased carbonate supply from the Jura, Provence and Vivarais platforms surrounding the Vocontian basin (Reboulet et al., 2003; Gréselle and Pittet, 2010; Gréselle et al., 2011).

4.4. A complex nannoconid decline

Nannoconus is thought to have inhabited warm and oligotrophic surface waters with low rates of siliciclastic supply (Noël and Busson, 1990; Busson and Noël, 1991; Coccioni et al., 1992; Bornemann et al., 2003). These nannoliths are more abundant in low-latitude areas, and thus interpreted as typical taxa of warm Tethyan or proto-Atlantic water-masses (Mutterlose, 1992; Mutterlose et al., 2005). Although they are recorded as abundant in the Pacific Ocean (Erba et al., 2004), nannoconids were abundant in epicontinental basins but rarer in open oceans (Noël and Busson, 1990; Busson and Noël, 1991). Mutterlose et al. (2005) explained this pattern by considering nannoconids as meroplanktonic organisms with a benthic stage in their life cycle. Nannoconids are often interpreted as inhabiting the lower photic zone (~80–200 m, according to various oceanographic settings) in a way similar to the modern coccolithophore *Florisphaera profunda* (Erba, 1994; Herrle, 2003). If this holds true, the paleo-nutricline depth probably controlled their abundance (Erba, 1994; Herrle, 2003; Bornemann et al., 2005; Mutterlose et al., 2005). Erba (2004), based on the mass of individual specimens and a supposed relationship between nannofossil mass and water-depth, proposed that narrow-canal nannoconids (heavier) inhabited the lower photic zone, whilst wide-canal nannoconids (lighter) would have lived in the intermediate photic zone.

The nannoconid decline, described by Erba and Tremolada (2004) as a drastic decrease in relative abundance and fluxes, appears to be a complex event in terms of assemblages, size and absolute abundance. According to our data, we can subdivide the Valanginian nannoconid decline into three distinct phases characterized by changes in relative and absolute abundance as well as species-specific size variations. These phases correspond to variations of bulk rock $\delta^{13}\text{C}$ as well, and likely reflect different paleoceanographic conditions.

4.4.1. First phase of the decline

According to the estimations in Gréselle and Pittet (2010) and Gréselle et al. (2011), this phase lasted 0.8 Myr (Fig. 8). Intermediate- and wide-canal nannoconids, namely *N. kamptneri* and *N. globulus*, dominate the assemblages at the base of the studied section in times of low nannoconid absolute abundance and fluxes (Bassalense Ammonite Subzone, Figs. 3 and 7). This interval corresponds to the onset of the nannoconid decline, prior to and at the base of the $\delta^{13}\text{C}$ positive shift. The decrease in the percentage of *Nannoconus* is accentuated by an increase in coccolith abundance across the Barrande Layers (Reboulet et al., 2003). Nannoconid species richness is relatively low and stable. The most clay-rich interval occurring during the positive carbon isotope excursion in the Verrucosum Ammonite Zone is dominated by the narrow-canal *N. steinmannii*. Sizes

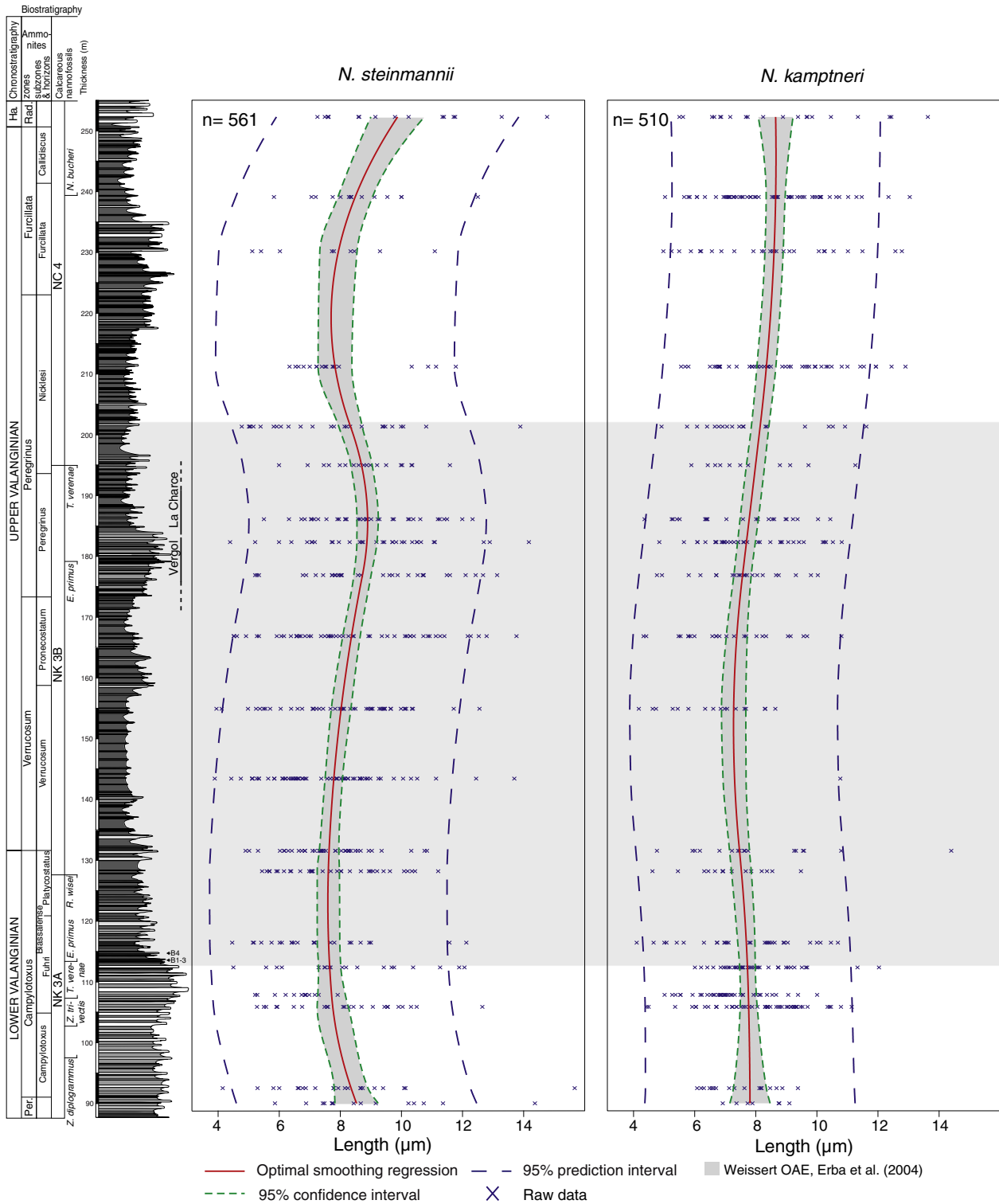


Fig. 7. Stratigraphic distribution of the length (L) of *N. steinmannii* and *N. kamptneri*. The penalized-spline regression shows significant stratigraphic trends for both species.

of *N. steinmannii* and *N. kamptneri* are relatively small. In the Vergol section an increase in kaolinite proportion (Fesneau, 2008) and in clay accumulation rate (Gréselle et al., 2011) have been observed,

which suggests humid conditions (Chamley, 1989). In the Angles section, the Weathering Index show a major increase during this interval (Duchamp-Alphonse et al., 2011). Increased river runoff is also

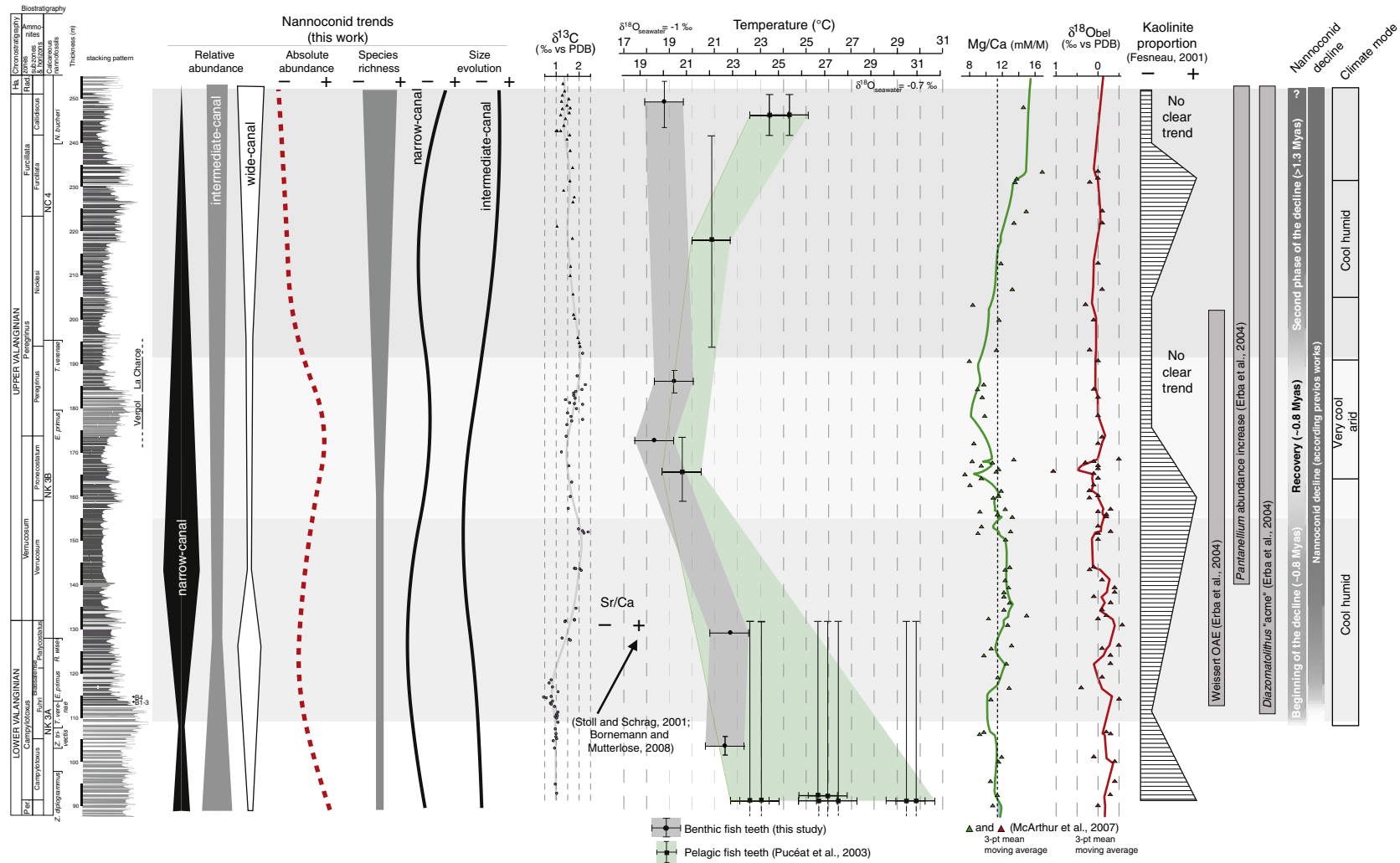


Fig. 8. Synthesis of our results (relative and absolute abundances, species richness and size evolution) compared with geochemical data ($\delta^{13}C$ from Hennig et al. (1999) and Gréselle et al. (2011), temperatures from fish teeth recalculated from Pucéat et al. (2003) using the equation of Pucéat et al. (2010) and this work, Mg/Ca and $\delta^{18}O$ from belemnites (McArthur et al., 2007)), kaolinite content (Fesneau, 2008), *Diazomatolithus* and *Pantanelium* data (Bersezio et al., 2002; Erba et al., 2004) and Sr/Ca (Stoll and Schrag, 2001; Bornemann and Mutterlose, 2008), the onset of nannoconid decline (Erba and Tremolada, 2004), the First Decline, the Recovery, the Decline acme and the climatic mode interpretation. The shaded area indicates the extent of the Weissert event after Erba et al. (2004).

N. Barbarnin et al. / *Marine Micropaleontology* 84–85 (2012) 37–53

supported by a global rise in continental P input passing from the Early to the Late Valanginian (Föllmi, 1995; van de Schootbrugge et al., 2003), and by the increase in terrigenous input recorded in south Tethyan areas (Bersezio et al., 2002). This interval corresponds to an important increase in the Sr/Ca ratio, which may reflect an increase in coccolithophorid productivity, measured in correlative intervals on two North Atlantic DSDP sites (534A and 603B (Stoll and Schrag, 2001); Fig. 7). In the same samples, Bornemann and Mutterlose (2008) noticed an increase in nannofossil taxa thought to be indicative of high productivity conditions. A similar increase in Sr/Ca ratio of bulk rock is documented by Duchamp-Alphonse et al. (2007) in the Angles section (Vocontian Basin). Based on these mineralogical and geochemical proxies, the nannoconid decline would therefore have occurred in times of enhanced fluxes of continent-derived nutrients and increased coccolithophore productivity, as previously proposed by Bersezio et al. (2002), Erba et al. (2004), Erba and Tremolada (2004), and Bornemann and Mutterlose (2008). A net increase in absolute abundance of coccoliths indicative of high productivity conditions (like *Biscutum*, small *Zeugrhabdotus* and *Diazomatolithus*) is also recorded in this interval in the Vergol/La Charce samples (Mattioli, personal observation). This decline clearly precedes the cool episode recorded during the Pronocostatum Ammonite Subzone, evidenced by high fish tooth and belemnite $\delta^{18}\text{O}$ and low belemnite Mg/Ca (Fig. 7; McArthur et al., 2007).

4.4.2. Temporary recovery

A duration of 0.8 Myr can be estimated for this interval, according to cyclostratigraphy in Gréselle and Pittet (2010) and Gréselle et al. (2011) (Fig. 8). A nannoconid recovery is observed during the positive excursion in $\delta^{13}\text{C}$. Actually the shape of the carbon isotope curve shows two intervals of maximum values separated by a minor decrease of about 0.5‰, corresponding to the Pronocostatum and part of the Peregrinus Ammonite Subzones. The highest nannoconid abundances and fluxes measured between the two $\delta^{13}\text{C}$ maxima match with a recovery of *N. steinmannii* and *N. kamptneri* sizes to pre-decline values. At the same time, nannoconid richness starts to increase (Fig. 8). This interval is characterized by the lowest temperatures estimates as shown by Pucéat et al. (2003), McArthur et al. (2007) and our fish tooth $\delta^{18}\text{O}$ data (Fig. 7). High fertility conditions occurred in oceanic surface waters based on a peak in abundance of the coccolith *Diazomatolithus* (Bersezio et al., 2002; Erba and Tremolada, 2004; Erba et al., 2004) and of productivity-index taxa (Bornemann and Mutterlose, 2008). In the Pacific Ocean, high productivity is also inferred on the basis of a peak in the radiolarian *Pantanelium* (Erba et al., 2004; Fig. 7). However, the decrease in kaolinite proportion (Fesneau, 2008) and relatively low clay accumulation rate (Gréselle et al., 2011) observed in this interval in the Vocontian Basin may reflect drier conditions, which would be associated with a lower input of continent-derived nutrients. This interpretation is also supported by a strong decrease of the Weathering Index in the Angles Section (Duchamp-Alphonse et al., 2011). According to Duchamp-Alphonse et al. (2007), the Sr/Ca ratio in the Angles section slightly decreases during the $\delta^{13}\text{C}$ peak. This decrease may reflect a reduction in coccolithophorid productivity as also suggested by relatively low coccolith flux to the sediment (Gréselle et al., 2011). Nannoconid recovery may therefore have been mostly controlled by the decrease in clay and nutrient inputs.

4.4.3. Second phase of the decline

The interval studied here does not include the definitive nannoconid recovery that likely occurred in the Early Hauterivian. The duration of the second phase of decline is therefore longer than 1.3 Myr, that is the interval comprised between the Nicklesi ammonite Subzone and the top section according to Gréselle and Pittet (2010) and Gréselle et al. (2011) (Fig. 8). In the upper part of the studied interval, after the second $\delta^{13}\text{C}$ maximum, the major nannoconid decline seems

to occur at the end of the Peregrinus Ammonite Subzone when carbon isotope values gently decrease. The nannoconid abundances and fluxes are minimal and richness is maximal. A gradual decrease in abundance of narrow-canal nannoconids is observed along with an increase of the wide-canal nannoconids (Figs. 3 and 7). This second decline is associated to a decrease in size of *N. steinmannii* (with values comparable to those recorded at the base of the section), whilst *N. kamptneri* size continues to gradually increase until the end of the Nicklesi Ammonite Subzone. From the Peregrinus Ammonite Subzone to the end of the Valanginian, higher seawater temperatures are inferred on the basis of Mg/Ca ratios measured on belemnite calcite and oxygen isotope ratios derived from fish tooth apatite analyses (Pucéat et al., 2003; McArthur et al., 2007). Conversely, both belemnite $\delta^{18}\text{O}$ and an isolated fish tooth sample from the La Charce section indicate low temperatures in this interval. According to the work of Erba and Tremolada (2004), Duchamp-Alphonse et al. (2007) and Bornemann and Mutterlose (2008), surface water fertility is moderate to high in time-equivalent sections and boreholes. Such moderate-to-high fertility conditions are consistent with the record of increased kaolinite content and related humid conditions in the La Charce section during this period (Fesneau, 2008). Carbonate production in shallow platform areas surrounding the Vocontian basin is at its lowest during this time interval, probably due to high trophic conditions (Gréselle and Pittet, 2010; Gréselle et al., 2011).

4.5. Paleoenvironmental factors controlling changes in nannoconid size and abundance

The nannoconid temporary recovery occurring during maximum $\delta^{13}\text{C}$ values in the Vergol/La Charce section (+17%) can be compared with previous studies based on pelagic sediments of the Valanginian interval. A recovery of relative nannoconid abundance can be seen in various sections/boreholes (Fig. 9): in the Vocontian basin (+5% in the Angles section; Duchamp-Alphonse et al., 2007), in the Atlantic Ocean (+13% in DSDP Site 534A; Bornemann and Mutterlose, 2008) and in north Italy (+20% in the Cisono Core; Erba and Tremolada, 2004). Therefore this recovery may reflect changes in environmental conditions at a supra-regional scale. However, our work provides the most detailed record of this nannoconid recovery, allowing precise descriptions of the timing of the nannoconid events and paleoenvironmental changes associated. The high sedimentation rate measured in the sections from the Vocontian Basin is probably the cause of an expanded record including the nannoconid temporary recovery, less visible in pelagic/oceanic sections due to lower sedimentation rates.

Among different factors, surface water temperature and nutrient availability are thought to be the most important parameters controlling the distribution of Cretaceous calcareous nannofossils and the assemblage composition (Bornemann et al., 2003; Erba and Tremolada, 2004; Weissert and Erba, 2004; Lees et al., 2005; Mutterlose et al., 2005; Erba, 2006; Duchamp-Alphonse et al., 2007; Bornemann and Mutterlose, 2008), but $p\text{CO}_2$ has been also considered as a major trigger for nannoplankton calcification decreases (Bornemann et al., 2003; Erba and Tremolada, 2004; Weissert and Erba, 2004; Erba et al., 2010). We will discuss below about the influence of these different factors on nannoconid abundance and size.

4.5.1. Nutrients, paleofertility and nutricline dynamics

High paleofertility conditions likely occurred at the beginning of the first nannoconid decline observed in this work. The first nannoconid decline and the size decrease of *N. steinmannii* seem therefore mainly triggered by an intensification of ocean fertility and, at least for the Vocontian Basin, by an increased water turbidity due to the rise in siliciclastic input and related supply in continent-derived nutrients. These conditions were probably concomitant with a shallow nutricline and a decrease of the light penetration within the photic

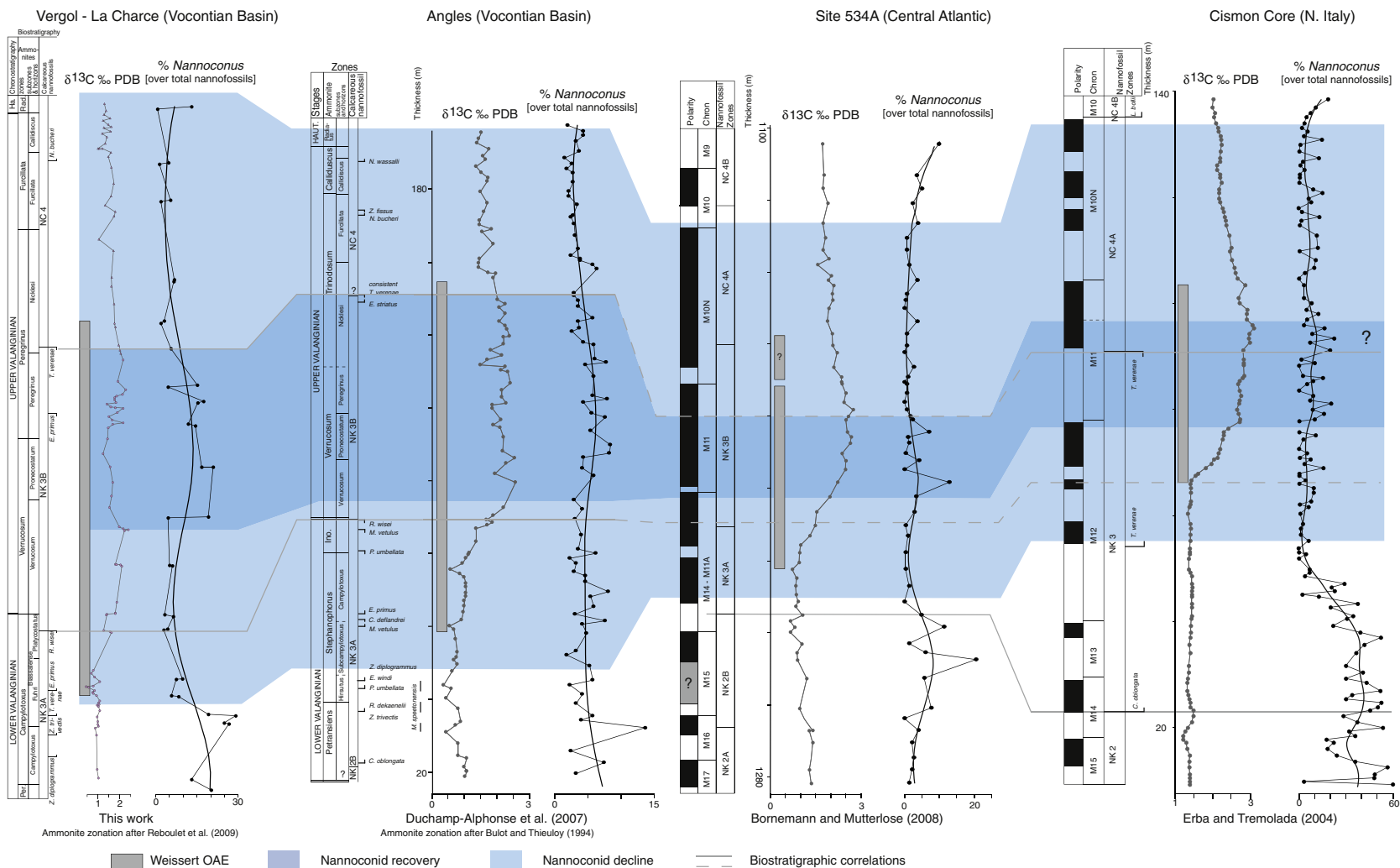


Fig. 9. Nannoconid relative abundance of this work compared with previous studies (Erba and Tremolada, 2004; Duchamp-Alphonse et al., 2007; Bornemann and Mutterlose, 2008). Note the difference in the Ammonite biozonation of Vergol-La Charce (Reboulet et al., 2009) and Angles (Bulot and Thieuloy, 1994). The shaded area indicates the extent of the Weissert event after Erba et al. (2004).

