



**HAL**  
open science

# Traçage des conditions environnementales et de l'activité microbienne dans des stromatolites formés en contexte évaporitique : stromatolites actuels de Sardaigne et stromatolites du Messinien (6Ma)

Juliette Debie

## ► To cite this version:

Juliette Debie. Traçage des conditions environnementales et de l'activité microbienne dans des stromatolites formés en contexte évaporitique : stromatolites actuels de Sardaigne et stromatolites du Messinien (6Ma). Géochimie. Sorbonne Université, 2022. Français. NNT : 2022SORUS454 . tel-04343693

**HAL Id: tel-04343693**

**<https://theses.hal.science/tel-04343693>**

Submitted on 14 Dec 2023

**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.

# Sorbonne Université

École doctorale Géosciences, Ressources Naturelles et Environnement – ED 398

*Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie / Équipe BIOMIN*

## **Traçage des conditions environnementales et de l'activité microbienne dans des stromatolites formés en contexte évaporitique : stromatolites actuels de Sardaigne et stromatolites du Messinien (6Ma)**

Juliette Debrie

Thèse de doctorat de Biogéosciences

Dirigée par Karim Benzerara et Jean-Paul Saint Martin

Soutenance soutenue le 13 décembre 2022

Devant un jury composé de :

Christophe Dupraz	Professeur associé, Université de Stockholm	Rapporteur
Kévin Leptot	Maître de conférences, Université de Lille	Rapporteur
Laurence de Viguerie	Chargée de recherche CNRS, Sorbonne Université	Examinatrice
Emmanuelle Vennin	Professeure, Université de Bourgogne	Présidente du jury
Karim Benzerara	Directeur de recherche CNRS, Sorbonne Université	Directeur de thèse
Jean-Paul Saint Martin	Professeur Émérite, Muséum National d'Histoire Naturelle	Directeur de thèse



*Il est bon de suivre sa pente, pourvu que ce soit en montant*

---

Les Faux-Monnayeurs, ANDRÉ GIDE



# Remerciements

Avant d'entrer dans le vif du sujet, je tiens à remercier un certain nombre de personnes qui m'ont accompagnée et qui ont contribué de près ou de loin à ce travail de thèse.

Dans un premier temps, j'aimerais renouveler mes remerciements aux membres du jury : je remercie vivement Christophe Dupraz et Kevin Lepot d'avoir rapporté ce travail de thèse ainsi que Laurence de Viguierie pour l'avoir examiné. Enfin, je remercie Emmanuelle Vennin, d'avoir présider le jury de thèse.

Mes remerciements vont maintenant à mes deux directeurs de thèse, Karim Benzerara et Jean-Paul Saint Martin. Je les remercie pour m'avoir accordé leur confiance, et de m'avoir guidée tout au long de ce travail de thèse. Merci Karim pour ton encadrement scientifique sans faille. Merci Jean-Paul pour m'avoir accompagnée dans cette initiation à la géologie et pour m'avoir transmis quelques-unes de tes nombreuses connaissances à travers tes passionnants récits.

Je remercie Dimitri Prêt qui a passé de longues heures à m'aider dans le traitement des données MEB-EDXS. Merci pour tout le savoir que tu m'as transmis que ce soit sur le traitement, les argiles, l'interaction X/matière... Grâce à toutes ces réunions zoom durant le confinement, celui-ci est passé beaucoup plus vite.

Je remercie Pierre Sans-Jofre pour son aide sur les analyses isotopiques ainsi que pour les discussions scientifiques qui ont participé à l'avancée de cette thèse. Merci également pour ton aide sur le terrain lors de la mission en octobre 2021.

Merci Séverin pour la préparation des lames minces. Merci de m'avoir sauvée pour la préparation des échantillons synchrotron.

Je remercie Samuel Domino, que je ne connais pas mais qui a commencé le projet sur les stromatolites de Sardaigne durant son stage de M1 et qui a contribué ainsi aux premières réflexions et analyses préliminaires.

Je remercie les collaborateurs sardes, Massimo et Roberto, pour avoir accepté d'échantillonner les eaux des lagunes de Mari Ermi durant une année. J'espère que cette collaboration va perdurer.

Je remercie Fériel et Cynthia pour leur aide sur la préparation des échantillons et plus généralement pour leur bonne humeur eu sein de cette équipe.

Je remercie toutes les personnes avec qui j'ai pu travailler et collaboré à savoir Nicolas Menguy pour les analyses MET, Miguel Iniesto pour les analyses de diversité moléculaire, Imène Estève pour les mosaïques MEB, Laure Cordier pour les analyses ICP, Oanez Lebeau pour les analyses isotopiques des eaux, David Troadec pour la réalisation des lames FIB, Stefan Lalonde pour les analyses macro XRF, France Lam et Philippe Bun pour l'initiation au FLIM, Laurence Le Callonec pour l'utilisation de la cathodoluminescence et Andrea Somoguy et Kadda Medjoubi pour leur aide sur les acquisitions et le traitement des données SR-XRF.

Je remercie les nombreuses plateformes de l'IMPMC en particulier, la plateforme MEB-FIB, la plateforme DRX, la plateforme spectroscopie, la plateforme MET, la plateforme GEMME et la plateforme isotopique du site Buffon.

Je remercie Puri, David, Christophe, Robin, Elodie et Electra pour les discussions scientifiques que nous avons eu dans le cadre de l'ANR Microbialites.

Je tiens particulièrement à remercier Damien Daval pour une discussion au tout début de ma thèse qui a permis d'ouvrir des pistes de réflexions particulièrement intéressantes.

Je remercie toutes les personnes que j'ai côtoyées durant ces trois années, et qui ont rendu ces trois années inoubliables, notamment lors de soirées au Baker : Laura, Cécile, Apolline, Dania, Jaysen, Baptiste, Antoine, Théo, Lucas, Bastien, Juliette, Lucie, Neha, Romain, Marceau, Lauranne, Geoffroy, Jeanne, Sigrid... Mention toute particulière à Apolline avec qui j'ai partagé ces derniers mois intenses de rédaction sur zoom.

Je tiens à saluer Sibylle, Léa, Elie, Raphaël que j'ai rencontré lors de mon stage Master. Vous m'avez donné envie de poursuivre dans la recherche et de faire une thèse.

Merci à mes amies pour leur soutien : Océane, Cassou, Lou, Eléo, Nolwen, Juliette, Léa et Alice. Merci Andréa d'être toujours là depuis quasiment vingt ans maintenant.

Merci Léon de m'avoir soutenue jusqu'à la fin. Merci de toute l'aide que tu m'as apportée (DRX, présentations powerpoint, entraînement aux présentations). Je suis heureuse que cette thèse ait permis notre rencontre.

Enfin merci à mes parents qui ont toujours été là pour moi.





# Table des matières

<b>1 INTRODUCTION.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Contexte général.....</b>	<b>17</b>
1.1.1 Définition.....	17
1.1.2 Les enjeux patrimoniaux .....	18
<b>1.2 Les stromatolites dans le registre actuel.....</b>	<b>22</b>
1.2.1 Les processus impliqués dans la formation des microbialites modernes .....	22
1.2.2 L’environnement lagunaire côtier.....	25
<b>1.3 Stromatolites actuels de Sardaigne et stromatolites du Messinien : deux témoins des environnements côtiers à microbialites en Méditerranée .....</b>	<b>29</b>
1.3.1 Les stromatolites de Sardaigne.....	29
1.3.2 Les stromatolites du Messinien.....	31
<b>1.4 Problématiques et objectifs de ma thèse.....</b>	<b>35</b>
<b>2 SITES D’ETUDE .....</b>	<b>39</b>
<b>Présentation des sites d’études .....</b>	<b>42</b>
<b>3 ÉVOLUTION GEOCHIMIQUE, ISOTOPIQUE ET BIOLOGIQUE DES LAGUNES VS SIGNATURES ISOTOPIQUES DES STROMATOLITES .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1 Introduction.....</b>	<b>47</b>
<b>3.2 Matériels et méthodes .....</b>	<b>50</b>
3.2.1 Données géosatellites.....	50
3.2.2 Échantillons .....	50
3.2.3 Analyses géochimiques des solutions.....	52
3.2.4 Analyses isotopiques du carbone et de l’oxygène des carbonates .....	55
3.2.5 Imagerie .....	56
3.2.6 Analyses métagénomiques .....	57

<b>3.3</b>	<b>Résultats</b> .....	<b>58</b>
3.3.1	Données géosatellites.....	58
3.3.2	Données géochimiques.....	61
3.3.3	Populations microbiennes associées aux stromatolites.....	76
3.3.4	Isotope stable du carbone et de l'oxygène dans les carbonates stromatolitiques.....	82
<b>3.4</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>86</b>
3.4.1	Quel(s) régime(s) hydrologique(s) pour Mari Ermi ?.....	86
3.4.2	Comment interpréter les compositions isotopiques des carbonates stromatolitiques?.....	94
<b>3.5</b>	<b>Conclusion</b> .....	<b>97</b>
<b>3.6</b>	<b>Perspectives</b> .....	<b>98</b>
<b>4</b>	<b>CARACTERISATION MINERALOGIQUE MULTI-ECHELLES DES STROMATOLITES : DETERMINATION DE LA NATURE CHIMIQUE ET MINERALOGIQUE DES LAMINES JUSQU'A L'ECELLE NANOMETRIQUE.</b> .....	<b>101</b>
<b>4.1</b>	<b>Introduction</b> .....	<b>103</b>
<b>4.2</b>	<b>Article publié dans la revue Chemical Geology</b> .....	<b>106</b>
4.2.1	Résumé de l'article et principaux résultats.....	106
4.2.2	Manuscrit de l'article.....	108
4.2.3	Supplementary Materials.....	166
<b>4.3</b>	<b>Conclusion</b> .....	<b>176</b>
<b>4.4</b>	<b>Perspectives</b> .....	<b>177</b>
<b>5</b>	<b>ÉTUDE DES PROPRIETES DE LUMINESCENCE : FLUORESCENCE DANS LE VISIBLE, CATHODOLUMINESCENCE ET FLUORESCENCE DES RAYONS X</b> .....	<b>179</b>
<b>5.1</b>	<b>Introduction</b> .....	<b>181</b>
<b>5.2</b>	<b>Matériels et méthodes</b> .....	<b>184</b>

5.2.1	Liste des échantillons.....	184
5.2.2	Préparation des échantillons.....	185
5.2.3	Analyse chimique des éléments en trace .....	185
5.2.4	Microscopie optique.....	186
5.2.5	Microscopie confocale à balayage laser (CLSM).....	186
5.2.6	Cathodoluminescence .....	192
5.2.7	Analyses synchrotron de nano-fluorescence des rayons X (SR-XRF) à balayage.....	193
<b>5.3</b>	<b>Résultats.....</b>	<b>197</b>
5.3.1	Analyses CLSM.....	197
5.3.2	Analyses par cathodoluminescence (CL).....	215
5.3.3	Analyses chimiques globales en ICP-MS/AES.....	216
5.3.4	Analyses SR-XRF.....	217
<b>5.4</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>226</b>
5.4.1	Fluorescence dans le visible : stromatolites de Mari Ermi.....	226
5.4.2	Fluorescence dans le visible : stromatolites du Messinien.....	230
5.4.3	Cathodoluminescence et fluorescence X.....	232
<b>5.5</b>	<b>Conclusion.....</b>	<b>238</b>
<b>5.6</b>	<b>Perspectives.....</b>	<b>239</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>243</b>
6.1	Conclusions générales .....	245
6.2	Perspectives générales.....	249
	<b>BIBLIOGRAPHIE GENERALE .....</b>	<b>253</b>
	<b>ANNEXES .....</b>	<b>281</b>



# Table des abréviations

CL : cathodoluminescence

CLSM : microscope confocal à balayage laser

DRX : diffraction des rayons X

EPS : substances polymériques extracellulaires

EDXS : spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie

FH : histogramme de fréquence

FLIM : microscopie d'imagerie à durée de vie par fluorescence

FT-IR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

GAF : green auto-fluorescence ou autofluorescence verte

HAADF : imagerie annulaire en champ noir

HMC : high magnesian calcite

ICP – AES : spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif

LMC : low magnesian calcite

MEB : microscopie électronique à balayage

MEN : Mari Ermi nord

MES: Mari Ermi sud

MET: microscopie électronique en transmission

SAED : Selective area electron diffraction ou diffraction électronique

SR : rayonnement synchrotron

XRF : fluorescence des rayons X



# 1 Introduction

---

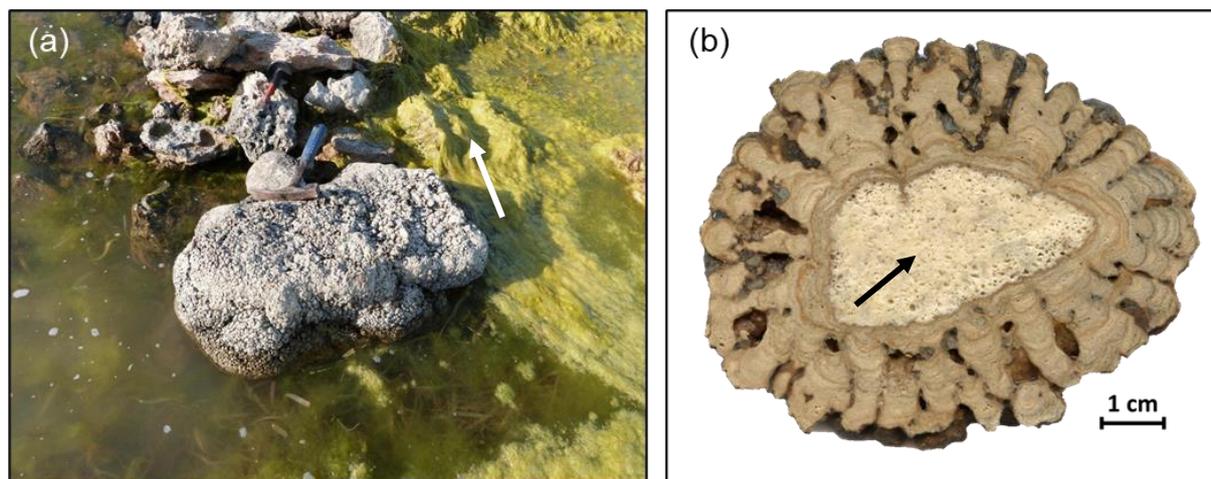


## 1.1 Contexte général

### 1.1.1 Définition

Le mot stromatolite a été introduit pour la première fois en 1908, par Kalkowsky (Kalkowsky, 1908) pour décrire des structures carbonatées laminées du Trias inférieur d'Allemagne (Bundsandstein), dont l'origine microbienne est suggérée. Dans le registre actuel, lorsque l'on étudie des stromatolites modernes (c'est-à-dire, en cours de formation), l'association de la roche et des micro-organismes est un fait observable : un tapis microbien recouvre une macrofabrique minérale et y est imbriqué. En revanche, lorsque l'on étudie des stromatolites fossiles, seule la partie minérale est en grande partie préservée. De ce fait, l'utilisation du terme stromatolite, qui signifie littéralement *tapis de pierre* (du grec ancien, *stroma*, le tapis et *lithos*, la pierre), a introduit une ambiguïté (Riding, 1999) et a fait l'objet de nombreuses controverses durant des années (Walter, 1976). En effet, le terme stromatolite peut être utilisé comme terme descriptif, surtout dans le registre géologique, pour désigner une structure sédimentaire laminée, le plus souvent carbonatée (Semikhatov et al., 1979). Cependant, il peut également être utilisé comme terme génétique, pour désigner une roche d'origine microbienne, qu'elle soit laminée (Kalkowsky, 1908) ou non (Awramik et Margulis, 1974). Cette double définition suggère à la fois une possible construction abiotique (sans intervention du vivant) et /ou biotique (intervention du vivant nécessaire) dans la formation des stromatolites. Contrairement au terme stromatolite, le terme microbialite, introduit en 1987 par Burne et Moore (Burne et Moore, 1987) ne suscite aucune confusion sur son origine génétique. Les microbialites sont définis comme étant des dépôts organo-sédimentaires, formés par le piégeage de sédiments détritiques (*trapping and binding*) et/ou par la précipitation de phases minérales authigènes, sous l'action de communautés microbiennes benthiques, comme par exemple, les cyanobactéries. Aujourd'hui, une définition communément admise, est de considérer les stromatolites comme un type de microbialites (Riding, 1999), se distinguant des thrombolites à la macrofabrique grumeleuse (Myshrall et al., 2010 ; Mobberley et al., 2012) ou des léiolites, sans macrofabrique définie (Dupraz et al., 2009), par une macrofabrique laminée (**Figure 1.1**). C'est cette définition que nous utiliserons dans la suite du manuscrit. Cette définition est plus contraignante car elle nécessite de prouver la biogénicité de la roche, c'est-

à-dire l'observation directe (e.g. microfossiles) et/ou indirecte d'un processus biologique ayant participé à la construction de la roche.



**Figure 1.1** Stromatolites de Sardaigne. (a) Stromatolites émergés et stromatolites immergés recouverts de biofilms (flèche blanche). (b) Coupe transversale de stromatolites ayant poussé sur un substrat (flèche noire). Crédits photo : Jean-Paul Saint Martin.

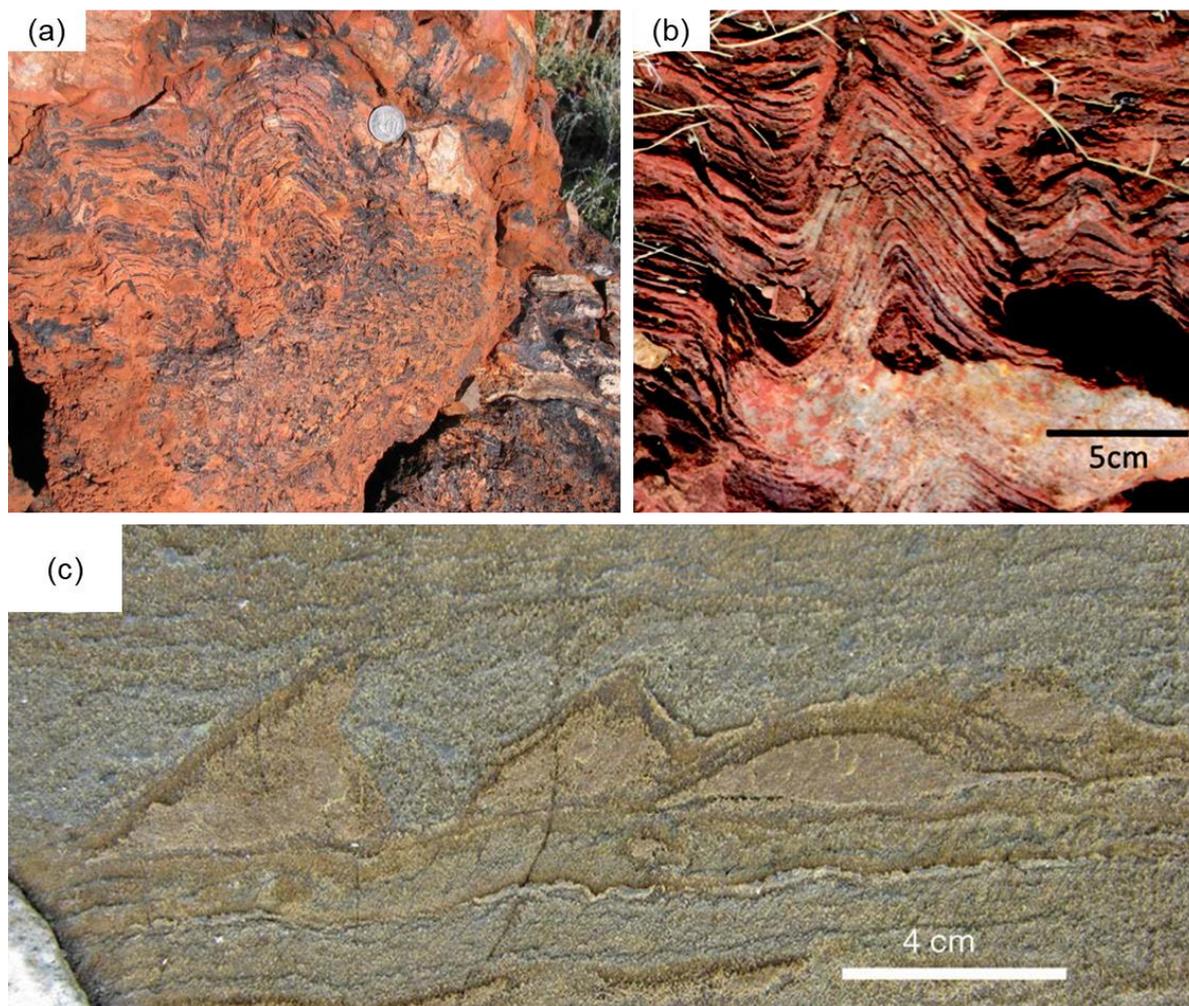
## 1.1.2 Les enjeux patrimoniaux

### 1.1.2.1 Les plus anciennes traces de vie sur Terre connues à ce jour

L'intérêt patrimonial exceptionnel des stromatolites résulte pour beaucoup du fait qu'ils représentent les plus anciennes traces de bioconstructions sur Terre (Schopf et al., 2007) et comptent donc parmi les plus anciennes traces, potentielles, de vie sur Terre. Les stromatolites avérés, les plus anciens connus à ce jour, sont datés autour de 3,5 milliards d'années et ont été observés dans les cratons Pilbara en Australie occidentale, à Warrawoona Supergroup et Strelley Pool (Lowe, 1980, 1983; Walter et al., 1980) (**Figure 1.2**) et dans la chaîne des roches vertes de Barberton, du Swaziland Supergroup, en Afrique du Sud (Byerly et al., 1986). Dans ces formations, les stromatolites ont été reconnus le plus souvent sur la base d'analogies avec des structures existantes dans le registre actuel (principalement les laminations). Même si elle est maintenant plus communément admise, la nature biogénique des stromatolites anciens a longtemps été controversée, notamment parce qu'un certain nombre de processus, non lié à l'activité d'êtres vivants, peut également conduire à la formation de laminations (Lowe, 1994 ; McLoughlin et al., 2008). Il est donc apparu que, seule, la lamination n'était pas un critère

suffisant pour parler de stromatolite. En revanche, l'accumulation de plusieurs critères tels que, la diversité des morphologies dans un même environnement, les ondulations, le comportement parfois souple de certaines lamines et les déchirures, permettait de démontrer une origine biogénique (Allwood et al., 2006, 2007). La dernière controverse en date, concerne des structures en forme de cônes, ressemblant à des stromatolites, découverts dans des carbonates de la ceinture supracrustale d'Isua (sud-ouest du Groenland) et datant de 3,7 milliards d'années (Nutman et al., 2016) (**Figure 1.2c**). Certains auteurs (Allwood et al., 2018) ont fortement remis en question ces structures biogéniques putatives, en indiquant qu'une origine abiotique et des déformations post-dépositionnelles pouvaient également conduire à leur formation. Cette controverse illustre parfaitement la difficulté pour la communauté scientifique, d'établir avec certitude, le caractère biogénique d'une roche, en s'appuyant uniquement sur des critères morphologiques, surtout si ces roches ont pu être transformées.

Un autre intérêt suscité par l'étude des stromatolites, est d'avoir une meilleure compréhension des écosystèmes primitifs sur Terre. En effet, selon le principe d'actualisme, (c'est-à-dire en considérant que les phénomènes du passé se produisent de la même manière que les phénomènes d'aujourd'hui), la présence présumée de stromatolites (ou plus généralement de microbialites) dès 3,5 milliards d'années implique la présence d'un écosystème primitif structuré au sein d'un tapis microbien (Allwood et al., 2007). L'étude de systèmes anciens a pour but premier d'améliorer les connaissances sur l'origine de la vie, dans le cadre du système Terre, mais également dans une optique de recherche de vie extra-terrestre, et plus particulièrement sur Mars. En effet, les interprétations actuelles des débuts de l'histoire de Mars suggèrent de nombreuses similitudes avec les débuts de la Terre et soulèvent donc la possibilité que, l'histoire de la vie sur Terre à l'Archéen et au Protérozoïque, puisse avoir un équivalent sur Mars (Walter et Des Marais, 1993). Ainsi, à l'instar du rover Persévérance qui a atterri à la surface de Mars en février 2021, dans le cadre de la mission Mars 2020, l'exploration spatiale est en plein essor et la recherche de preuves de vie sur d'autres planètes en constitue l'un des axes de recherche prioritaires (Cady et al., 2003 ; Des Marais et al., 2008 ; Rizzo et Cantasano, 2009 ; Joseph et al., 2019 ; Rizzo, 2020).



**Figure 1.2** Plus anciens stromatolites connus à ce jour situés dans la formation Dresser datant de 3.490 Ga (craton de Pilbara, Australie) et potentiels stromatolites de 3,7Ga à Isua (a) Chert stratifié (interprété comme des tapis bactériens fossilisés) et stromatolites domiques. Crédits photos : Fabrice Cordey. (b) Vue en coupe verticale d'un morphotype typique de stromatolite "grand cône complexe". (cf. Allwood et al.,2006). Une partie de la forme coniforme vers le bas de l'image a été oblitérée par la silicification secondaire. Image extraite de Wacey (2010). (c) Structures « stromatolitiques » découvertes par Nutman (2016) dans des carbonates de 3,7 Ga à Isua (Groenland).

#### 1.1.2.2 Archives paléogéobiologiques et paléoenvironnementales

Outre de constituer, peut-être, l'une des plus anciennes traces de vie sur Terre (Allwood et al., 2007), les stromatolites, sont omniprésents dans le registre fossile. De ce fait, ce sont des objets liés à la compréhension d'une histoire naturelle de la Terre. L'étude de l'abondance des

microbialites, plus spécifiquement de leur distribution spatiale et de leur diversité au cours du temps (Grotzinger, 1990), permet de fournir des informations très précieuses sur les paléoenvironnements. Deux grands événements sont notamment discutés dans la littérature. Premièrement, il a été constaté que l'importance des microbialites augmentait fortement lors du Protérozoïque, à partir de 2,5 Ga. Cette prolifération des structures microbiennes est souvent associée à l'événement de la Grande oxygénation (GoE) de l'atmosphère (*c.a.* 2,3 Ga). En effet, comme nous le verrons plus tard, la photosynthèse oxygénique, effectuée par les cyanobactéries (section 1.2.1), étant un métabolisme essentiel associé à la formation des microbialites, il a été suggéré que l'activité photosynthétique des cyanobactéries a produit une grande quantité de dioxygène, qui *in fine* a conduit à l'oxygénation de l'atmosphère il y a 2,45 Ga. Il est supposé que le O<sub>2</sub> produit a d'abord oxydé les composés/minéraux réduits dans l'océan avant de s'accumuler dans l'atmosphère (Farquhar et al., 2011).

Deuxièmement, après avoir connu un pic d'abondance et de distribution autour de 1,35 – 1,10 Ga (Hoffman, 1976 ; Grotzinger, 1990 ; Grotzinger et Knoll, 1999 ; Semikhatov et Raaben, 2000 ; Sumner, 2001), la diversité des microbialites a connu un déclin général à la fin du Protérozoïque à partir de 1,1 Ga. (*e.g.* Awramik, 1971). Même si les mécanismes expliquant ce déclin demeurent encore hypothétiques, une théorie avancée, serait un changement dans la composition chimique des océans (Fischer, 1965 ; Kempe et Kazmierczak, 1994). En effet, il est suggéré qu'au Précambrien, l'essentiel des microbialites se soit formé en domaine marin ouvert. Or, comme nous le verrons également en section 1.2.1, un des paramètres nécessaires pour que la précipitation de phases carbonatées puisse avoir lieu dans les microbialites, est que l'eau, dans laquelle les microbialites se forment, soit fortement saturée vis-à-vis des carbonates de calcium. Il est donc envisagé que les océans aient subi une forte baisse du niveau de la saturation de l'eau vis-à-vis des carbonates de calcium ( $\Omega_{CaCO_3}$ ) aboutissant au déclin des microbialites. Cette théorie vient s'opposer à celle proposée par Garrett (1970) et Awramik (1971), qui suggèrent que ce déclin est en partie la conséquence de la radiation des métazoaires, se traduisant par des organismes brouteurs et fouisseurs.

Bien que les informations enregistrées dans les stromatolites soient précieuses, les stromatolites anciens sont soumis à de nombreux biais taphonomiques rendant le décryptage de leurs informations délicat. Pour pallier cette difficulté, l'étude d'analogues actuels, peut s'avérer nécessaire. La prise en compte d'analogues actuels nécessite cependant un degré de similarité assez élevé entre les objets actuels et les objets anciens. Toutefois, la composition chimique,

minéralogique, la texture des roches et leur contenu en microfossiles est plus facile à interpréter dans des microbialites actuelles, permettant ainsi d'établir divers modèles selon les types d'environnement. Par la suite, les microbialites anciennes peuvent être comparables aux microbialites modernes et les paléoenvironnements dans lesquels les microbialites anciennes se sont formées peuvent être mieux contraints (Denver et Kaesler, 1992 ; Frantz et al., 2014; Petrash et al., 2016).

## 1.2 Les stromatolites dans le registre actuel

### 1.2.1 Les processus impliqués dans la formation des microbialites modernes

Dans cette section, est abordée la formation des microbialites modernes en général et non spécifiquement celle des stromatolites. En effet, même si les laminations sont l'une des principales caractéristiques des stromatolites, les mécanismes précis gouvernant leur formation, restent débattus (Grotzinger et Knoll, 1999). Depuis Burne et Moore (1987), quatre processus sont fréquemment invoqués pour expliquer la formation des microbialites :

- Le piégeage de particules détritiques (*trapping and binding*). C'est un mécanisme important dans les environnements marins actuels (Riding, 1991 ; Corkeron et al., 2012) mais il est également impliqué dans les tapis microbiens non lithifiés (*e.g.* Black et Jones, 1932), faisant dire à certains auteurs (Dupraz et al., 2013 ; Reid et al., 2003a) que ce mécanisme seul ne permet pas la lithification du tapis microbien. Il doit être combiné avec un mécanisme de précipitation *in situ* induisant une cimentation autour des grains piégés (Dupraz et al., 2011) :

- La précipitation *in situ* de minéraux authigènes (le plus souvent carbonatés), qu'elle soit influencée ou induite par l'action des micro-organismes : il s'agit d'un processus d'organo-minéralisation *sensu* Dupraz et al. (2009).