N. Barbarni et al. / Marine Micropaleontology 84-85 (2012) 37-53

zone. Similar conditions also probably occurred during the second nannoconid decline.

The interval corresponding to the nannoconid temporary recovery is dominated by narrow and intermediate-canal nannoconid, high nannoconid abundance and a decrease in the kaolinite proportion (Fesneau, 2008). These changes may have occurred during a decrease in continent-derived nutrients and in water turbidity. According to various authors (Erba, 1994; Herrle, 2002; Erba and Tremolada, 2004; Erba et al., 2004; Bornemann et al., 2005), this nannoconid assemblage could be indicative of oligotrophic surface water conditions probably related to a deeper nutricline.

4.5.2. Temperatures, sea-level and ocean saturation state

Although recent papers point to homogeneous and high surface water temperature during the Valanginian based on the new proxy TEX₈₆ (Littler et al., 2011), our new data from biogenic apatite indicate a significant cooling passing from the Early to the Late Valanginian. Our data are thus in agreement with previous papers documenting this cooling trend (Pucéat et al., 2003; McArthur et al., 2007). The nannoconid recovery and the rise in the size of *N. steinmannii* and *N. kamptneri* occur during the inferred thermal minimum (Figs. 7 and 8). The observed nannoconid sizes and abundance patterns of this study are thus similar to the “Nannofossil Calcification Event” (NCE) in the Tithonian (Bornemann et al., 2003). These authors interpret climatic conditions during the NCE as cold and arid with oligotrophic surface waters. A similar climatic mode interpretation is proposed here for the Valanginian nannoconid recovery. Patterns of size increase during cold periods have been observed for other nannoliths like *Schizosphaerella (incertae sedis)* during the Lower Jurassic (Suan et al., 2008; Suan et al., 2010).

The late Early Valanginian–earliest Hauterivian interval is characterized by a major carbonate platform crisis (Weissert et al., 1979; Masse and Philip, 1981; Schlager, 1981; Harris et al., 1984; F ollmi et al., 1994; Weissert et al., 1998; F ollmi et al., 2006; Gr eselle and Pittet, 2010), a cooling phase (this work and McArthur et al., 2007), and important relative sea-level changes glacio-eustatic in origin (Gr eselle and Pittet, 2010). According to Ridgwell (2005), a supply of Ca²⁺ and HCO₃[−] to the ocean can occur during low sea-level limiting the potential area for the deposition of shallow water carbonates. This increased supply facilitates environmentally controlled precipitation (Riding, 1993), because the higher is the saturation state, the more thermodynamically favorable is calcification to take place (Ridgwell, 2005; Ridgwell et al., 2009). The carbonate saturation state of the oceans may have controlled biogenic calcification (Watabe and Wilbur, 1966; Rost and Riebesell, 2004; Schmidt et al., 2006; Mattioli et al., 2009). So an increase of the calcium carbonate saturation state in the Vocontian basin during Valanginian may have triggered or facilitated the increase of the nannoconid size and abundance during the recovery phase (Figs. 3, 7 and 8).

4.5.3. Atmospheric CO₂

An increase of the volcanic activity of the Paran –Etendeka Large Igneous Province (LIP) linked to the release of CO₂ into the atmosphere/hydrosphere system was inferred for the Valanginian by Erba et al. (2004), Erba and Tremolada (2004), Weissert and Erba (2004) and McArthur et al. (2007). High atmospheric pCO₂ could have triggered small nannoconid size and low abundances, as this parameter is known to hamper biocalcification of different marine organisms (Backman and Hermelin, 1986; Gattuso and Buddemeier, 2000; Riebesell et al., 2000; Zondervan et al., 2001; Rost and Riebesell, 2004; Rost et al., 2008). The injection of volcanogenic CO₂ into the atmosphere would induce a climate warming, as CO₂ is one of the most important greenhouse gases. But conversely, paleontological, sedimentological or geochemical data (unless TEX₈₆) show no evidence of a warming but geochemical data argue for a cooling during the Upper Valanginian (Figs. 3 and 7). Also, an injection in the atmosphere of volcanic ¹³C-depleted CO₂ is expected to produce a

negative shift in δ¹³C, but the Weissert event (Erba et al., 2004) is characterized by a positive excursion. Moreover, it is difficult to directly link the Paran –Etendeka igneous event (main pulse between 134 and 132 My; Gibson et al., 2006) to the two observed nannoconid declines because at present there are no radiometric ages to directly calibrate the Valanginian CIE and associated biotic events with geochronology.

If a temporal link between the Paran –Etendeka volcanism and the Valanginian δ¹³C excursion characterizing the Weissert event is supported in some recent papers (Peate, 2009; Zhu et al., 2009), other authors challenge this interpretation (Thiede and Vasconcelos, 2010). The revised stratigraphic framework based on McArthur et al. (2007) suggests a major offset of several million years between the main volcanic phase in South America (Paran ) and the Weissert event (see discussion by Bornemann and Mutterlose, 2008). The volcanic activity in the Etendeka province (Africa; Milner et al., 1995; Renne et al., 1996) is younger than the main phase of the Parana volcanism (Thiede and Vasconcelos, 2010; Janasi et al., 2011; Pinto et al., 2011), i.e. definitely of Hauterivian age and therefore not relevant for the Valanginian Weissert event. Consequently, based on present data it is difficult to directly link the nannoconid decline(s) and recovery to increased volcanic CO₂ degassing, and any clear link between nannoconid size and abundance changes with pCO₂ can be unequivocally established.

5. Conclusions

The nannoconid decline event has been essentially described as a decrease in abundance and fluxes of these nannoliths (Erba and Tremolada, 2004), but this event is also marked by a general size decrease of some species of *Nannoconus*, namely *N. steinmannii* and *N. kamptneri* that are usually dominant in nannoconid assemblages. This nannoconid decline is polyphased and characterized by a supra-regional and short-lived recovery, followed by a second phase of decline. The recovery event is observed in different oceanic sites, although it is best recorded in the Vocontian Basin probably because of the expanded sedimentary record. This suggests the Valanginian nannoconid recovery event occurred at low latitudes. A potential increase of the atmospheric and oceanic CO₂ activated by an enhanced volcanism (Weissert and Erba, 2004) seems not to be a viable hypothesis to explain the nannoconid decrease. An increase in the nutrient supply to ocean surface waters appears a more likely trigger for the beginning and the paroxysm of the nannoconid decline also according to Erba and Tremolada (2004) and Bornemann and Mutterlose (2008). The recovery event, conversely, seems to occur during dry and cool climatic conditions along with probably more oligotrophic surface waters. However, the effective influence of the ocean carbonate saturation state on the nannoconid biocalcification crisis cannot be completely ruled out.

This polyphased nannoconid decline contributes to our understanding of the Valanginian Weissert event (Erba et al., 2004). The observed trends in sizes and abundances are potentially not consistent with magmatic events, like the activity of the Paran –Etendeka LIP at 132 Ma (Channell et al., 1993; Renne et al., 1996), or with the hypothesis of reversed greenhouse conditions driven by weathering of basalts and subsequent CO₂ drawdown (Erba et al., 2004). The Valanginian nannoconid decline was a complex event occurring in time of profound environmental perturbations. The important variations in size and abundance observed within the *Nannoconus* group at a species level appear to correlate well with major oceanographic changes. The results of this work point to a great sensitivity of the different *Nannoconus* species to oceanographic perturbations. Extensive studies of the whole nannoconid group represent therefore a powerful tool to achieve accurate reconstructions of paleoenvironmental and paleoceanographic changes during Cretaceous.

Acknowledgments

We are very grateful to Luc Beaufort, Gilles Escarguel, Stéphane Reboulet, Silvia Gardin, Corinne Fesneau, Fabrice Monna and Rémi Laffont for their constructive remarks and advices. Remarks and comments by two anonymous reviewers and Frans Jorissen greatly improved this manuscript. This work was funded by the Project FABER to Emmanuelle Vennin and Emmanuelle Pucéat, and by the project ECLIPSE II to Bernard Pittet, Emanuela Mattioli and Benjamin Gréselle. Contribution ISE-M no. 2010–50.

Taxonomic appendix

Biscutum Black in Black and Barnes 1959
Diazomatolithus Noël 1965
Florisphaera profunda Okada and Honjo 1973
Nannoconus Kamptner, 1931
Nannoconus bermudezii Brönnimann, 1955
Nannoconus bonetii Tréjo 1959
Nannoconus broenimannii Tréjo 1959
Nannoconus bucheri Brönnimann, 1955
Nannoconus circularis Dérès and Achéritéguy, 1980
Nannoconus colomii de Lapparent 1931
Nannoconus compressus Bralower et al., 1989
Nannoconus cornuta Dérès and Achéritéguy, 1980
Nannoconus dolomiticus Cita & Pasquare 1959
Nannoconus globulus Brönnimann, 1955 ssp. *globulus*
Nannoconus globulus Brönnimann, 1955 ssp. *minor* Bralower et al., 1989
Nannoconus infans Bralower et al., 1989
Nannoconus kamptneri Brönnimann, 1955 ssp. *kamptneri*
Nannoconus kamptneri Brönnimann, 1955 ssp. *minor* Bralower et al., 1989
Nannoconus quadratus Noël 1958
Nannoconus steinmannii Kamptner, 1931 ssp. *steinmannii*
Nannoconus steinmannii ssp. *minor* Dérès and Achéritéguy, 1980
Nannoconus truitii Brönnimann, 1955
Nannoconus wassallii Brönnimann, 1955
Pantanelium Pessagno 1977
Schizosphaerella Deflandre and Dangeard (1938)
Staurolithes Caratini 1963
Zeughradotus Reinhardt 1965

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at doi:10.1016/j.marmicro.2011.11.005.

References

- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19, 716–723.
- Alley, N.F., Frakes, L.A., 2003. First known cretaceous glaciation: Livingston Tillite Member of the Cadna-owie Formation, South Australia. *Australian Journal of Earth Sciences* 50, 139–144.
- Anderson, T.F., Arthur, M.A., 1983. Stable isotopes of oxygen and carbon and their application to sedimentologic and paleoenvironmental problems. In: Arthur, M.A., Anderson, T.F., Kaplan, I.R., Veizer, J., Land, L.S. (Eds.), *Stable Isotopes in Sedimentary Geology*. SEPM Short Course, Tulsa, pp. 1–151.
- Applegate, J.L., Bergen, J.A., 1988. Cretaceous calcareous nanofossil biostratigraphy of sediments recovered from the Galicia margin, ODP Leg 103. In: Boillot, G., Winterer, E.L., Meyer, A.W., Applegate, J.L., Baltuck, M., Bergen, J.A., Comas, M.C., Davies, T.A., Dunham, K., Evans, C.A., Girardeau, J., Goldberg, D., Haggerty, J.A., Jansa, L.E., Johnson, J.A., Kasahara, J., Loreau, J.P., Luna, E., Moulade, M., Ogg, J.G., Sarti, M., Thurrow, J., Williamson, M.A. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program. Scientific Results*, Ocean Drilling Project, College Station, TX, pp. 293–348.
- Atrops, F., Reboulet, S., 1995. Valanginian lowermost–Hauterivian of the Vocontian trough and Provencal platform – zonation and correlations. *Comptes Rendus De L'Academie Des Sciences Série II* 320, 985–992.
- Backman, J., Hermelin, J.O.R., 1986. Morphometry of the Eocene nanofossil *Reticulofenestra umbilicus* lineage and its biochronological consequences. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 57, 103–116.
- Beaufort, L., 1991. Adaptation of the random settling method for quantitative studies of calcareous nanofossils. *Micropaleontology* 37, 415–418.
- Bersezio, R., Erba, E., Gorza, M., Riva, A., 2002. Berriasian–Aptian black shales of the Maiolica formation (Lombardian Basin, Southern Alps, Northern Italy): local to global events. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 180, 253–275.
- Bornemann, A., Mutterlose, J., 2008. Calcareous nanofossil and $\delta^{13}\text{C}$ records from the Early Cretaceous of the Western Atlantic Ocean: evidence for enhanced fertilization across the Berriasian–Valanginian transition. *Palaios* 23, 821–832.
- Bornemann, A., Aschwer, U., Mutterlose, J., 2003. The impact of calcareous nanofossils on the pelagic carbonate accumulation across the Jurassic–Cretaceous boundary. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 199, 187–228.
- Bornemann, A., Pross, J., Reichelt, K., Herrle, J.O., Hemleben, C., Mutterlose, J., 2005. Reconstruction of short-term palaeoceanographic changes during the formation of the Late Albian ‘Niveau Breistroffer’ black shales (Oceanic Anoxic Event 1d, SE France). *Journal of the Geological Society* 162, 623–639.
- Bown, P.R., 2005. Calcareous nannoplankton evolution: a tale of two oceans. *Micropaleontology* 51, 299–308.
- Bown, P.R., Rutledge, D.C., Crux, J.A., Gallagher, L.T., 1998. Lower Cretaceous. In: Bown, P.R. (Ed.), *Calcareous Nannoplankton Biostratigraphy*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/ Boston/ London, pp. 86–131.
- Bown, P.R., Lees, J.A., Young, J.R., 2004. Calcareous nannoplankton evolution and diversity through time. In: Thierstein, H.R., Young, J.R. (Eds.), *Coccolithophores: From Molecular Processes to Global Impact*. Springer-Verlag Berlin, Berlin, pp. 481–508.
- Bralower, T.J., Monechi, S., Thierstein, H.R., 1989. Calcareous nanofossil zonation of the Jurassic–Cretaceous boundary interval and correlation with the geomagnetic polarity timescale. *Marine Micropaleontology* 14, 153–235.
- Bralower, T.J., Leckie, R.M., Sliter, W.V., Thierstein, H.R., 1995. An integrated Cretaceous microfossil biostratigraphy. In: Berggren, W.A., Kent, D.V., Aubry, M.P., Hardenbol, J. (Eds.), *Geochronology, Time Scales and Global Stratigraphic Correlation*. SEPM, special publication, Tulsa, pp. 65–79.
- Brönnimann, P., 1955. Microfossils incertae sedis from the Upper Jurassic and Lower Cretaceous of Cuba. *Micropaleontology* 1, 28–51.
- Bulot, L., Thieuloy, J.-P., 1994. Les biohorizons du Valanginien du Sud-Est de la France: un outil fondamental pour les corrélations au sein de la Téthys occidentale. In: Bulot, L., Argot, M., Arnaud, H. (Eds.), *Lower Cretaceous Cephalopod Biostratigraphy of the Western Tethys*. Géologie Alpine, Grenoble, pp. 15–42.
- Busson, G., Noël, D., 1991. Les nannoconidés indicateurs environnementaux des océans et mers épicontinentales du Jurassique terminal et du Crétacé inférieur. *Oceanologica Acta* 14, 333–356.
- Cappetta, H., 1987. Mesozoic and Cenozoic Elasmobranchii, Chondrichthyes II. In: Schultze, H.P. (Ed.), *Handbook of Paleichthyology*. Gustav Fischer, New York, pp. 1–193.
- Casellato, C.E., 2010. Calcareous nanofossil biostratigraphy of Upper Cretaceous–Lower Berriasian successions from the Southern Alps, North Italy. *Rivista Italiana Paleontologia Stratigraphia* 116, 357–404.
- Chamley, H., 1989. *Clay Sedimentology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Channell, J.E.T., Erba, E., Lini, A., 1993. Magnetostratigraphic calibration of the Late Valanginian carbon-isotope event in pelagic limestones from Northern Italy and Switzerland. *Earth and Planetary Science Letters* 118, 145–166.
- Cocconi, R., Erba, E., Premolisilva, I., 1992. Barremian–Aptian calcareous plankton biostratigraphy from the Gorgo Cerbara section (Marche, Central Italy) and implications for plankton evolution. *Cretaceous Research* 13, 517–537.
- Cotillon, P., Ferry, S., Gaillard, C., Jautée, E., Latreille, G., Rio, M., 1980. Fluctuations des paramètres du milieu marin dans le domaine vocontien (France du Sud-Est) au Crétacé inférieur: mise en évidence par l'étude de formations marno-calcaires alternantes. *Bulletin de la Société Géologique de France* 22, 735–744.
- Dalland, A., 1977. Erratic clasts in the Lower Tertiary deposits of Svalbard; evidence of transport by winter ice. *Norsk Polarinstittutt Årbok*, pp. 151–165.
- Dempster, A.P., Laird, N.M., Rubin, D.B., 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society* 39, 1–38.
- Dérès, F., Achéritéguy, J., 1970. Contribution à l'étude des nannoconidés dans le Crétacé inférieur du bassin d'Aquitaine. S.N.P.A. – Direction Exploration et Production – Centre de Recherche – Pau, préprint pour le Colloque sur les méthodes et tendances de Stratigraphie. 8 pp.
- Dérès, F., Achéritéguy, J., 1980. Biostratigraphie des nannoconidés. *Bulletin des Centre de Recherches Exploration-Production Elf-Aquitaine* 4, 1–53.
- Duchamp-Alphonse, S., Gardin, S., Fiet, N., Bartolini, A., Blamart, D., Pagel, M., 2007. Fertilization of the northwestern Tethys (Vocontian basin, SE France) during the Valanginian carbon isotope perturbation: evidence from calcareous nanofossils and trace element data. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 243, 132–151.
- Duchamp-Alphonse, S., Fiet, N., Adatte, T., Pagel, M., 2011. Climate and sea-level variations along the northwestern Tethyan margin during the Valanginian C-isotope excursion: mineralogical evidence from the Vocontian Basin (SE France). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 302, 243–254.
- Eilers, P.H.C., Marx, B.D., 1996. Flexible smoothing with B-splines and penalties. *Statistical Science* 11, 89–102.
- Embry, A.F., 1984. Canadian Society of Exploration Geophysicists. National Convention. Canadian Society of Petroleum Geology, Calgary, Alberta, pp. 49–50.
- Erba, E., 1989. Upper Jurassic to Lower Cretaceous *Nannoconus* distribution in some sections from northern and central Italy. *Memorie di Scienze Geologiche* 41, 255–261.
- Erba, E., 1994. Nanofossils and superplumes: the early Aptian “nannoconid crisis”. *Paleoceanography* 9, 483–501.

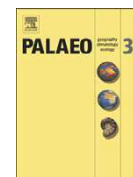
- Erba, E., 2004. Calcareous nanofossils and Mesozoic oceanic anoxic events. *Marine Micropaleontology* 52, 85–106.
- Erba, E., 2006. The first 150 million years history of calcareous nannoplankton: biosphere–geosphere interactions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 232, 237–250.
- Erba, E., Tremolada, F., 2004. Nannofossil carbonate fluxes during the Early Cretaceous: phytoplankton response to nitrification episodes, atmospheric CO₂, and anoxia. *Palaeogeography* 19, 1–18.
- Erba, E., Bartolini, A., Larson, R.L., 2004. Valanginian Weissert oceanic anoxic event. *Geology* 32, 149–152.
- Erba, E., Bottini, C., Weissert, H.J., Keller, C.E., 2010. Calcareous nannoplankton response to surface-water acidification around Oceanic Anoxic Event 1a. *Science* 329, 428–432.
- Ferry, S., 1991. Une alternative au modèle de stratigraphie séquentielle d'Exxon: la modulation tectono-climatique des cycles orbitaux. In: Cottillon, P., Ferry, S. (Eds.), *Mesozoic Eustasy Record on Western Tethyan Margins*, Géologie Alpine h. s. pp. 47–99.
- Fesneau, C., 2008. Enregistrement des changements climatiques dans le domaine téthysien au Valanginien. Ph.D. Thesis, Université de Bourgogne, Dijon, France, p. 337.
- Fesneau, C., Deconinck, J.F., Pellenard, P., Reboulet, S., 2009. Evidence of aerial volcanic activity during the Valanginian along the northern Tethys margin. *Cretaceous Research* 30, 533–539.
- Föllmi, K.B., 1995. 160 My record of marine sedimentary phosphorus burial – coupling of climate and continental weathering under greenhouse and icehouse conditions. *Geology* 23, 859–862.
- Föllmi, K.B., Weissert, H., Bisping, M., Funk, H., 1994. Phosphogenesis, carbon-isotope stratigraphy, and carbonate-platform evolution along the Lower Cretaceous Northern Tethyan margin. *Geological Society of America Bulletin* 106, 729–746.
- Föllmi, K.B., Bodin, S., Godet, A., Linder, P., Van De Schootbrugge, B., 2006. Unlocking paleo-environmental information from Early Cretaceous shelf sediments in the Helvetic Alps: stratigraphy is the key! Symposium on Stratigraphy, the Measure of Time in the 21st Century held in honor of Rudolf Trumphy at the 4th Swiss Geoscience Meeting. Birkhäuser Verlag Ag, Bern, Switzerland. pp. 349–369.
- Frakes, L.A., Francis, J.E., 1988. A guide to Phanerozoic cold polar climates from high-latitude ice-rafting in the Cretaceous. *Nature* 333, 547–549.
- Gardin, S., 2008. The nannofossil succession of la Chaze across the Valanginian–Hauterivian boundary. 12th Meeting of the International Nannoplankton Association, pp. 11–13.
- Gattuso, J.P., Buddemeier, R.W., 2000. Ocean biogeochemistry – calcification and CO₂. *Nature* 407, 311–313.
- Geisen, M., Bollmann, J., Herrle, J.O., Mutterlose, J., Young, J.R., 1999. Calibration of the random settling technique for calculation of absolute abundances of calcareous nannoplankton. *Micropaleontology* 45, 437–442.
- Gibson, S.A., Thompson, R.N., Day, J.A., 2006. Timescales and mechanisms of plume–lithosphere interactions: ⁴⁰Ar/³⁹Ar geochronology and geochemistry of alkaline igneous rocks from the Paraná–Etendeka large igneous province. *Earth and Planetary Science Letters* 251, 1–17.
- Gréselle, B., Pittet, B., 2010. Sea-level reconstructions from the Peri-Vocontian Zone (South-east France) point to Valanginian glacio-eustasy. *Sedimentology* 57, 1640–1684.
- Gréselle, B., Pittet, B., Mattioli, E., Joachimski, M., Barbarin, N., Riquier, L., Reboulet, S., Pucéat, E., 2011. The Valanginian isotope event: a complex suite of palaeoenvironmental perturbations. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 306, 41–57.
- Gröcke, D.R., Price, G.D., Robinson, S.A., Baraboshkin, E.Y., Mutterlose, J., Ruffell, A.H., 2005. The Upper Valanginian (Early Cretaceous) positive carbon-isotope event recorded in terrestrial plants. *Earth and Planetary Science Letters* 240, 495–509.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 1–9.
- Harper, D.A.T., 1999. Numerical Palaeobiology. Computer-Based Modelling and Analysis of Fossils and their Distributions. John Wiley & Sons, Chichester.
- Harris, P.M., Frost, S.H., Seiglie, G.A., Schneidermann, N., 1984. Regional unconformities and depositional cycles, Cretaceous of the Arabian Peninsula. *American Association of Petroleum Geologists Memoir* 36, 67–80.
- Hennig, S., Weissert, H., Bulot, L., 1999. C-isotope stratigraphy, a calibration tool between ammonite and magnetostratigraphy: the Valanginian–Hauterivian transition. *Geologica Carpathica* 50, 91–95.
- Herrle, J.O., 2002. Paleoclimatological and paleoclimatic implications on Mid-Cretaceous black shale formation in the Vocontian Basin and the Atlantic: evidence from calcareous nanofossils and stable isotopes. *Tübinger Mikropaläontologische Mitteilungen* 27, 144.
- Herrle, J.O., 2003. Reconstructing nutricline dynamics of mid-Cretaceous oceans: evidence from calcareous nanofossils from the Niveau Paquier black shale (SE France). *Marine Micropaleontology* 47, 307–321.
- Hoedemaeker, P.J., 1990. The Neocomian boundaries of the Tethyan realm based on the distribution of ammonites. *Cretaceous Research* 11, 331–342.
- Hoedemaeker, P.J., Reboulet, S., Aguirre-Urreta, M.B., Alsen, P., Aoutem, M., Atrops, F., Barragan, R., Company, M., González, C., Klein, J., Lukeneder, A., Ploch, I., Raisosadat, N., Rawson, P.F., Ropolo, P., Vasicek, Z., Vermeulen, J., Wippich, M.G.E., 2003. Report on the 1st International Workshop of the IUGS Lower Cretaceous Ammonite Working Group, the 'Kilian Group' (Lyon, 11 July 2002). *Cretaceous Research* 24, 89–94.
- Janasi, V.D., de Freitas, V.A., Heaman, L.H., 2011. The onset of flood basalt volcanism, Northern Parana Basin, Brazil: a precise U–Pb baddeleyite/zircon age for a Chapeco-type dacite. *Earth and Planetary Science Letters* 302, 147–153.
- Janssen, N.M.M., Clement, A., 2002. Extinction and renewal patterns among Tethyan belemnites in the Verrucosum Subzone (Valanginian) of southeast France. *Cretaceous Research* 23, 509–522.
- Joachimski, M.M., Breisig, S., Buggisch, W., Talent, J.A., Mawson, R., Gereke, M., Morrow, J.R., Day, J., Weddige, K., 2009. Devonian climate and reef evolution: insights from oxygen isotopes in apatite. *Earth and Planetary Science Letters* 284, 599–609.
- Kamptner, E., 1931. *Nannoconus steinmanni* nov. gen., nov. spec., ein merkwürdiges gesteinsbildendes Mikrofossil aus dem jüngeren Mesozoikum der Alpen. *Palaeontologisches Zeitschrift* 13, 288–298.
- Kauermann, G., Claeskens, G., Opsomer, J.D., 2009. Bootstrapping for penalized spline regression. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 18, 126–146.
- Kemper, E., 1987. Das Klima der Kreide-Zeit. *Geologisches Jahrbuch Reihe A* 96, 5–185.
- Kemper, E., Schmitz, H.-H., 1975. Stellate nodules from the upper Deer Bay Formation (Valanginian) of Arctic Canada. *Geological Survey of Canada Paper* 75, 109–119.
- Kemper, E., Schmitz, H.-H., 1981. Glendonite – Indikatoren des polarmarinen Ablagerungsmilieus. *Geologische Rundschau* 759–773.
- Lambert, B., 1987. Nannofossiles calcaires de l'Albien supérieur et du Vraconien du Cameroun méridional. *Cahiers Micropaleontologie* 2, 33–60.
- Lees, J.A., Bown, P.R., Mattioli, E., 2005. Problems with proxies? Cautionary tales of calcareous nannofossil palaeoenvironmental indicators. *Micropaleontology* 51, 333–343.
- Lini, A., 1994. Early Cretaceous carbon isotope stratigraphy of the Maiolica Formation, Southern Alps (Northern Italy and Southern Switzerland): Stratigraphic and palaeoenvironmental significance. Ph.D. Thesis, ETH Zürich, Zürich, Switzerland, p. 259.
- Lini, A., Weissert, H., Erba, E., 1992. The Valanginian carbon isotope event – a 1st episode of greenhouse climate conditions during the Cretaceous. *Terra Nova* 4, 374–384.
- Littler, K., Robinson, S.A., Bown, P.R., Nederbragt, A.J., Pancost, R.D., 2011. High sea-surface temperatures during the Early Cretaceous Epoch. *Nature Geoscience* 4, 169–172.
- Magniez-Jannin, F., Dommergues, J.L., 1994. Foraminifères vs. ammonites en fosse vocontienne vers la limite Valanginien–Hauterivien. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Paris* 319, 957–962.
- Marron, J.S., Chaudhuri, P., 1998a. Significance of features via SiZer. In: Marx, B., Friedl, H. (Eds.), *Statistical Modelling. Proceedings of 13th International Workshop on Statistical Modelling*, New Orleans, pp. 65–75.
- Marron, J.S., Chaudhuri, P., 1998b. When is a feature really there? The SiZer approach. In: Sadjad, F.A. (Ed.), *Automatic Target Recognition VII*. SPIE Press, Bellingham, pp. 306–312.
- Masse, J.-P., Philip, J., 1981. Cretaceous coral-rudistid buildups of France. *American Association of Petroleum Geologists Memoir* 56, 363–374.
- Mattioli, E., 1997. Nannoplankton productivity and diagenesis in the rhythmically bedded Toarcian–Aalenian Fiuminata section (Umbria–Marche Apennine, central Italy). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 130, 113–133.
- Mattioli, E., Pittet, B., 2002. Contribution of calcareous nannoplankton to carbonate deposition: a new approach applied to the Lower Jurassic of central Italy. *Marine Micropaleontology* 45, 175–190.
- Mattioli, E., Pittet, B., Suan, G., Mailliot, S., 2008. Calcareous nannoplankton changes across the early Toarcian oceanic anoxic event in the western Tethys. *Palaeogeography* 23, 133–145.
- Mattioli, E., Pittet, B., Petitpierre, L., Mailliot, S., 2009. Dramatic decrease of pelagic carbonate production by nannoplankton across the Early Toarcian Anoxic Event (T-OAE). *Global and Planetary Change* 65, 134–145.
- McArthur, J.M., Janssen, N.M.M., Reboulet, S., Leng, M.J., Thirlwall, M.F., van de Schootbrugge, B., 2007. Palaeotemperatures, polar ice-volume, and isotope stratigraphy (Mg/Ca, δ¹⁸O, δ¹³C, ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr): the Early Cretaceous (Berriasian, Valanginian, Hauterivian). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 248, 391–430.
- Melinte, M., Mutterlose, J., 2001. A Valanginian (Early Cretaceous) 'boreal nannoplankton excursion' in sections from Romania. *Marine Micropaleontology* 43, 1–25.
- Milner, S.C., Duncan, A.R., Whittingham, A.M., Ewart, A., 1995. Trans-Atlantic correlation of eruptive sequences and individual silicic volcanic units within the Paraná–Etendeka igneous province. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 69, 137–157.
- Morton, R., Kang, E.L., Henderson, B.L., 2009. Smoothing splines for trend estimation and prediction in time series. *Environmetrics* 20, 249–259.
- Mutterlose, J., 1992. Biostratigraphy and paleobiogeography of Early Cretaceous calcareous nanofossils. *Cretaceous Research* 13, 167–189.
- Mutterlose, J., Kessels, K., 2000. Early Cretaceous calcareous nanofossils from high latitudes: implications for palaeobiogeography and palaeoclimate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 160, 347–372.
- Mutterlose, J., Bornemann, A., Herrle, J.O., 2005. Mesozoic calcareous nanofossils – state of the art. *Paläontologische Zeitschrift* 79, 113–133.
- Noël, D., Bussou, G., 1990. L'importance des schizosphères, stomiosphères, Conusphaera et Nannoconus dans la genèse des calcaires fins pélagiques du Jurassique et du Crétacé Inférieur. *Bulletin de la Société Géologique de France* 43, 63–93.
- O'Neil, J.R., Roe, L.J., Reinhard, E., Blake, R.E., 1994. A rapid and precise method of oxygen isotope analysis of biogenic phosphate. *Israel Journal of Earth Science* 43, 203–212.
- Ozkan-Altiner, S., 1999. Rock-forming nanofossils in uppermost Jurassic–Lower Cretaceous rock units of northwest Anatolia: *Nannoconus* and its revised taxonomy. *Turkish Journal of Earth Sciences* 8, 19–43.
- Peate, D.W., 2009. Global dispersal of Pb by large-volume silicic eruptions in the Paraná–Etendeka large igneous province. *Geology* 37, 1071–1074.
- Perch-Nielsen, K., 1985. Mesozoic calcareous nanofossils. In: Bolli, H.M., Saunders, J.B., Perch-Nielsen, K. (Eds.), *Plankton Stratigraphy*. Cambridge University press, Cambridge, pp. 427–554.
- Pinto, V.M., Hartmann, L.A., Santos, J.O.S., McNaughton, N.J., Wildner, W., 2011. Zircon U–Pb geochronology from the Parana bimodal volcanic system support a brief eruptive cycle at similar to 135 Ma. *Chemical Geology* 281, 93–102.
- Price, G.D., 1999. The evidence and implications of polar ice during the Mesozoic. *Earth-Science Reviews* 48, 183–210.

- Price, G.D., Valdes, P.J., Sellwood, B.W., 1998. A comparison of GCM simulated Cretaceous 'greenhouse' and 'icehouse' climates: implications for the sedimentary record. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 142, 123–138.
- Pucéat, E., Lecuyer, C., Sheppard, S.M.F., Dromart, G., Reboulet, S., Grandjean, P., 2003. Thermal evolution of Cretaceous Tethyan marine waters inferred from oxygen isotope composition of fish tooth enamels. *Paleoceanography* 18, 1–12.
- Pucéat, E., Joachimski, M.M., Bouilloux, A., Monna, F., Bonin, A., Motreuil, S., Morinière, P., Hénard, S., Mourin, J., Dera, G., Quesne, D., 2010. Revised phosphate-water fractionation equation reassessing paleotemperatures derived from biogenic apatite. *Earth and Planetary Science Letters* 298, 135–142.
- Reboulet, S., 1996. L'évolution des ammonites du Valanginien–Hauterivien inférieur du Bassin Vocontien et de la plate-forme provençale (sud-est de la France). Ph.D. Thesis, Claude Bernard Lyon 1, Lyon, p. 370.
- Reboulet, S., Atrops, F., 1999. Comments and proposals about the Valanginian–Lower Hauterivian ammonite zonation of south-eastern France. *Eclogae Geologicae Helvetiae* 92, 183–197.
- Reboulet, S., Mattioli, E., Pittet, B., Baudin, F., Olivero, D., Proux, O., 2003. Ammonoid and nannoplankton abundance in Valanginian (early Cretaceous) limestone–marl successions from the southeast France Basin: carbonate dilution or productivity? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 201, 113–139.
- Reboulet, S., Hoedemaeker, P.J., Aguirre-Urreta, M.B., Alsen, P., Atrops, F., Baraboshkin, E.Y., Company, M., Delanoy, G., Dutour, Y., Klein, J., Latil, J.L., Lukeneder, A., Mitta, V., Mourgues, F.A., Ploch, I., Raisssadat, N., Ropolo, P., Sandoval, J., Tavera, J.M., Vasicek, Z., Vermeulen, J., Arnaud, H., Granier, B., Premoli-Silva, I., 2006. Report on the 2nd International Meeting of the IUGS Lower Cretaceous Ammonite Working Group, the "Kilian Group" (Neuchâtel, Switzerland, 8 September 2005). *Cretaceous Research* 27, 712–715.
- Reboulet, S., Klein, J., Barragán, R., Company, M., González-Arreola, C., Lukeneder, A., Raisssadat, S.N., Sandoval, J., Szives, O., Tavera, J.M., Vasicek, Z., Vermeulen, J., 2009. Report on the 3rd International Meeting of the IUGS Lower Cretaceous Ammonite Working Group, the "Kilian Group" (Vienna, Austria, 15th April 2008). *Cretaceous Research* 30, 496–502.
- Renne, P.R., Ernesto, M., Pacca, I.G., Coe, R.S., Glen, J.M., Prevot, M., Perrin, M., 1992. The age of Parana flood volcanism, rifting of Gondwanaland, and the Jurassic–Cretaceous boundary. *Science* 258, 975–979.
- Renne, P.R., Glen, J.M., Milner, S.C., Duncan, A.R., 1996. Age of Etendeka flood volcanism and associated intrusions in southwestern Africa. *Geology* 24, 659–662.
- Ridgwell, A., 2005. A Mid Mesozoic Revolution in the regulation of ocean chemistry. *Marine Geology* 217, 339–357.
- Ridgwell, A., Schmidt, D.N., Turley, C., Brownlee, C., Maldonado, M.T., Tortell, P., Young, J.R., 2009. From laboratory manipulations to Earth system models: scaling calcification impacts of ocean acidification. *Biogeosciences* 6, 2611–2623.
- Riding, R., 1993. Phanerozoic patterns of marine CaCO₃ precipitation. *Naturwissenschaften* 80, 513–516.
- Riebesell, U., Zondervan, I., Rost, B., Tortell, P.D., Zeebe, R.E., Morel, F.M.M., 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature* 407, 364–367.
- Rondonotti, V., Marron, J.S., Park, C., 2007. SiZer for time series: a new approach to the analysis of trends. *Electronic Journal of Statistics* 1, 268–289.
- Rost, B., Riebesell, U., 2004. Coccolithophores and the Biological Pump: Responses to Environmental Changes. Springer-Verlag Berlin, Berlin.
- Rost, B., Zondervan, I., Wolf-Gladrow, D., 2008. Sensitivity of phytoplankton to future changes in ocean carbonate chemistry: current knowledge, contradictions and research directions. *Marine Ecology Progress Series* 373, 227–237.
- Roth, P.H., Krumbach, K.R., 1986. Middle Cretaceous calcareous nannofossil biogeography and preservation in the Atlantic and Indian Oceans – implications for paleoceanography. *Marine Micropaleontology* 10, 235–266.
- Ruppert, D., 2002. Selecting the number of knots for penalized splines. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 11, 735–757.
- Ruppert, D., Carroll, R.J., 1997. Penalized regression splines. available at Working Paper, Cornell University, School of Operations Research and Industrial Engineering; Ruppert, D., Carroll, R.J., pp. 1–33. <http://people.orie.cornell.edu/~davidr/papers/srsrev02.pdf>
- Ruppert, D., Wand, M.P., Carroll, R.J., 2003. *Semiparametric Regression*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Schlager, W., 1981. The paradox of drowned reefs and carbonate platforms. *Geological Society of America Bulletin* 92, 197–211.
- Schmidt, D.N., Lazarus, D., Young, J.R., Kucera, M., 2006. Biogeography and evolution of body size in marine plankton. *Earth-Science Reviews* 78, 239–266.
- Shackleton, N.J., Kennett, J.P., 1975. Palaeotemperature history of the Cenozoic and the initiation of Antarctic glaciation: oxygen and carbon isotope analyses in DSDP sites 277, 279 and 281. Initial Reports Deep Sea Drilling Project, pp. 743–756.
- Shearman, D.J., Smith, A.J., 1985. Ikaite, the parent mineral of jarroviite-type pseudomorphs. *Proceedings of the Geologists' Association* 96, 305–314.
- Sprovieri, M., Coccioni, R., Lirer, F., Pelosi, N., Lozar, F., 2006. Orbital tuning of a lower Cretaceous composite record (Maiolica Formation, central Italy). *Paleoceanography* 21.
- Stoll, H.M., Schrag, D.P., 2001. Sr/Ca variations in Cretaceous carbonates: relation to productivity and sea level changes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 168, 311–336.
- Street, C., Bown, P.R., 1998. *Palaeobiogeography of Early Cretaceous (Berriasian–Barremian) calcareous nannoplankton*. 7th Conference of the International-Nannoplankton-Association (INA7). Elsevier Science Bv, Pr, pp. 265–291.
- Suan, G., Mattioli, E., Pittet, B., Mailliot, S., Lecuyer, C., 2008. Evidence for major environmental perturbation prior to and during the Toarcian (Early Jurassic) oceanic anoxic event from the Lusitanian Basin, Portugal. *Paleoceanography* 23.
- Suan, G., Mattioli, E., Pittet, B., Lecuyer, C., Sucheras-Marx, B., Duarte, L.V., Philippe, M., Reggiani, L., Martineau, F., 2010. Secular environmental precursors to Early Toarcian (Jurassic) extreme climate changes. *Earth and Planetary Science Letters* 290, 448–458.
- Thiede, D.S., Vasconcelos, P.M., 2010. Parana flood basalts: rapid extrusion hypothesis confirmed by new ⁴⁰Ar/³⁹Ar results. *Geology* 38, 747–750.
- Thierstein, H.R., 1976. Mesozoic calcareous nannoplankton biostratigraphy of marine sediments. *Marine Micropaleontology* 325–362.
- Tréjo, M., 1960. La familia Nannoconidae y su alcance estratigráfico America (Protozoa-incertae sedis). *Geologos Petroleum* 12, 259–314.
- Tréjo, M., 1969. *Conusphaera mexicana*, un nuevo coccolithophorido del Jurásico superior de México. *Revta Institute of Mexico Petroleum* 1, 5–9.
- Tremolada, F., Young, J.R., 2002. Volume calculation of Cretaceous calcareous nannofossils. *Journal of Nannoplankton Research* 24, 199–202.
- van de Schootbrugge, B., Föllmi, K.B., Bulot, L.G., Burns, S.J., 2000. Paleoclimatographic changes during the early Cretaceous (Valanginian–Hauterivian): evidence from oxygen and carbon stable isotopes. *Earth and Planetary Science Letters* 181, 15–31.
- van de Schootbrugge, B., Kuhn, O., Adatte, T., Steinmann, P., Föllmi, K., 2003. Decoupling of P- and C-org-burial following Early Cretaceous (Valanginian–Hauterivian) platform drowning along the NW Tethyan margin. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 199, 315–331.
- Vennemann, T.W., Fricke, H.C., Blake, R.E., O'Neil, J.R., Colman, A., 2002. Oxygen isotope analysis of phosphates: a comparison of techniques for analysis of Ag₃PO₄. *Chemical Geology* 185, 321–336.
- Watabe, N., Wilbur, K.M., 1966. Effects of temperature on growth calcification and coccolith form in *Coccolithus huxleyi* (Coccolithaceae). *Limnology and Oceanography* 11, 567–575.
- Weissert, H., Erba, E., 2004. Volcanism, CO₂ and palaeoclimate: a Late Jurassic–Early Cretaceous carbon and oxygen isotope record. *Journal of the Geological Society* 161, 695–702.
- Weissert, H., McKenzie, J., Hochuli, P., 1979. Cyclic anoxic events in the Early Cretaceous Tethys Ocean. *Geology* 7, 147–151.
- Weissert, H., Lini, A., Föllmi, K.B., Kuhn, O., 1998. Correlation of Early Cretaceous carbon isotope stratigraphy and platform drowning events: a possible link? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 137, 189–203.
- Westermann, S., Föllmi, K.B., Adatte, T., Matera, V., Schnyder, J., Fleitmann, D., Fiet, N., Ploch, I., Duchamp-Alphonse, S., 2010. The Valanginian ^δ13C excursion may not be an expression of a global oceanic anoxic event. *Earth and Planetary Science Letters* 290, 118–131.
- Williams, J.R., Bralower, T.J., 1995. Nannofossil assemblages, fine fraction stable isotopes, and the paleoceanography of the Valanginian–Barremian (Early Cretaceous) North-Sea basin. *Paleoceanography* 10, 815–839.
- Wilpshaar, M., Leereveld, H., Visscher, H., 1997. Early Cretaceous sedimentary and tectonic development of the Dauphinois Basin (SE France). *Cretaceous Research* 18, 457–468.
- Wortmann, U.G., Weissert, H., 2000. Tying platform drowning to perturbations of the global carbon cycle with a ^δ13C_{org}-curve from the Valanginian of DSDP Site 416. *Terra Nova* 12, 289–294.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*, 4th edition. Prentice Hall, New Jersey.
- Zhu, D.C., Chung, S.L., Mo, X.X., Zhao, Z.D., Niu, Y.L., Song, B., Yang, Y.H., 2009. The 132 Ma Comei–Bunbury large igneous province: remnants identified in present-day southeastern Tibet and southwestern Australia. *Geology* 37, 583–586.
- Zondervan, I., Zeebe, R.E., Rost, B., Riebesell, U., 2001. Decreasing marine biogenic calcification: a negative feedback on rising atmospheric pCO₂. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 507–516.