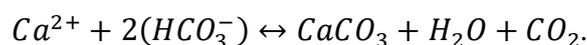
- La précipitation *in situ* de minéraux authigènes (le plus souvent carbonatés) sans l'influence de micro-organisme. Il s'agit d'une précipitation dite abiotique mais il est très difficile de distinguer ce processus du précédent.

- La précipitation *in situ* de minéraux authigènes sous le contrôle de micro-organismes. Par exemple (Couradeau et al., 2012 ; Moreira et al., 2017) ont travaillé sur des souches de cyanobactéries caractérisées dans des microbialites du Mexique, et ont montré que ces cyanobactéries biominéralisaient des carbonates de calcium amorphes (ACC) intracellulaires

de manière contrôlée dans les microbialites. En revanche, la démonstration que ces ACC participent à l'accrétion des microbialites reste à faire.

Parmi ces quatre mécanismes, la précipitation *in situ* de carbonates de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) authigènes, qu'elle soit biotique ou abiotique (i.e. influencée/induite ou non par la présence de micro-organismes), est un des processus les plus importants (Dupraz et al., 2011). En effet, d'autres auteurs ont montré que la précipitation de silicates authigènes, pouvait être quantitativement très importante dans certaines microbialites (Burne et al., 2014 ; Zeyen et al., 2015).

La précipitation de carbonates de calcium est un processus complexe, qui naît d'une balance fine entre les paramètres abiotiques et biotiques. Elle dépend de la relation d'équilibre suivante :



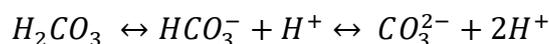
Il y a donc trois paramètres à prendre en compte : 1) la disponibilité des ions carbonates (contrôlant l'alcalinité), 2) la présence d'ions spécifiques (e.g.  $\text{Ca}^{2+}$ ) et 3) la présence de sites de nucléation. En plus de répondre à tous ces critères, pour que du  $\text{CaCO}_3$  se forme à partir d'une solution, il faut que la solution soit (sur)saturée vis-à-vis du  $\text{CaCO}_3$ . Pour savoir si une réaction de précipitation est possible thermodynamiquement, on utilise l'indice de saturation (SI). Il s'agit d'un indicateur de la capacité d'une solution à favoriser la précipitation d'un minéral. Lorsque  $\text{SI} > 0$ , la solution est saturée vis-à-vis du minéral, la réaction de précipitation est possible ; lorsque  $\text{SI} < 0$ , la solution est sous-saturée vis-à-vis du minéral, la réaction de précipitation est impossible ; lorsque  $\text{SI} = 0$ , la solution est à l'équilibre avec la phase minérale. On définit SI comme ce qui suit :

$$\text{SI} = \log \frac{\text{IAP}}{\text{Ks}}$$

avec Ks, la constante de solubilité de la phase correspondante et IAP, le produit d'activité ionique où, dans l'exemple de la calcite :

$$\text{IAP} = (\text{Ca}^{2+}) \times (\text{CO}_3^{2-})$$

où  $(\text{CO}_3^{2-})$  dépend de l'équilibre des carbonates (pH dépendant) :



Dans une revue consacrée aux différents mécanismes moléculaires impliqués dans la biominéralisation des carbonates par les bactéries, Gørgen et al. (2021) détaillent le contrôle et

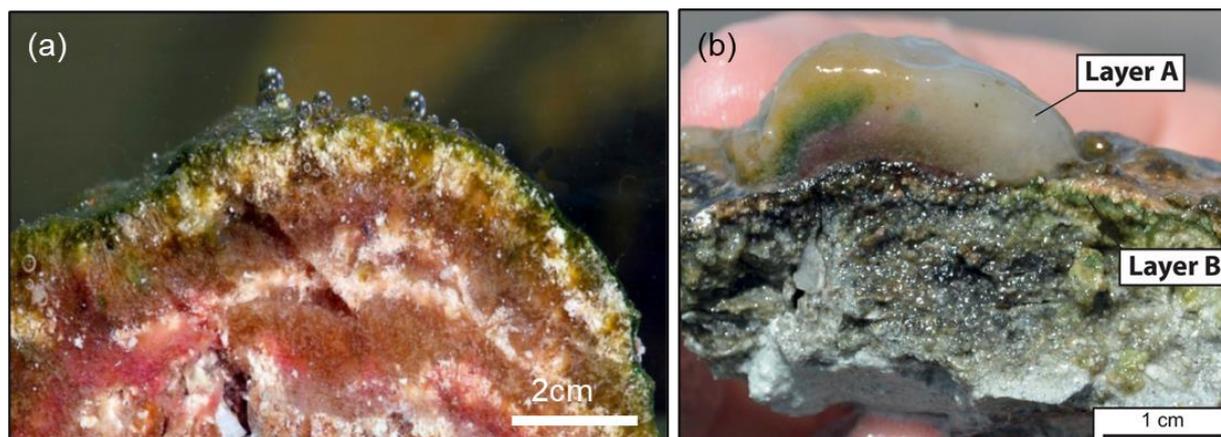
l'influence directe ou indirecte, qu'ont les micro-organismes sur deux paramètres fondamentaux ayant un rôle dans la précipitation : le moteur d'alcalinité, correspondant à l'activité des ions carbonates  $CO_3^{2-}$  et les matrices exopolymériques (EPS).

Tout d'abord, les micro-organismes formant le tapis microbien (**Figure 1.3a**) utilisent différentes voies métaboliques qui vont exercer une influence sur le moteur d'alcalinité. Certains métabolismes, comme la photosynthèse oxygénique et anoxygénique, sont en faveur de la précipitation (Dupraz et al., 2009; voir également les synthèses faites dans les thèses de Bouton, 2016; Couradeau, 2012; De Wever, 2019). La sulfato-réduction peut également être un mécanisme en faveur de la précipitation mais seulement dans certains cas (Gallagher, 2012). À l'inverse, d'autres mécanismes favorisent la dissolution (mêmes références que précédemment) : c'est le cas, par exemple de la respiration ou de la fermentation.

Bien que de nombreux métabolismes influencent le moteur d'alcalinité, celui-ci varie également en fonction de paramètres abiotiques environnementaux, par exemple, le dégazage de  $CO_2$  qui entraîne un déplacement de l'équilibre chimique des carbonates, ou encore des processus d'évaporation se traduisant par la concentration, entre autres, des ions  $CO_3^{2-}$ ,  $Ca^{2+}$  (Yeichieli et Wood, 2002 ; Warren et al., 2017). D'autres paramètres abiotiques tels que la salinité, la turbidité, les différents courants tidaux (Jahnert et Collins, 2012 ; Warden et al., 2019 ; Petrash et al., 2021), ont également été évoqués comme influençant la précipitation des carbonates de calcium, même si pour le moment, les mécanismes exacts ne sont pas totalement compris.

De nombreuses études ont mis en évidence le rôle majeur de la matrice organique EPS (**Figure 1.3b**) dans les processus d'organo-minéralisation responsables de la formation des microbialites carbonatés (*e.g.* Dupraz et al., 2009). Les EPS sont des molécules organiques et sont produites par de nombreux micro-organismes composant le tapis microbien, notamment les cyanobactéries (Decho, 1990). Les EPS constituent une sorte de protection pour les micro-organismes (Dupraz et Visscher, 2005 ; Stal, 2001), en particulier en les protégeant contre la dessiccation et les rayons UVs et en permettant la rétention de nutriments. Les EPS peuvent impacter la précipitation des minéraux de différentes manières (Görgen et al., 2021) : elles peuvent modifier les tensions de surface eau-minéral et constituer un lieu de nucléation pour les minéraux (Decho et al., 2005 ; Gallagher et al., 2010). Elles peuvent également sursaturer localement l'environnement en  $Ca^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  grâce à leurs effets chélateurs (fixateurs) (Trichet

and Défarge, 1995 ; Braissant et al., 2009) et ainsi favoriser la précipitation de carbonates de calcium.



**Figure 1.3** Implication des micro-organismes dans la formation des stromatolites. (a) Coupe transversale à travers le tapis microbien montrant des couches blanches stratifiées de précipités de carbonate, alternant avec des couches organiques lithifiées. Ces dernières reflètent la composition microbienne différenciée du tapis de Lagoa Vermelha (Brésil), avec des couches vertes de bactéries photosynthétiques sur le dessus, produisant des bulles d'oxygène, suivies par des intervalles de couches brunâtres, avec des bactéries hétérotrophes, des couches rouges avec des bactéries sulfureuses pourpres et une couche grise sous-jacente avec des réducteurs de sulfate Image extraite de Vasconcelos et al. (2006). Image extraite de Spadafora et al. (2009). (b) Coupe transversale d'un tapis microbien en train de minéraliser (layer B) avec au-dessus un gel de surface (layer A) riche en EPS montrant différentes colorations. Image extraite de Bouton et al. (2016).

### 1.2.2 L'environnement lagunaire côtier

Depuis une vingtaine d'années, les découvertes et les descriptions de stromatolites actuels se sont multipliées. Ces descriptions ont permis de mettre en évidence une diversité d'environnements de formation pour les microbialites actuelles. Les microbialites se retrouvent en domaine marin ouvert, par exemple à Shark Bay en Australie (Reid et al., 2003b ; Jahnert et Collins, 2012 ; Suosaari et al., 2016), aux Bahamas (Pinckney et Reid, 1997 ; Andres et Reid, 2006). Elles se retrouvent également en domaine continental, dans des eaux froides (Szulc et Smyk, 1994 ; Wharton, 1994) ou chaudes (Davaud et al., 1994 ; Winsborough et al., 1994), dans des eaux douces (Moore et Burne, 1994 ; Winsborough et al., 1994) ou hypersalines (Davaud et al., 1994 ; Gerdes et Krumbein, 1994). S'il y a encore quelques années, les microbialites marines actuelles étaient les plus étudiées (Riding et al., 1991a ; Reid et al., 2000 ;

Andres et Reid, 2006), nous pouvons raisonnablement dire qu'aujourd'hui, les microbialites lacustres suscitent au moins le même niveau d'intérêt (Pace et al., 2016 ; Chagas et al., 2016 ; Carvalho et al., 2018 ; Zeyen et al., 2021). Cela est dû au fait que, pendant un temps, les microbialites marines ont été proposées comme seules analogues possibles pour les microbialites anciennes (Logan, 1961 ; Reid et al., 2003b ; Burns et al., 2004). Même si beaucoup de microbialites du Précambrien, dont les plus anciennes connues à ce jour, se sont formées en domaine marin, certaines formations sont maintenant admises comme lacustre. C'est le cas des microbialites de la formation Tumbiana, 2,7Ga (Australie) (Sakurai et al., 2005 ; Awramik et Buchheim, 2009 ; Stüeken et al., 2015) dont l'origine lacustre a notamment été admise grâce aux isotopes du Sr et à l'étude des spectres des terres rares (Bolhar et Van Kranendonk, 2007).

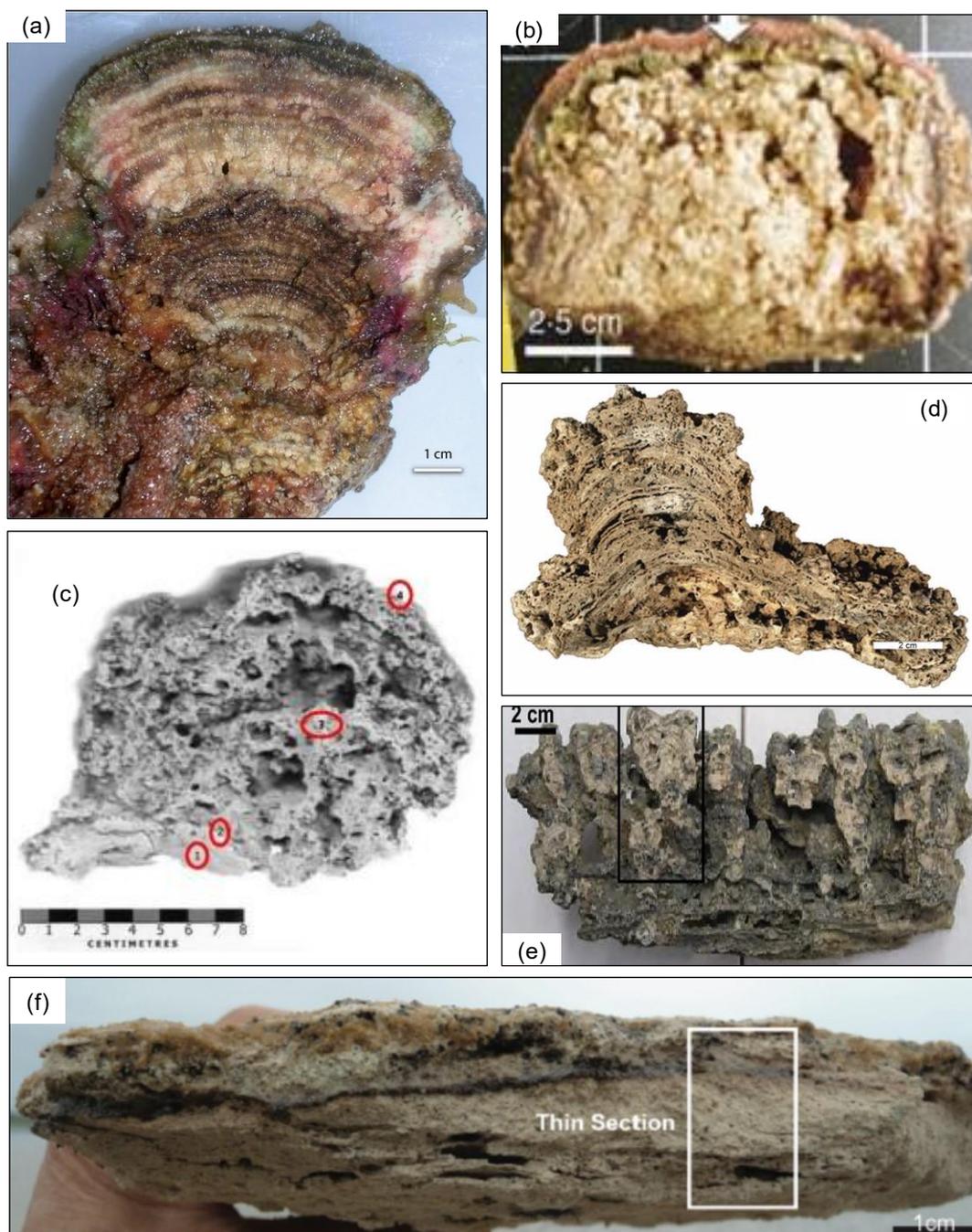
L'un des problèmes lorsque l'on parle des systèmes lacustres, c'est que l'on regroupe plusieurs sous-catégories. Parmi les sous-catégories, nous pouvons citer :

- Les lacs volcaniques et/ou de haute altitude : Satonda en Indonésie (Kempe et Kaźmierczak, 1993) ; Alchichica, la Preciosa et Quechulca, au Mexique (Zeyen et al., 2021) ; Laguna Negra en Argentine (Mlewski et al., 2018).
- Les lacs continentaux : Great Salt Lake aux USA (Pace et al., 2016 ; Lindsay et al., 2017) ; Fayetteville Green lake (DeMott et al., 2020).
- Les lagunes côtières : au Brésil Lagoa Vermelha (Vasconcelos et McKenzie, 1997) et Brejo de Espinho (Bahniuk et al., 2015) ; Cayo Coco à Cuba (Valdespino-Castillo et al., 2014 ; Bouton et al., 2016) ; lac Thetis en Australie (Grey et al., 1990 ; Wacey et al., 2018) ; dans l'atoll de Kiritimati (Schneider et al., 2013 ; Ionescu et al., 2015).

Dans la catégorie des lagunes côtières, une sous-catégorie nous intéresse plus particulièrement : il s'agit des lagunes côtières en connexion avec le milieu marin. Certains de ces environnements, répertoriés dans le **Tableau 1.1**, sont associés avec le développement de tapis microbiens et la formation de microbialites (**Figure 1.4**). Ce sont des environnements particulièrement intéressants puisque ce sont des environnements variables, avec des conditions chimiques parfois extrêmes (*e.g.* hyper/hyposalinité).

**Tableau 1.1** Résumé des microbialites actuelles formées en domaine lagunaire côtier en connexion avec le milieu marin. Liste non exhaustive

Localité	Type de structure	Environnement	Minéralogie	Références
Storr's Lake	San Salvador Island, Bahamas	stromatolite thrombolite	pH : 8-9 salinité : 70-100 psu	Aragonite, HMC  (Mann et Nelson, 1989 ; Dupraz et al., 2013)
Big Pond	Eleuthera Island, Bahamas	tapis microbien	pH : 7,5-8 salinité : 130-200 psu	Aragonite, HMC LMC  (Glunk et al., 2011)
Lagoa Vermelha	Rio de Janeiro, Brésil	stromatolite thrombolite	pH : 7,4-8,3 salinité : 17-50 g/L	Aragonite, HMC, minéraux argileux, dolomite  (Perri et Spadafora, 2011 ; Spadafora et al., 2010 ; Vasconcelos et al., 2006; Vasconcelos et McKenzie, 1997)
Brejo do Espinho	Rio de Janeiro, Brésil	microbialite	pH : 7,8-8,3 salinité : 20-100 psu	HMC, Ca-dolomite  (Bahniuk et al., 2015)
Lagoa Salgada	Rio de Janeiro, Brésil	microbialite	pH : 8,7-9,7	HMC, Calcite, aragonite  (Birgel et al., 2015)
Laguna Pirata	Archipel de Los Roques, Vénézuéla	thrombolite	pH : 9 salinité : 90 g/L	Gypse, aragonite, calcite, halite, argile  (Petrasch et al., 2010, 2012)



**Figure 1.4** Coupes transversales microbialites trouvées en domaines lagunaires côtiers en connexion avec la mer. (a) Storr's Lake (Bahamas). Image extraite de Dupraz et al. (2013). (b) Big Pond (Bahamas). Tête stromatolitique (flèche blanche). Image extraite de Glunk et al. (2011). (c) Laguna Pirata (Venezuela). Macrofabrique thrombolitique dominante, superposée à une macrofabrique stromatolitique (à la base). Image extraite de Petrash et al. (2012). (d) Lagoa Vermelha (Brésil). Structure lithifiée montrant des lamines de carbonates Ca : Mg développées et coalescentes en formes stromatolitiques et thrombolitiques. Image extraite de Perri et al. (2011). (e) Lagoa Salgada (Brésil). Stromatolite avec une zone inférieure laminée plate et une zone supérieure colonnaire. Image extraite de Birgel et al. (2015). (f) Brejo de Espinho (Brésil). Croûte de dolomite. Image extraite de Bahniuk et al. (2015).

## 1.3 Stromatolites actuels de Sardaigne et stromatolites du Messinien : deux témoins des environnements côtiers à microbialites en Méditerranée

### 1.3.1 Les stromatolites de Sardaigne

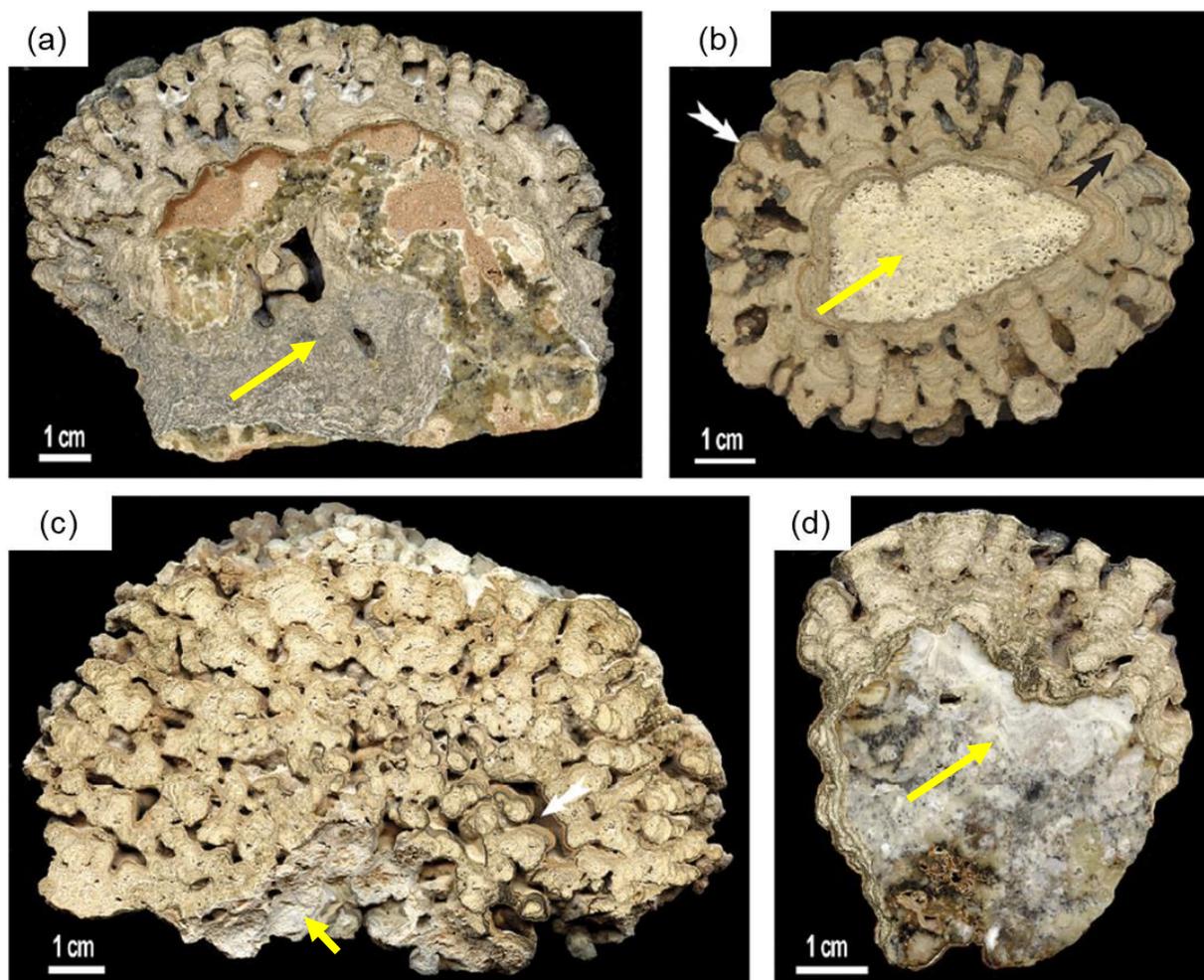
Les stromatolites des étangs côtiers de Sardaigne ont été signalés et décrits pour la première fois par (Saint Martin et Saint Martin, 2015a). Ces stromatolites proviennent de différentes lagunes côtières provenant des sites de Mari Ermi et du Su Pallosu. Dans ce travail, les stromatolites sont essentiellement abordés sous l'angle de l'imagerie à différentes échelles : 1) géographiquement avec la description des sites ; 2) macroscopiquement en présentant les principales caractéristiques des objets et 3) microscopiquement par les informations données par la microscopie optique, la microscopie confocale et la microscopie électronique à balayage. Les auteurs ont également prospecté d'autres sites dans l'espace méditerranéen et ont décrit, selon le même schéma d'observation utilisant l'imagerie, des objets identiques, mais moins bien développés, dans des étangs côtiers des côtes du Roussillon en France (Saint Martin et Saint Martin, 2015b).

Saint Martin et Saint Martin soulignent le caractère exceptionnel des stromatolites de Sardaigne pour différentes raisons. Premièrement, excepté les stromatolites du Roussillon, aucune microbialite résultante d'une minéralisation (directe ou indirecte) de tapis microbien n'a été étudiée dans un environnement lagunaire côtier en Méditerranée. Par ailleurs, ils mettent en évidence un environnement variable, présageant des variations chimiques extrêmes (e.g. hyper/hyposalinité) et instables, conditions fréquemment retrouvées dans les environnements lagunaires côtiers (cf. **Tableau 1.1**). Les auteurs documentent deux saisons : une saison humide, où les lagunes sont en eau, les stromatolites submergés et recouverts de biofilms, et une période sèche, où les lagunes sont quasiment à sec, les stromatolites émergés et parfois même recouverts de croûtes de sel (**Figure 1.5**). Par la suite, ces observations ont été confirmées et documentées lors des missions de terrain antérieures à ce travail de thèse. Deuxièmement, la construction des stromatolites de Sardaigne se fait sur un substrat dur et mobile (**Figure 1.6**). Il ne s'agit donc pas ici d'étudier un continuum de tapis microbien ayant minéralisé mais plutôt d'étudier des objets uniques pouvant être individualisés. Enfin, macroscopiquement, le caractère finement laminé des stromatolites de Sardaigne (notamment ceux de Mari Ermi) (**Figure 1.6**) fait office

d'exception dans les microbialites formées en domaine lagunaire côtier (cf. **Figure 1.4**) et plus généralement, dans les microbialites actuelles. Pour toutes ces raisons, Saint Martin et Saint Martin, ont considéré que les stromatolites des étangs côtiers de Méditerranée, pour l'instant uniquement connus en France et en Sardaigne, représentaient un cas d'école, particulièrement utile à la compréhension des phénomènes géobiologiques. Ce sont de plus des systèmes d'étude, géographiquement proches, plus facile à étudier que des microbialites se trouvant sur d'autres continents. Ces stromatolites constituent donc un patrimoine scientifique dont la préservation est plus que souhaitable.



**Figure 1.5** Images de terrain provenant de Mari Ermi Sud et Mari Ermi nord en septembre 2016 et juin 2018 et octobre 2021 (a) MES juin 2018 stromatolites complètement submergés. (b) MEN juin 2018. Présence de biofilms non minéralisés recouvrant les stromatolites. (c) MEN octobre 2021. Stromatolites émergés et peu de biofilms présents. (d) MES septembre 2016. Lagune complètement asséchée et présence de croûtes de sel recouvrant les stromatolites.



**Figure 1.6** Sections polies de stromatolites provenant de Mari Ermi. La construction stromatolitique se fait par des croûtes successives laminées et des digitations elles-mêmes laminées (flèches noires) à partir d'un substrat plus ou moins épais (flèches jaunes). En général, la construction se termine par une croûte millimétrique (flèches blanches). Figure extraite de Saint Martin et Saint Martin (2015a).

### 1.3.2 Les stromatolites du Messinien

#### 1.3.2.1 La crise de salinité du Messinien, une crise régionale exceptionnelle

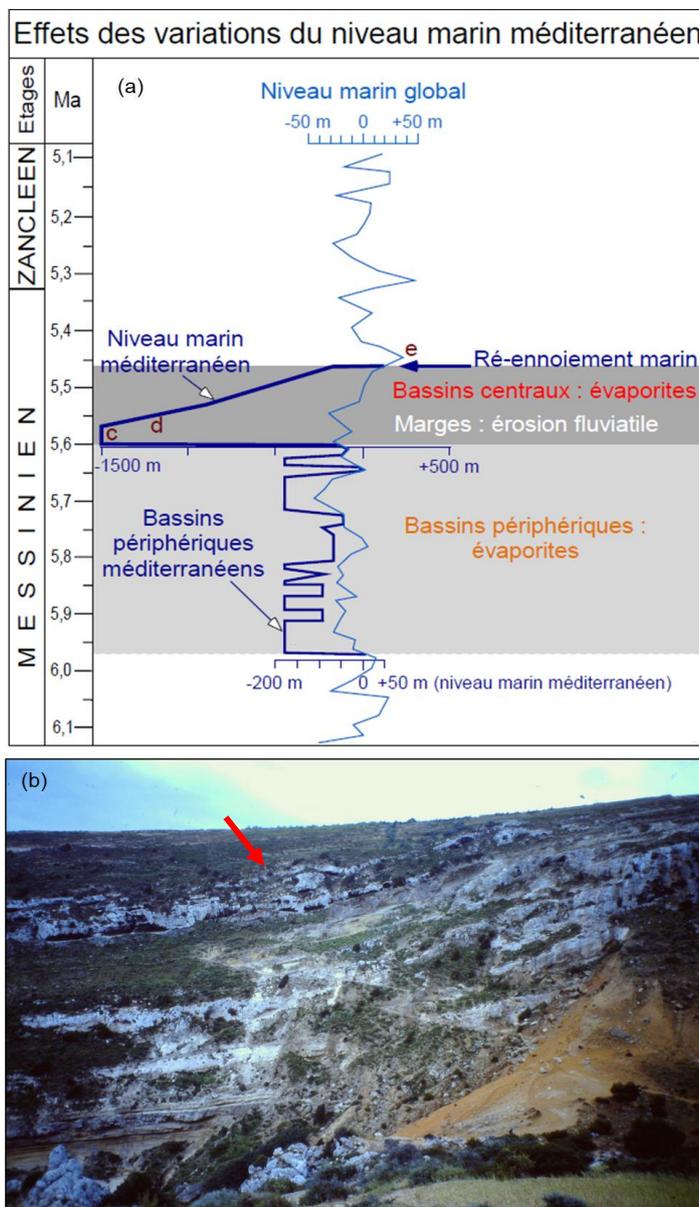
Cette dénomination vient de l'existence d'une masse imposante d'évaporites (gypse, halite, anhydrite) déposée en un temps restreint (à la fin du Miocène, au sein de l'étage du Messinien (7,246 – 5,333 Ma). L'accumulation de ces dépôts « évaporitiques » s'est effectuée en Méditerranée, dans des bassins centraux profonds et des bassins périphériques moins profonds. Ce phénomène évaporitique est classiquement admis comme l'expression d'une crise

environnementale majeure connue sous le nom de "crise de salinité messinienne". Cette crise résulterait de la restriction, puis de l'arrêt des circulations océaniques entre la Méditerranée et l'Atlantique par fermeture tectonique progressive des corridors bétiques et sud-rifain situés respectivement au nord et au sud du détroit actuel de Gibraltar. Pendant plus de 50 ans, la crise de salinité messinienne a représenté l'un des sujets les plus importants et les plus controversés du débat scientifique en paléontologie et géologie. Cela a stimulé des projets de recherche interdisciplinaires visant à comprendre les multiples mécanismes impliqués dans cet événement, depuis sa chronologie, les bouleversements géographiques induits, les relations entre le forçage externe et la réponse des systèmes physiques, jusqu'aux implications pour l'activité biologique (Briand, 2008 ; Suc, 2016 ; Suc et al., 2019). Un des débats majeurs a concerné la possibilité d'un assèchement partiel ou total de la Méditerranée (Roveri et al., 2014). Bien qu'il y ait encore débat sur de nombreuses questions, certaines polémiques ont fini par s'apaiser, grâce à un consensus concernant la chronologie de cette crise, à savoir la succession de deux stades évaporitiques : le premier dans les bassins périphériques du pourtour de la Méditerranée ; le second dans les bassins centraux qui correspondent, actuellement, aux zones les plus profondes de la Méditerranée (**Figure 1.7a**).