Contents lists available at ScienceDirect

Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/palaeo

The Valanginian isotope event: A complex suite of palaeoenvironmental perturbations

Benjamin Gréselle^{a,*}, Bernard Pittet^a, Emanuela Mattioli^a, Michael Joachimski^b, Nicolas Barbarin^c, Laurent Riquier^d, Stéphane Reboulet^a, Emmanuelle Pucéat^d^a UMR CNRS 5276 LGL-TPE, Université Claude Bernard Lyon 1, Ecole Normale Supérieure Lyon, 69622 Villeurbanne cedex, France^b Institut für Geologie und Mineralogie, Universität Erlangen, Schlossgarten 5, 91054 Erlangen, Germany^c CEREGE, UMR CNRS 6635, Université Aix-Marseille, BP 80, 13545 Aix-en-Provence cedex 04, France^d UMR CNRS 5561 Biogéosciences, Université de Bourgogne, 6 Boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 July 2010

Received in revised form 21 March 2011

Accepted 21 March 2011

Available online 26 March 2011

Keywords:

Carbonate production crisis

 $\delta^{13}\text{C}$ Weissert Event

Accumulation rates

Climate change

Valanginian

ABSTRACT

The Valanginian records a severe crisis of carbonate systems, both on platforms and in the pelagic realm. This crisis is roughly concomitant with the Weissert Event, characterized by a positive $\delta^{13}\text{C}$ excursion of about 2‰ in marine carbonates. However, it is unclear if the response of these two carbonate systems to the global perturbations is contemporaneous, or if they react differently. For this purpose, accumulation rates of pelagic carbonates produced by nannofossils and of platform-derived carbonates have been quantified in a hemipelagic environment (the Vocontian Basin, SE France) that has the potential to record the reaction of both shallow-water and pelagic carbonate production to a major perturbation of the carbon cycle, testified by the isotope excursion. Also, changes through time of clay input have been measured in order to evaluate variations in continental weathering rates, and thus in continent-derived nutrient input and climatic conditions in terms of humidity/aridity. Accumulation rates of pelagic carbonates, of platform-derived carbonates and of clays were calculated on the basis of nannofossil absolute abundance and species-specific masses, of weight percent carbonate content of rocks, and a high-resolution timescale given by cyclostratigraphy. The onset of the positive $\delta^{13}\text{C}$ excursion and the demise of the platforms testify for a synchronous, but inverse response of the shallow-water and pelagic carbonate systems to an increase in nutrient influx to marine waters. As carbonate production by nannofossils decreased during the Late Valanginian in time of still low platform production, the low temperature of marine waters coeval to a still high nutrient input recorded in the latest Late Valanginian possibly could explain that both platform and pelagic carbonate production contemporaneously decreased.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The Valanginian records an important perturbation of the carbon cycle, as indicated by a positive excursion of $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ known as the 'Weissert Event' (Erba et al., 2004). This event was recorded worldwide, in the Atlantic (Cotillon and Rio, 1984; Wortmann and Weissert, 2000; Adatte et al., 2001) and Pacific (Bartolini, 2003; Erba et al., 2004) Oceans, as well as in Northwest Siberia (Price and Mutterlose, 2004). In the Tethyan Realm, the Weissert Event was documented in northern Italy (Lini et al., 1992; Channell et al., 1993; Lini, 1994; Sprovieri et al., 2006), in the Helvetic domain (Föllmi et al., 1994), and in the Vocontian Basin (Hennig et al., 1999; van de Schootbrugge et al., 2000; Duchamp-Alphonse et al., 2007; McArthur et al., 2007). Besides these numerous marine records, the positive isotope excursion was also documented in continental flora of southern Crimea; thus both ocean and atmosphere reservoirs were affected by the perturbation in the carbon cycle (Gröcke

et al., 2005). The Weissert Event is concomitant with a significant cooling indicated by glendonite record (Price, 1999), oxygen isotopes of fish teeth enamel (Pucéat et al., 2003), and Mg/Ca ratios of the belemnite calcite (McArthur et al., 2007). Simultaneously, an increase in phosphorus accumulation rate occurred in the Helvetic and Vocontian realms (Föllmi, 1995; van de Schootbrugge et al., 2003), and rare and thin organic-rich layers were deposited in the Tethys, Atlantic and Pacific Oceans (Summerhayes and Masran, 1983; Stein et al., 1986; Bersezio et al., 2002; Bralower et al., 2002; Reboulet et al., 2003) although ocean-wide dysaerobic conditions seem unlikely for this period (Westermann et al., 2010).

Carbonate platforms were also profoundly affected by the Valanginian palaeoenvironmental perturbations, and commonly exhibit a change from corallgal to bryomol facies (Funk et al., 1993; Föllmi, 1996; Föllmi et al., 2006; Gréselle and Pittet, 2010). This change in carbonate producers generally preceded the total demise of carbonate platforms of both the Tethys and the North Atlantic Oceans, as documented by Masse and Philip (1981), Schlager (1981), Harris et al. (1984), Föllmi et al. (1994), and Weissert et al. (1998). This carbonate production crisis on platforms seems to correspond to a biocalcification decrease in basinal

* Corresponding author.

E-mail address: benjamin.greselle.pro@gmail.com (B. Gréselle).

settings, as suggested by the Nannoconid decline, i.e. a drop in the abundance of the rock-forming calcareous nannofossil *Nannoconus* (Erba and Tremolada, 2004). However, it is uncertain if the biocalcification crisis started at the same time in the pelagic realm and on platforms, affecting the whole-ocean carbonate reservoir simultaneously.

Because of their proximity to shallow-water domains, epicontinental basins provide the unique opportunity to test the synchronicity of fluctuations in both platform and pelagic carbonate production. As Valanginian calcareous nannofossils were the main carbonate producers in the ocean realm, accumulation rate of pelagic carbonates ($\mu\text{m yr}^{-1}$) are quantified by combining (1) an estimation of nannofossil abundance per gram of rock, with (2) the specific volume of the most abundant and biggest taxa, (3) the total accumulation rate of sediments, and (4) the total carbonate content of the analyzed samples. Knowing the fraction of carbonate produced by nannofossils, the accumulation rate of non-pelagic carbonates, likely derived from adjacent platforms and exported basinwards, is calculated. Clay accumulation rate can be thus appraised, and changes in siliciclastic input through time provides information on the intensity of continental weathering and runoff and, ultimately, on climate conditions prevailing in the studied region.

The Vocontian Basin (SE France) is here selected because of its small size (about 150 km in width; Cotillon et al. (1980)) and its bathymetry (a few hundred meters; Wilpshaar et al. (1997)), important enough for a development of calcareous nannoplankton community comparable with open-ocean sites. The basin was surrounded by carbonate platforms where carbonate mud was produced and exported offshore (Reboulet et al., 2003; Gréselle and Pittet, 2010). The present work aims to quantify accumulation rates of pelagic carbonates, of platform-derived carbonates, and of clays in order (1) to compare the reaction of both platform and pelagic carbonate systems in times of a global carbon cycle perturbation; (2) to precisely assess the tempo and modes in the response of both platform and pelagic carbonate production to this perturbation.

2. Geological framework and cyclostratigraphy

The analyzed sections of Vergol, La Charce and Morenas are located in the central part of the Vocontian Basin (Fig. 1b), and are well-dated by ammonite and nannofossil biostratigraphy (Reboulet et al., 1992; Reboulet, 1996; Reboulet and Atrops, 1999; Reboulet et al., 2003). In order to obtain a complete cyclostratigraphic framework and avoid local sedimentary perturbations (slumps) the three sections (Fig. 1b) were combined into a composite section. These sections can be correlated with each other bed-by-bed, and also with the well-studied, parastratotype at Angles (Fig. 1b) located some 100 km to the South of the analyzed sections (Figs. 1c and 2). The long-distance correlation of the marl–limestone alternations in the Vocontian Basin shows that they have a primary origin, and demonstrates that they cannot result from a diagenetic redistribution of carbonates, as previously proposed for the Faisceau médian by Munnecke et al. (2001).

Time estimates used in this study follows the cyclostratigraphic framework of Gréselle and Pittet (2010) that slightly differs from that of Giraud et al. (1995) who did not identify a hierarchy of cycles in the Angles section. Gréselle and Pittet (2010) recognized a hierarchy between three orders of depositional cycles allowing them to propose an orbital control for the formation of lithological cycles. These cycles can be defined as depositional sequences sensu Strasser et al. (1999) in comparison with shallow-water environments. Elementary sequences correspond to 20 ka precession cycles, small-scale sequences to 100 ka short-term eccentricity cycles, and medium-scale to 400 ka long-term eccentricity cycles (Gréselle and Pittet, 2010). This interpretation suggests a duration of 4.7 Myr for the Valanginian. This estimate is fairly consistent with the recent geochronological timescales of Gradstein et al. (1994, 2004) although it differs significantly from the 6.3 Myr inferred by Ogg et al. (2008).

3. Materials and methods

3.1. Nannofossil absolute abundance and assemblage composition

A total of 174 samples have been analyzed for this study. Sample spacing was very close (every 5 cm) in some marl–limestone alternations or intervals characterized by lithological changes (Fig. 3). Samples were taken at a lower rate for the rest of the section with at least two samples studied for each marl–limestone alternation. Samples were treated for total wt.% CaCO_3 content and for nannofossil absolute abundance. Smear slides for nannofossil analyses were prepared following the random settling technique described by Beaufort (1991), Geisen et al. (1999) and slightly modified by Olivier et al. (2004), in order to calculate the number of nannofossils (coccoliths and nannoliths) per gram of rock.

On average, 320 nannofossils per sample (minimum 200 specimens in a few, poor samples, and a maximum of 516 specimens in the richest one), both coccoliths and nannoliths, were counted under a polarizing-light microscope (1250 \times) over a variable surface area (1×10^{-3} to 256×10^{-3} cm^2) according to the richness of nannofossils in the slide. In one single sample, only 123 specimens could be counted, due to the paucity of nannofossils. A total of 110 different taxa were determined taxonomically. When applying a simple rarefaction graph to the counted specimens (x axis) with respect to the species richness (y axis) recorded in each sample, 320 specimens are largely sufficient to stabilize the number of the achieved species in a sample. The relative abundance of *Nannoconus* (percentage) is also calculated in different samples. Three preservation classes (relatively poor, moderate and good) were recognized on the basis of etching and overgrowth of the specimens, as established by Roth (1984).

3.2. Nannofossil flux and accumulation rates of pelagic and non-pelagic carbonates, and of clays

Total nannofossil flux, as well as coccolith and nannolith fluxes have been estimated by combining total accumulation rate and nannofossil abundance per gram of rock, and are expressed as number of specimens per square meter. Total accumulation rate (both carbonates and clays) was calculated using the thickness of the marl–limestone alternations and their duration as they formed in tune with precession cycle (average duration of 20 kyr in the Early Cretaceous; Berger and Loutre, 1994). Carbonate content (% weight of bulk rock) was analyzed using a Dietrich-Frühling calcimeter to determine CaCO_3 contents by measuring evolved CO_2 after acidification of the samples. This carbonate content combined to total accumulation rate allowed calculation of both carbonate and clay accumulation rates. By combining the relative abundance of the different nannofossil species and their specific masses (Table 1) with the total abundance of nannofossils per gram of rock, the pelagic carbonate fraction produced by nannofossils was calculated per gram of sediment. Knowing the accumulation rate of the carbonates (both pelagic and non-pelagic) and the pelagic carbonate fraction, the accumulation rates of non-pelagic carbonates was also calculated (expressed in $\mu\text{m yr}^{-1}$).

Masses of the most abundant Early Cretaceous nannofossil taxa have been estimated by Tremolada and Young (2002) and Bornemann et al. (2003) using biometric analysis, and the masses of a few other species are provided in Erba and Tremolada (2004) (Table 1). For a same species, the masses obtained by Tremolada and Young (2002) are generally greater than those determined by Bornemann et al. (2003) except for *Watznaueria barnesiae*, one of the most common taxa of the Early Cretaceous (Williams and Brawlower, 1995; Erba and Tremolada, 2004; Lees et al., 2005; Mutterlose et al., 2005). Both masses have been tested in the present work. When the largest masses of taxa were applied, the pelagic carbonate fraction often exceeded 100% of total carbonate. Therefore, the smallest mass for each taxon was applied for the calculations. Furthermore, the biggest taxon

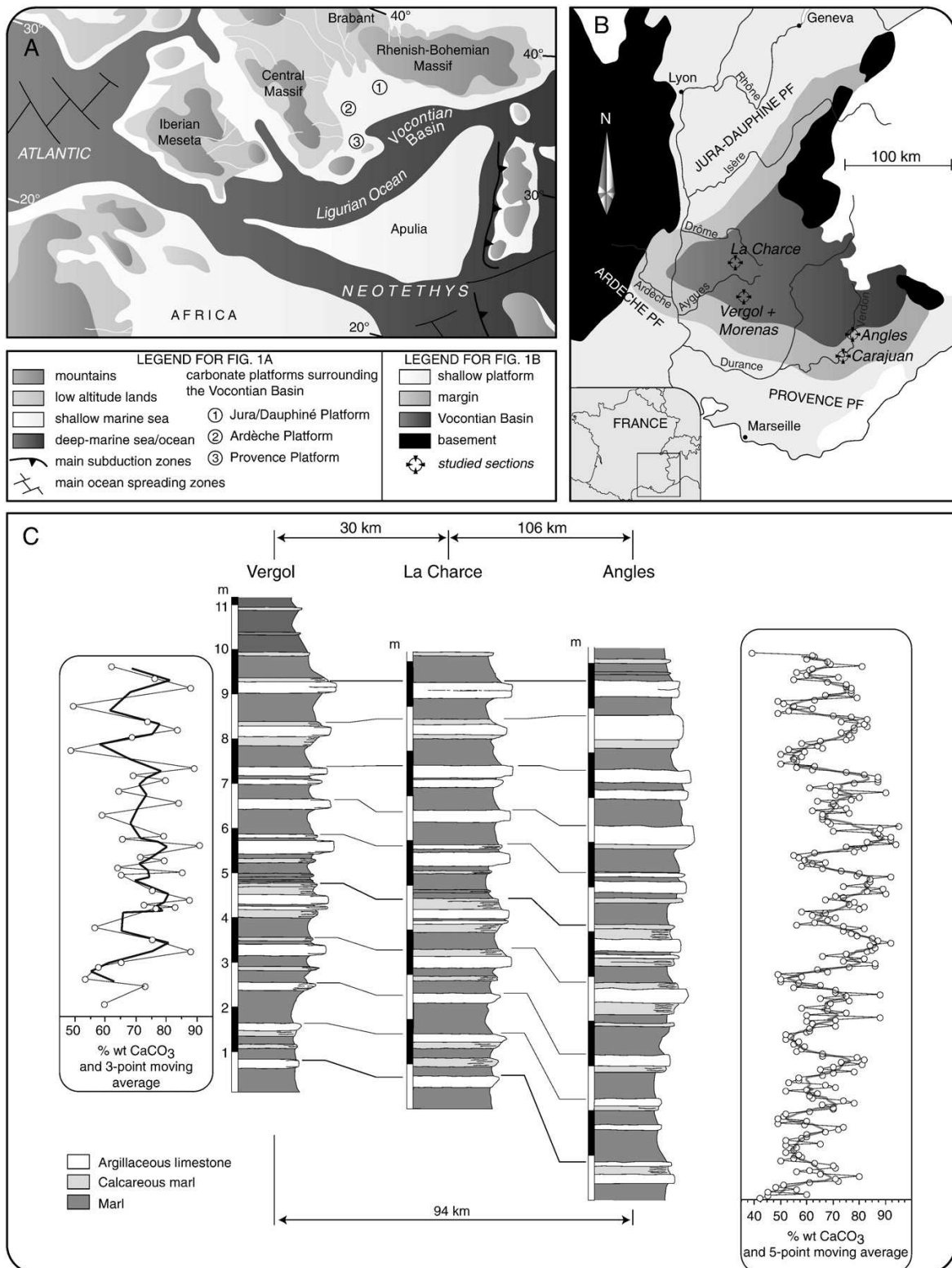


Fig. 1. Location of studied sections in the Vocontian Basin. (A) Paleogeographic reconstruction of the western Tethys and position of carbonate platforms surrounding the basin, after [Blakey \(2005\)](#). The Vocontian Basin opened to the Western Ligurian Tethys ocean to the east ([Masse, 1993](#)), and received siliciclastic materials having their source in the Central Massif to the west, possibly in the Corsica–Sardinia to the south, and in the Vosges–Black Forest to the north. (B) Location of studied sections. (C) Bed-to-bed correlations of the calcareous interval “Faisceau médian” in the Vergol, La Charce and Angles sections. Lithology is remarkably similar despite the distance between the sections. Mean cycle thickness is still higher than 1 m as in the whole Upper Valanginian (thicknesses from [Giraud et al., 1995](#)).

Nannoconus steinmannii steinmannii displays in the samples studied here a length ~25% smaller than that measured by Tremolada and Young (2002), and the 3363.9 pg per specimen given by these authors implies an overestimation of the pelagic carbonate fraction. In order to reduce mass uncertainties of the most important pelagic carbonate producers, the size of 1314 *Nannoconus* specimens in 37 samples was measured in the Vergol and La Charce sections. Mean size of the three most common species, i.e. *Nannoconus steinmannii*, *Nannoconus kamptneri* and *Nannoconus globulus*, were consequently used in volume and mass calculations. Also, a comparable size of *Watznaueria biporta* (a taxon of known mass of 153.9 pg; Bornemann et al., 2003) and *Haquius circumradiatus* has led us to attribute the mass of *W. biporta* to *H. circumradiatus*. The taxa with known masses represent on average 88.9% of the total nannofossil assemblage and include the most bulky species (Table 1).

3.3. Carbonate and clay accumulation rates

Accumulation rates for carbonates and clays were estimated in the same way as the method described above, but for a longer stratigraphic interval, from the uppermost Berriasian (middle Alpillensis Subzone) to the lowermost Hauterivian (Radiatus Zone). Total thickness of marl layers and of limestone beds were calculated within each small- and medium-scale sequence defined by Gréselle and Pittet (2010). Short and medium-term sedimentation rates (i.e., 100 ka and 400 ka) can thus be seen as a good estimate of carbonate and clay accumulation rate, respectively.

3.4. Stable isotope analysis of carbonates

Oxygen and carbon isotope compositions have been measured on 64 carbonate samples, covering the Campylotoxus, Verrucosum and Peregrinus Zones of the Vergol section (Fig. 4). Carbonate powders were reacted with 100% phosphoric acid (density >1.9; Wachter and Hayes, 1985) at 75 °C using a Kiel III online carbonate preparation line connected to a ThermoFinnigan 252 mass-spectrometer in Erlangen. All values are reported in per mil relative to V-PDB by assigning a $\delta^{13}\text{C}$ value of +1.95‰ and a $\delta^{18}\text{O}$ value of -2.20‰ to NBS19. Reproducibility (1 standard deviation) was checked by replicate analysis of laboratory standards and is better than ± 0.03 for $\delta^{13}\text{C}$ and ± 0.1 for $\delta^{18}\text{O}$.

4. Results

4.1. Carbonate content

Stratigraphic changes in carbonate content are well visible when the mean carbonate content per marl–limestone alternation is calculated (thick line and open squares in Fig. 5). At the base of the analyzed interval, mean carbonate content varies between 61 and 78 wt.% CaCO_3 . A decrease in carbonate content begins some 5 m above the base of the Biassalense Subzone, from around 50–67 wt.% in the uppermost Lower Valanginian to a minimum of ~46 wt.% CaCO_3 in the upper part of the Verrucosum Subzone in the Upper Valanginian. Upsection, carbonate content raises again with values of 60–65 wt.% in the Pronocostatum Subzone, and 65–75 wt.% at the base of the Peregrinus Zone. Carbonate contents are around 65 wt.% from the Peregrinus to the Furcillata Subzone. A maximum of 71 wt.% is recorded in the uppermost Furcillata

Subzone, whereas the last analyzed marl–limestone alternation has a mean carbonate content of 66 wt.% CaCO_3 .