### 1.3.2.2 Le développement des microbialites au Messinien

En plus des dépôts évaporitiques, cette crise est associée à des événements géologiques spectaculaires, avec le développement de vastes plates-formes carbonatées bioclastiques et récifales coralliennes le long des marges de bassins périphériques. Le Messinien constitue une période prolifique pour le développement des stromatolites et des microbialites en général. Parmi les archives sédimentaires du Messinien, le Terminal Carbonate Complex (TCC) en est un exemple bien connu (**Figure 1.7b**). Cette plate-forme carbonatée d'eau peu profonde s'est développée dans la plupart des bassins sédimentaires périphériques des marges de la Méditerranée occidentale pendant la crise de salinité messinienne et présente des microbialites abondantes et morphologiquement diverses. Ces microbialites offrent une grande opportunité d'ouvrir une fenêtre sur la vie microbienne ancienne dans des environnements instables à extrêmes, saturés ou non en sel, peu profonds et profonds, d'autant plus que, la crise messinienne aurait eu comme répercussion la réduction à grande échelle de la biodiversité des peuplements marins corrélative de la dégradation des environnements (Suarez-Gonzalez et al., 2019). Enfin, les caractéristiques paléoenvironnementales de la plupart des dépôts

stromatolitiques sont encore diversement considérées, soit comme marines ouvertes (Riding et al., 1991b ; Braga et al., 1995) soit comme marines ouvertes fluctuantes à hypersalines (Bourillot et al., 2010 ; Feldmann et McKenzie, 1997 ; Rouchy et Saint Martin, 1992).



**Figure 1.7** (a) Effets des variations du niveau marins méditerranéen comparé au niveau global (6,1- 5,1 Ma) : assèchement périodique des bassins périphériques, dessiccation quasi totale, remise en eau lente puis diluvienne. Figure extraite de Gorini et al., (2015). (b) Image de terrain du TCC à Melilla, (Maroc). La flèche rouge indique les niveaux à stromatolites TCC. (Photographie prise par Jean-Paul Saint Martin, 1994)

### 1.3.2.3 Stromatolites de Sardaigne et du Messinien, expression de crises environnementales

Il convient de préciser que ce travail de thèse n'a pas l'ambition de faire des stromatolites de Sardaigne, des analogues actuels des stromatolites du Messinien. Il est vrai qu'en première approche et dans une optique de recherche de marqueurs paléoenvironnementaux, il paraît légitime de comparer les lagunes fluctuantes de Sardaigne aux bassins marginaux, et considérés également comme fluctuants, du Messinien. Toutefois, le travail mené sur les échantillons du Messinien ne se veut pas (et n'a pu être) exhaustif, contrairement à d'autres études très détaillées, comme celle de Bourillot et al. (2020) qui intègre des descriptions depuis l'échelle de la plateforme à celle du contenu en microfossiles. Cependant, nous avons pu disposer d'un matériel diversifié provenant de diverses régions de Méditerranée et donnant un éventail assez large du phénomène stromatolitique messinien (voir chapitre **2 Sites d'étude**). Il est d'ailleurs intéressant de remarquer que les zones d'étude des lagunes de Sardaigne sont situées dans la péninsule du Sinis, où sont présents les affleurements de sédiments carbonatés du Messinien, qui renferment également des microbialites (Saint Martin, 2010) et même des stromatolites, malheureusement très affectés par la diagenèse et la karstification (Cornée et al., 2008). Il y a de plus, un contexte évaporitique qui est commun au Messinien, et aux lagunes de Sardaigne. De ce fait, en considérant le contexte géographique et géologique, la mise en perspective des stromatolites de Sardaigne par rapport à ceux du Messinien prend tout son sens. Finalement, plutôt que de proposer une comparaison stricte entre deux objets, nous avons plutôt considéré les stromatolites de Sardaigne et du Messinien comme étant deux témoignages directs de crises environnementales se produisant ou s'étant produites en Méditerranée : pour les stromatolites de Sardaigne, il s'agit d'une crise locale à l'échelle annuelle ou pluri-annuelle et pour les stromatolites du Messinien, il s'agit d'une crise régionale à l'échelle de dizaines à centaines de milliers d'années, ce qui pourrait cependant être considéré comme instantané, à une échelle de temps géologique.

## 1.4 Problématiques et objectifs de ma thèse

Tout d'abord, ce travail de thèse commence avec la découverte des stromatolites de Sardaigne par Saint Martin et Saint Martin (Saint Martin and Saint Martin, 2015a). Dans cet article, les auteurs ont abordé des aspects géobiologiques, essentiellement par le biais de l'imagerie et ont notamment souligné la présence de cyanobactéries filamenteuses dans la construction stromatolitique ainsi que la présence de diatomées dans l'encroûtement supérieur. Ces observations ont donné lieu à une discussion sur le rôle des différents micro-organismes ainsi que celui des EPS dans la construction des stromatolites. En conclusion, les auteurs ont insisté sur la nécessité de bien caractériser les paramètres physico-chimiques des conditions environnementales extrêmement changeantes accompagnant le développement de ces microbialites. Ensuite, ce travail fait suite aux réflexions menées ces dernières années en lien avec les conditions environnementales et leur enregistrement dans la minéralogie des microbialites (Chagas et al., 2016 ; Zeyen et al., 2021). Ce travail s'appuie notamment sur des idées proposées lors de travaux précédents (cf. thèse de Zeyen, 2016) comme : la diversité des microbialites en fonction des conditions environnementales, le rôle moteur de l'évaporation dans les processus de saturation des eaux (postulé sur la base de l'étude de dix lacs mexicains et non pas au sein d'un unique lac) et la condition de saturation par rapport à un carbonate de calcium amorphe (la monohydrocalcite) pour former les carbonates dans les microbialites (Zeyen et al., 2021).

Ces dernières années, il y a eu une forte volonté d'intégrer les processus géochimiques et microbiens afin de permettre l'élaboration de modèles intégratifs de formation des microbialites (Dupraz et al., 2009 ; Couradeau et al., 2013 ; Benzerara et al., 2014 ; Castro-Contreras et al., 2014 ; Vasconcelos et al., 2014 ; Pace et al., 2016 ; Osorio-Rodriguez et Sanchez-Quiñónez, 2018 ; Gomez et al., 2018 ; Eymard et al., 2020 ; Zeyen et al., 2021 ; Muller et al., 2022). Cependant, cette démarche nécessite un suivi et un accès fréquent au terrain, ce qui, en raison de la situation sanitaire, n'a pas été réalisable au cours de cette thèse. Bien que la question des processus menant à la formation des stromatolites de Sardaigne soit, bien évidemment, toujours présente en toile de fond, l'objectif principal de cette thèse a été abordé sous un autre prisme. Celui-ci a consisté à comprendre **comment l'environnement de formation (comprenant les paramètres abiotiques et biotiques), propre aux lagunes de Sardaigne (et plus**

**particulièrement celles de Mari Ermi), était enregistré dans la composition minéralogique, chimique et texturale des stromatolites de Sardaigne.**

Pour répondre à cette question, j'ai donc privilégié des approches multi-échelles et lorsque cela était possible, corrélatives pour caractériser les stromatolites de Sardaigne. Certaines techniques d'analyse ont également été appliquées sur des échantillons du Messinien. Malgré l'importance des communautés microbiennes dans les processus de formation des microbialites, je n'ai pas participé à la caractérisation des communautés. Cette thèse a été principalement axée sur la caractérisation des matériaux. En particulier, l'imagerie hyperspectrale a occupé une place importante dans ma thèse, par les informations chimiques et minéralogiques qu'elle apporte. J'insisterai sur le fait qu'un effort tout particulier a été mené sur le traitement des données hyperspectrales, notamment en appliquant pour la première fois sur des objets géobiologiques, des méthodologies initialement développées dans le cadre d'études en sciences des matériaux. Le manuscrit de thèse s'organise de la façon suivante : après ce premier chapitre d'introduction (**Chapitre 1**), ainsi que la présentation des sites d'études (**Chapitre 2**), le manuscrit de thèse s'articule selon différentes problématiques dont les questions sont posées ci-dessous :

- *Existe-t-il des marqueurs géochimiques ou biologiques univoques d'un environnement lagunaire à forte variations de salinité ?*

Cette question a fait l'objet du **Chapitre 3** de la thèse. Cela m'a amené à 1) caractériser et modéliser l'évolution géochimique des lagunes, 2) rechercher des marqueurs géochimiques univoques grâce à des analyses isotopiques *in situ* et 3) discuter de la diversité microbienne associée aux stromatolites grâce à des analyses métagénomiques réalisées par des collaborateurs de l'Université de Saclay.

- *Quelle est l'origine chimique et minéralogique des lamines observées dans les stromatolites sardes ?*

Cette deuxième question a fait l'objet du **Chapitre 4** de la thèse. Dans ce chapitre, j'y ai appliqué des techniques analytiques variées, de l'échelle globale à la micro et nano échelle, parmi lesquelles des techniques de diffraction, de spectroscopie et des techniques de spectro-imagerie. L'ensemble de ces techniques a permis de sonder aussi finement que possible les hétérogénéités minéralogiques et chimiques entre les lamines stromatolitiques mais également, au sein d'une même lamine. Les phases minéralogiques, caractérisées pour certaines jusqu'à la nano-échelle ont été mises en perspectives avec celles prédites dans le **Chapitre 3**.

- *Quels restes de l'ultrastructure des cellules microbiennes peuvent être identifiés dans ces stades précoces de fossilisation ? Parmi ces traces, lesquelles peuvent être identifiées dans les stromatolites fossiles du Messinien ?*

Ces dernières questions sont abordées dans le **Chapitre 5** de la thèse. Pour répondre à ces questions, je me suis intéressée aux enregistrements des signaux de luminescence, observés dans la partie minérale des stromatolites modernes et anciens. Ces signaux sont particulièrement sensibles à la préservation de molécules organiques liées aux traces de vie fossiles et/ou de possibles variations chimiques subtiles conférant des propriétés de luminescence aux minéraux précipités. Ces analyses liées aux propriétés de luminescence des stromatolites ont permis d'affiner l'étude des variations chimiques intrinsèques aux lamines, déjà étudiées dans le **Chapitre 4**.



## **2 Sites d'étude**

---



Au cours de cette thèse, plusieurs systèmes d'étude ont été étudiés : des stromatolites modernes provenant des lagunes de Sardaigne, appelées Mari Ermi nord (MEN) et Mari Ermi sud (MES), ainsi que des stromatolites du Messinien provenant de différents pays situés autour du pourtour Méditerranée. Les méthodes d'analyse utilisées pour caractériser ces matériaux, seront expliquées dans les chapitres concernés. La synthèse des différentes analyses effectuées sur les systèmes d'étude de Sardaigne et du Messinien est reportée dans le **Tableau 2.1**.

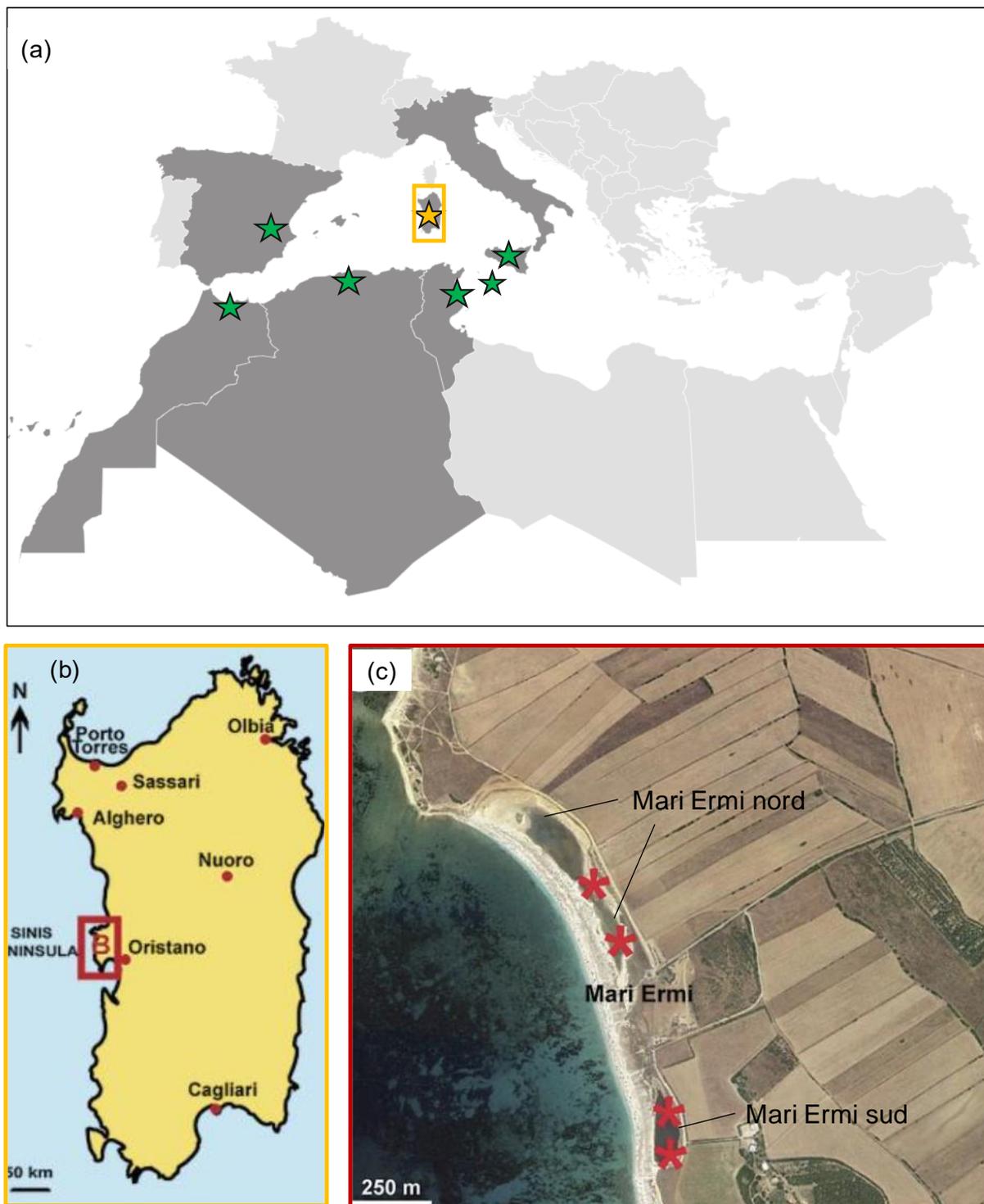
**Tableau 2.1** Récapitulatif des différentes analyses effectuées au cours de ce travail de thèse. Opt = microscopie optique. CL = cathodoluminescence. S $\mu$ -XRF = analyses micro-XRF par rayonnement synchrotron À noter que pour le site de Sardaigne, la colonne « nom », ne fait référence qu'à une localité et une année et peut inclure plusieurs échantillons.

Nom	Pays	Analyses										
		Chimie + isotopie des solutions	Analyse méta-génomique	Analyse globale				Imagerie				
				DRX	FT-IR	ICP-AES	Isotopie	Opt	CL	CLSM	MEB EDXS	XRF
<b>Moderne</b>												
SAR16_MES (roches)			x	x	x	x	x	x		x	x	x
SAR16_MEN (roches)			x	x	x	x		x	x			x
SAR18_MES (roches)			x					x		x		x
SAR18_MEN (roches Italie/)		x	x					x		x		
SAR18_MES (eau)	Sardaigne	x										
SAR18_MEN (eau)		x										
SAR21_MES (eau)		x										
SAR21_MEN (eau)												
<b>Messinien</b>												
B23				x		x		x		x		
B15				x		x		x				
B25				x		x		x		x		x
SP	Espagne			x		x		x		x		
A179				x		x		x				
A397				x		x		x				
OA2				x		x		x				
OA11	Tunisie			x		x		x				
BC8H								x				
BC8								x				
Ame.2	Algérie							x		x		
S2								x		x		
IFT2								x				
IF9	Maroc							x				
M97-2								x				
L6				x		x		x		x		x
S53	Italie							x				

Chapitre 3
  Chapitre 4
  Chapitre 5
  Annexes

## **Présentation des sites d'études**

Les différentes problématiques abordées dans ce travail de thèse m'ont menée à travailler sur un corpus d'échantillons stromatolitiques modernes et anciens (**Figure 2.1a**), tous situés sur le pourtour méditerranéen. Les stromatolites modernes proviennent tous de Sardaigne alors que les stromatolites du Messinien proviennent de différents pays (Italie, Espagne, Tunisie, Algérie, Maroc) avec plusieurs sites de provenance au sein d'un même pays. Le contexte géologique pour chaque échantillon du Messinien, comprenant des images de terrain, est développé en **Annexe 1**. En ce qui concerne les stromatolites modernes de Sardaigne, même si Saint Martin et Saint Martin (2015a) faisaient état de plusieurs sites d'étude (**Figure 2.1b**), au cours de cette thèse, je me suis concentrée, sur les lagunes de Mari Ermi uniquement (**Figure 2.1c**). Le site de Mari Ermi comprend deux plans d'eau parallèles à la rive appelés Mari Ermi sud et Mari Ermi nord. Ces deux lagunes sont séparées entre elles par une bande de terre transverse et sont séparées de la mer par un cordon dunaire de sable et par une végétation clairsemée. Du côté opposé à la mer, mais néanmoins proches des plans d'eau, sont situés des champs cultivés. Cela laisse donc supposer la présence de nappes phréatiques.



**Figure 2.1** Localisation des sites d'étude. (a) Sites d'étude des stromatolites modernes (étoile jaune) et du Messinien (étoile verte). (b) Localisation des stromatolites modernes de Sardaigne étudiés par Saint Martin et Saint Martin (2015a). (c) Localisation des stromatolites modernes étudiés dans cette thèse. Vue aérienne du site de Mari Ermi comprenant les lagunes de Mari Ermi nord et de Mari Ermi sud. Source Google Earth. Les figures (b) et (c) sont reprises et modifiées depuis Saint Martin et Saint Martin (2015a).



### **3** Évolution géochimique, isotopique et biologique des lagunes *vs* signatures isotopiques des stromatolites

---



### 3.1 Introduction

Cette première étude s'inscrit dans la lignée d'études récentes, qui se sont concentrées sur la recherche de marqueurs géochimiques et minéralogiques, caractéristiques de l'environnement de formation de microbialites actuelles. Dans sa revue, Chagas et al. (2016) ont établi une synthèse des données existantes sur des microbialites actuelles, se développant dans 21 systèmes lacustres, ce qui a permis de déterminer plusieurs corrélations entre les paramètres chimiques des lacs, et la minéralogie et la géochimie des microbialites. Dans cette même philosophie d'approche intégrative, et afin d'approfondir l'exploration du lien entre conditions environnementales, et enregistrement dans la minéralogie et la chimie des microbialites, Zeyen et al. (2021) ont étudié des microbialites provenant de dix systèmes lacustres différents, situés au Mexique. Dans cette étude, les auteurs ont notamment établi un lien entre le rapport Mg/Ca des solutions et la nature des polymorphes de carbonates de calcium et/ou magnésium. Ils ont également montré que toutes les solutions où se forment des microbialites, sont saturées/sursaturées par rapport à la monohydrocalcite (qui est un carbonate de calcium cristallin hydraté), et ont ainsi discuté de l'implication de cette phase dans la formation des microbialites. En parallèle, Iniesto et al. (2021a) ont caractérisé les populations taxonomiques des microbialites et biofilms associés, ce qui a permis de discuter de la diversité des microbialites en fonction des conditions environnementales.

Ainsi, à l'instar de Zeyen et al., (2021), le **premier objectif** de ce chapitre est d'établir un premier modèle, permettant de **lier l'évolution chimique des eaux des lagunes de Mari Ermi à l'évolution de phases minérales prédites**. Notons que l'étude détaillée de la minéralogie des stromatolites de Mari Ermi se fera au **chapitre 4**. Les lagunes de Mari Ermi sont largement inexplorées d'un point de vue géochimique et d'un point de vue biologique. Nous allons donc, dans un premier temps, documenter pour la première fois les paramètres physico-chimiques des lagunes de Mari Ermi (presqu'île de Sinis, Sardaigne). Dans la section **1.3.1**, nous avons introduit les stromatolites sardes comme des microbialites évoluant dans des lagunes côtières soumises à de sévères variations physico-chimiques, notamment de salinité. Nous supposons que ces variations physico-chimiques proviennent d'épisodes fréquents d'évaporation/remise en eau des lagunes. Ces hypothèses vont donc nous amener à 1) documenter la fréquence des cycles d'évaporation/remise en eau à l'aide des données géosatellites et 2) mettre en place un

suivi temporel des lagunes à l'échelle d'une année, afin de suivre plus finement les variations de salinité et autres paramètres physico-chimiques (chimie et composition isotopique des solutions).

Par ailleurs, les populations microbiennes associées à ces stromatolites ont été étudiées par nos collaborateurs de l'université de Paris-Saclay (Miguel Iniesto, Purificacion Lopez-Garcia et al. du laboratoire Écologie, Systématique et Évolution), mais les données, n'ont pour le moment pas été publiées. L'intégration d'une dimension biologique étant utile dans notre étude, je me permettrai de discuter, dans ce chapitre, des résultats des analyses métagénomiques réalisées par nos collaborateurs.

Le **second objectif** de ce chapitre s'intéresse aux **premières informations enregistrées dans la partie fossilisée des stromatolites**. Plus précisément, nous nous interrogeons sur la possibilité de mettre en évidence 1) une éventuelle saisonnalité de l'encroûtement stromatolitique et 2) de premiers marqueurs géochimiques univoques, caractéristiques de l'environnement de formation (variations physico-chimiques et influence biologique). Pour cela, nous avons utilisé une approche isotopique. Plus spécifiquement, nous avons effectué des analyses isotopiques *in situ* du carbone et de l'oxygène des carbonates ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ ) que nous avons comparées aux compositions isotopiques de l'oxygène de l'eau ( $\delta^{18}\text{O}$ ) et aux compositions isotopiques du carbone inorganique dissous ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ ). En effet, la composition isotopique du carbone et de l'oxygène dans la calcite est en correspondance avec la composition isotopique de l'eau, modulo le fractionnement solide/solution, à partir de laquelle le carbonate de calcium a précipité.

Le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  dépend : 1) du  $\delta^{13}\text{C}$  du carbone inorganique dissous (le DIC) dans l'eau représentées par l'acide carbonique  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , l'ion bicarbonate  $\text{HCO}_3^-$  et l'ion carbonate  $\text{CO}_3^{2-}$  (McConnaughey, 1989 ; Ito, 2002), et 2) du fractionnement entre le carbone inorganique dissout (DIC) et le carbonate de calcium précipité. Il existe une dépendance entre la température de précipitation et le fractionnement isotopique du carbone mais celle-ci est extrêmement faible (Emrich et al., 1970 ; Deines et al., 1974 ; Dulinski et Rozanski, 1990). Habituellement, la concentration du DIC est en partie contrôlée par l'interaction eau-atmosphère. Lors de cet équilibre atmosphérique, la valeur moyenne du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  est de -8‰ (Faure, 1977). Néanmoins, il a été reporté dans la littérature (Yang et al., 1996 ; Telmer et Veizer, 1999 ; Hélie et al., 2002), que même dans des lacs avec un long temps de résidence, il existait des grandes variations du

$\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ . Le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  peut varier de manière saisonnière, en fonction de l'activité photosynthétique dans la zone photique, de l'oxydation de la matière organique et de la profondeur de la colonne d'eau. Par exemple, les métabolismes photosynthétiques des bactéries utilisent le carbone inorganique en solution en privilégiant la fixation du  $^{12}\text{C}$ , ce qui entraîne un enrichissement du DIC résiduel (O'Leary, 1988). En revanche, lors de métabolismes de respiration ou de dégradation de la matière organique par des bactéries hétérotrophes, du carbone inorganique appauvri en  $^{13}\text{C}$  est relargué en solution, entraînant un appauvrissement du DIC. Akoko (2013) reportent une augmentation du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  dans un environnement aride, lié à un taux d'évaporation élevée et non à un apport de carbone. Ici le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  est lié à des processus abiotiques et non biotiques comme également observé par Beeler et al., (2020).

En ce qui concerne le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carb}}$ , ce dernier dépend de la signature isotopique de l'eau. La signature isotopique de l'eau ( $\delta^{18}\text{O}$ ) varie selon les sources d'approvisionnement en eau et est également sensible au phénomène d'évaporation (Gat, 1996). Le fractionnement isotopique de l'oxygène entre l'eau et le carbonate de calcium est contrôlé par la température de précipitation (Grossman, 1997 ; Kim et O'Neil, 1997 ; Beck et al., 2005). Grâce à cette dépendance vis-à-vis de la température de précipitation de calcite, le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carb}}$  peut être utilisé être comme géothermomètre (Urey, 1948 ; McCrea, 1950) afin de reconstruire les paléo-températures des mers (Schrag et al., 1995 ; Bemis et al., 1998 ; Eiler, 2011) et des lacs (Ibarra et al., 2014 ; Horton et al., 2016 ; Hudson et al., 2017). Les facteurs de fractionnement de l'oxygène des carbonates précipités en équilibre isotopique avec l'eau sont connus grâce à des études empiriques (Craig et Gordon, 1965 ; Kim et O'Neil, 1997 ; Leng et Marshall, 2004). Cependant, il a récemment été montré que de nombreux carbonates de la surface terrestre précipitaient hors de l'équilibre isotopique (Daëron et al., 2019), incitant à davantage de précautions à l'égard des reconstructions paléoclimatiques. Afin de mieux contraindre ces effet, des études récentes se concentrent sur les relations entre le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carb}}$  et le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$ , ainsi que les relations entre le facteur de fractionnement isotopique du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carb}}$  et la température de l'eau de précipitation (Li et al., 2020 ; Labuhn et al., 2022). Notre étude s'inscrit donc dans la lignée de ces études afin de comparer les signatures isotopiques de l'environnement de formation et celles enregistrées dans les carbonates des stromatolites.

## 3.2 Matériels et méthodes

### 3.2.1 Données géosatellites

Les images géosatellites de 2010 à 2020 ont été récupérées à partir de Google Earth Pro grâce à la fonction « remonter dans le temps ».

Les images géosatellites permettant de faire un suivi mensuel sur l'année 2021 ont été extraites à partir du serveur Creodias en choisissant les satellites Sentinel 2-L1C (imagerie multispectrale au sommet de l'atmosphère permettant, entre autres, d'évaluer la couverture aquatique). Les images sont représentées en fausses couleurs à l'aide des bandes proche infrarouge (NIR) 842 nm, rouge 665 nm et verte 560 nm.

### 3.2.2 Échantillons

#### 3.2.2.1 Campagne d'échantillonnage

L'ensemble des échantillons étudiés dans cette thèse provient de trois campagnes d'échantillonnage qui ont eu lieu en septembre 2016, juin 2018 et octobre 2021. Ces différentes missions ont permis de prélever une dizaine d'échantillons de stromatolites et quelques échantillons de leurs biofilms associés sur les sites de Mari Ermi. La liste des échantillons prélevés en 2016, 2018 et 2021 et utilisés dans cette étude est détaillée dans le **Tableau 3.1**.

**Tableau 3.1** Informations sur les échantillons d'eau de microbialites et de biofilms prélevés dans les lagunes de Mari Ermi nord (MEN) et Mari Ermi sud (MES) ainsi que les analyses effectuées.