4.2. Nannofossil preservation

Nannofossils from the Vergol section are remarkably well-preserved in most of the samples checked under both light and scanning electron microscopes. At La Charce, the preservation is moderate to good. Etching was not observed and in a few samples some large taxa such as *Haquius* showed secondary overgrowth. Tiny and delicate coccoliths, such as representatives of *Zeugrhabdotus* or *Staurolithites* showing pristine central area structures were observed in the studied samples. In some cases, fragmentation of nannofossils was observed. However, entire coccosphaeres were also commonly observed in the studied samples. This record indicates only minor effects of fragmentation affecting nannofossil material. No significant difference in the preservation of the nannofossils occurred between marl and limestone beds, but a slightly poorer preservation was observed in the levels B1, B2 and B3 (Fig. 2), probably related to higher organic-matter contents in this interval.

4.3. Nannofossil abundance and flux

Nannofossil abundance per gram of rock displays both short- and long-term variations along the section (Fig. 3). On short-term scales (at the scale of the marl–limestone alternations), nannofossil abundance is systematically lower in limestones than in marls, with carbonate contents and nannofossil abundances being negatively correlated (Fig. 6). Low nannofossil abundances are observed in five samples in the interval enriched in organic-matter (B1–B4 Barrande layers; Reboulet et al., 2003; Fig. 3). Some other four poorly-preserved samples come from a 5 m-thick stratigraphic interval at the boundary between the Campylotoxus and Biassalense Subzones.

Nannofossil abundance per gram of rock combined with the duration of ~20 kyr for the marl–limestone alternations allows the calculation of nannofossil fluxes to the sediment, measured per square meter and per year. Total nannofossil abundance and flux well mirror the fluctuations of both nannolith and coccolith (Fig. 3). At the base of the studied interval, in the uppermost Campylotoxus and lowermost Biassalense Subzones, mean nannofossil abundances per marl–limestone alternation fluctuate between 0.2 and 0.56 billion specimens per gram of rock. Nannofossil flux is low with mean values per marl–limestone alternations of 40 billions nannofossils $\text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$. A first increase in the nannofossil abundance and flux is recorded close to the base of the Fuhri horizon, with mean abundances of 0.7 to 1.27 billion nannofossils per gram of rock, and mean nannofossil flux of 60 to 156 billions nannofossils $\text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$ in most parts of the Fuhri and Platycostatus horizons, except in the interval containing the B1–B4 Barrande layers that display average abundances of 0.5–0.6 billion nannofossils and the lowest nannofossil fluxes (Fig. 3). An abundance maximum (~2.1 billions specimens per gram of rock) and the highest nannofossil fluxes (372 billions specimens $\text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$) occur a few meters below the Lower/Upper Valanginian boundary. A gradual decrease in the nannofossil abundance (between 0.45 and 1 billion specimens per gram of rock) and fluxes (between 70 and 163 billions $\text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$), even if still high, marks the middle part of the studied section, namely the Peregrinus Subzone (Fig. 3). From the Nicklesi Subzone to the basal Hauterivian (Radiatus Zone), nannofossil abundance and fluxes are quite stable with values between 108 and 154 billions $\text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$.

Fig. 2. Bed-to-bed correlation between Angles and the synthetic basinal section (Vergol, Morenas and La Charce sections). The Standard Ammonite Zonation (Kilian Group, Hoedemaeker et al., 2003; Reboulet et al., 2006, 2009) used here is applied on these sections following the biostratigraphy from Reboulet et al. (1992, 2003), Reboulet (1996), Reboulet and Atrops (1999). These sections are characterized by marl–limestone alternations that are typically carbonate-rich at the base of the Valanginian, becoming gradually clay-richer starting from the organic-matter-rich Barrande layers, in the uppermost Lower Valanginian (B1 to B4; Reboulet et al., 2003). The Upper Valanginian is generally argillaceous except for few intervals where thicker limestone beds occur. Mean cycle thickness are less than 0.5 m in the Alpillensis Subzone and more than 1 m in the uppermost Lower and Upper Valanginian (from Giraud et al., 1995).

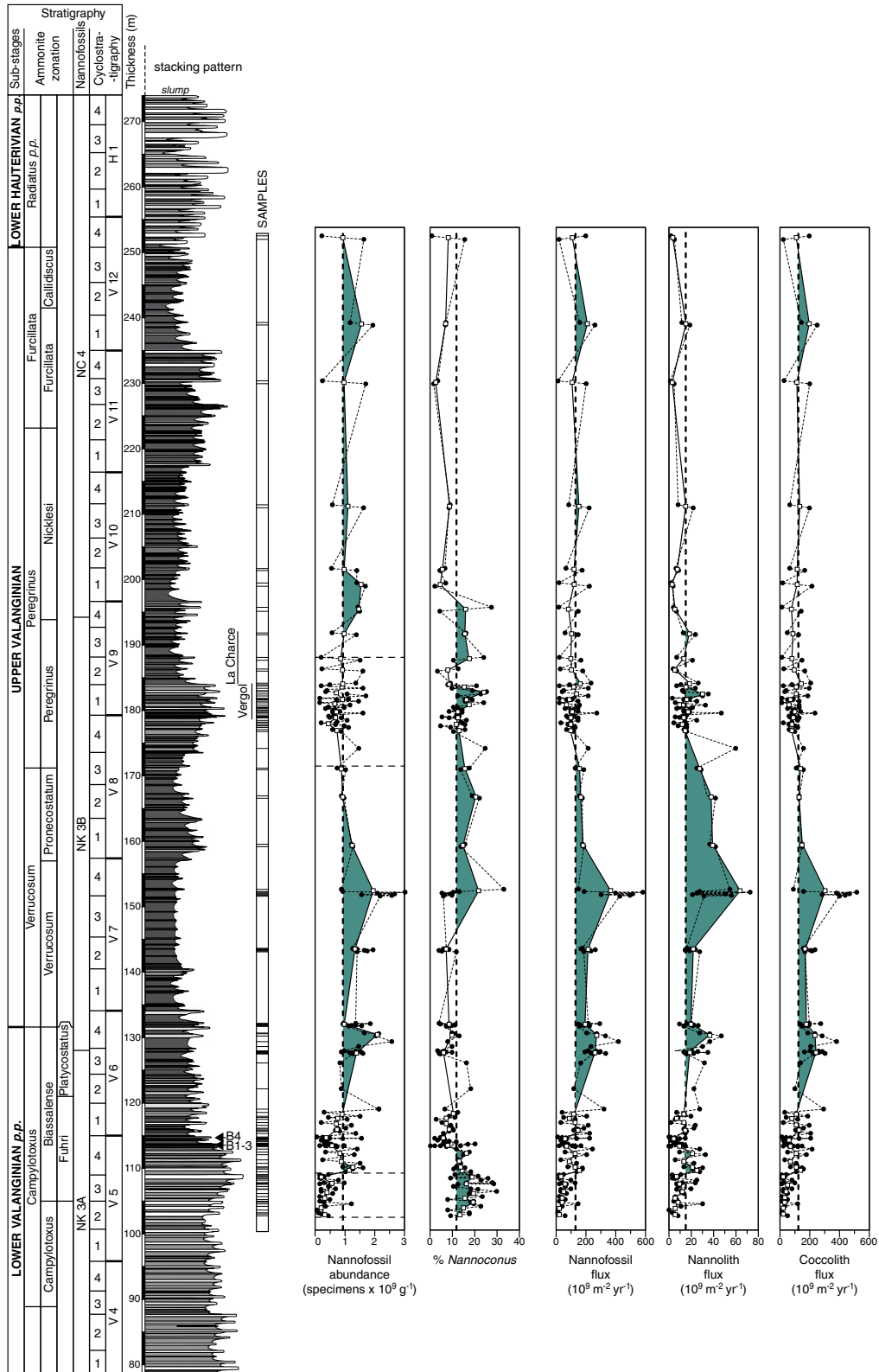


Fig. 3. Evolution of nannofossil abundance and fluxes from the Lower to the uppermost Valanginian along the composite section. Nannofossil fluxes are calculated for nannoliths, coccoliths and total nannofossils. Values strongly vary with lithology, and means for each marl–limestone alternation are indicated by white squares. Gray areas represent evolution above the Valanginian average values indicated by black dotted line. B1 to B4 stand for Barrande layers 1 to 4 (Reboulet et al., 2003).

Table 1

List of taxa in analyzed samples and corresponding masses, and mean taxa percentages of both known and unknown mass.

List of taxa present in the analyzed samples	Mass in picograms				Mean% of nannofossils of known mass in the studied samples	Mean% of nannofossils of unknown mass in the studied samples	Remarks
	Tremolada and Young (2002)	Erba and Tremolada (2004)	Bornemann et al. (2003)	This study			
<i>Anfractus harrisonii</i>						0.443	
<i>Assipetra infracretacea</i>	95.5	96	95.6	95.5	0.002		
<i>Biscutum constans/ellipticum</i>	8.5	8.6	3.5	3.5	1.493		
<i>Calicalathina oblongata</i>			519.5	519.5	0.249		
<i>Calculites</i> sp 1					0.037		
<i>Conusphaera mexicana mexicana</i>			149.3	149.5	0.031		
<i>Conusphaera mexicana minor</i>			22.4	22.4	0.083		
<i>Conusphaera rothii</i>						0.175	
<i>Creterhabdus/Retecapsa</i> spp.			84.9	84.9	1.701		
<i>Cribropshaerella ehrembergi</i>						0.018	
<i>Crucibiscutum salebrosum</i>						0.042	
<i>Crucellipsis cuvillieri</i>			133.1	133.1	1.482		
<i>Cyclagelosphaera margerelii</i>			6.5	6.5	6.203		
<i>Cyclagelosphaera rotaclypeata</i>						0.527	
<i>Diazomatolithus cf. D. lehmanii</i>						0.618	
<i>Diazomatolithus lehmanii</i>		13.8	8.1	8.1	3.127		
<i>Discorhabdus rotatorius/ignotus</i>	10.7	10.8	4.1	4.1	0.675		
<i>Eiffellithus primus</i>						0.046	
<i>Eiffellithus</i> sp.						0.007	
<i>Eiffellithus windii</i>						0.034	
<i>Ethmorhabdus hauterivianus</i>						0.184	
<i>Ethmorhabdus</i> sp. ind.						0.19	
<i>Haquius circumradiatus</i>					1.812		Mass of <i>W. biporta</i>
<i>Haquius ellipticus</i>						0.015	
<i>Haquius noeliae</i>						0.005	
<i>Helenia chiasia</i>						0.007	
<i>Kokia borealis</i>						0.006	
<i>Litrathidites carniolensis</i>						0.105	
<i>Loxolitus armilla</i>						0.004	
<i>Manivitella pemmatoidea</i>	102.1	103	.	102.1	0.025		
<i>Micrantholithus hoschulzii</i>	424.2	424	.	424	0.616		
<i>Micrantholithus obtusus</i>						0.074	
<i>Microstaurius chiasus</i>						0.001	
<i>Nannoconus bermudezii</i>						0.018	
<i>Nannoconus boneti</i>						0.007	
<i>Nannoconus broenimanni</i>						0.268	
<i>Nannoconus colomii</i>						0.261	
<i>Nannoconus cornuta</i>						0.033	
<i>Nannoconus dolomiticus</i>			623.7	623.7	0.072		
<i>Nannoconus globulus</i>		2241.4	.	1030	1.324		Undifferentiated in this study
<i>Nannoconus globulus minor</i>							
<i>Nannoconus kamptneri</i>				640	0.482		Undifferentiated in this study
<i>Nannoconus kamptneri minor</i>			456.6				
<i>Nannoconus oviformis</i>						0.03	
<i>Nannoconus quadratus</i>						0.014	
<i>Nannoconus steinmannii minor</i>	770.3	.	496	610	9.384		Undifferentiated in this study
<i>Nannoconus steinmannii steinmannii</i>	3363.9	3363.9	.				
<i>Parhabdololithus embergeri</i> sp. 2	.	.	750.3	750.3	0.584		
<i>Percivalia fenestrata</i>						0.004	
<i>Rhagodiscus achylostaurion</i>						0.095	
<i>Rhagodiscus angustus</i>						0.077	
<i>Rhagodiscus asper</i>	38.8	39	18.1	18.1	2.377		
<i>Rhagodiscus dekaeneli</i>						0.267	
<i>Rhagodiscus gallagheri</i>						0.479	
<i>Rhagodiscus infinitus</i>						0.006	
<i>Rhagodiscus parallelus</i>						0.055	
<i>Rhagodiscus pseudoangustus</i>						0.363	
<i>Rhagodiscus</i> sp.						0.388	
<i>Rhagodiscus splendens</i>						0.133	
<i>Rotelapillus lafittei</i>						0.01	
<i>Rucinolithus</i> sp.						0.111	
<i>Rucinolithus terebrodentarius youngii</i>	728.8	729	.	728.8	1.648		
<i>Rucinolithus wisei</i>						0.227	
<i>Sollasites horticus</i>						0.001	
<i>Speetonia colligata</i>						0.045	
<i>Staurolithites crux</i>						0.953	
<i>Staurolithites mitchneri</i>						0.001	

(continued on next page)

Table 1 (continued)

List of taxa present in the analyzed samples	Mass in picograms				Mean% of nannofossils of known mass in the studied samples	Mean% of nannofossils of unknown mass in the studied samples	Remarks
	Tremolada and Young (2002)	Erba and Tremolada (2004)	Bornemann et al. (2003)	This study			
<i>Staurolithites mutterlosei</i>						0.116	
<i>Staurolithites</i> sp.						0.182	
<i>Tegumentum stradneri</i>						0.005	
<i>Thoracosphaera eichstaettensis</i>						0.002	
<i>Thoracosphaera</i> sp.						0.031	
<i>Tubidiscus</i> sp.1						0.027	
<i>Tubodiscus jurapeligicus</i>						0.053	
<i>Tubodiscus verena</i>			744.8	744.8	0.056		
<i>Umbria granulosa</i>						0.146	
<i>Watznaueria bamesae</i>	55.8	57	72.6	55.8	43.33		
<i>Watznaueria biporta</i>			153.9	153.9	0.464		
<i>Watznaueria britannica</i>			69.1	69.1	2.396		
<i>Watznaueria communis</i>						0.915	
<i>Watznaueria fossacincta</i>			35.1	35.1	6.902		
<i>Watznaueria manivatae</i>			276.5	276.5	0.647		
<i>Watznaueria ovata</i>			15.9	15.9	1.014		
<i>Zeugrhabdotus diplogrammus</i>	25.1	25	.	25	0.053		
<i>Zeugrhabdotus erectus</i>	2.1	2.2	4.5	2.1	0.586		
<i>Zeugrhabdotus fissus</i>						0.004	
<i>Zeugrhabdotus noeliae</i>						0.027	
<i>Zeugrhabdotus</i> sp.						0.152	
<i>Zeugrhabdotus trivectis</i>						0.018	
<i>Zeugrhabdotus xenotus</i>						0.06	
Unidentified taxa						3.06	
Total percentage					88.855	11.145	

The increase in nannofossil abundance in the Fuhri horizon corresponds also to a higher contribution of nannoliths (mainly nannocoids and *Rucinolithus*; Fig. 3). Consequently, the decrease in the percentage of *Nannoconus* resulted rather from a more effective increase in coccolith abundance than from a decreasing nannolith abundance, in a period of overall increase in the quantities of both groups (Fig. 3).

4.4. Accumulation rates of pelagic, non-pelagic carbonates and of clays based on nannofossil flux

The accumulation rate of pelagic carbonates (expressed as $\mu\text{m yr}^{-1}$; Fig. 5) was estimated by combining the nannofossil flux and species-specific volumes of the different nannofossil taxa (Table 1). Since accumulation rates are not constant passing from marls to limestones, a mean accumulation rate of pelagic carbonates per marl–limestone alternation was calculated (thick line and open squares; Fig. 5). As nannoliths are among the largest taxa (especially nannocoids; Table 1) pelagic carbonate accumulation rate parallels nannolith absolute abundance and flux (Figs. 3 and 5). An increase in pelagic accumulation rate from 1.7–6 to 3.8–8 $\mu\text{m yr}^{-1}$ is recorded in the Fuhri horizon, and coincides to higher absolute abundances of nannoliths and coccoliths. As the interval containing the B4 Barrande layer recorded the lowest nannolith abundance, accumulation rate of pelagic carbonates also decreases to 2.2 $\mu\text{m yr}^{-1}$ (Reboulet et al., 2003; Figs. 4 and 6). In the Platycostatus horizon and at the base of the Verrucosum Subzone, pelagic carbonate accumulation rate is 7.3 to 16.4 $\mu\text{m yr}^{-1}$. The uppermost part of the Verrucosum and the Pronecostatum Subzones record the highest accumulation rates of pelagic carbonates with a maximum value of 19.3 $\mu\text{m yr}^{-1}$ (Fig. 5). The interval from the Faisceau médian (Peregrinus Subzone) to the base of the Hauterivian (Radiatus Zone) represents a minimum pelagic carbonate accumulation rate, with values ranging from 2.2 to 5.5 $\mu\text{m yr}^{-1}$.

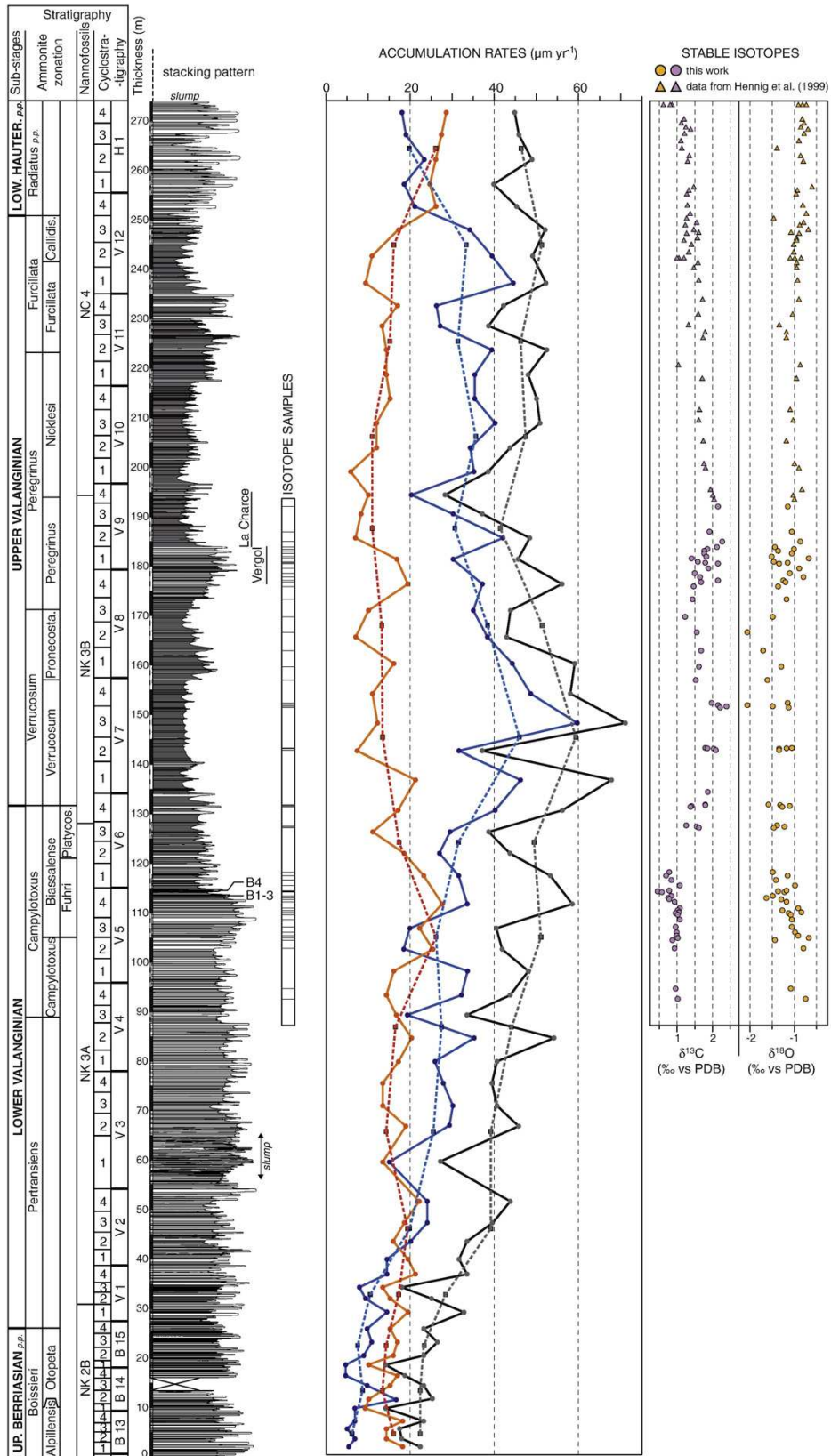
Non-pelagic carbonate accumulation rates are generally high in the Lower Valanginian, fluctuating between 22 and 32 $\mu\text{m yr}^{-1}$ (Fig. 5). The lowest accumulation rates between 18.7 and 27.1 $\mu\text{m yr}^{-1}$ are recorded across the Lower/Upper Valanginian boundary. Accumulation rate of non-pelagic carbonates in the Faisceau médian is comparable to that recorded at the base of studied interval, with high values between 25.1 and 35.2 $\mu\text{m yr}^{-1}$. A second minimum of non-pelagic carbonate accumulation, with values lower than 25 $\mu\text{m yr}^{-1}$, is recorded up to the base of the Nicklesi Subzone (Fig. 5). Stable rates around 28 $\text{m}^{-2} \text{yr}^{-1}$ are recorded up to the base of Hauterivian.