Échantillon ID	Nature	Site	Date de prélèvement	Analyses
SAR18_MEN_FW	Eau	MEN	12/06/2018	chimie
SAR18_MES_FW	Eau	MES	12/06/2018	chimie
SAR18_SW_FW	Eau de mer	MES	12/06/2018	chimie
20210114_MES_FW	Eau	MES	14/01/2021	chimie
20210203_MES_FW	Eau	MES	03/02/2021	chimie + isotopie

---

20210223_MES_FW	Eau	MES	23/02/2021	chimie + isotopie
20210318_MES_FW	Eau	MES	18/03/2021	chimie + isotopie
20210402_MES_FW	Eau	MES	02/04/2021	chimie + isotopie
20210414_MES_FW	Eau	MES	14/04/2021	chimie + isotopie
20210508_MES_FW	Eau	MES	18/05/2021	chimie + isotopie
SAR21_MES_FW_1	Eau	MES	28/10/2021	chimie + isotopie
SAR21_MEN_FW_1	Eau	MEN	29/10/2021	chimie + isotopie
SAR21_MEN_FW_2	Eau	MEN	29/10/2021	chimie + isotopie
SAR21_MEN_FW_3	Eau	MEN	29/10/2021	chimie + isotopie
SAR21_SW_FW	Eau de mer	MEN	29/10/2021	chimie + isotopie
MErmS_impmc_1	Microbialite	MES	10/09/2016	isotopie des carbonates
SAR16_MES_1	Microbialite	MES	10/09/2016	métagénomique
SAR16_MES_1b	Microbialite	MES	10/09/2016	métagénomique
SAR16_MEN_1	Microbialite	MEN	10/09/2016	métagénomique
SAR16_MEN_1b	Microbialite	MEN	10/09/2016	métagénomique
SAR16_MEN_6	Microbialite	MEN	10/09/2016	métagénomique
SAR16_MEN_6b	Microbialite	MEN	10/09/2016	métagénomique
SAR18_MES_1a	Microbialite	MES	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MES_1b	Microbialite	MES	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MES_1c	Microbialite	MES	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MES_1d	Microbialite	MES	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MEN_1a	Microbialite	MEN	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MEN_1b	Microbialite	MEN	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MEN_2a	Microbialite	MEN	12/06/2018	métagénomique
SAR18_MEN_2b	Microbialite	MEN	12/06/2018	métagénomique
SAR21_MEN_MAT_1	Biofilm	MEN	29/10/2021	MEB, CLSM
SAR21_MEN_MAT_2	Biofilm	MEN	29/10/2021	MEB, CLSM

---

### 3.2.2.2 Mise en place d'un suivi temporel de la lagune de Mari Ermi

Afin de mettre en place un suivi temporel *in situ* du pH, de la température, de la conductance spécifique mais également de disposer d'un échantillonnage fréquent des eaux de Mari Ermi, nous avons établi une collaboration avec le personnel de la réserve de protection de l'aire marine de la péninsule du Sinis (Area Marina Protetta "Penisola del Sinis"). Des échantillons ont ainsi été prélevés de janvier à mai 2021 afin de mesurer les variations physico-chimiques des eaux.

## 3.2.3 Analyses géochimiques des solutions

### 3.2.3.1 Mesures *in situ*

Les mesures de température, pH et conductance spécifique (conductivité normalisée à 25 °C) ont été effectuées *in situ* sur le terrain à l'aide d'une sonde multi-paramètres de terrain (VWR). Les salinités ont été calculées à partir des données de conductance spécifique et de température, selon la méthode décrite par Aminot et Kérouel (2004). Pour les mesures physico-chimiques effectuées en 2021, les sondes de pH et de conductivité ont été calibrées avant chaque utilisation grâce des solutions tampon avec pH=4 et pH=7 pour la sonde pH et grâce à une solution de KCl à 0,01 mol/L pour la sonde de conductivité. Ces solutions de calibration ont été changées tous les trois mois.

### 3.2.3.2 Échantillonnage

Pour chaque prélèvement, un volume d'au moins 200 mL de solution a été collecté. Les solutions ont été filtrées le jour même à l'aide de filtres GFF avec une porosité de 0,2 µm. Les solutions ont été conservées dans des tubes stériles. 50 mL de solution filtrée ont été préservés dans des exetainers ambrés sans espace de tête pour les analyses de carbone inorganique dissous (DIC) et les analyses isotopiques du carbone et de l'oxygène.

### 3.2.3.3 Analyses chimiques

Pour l'analyse des cations, une solution (volume=50 mL) a été prélevée, filtrée, acidifiée avec de l'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) à 2% et diluée 500, 1 500 et 15 000 fois respectivement pour

les échantillons de juin 2018, les échantillons de janvier à mai 2021 et les échantillons d'octobre 2021. Les concentrations en cations majeurs ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ) et mineurs ( $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ), ont été déterminées par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES). Les analyses ont été faites à l'Institut Physique de Globe de Paris (IPGP) par Margot Coutaud pour les échantillons de 2018 et par Laure Cordier pour les échantillons de 2021. L'incertitude sur les mesures de concentration des cations était inférieure à 5%. Les concentrations en anions (fluorures  $\text{F}^-$ , chlorures  $\text{Cl}^-$ , bromures  $\text{Br}^-$  et sulfates  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ont été mesurées par chromatographie ionique sur des solutions non diluées pour les échantillons de 2018 et diluées 1000 fois pour l'ensemble des échantillons de 2021. Les analyses ont été faites à l'IPGP par Laure Cordier pour les échantillons de 2018 et à la Halle technologique de formation GESE - Genie Environnemental Sols et Eaux par Mélanie Longchamps pour les échantillons de 2021.

#### 3.2.3.4 Détermination des valeurs de $\text{HCO}_3^-$ et de $\text{CO}_3^{2-}$

Les valeurs d' $\text{HCO}_3^-$  et de  $\text{CO}_3^{2-}$  ont été déterminées à partir de la mesure du DIC, en considérant qu'à  $\text{pH} > 7$ ,

$$\text{DIC} = \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-} \quad (\text{éq. 1})$$

La réaction de dissociation  $\text{HCO}_3^- = \text{CO}_3^{2-} + \text{H}^+$  à  $\text{pKa} = 10.3$  permet d'obtenir :

$$\log (\text{Ka}) = \log (\text{H}^+) + \log (\text{CO}_3^{2-}) - \log (\text{HCO}_3^-) \quad (\text{éq. 2})$$

ce qui donne en utilisant (éq. 1) :

$$\log (\text{Ka} / \text{H}^+) = \log ((\text{DIC} - \text{HCO}_3^-) / \text{HCO}_3^-)$$

comme  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$  et  $\text{pKa} = -\log (\text{Ka})$  et en utilisant les propriétés du log, nous déduisons la formule suivante :

$$\text{HCO}_3^- = \frac{\text{DIC}}{\left( \frac{10^{-\text{pKa}}}{10^{-\text{pH}}} - 1 \right)}$$

Et  $\text{CO}_3^{2-}$  est déduit grâce à (éq.1).

### 3.2.3.5 DIC et $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ et $\delta^{18}\text{O}$

Les mesures de DIC et  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  et  $\delta^{18}\text{O}$  ont été effectuées par Oanez Lebeau à la Plateforme Isotopes Stables (PSO) de l'Université de Brest. Les échantillons ont été mis à réagir avec de l'acide phosphorique pendant 12h. Les analyses ont été faites sur un Gas Bench couplé à un spectromètre de masse Delta V (ThermoFisher). Le gaz produit par la réaction est prélevé à l'aide d'une seringue portée sur un bras amovible, purifié de l'eau par une membrane Nafion puis le  $\text{CO}_2$  est séparé des autres gaz dans une colonne chromatographique. Huit injections du gaz sont envoyées dans le spectromètre de masse pour déterminer la composition isotopique du  $\text{CO}_2$ . La moyenne des huit paramètres est calculée. La précision analytique moyenne au sein de la série est de 261,6  $\mu\text{mol/L}$  ( $1\sigma$ ) pour les valeurs du DIC, 1,6‰ ( $1\sigma$ ) pour les valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  et de 1,2 ( $1\sigma$ ) pour les valeurs  $\delta^{18}\text{O}$ .

### 3.2.4 Analyses isotopiques du carbone et de l'oxygène des carbonates

#### 3.2.4.1 Généralités

La composition isotopique d'un échantillon est l'écart relatif du rapport d'abondance isotopique de l'échantillon par rapport à un standard et est donnée en partie par millier (‰).

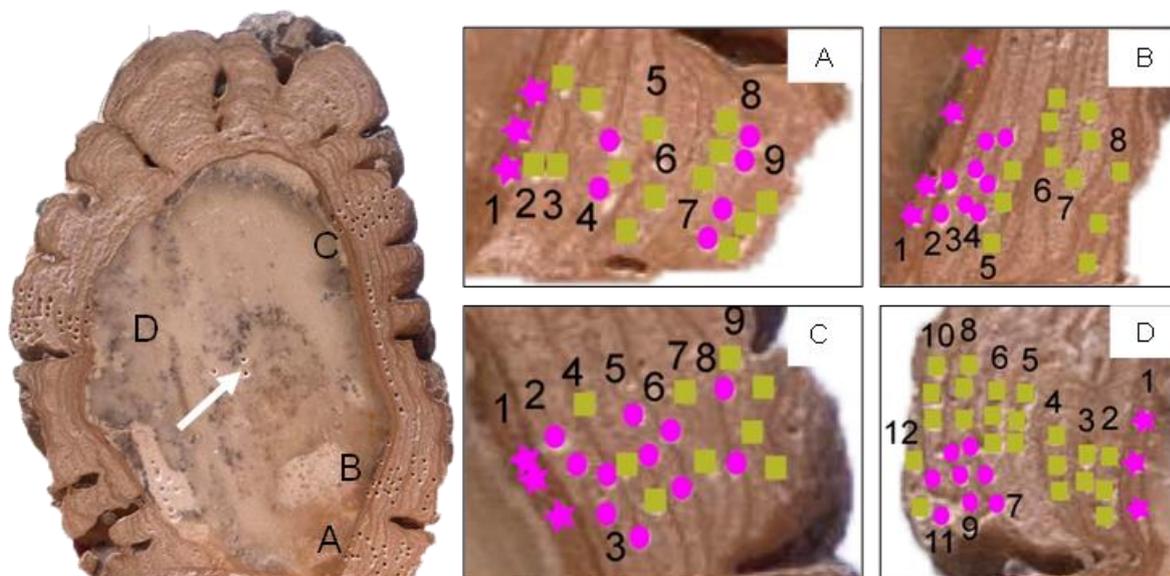
$$\delta = \left( \frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right)$$

R étant le rapport d'abondance de l'isotope lourd ( $^{18}\text{O}$  et  $^{13}\text{C}$  dans notre cas) sur l'isotope léger ( $^{16}\text{O}$  et  $^{12}\text{C}$ , respectivement).

#### 3.2.4.2 Détermination du $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ et $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$

Toutes les analyses du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  ont été effectuées au service de spectrométrie de masse isotopique (SSMIM) du MNHN.

Chaque échantillon provient de l'assemblage de plusieurs micro-forages (moins d'1 mm de diamètre) effectués le long d'une lamine stromatolitique. Chaque échantillon final contient environ quelques centaines de  $\mu\text{g}$  de poudre. Les échantillons ont été prélevés au sein des lamines sombres et des lamines claires, le long de quatre profils différents. La minéralogie des lamines claires et sombres sera discutée au **Chapitre 4**. Quelques échantillons ont également été prélevés dans le substrat, *i.e.* la partie basale non stromatolitique de la roche (**Figure 3.1**). Les lamines ont été numérotées par ordre croissant, de la lamine la plus proche du substrat à la dernière lamine. Il est à remarquer que la numérotation des lamines est propre à un seul profil uniquement, excepté la lamine n°1 qui est continue sur les profils A, B, C et D. Pour chaque analyse, environ 40 à 60  $\mu\text{g}$  de poudre a été mis à réagir avec de l'acide phosphorique à 100 % à 70 °C pendant 4 min dans un dispositif Kiel IV, interfacé avec un spectromètre de masse à rapport isotopique Delta V Advantage. Les valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{18}\text{O}$  ont été exprimées par rapport à l'étalon de calcite Vienna-Pee Dee Belemnite (VPDB), et corrigées par comparaison avec un étalon de laboratoire (Marbre LM) normalisé par rapport à l'étalon international NBS 19. La précision analytique moyenne au sein de la série a été calculée à partir de huit mesures du Marbre LM d'une moyenne de 0,028 ‰ ( $1\sigma$ ) pour les valeurs  $\delta^{13}\text{C}$  et 0,043‰ ( $1\sigma$ ) pour les valeurs  $\delta^{18}\text{O}$ .



**Figure 3.1** Photo et zooms de l'échantillon utilisé pour les analyses isotopiques du carbonate. Les analyses ont été faites le long des profils A, B, C et D et sur le substrat (flèche blanche). Pour chaque profil, des échantillons ont été prélevés dans des lamines claires (carrés verts) et dans des lamines sombres (ronds magenta). L'étoile symbolise la première lamine qui est une lamine sombre plus épaisse que les suivantes et qui est continue le long des profils A, B, C et D.

### 3.2.4.3 Analyses statistiques

Afin d'établir la présence ou non de variations significatives entre plusieurs profils d'échantillonnage mais également entre les lamines claires et sombre du stromatolite, nous avons comparé les valeurs médianes des séries d'observation en utilisant une méthode non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon. Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Origin et le niveau de significativité a été fixé à une valeur  $p < 0,05$ .

## 3.2.5 Imagerie

### 3.2.5.1 Microscopie confocale à balayage laser (CLSM)

Des fragments de biofilms ont été disposés entre lame et lamelle puis examinés à l'aide d'un microscope confocale à balayage laser Zeiss LSM 710 (IMPMC) monté sur un AxioImager z2 avec une résolution spatiale de  $0,4\mu\text{m}$ . Les acquisitions hyper-spectrales de

fluorescence en émission (lambda mode) ont été obtenues avec une excitation à 405 nm. Le signal d'émission de fluorescence a été recueilli entre 400 et 730 nm.

Par la suite, les données ont été traitées avec le logiciel Fiji. La pile image a été divisée en sous piles en fonction des gammes de longueur d'onde d'émission. Ces sous-piles ont été colorées en fonction de la gamme d'émission, puis, superposées les unes avec les autres pour créer une image composite.

### 3.2.5.2 Microscopie électronique à balayage (MEB) et spectrométrie X à dispersion d'énergie (EDX)

Tout d'abord, les échantillons ont été successivement immergés pendant 5 minutes dans différents bains eau / éthanol de concentration croissante (50%, 75%, 90% et 100%) afin d'éliminer l'eau avant d'effectuer un séchage par contournement de point critique du CO<sub>2</sub> (Leica EM CPD300). Enfin, les échantillons ont été recouverts par dépôt de carbone assurant la conduction des électrons. Les analyses par microscopie électronique à balayage ont été réalisées à l'aide d'un MEB à canon à émission de champ Zeiss ultra 55. Des images d'électrons secondaires (SE2) ont été acquises à l'aide d'un détecteur Everhart-Thornley à une tension d'accélération de 2,0 kV et une distance de travail entre 1 et 3 mm.

### 3.2.6 Analyses métagénomiques

Le protocole des analyses métagénomiques réalisées par Miguel Iniesto (Paris Saclay) est précisé ici dans ses grandes lignes, à titre indicatif car je n'y ai pas participé. Des analyses métagénomiques ont été réalisées afin de déterminer les composantes eucaryotes et procaryotes associées aux stromatolites de Sardaigne. Le protocole exact est décrit dans Belilla et al. (2021). Les grandes étapes suivies sont les suivantes (Reboul, 2020) : 1) Extraction et purification de l'ADN à partir d'échantillons microbialitiques préalablement broyés. 2) Amplification du gène de l'ARNr 16S pour les bactéries et archées et du gène l'ARNr 18S pour les eucaryotes par réaction de polymérisation en chaîne (PCR). 3) Séquençage massif par la technologie Illumina (metabarcoding), filtrage et regroupement des amplicons et comparaison avec des séquences déposées dans des banques de données. Cette dernière étape utilise l'outil BLAST, permettant des comparaisons avec les séquences les plus proches et l'identification correspondante, rendue avec un pourcentage d'homologie. 4) Analyses bio-informatiques des séquences analysées.

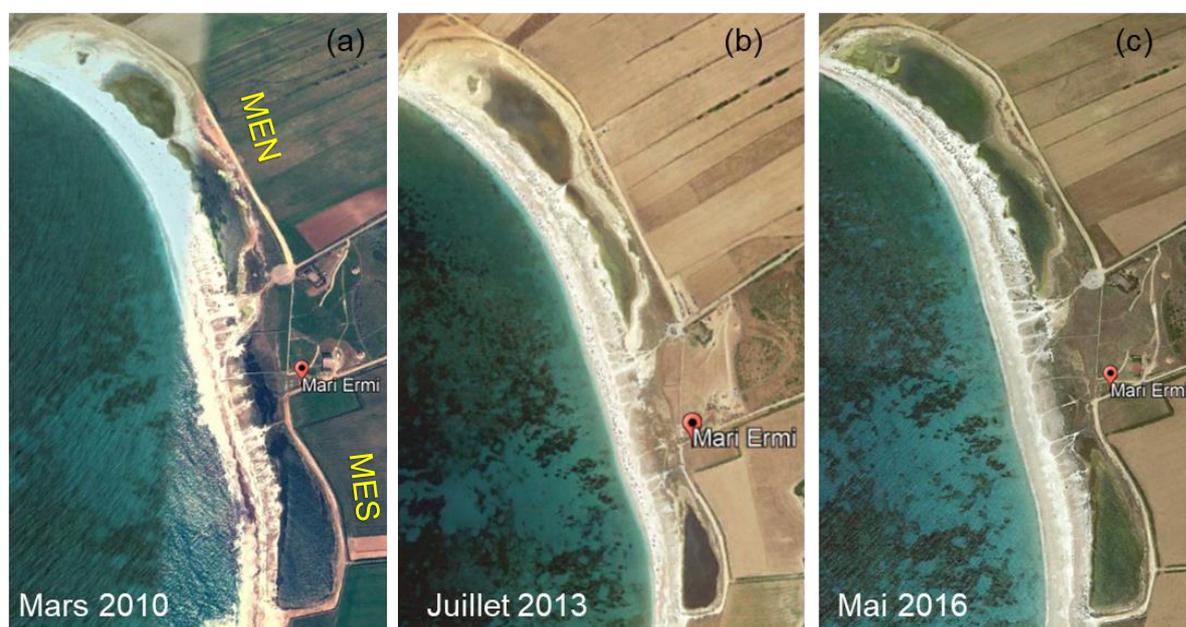
## 3.3 Résultats

### 3.3.1 Données géosatellites

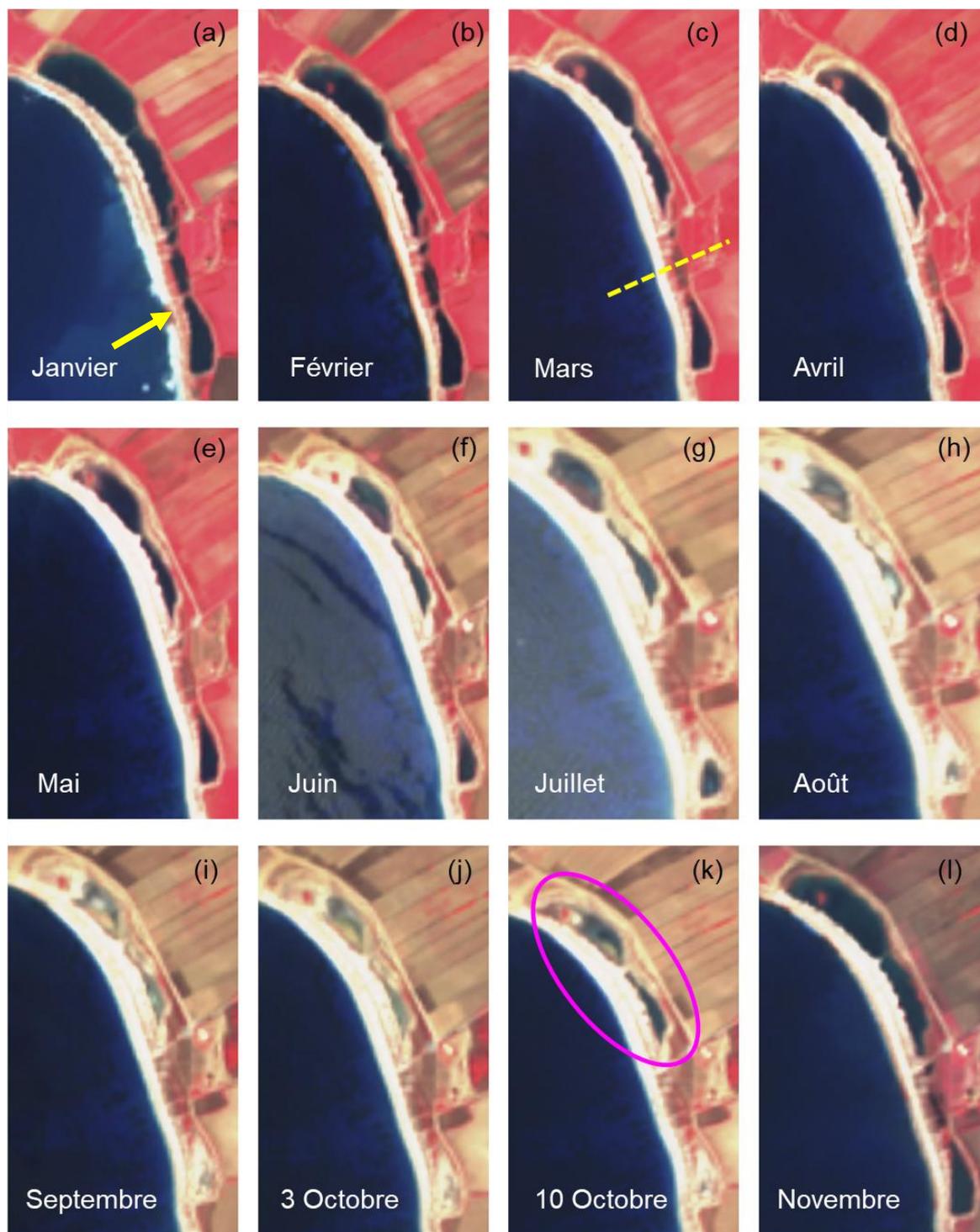
Les variations du niveau d'eau des étangs côtiers de Mari Ermi ont été rapportées lors des différentes missions de terrain précédant cette thèse. Une quinzaine d'images géosatellites de Mari Ermi sont disponibles sur Google Earth (**Figure 3.2**). La plus ancienne date de 1985 mais l'image d'après celle-ci date de 2005. La périodicité de ces images satellites est très variable : l'écart qui sépare deux images successives varie entre deux mois (par exemple entre mai et juillet 2005) et 5 ans (il n'y a aucune image entre 2005 et 2010). Le mois de mai et le mois de juillet sont les mois les plus représentés (3 occurrences chacun). Avec seulement une image en décembre 1985, la période d'octobre à février n'est pas couverte par les images Google Earth. En mars 2010, les lagunes sont remplies (**Figure 3.2a**) alors qu'en juillet 2013 (**Figure 3.2b**), il y a une diminution du volume d'eau très marquée au niveau de Mari Ermi sud mais également au sud de Mari Ermi nord ce qui suggère une diminution du volume d'eau des lagunes au cours du temps. En mai 2016, les images géosatellites montrent que les lagunes sont de nouveau remplies (**Figure 3.2c**). Il y a donc eu un réapprovisionnement en eau de ces lagunes, laissant à supposer qu'il existe des fluctuations du niveau d'eau des lagunes de Mari Ermi, récurrentes et sur de courtes échelles de temps.

Les données Google Earth ne permettent pas un suivi à une échelle temporelle très fine. En revanche, les données des missions Sentinel-2L1C, bien qu'ayant une moins bonne résolution spatiale (de 10 à 60 m contre 2 m pour Google Earth), permettent d'enregistrer un suivi des fluctuations du niveau d'eau à des échelles temporelles beaucoup plus fines (**Figure 3.3**). Par exemple, pour l'année 2021, l'écart entre deux images satellites successives varie entre 2 semaines et 1 mois. Ce suivi beaucoup plus fin, va nous permettre de mettre en relation les niveaux d'eau des lagunes et leur évolutions géochimiques. Au mois de janvier, nous remarquons que les lagunes de Mari Ermi nord et Mari Ermi sud semblent presque se rejoindre mais tout en laissant une légère bande de terre au milieu (**Figure 3.3 a**) et se séparent assez rapidement en mars (**Figure 3.3 c**). De mai à août (**Figure 3.3 e-h**), le niveau d'eau diminue drastiquement jusqu'à ce que Mari Ermi sud soit complètement à sec en septembre / début octobre (**Figure 3.3 i ;j**), et que Mari Ermi nord le soit en très grande partie. Étonnamment, vers mi-octobre (**Figure 3.3 k**), Mari Ermi nord semble s'être re-remplie alors que Mari Ermi sud

est toujours à sec. Ces observations sont d'ailleurs cohérentes avec ce que nous avons observé sur le terrain lors de notre mission fin octobre 2021 où Mari Ermi sud était complètement à sec alors que la lagune de Mari Ermi nord était remplie à hauteur de ~20/30 cm (**Figure 3.4**). En revanche, en novembre (**Figure 3.3** l), les niveaux d'eau des deux bassins sont *de visu* similaires à ceux du mois de janvier.

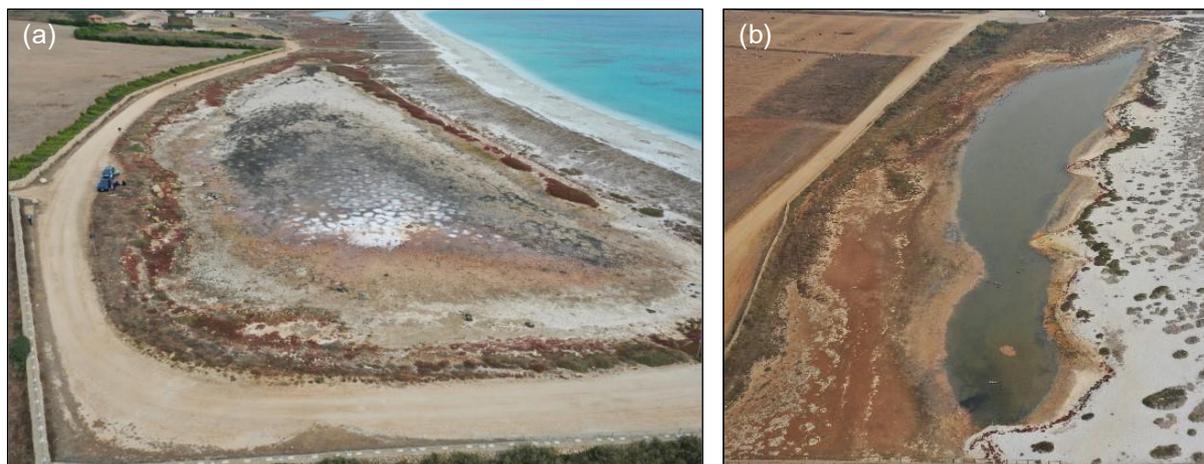


**Figure 3.2** Variation du niveau d'eau dans les lagunes de Mari Ermi. Données Google Earth provenant de (a) mars 2010, (b) juillet 2013 et (c) mai 2016.



**150 m**

**Figure 3.3** Variation du niveau d'eau dans les lagunes de Mari Ermi de janvier à novembre 2021 (a-l). Données géosatellites Sentinel-2L1C représentées en fausses couleurs. La flèche jaune sur (a) montre la légère bande de terre laissée entre MEN et MES. La ligne en pointillés jaune sur (c) marque la séparation entre les bassins de Mari Ermi nord et Mari Ermi sud. Le rond magenta sur (k) illustre la remise en eau du bassin de Mari Ermi nord contrairement à Mari Ermi sud.



**Figure 3.4** Images acquises par drone fin octobre 2021 montrant (a) Mari Ermi sud quasiment à sec et (b) Mari Ermi nord relativement en eau.

### 3.3.2 Données géochimiques

#### 3.3.2.1 Considérations générales

Les données géochimiques pour les lagunes de Mari Ermi nord et Mari Ermi sud sont reportées dans le **Tableau 3.2**. L'ensemble des échantillons analysés a une balance des charges inférieure à 10% excepté l'échantillon SAR21\_MES\_FW1 (balance des charges de 12%) ce qui montre la cohérence des mesures par ICP-AES pour les cations et des mesures par chromatographie ionique pour les anions. De plus, les mesures sur deux échantillons d'eau de mer, provenant des missions terrain de 2018 et de 2021, montrent une cohérence des données entre elles et sont compatibles avec des données chimiques de la Méditerranée que l'on peut trouver dans la littérature (Mongelli et al., 2013). À l'exception des eaux prélevées en 2018, nous ne possédons pas les résultats en acide orthosilicique ( $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ). Néanmoins les faibles concentrations mesurées en 2018 ( $< 0.07\text{mM}$ ), nous permettent de négliger l'action de  $\text{H}_4\text{SiO}_4$  dans la balance des charges. Mari Ermi sud et Mari Ermi nord ont des pH alcalins, voire très alcalins, avec des valeurs atteignant  $\text{pH} = 10$  à Mari Ermi sud en avril 2021. Le suivi annuel sur Mari Ermi sud montre que le pH, la température de l'eau et la salinité (fonction de la température et de la conductivité) augmentent entre janvier à mai/juin (**Tableau 3.2**).

**Tableau 3.2** Report des données géochimiques de Mari Ermi. MES = Mari Ermi sud. MEN = Mari Ermi nord. SW = Eau de mer. La balance des charges (Bal) a été calculée selon la formule suivante  $Bal = (\sum \text{cations} - \sum \text{anions}) / 2$

Sample		Temp °C	pH	C <sub>25</sub> μS/cm	Salinity (psu)	DIC mM	δ <sup>13</sup> C <sub>DIC</sub> ‰
20210114_MES_FW	janv-21	11.6	8.2	25.2	21.2	3.547	-8.6
20210203_MES_FW	févr-21	15.2	8.7	28.2	21.9	3.539	-4.8
20210223_MES_FW	févr-21	15.5	9.0	30.1	23.3	3.464	-2.8
20210318_MES_FW	mars-21	16.5	9.3	30.8	23.3	2.274	-4.4
20210402_MES_FW	avr-21	17.2	9.6	36.7	27.8	1.977	-10.8
20210414_MES_FW	avr-21	21.6	10.1	44.3	30.9	1.152	-13.2
20210508_MES_FW	mai-21	18.8	9.2	46.1	34.5	0.581	-17.5
SAR18_MES_FW	juin-18		9.1	57.4	42.9	0.933	
SAR21_MES_FW_1	oct-21	21.0	7.2	210.0	209.2	5.315	-3.5
SAR18_MEN_FW	juin-18		9.4	60.4	45.5	1.558	
SAR21_MEN_FW_1 (17h30)	oct-21	19.6	7.9	155.7	144.4	6.220	1.9
SAR21_MEN_FW_2 (10h30)	oct-21	15.6	7.7	148.9	152.3	6.249	1.6
SAR21_MEN_FW_3 (12h00)	oct-21	23.0	7.7	167.3	145.0	7.494	0.5
SAR18_SW_FW	juin-18		8.0	57.9	43.3	2.375	
SAR21_MEN_FW_SW	oct-21	20.8	8.2	52.5	38.0	2.715	-1.9

δ <sup>18</sup> O ‰	Ba <sup>2+</sup> mM	Ca <sup>2+</sup> mM	Fe <sup>2+</sup> mM	K <sup>+</sup> mM	Mg <sup>2+</sup> mM	Mn <sup>2+</sup> mM	Na <sup>+</sup> mM	Sr <sup>2+</sup> mM
-5.9	0.0058	7.76		9.33	36.79		303.67	0.057
-4.9	0.0049	7.86		9.85	35.14		304.63	0.056
-3.9	0.0057	8.36		9.59	38.87		327.39	0.061
-2.6	0.0057	8.46		10.32	40.72		340.54	0.062
-1.7	0.0052	9.80		11.00	44.18		411.13	0.076
-0.1	0.0057	10.34		11.82	47.37		441.67	0.080

1.2	0.0056	11.41		15.30	54.95		493.62	0.089
	0.00031	12.15	0.0023	11.99	59.05	0.00019	536.83	0.103
-1.3	0.0477	20.03		82.91	354.08		3499.55	0.33
	0.0002	10.53	0.0016	11.46	55.72	0.00032	505.06	0.094
0.2	0.050	32.16		74.45	289.98		2430.35	0.32
-0.2	0.044	31.05		72.80	308.13		2388.26	0.30
-0.3	0.048	33.44		68.19	265.30		2232.35	0.35
	0.000059	11.14	0.0016	11.26	59.11	0.00022	519.01	0.098
-1.5	0.0057	13.01		15.39	63.37		580.45	0.104

H <sub>4</sub> SiO <sub>4</sub>	Br-	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Σcations	Σanions	Bal	Mg/Ca
mM	mM	mM	mM	mM	mM	mM	mM	mM	%	
		3.5184	0.028	330.97		15.92	357.63	350.43	1.02	4.74
		3.4433	0.096	344.03		17.94	357.54	365.51	-1.10	4.47
		3.3059	0.158	368.13		18.30	384.28	389.90	-0.73	4.65
		2.0670	0.207	357.67		19.63	400.11	379.57	2.63	4.81
		1.6748	0.302	435.51		21.58	476.20	459.07	1.83	4.51
		0.7247	0.428	495.15		23.34	511.28	519.64	-0.81	4.58
		0.5370	0.044	556.36		28.42	575.38	585.37	-0.86	4.82
0.070	2.69	0.8712	0.061	627.13	0.0013	29.85	620.13	660.60	-3.16	4.86
		5.3109	0.004	4606.96		141.69	3956.95	4753.96	-9.15	17.68
0.050	3.03	1.3859	0.172	711.48	0.0085	28.75	582.87	744.82	-	5.29
		6.1957	0.025	2802.45		120.39	2827.31	2929.06	-1.77	9.02
		6.2336	0.016	3105.50		131.23	2800.58	3242.97	-7.32	9.92
		7.4776	0.017	2873.33		128.42	2599.67	3009.24	-7.30	7.93
0.050	3.31	2.3633	0.012	649.12	0.0013	28.87	600.61	683.68	-6.47	5.31
		2.693	0.021	596.28		31.98	672.34	630.98	3.17	4.87

En octobre, la température de l'eau et la salinité atteignent les valeurs maximales pour les périodes où l'on a fait des mesures. En revanche, en octobre, le pH est minimal avec une valeur autour de 7. Une valeur similaire de pH a également été observée en octobre à Mari Ermi nord. Le 08 mai 2021, trois mesures physico-chimiques ont été faites à différents moments de la journée (matin/ début d'après-midi/ soir) mais au même endroit à savoir Mari Ermi sud. Dans le tableau ci-dessous (**Tableau 3.3**), il apparaît que les mesures de pH et de salinité varient au cours de la journée alors que les valeurs de conductivité spécifiques sont stables. Les variations de salinité s'expliquent assez facilement car les valeurs de salinité dépendent de la conductivité spécifique et de la température qui, elle, varie au cours de la journée. En revanche, les variations de pH demandent davantage d'explications. Si l'on suppose que la sonde de pH n'est pas défectueuse alors on peut suggérer que cette augmentation de pH au cours de la journée est due à une contribution non négligeable de l'activité photosynthétique. En effet, l'assimilation photosynthétique du carbone par les organismes capables de photosynthèse entraîne le piégeage du CO<sub>2</sub>. Cela se traduit par une diminution de la concentration du DIC de la solution, ce qui entraîne donc une augmentation du pH (Axelsson, 1988 ; Falkowski et Raven, 2013).

En octobre 2021, trois échantillons d'eau ont été prélevés à Mari Ermi nord : SAR21\_MEN\_FW1 et SAR21\_MEN\_FW3 proviennent du nord de Mari Ermi nord et ont été prélevés en fin d'après-midi (17h30) et à midi. On observe également ici, le résultat de l'activité photosynthétique puisque à 17h30, SAR21\_MEN\_FW1, a un pH plus élevé et une concentration en DIC plus basse que SAR21\_MEN\_FW3. SAR21\_MEN\_FW2 a été prélevé en matinée (10h30) au sud de Mari Ermi nord. Son pH est identique à celui de SAR21\_MEN\_FW3 mais sa teneur en DIC est plus proche de celle SAR21\_MEN\_FW1. En revanche, sa signature isotopique du DIC est bien inférieure à celle mesurée pour SAR21\_MEN\_FW1 et SAR21\_MEN\_FW3. Nous voyons donc qu'il existe des variations physico-chimiques à l'échelle d'une journée (début vs midi vs fin d'après-midi) mais il existe également de fines variations physico-chimiques à l'échelle spatiale de la lagune (nord de Mari Ermi nord vs sud de Mari Ermi nord).

**Tableau 3.3** Variation de la température, du pH, de la conductivité et de la salinité sur une journée.

Date	Heure	Temp(°C)	pH	C <sub>25</sub> (μS/cm)	Salinité (psu)
08/05/2021	08 :30	18.8	9.2	49.6	37.5
	15 :55	29.8	9.8	49.1	29.0
	20 :05	26	9.6	50.0	32.03

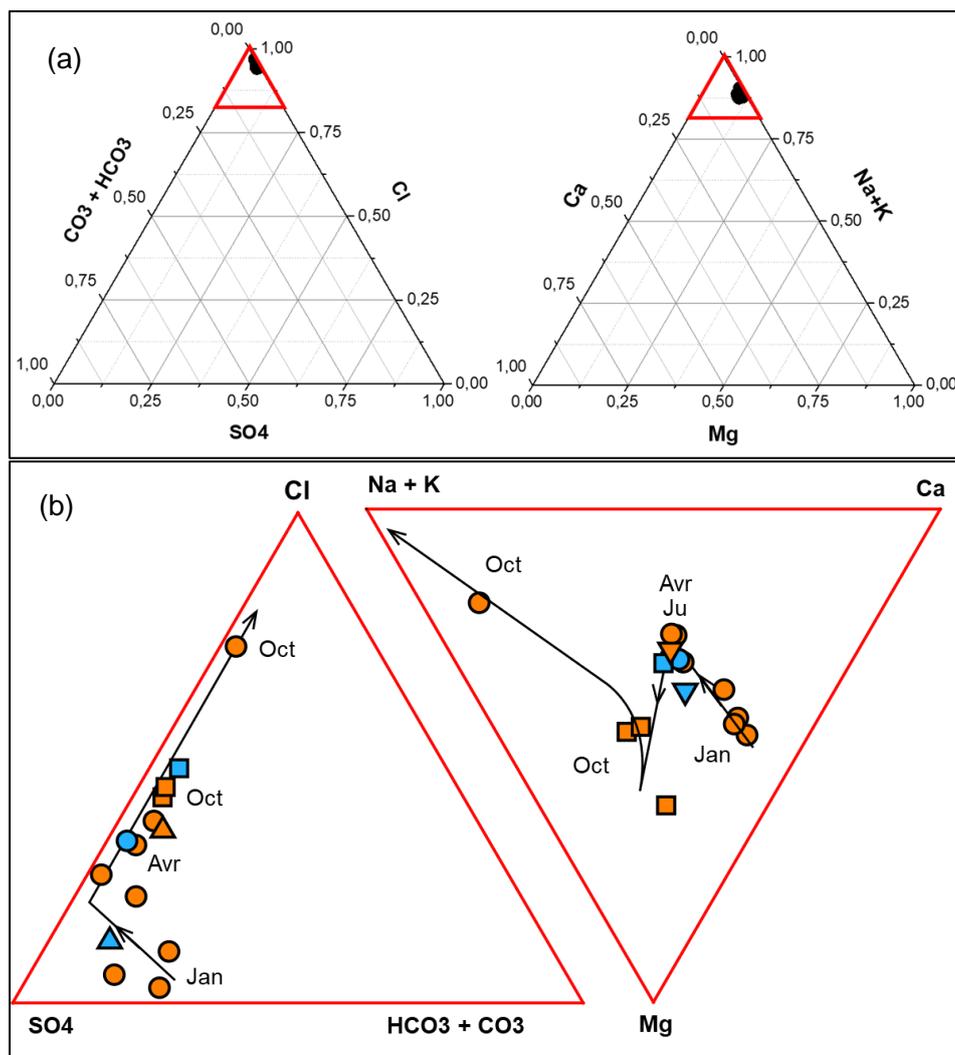
### 3.3.2.2 Représentation des données chimiques dans les systèmes ternaires (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>+CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)-SO<sub>4</sub>-Cl et Ca-Mg-(Na+K)

La nature saline des eaux de Mari Ermi et la tendance évaporitique des bassins est évidente. Néanmoins, il est intéressant de représenter les données de chimie des eaux dans les systèmes ternaires (HCO<sub>3</sub>+CO<sub>3</sub>)-SO<sub>4</sub>-Cl et Ca-Mg-(Na+K) (**Figure 3.5a**) car ce sont des représentations beaucoup utilisées pour déterminer la nature d'une eau (Boros et Kolpakova, 2018) ou pour prédire les évolutions chimiques susceptibles de se produire au cours de différents processus tel que celui d'évaporation (Hardie et Eugster, 1970).

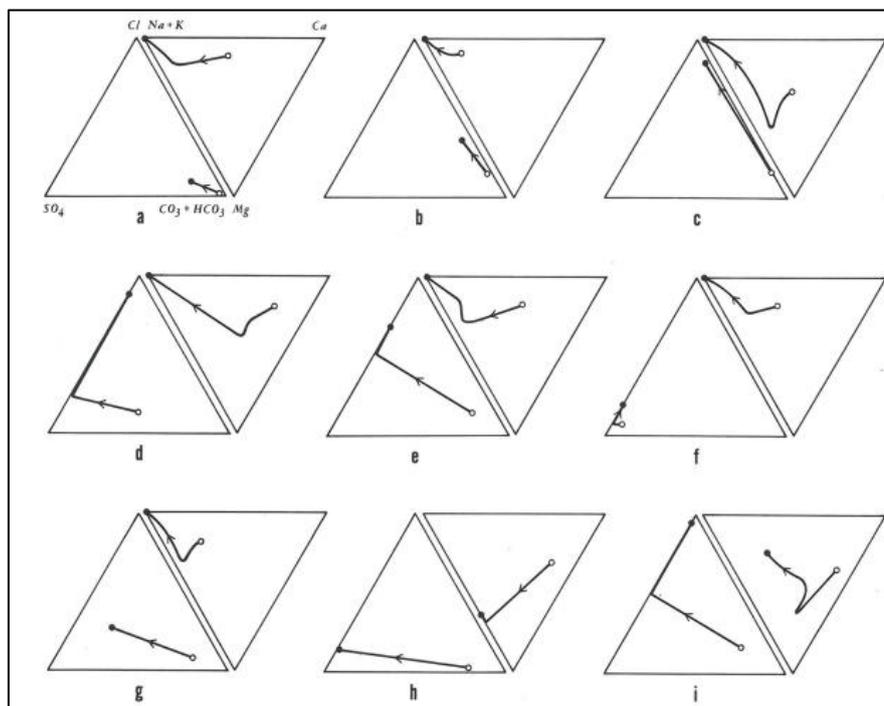
La composition des eaux est réduite aux ions Ca, Mg, Na, K, Cl, SO<sub>4</sub>, HCO<sub>3</sub> et CO<sub>3</sub>. Dans ce système, nous observons que les points ne sont, en première approximation, pas dispersés mais regroupés aux pôles Cl et Na+K. Par comparaison avec Boros et Kolpakova (2018), nous pouvons donc classer les eaux de Mari Ermi comme des eaux salines. Il est toutefois intéressant de noter que, même si le pH des différents échantillons peut atteindre des valeurs élevées (voire des pH de type alcalin), la prédominance des ions Na et Cl est telle, qu'elle va imposer le caractère salin de l'eau. Si les points semblent être tous groupés, une vue plus rapprochée, en changeant d'échelle, permet de constater une variabilité chimique des eaux au cours du temps (**Figure 3.5b**). Nous avons choisi ce mode de représentation afin de comparer nos données avec les modèles de Hardie et Eugster, (1970) représentés ci-dessous (**Figure 3.6**). Ces simulations théoriques permettent de déterminer les différents chemins évaporitiques à partir d'une composition chimique.

Concernant le pôle anionique, les eaux de Mari Ermi, initialement riches en sulfates, s'appauvrissent relativement en bicarbonates de janvier à avril. Puis à partir du mois d'avril, les eaux s'appauvrissent relativement en sulfates et s'enrichissent en chlorure jusqu'à atteindre

pratiquement le pôle pur de Cl. Concernant le pôle cationique, il y a une augmentation relative de Na et K couplé à une diminution de Ca et Mg de janvier à juin. Il semble il y avoir une tendance où le Mg augmente pendant que le Ca reste constant ce qui entraîne une augmentation de rapport Mg/Ca qui atteint un maximum à partir duquel les eaux s'enrichissent très fortement en Na et K. Cet appauvrissement est lié à une diminution du Ca et du Mg et d'un enrichissement du Na et K dans le pôle cationique. En s'appuyant sur les interprétations données par Hardie et Eugster (1970), les variations chimiques peuvent s'apparenter à de la précipitation de carbonates de calcium (consommation du DIC, du Ca et du Mg) suivie par une précipitation de sulfates (consommation des sulfates et du Ca). Dans la séquence évaporitique, nous remarquons que les échantillons prélevés en octobre 2021 à Mari Ermi nord sont placés avant l'échantillon prélevé en octobre 2021, à Mari Ermi sud. Sur le terrain, nous avons remarqué que la lagune de Mari Ermi sud était quasiment sèche contrairement à la lagune de Mari Ermi nord. Pour cette raison, nous pensons que cette séquence évaporitique se produit dans les deux lagunes mais sur une durée différente.



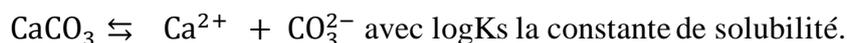
**Figure 3.5** Evolution chimique des eaux de Mari Ermi sur l'année 2021. a) Représentation dans les systèmes ternaires (HCO<sub>3</sub>+CO<sub>3</sub>)-SO<sub>4</sub>-Cl et Ca-Mg-(Na+K). b) Vue rapprochée des points encadrés en rouge dans a). Les symboles ronds représentent Mari Ermi sud ; les symboles carrés représentent Mari Ermi nord ; le symbole triangle représente l'eau de mer. Les eaux échantillonnées en 2018 sont couleur cyan, les eaux échantillonnées en 2021 sont en orange.



**Figure 3.6** Chemins évaporitiques modélisés à partir d'eau provenant de différentes provenances « a: Sierra Nevada Spricccngs b: rhyolite water; c: basalt water; d: shale water; e: average North American river water; f: shale water; g: Deep Springs Lake, California, BogMound Spring; h: quartzite water; i: sandstone water »

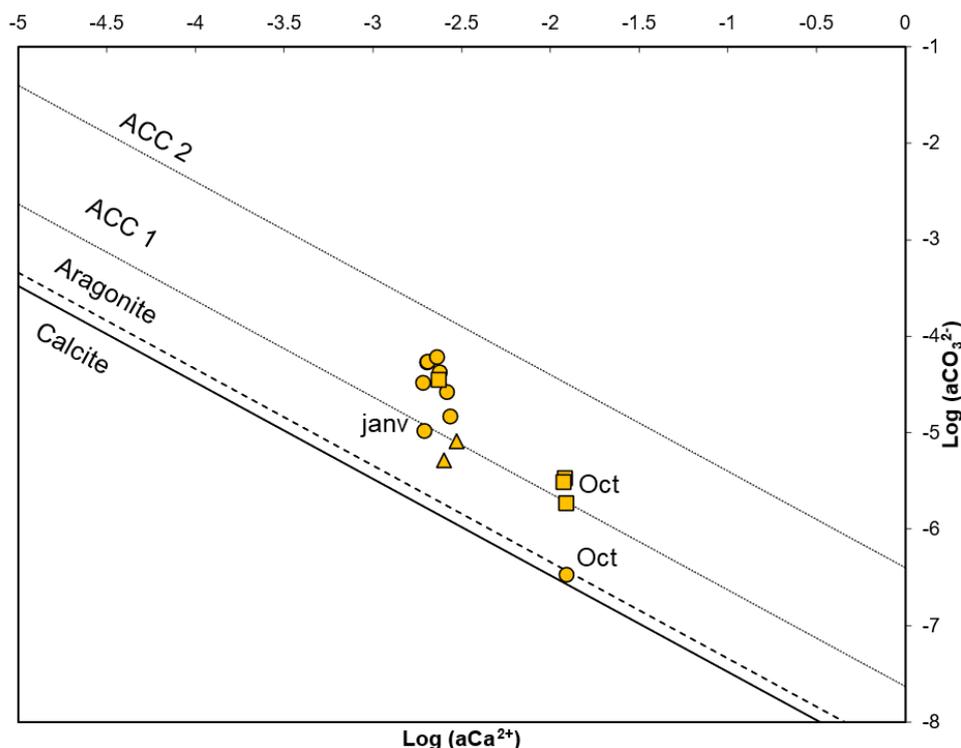
### 3.3.2.3 Diagrammes de solubilité

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que l'évolution chimique des eaux de Mari Ermi était compatible avec la précipitation de carbonates de calcium et de sulfates. Tout d'abord, nous voulons suivre l'évolution de saturation des eaux de Mari Ermi par rapport à différentes phases carbonatées. La réaction de dissolution d'un carbonate de calcium s'écrit :



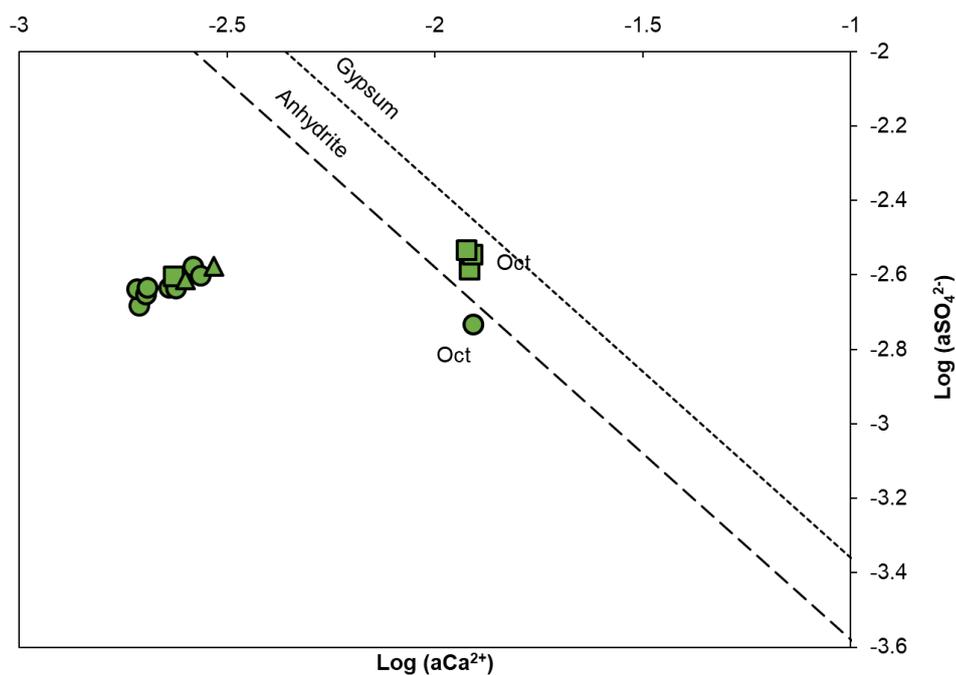
Les constantes de solubilité dépendent de chaque minéral. À l'équilibre,  $\log(a\text{CO}_3^{2-}) = \log K_s - \log(a\text{Ca}^{2+})$ . Nous pouvons donc tracer un diagramme de solubilité où le logarithme de l'activité en ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ) / ions ( $\text{Mg}^{2+}$ ) est tracé en fonction du logarithme de l'activité en ion ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (**Figure 3.7**) A partir du même raisonnement,  $\log(a\text{Ca}^{2+})$  a été tracé en fonction de  $\log(a\text{SO}_4^{2-})$  (**Figure 3.8**) afin de suivre l'évolution de la saturation de l'eau par rapport aux phases sulfatées. Les valeurs des activités proviennent des calculs de spéciation effectués avec le logiciel Phreeqc.

Le diagramme de solubilité des carbonates de calcium inclut la ligne de solubilité de la calcite, de l'aragonite, de l'ACC 1, qui est un carbonate de calcium amorphe dont la constante de solubilité a été déterminée par Kellermeier et al. (2014) et de l'ACC 2, qui aussi un carbonate de calcium dont la constante de solubilité a été déterminée par Brečević et Nielsen (1989). À noter qu'au niveau de la ligne de solubilité l'ACC 1, se situe également celle de la monohydrocalcite (Zeyen et al., 2021), qui est carbonate de calcium amorphe hydraté (Fukushi et Matsumiya, 2018). L'ensemble des eaux prélevées est sursaturé vis-à-vis de la calcite et de l'aragonite, à l'exception de l'échantillon prélevé au mois d'octobre à Mari Ermi sud, qui est saturé vis-à-vis de la calcite mais sous-saturé vis-à-vis de l'aragonite. À l'exception de cet échantillon et de celui prélevé en janvier à Mari Ermi sud, les eaux sont situées au-dessus de la ligne de solubilité de l'ACC1 (Kellermeier et al., 2014) mais sont en dessous de celle de l'ACC2 (Brečević and Nielsen, 1989).



**Figure 3.7** Diagramme de solubilité dans l'espace  $\text{log}(a\text{CO}_3^{2-})$  en fonction du  $\text{log}(a\text{Ca}^{2+})$  (en jaune) et du  $\text{log}(a\text{Mg}^{2+})$  (en magenta) déterminé à 25°C. Les solubilités de la calcite et de l'aragonite ont été définies par Plummer et Busenberg (1982). Les symboles ronds représentent Mari Ermi sud ; les symboles carrés représentent Mari Ermi nord ; le symbole triangle représente l'eau de mer.

En ce qui concerne les sulfates, tous les échantillons sont sous-saturés vis-à-vis de l'anhydrite et du gypse, sauf les échantillons d'eau prélevés en octobre à Mari Ermi nord qui sont saturés par rapport à l'anhydrite, mais sous-saturés par rapport au gypse. Notons que l'eau provenant de Mari Ermi sud du mois d'octobre se situe juste au-dessous de la ligne de solubilité de l'anhydrite.



**Figure 3.8** Diagramme de solubilité dans l'espace  $\text{log}(a\text{SO}_4^{2-})$  en fonction du  $\text{log}(a\text{Ca}^{2+})$ . Les solubilités du gypse et de l'anhydrite proviennent de la base de données Pitzer du logiciel Phreeqc (Parkhurst and Appelo, 2003). Les symboles ronds représentent Mari Ermi sud ; les symboles carrés représentent Mari Ermi nord ; le symbole triangle représente l'eau de mer.

### 3.3.2.4 Détermination des facteurs de concentration au cours du temps dans les bassins de Mari Ermi nord et Mari Ermi sud

Les logs de la concentration de différents éléments/espèces chimiques dans les eaux de Mari Ermi sud (**Figure 3.9a**) et de Mari Ermi nord (**Figure 3.9b**) prélevées à différentes dates ont été tracés en fonction du log de la concentration des mêmes éléments dans l'eau de mer prélevée en octobre 2021. Ici, les espèces chimiques considérées sont le DIC et les ions Ca, K, SO<sub>4</sub>, Mg, Na et Cl. Nous avons observé que la composition chimique des eaux de Mari Ermi est, au premier ordre, proportionnelle, en tout temps et quel que soit le bassin, à une composition d'eau de mer (edm), même si nous remarquons qu'en octobre à MES et MEN, le Ca sort de la tendance générale. Nous voulons maintenant déterminer pour chaque mois, le facteur de concentration FC tel que :

$$FC_{\text{mois}} = \frac{[\text{mois}]}{[\text{edm}]} \quad (1)$$

Tout d'abord nous remarquons qu'il existe un facteur a, tel que

$$\log[\text{mois}] = a_{\text{mois}} \times \log[\text{edm}]$$

On a donc  $a_{\text{mois}} = \frac{\log[\text{mois}]}{\log[\text{edm}]}$  (2)

En divisant (1) par (2), nous obtenons

$$\frac{FC_{\text{mois}}}{a_{\text{mois}}} = \frac{[\text{mois}]}{\log[\text{mois}]} \times \frac{\log[\text{edm}]}{[\text{edm}]}$$

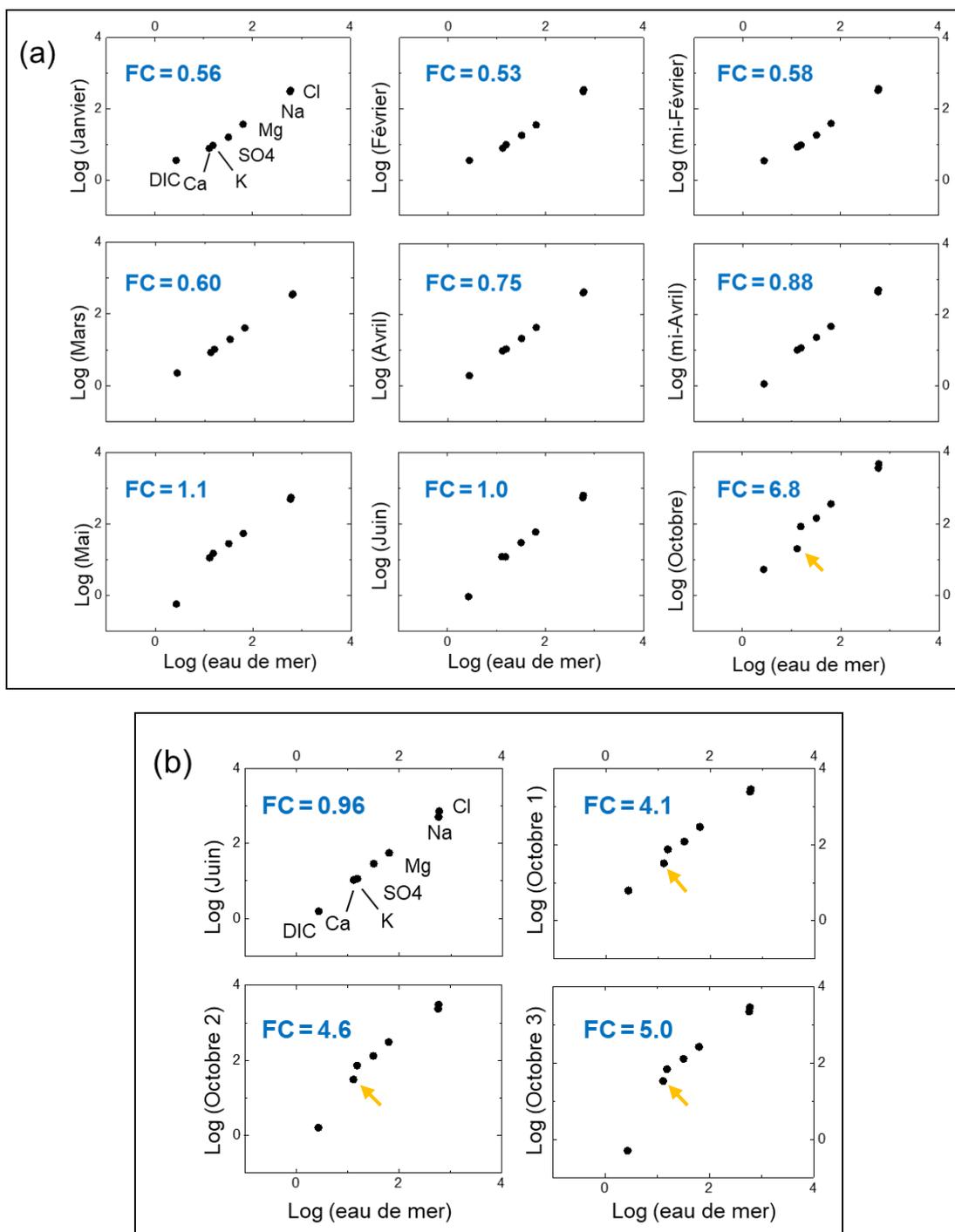
En posant  $\gamma_{\text{mois}} = \frac{[\text{mois}]}{\log[\text{mois}]} \times \frac{\log[\text{edm}]}{[\text{edm}]}$ , nous obtenons :

$$FC_{\text{mois}} = a_{\text{mois}} \times \gamma_{\text{mois}}$$

Et  $\gamma_{\text{mois}}$  est obtenu en calculant la pente de la droite :

$$\frac{[\text{mois}]}{\log[\text{mois}]} = \gamma_{\text{mois}} \cdot \frac{[\text{edm}]}{\log[\text{edm}]}$$

Les FC de chaque mois sont reportés sur différents diagrammes de la **Figure 3.9** pour Mari Ermi sud et pour Mari Ermi nord. Pour Mari Ermi sud, trois tendances sont observées pour le facteur de concentration : de janvier à mars,  $FC < 1$ , la composition chimique de l'eau est comparable à une eau de mer qui aurait été diluée par deux ; d'avril à juin, FC tend vers 1, en juin la composition chimique de l'eau est comparable à celle de l'eau de mer; en octobre, le facteur de concentration  $\gg 1$ , l'eau du bassin est très concentrée par rapport à l'eau de mer. Pour Mari Ermi nord, nous observons des similarités : en juin  $FC = 1$ , ce qui implique une composition chimique comparable à celle de l'eau de mer et en octobre  $FC > 1$ , l'eau est très concentrée par rapport à l'eau de mer. Notons tout de même que pour le même mois d'octobre Mari Ermi sud est davantage concentrée en eau de mer ( $FC = 7$ ) que Mari Ermi nord ( $FC = 4$ ).