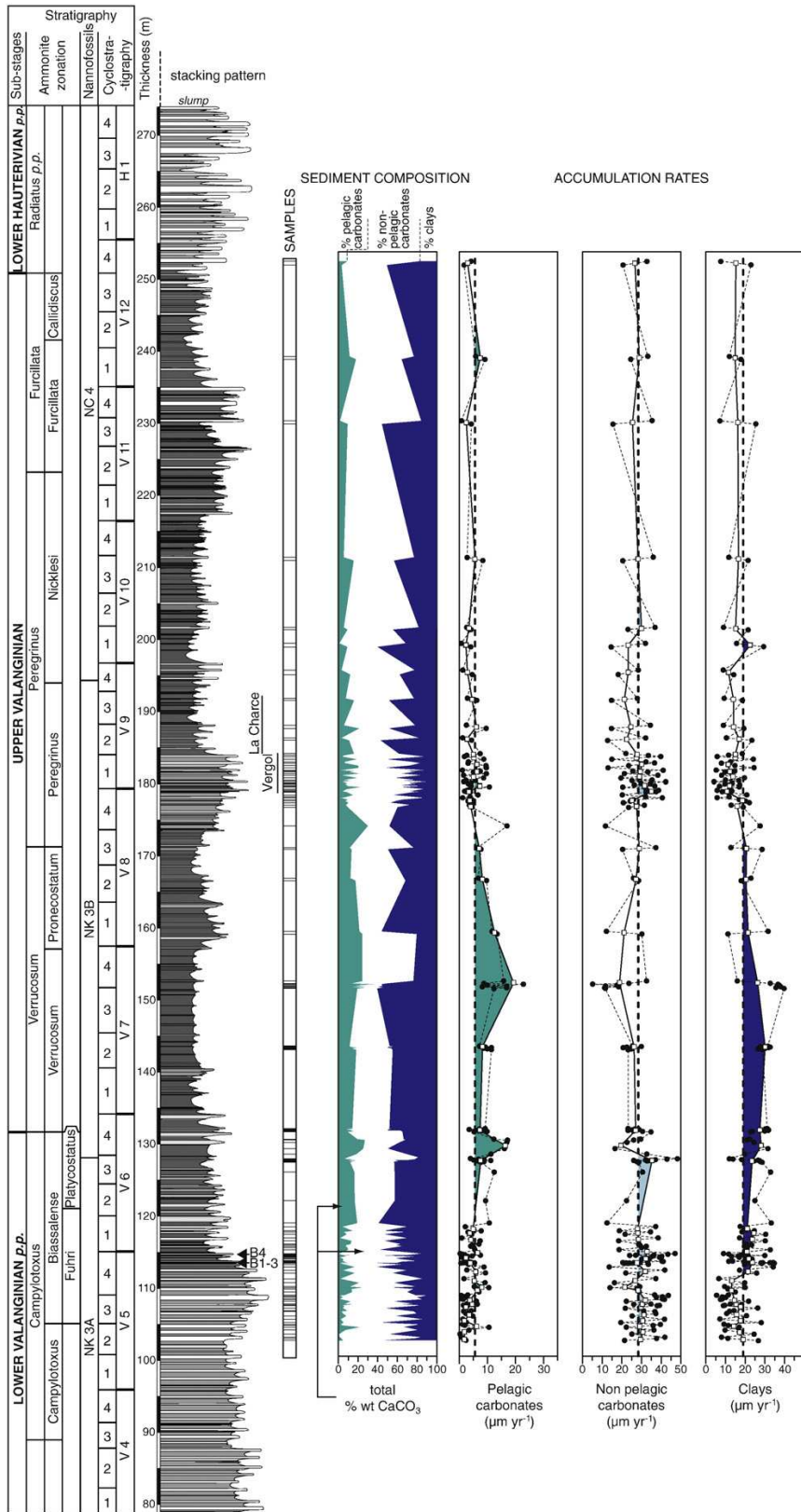
Mean clay accumulation rate of marl–limestone alternations varies between 12.7 and 18.6 $\mu\text{m yr}^{-1}$ in the first ten analyzed alternations (Fig. 5). A sharp increase in clay accumulation rate occurs 2 m below the Barrande layers and a maximum rate of 23.9 $\mu\text{m yr}^{-1}$ is recorded in B1–B3 Barrande layers (Fuhri horizon). To the base of the Peregrinus Subzone, clay accumulation rate was between 20.7 and 30.2 $\mu\text{m yr}^{-1}$ (Fig. 5). In the carbonate-rich Faisceau médian, clay accumulation rate decreases between 10.8 and 18.1 $\mu\text{m yr}^{-1}$. Above this interval and up to the basal Hauterivian, clay accumulation rate is remarkably stable at 15.5 $\mu\text{m yr}^{-1}$ with the exception of a maximum of 22.4 $\mu\text{m yr}^{-1}$ at the base of the Nicklesi Subzone (Fig. 5).

4.5. Accumulation rates of carbonate and clay based on bed thickness

Carbonate and clay accumulation rates were calculated for each short- and medium-term sequence (having an average duration of 100 and 400 kyr, respectively; Fig. 4). Total accumulation rate generally increases in the Biassalense and Verrucosum Subzones, and progressively decreases up to the base of the Hauterivian. Conversely, carbonate accumulation rate shows an inverse trend with a progressive decrease up to the Peregrinus Subzone and a gradual increase up to the uppermost Valanginian (Fig. 4). From the base of the Campylotoxus Zone to the Barrande layers, the increase in total accumulation rate is linked to a raise in carbonate accumulation

Fig. 4. Evolution of accumulation rates for carbonate beds and marly intervals, oxygen and carbon stable isotopes. For carbonate beds, marly intervals and total accumulation rates, both short-term (100 kyr) and medium-term (400 kyr) evolution are represented respectively by dots and squares. Isotopic data from the uppermost Peregrinus Subzone to the Hauterivian are from Hennig et al. (1999; triangles). B1 to B4 indicate the Barrande layers 1 to 4 (Reboulet et al., 2003).





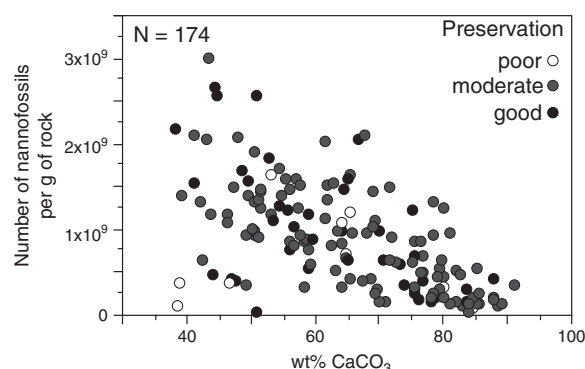


Fig. 6. Correlation between carbonate content and absolute nanofossil abundance.

from 17 to 25 $\mu\text{m yr}^{-1}$, whereas marl accumulation rates are rather stable around 23 $\mu\text{m yr}^{-1}$. From this interval to the first thick Hauterivian carbonate beds, marl and total sediment accumulation rate covary (Fig. 4). A sharp increase in total sediment accumulation rate to a maximum of 59 $\mu\text{m yr}^{-1}$ in the Verrucosum Subzone corresponds to an increase in the marl accumulation rate from 26 to 46 $\mu\text{m yr}^{-1}$. A progressive decrease in accumulation rates from Verrucosum to the base of the Nicklesi subzones is only interrupted by a short-term maximum in the carbonate accumulation rate at 19 $\mu\text{m yr}^{-1}$ in the carbonate-rich Faisceau médian (Fig. 4). Upsection, the bulk sediment is still mainly composed of argillaceous marls in this interval. Carbonate accumulation rate slowly increases up to 12 $\mu\text{m yr}^{-1}$ just below the carbonate-rich basal Hauterivian while clay accumulation rate fluctuates between 26 and 44 $\mu\text{m yr}^{-1}$. The uppermost Valanginian (Callidiscus Subzone) and the lowermost Hauterivian (Radiatus Zone) are marked by a sharp increase of carbonate accumulation rate from 12 to 27 $\mu\text{m yr}^{-1}$ (Fig. 4).

4.6. Carbon and oxygen isotopes

The Vergol section records the positive carbon isotope excursion (McArthur et al., 2007; this work, Fig. 4) typically recorded in the Lower/Upper Valanginian transition worldwide (Cotillon and Rio, 1984; Lini et al., 1992; Channell et al., 1993; Föllmi et al., 1994; Hennig et al., 1999; van de Schootbrugge et al., 2000; Wortmann and Weissert, 2000; Adatte et al., 2001; Bartolini, 2003; Erba et al., 2004; Price and Mutterlose, 2004; Gröcke et al., 2005; Sprovieri et al., 2006; Duchamp-Alphonse et al., 2007; Bornemann and Mutterlose, 2008). Bulk rock carbon isotopes present values of about 1‰ in the Campylotoxus Subzone, that increase up to ~2.4‰ in the upper part of the Verrucosum Subzone after an initial negative excursion of about 0.5‰ in the Barrande layers (B4; Fuhri horizon; Fig. 4). In the uppermost Verrucosum to Pronecostatum subzones, carbon isotope ratios decline to values between 1.3 and 1.6‰ and fluctuate between 1.5 and 2.3‰ in the Peregrinus Subzone. Comparable carbon isotope records were measured in the Angles section of the Vocontian Basin (Fig. 7; Duchamp-Alphonse et al., 2007), and at the Provence Platform Margin (Carajuan section; Hennig et al., 1999). This event is synchronous in all these sections as indicated by their good biostratigraphic and sequence stratigraphic control (Reboulet and Atrops, 1995; Reboulet et al., 2003; Gréselle and Pittet, 2010). Interestingly, the minor negative carbon isotope shift preceding the Valanginian positive excursion is recorded in all three sites, and coincides in Vergol to the interval

containing the fourth organic-matter-rich Barrande layer (Reboulet et al., 2003; B1–B4 in Figs. 2 and 4).

Oxygen isotopes show a trend toward lighter values from the Campylotoxus (–0.7 to –1.2‰) to the Biassalense (–1 to –1.7‰) subzones. Oxygen isotope values remain stable up to the upper part of the Verrucosum Subzone where one sample displays a $\delta^{18}\text{O}$ value of ~–2.1‰ (Fig. 4). A decrease of $\delta^{18}\text{O}$ values is then recorded up to the middle part of the Pronecostatum Subzone where $\delta^{18}\text{O}$ values reach –2.1‰. From there, $\delta^{18}\text{O}$ increases again up to values between –0.7 and –1.5‰ during the Peregrinus Subzone.

5. Discussion

5.1. Origin of the carbonate mud in the studied sediments

The Vergol and La Charce sections in the Vocontian Basin show spectacular marl–limestone alternation, in which calcareous nanofossils are important contributors to the carbonate fraction. Three hypotheses exist to explain the formation of marl–limestone alternations, which involve either primary fluctuations (1) of clay (e.g., Einsele and Ricken, 1991; Elder et al., 1994; Laurin and Ulicny, 2004), (2) of carbonate accumulation in the basin, or (3) a diagenetic redistribution of carbonate within the sediment (e.g., Eder, 1982; Ricken, 1986; Munnecke and Samtleben, 1996; Munnecke et al., 2001). Carbonate fluctuations may result either from changes in pelagic carbonate accumulation (e.g., Cotillon et al., 1980; Ricken, 1994; Einsele, 2000), or from changes in accumulation of carbonates produced on the platform and exported basinwards (e.g., Droxler and Schlager, 1985; Reijmer et al., 1988; Schlager et al., 1994; Pittet and Strasser, 1998; Betzler et al., 1999; Rendle-Bühning and Reijmer, 2005).

The Valanginian marl–limestone alternations of the Vocontian Basin can be correlated bed-by-bed at a 100 km-scale (Cotillon et al., 1980; Ferry, 1991; Figs. 1 and 2). Also, these alternations have likely formed in tune with changes in the Earth's orbital parameters (Giraud et al., 1995; Gréselle and Pittet, 2010). Consequently, a diagenetic origin of the limestone–marl alternations studied here can be excluded. Calcareous nanofossil abundance (Fig. 3), as well as the pelagic carbonate fraction, is lower in the limestones than in the marls (Fig. 5). This pattern cannot be related to a differential preservation in the two lithotypes as nanofossil preservation is comparable. As a consequence, preservation of calcareous nanofossils was not responsible for the fluctuations in carbonate content, and for the formation of the marl–limestone alternations, as already proposed for part of the studied interval (23.5–31 m in Fig. 2) by Reboulet et al. (2003). Changes in clay input are unlikely to have formed the observed marl–limestone alternations since the resulting higher dilution should have led to a lower quantity of nanofossils in marls. Instead, calcareous nanofossils and organic-matter content (Reboulet et al., 2003), are systematically more abundant in marls than in limestones and, in some clay-rich samples, nanofossil-derived carbonate forms the entire carbonate fraction (Fig. 5).

This study shows that the Valanginian marl–limestone alternations of the Vocontian Basin resulted from changes in the amount of platform-derived carbonate mud shed into the basin. Reboulet et al. (2003) have shown that the main phases of carbonate accumulation at the margin of the Provence Platform (to the south of the Vocontian Basin; Fig. 1) are contemporaneous to the main phases of carbonate deposition in the basin. The Provence Platform margin had a ramp-morphology, and sea-level fluctuations controlled the distal-to-proximal migration of facies belts from offshore to shoreface environments (Gréselle and Pittet, 2010). These changes resulted in the deposition of marl-dominated

Fig. 5. Evolution of sediment composition and accumulation rates of different sedimentary component. Sediment percentage and accumulation rates were calculated for pelagic and non-pelagic carbonates as well as for clays. Values might strongly differ with lithology and means for each marl–limestone alternation are indicated by white squares. Gray areas represent evolution above the Valanginian mean indicated by black dotted line. B1 to B4 indicate the Barrande layers 1 to 4 (Reboulet et al., 2003).

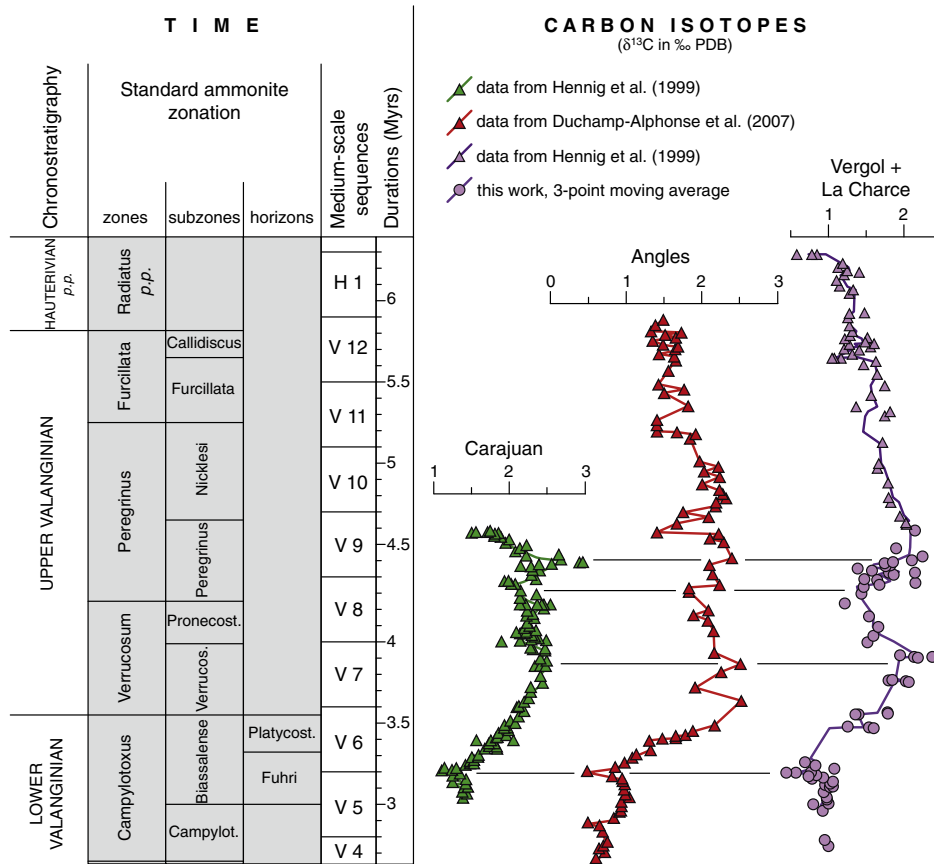


Fig. 7. Correlation between carbon isotope signal from Carajuan (margin of the Provence Platform), Angles, Vergol and La Charge sections. Data for Carajuan and La Charge from Hennig et al. (1999). Carbon isotope data for Angles from Duchamp-Alphonse et al. (2007). General trends are remarkably similar with a small-amplitude negative excursion in the Biassalense Subzone and two positive shifts in the Verrucosum and Peregrinus subzones.

facies offshore, and carbonate-dominated shoreface (Reboulet et al., 2003). This pattern suggests that changes in carbonate content in the basin mainly resulted in fluctuations of the export intensity of platform-derived carbonate mud, occurring both on the long-term (3rd-order transgressive–regressive trends) and on the short-term (marl–limestone alternations). At the scale of the marl–limestone alternations, the imported platform-derived mud diluted the parautochthonous nannofossil quantities, explaining lower nannofossil abundances in limestones with respect to marls. Changes in nannofossil fluxes in the marl–limestone alternations of the Vocontian Basin can therefore be used as a proxy for reconstructing platform-derived carbonate fluxes and, ultimately, to assess the relationships between platform and basin evolution in times of environmental perturbations.

5.2. Duration of the Weissert Event

The Valanginian recorded a series of palaeoenvironmental perturbations showing a peculiar timing with respect to the $\delta^{13}\text{C}$ positive excursion. The Weissert Event started in the uppermost Lower Valanginian (Biassalense Subzone, Fuhri horizon; McArthur et al., 2007; Fig. 4) and pre-excursion values are recorded again near the Lower/Upper Hauterivian boundary (Sprovieri et al., 2006), giving a total duration of approximately 5 Myr for this event, based on the cyclostratigraphic framework of Gréselle and Pittet (2010). This duration is in agreement with that proposed by Sprovieri et al. (2006) who identified 11.5 cycles of 400 kyr–eccentricity or 2.2 cycles of 2400 kyr–eccentricity for this interval, although the duration estimated

for the rise of the carbon isotopic values is shorter in the present work (1.5 Myr) than the 2.3 Myr proposed by Sprovieri et al. (2006).

5.3. Palaeoenvironmental changes during the Weissert Event

The $\delta^{13}\text{C}$ record shows four major phases: (i) rather stable, pre-excursion values ending with a 0.5‰ negative spike, (ii) a 2‰ rise to form the first positive maximum, (iii) a 1‰ decrease followed by the second maximum and, (iv) a long-term decrease in $\delta^{13}\text{C}$ to pre-excursion values (Figs. 4, 7 and 8). From the Berriasian/Valanginian boundary to the base of the Fuhri horizon, when carbon isotope values are quite stable (Emmanuel and Renard, 1993; this work), both clay and carbonate fluxes rise (Fig. 8). The decrease in the relative abundance of *Nannoconus* from about 30% to less than 10% in the Fuhri horizon corresponds to the onset of the “Nannoconid decline” defined by Bersezio et al. (2002). Similarly, an important decrease in nannoconids has been reported in Italy (Erba and Tremolada, 2004), and a decline in the Western Atlantic (Bornemann and Mutterlose, 2008).

The increase of carbonate accumulation rate is probably due to the long-term progradation and highstand-shedding of the Jura-Dauphinois Platform to the North (Gréselle and Pittet, 2010). The long-term increase of clay flux is twice as important than the carbonate input. A sharp increase in clay influx began 100 kyr after the onset of Nannoconid decline, i.e. 20 kyr before the deposition of the first Barrande layer (Fig. 5). This represents an acceleration of a longer-term increase in clay accumulation rate that began near the Berriasian/Valanginian boundary. The clay influx tripled in 3.5 Myr,

up to its maximum in the Verrucosum Subzone (Fig. 8). Given its time-duration, the major increase in clay accumulation rate may be related to an intensification of continental weathering and runoff of the mountain ranges surrounding the Vocontian Basin, and subsequent clay shedding basinwards.

The deposition of the Barrande layers (Fuhri horizon) parallels the decrease in the nannofossil flux and in the $\delta^{13}\text{C}$ values, implying a strongly reduced productivity as less ^{12}C is incorporated in organic-matter (Scholle and Arthur, 1980; Arthur et al., 1987). These levels may have formed under anoxic conditions (Reboulet et al., 2003; Westermann et al., 2010). The lowest $\delta^{13}\text{C}$ values are reached during the deposition of the fourth Barrande layer, simultaneously with a minimum abundance of calcareous nannofossils. The negative $\delta^{13}\text{C}$ excursion is recorded during a major sea-level lowstand when the Jura-Dauphinois Platform was exposed during more than 400 kyr (Gréselle and Pittet, 2010; Fig. 8). Given the specific physiography of the Vocontian Basin with an oceanic opening only to the East (Fig. 1), the sea-level fall in the Fuhri horizon could have triggered a sluggish oceanic circulation and slowed down water mixing, thus favoring water column stratification and the deposition of the organic-matter-rich Barrande layers (Reboulet et al., 2003) in dysaerobic sea-bottom conditions (Westermann et al., 2010).