**Figure 3.9** Facteur de concentration (FC) des eaux en fonction du temps. (a) Représentation du log de la concentration chimique de l'eau de MES pour un mois donné en fonction du log de la composition chimique de l'eau de mer. (b) Représentation du log de la concentration chimique de l'eau de MEN pour un mois donné en fonction du log de la composition chimique de l'eau de mer. L'eau de mer a été échantillonnée en octobre 2021. Les flèches jaunes montrent qu'en octobre à MES et MEN, le Ca et le DIC sortent de la relation de proportionnalité entre les concentrations chimiques dans l'eau de mer.

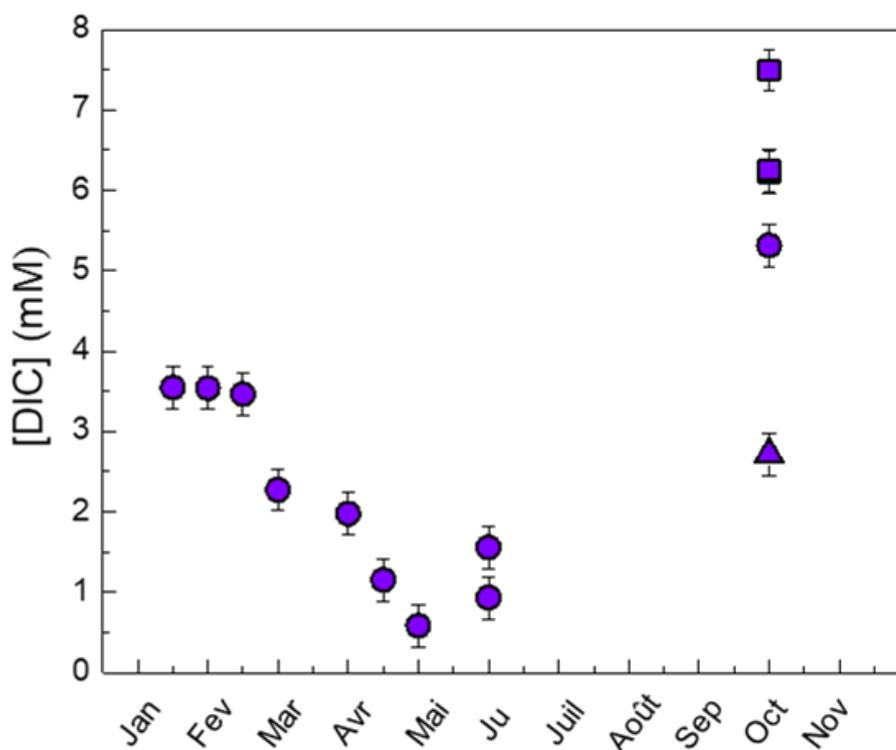
### 3.3.2.5 Carbone inorganique dissous (DIC) et isotopes stables du DIC

Comme pour les autres paramètres géochimiques, la concentration du DIC (**Figure 3.10**), le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  et le  $\delta^{18}\text{O}$  (**Figure 3.11**) varient saisonnièrement. Les trois mesures effectuées à Mari Ermi nord en octobre 2021 montrent que le DIC et le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  varient également à une échelle de temps plus fine, celle de la journée et sont également spatialement variables. En revanche, le  $\delta^{18}\text{O}$  semble être moins soumis à ces variations journalières et moins spatialement variable.

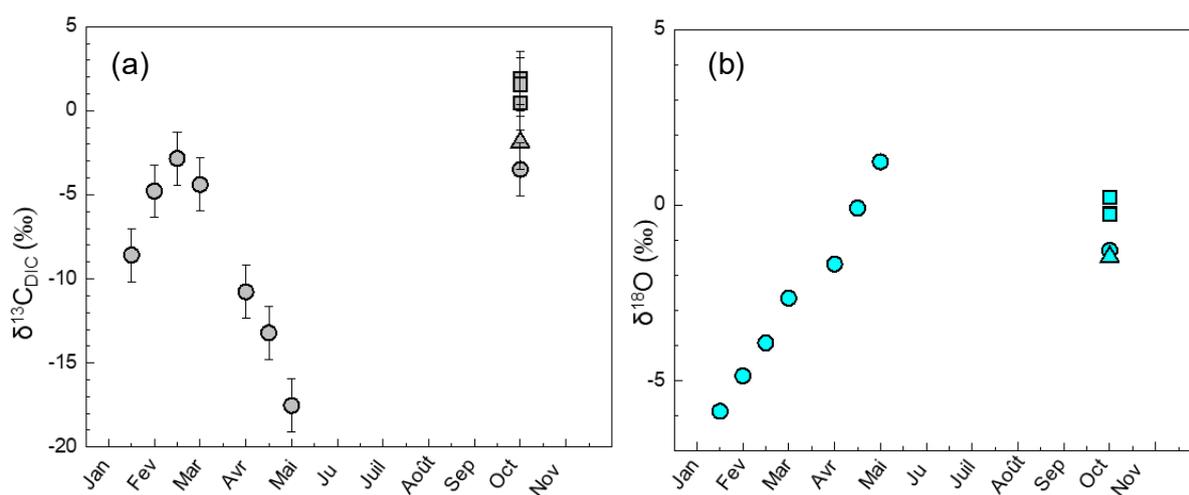
Nous n'avons malheureusement, un suivi du DIC,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  et du  $\delta^{18}\text{O}$  qu'à Mari Ermi sud. Nous avons néanmoins quelques valeurs ponctuelles pour les eaux de Mari Ermi nord. En janvier, le DIC de Mari Ermi sud, initialement à 3,5 mM, est supérieur à celui de l'eau de mer échantillonnée en 2021 et dont la valeur est de 2,7 mM. Le DIC reste constant jusqu'en février puis diminue jusqu'au mois de juin à 1 mM, valeur que l'on retrouve également en juin à Mari Ermi nord. En revanche, en octobre les concentrations de DIC sont les plus élevées avec ~5 mM et ~ 7 mM pour Mari Ermi sud et Mari Ermi nord respectivement.

Entre janvier et février, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  de Mari Ermi sud augmente puis reste tamponné de fin janvier à mars aux alentours de - 4 ‰ aux incertitudes près. En avril, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  s'appauvrit jusqu'à atteindre une valeur de -17,5 ‰ en mai. En octobre, sa valeur de -3,5 ‰ est proche de celle de l'eau de mer (1,9 ‰). À Mari Ermi nord, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  atteint des valeurs supérieures entre 0,5 ‰ et 1,9 ‰ mais toujours proches de celle de l'eau de mer (fonction du moment de la journée et de la localisation dans la lagune).

Concernant le  $\delta^{18}\text{O}$ , ce dernier varie de -5,9 ‰ à 1,2 ‰ entre janvier et mai à Mari Ermi sud. En octobre Mari Ermi sud a un  $\delta^{18}\text{O}$  de -1,2 ‰ comparable à celui de l'eau de mer, ce qui n'est pas le cas pour Mari Ermi nord dont les valeurs de  $\delta^{18}\text{O}$  oscillent entre -0,3 et 0,2 ‰.



**Figure 3.10** Variation de la concentration du DIC en fonction du temps. Les symboles ronds représentent Mari Ermi sud ; les symboles carrés représentent Mari Ermi nord ; le symbole triangle représente l'eau de mer.



**Figure 3.11** Variations isotopiques en fonction du temps. (a) Variations du  $\delta^{13}C_{DIC}$ . (b) Variations du  $\delta^{18}O$ . Les symboles ronds représentent Mari Ermi sud ; les symboles carrés représentent Mari Ermi nord ; le symbole triangle représente l'eau de mer.

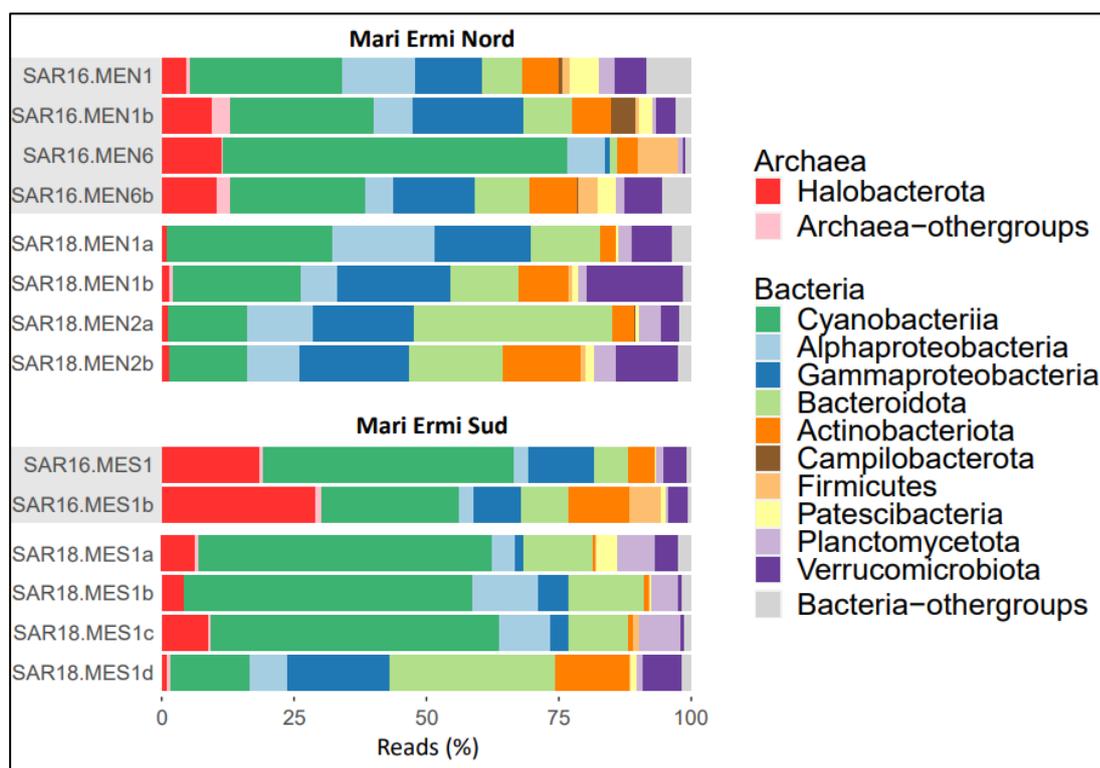
### 3.3.3 Populations microbiennes associées aux stromatolites

Afin de déterminer les diverses populations microbiennes (composants procaryotes et eucaryotes) associées aux stromatolites de Sardaigne, une approche de metabarcoding a été réalisée sur des échantillons provenant de Mari Ermi nord et Mari Ermi sud lors des missions de 2016 et de 2018, soit au moment où les lagunes étaient respectivement à sec et en eau. En revanche, les populations planctoniques de la colonne d'eau n'ont pas été caractérisées et les données eucaryotes ne seront pas présentées dans le manuscrit. Les abondances relatives de chaque phylum représenté en **Figure 3.12** montrent que les communautés procaryotes sont dominées par des cyanobactéries, aptes à réaliser la photosynthèse oxygénique. Des protéobactéries, en particulier des alphaprotéobactéries et des gammaprotéobactéries sont également identifiées. À cette résolution phylogénétique, nous n'avons pas assez d'informations pour associer des métabolismes particuliers à ces phyla. Enfin, des bactéries résistantes à la dessiccation et aux UVs (Firmicutes et Actinobacteria) ainsi que des bactéries hétérotrophes spécialisées dans la dégradation de molécules organiques complexes (Bacteroidetes, Planctomycetes, Verrucomicrobia) ont été identifiées. Notons, également la présence du superphylum bactérien Patescibacteria, plus connu sous le nom de candidat phylum radiation (CPR) (Brown et al., 2015 ; Hug et al., 2016) constitué de bactéries non cultivées et uniquement connues grâce aux approches de métagénomiques.

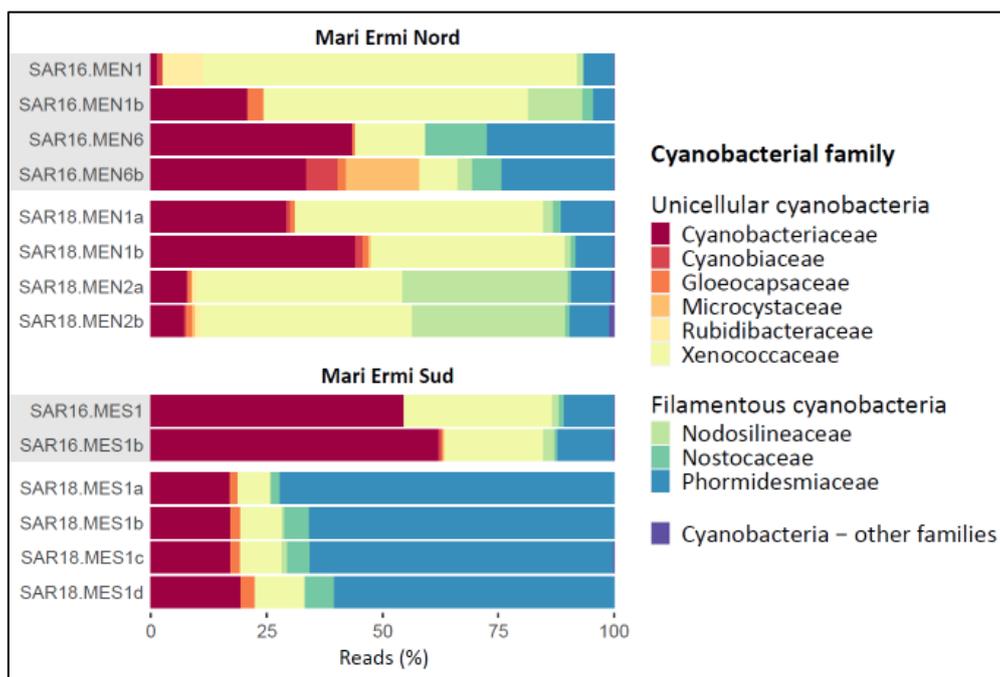
Bien que minoritaires par rapport aux bactéries, des archées extrémophiles sont représentées via les deux grands groupes des Halobacteriota et Nanohaloarcheota, ce dernier faisant partie d'un clade, le DPANN, constituant un super-embranchement d'archées. Nous notons que ces archées sont relativement plus abondantes en septembre 2016 qu'en juin 2018.

La recherche des différentes familles peuplant les stromatolites de Sardaigne a été investie dans le phylum des cyanobactéries (**Figure 3.13**). A priori, les abondances relatives entre les différentes familles de cyanobactéries varient en fonction de Mari Ermi nord vs Mari Ermi sud, ainsi qu'en fonction de la saison à laquelle les microbialites ont été prélevés. À Mari Ermi nord (septembre 2016 et juin 2018) et dans une moindre mesure à Mari Ermi sud en septembre 2016, les cyanobactéries sont riches en formes unicellulaires (Cyanobacteriaceae et Xenococcaceae) alors qu'en juin 2018, à Mari Ermi sud 2018, les cyanobactéries sont davantage composées de cyanobactéries filamenteuses (Phormidesmiaceae).

Afin d'évaluer de potentielles corrélations entre les communautés microbiennes et les dates de prélèvement/localisation, une analyse en composantes principales (PCA) a été faite sur les distances Bray-Curtis (BS), paramètre permettant d'évaluer les degrés de similarité entre les échantillons (**Figure 3.14**). On remarque que certaines bactéries hétérotrophes (Bacteroidetes, Verrucomicrobia) qui sont des bactéries fréquemment retrouvées dans les microbialites (Couradeau et al., 2011 ; Iniesto et al., 2021a,b), ont une forte corrélation avec quelques échantillons de Mari Ermi de la saison humide. Mise à part cela, il n'y a pas de cluster évident regroupant des communautés microbiennes évoluant soit au sein de la même lagune, soit pendant la même saison.

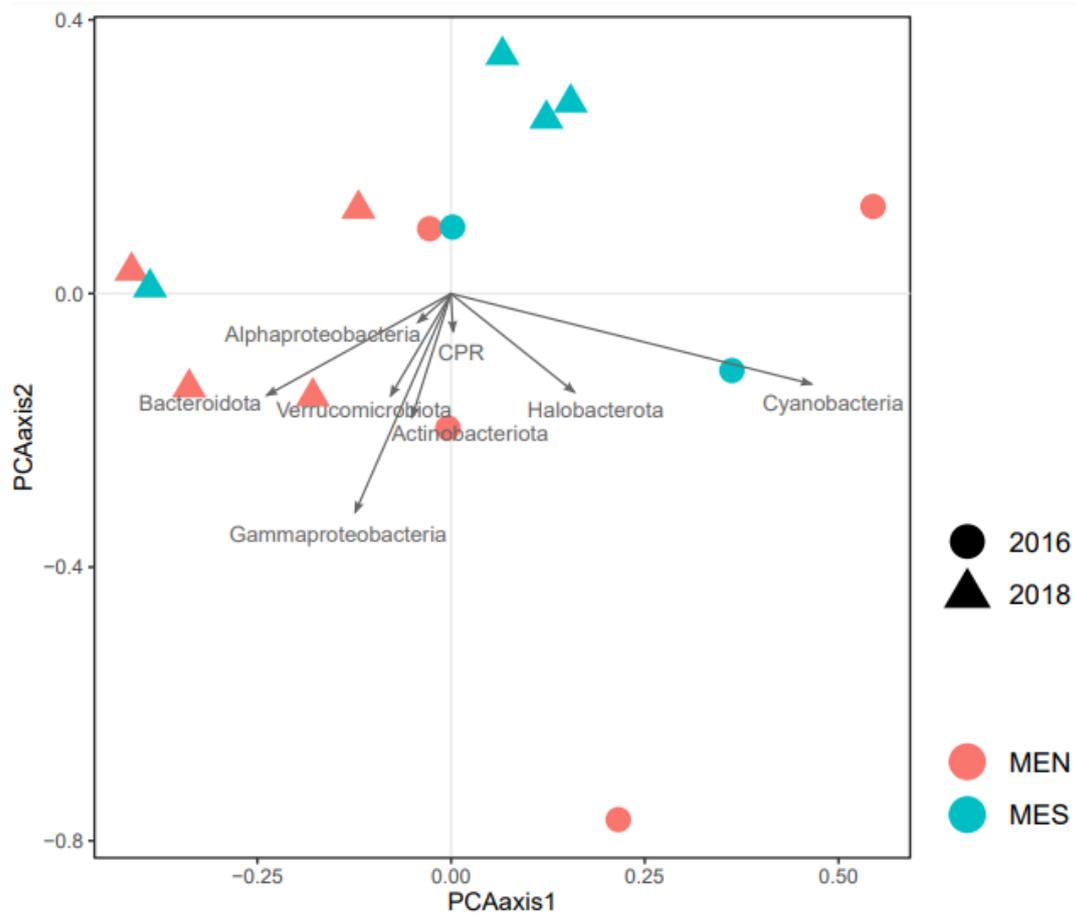


**Figure 3.12** Histogrammes montrant la proportion relative de séquences d'amplicons du gène de l'ARNr 16S d'origine archéenne et bactérienne dans les bibliothèques procaryotes. Les échantillons ont été prélevés à Mari Ermi nord (MEN) et Mari Ermi sud (MES) en septembre 2016 (SAR16) et en octobre 2018 (SAR18).



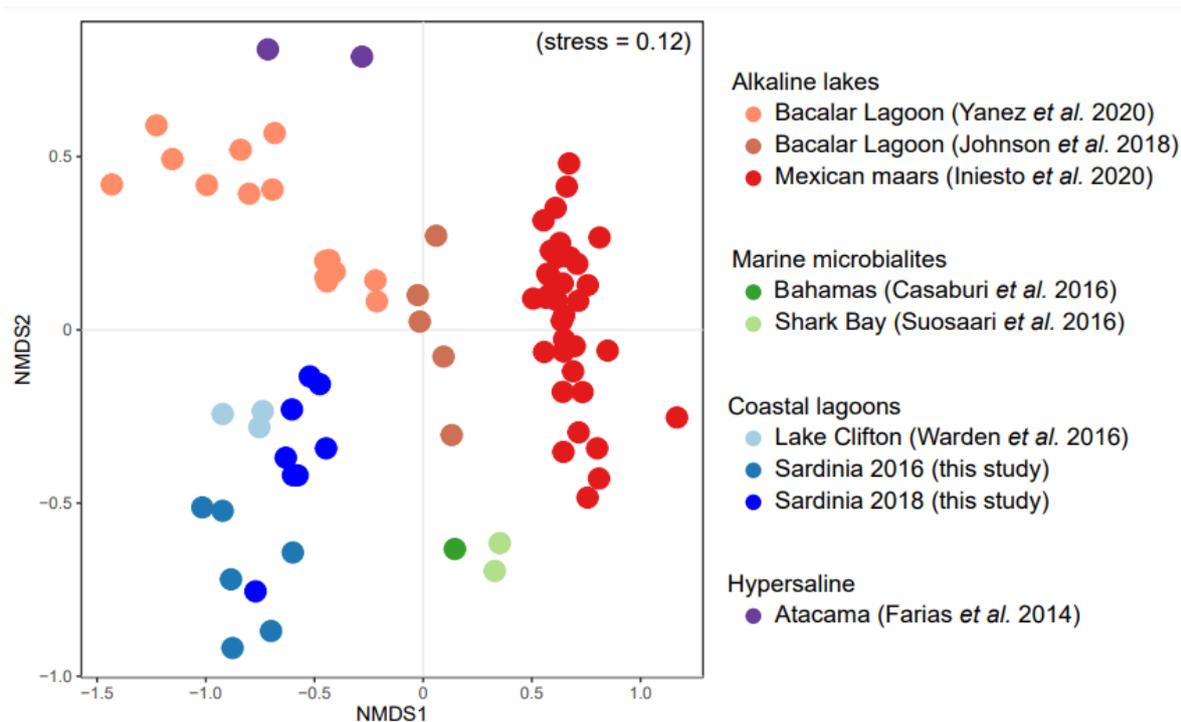
**Figure 3.13** Histogrammes montrant la proportion relative de séquences d'amplicons du gène de l'ARNr 16S d'origine archéenne et bactérienne dans les bibliothèques de cyanobactéries pour Mari Ermi nord (MEN) et Mari Ermi sud (MES) en 2016 et 2018.

Enfin, nous avons comparé les population microbiennes associées aux stromatolites de Mari Ermi avec d'autres populations microbiennes identifiées (Farias et al., 2014 ; Casaburi et al., 2016 ; Suosaari et al., 2016 ; Warden et al., 2016 ; Johnson et al., 2018 ; Yanez-Montalvo et al., 2020 ; Iniesto et al., 2021b) dans des microbialites modernes provenant de divers environnements (marin, alcalin, hypersalin, eau douce à saline etc...). La représentation à échelle multi-dimensionnelle non-métrique (NMDS) a été appliquée sur l'ensemble des données disponibles (**Figure 3.15**). Avant toute considération, mentionnons qu'il existe un biais de manipulation susceptible d'amplifier les différences observées. Toutefois, nous pouvons noter que les communautés procaryotes de Mari Ermi ressemblent à celles des microbialites du lac Clifton (dont nous reparlerons dans la discussion), plus spécialement encore pour les communautés de la saison humide (2018).



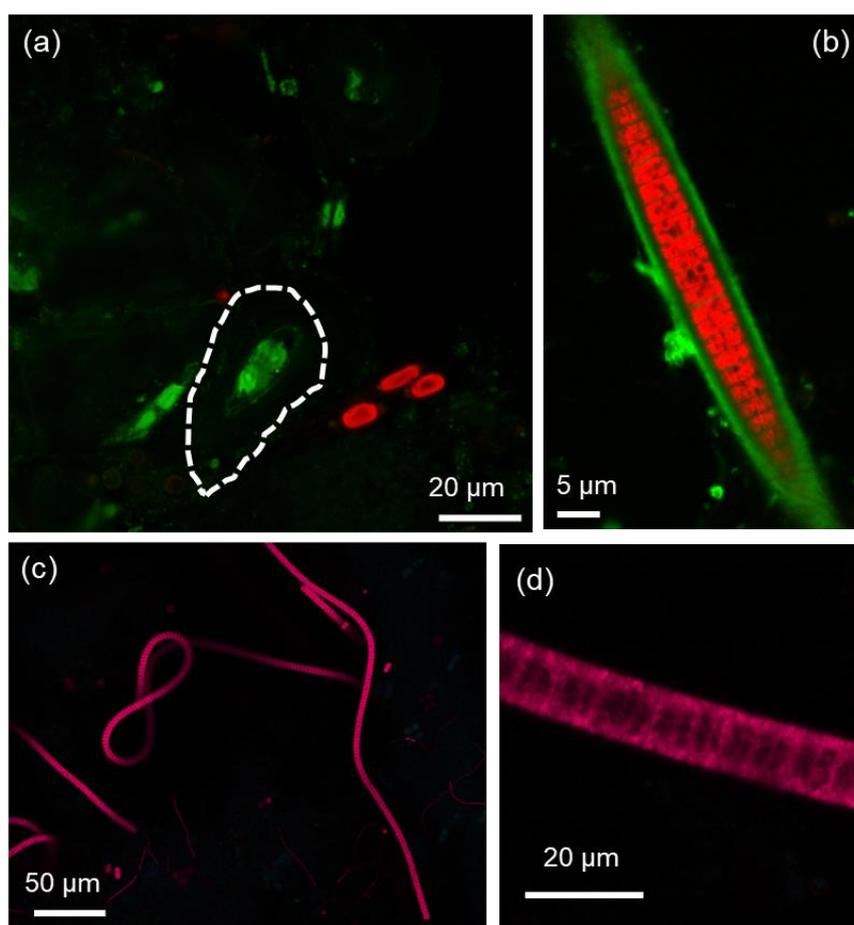
**Figure 3.14** Biplot de l’analyse en composante principale montrant les échantillons de stromatolites de Mari Ermi en fonction des distances BC des communautés procaryotes identifiées **Figure 3.13**). Les échantillons des différentes lagunes et saisons sont codées en couleur et en forme comme indiqué.

Par la suite, nous avons examiné les morphologies microbiennes présentes dans les biofilms grâce à des observations CLSM (**Figure 3.16**) et de microscopie électronique (**Figure 3.17**). Certains micro-organismes photosynthétiques sont reconnaissables en imagerie CLSM car ils possèdent un pic d'émission de fluorescence dans le rouge, du fait de la chlorophylle et/ou de la phycocyanine. C'est le cas des cyanobactéries filamenteuses observées au CLSM (**Figure 3.16b ; c ; d**) et en microscopie électronique. Parmi les bactéries filamenteuses, plusieurs familles ont été identifiées : certaines sont avec gaine (**Figure 3.16b**), d'un diamètre ca  $5\mu\text{m}$  et des cyanobactéries sans gaine avec une structure à filament simple (**Figure 3.16c**) ou avec une structure compartimentée (**Figure 3.16d**). Les images MEB montrent également la présence de sphères d'environ  $1\mu\text{m}$  de diamètres (**Figure 3.17b**) qui pourraient être des cyanobactéries. Bien que non montrées dans les analyses moléculaires, nous avons également pu mettre en évidence la présence de diatomées (**Figure 3.16a**) confirmée par les images en microscopie électronique et largement confirmée par Saint Martin et Saint Martin (2015 a).

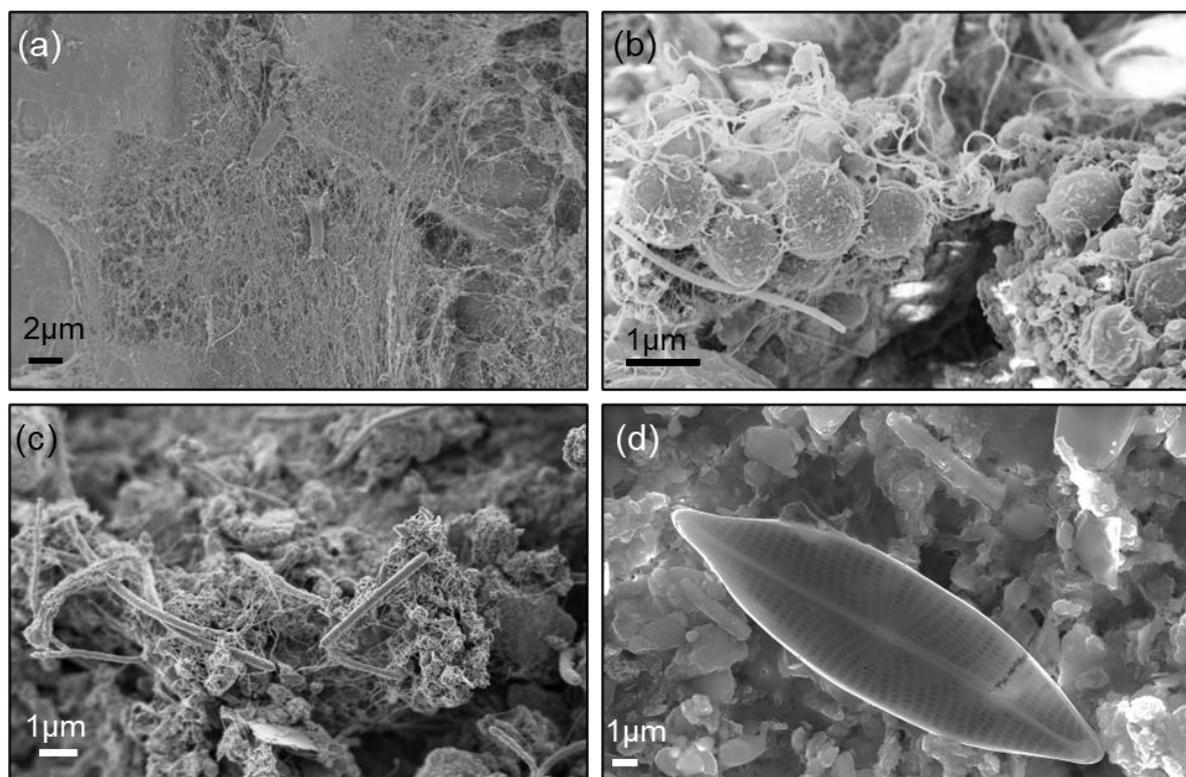


**Figure 3.15** Représentation multi-dimensionnelle non métrique (NMDS) des communautés microbiennes identifiées sur des microbialites d'environnement divers. Les échantillons des différentes lagunes et saisons sont codés en couleur comme indiqué.

Outre de confirmer la présence de cyanobactéries filamenteuses et de diatomées, les images MEB, permettent de mettre en évidence la présence d'une matrice organique, les EPS qui pourrait être produite, ici, selon Saint Martin et Saint Martin (2015a) par les diatomées et les cyanobactéries. Ces réseaux d'EPS forment des voiles très fins capables de piéger des minéraux, reconnaissables au MEB par leur texture lisse (**Figure 3.17a**).



**Figure 3.16** Images en microscopie confocale d'échantillons de biofilms prélevés en octobre 2021 à Mari Ermi sud et Mari Ermi nord soulignant les morphotypes de (a) diatomées (soulignées par les lignes blanches en pointillés), (b) des cyanobactéries filamenteuses à gaine, (c) des cyanobactéries filamenteuses sans gaines à structure simple et (d) des cyanobactéries filamenteuses sans gaines montrant la succession des cellules.



**Figure 3.17** Images en microscopie électronique à balayage. (a) – (c) ont été acquises en mode Inlens à 2KeV et (d) a été acquis en mode Inlens à 15KeV. (a) Réseau d’EPS entourant un minéral. (b) Réseau d’EPS autour de cellules. (c) Cyanobactéries entremêlées avec des EPS. (d) Frustules de diatomées *Navicula cf. cryptocephala var. veneta*.

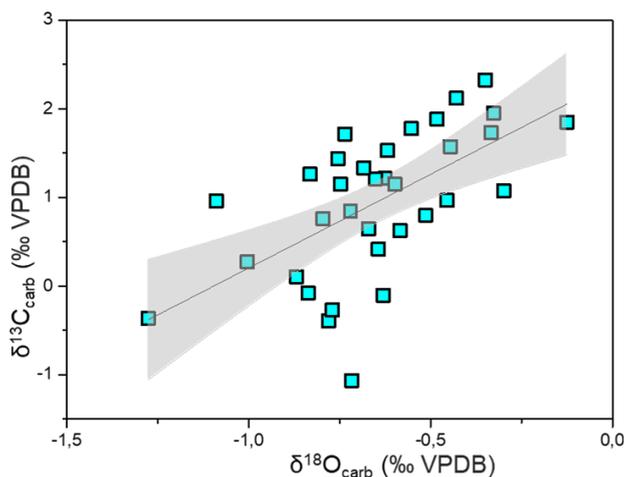
### 3.3.4 Isotope stable du carbone et de l’oxygène dans les carbonates stromatolitiques

Le tableau ci-dessous (**Tableau 3.4** regroupe les valeurs mesurées et corrigées du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  pour les différents profils A, B, C et D. Les valeurs du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  varient entre 0,8 et 1,9 ‰ pour le profil A, entre -3 et 2 ‰ pour le profil B, entre 0,1 et 1,7 ‰ pour le profil C et entre -0,3 et 2,3 ‰ pour le profil D. La valeur moyenne  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  sur la globalité de l’échantillon est de  $1.0 \text{ ‰} \pm 0,1$ . Les valeurs du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  sont beaucoup moins variables puisque les valeurs sont comprises entre -0,6 et -0,1 ‰ pour le profil A, -1,2 et -0,4 ‰ pour le profil B, -1,1 et -0,4 ‰ pour le profil C et -1 et -0,3 ‰ pour le profil D. La valeur moyenne du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  est de  $-0,65 \text{ ‰} \pm 0,04$ . Ces valeurs moyennes ne prennent pas en compte les compositions isotopiques du substrat qui sont de -8,5 ‰ pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et de -5,2 ‰ pour le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ .

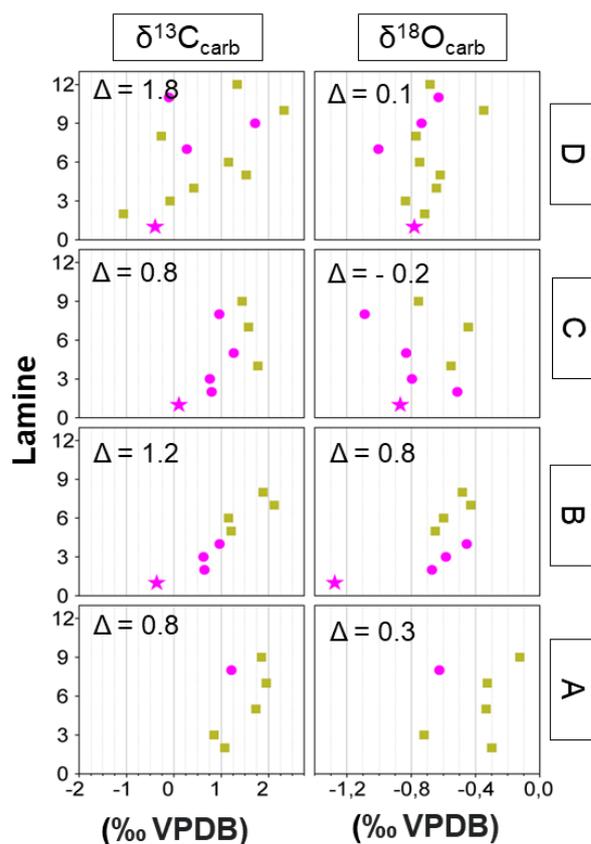
**Tableau 3.4** Mesure des compositions isotopiques du carbone et de l’oxygène des carbonates le long des profils stromatolitiques déterminés dans la **Figure 3.1**.

	A		B		C		D	
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)	$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ (‰ VPDB)
1			-0,36271	-1,276	0,10557	-0,86829	-0,39571	-0,781
2	1,074	-0,299	0,64529	-0,671	0,79657	-0,51329	-1,06571	-0,716
3	0,84729	-0,72	0,62429	-0,584	0,75857	-0,79529	-0,07871	-0,836
4			0,96429	-0,455	1,77357	-0,55229	0,42029	-0,643
5	1,72929	-0,334	1,20929	-0,651	1,26257	-0,83129	1,52629	-0,619
6			1,15129	-0,598			1,15129	-0,748
7	1,94829	-0,327	2,11629	-0,43	1,57257	-0,44529	0,27329	-1,004
8	1,21329	-0,625	1,88029	-0,482	0,95757	-1,08929	-0,26771	-0,77
9	1,84629	-0,125			1,43829	-0,755	1,71429	-0,736
10							2,32329	-0,349
11							-0,10371	-0,63
12							1,33429	-0,683
Moyenne	1,44	-0,41	1,03	-0,64	1,08	-0,73	0,57	-0,71
Moyenne $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$	1,0	SE	0,1					
Moyenne $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	-0,65	SE	0,04					

La mesure du delta majuscule ( $\Delta$ ) permet d’évaluer la différence entre la valeur minimale et la valeur maximale mesurée pour chaque série de profil. Pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ ,  $\Delta$  est de l’ordre de 1 ‰ pour les profils A, B, C mais atteint 1,8 ‰ pour le profil D. Pour le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ , la variabilité isotopique de l’oxygène est inférieure à 1 ‰. Nous remarquons aussi qu’il existe un enrichissement en  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  entre la première et dernière lamine (**Figure 3.18**). Pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ , celui-ci est de 0,8 ‰ pour le profil A ; 2,2 ‰ pour le profil B ; 1,3 ‰ pour le profil C et 1,7 ‰ pour le profil D. De même, l’enrichissement en  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  est de 0,17 ‰ pour le profil A ; 0,79 ‰ pour le profil B ; 0,11 ‰ pour le profil C et 0,10 ‰ pour le profil D. Nous remarquons que l’enrichissement en  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  est bien moins important que celui en  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  (**Figure 3.19**)

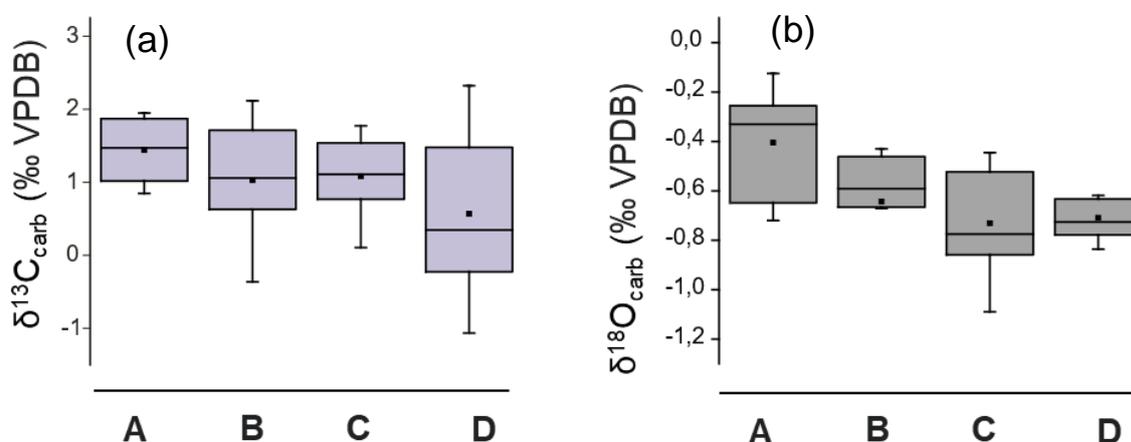


**Figure 3.19** Régression de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  en fonction de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ . La ligne noire est une régression linéaire avec des barres grises représentant l'intervalle de confiance à 95%. La pente de la régression est 2,1 ( $R^2 = 0,34$ , 95% CI [ 1,1 ; 3,1],  $p = 0,0002$ ).



**Figure 3.18** Variations des valeurs isotopiques du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  en fonction du numéro des lamines pour les profils d'échantillonnage A, B, C et D. La lamine n°1 correspond est celle à l'interface entre le substrat et la partie stromatolitique. Pour plus de détails, se référer à la **Figure 3.1** dans la section 3.2 Les carrés verts correspondent aux lamines claires et les ronds magenta correspondent aux lamines sombres.

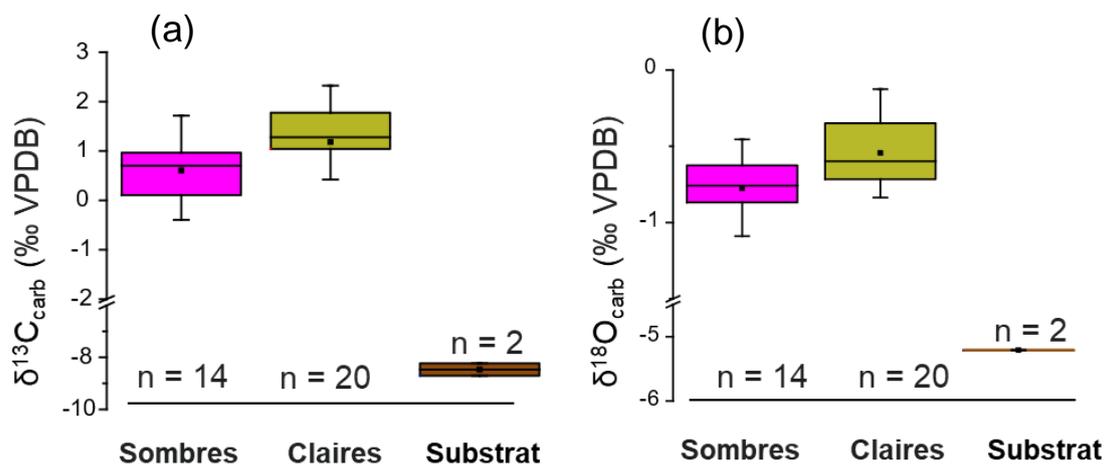
Les tests statistiques de Mann-Whitney-Wilcoxon montrent que, pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ , au seuil de 0.05, les moyennes des séries d'observation correspondant aux profils A, B, C et D ne sont pas significativement différentes (**Figure 3.20a**). Cela permet d'établir une relative homogénéité de la distribution des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  au sein de l'échantillon. En revanche, ce n'est pas le cas des valeurs  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ , qui ne sont pas distribuées de façon homogène entre les profils (**Figure 3.20b**), malgré une variabilité apparente faible. Les tests de Mann-Whitney-Wilcoxon, appliqués ici sur l'ensemble des valeurs  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  des lamines claires et des lamines sombres, ont montré que les séries d'observation lamines claires vs lamines sombres étaient significativement différentes au seuil de 0.05 (**Figure 3.21**)  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ . Le tableau ci-dessous (**Tableau 3.5**) récapitule les valeurs moyennes pour les séries « lamines claires » et « lamines sombres ».



**Figure 3.20** Etude statistique de la variabilité inter-lamine. (a) Boxplots montrant les valeurs de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  obtenues pour les lamines sombre, claires et le substrat. À une probabilité de 0.05, les différences entre les moyennes des séries d'observation sombres, claires et substrat sont significatives. (b) Boxplots montrant les valeurs de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  obtenues pour les lamines sombre, claires et le substrat. À une probabilité de 0.05, les différences entre les moyennes des séries d'observation sombres, claires et substrat sont significatives.

**Tableau 3.5** Compositions isotopiques moyennes du carbone et de l'oxygène des carbonates pour les lamines claires et sombres.

	Claires	Sombre
$\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$	$1,2 \pm 0,9$	$0,6 \pm 0,6$
$\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$	$-0,5 \pm 0,2$	$-0,8 \pm 0,2$



**Figure 3.21** Etude statistique de la variabilité inter-lamine. (a) Boxplots montrant les valeurs de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  obtenues pour les lamines sombres, claires et le substrat. À une probabilité de 0,05, les différences entre les moyennes des séries d’observation sombres, claires et substrat sont significatives. (b) Boxplots montrant les valeurs de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  obtenues pour les lamines sombres, claires et le substrat. À une probabilité de 0,05, les différences entre les moyennes des séries d’observation sombres, claires et substrat sont significatives.

## 3.4 Discussion

### 3.4.1 Quel(s) régime(s) hydrologique(s) pour Mari Ermi ?

#### 3.4.1.1 Sources d’alimentation des lagunes

Nos mesures de salinité des eaux de Mari Ermi montrent des variations entre 20 et plus de 150 psu. Dans son travail de thèse, Orrù (2007) rapporte même des valeurs de salinité inférieures autour de 2-3 ‰ (mais les données ne sont pas montrées dans la thèse d’Orrù). Ces variations de salinité sont caractéristiques des régimes schizohalin, terme introduit par Folk et Siedlecka (1974) pour désigner des régimes alternants entre hyposalinité et hypersalinité. De plus, les données bio-moléculaires montrent que, dans la globalité, les populations microbiennes associées aux stromatolites de Mari Ermi présentent des abondances similaires à celle du lac Clifton (Australie). Ce lac présente des caractéristiques similaires avec Mari Ermi : c’est une lagune côtière isolée avec une composition chimique et un pH (environ autour de 8) similaire à l’eau de mer (Smith et al., 2010; Burne et al., 2014), ce qui est le aussi le cas de Mari

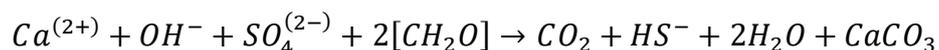
Ermi de mars à juin. En revanche, lorsque les lagunes sont complètement évaporées comme en 2016 et les microbialites recouverts de croûtes de sel, d'autres populations microbiennes s'expriment davantage. La salinité extrême est associée avec la présence d'archées Halobacteriota et Nanohaloarcheota, populations microbiennes que l'on retrouve par exemple dans les mares du dôme de Dallol (Ethiopie) (Belilla et al., 2021, 2022), qui sont de véritables environnements de vie extrême.

À Mari Ermi, les variations de salinité sont évidemment dues aux phénomènes d'évaporation qui entraînent une augmentation de la salinité de l'eau. Tout d'abord, le caractère hyposalin des eaux impose une discussion concernant l'approvisionnement en eau des lagunes. Premièrement, il est évident que l'eau de mer soit une des sources d'approvisionnement. En effet, de janvier à juin et même en octobre, les concentrations des différents éléments chimiques des eaux de Mari Ermi sont corrélées linéairement à celles de l'eau de mer (**Figure 3.9**). De janvier à mai, les eaux sont diluées par rapport à l'eau de mer alors qu'en octobre elles sont concentrées par rapport à l'eau de mer. Dans son travail de thèse, Orrù, (2007) décrit les lagunes de Mari Ermi comme étant « des étangs temporaires dont le régime hydrologique est régulé par l'apport d'eau de pluie directe et/ou celle provenant du ruissellement et de l'adduction des sols environnants. Toutefois, bien qu'il n'y ait pas de connexion directe avec la mer, celle-ci peut influencer le volume d'eau non seulement par infiltration à travers le cordon dunaire, mais aussi lors de fortes tempêtes marines permettant des excursions marines par-dessus le cordon dunaire. » Nous pensons que ces incursions marines sont probablement plus fréquentes à Mari Ermi nord, notamment par le côté nord de la lagune, situé au niveau de la mer, et ne sont pas nécessairement provoquées par des tempêtes. Cette facilité probable d'incursions marines, peut expliquer pourquoi Mari Ermi nord a été remise en eau beaucoup plus tôt que Mari Ermi sud dans l'année 2021 (**Figure 3.3 k**). Les incursions marines étant plutôt rares à Mari Ermi sud, nous pouvons donc imaginer que cette dernière est alimentée en eau de mer exclusivement durant la période hivernale, probablement lors de tempêtes (**Figure 3.3 a ; b ; l**).

Il existe une deuxième source d'approvisionnement : une eau dite « douce » qui est confirmée par les données isotopiques, notamment par le  $\delta^{18}\text{O}$ . En effet, si Mari Ermi était composée uniquement d'eau de mer, son  $\delta^{18}\text{O}$  serait au minimum de  $\sim -1,5\text{‰}$ , soit la valeur déterminée pour l'eau de mer (**Tableau 3.2**), mais d'après nos résultats, les valeurs  $\delta^{18}\text{O}$  sont beaucoup plus négatives, cohérentes avec un apport d'eaux météoriques. En effet, supposons qu'en janvier, Mari Ermi sud soit composée à 50% d'eau de mer (d'après les calculs de facteurs de

concentration (**Figure 3.9**) alors elle devrait avoir une contribution à 50% d'eau douce. Nous supposons ici que l'eau douce est de l'eau de pluie. Nous pourrions également envisager un approvisionnement par des eaux souterraines provenant de l'aquifère continental. Cependant, il existe des processus de salinisation des eaux souterraines (Mongelli et al., 2013) venant modifier les compositions isotopiques de ces eaux. Pour simplifier notre modèle, nous considèrerons que l'apport en eau douce provient d'un apport direct des eaux météoriques. En janvier le  $\delta^{18}\text{O}$  mesuré est de -5,9 ‰, ce qui impliquerait que l'eau de pluie ait une composition  $\delta^{18}\text{O}$  de -12 ‰. Mais, cette composition isotopique n'est pas retrouvée dans la littérature : en Sardaigne le  $\delta^{18}\text{O}$  des eaux météoriques (Longelli et Selmo, 2003 ; Bono et al., 2005 ; Giustini et al., 2016) ou des eaux souterraines (Mongelli et al., 2013) sont plutôt de l'ordre de -6 ‰ ou à des valeurs inférieures. Ainsi, en janvier si Mari Ermi était uniquement alimentée par un mélange eau de mer / eau de pluie en proportion 50 : 50 approximativement, alors son  $\delta^{18}\text{O}$  aurait dû être autour de -3 ‰. Cette différence de composition isotopique entre le  $\delta^{18}\text{O}$  mesuré et le  $\delta^{18}\text{O}$  théorique provient certainement de la simplification de notre modèle, néanmoins d'autres facteurs peuvent être discuté comme possible sources de variations du  $\delta^{18}\text{O}$ . Par exemple, dans la littérature D'amore et Panichi (1985), Clark et Fritz (2013), Karolytè et al. (2017) rapportent des processus responsables de l'appauvrissement en  $^{18}\text{O}$  de l'eau. Un des phénomènes proposés est celui de la précipitation de phases minérales préférentiellement enrichies en  $^{18}\text{O}$  comme par exemple les carbonates ou les argiles, laissant une eau résiduelle appauvrie en  $^{18}\text{O}$ . Il n'est pas certain que des carbonates puissent précipiter dès le mois de janvier (voir paragraphe suivant) et nous n'avons pas de suivi de la concentration en  $\text{H}_4\text{SiO}_4$  pour calculer les indices de saturation de phases minérale argileuse (e.g talc, sépiolite etc...).

Un autre processus responsable de l'appauvrissement  $^{18}\text{O}$  suggéré dans la littérature (Lloyd, 1968) concerne la consommation préférentielle du  $^{18}\text{O}$  par des bactéries sulfato-réductrices (SRB). Nous ne savons pas si celles-ci sont présentes dans les biofilms de Mari Ermi mais ce sont des bactéries fréquemment associées aux microbialites (e.g. Couradeau et al., 2011). Lloyd (1968) rapporte une consommation préférentielle du  $^{18}\text{O}$  par ces bactéries à hauteur de +4,6 ‰, ce qui est une valeur pouvant expliquer la différence entre le  $\delta^{18}\text{O}$  mesuré et le  $\delta^{18}\text{O}$  calculé dans les eaux de Mari Ermi. Le métabolisme de sulfato-réduction des SRB est bien connu pour promouvoir la précipitation de carbonates (Visscher et al., 1999 ; Dupraz et al., 2009) notamment en dégradant de la matière organique et en produisant du  $\text{HS}^-$ . Le bilan de leur équation s'écrit :



Le fond sapropélique des lagunes du Mari Ermi (Saint Martin et Saint Martin, 2015a) ainsi que la forte odeur de sulfure d'hydrogène qui se dégageait lorsque nous étions sur le terrain en 2021, sont d'autant plus d'arguments en faveur d'une activité de sulfato réduction, même si les données de biologie ne nous permettent pas, pour l'instant de confirmer cette hypothèse.

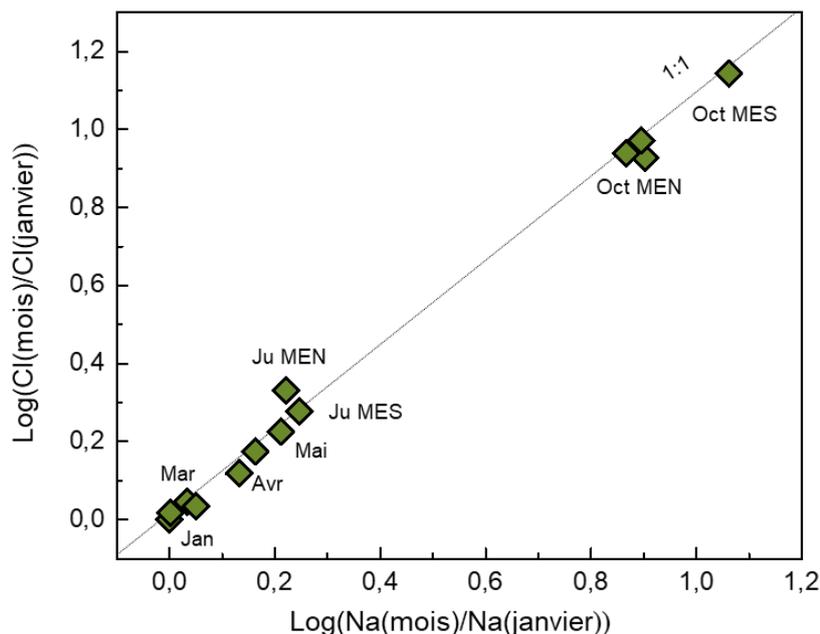
### 3.4.1.2 Évaporation et processus de précipitation

Toutes les données (images de terrain, images satellites, suivi géochimique des eaux) s'accordent sur le fait que les lagunes de Mari Ermi sont soumises à un phénomène d'évaporation / remise en eau et que cette tendance est cyclique au vu de l'historique des données géosatellites (**Figure 3.2** et **Figure 3.3**). L'évaporation permet d'expliquer les diminutions du niveau d'eau des lagunes ainsi que l'augmentation de la salinité. Le taux d'évaporation ( $\tau$ ) peut être assimilé à un facteur de concentration, défini comme le logarithme de la concentration en sodium. Lorsque l'on trace l'évolution des concentrations en chlore des lacs en fonction des concentrations en sodium (normalisées par les concentrations en chlore et sodium de la lagune à Mari Ermi sud en janvier), les eaux prélevées chaque mois sont alignées sur une droite de pente 1:1, ce qui est attendu, lors d'une séquence évaporitique pour les deux éléments conservatifs principaux. Comme nous avons supposé que le mois de janvier est le mois où le volume d'eau est maximal, nous avons pu calculer, pour chaque mois, un taux d'évaporation associé où :

$$\tau^{mois} = \frac{\log([Na^{mois}])}{\log([Na^{janvier}])}$$

Lorsque l'on compare les facteurs de concentration (calculés à la section **3.3.2.4**) et les valeurs des taux d'évaporation, on a  $\tau = 2 \cdot FC$ , ce qui est cohérent puisque le FC est calculé par rapport aux concentrations de l'eau de mer alors que  $\tau$  est calculé à partir des concentrations du mois de janvier, qui sont-elles mêmes diluées de moitié par rapport à l'eau de mer.

Mois	$\tau$
janv-21	1.0
fev 21	1.0
fev 21	1.1
mars-21	1.1
avr-21	1.4
avr-21	1.5
mai-21	1.6
juin-18	1.8
oct-21 MES	11.5
juin-18 MEN	1.7
oct-21 MEN1	8.0
oct-21 MEN 2	7.9
oct-21 MEN 3	7.4



**Figure 3.22** Évolution des concentrations en chlore en fonction des concentrations en sodium des eaux de Mari Ermi normalisées par les concentrations du mois de janvier 2021. Les eaux sont situées sur la droite de pente 1 :1. Les taux d'évaporation associés à chaque mois sont indiqués dans le tableau à gauche.

La représentation de l'augmentation des taux d'évaporation (**Figure 3.22**), permet de délimiter trois périodes. Bien sûr, les bornes délimitant ces périodes ne sont pas fixes et peuvent varier selon les années. La première période va de janvier à mars, la deuxième période va de fin mars/début avril à juin et la troisième période va de juin à octobre. La première période est plus difficile à comprendre, c'est pourquoi, nous commençons la discussion avec la deuxième période.

À partir de fin mars/ début avril,  $\tau > 1$ , ce qui signifie que les eaux commencent réellement à s'évaporer. Durant cette période, le  $\delta^{18}\text{O}$  continue à augmenter (**Figure 3.11b**), ce qui est attendu durant un processus d'évaporation. En effet, les pressions de vapeur à saturation des différentes molécules isotopiques d'eau sont inversement proportionnelles à leurs masses. Ainsi,  $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$  a une pression de vapeur supérieure à celle de  $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$  par exemple. Pour cette raison, la vapeur d'eau formée par évaporation d'eau liquide est enrichie en  $^{16}\text{O}$  (et en  $^1\text{H}$ ) tandis que l'eau résiduelle est enrichie en  $^{18}\text{O}$  (et en  $^2\text{H}$ ) (Faure, 1977). Puisque le coefficient de fractionnement ( $\alpha$ ) de l'oxygène entre l'eau liquide et la vapeur est de + 1,0092 à 25°C (Craig

et Gordon, 1965), l'évaporation, d'une eau ayant une composition d'eau de mer à  $\delta^{18}\text{O} \sim 0 \text{ ‰}$  SMOW, entraînera des compositions isotopiques du  $\delta^{18}\text{O}$ , positives et croissantes.

Cette évaporation progressive entraîne une évolution progressive de la chimie des eaux mais également la formation de différents précipités, dont la nature dépend du stade de l'évaporation (Hardie and Eugster, 1970 ; Gac et al., 1977). À partir du mois de fin mars/ début avril, la concentration absolue du DIC diminue (**Figure 3.10**) de même que la concentration du Ca diminue par rapport au Mg et au Na + K. La diminution du DIC et du Ca suggèrent la formation de calcite. Nous remarquons de plus, que le rapport Mg/Ca de l'eau résiduelle augmente ce qui s'explique par le fait que le  $\text{Ca}^{2+}$  est plus facilement incorporé dans la structure de la calcite contrairement au Mg, ce qui va entraîner une diminution du Ca dans l'eau résiduelle et donc une augmentation du rapport Mg/Ca. Par la suite, du fait d'une disponibilité moindre des ions  $\text{Ca}^{2+}$ , des calcites magnésiennes, voire très magnésiennes vont pouvoir commencer à précipiter au fur et à mesure de la séquence évaporitique (Hardie and Eugster, 1970 ; Mucci, 1987). Nous remarquons de plus que le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  commence à diminuer dès fin/mars début avril de  $-4,4\text{‰}$  à  $-17\text{‰}$ . Cette dernière valeur est caractéristique des processus de respiration et de la dégradation de la matière organique (Telmer et Veizer, 1999).