From the Barrande layers upsection, the accumulation rate of non-pelagic, platform-derived carbonates decreased and it was generally low during the Late Valanginian (Figs. 4, 5 and 8). Up to the latest Valanginian, the Jura-Dauphinois platform-top was exposed most of the time, and shallow-water carbonate production was limited to marginal areas and therefore strongly reduced (Gréselle and Pittet, 2010; Fig. 8). In addition, the Barrande layers mark the synchronous increase of the calcareous nannofossil flux, especially coccoliths, of the clay influx and the onset of the positive $\delta^{13}\text{C}$ positive excursion (Fig. 8). These higher fluxes of coccoliths and clay suggest an increased productivity stimulated by higher levels of continent-derived nutrients. Higher continent weathering rates during the Late Valanginian (McArthur et al., 2007), and particularly across the Early/Late Valanginian boundary, have indeed been inferred. A higher coccolithophorid production across the Early/Late Valanginian boundary is consistent with higher productivity in several oceanic sites, as suggested by higher Sr/Ca ratios (Stoll and Schrag, 2001). Furthermore, the occurrence of high-fertility coccolith taxa is reported by various authors for this interval (Erba et al., 2004; Erba and Tremolada, 2004; Duchamp-Alphonse et al., 2007; Bornemann and Mutterlose, 2008). Higher fertility of marine waters at that time is also suggested by higher phosphorus accumulation rate as reported in the Helvetic (Föllmi, 1995; van de Schootbrugge et al., 2003) and in Carpathians realms (Krobicki and Wierzbowski, 1996).

This higher nutrient input is remarkably synchronous with a change in carbonate producers on the Jura-Dauphinois Platform. Whereas phototrophic producers (coralgal assemblages) formed a flat-topped platform prior to its exposure, carbonates of the Upper Valanginian Bourget Formation were produced only by heterozoans on a carbonate ramp (bryomol facies; Gréselle and Pittet, 2010). This transition corresponds to a change from a 'tropical carbonate factory' (T factory) to a 'cool-water carbonate factory' (C factory) following the classification of Schlager (2000, 2003). Similar changes of carbonate platform producers were observed in other Tethyan and Atlantic platforms (Funk et al., 1993; Föllmi, 1996; Föllmi et al., 2006), and generally preceded their demise (Masse and Philip, 1981; Schlager, 1981; Harris et al., 1984; Föllmi et al., 1994; Weissert et al., 1998). Demise of several platforms, as well as the change of carbonate producers observed on the Jura-Dauphinois Platform illustrate the general drop of platform productivity and the resulting decrease in carbonate mud export toward the Vocontian Basin.

This enhanced nutrient influx is therefore recorded synchronously in the Jura-Dauphinois Platform and in the Vocontian Basin. The platform and pelagic carbonate productions reacted, however, in an opposite way. The maximum nannofossil abundance is contemporaneous with

maximum clay input, minimum platform-derived carbonate flux, and the first positive peak in $\delta^{13}\text{C}$ (Figs. 3, 5 and 8). The first part of the positive $\delta^{13}\text{C}$ excursion is most probably linked to a higher primary productivity in the basin stimulated by high nutrient concentrations.

The decrease in $\delta^{13}\text{C}$ following the first peak corresponds to a decreased pelagic carbonate production in a context of cooler marine temperatures (McArthur et al., 2007; Fig. 8). In parallel, a higher input of platform-derived carbonates, as illustrated by the occurrence of the carbonate-rich sediments of the Faisceau median, is linked to a shorter transport distance from shallow-water areas as consequence of sea-level lowering (Gréselle and Pittet, 2010; Fig. 8). The second $\delta^{13}\text{C}$ peak occurred concomitant with the lowest temperatures of the Valanginian (Pucéat et al., 2003; McArthur et al., 2007; Fig. 8). The pelagic carbonate production continuously decreased from the first $\delta^{13}\text{C}$ peak, in the Verrucosum Subzone, to the Nicklesi Subzone, i.e. after the second carbon isotope peak (Fig. 8). Contrarily to the first peak, no correlation is observed between the increase in carbon isotope values in the Peregrinus Subzone and the nannofossil abundance. The second positive $\delta^{13}\text{C}$ peak of the Weissert Event is here tentatively interpreted as being related to high primary productivity supported by non-calcifying organisms.

The start of the $\delta^{13}\text{C}$ decrease occurred 1 Myr earlier than the significant rise of platform-derived carbonate input documented by the thick Hauterivian calcareous beds (Fig. 8). From the base of the Nicklesi Subzone to the earliest Hauterivian, $\delta^{13}\text{C}$ continuously decreased whereas no noticeable change is recorded in the pelagic carbonate flux. However, the clay input is still high from the Faisceau médian to the lowermost Hauterivian, whereas the non-pelagic carbonate flux remains low (Fig. 8). The reduced carbonate export from shallow-water platforms suggests that these latter have not yet recovered from the crisis, probably because of rapid and high-amplitude sea-level changes (Gréselle and Pittet, 2010; Fig. 8).

5.4. Comparison of nannofossil fluxes with previous work and climate interpretation

Erba and Tremolada (2004) present nannofossil fluxes for the Polaveno section located in the Lombardy Basin, Southern Alps. Although their method of quantification differs from the one used here, some comparisons of fluxes calculated in the Vocontian Basin and Lombardy Basin can be done. The nannofossil fluxes measured in the Lombardy Basin are generally slightly lower than those measured in the Vocontian Basin, although in the same order of magnitude. Interestingly, during the Nannoconid decline fluxes decreased from 7–8 $\mu\text{m}/\text{an}$ to less than 4 $\mu\text{m}/\text{an}$ in the Lombardy Basin, whilst they increased from average values of 5 $\mu\text{m}/\text{an}$ to 10 $\mu\text{m}/\text{an}$ in the Vocontian Basin (Fig. 8). This discrepancy can be interpreted in terms of different paleoceanographic conditions occurring in the two basins located at different paleolatitudes.

The progressive, then sharp increase in clay influx in the Vocontian Basin illustrates an increase in continental weathering and run-off probably triggered by a long-term climate change during the Valanginian. This climate change toward more humid conditions may have been triggered by enhanced greenhouse conditions following the volcanic activity of the Paraña-Etendeka province as suggested by Erba et al. (2004), Weissert and Erba (2004), Peate (2009) and Zhu et al. (2009). However, a great uncertainty in the absolute ages of this volcanic activity remains, and its link with the carbon isotope excursion characterizing the Valanginian Weissert Event is not unambiguously proven (McArthur et al., 2007; Thiede and Vasconcelos, 2010). Alternatively, the climatic change toward more humid conditions and related increase in clay accumulation in the basin may be associated with a migration of latitudinal climatic belts. A global climatic change is suggested by a Late Valanginian cooling event recorded in the Vocontian Basin (Pucéat et al., 2003; McArthur et al., 2007), in northern Germany (Podlaha et al., 1998), in western Siberia (Price and Mutterlose, 2004) and in the Arctic

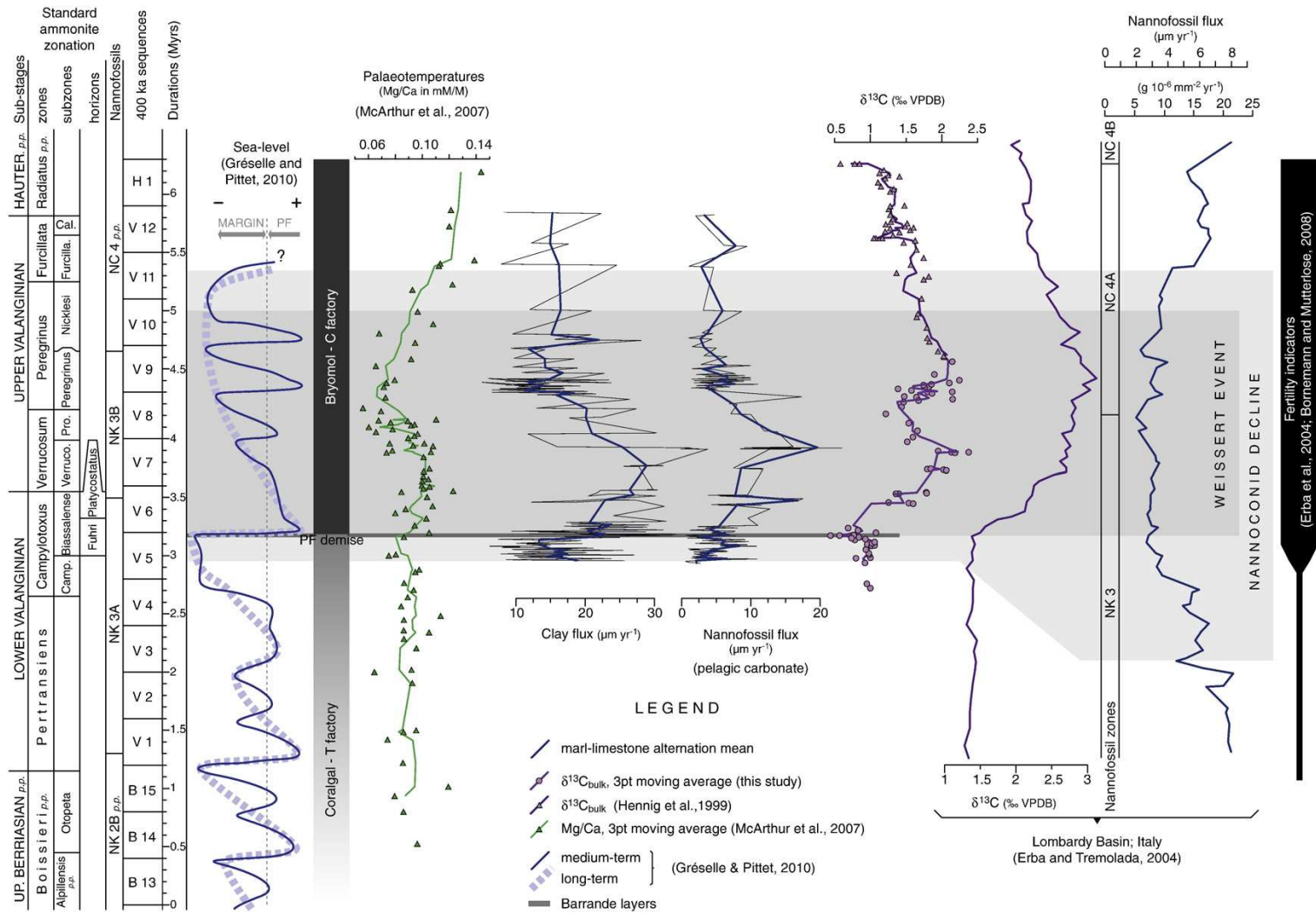


Fig. 8. Evolution of the clay and pelagic carbonate accumulation rates, carbon isotopes, paleotemperatures and sea-level for the Vocontian Basin compared with the evolution of nannofossil flux and carbon isotopes in the Lombardy Basin (Italy; Erba and Tremolada, 2004). Carbon isotope data from the uppermost Peregrinus Subzone to the Hauterivian (*A. radiatus* Zone) from Hennig et al. (1999; triangles). Palaeotemperatures and 3-point moving average (solid line) are data from the Vocontian Basin from McArthur et al. (2007); McArthur et al. (2007) data from Spain were not used in this work. Sections and sample numbers are Vergol (45), La Charce (2), Angles (6), Les Prades (1), Morenas (20), Serre de la Croix (1), and Source de l'Asse de Moriez (5; McArthur et al., 2007). Sea-level fluctuations relative to the Vocontian Basin are from Gréselle and Pittet (2010). See the text for detail. Data from the Vocontian and Lombardy basins are correlated to the ignition and the maximum values of the $\delta^{13}C$ positive excursion.

Svalbard (Price and Nunn, 2010). Moreover, several studies suggest the development of high-latitude ice caps during the Late Valanginian (Price, 1999; Gréselle and Pittet, 2010 and references therein). Numeric modeling indicates an increase in climate humidity at low-to-intermediate latitudes (Price et al., 1998). Climate modeling by Chumakov (1995) proposed a more humid and warmer climate for latitudes around 30°N, corresponding to the position of the Vocontian Basin and of surroundings mountain ranges. The regional response of Valanginian glaciations would then have been a more humid climate inducing more intense continental weathering and increase in both clay and nutrient input in the Vocontian Basin. This change would have enhanced carbonate production by nanofossils in the basin whereas shallow-water carbonate production would have been drastically reduced, illustrating the Valanginian carbonate platform crisis. This migration of latitudinal belts probably did not affect southernmore latitudes, where the Lombardy Basin was located. In this area, situated more distally from continental areas, the increase in coccolith fluxes was likely less effective than in the Vocontian Basin, although the general trophic conditions were high during the Weissert Event (Erba and Tremolada, 2004).

6. Conclusions

This study of the Vocontian Basin documents for the first time the specific response of both basin and platform carbonate systems during the Valanginian Weissert Event, and provides new time-controlled sedimentological and palaeoenvironmental information. Calculation of accumulation rates of the pelagic and non-pelagic carbonates, and of clays deposited in basinal settings allows us to better constrain the evolution of both carbonate production in shallow-water and in pelagic realms. Principal outcomes are the following:

- (1) Shallow-water platform and deeper-water basin systems reacted differently to the higher nutrient input to the oceans. First, a decline in *Nannoconus* absolute abundance is recorded in the basin, whereas carbonate production on the platform was not particularly affected. Changes in carbonate production on both the platform and the basin occurred 100 kyr later the Nannoconid decline and represent a synchronous response of the two carbonate systems to the same environmental perturbation. The pelagic carbonate production mainly supported by nanofossils, especially coccoliths, increased at the same time as the carbonate production on the platform decreased with oligotrophic producers being replaced by heterozoans.
- (2) The first peak of the positive carbon isotope excursion characterizing the Weissert Event is linked to an enhanced primary productivity by calcareous nanofossils in the basin. The pelagic carbonate production by nanofossils was stimulated by an increased influx of nutrients due to intensified continental weathering and run-off.
- (3) The second maximum of the carbon isotope excursion marking the end of the Weissert Event is most probably linked to a still high primary productivity. This was likely mainly supported by non-calcifying organisms, as the abundance of nanofossils tends to decrease after its maximum. The second peak of the positive carbon isotope excursion is synchronous with the thermal minimum recorded worldwide.
- (4) Both the increase in climate humidity, invoked here to explain intensification of continental weathering observed in the Vocontian Basin, and the cooling event in the Late Valanginian represent a global climate change. The migration of latitudinal climate belt could have been triggered by the development of high-latitude ice caps starting in the Early Valanginian. In a context of global climate changes, the response of nanofossil fluxes was different in basins located at different paleolatitudes due to local paleoceanographic conditions.

Acknowledgments

We are grateful to Raphaël Morard, Vincent Perrier and Ulrich Heimhofer for their kind help in the field. We also thank John McArthur who kindly provided stable isotope and Mg/Ca ratios published in 2007. We would like to thank Karl Föllmi, Finn Surlyk and an anonymous reviewer who helped to improve the quality of the present work. This study was funded by the INSU-CNRS French program “ECLIPSE II”, SYSTER and INTERRVIE.

References

- Adatte, T., Stinnesbeck, W., Hubberten, H., Remane, J., Lopez-Oliva, J.G., 2001. Correlation of a Valanginian stable isotopic excursion in northeastern Mexico with the European Tethys. *American Association of Petroleum Geologists Memoir* 75, 371–388.
- Arthur, M.A., Schlanger, S.O., Jenkyns, H.C., 1987. The Cenomanian–Turonian oceanic anoxic event: palaeoceanographic controls on organic matter production and preservation. In: Brooks, J., Fleet, A.J. (Eds.), *Marine Petroleum Source Rocks*, pp. 401–420.
- Bartolini, A., 2003. Cretaceous radiolarian biochronology and carbon isotope stratigraphy of ODP Site 1149 (Northwestern Pacific, Nadezhda Basin). *Proceedings of the Ocean Drilling Program. Scientific Results* 185, 1–17.
- Beaufort, L., 1991. Adaptation of the random settling method for quantitative studies of calcareous nanofossils. *Micropaleontology* 37, 415–418.
- Berger, A., Loutre, M.-F., 1994. Astronomical forcing through geological time. *International Association of Sedimentologists Special Publications* 19, 15–24.
- Bersezio, R., Erba, E., Gorza, M., Riva, A., 2002. Berriasian–Aptian black shales of the Maiolica formation (Lombardian Basin, Southern Alps, Northern Italy): local to global events. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 180, 253–275.
- Betzler, C., Reijmer, J.J.G., Berner, K., Eberli, G.P., Anselmetti, F., 1999. Sedimentary patterns and geometries of the Bahamian outer carbonate ramp (Miocene–Lower Pliocene, Great Bahama Bank). *Sedimentology* 46, 1127–1143.
- Blakey, R., 2005. <http://jan.ucc.nau.edu/~rcb7/2005>.
- Bornemann, A., Mutterlose, J., 2008. Calcareous nanofossil and $\delta^{13}\text{C}$ records from the Early Cretaceous of the Western Atlantic Ocean: evidence for enhanced fertilization across the Berriasian–Valanginian transition. *Palaios* 23, 821–832.
- Bornemann, A., Aschwer, U., Mutterlose, J., 2003. The impact of calcareous nanofossils on the pelagic carbonate accumulation across the Jurassic–Cretaceous boundary. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 199, 187–228.
- Bralower, T.J., Premoli Silva, I., Malone, M.J., 2002. Leg 198. *Proceedings of the Ocean Drilling Program: Initial reports*, 198, p. 148.
- Channell, J.E.T., Erba, E., Lini, A., 1993. Magnetostratigraphic calibration of the Late Valanginian carbon isotope event in pelagic limestones from northern Italy and Switzerland. *Earth and Planetary Science Letters* 118, 145–166.
- Chumakov, N.M., 1995. Climatic zones in the middle of the Cretaceous period. *Stratigraphy and Geological Correlations* 3, 3–14.
- Cotillon, P., Rio, M., 1984. Cyclic sedimentation in the Cretaceous of Deep Sea Drilling Project sites 535 and 540 (Gulf of Mexico), 534 (central Atlantic), and in the Vocontian Basin (France). In: Buffler, R.T., Schlager, W., Bowdler, J.L., Cotillon, P., Halley, R.B., Kinoshita, H., Magoon, L.B.I., McNulty, C.L., Patton, J.W., Premoli Silva, I., Suarez-Otmara, A., Testarmata, M.M., Tyson, R.V., Watkins, D.K., Pisciotto, K.A. (Eds.), *Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project*, Washington, pp. 339–376.
- Cotillon, P., Ferry, S., Gaillard, C., Jautée, E., Latreille, G., Rio, M., 1980. Fluctuation des paramètres du milieu marin dans le domaine vocontien (France Sud-est) au Crétacé inférieur: mise en évidence par l'étude des formations marno-calcaires alternantes. *Bulletin de la Société Géologique de France* 7 tXXII, 735–744.
- Droxler, A.W., Schlager, W., 1985. Glacial versus interglacial sedimentation rates and turbidite frequency in the Bahamas. *Geology* 13, 799–802.
- Duchamp-Alphonse, S., Gardin, S., Fiet, N., Bartolini, A., Blamart, D., Pagel, M., 2007. Fertilization of the northwestern Tethys (Vocontian basin, SE France) during the Valanginian carbon isotope perturbation: evidence from calcareous nanofossils and trace element data. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 243, 132–151.
- Eder, W., 1982. Diagenetic redistribution of carbonate, a process in forming limestone–marl alternations (Devonian and Carboniferous, Rheinisches Schiefergebirge, W. Germany). In: Einsele, G., Seilacher, A. (Eds.), *Cycles and Even Stratification*. Springer, Berlin, pp. 98–112.
- Einsele, G., 2000. *Sedimentary basins. Evolution, Facies, and Sediment Budget*. Springer.
- Einsele, G., Ricken, W., 1991. Limestone–marl alternations—an overview. In: Einsele, G., Ricken, W., Seilacher, A. (Eds.), Springer, pp. 377–382.
- Elder, W.P., Gustason, E.R., Sageman, B.B., 1994. Correlation of basinal carbonate cycles to nearshore parasequences in the Late Cretaceous Greenhorn Seaway, Western Interior, U.S. *Geological Society of America Bulletin* 106, 892–902.
- Emmanuel, L., Renard, M., 1993. Carbonate geochemistry (Mn, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$) of the Late Tithonian–Berriasian pelagic limestones of the Vocontian Through (SE France). *Bull. Cent. Rech. Explor.–Prod. Elf-Aquitaine*, 17/1, pp. 205–221.
- Erba, E., Tremolada, F., 2004. Nanofossil carbonate fluxes during the Early Cretaceous: phytoplankton response to nitratification episodes, atmospheric CO₂, and anoxia. *Paleoceanography* 19. doi:10.1029/2003PA000884.
- Erba, E., Bartolini, A., Larson, R.L., 2004. Valanginian Weissert oceanic anoxic event. *Geology* 32, 149–152.
- Ferry, S., 1991. Une alternative au modèle de stratigraphie séquentielle d'Exxon: la modulation tectono-climatique des cycles orbitaux. *Géologie Alpine H.S.* 18, 47–99.

- Föllmi, K.B., 1995. 160 m.y. record of marine sedimentary phosphorus burial: coupling of climate and continental weathering under greenhouse and icehouse conditions. *Geology* 23, 503–506.
- Föllmi, K.B., 1996. The Phosphorus cycle, phosphogenesis and marine phosphate-rich deposits. *Earth-Science Reviews* 40, 55–124.
- Föllmi, K.B., Weissert, H., Bisping, M., Funk, H., 1994. Phosphogenesis, carbon-isotope stratigraphy, and carbonate–platform evolution along the Lower Cretaceous northern Tethyan margin. *Geological Society of America Bulletin* 106, 729–746.
- Föllmi, K.B., Godet, A., Bodin, S., Linder, P., 2006. Interactions between environmental change and shallow water carbonate buildup along the northern Tethyan margin and their impact on the Early Cretaceous carbon isotope record. *Palaeogeography* 21, PA4211. doi:10.1029/2006PA001313.
- Funk, H., Föllmi, K.B., Mohr, H., 1993. Evolution of the Tithonian–Aptian carbonate platform along the northern Tethyan margin, eastern helvetic alps. *American Association of Petroleum Geologists Memoir* 56, 387–407.
- Geisen, M., Bollman, J., Herrle, J.O., Mutterlose, J., Young, J.R., 1999. Calibration of the random settling technique for calculation of absolute abundances of calcareous nannoplankton. *Micropaleontology* 45, 437–442.
- Giraud, F., Beaufort, L., Cotillon, P., 1995. Periodicities of carbonate cycles in the Valanginian of the Vocontian Trough: a strong obliquity control. *Geological Society Special Publication* 85, 143–164.
- Gradstein, F.M., Agterberg, F.P., Ogg, J.G., Hardenbol, J., van Veen, P., Thierry, J., Huang, Z., 1994. A mesozoic time scale. *Journal of Geophysical Research* 99, 24051–24074.
- Gradstein, F.M., Ogg, J.G., Smith, A.G., 2004. *A Geologic Time Scale 2004*. Cambridge University Press.
- Gréselle, B., Pittet, B., 2010. Sea-level reconstructions from the Peri-Vocontian Zone (SE France) point to Valanginian glacio–eustasy. *Sedimentology* 57, 1640–1684.
- Gröcke, D.R., Price, G.D., Robinson, S.A., Baraboshkin, E., Mutterlose, J., Ruffell, A.H., 2005. The Upper Valanginian (Early Cretaceous) positive carbon-isotope event recorded in terrestrial plants. *Earth and Planetary Science Letters* 240, 495–509.
- Harris, P.M., Frost, S.H., Seiglie, G.A., Schneidermann, N., 1984. Regional unconformities and depositional cycles, Cretaceous of the Arabian peninsula. *American Association of Petroleum Geologists Memoir* 36, 67–80.
- Hennig, S., Weissert, H., Bulot, L.G., 1999. C-isotope stratigraphy, a calibration tool between ammonite- and magnetostratigraphy: the Valanginian–Hauterivian transition. *Geologica Carpathica* 50, 91–96.
- Hoedemaeker, P.J., Reboulet, S., Aguirre-Urreta, M.B., Alsen, P., Aoutem, M., Atrops, F., Barragan, R., Company, M., Gonzalez Arreola, C., Klein, J., Lukeneder, A., Ploch, I., Raisossadat, N., Rawson, P.F., Ropolo, P., Vasicek, Z., Vermeulen, J., Wippich, M.G.E., 2003. Report on the 1st International Workshop of the IUGS Lower Cretaceous Ammonite Working Group, the ‘Kilian Group’ (Lyon, 11 July 2002). *Cretaceous Research* 24, 89–94.
- Krobicki, M., Wierzbowski, A., 1996. New data on stratigraphy of the Spisz Limestone Formation (Valanginian) and the brachiopod succession in the lowermost Cretaceous of the Pieniny Klippen Belt, Carpathians, Poland. *Studia Geologica Polonica* 109, 53–67.
- Laurin, J., Ulicny, D., 2004. Controls on a shallow-water hemipelagic carbonate system adjacent to a siliciclastic margin: example from Late Turonian of Central Europe. *Journal of Sedimentary Research* 74, 697–717.
- Lees, J.A., Bown, P.R., Mattioli, E., 2005. Problems with proxies? Cautionary tales of calcareous nannofossil paleoenvironmental indicators. In: Aubry, M.-P. (Ed.), *Approach to Paleobiodiversity, Mesozoic Calcareous Nannoplankton*. American Museum of Natural History, New York, pp. 333–343.
- Lini, A., 1994. *Early Cretaceous carbon isotope stratigraphy of the Maiolica Formation, Southern Alps (Northern Italy and Southern Switzerland): stratigraphic and paleoenvironmental significance*. Diss. Naturwiss., ETH Zürich.
- Lini, A., Weissert, H., Erba, E., 1992. The Valanginian carbon isotope event: a first episode of greenhouse climate conditions during the Cretaceous. *Terra Nova* 4, 374–384.
- Masse, J.-P., 1993. Valanginian–Early Aptian carbonate platforms from Provence, southeastern France. In: Simo, J.A.T., Scott, R.W., Masse, J.-P. (Eds.), *Cretaceous Carbonate Platform*, pp. 363–374.
- Masse, J.-P., Philip, J.M., 1981. Cretaceous coral–rudistid buildups of France. *American Association of Petroleum Geologists Memoir*, 56, pp. 363–374.
- McArthur, J.M., Janssen, N.M., Reboulet, S., Leng, M.J., Thirwall, M.F., Van de Schootbrugge, B., 2007. Palaeotemperatures, polar ice-volume, and isotope stratigraphy (Mg/Ca, $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$, $87\text{Sr}/86\text{Sr}$): the Early Cretaceous (Berriasian, Valanginian, Hauterivian). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 248, 391–430.
- Munnecke, A., Samtleben, C., 1996. The formation of micritic limestones and the development of limestone–marl alternations in the Silurian of Gotland, Sweden. *Facies* 34, 159–176.
- Munnecke, A., Westphal, H., Elrick, M., Reijmer, J.J.G., 2001. The mineralogical composition of precursor sediments of calcareous rhythmites: a new approach. *International Journal of Earth Sciences* 90, 795–812.
- Mutterlose, J., Bornemann, A., Herrle, J.O., 2005. Mesozoic calcareous nannofossils—state of the art. *Paläontologische Zeitschrift* 79, 113–133.
- Ogg, J.G., Ogg, G., Gradstein, F.M., 2008. *The Concise Geological Time Scale*. Cambridge University Press, Cambridge 9780521898492. ed.
- Olivier, N., Pittet, B., Mattioli, E., 2004. Palaeoenvironmental control on sponge-microbialite reefs and contemporaneous deep-shelf marl–limestone deposition (Late Oxfordian, southern Germany). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 212, 233–263.
- Peate, D.W., 2009. Global dispersal of Pb by large-volume silicic eruptions in the Parañá–Etendeka large igneous province. *Geology* 37, 1071–1074.
- Pittet, B., Strasser, A., 1998. Long-distance correlations by sequence stratigraphy and cyclostratigraphy: examples and implications (Oxfordian from the Swiss Jura, Spain and Normandy). *Geologische Rundschau* 86, 852–874.
- Podlaha, O.G., Mutterlose, J., Veizer, J., 1998. Preservation of $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in belemnite rostra from the Jurassic/Early Cretaceous successions. *American Journal of Science* 298, 324–347.
- Price, G.D., 1999. The evidence and implications of polar ice during the Mesozoic. *Earth-Science Reviews* 48, 183–210.
- Price, G.D., Mutterlose, J., 2004. Isotopic signals from late Jurassic–early Cretaceous (Volgian–Valanginian) sub–Arctic belemnites, Yatria River, Western Siberia. *Journal of the Geological Society of London* 161, 959–968.
- Price, G.D., Nunn, E.V., 2010. Valanginian isotope variation in glendonites and belemnites from Arctic Svalbard: transient glacial temperatures during the Cretaceous greenhouse. *Geology* 38, 251–254.
- Price, G.D., Valdes, P.J., Sellwood, B.W., 1998. A comparison of GCM simulated Cretaceous ‘greenhouse’ and ‘icehouse’ climates: implications for the sedimentary record. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 142, 123–138.
- Pucéat, E., Lecuyer, C., Sheppard, S.M.F., Dromart, G., Reboulet, S., Grandjean, P., 2003. Thermal evolution of Cretaceous Tethyan marine waters inferred from oxygen isotope composition of fish tooth enamels. *Palaeogeography* 18, 1029. doi:10.1029/2002PA000823.
- Reboulet, S., 1996. L’évolution des ammonites du Valanginien–Hauterivien inférieur du bassin vocontien et de la plate-forme provençale (sud–est de la France) : relations avec la stratigraphie séquentielle et implications biostratigraphiques. Thèse. Documents du Centre des Sciences de la Terre de Lyon, 137.
- Reboulet, S., Atrops, F., 1995. Rôle du climat sur les migrations et la composition des peuplements d’ammonites du Valanginien supérieur du bassin vocontien (S–E de la France). *Geobios* 18, 357–365.
- Reboulet, S., Atrops, F., 1999. Comments and proposal about the Valanginian Lower Hauterivian ammonite zonation of south-eastern France. *Eclogae Geologicae Helveticae* 92, 183–197.
- Reboulet, S., Atrops, F., Ferry, S., Schaaf, A., 1992. Renouveau des ammonites en fosse vocontienne à la limite Valanginien–Hauterivien. *Geobios* 25, 469–476.
- Reboulet, S., Mattioli, E., Pittet, B., Baudin, F., Olivero, D., Proux, O., 2003. Ammonoid and nannoplankton abundance in Valanginian (early Cretaceous) limestone–marl successions from the southeast France Basin: carbonate dilution or productivity? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 201, 113–139.
- Reboulet, S., Hoedemaeker, P.J., Aguirre-Urreta, M.B., Alsen, P., Atrops, F., Baraboshkin, E., Company, M., Delanoy, G., Dutour, Y., Klein, J., Latil, J.-L., Lukeneder, A., Mitta, V., Mourgues, F.A., Ploch, I., Raisossadat, N., Ropolo, P., Sandoval, J., Tavera, J.M., Vasicek, Z., Vermeulen, J., 2006. Report on the 2nd international meeting of the IUGS lower Cretaceous ammonite working group, the ‘Kilian Group’ (Neuchâtel, Switzerland, 8 September 2005). *Cretaceous Research* 27, 712–715.
- Reboulet, S., Klein, J., Barragan, R., Company, M., Gonzalez Arreola, C., Lukeneder, A., Raisossadat, N., Sandoval, J., Szives, O., Tavera, J.M., Vasicek, Z., Vermeulen, J., 2009. Report on the 3rd International Meeting of the IUGS Lower Cretaceous Ammonite Working Group, the ‘Kilian Group’ (Vienna, Austria, 15th April 2008). *Cretaceous Research* 30, 496–502.
- Reijmer, J.J.G., Schlager, W., Droxler, A.W., 1988. Site 632: Pliocene–Pleistocene sedimentation cycles in a Bahamian basin. *Proceedings of the Ocean Drilling Program. Scientific Results* 101, 213–220.
- Rendle-Bühning, R.H., Reijmer, J.J.G., 2005. Controls on grain-size patterns in periplatform carbonates: marginal setting versus glacio–eustasy. *Sedimentary Geology* 175, 99–113.
- Ricken, W., 1986. Diagenetic bedding: a model for limestone–marl alternations. *Lectures Notes in Earth Sciences* 6, 210.
- Ricken, W., 1994. Complex rhythmic sedimentation related to third-order sea-level variations: Upper Cretaceous, Western Interior Basin, USA. *International Association of Sedimentologists Special Publications* 19, 167–193.
- Roth, P., 1984. Mesozoic pelagic carbonate and organic carbon deposition; causes and effects. *Eos, Transactions, AGU, San Francisco, CA, United States*, p. 977.
- Schlager, W., 1981. The paradox of drowned reefs and carbonate platforms. *Geological Society of America Bulletin* 92, 197–211.
- Schlager, W., 2000. Sedimentation rates and growth potential of tropical, cool-water and mud-mound carbonate factories. In: Insalaco, E., Skelton, P.W., Palmer, T.J. (Eds.), *Carbonate Platform Systems: Components and Interactions*, pp. 217–227.
- Schlager, W., 2003. Benthic carbonate factories of the Phanerozoic. *International Journal of Earth Sciences* 92, 445–464.
- Schlager, W., Reijmer, J.J.G., Droxler, A.W., 1994. Highstand shedding of carbonate platforms. *Journal of Sedimentary Research* B64, 270–281.
- Scholle, P.A., Arthur, M.A., 1980. Carbon isotope fluctuations in Cretaceous pelagic limestones: potential stratigraphic and petroleum exploration tool. *American Association of Petroleum Geologists Bulletin* 64, 67–87.
- Sprovieri, M., Coccioni, R., Lirer, F., Pelosi, N., Lozar, F., 2006. Orbital tuning of a lower Cretaceous composite record (Maiolica Formation, central Italy). *Palaeogeography* 21, PA 4212. doi:10.1029/2005PA001224.
- Stein, R., Rullkötter, J., Welte, D.H., 1986. Accumulation of organic-carbon-rich sediments in the Late Jurassic and Cretaceous Atlantic Ocean—a synthesis. *Chemical Geology* 56, 1–32.
- Stoll, H.M., Schrag, D.P., 2001. Sr/Ca variations in Cretaceous carbonates: relation to productivity and sea level changes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 168, 311–336.
- Strasser, A., Pittet, B., Hillgärtner, H., Pasquier, J.-B., 1999. Depositional sequences in shallow carbonate-dominated sedimentary systems: concepts for a high-resolution analysis. *Sedimentary Geology* 128, 201–221.
- Summerhayes, C.P., Masran, T.C., 1983. Organic facies of Cretaceous and Jurassic sediments from Deep Sea Drilling Project Site 534 in the Blake–Bahama Basin, western North Atlantic. *Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project* 76, 469–480.
- Thiede, D.S., Vasconcelos, P.M., 2010. Parañá flood basalts: rapid extrusion hypothesis confirmed by new $40\text{Ar}/39\text{Ar}$ results. *Geology* 38, 747–750.

- Tremolada, F., Young, J.R., 2002. Volume calculation of Cretaceous coccoliths and nannoliths. *Journal of Nannoplankton Research* 24, 199–202.
- Van de Schootbrugge, B., Föllmi, K.B., Bulot, L.G., Burns, S.J., 2000. Paleocceanographic changes during the early Cretaceous (Valanginian–Hauterivian): evidences from oxygen and carbon stable isotopes. *Earth and Planetary Science Letters* 181, 15–31.
- Van de Schootbrugge, B., Kuhn, O., Adatte, T., Steinmann, P., Föllmi, K.B., 2003. Decoupling of P- and C_{org}-burial following Early Cretaceous (Valanginian–Hauterivian) platform drowning along the NW Tethyan margin. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 199, 315–331.
- Wachter, E.A., Hayes, J.M., 1985. Exchange of oxygen isotopes in carbon dioxide–phosphoric acid systems. *Chemical Geology* 52, 365–374.
- Weissert, H., Erba, E., 2004. Volcanism, CO₂ and palaeoclimate: a Late Jurassic–Early Cretaceous carbon and oxygen isotope record. *Journal of the Geological Society of London* 161, 695–702.
- Weissert, H., Lini, A., Föllmi, K.B., Kuhn, O., 1998. Correlation of Early Cretaceous carbon isotope stratigraphy and platform drowning events: a possible link? *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 137, 189–203.
- Westermann, S., Föllmi, K.B., Adatte, T., Matera, V., Schnyder, J., Fleitmann, D., Fiet, N., Ploch, I., Duchamp-Alphonse, S., 2010. The Valanginian $\delta^{13}\text{C}$ excursion may not be an expression of a global oceanic anoxic event. *Earth and Planetary Science Letters* 290, 118–131.
- Williams, J.R., Brawlower, T.J., 1995. Nannofossil assemblages, fine fraction stable isotopes, and the paleoceanography of the Valanginian–Barremian (Early Cretaceous) North Sea Basin. *Paleoceanography* 10, 815–839.
- Wilpshaar, M., Leereveld, H., Visscher, H., 1997. Early Cretaceous sedimentary and tectonic development of the Dauphinois Basin (SE France). *Cretaceous Research* 18, 457–468.
- Wortmann, U.G., Weissert, H., 2000. Tying platform drowning to perturbations of the global carbon cycle with a $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ -curve from the Valanginian of DSDP Site 416. *Terra Nova* 12, 289–294.
- Zhu, D.-C., Chung, S.-L., Mo, X.-X., Zhao, Z.-D., Niu, Y., Song, B., Yang, Y.-H., 2009. The 132 Ma Comei–Bunbury large igneous province: remnants identified in present-day southeastern Tibet and southwestern Australia. *Geology* 37, 583–586.

Références citées

- Bordiga, M., Beaufort, L., Cobianchi, M., Lupi, C., Mancin, N., Luciani, V., Pelosi, N., Sprovieri, M., 2013. Calcareous plankton and geochemistry from the ODP site 1209B in the NW Pacific Ocean (Shatsky Rise): New data to interpret calcite dissolution and paleoproductivity changes of the last 450 ka. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 371, 93–108.
- Regoli, F., Barbarin, N., de Garidel-Thoron, T., Beaufort, L., Moron, V., In prep. Morphometry of *Globigerinoides ruber* morphotypes of the last 800kyrs (core MD052930, Coral Sea).
- Regoli, F., de Garidel-Thoron, T., Tachikawa, K., Jian, Z.M., Ye, L., Droxler, A.W., Lenoir, G., Crucifix, M., Barbarin, N., Beaufort, L., Submitted. Progressive thermocline shoaling in the Equatorial Pacific during the last eight glacial periods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Sanchi, L., Menot, G., Bard, E., 2013. An automated purification method for archaeal and bacterial tetraethers in soils and sediments. *Organic Geochemistry* 54, 83–90.
- Sucheras-Marx, B., Mattioli, E., Giraud, F., Gally, Y., Barbarin, N., Beaufort, L., submitted. Absolute abundance and flux quantification of Middle Jurassic coccoliths, an automated approach. *Marine Micropaleontology*.

Résumé

SYRACO est un **SY**stème de **R**econnaissance **A**utomatisée des **CO**ccolithes, développé à son origine par Luc Beaufort et Denis Dollfus à partir de 1995 et plus récemment avec Yves Gally. Un tel système apporte aux spécialistes un gain de temps majeur dans l'acquisition et le traitement des données. Dans ce travail, le système a été amélioré techniquement et sa reconnaissance a été étendue aux nannofossiles calcaires du Cénozoïque (Éocène Sup.). Ce système fait le tri entre les nannofossiles et les non-nannofossiles avec une efficacité respectivement estimée à 75 % et 90 %. Il s'appuie sur une nouvelle base d'images de référence d'espèces d'âges variant de l'Éocène Supérieur aux espèces vivantes actuellement ; ce qui représente des centaines d'espèces avec une forte variabilité morphologique. Il permet de réaliser une classification en 39 morphogroupes par la combinaison de réseaux de neurones artificiels avec des modèles statistiques. Les résultats sont présentés sous forme de comptages automatisés, de données morphométriques (taille, masse, etc.) et de mosaïques d'images. Il peut ainsi être utilisé pour des analyses biostratigraphiques et paléocéanographiques.

Les résultats obtenus sur la carotte MD052930 (Golfe de Papouasie) mettent en évidence les changements écologiques majeurs des derniers 800 000 ans : l'acmé d'*Emiliana huxleyi*, l'augmentation des petits *Gephyrocapsa*, l'acmé de *Gephyrocapsa caribbeanica* et les dernières occurrences de *Pseudoemiliana lacunosa* et *Discoaster*. Ces événements permettent de déterminer la biozonation utilisée en biostratigraphie. Il est aussi possible d'étudier la paléoproduktivité primaire grâce au comptage automatique de *Florisphaera profunda*. D'autre part, une étude sur la distribution morphologique des Noelaerhabdaceae (environ 350 000 individus) met en évidence que les événements écologiques utilisés en biostratigraphie sont observables par le biais de la distribution de la taille ou de la masse. De plus, ces résultats montrent que l'excentricité et la précession modulent la variance de la distribution morphologique (taille, masse et épaisseur moyenne). Ces influences se répercutent par des périodes de distributions bimodales de la taille lors d'une forte excentricité.

Par cette étude, SYRACO dévoile un nouveau potentiel pour la stratigraphie grâce aux coccolithes : la cyclo-morpho-chronostratigraphie qui permettrait d'atteindre des résolutions de 20 000 ans, voire de 5 000 ans.

Mots-clefs : Reconnaissance automatique, nannofossiles calcaires, Cénozoïque, coccolithophoridés, microscopie optique, traitement d'image, réseaux de neurones artificiels, classifications statistiques, comptage automatique, biostratigraphie, paléocéanographie, cyclo-morpho-chronostratigraphie.

Abstract

SYRACO is an **A**utomated **R**ecognition **SY**stem of **CO**ccoliths, originally developed since 1995 by Luc Beaufort and Denis Dollfus, and more recently with the help of Yves Gally. The main purpose of this system is for specialists to save time in the acquisition and treatment of data. By this recent work, the system has been technically improved and its ability of recognition has been extended to calcareous nannofossils of the Cenozoic Era (Upper Eocene). It sorts nannofossils and non-nannofossils with a reliability respectively estimated to 75% and 90%. It is based on a new database of reference images using species from the Upper Eocene up to living ones. This represents hundreds of species with a high morphological variability. It leads to the establishment of a classification arranged in 39 morphogroups, combining artificial neural networks to statistical models. The results are presented as automated counting, morphometrical data (size, mass, etc.) and mosaics of images. Those results can be valuable in biostratigraphical and paleoceanographical analyses.

The results on the core MD052930 (Gulf of Papua) highlight major ecologic changes on the last 800,000 years: the acme of *Emiliana huxleyi*, the rise of the small *Gephyrocapsa*, the acme of *Gephyrocapsa caribbeanica* and the last occurrence of *Pseudoemiliana lacunosa* and *Discoaster*. These events lead to the determination of biozonations used in biostratigraphy. It is also possible to study primary paleoproductivity with the help of the automated counting of *Florisphaera profunda*. While on the other hand, a study about the morphologic distribution of the Noelaerhabdaceae (around 350.000 individuals) highlights that the ecological events used in biostratigraphy are observable through the evolution of the size and mass distributions. Moreover, these results show that the eccentricity and the precession modulate the variance of the morphologic distribution (size, mass and mean thickness). These influences are reverberated by periods of bimodal distributions of the sizes during high eccentricity.

By this study, SYRACO unveils a new potential for the stratigraphy using the coccoliths: the cyclo-morpho-chronostratigraphy that would enable to reach a resolution up to 20,000 years, or even 5,000 years.

Keywords: Automatic recognition, calcareous nannofossils, Cenozoic, coccolithophorids, optic microscopy, image processing, artificial neural networks, statistical classifications, automated counting, biostratigraphy, paleoceanography, cyclo-morpho-chronostratigraphy.