La diminution du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  est un argument de plus en faveur de la précipitation de phases carbonatée. En effet, la précipitation est un processus consommant préférentiellement des carbonates enrichis en  $^{13}\text{C}$ , entraînant un appauvrissement du  $^{13}\text{C}$  du DIC résiduel (Hélie et al., 2002). Cependant, cette interprétation nécessite quelques précautions supplémentaires : le carbone 13 est un isotope complexe à étudier puisqu'il répond à un double fractionnement : un fractionnement au moment du dégazage du  $\text{CO}_2$  et un fractionnement lors de la précipitation de la calcite. À l'inverse de la précipitation, le dégazage forme du  $\text{CO}_2$  globalement appauvri en  $^{13}\text{C}$ , par rapport au carbone dissous, et donc entraîne un enrichissement en  $^{13}\text{C}$  du DIC résiduel. Du fait des faibles valeurs du taux d'évaporation, nous supposons qu'il n'y ait peu ou pas de dégazage et que la diminution du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  s'explique uniquement par de la précipitation.

On sait que le rapport Mg/Ca de l'eau gouverne la précipitation de calcite ou bien d'aragonite, et de calcite plus ou moins magnésienne (Berner, 1975). Dans les lacs, des calcites très magnésiennes et de l'aragonite se forment quand ce rapport augmente entre 2 et 12 (Müller et al., 1972). Dans nos échantillons d'eau, le rapport  $\text{Mg}/\text{Ca}_{(\text{aq})}$  varie entre 5 et 18. De plus, d'après les diagrammes de solubilité (**Figure 3.7**), les eaux sont sursaturées vis-à-vis de la calcite, de l'aragonite et d'une phase de carbonate amorphe dont la solubilité a été déterminée par

Kellermeier et al. (2014). La saturation vis-à-vis de l'ACC est un indice important puisqu'il est considéré par certains auteurs comme une condition favorable à la précipitation de calcite (Fukushi et al., 2011 ; Zeyen et al., 2017, 2021). Une étude très récente de Caumartin et al. (in prep.), montre que la saturation vis-à-vis de cet ACC est un facteur nécessaire à la formation de microbialites dans des environnements lacustres. Nous nous attendons donc à retrouver de la calcite magnésienne et de l'aragonite dans les microbialites sardes.

À partir de juin, il est très possible que l'évaporation s'accélère. Le taux d'évaporation du mois d'octobre est dix fois supérieur à celui de mois de juin. Du fait de ces forts taux d'évaporation, le phénomène de dégazage a ici son importance. Comme le DIC a pratiquement été entièrement consommé (**Figure 3.5** et **Figure 3.10**), il reste peu d'ions  $\text{HCO}_3^-$  pour former des carbonates. Cela signifie donc qu'il est peu probable que le dégazage soit en compétition avec la précipitation de carbonates de calcium. Même si nous n'avons pas de données entre mai et octobre nous observons que le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  passe de  $-17,5\text{‰}$  en mai à plus de  $+1\text{‰}$  en octobre (à Mari Ermi nord). Cela implique une augmentation du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  de plus de  $+18\text{‰}$ , valeur déjà reportée par Stiller (1985) dans un environnement aride soumis à un très fort processus d'évaporation. L'enrichissement  $^{13}\text{C}$  du DIC peut donc être attribué au phénomène de dégazage comme dans (Dreybrodt et Deininger, 2014). Il est intéressant de noter qu'à cette même période, à Mari Ermi sud, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  est moins élevé ( $-3,5\text{‰}$ ) alors que la lagune est plus évaporée. Néanmoins, en octobre 2021, à Mari Ermi sud, la lagune était complètement à sec avec la présence de quelques flaques d'eau (**Figure 3.23**). C'est l'eau de ces flaques d'eau qui a été échantillonnée. Ces flaques d'eau résultent probablement de pluies automnales et la valeur du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  est peut-être une signature d'une faible contribution de la matière organique probablement due à une reprise des pluies après la saison sèche (Brunet, 2004).

Durant cette période, les sulfates sont appauvris par rapport aux chlorures, et dans le même temps, le Ca et le Mg sont complètement consommés. Cela fait penser à de la précipitation de sulfates, dont en premier lieu, les sulfates de calcium (de type anhydrite). D'ailleurs, en octobre, les eaux de Mari Ermi sont saturées vis-à-vis de l'anhydrite, ce qui est un argument de plus en faveur de la précipitation des sulfates de calcium. Étonnamment, à Mari Ermi sud, en octobre, l'eau est juste en dessous de la ligne de solubilité alors que la lagune était complètement à sec. Cependant, l'eau a été échantillonnée dans les flaques d'eau (**Figure 3.23**), qui ont probablement dû dissoudre les sulfates de calcium formés. Cela peut expliquer pourquoi l'eau n'est pas saturée vis-à-vis de l'anhydrite. Nous remarquons également que le  $\delta^{18}\text{O}$  en octobre,

à Mari Ermi sud et Mari Ermi nord est plus bas que le  $\delta^{18}\text{O}$  du mois de mai (nous n'avons pas de mesure pour le mois de juin). La diminution du  $\delta^{18}\text{O}$  entre le mois de juin et le mois d'octobre pourrait s'expliquer par la précipitation de l'anhydrite qui consomme préférentiellement de  $^{18}\text{O}$  entraînant une eau résiduelle appauvrie en  $^{18}\text{O}$ .

La période entre janvier et mars est plus difficile à interpréter notamment à cause des apports d'eau douce qui viennent fréquemment réalimenter le système. Le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ , initialement à  $-8,6\text{‰}$ , augmente jusqu'à  $-2,8\text{‰}$ , au mois de mars. La valeur à  $-8,6\text{‰}$ , suggère un équilibre isotopique avec le  $\text{CO}_2$  atmosphérique. Par la suite, l'augmentation du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  résulte peut-être de l'apport d'autres sources de carbone puisque le DIC de l'eau de la lagune est supérieur à celui de l'eau de mer. Il se peut également que cette variation soit due à de l'activité photosynthétique consommant préférentiellement le  $^{12}\text{C}$ . Il semble qu'à cette période, il n'y ait pas ou peu d'évaporation ( $\tau = 1$ ). Cependant, nous avons l'impression que durant cette période, la concentration relative du DIC par rapport aux sulfates et aux chlorures ainsi que celle du Ca par rapport au Na, K et Mg commencent à diminuer (**Figure 3.5**). De même, dès le mois de février, il y a saturation des eaux par rapport à l'ACC (**Figure 3.7**). Il est donc possible que des premières phases carbonatées, probablement très peu magnésiennes puissent se former au moins à l'état de précurseurs.



Figure 3.23 Photo de terrain prise en octobre 2021 à Mari Ermi sud.

### 3.4.2 Comment interpréter les compositions isotopiques des carbonates stromatolitiques ?

#### 3.4.2.1 Comparaison des valeurs $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ et du $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ de Mari Ermi avec celles de la littérature

La composition isotopique des carbonates des stromatolites de Sardaigne présente des valeurs en moyenne de 1,0 ‰ pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et -0,65 ‰ pour le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ . La variabilité du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et du  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  des stromatolites et plus généralement des microbialites modernes, reportée dans la littérature (Chagas et al., 2016 et base de données réalisée par Jeanne Caumartin) est considérable. Si l'on considère uniquement le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$ , celui-ci peut atteindre des valeurs négatives comme par exemple les carbonates précipités dans le tapis microbien de Lagoa Vermelha avec un  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  de -6 ‰ (Meister, 2013 ; Chagas et al., 2016) interprété comme la contribution croissante du carbone organique avec la profondeur dans le tapis microbien. À l'opposé, Buongiorno et al. (2019) ont reporté des valeurs très positives (jusqu'à + 18,5 ‰) dans certains microbialites du lac de cratère hypersalin Laguna Negra. Ces valeurs sont interprétées comme étant fortement entraînées par la distillation de Rayleigh lors de phénomène d'évaporation. Grâce à une base de données réalisée par Jeanne Caumartin, répertoriant les caractéristiques de plus de 200 microbialites modernes ainsi que leur paramètres géochimiques associés lorsqu'ils sont disponibles, nous avons pu rechercher dans cette base de données « maison » des valeurs de  $^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$  qui seraient comparables à celles des stromatolites de Mari Ermi (aux incertitudes près). Nous n'avons obtenu qu'une seule occurrence : les stromatolites du lac Thetis en Australie (Grey et al., 1990). Ce lac est considéré comme salin et alcalin mais contrairement aux lagunes de Mari Ermi, il serait uniquement approvisionné par des eaux de pluie et des eaux souterraines (Grey et al., 1990 ; Wacey et al., 2018). La salinité de ce lac, en plus des compositions chimiques des éléments majeurs (Grey et al., 1990 ; Reitner et al., 1996) est relativement similaire à celles des eaux de Mari Ermi en juin.

#### 3.4.2.2 Implications paléo-environnementales ? Qu'enregistrent les phases carbonatées des stromatolites de Mari Ermi par rapport aux eaux environnantes ?

Nous avons vu que la composition isotopique des carbonates des stromatolites sardes était en moyenne de 1,0 ‰ pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  et de -0,65 ‰ pour le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ . En supposant, en première approximation, que la précipitation ait lieu à l'équilibre avec un coefficient de fractionnement

de + 1‰ entre l'eau et la calcite pour l'oxygène (Kim et O'Neil, 1997) et le carbone (Emrich et al., 1970 ; Deines et al., 1974), alors la précipitation des carbonates s'est effectuée dans une eau avec un  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  autour de 0 ‰ et un  $\delta^{18}\text{O}$  autour de -1,5 ‰. Bien sûr, il s'agit d'une première approximation puisqu'en réalité, le fractionnement isotopique de l'oxygène entre l'eau et le carbonate de calcium est contrôlé par la température de précipitation et le fractionnement isotopique du carbone peut être influencé par des facteurs cinétiques (Turner, 1982).

Nous n'avons aucun échantillon d'eau dont le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  et le  $\delta^{18}\text{O}$  soient compatibles avec les valeurs attendues. Si l'on considère le  $\delta^{18}\text{O}$  uniquement, les carbonates se sont formés dans une eau, avec une composition proche de l'eau de Mari Ermi sud en avril 2021, ou encore proche de celle de l'eau de mer ( $\delta^{18}\text{O} = -1,5$  ‰). Cela signifierait que les carbonates se sont formés en début de séquence évaporitique, ce qui est compatible avec les modèles d'Hardie et Eugster (1970). En revanche, au mois d'avril, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  mesuré est autour de -10 ‰, ce qui est incompatible avec la valeur de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  attendue. Maintenant, si l'on considère uniquement le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ , alors les carbonates se sont formés dans une eau, avec une composition proche de l'eau de Mari Ermi nord en octobre 2021. Cela signifierait que les carbonates se forment en fin de séquence évaporitique ce qui est moins compatible avec le modèle d'Hardie et Eugster (1970). Au mois d'octobre, à Mari Ermi nord, le  $^{18}\text{O}$  est autour de 0 ‰ ce qui ne correspond pas dans l'idéal à la valeur attendue mais qui n'est pas, dans l'absolu, une valeur trop éloignée. Cependant, nous choisissons de prendre plutôt en considération le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau pour déterminer la période de formation des carbonates, ceci du fait, de la cohérence avec le modèle d'Hardie et Eugster.

Le fait que nous n'enregistrons pas dans les carbonates, la composition isotopique du DIC, signifie peut-être qu'il existe des variations locales du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  très importantes notamment au sein des tapis microbiens, où se fait la précipitation des carbonates. En effet, une augmentation locale du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ , due à des processus biologiques peut survenir dans les tapis microbiens où se fait la minéralisation (Sumner, 2001 ; Léveillé et al., 2007 ; Brady et al., 2010 ; Birgel et al., 2015). Plus précisément, la fixation microbienne du  $\text{CO}_2$  et la conversion du carbone organique en  $\text{CO}_2$  peuvent produire des variations mesurables de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  dans l'environnement du tapis microbien. La modélisation de la diffusion proposée par Sumner (2001), montre que d'importants décalages isotopiques peuvent se développer à l'intérieur du tapis et dans la couche limite de diffusion lorsque la fixation du  $\text{CO}_2$  est rapide et prolongée pendant plusieurs heures.

Les carbonates qui précipitent pendant la fixation rapide du CO<sub>2</sub> peuvent donc préserver ces décalages isotopiques d'origine microbienne.

Si nous repartons de notre hypothèse initiale, nous avons supposé que la précipitation des carbonates avait lieu au début de la séquence évaporitique soit quand le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  de la lagune était aux alentours de -10,8 ‰. Or, nous avons vu qu'à cette même période, la valeur attendue pour le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  était autour de 0 ‰. Cela signifie que l'on a un enregistrement en <sup>13</sup>C, de plus de + 10 ‰, dans les carbonates stromatolitiques de Mari Ermi. C'est un enrichissement très important qui diffère des +3 ‰, +4 ‰ reportés dans la littérature (Brady et al., 2010 ; Birgel et al., 2015). Toutefois, Birgel et al., (2015) reportent des valeurs similaires avec des enrichissements en <sup>13</sup>C allant jusqu'à +16 ‰ dans des stromatolites de Lagoa Salgada (Brésil). C'est un exemple particulièrement intéressant puisque Lagoa Salgada fait partie des environnements lagunaires côtiers, avec un régime hydrologique proche de celui de Mari Ermi (cf. **Chapitre 1**, section **1.2.2**).

Il existe une très faible variabilité entre le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carb}}$  des lamines claires et celui des lamines sombres, suggérant que les lamines claires et sombres se forment dans des eaux avec des compositions proches. Une hypothèse pourrait être que les lamines claires et sombres se forment successivement, années après années, toujours à la même période. Cependant, les analyses statistiques montrent qu'il existe une variabilité entre le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  des lamines sombres et celui des lamines claires, plus significative que pour le  $\delta^{18}\text{O}_{\text{Carb}}$ . Plus précisément, il existe un faible enrichissement en <sup>13</sup>C d'environ + 2‰ pour les lamines claires. Pour expliquer ces variabilités, nous pouvons suggérer que d'une saison à l'autre, le  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  local est affecté par différents paramètres entraînant des variations  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  dans les lamines sombres. Par exemple, l'incursion d'eau douce (eau de pluie ou eau souterraine) peut affecter l'équilibre des nutriments dissous (P, N) et/ou des métaux-traces (par exemple, Zn, Mn), ce qui peut en retour affecter la composition isotopique du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ .

Nous pourrions également proposer une seconde hypothèse concernant la temporalité de formation des lamines. En effet, si nous supposons qu'un doublet lamine claire/lamine sombre se forme simultanément à l'échelle d'une année alors pouvons prévoir des variations locales du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$  à l'échelle du tapis microbien, qui se retranscrivent *in fine*, dans les variations du  $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$  des lamines claires et sombres. Pour aller encore plus loin, nous pourrions suggérer que dans les lamines sombres, l'enrichissement en <sup>13</sup>C est moins important du fait, qu'en plus de

---

l'activité métabolique de photosynthèse, il y ait une contribution de l'activité métabolique hétérotrophe provenant de la dégradation de la matière organique et entraînant un apport de CO<sub>2</sub> appauvri en <sup>13</sup>C.

### 3.5 Conclusion

Le régime hydrologique de Mari Ermi est complexe et n'a pas totalement été élucidé. Néanmoins, pour la première fois, la chimie des eaux a été suivie dans le temps, ce qui nous a permis de proposer de nouvelles pistes, pour mieux contraindre le régime hydrologique de Mari Ermi. Nous avons défini les lagunes de Mari Ermi comme appartenant à un régime schizohalin, *i.e.* variant entre hyposalinité et hypersalinité et nous avons mis en évidence l'apport d'au moins une source d'eau douce en plus de l'influence marine. Les phénomènes d'évaporation *vs* remise en eau des lagunes ont également été chimiquement caractérisés. À partir de modèles de précipitation lors de séquences évaporitiques, déjà établis dans la littérature, nous avons discuté de la minéralogie potentielle des stromatolites de Mari Ermi, ainsi que de la temporalité de leur formation, si celle-ci était uniquement contrôlée par des facteurs abiotiques. Nous avons prédit des phases carbonatées de type calcite, avec potentiellement différentes teneurs en Mg ainsi que des sulfates de calcium de type anhydrite. La comparaison de la minéralogie prédite et celle observée sera discutée dans le chapitre suivant. Nous avons également supposé que, si l'accrétion stromatolitique avait lieu à l'échelle d'une année, alors les phases carbonatées pourraient se former de fin mars à juin, alors que les phases sulfatées surviendraient en fin de séquence évaporitique, là où le taux d'évaporation est le plus élevé (entre 8 et 10).

Dans un modèle de formation abiotique, les signatures isotopiques enregistrées dans les carbonates n'ont pas permis de confirmer nos prédictions sur la temporalité de formation des stromatolites. En revanche, nous supposons que ces signatures isotopiques sont influencées par la biologie, notamment par des activités métaboliques caractéristiques des tapis microbiens. Elles sont donc de potentiels marqueurs de formation biogénique des carbonates dans les stromatolites sardes.

### 3.6 Perspectives

Dans ce chapitre, nous avons commencé à bâtir un modèle physico-chimique pour comprendre la formation des stromatolites mais celui-ci doit être complété. Sur une échelle croissante de faisabilité, la première action à mener serait de prélever (ou de solliciter nos collaborateurs sardes) pour obtenir davantage d'échantillons d'eau, notamment pour les mois manquants, *i.e.* entre juin et octobre et entre fin octobre et décembre. La plupart des échantillons provenaient de Mari Ermi sud, mais il serait également extrêmement intéressant de pouvoir suivre l'évolution chimique et isotopique de Mari Ermi nord et de les comparer à celles de Mari Ermi sud. Cela nous permettrait de confirmer ou non, l'hypothèse selon laquelle l'influence marine est plus importante à Mari Ermi nord qu'à Mari Ermi sud. Une expérience simple à faire serait de prélever un même jour, un échantillon provenant de MEN et un autre de MES, d'analyser leur composition chimique et de calculer leur facteur de concentration (FC) par rapport à l'eau de mer (également prélevée le même jour). L'idée serait de répéter ces prélèvements ponctuels, deux ou trois fois, au cours de la période hivernale. Comme nous l'avons dit dans la discussion, du fait que Mari Ermi nord soit située au niveau de la mer, nous nous attendons à ce que les inclusions marines soient plus fréquentes à l'inverse de Mari Ermi sud où les inclusions marines ne surviendraient uniquement que lors de tempêtes. Supposons qu'il n'existe pas d'infiltration marine, sous le cordon dunaire, permettant d'alimenter en eau de mer MES et MEN, alors nous pourrions nous attendre à ce que, durant la période hivernale, la composition chimique de MEN soit plus proche de celle de l'eau de mer que MES.

Une deuxième action, que nous n'avons pu mettre en place du fait de l'impossibilité de se rendre sur le terrain, pendant deux ans, est d'effectuer des mesures physico-chimiques *in situ* dans les biofilms de Mari Ermi. En effet, il existe une relation réciproque entre la stratification du biofilm et les micro-organismes qui occupent ces strates ; (i) les gradients physico-chimiques qui s'établissent dans le biofilm influencent la distribution des micro-organismes en fonction de leurs préférences d'habitat et (ii) les micro-organismes modifient les paramètres chimiques du biofilm par le biais de leur productions métaboliques (Canfield et Farquhar, 2009). Par exemple, Visscher et al., (1998) ont établi une stratification des micro-organismes en fonction du gradient rédox dans des biofilms des Bahamas, passant de conditions oxygènes à anoxiques avec une jonction variable à l'échelle d'une journée. C'est pourquoi, nous pourrions également, grâce à des microsondes encapsulées, suivre l'évolution du pH, de la teneur en O<sub>2</sub>, en HS<sup>-</sup> sur

une période de temps de quelques jours et de quelques nuits. Idéalement, ces mesures se feraient à différentes périodes de l'année : durant la remise en eau de la lagune (entre novembre et mars), durant le début d'évaporation où les carbonates peuvent précipiter (entre fin mars et juin) et durant la période d'évaporation intense où les sulfates peuvent précipiter (entre juin et octobre). Outre de caractériser l'activité métabolique présente à Mari Ermi, cela nous permettrait en plus, d'observer ou non l'interdépendance entre l'activité métabolique et son environnement.

Les premières analyses métagénomiques effectuées sont une bonne base pour illustrer la diversité moléculaire présente associée aux stromatolites de Mari Ermi durant la période « sèche » et « humide ». Cependant, des analyses supplémentaires à des résolutions phylogénétiques plus fortes devront permettre de mettre en évidence des métabolismes dominants en lien en fonction des périodes.

Toutes ces perspectives sont autant de clés supplémentaires pour mieux décrypter les processus de biominéralisation pouvant avoir lieu à Mari Ermi notamment dans un type d'environnement qui semble différer des modèles déjà établis dans la littérature.



## 4 Caractérisation minéralogique multi-échelles des stromatolites : détermination de la nature chimique et minéralogique des lamines jusqu'à l'échelle nanométrique.

---



## 4.1 Introduction

Dans le **chapitre 3**, nous avons étudié les compositions chimiques des eaux de Mari Ermi au cours du temps, ce qui nous a permis de discuter des conditions géochimiques permettant la croissance des stromatolites de Mari Ermi. Une réflexion a été initiée sur l'évolution chimique des eaux des lagunes de Mari Ermi et la prédiction des phases minérales dans ces stromatolites. Pour rappel, quelle que soit la saison, les eaux de Mari Ermi sont sursaturées par rapport à la calcite et l'aragonite et à la monohydrocalcite (ACC1) et sont saturées par rapport à l'anhydrite en octobre. De plus, les variations de la teneur en Ca et en  $\text{HCO}_3$  en fonction du temps sont compatibles avec la précipitation de carbonates de calcium. Nous avons donc supposé que des carbonates de calcium, potentiellement magnésiens et des sulfates de calcium pouvaient précipiter, respectivement en début et fin de séquence évaporitique. Un premier objectif de cette étude a donc été de vérifier la minéralogie des phases majeures composant les stromatolites de Mari Ermi par des approches DRX, FT-IR et chimie du solide. Puis, nous nous sommes demandé si les variations environnementales, discutées dans le **chapitre 3**, pouvaient avoir un impact sur la nature des phases minéralogiques se formant au fil du temps dans les stromatolites de Mari Ermi. Une question sous-jacente était de savoir s'il existait un lien entre la nature des lamines (claires ou sombres) des stromatolites et leur composition chimique et minéralogique. Pour cela, il nous a fallu caractériser la minéralogie de ces objets de manière résolue spatialement.

Hormis les approches nécessitant une source de rayonnement synchrotron et donc avec un accès limité, il est difficile de trouver des outils analytiques fournissant des informations minéralogiques à haute résolution spatiale, de manière quantitative et sur de grandes surfaces. Une des techniques répondant à ces critères est la microscopie électronique à balayage combinée à la spectrométrie X à dispersion d'énergie (MEB-EDXS). Cependant, lorsque l'on étudie les microbialites, l'imagerie MEB est souvent utilisée, notamment pour caractériser les assemblages micro-organismes/minéraux (Couradeau et al., 2013 ; Zeyen et al., 2015 ; Wacey et al., 2018 ; Eymard et al., 2020), mais les informations fournies par les analyses EDXS restent généralement incomplètement exploitées. Elles sont, le plus souvent, sous forme de données qualitatives du fait d'une statistique trop faible pour aboutir à des données quantitatives. Cela est en partie dû à des limitations technologiques du détecteur EDS, ce dernier ne permettant

pas, dans un temps d'acquisition raisonnable (moins de 60h d'acquisition par exemple) d'obtenir une cartographie avec un taux de comptage suffisant sur une zone de  $1 \text{ mm}^2$  (au moins 10 000 coups seconde (cps) pour un spectre EDX par pixels). Cependant, dans notre étude, nous avons pu utiliser un détecteur annulaire Quantax Flatquad (Bruker), disposant d'un grand angle solide, permettant d'avoir un taux de comptage, multiplié à peu près par 70 par rapport à un détecteur EDS classique. Cela a permis l'acquisition rapide de grandes cartes hyperspectrales (par exemple, 1400 x 1050 pixels en 14 heures) avec une statistique de comptage pratique de 15 000 cps par spectre EDXS sur un seul pixel. La cartographie de grande zone entraîne un nombre total EDXS conséquent (par exemple, 1 470 000 de spectres sur une zone de 1400 x 1500 pixels) mais il est crucial de garder tous ces spectres afin de conserver la résolution spatiale de l'information. La quantification spectres EDXS est essentielle pour retrouver l'information minéralogique. Pour cela, des méthodes de quantification poussées sont appliquées afin de remonter à la concentration relative de chaque élément scanné pour un pixel. Ces méthodes de quantification reposent sur l'utilisation d'algorithmes de correction de la matrice permettant de 1) soustraire le bruit de fond et 2) modéliser, pour chaque élément, la production de rayons X caractéristiques en fonction de la profondeur de l'échantillon et de leur adsorption ultérieure lorsqu'ils se déplacent vers la surface. Ces algorithmes sont également capables de corriger les effets liés à l'inclinaison de l'échantillon et donc de s'affranchir des effets de surface. Les spectres quantifiés obtenus peuvent être portés par des phases pures ou par des phases en mélange. À cause de ces phases en mélange et de la difficulté à déconvoluer les variations des compositions chimiques des phases pures en mélange, il est notoirement difficile d'identifier un minéral sur la base de l'EDXS.

Pourtant, dans le cadre d'études en sciences des matériaux et en géosciences, des programmes informatiques permettant de récupérer des cartes minéralogiques quantitatives à partir de cartes chimiques MEB-EDXS, ont été développés (Prêt et al., 2010a, b ; Haberland et al., 2015 ; Graham et Keulen, 2019). Ces outils reposent sur des techniques modernes de traitement d'image et permettent de fournir des mesures quantitatives de l'hétérogénéité spatiale des roches. L'une de ces approches, développée par Dimitri Prêt, permet l'obtention de cartographies minéralogiques à partir de cartes chimiques, préalablement quantifiées. Cette approche consiste à 1) évaluer l'existence de mélanges sur la base de diagrammes ternaires (compositions évidentes des pixels situés le long de lignes sur les projections et 2) identifier les

pixels qui composent les phases pures de façon à pouvoir regrouper ces pixels et calculer une formule structurale.

L'approche développée par Prêt et al. (2010a, b) a été validée à de nombreuses reprises. Elle a notamment permis d'identifier correctement une quinzaine de minéraux (et à détecter certains minéraux inconnus) dans des matériaux divers tels que la référence mondiale de l'argile compactée destinée au stockage des déchets nucléaires (Prêt et al., 2010a, b) et les matériaux cimentaires (Gaboreau et al., 2017), où une littérature étendue, combinant toutes les méthodes en vrac connues, est disponible.

Pour toutes ces raisons, nous avons voulu, pour la première fois, intégrer ce développement méthodologique sur des objets géobiologiques. Nous avons aussi utilisé des techniques supplémentaires avec des résolutions spatiales plus élevées et des informations complémentaires comme la microscopie électronique à transmission (MET) combinée à la diffraction électronique en aire sélectionnée (SAED) afin d'affiner l'identification de divers polymorphes (*e.g.* calcite vs aragonite) ne pouvant être distingués que de manière très indirecte sur la base de leur stœchiométrie.

Dans cette étude nous avons donc combiné caractérisation minéralogique multi-échelle des stromatolites de Mari Ermi (DRX, FT-IR, chimie du solide, micro-fluorescence X ( $\mu$ XRF) et cartographies minéralogiques obtenues à partir d'analyses MEB-EDXS, FIB, MET-SAED). Sur la base de ces résultats, nous avons pu discuter des processus qui ont affecté leur formation, en particulier en suggérant comment ces processus peuvent être liés à des facteurs biologiques et environnementaux. Ce travail a abouti à la publication en août 2022 d'un article publié dans la revue *Chemical Geology*, intitulé « Mapping mineralogical heterogeneities at the nm-scale by scanning electron microscopy in modern Sardinian stromatolites : Deciphering the origin of their laminations » et inclus dans ce chapitre.

## 4.2 Article publié dans la revue *Chemical Geology*

### 4.2.1 Résumé de l'article et principaux résultats

Les analyses de DRX, FT-IR, ICP-AES,  $\mu$ XRF et MEB-EDXS montrent toutes, que la calcite magnésienne est la principale phase minérale composant les stromatolites de Mari Ermi. Les analyses globales concordent avec les analyses spatialement résolues sur un rapport moyen Mg/Ca c.a. 0,1 – 0,2 dans la calcite. Ce rapport est caractéristique des calcites hautement magnésiennes (HMC). Cependant, à l'échelle micrométrique, les analyses  $\mu$ XRF et SEM-EDXS montrent qu'il n'y a pas qu'une seule phase de calcite avec une seule valeur Mg/Ca, mais plusieurs phases carbonatées avec des rapports Mg/Ca variables. Dans une zone de 320 x 240  $\mu\text{m}^2$ , nous avons cartographié des grains de calcite faiblement magnésiens (LMC) avec un rapport Mg/Ca inférieur à 0,05 et, une solution solide de calcite à forte teneur en Mg avec un rapport Mg/Ca variant continuellement de 0,05 à 0,43. Ces calcites avec divers rapports Mg/Ca ne sont pas distribuées au hasard. À l'échelle globale, la mosaïque MEB-EDXS ainsi que les cartes  $\mu$ -XRF mettent en évidence que la distribution des lamines est corrélée avec les variations de Mg/Ca : la calcite dans les lamines claires a une teneur en Mg plus élevée que la calcite dans les lamines sombres. Plus précisément, les calcites avec la plus haute teneur en Mg sont distribuées autour des microfossiles, présents dans les lamines claires.

En dehors des calcites magnésiennes, des phases détritiques sont présentes aussi mais ne représentent environ qu'1% de la surface de la zone cartographiée. De plus, en cohérence avec les analyses MEB-EDX montrant des phases pauvres en Mg et relativement enrichies en Sr, les analyses FT-IR et MET-SAED ont mis en évidence la présence d'aragonite. Enfin, le couplage de cartographies minéralogiques hautement résolues (taille de pixel de 70 nm) avec des analyses FIB-MET a aussi permis de confirmer la présence de talc cristallisé authigène (ca 0,02% de la surface scannée) ainsi que des gains nanométriques d'anhydrite (0,04% de la surface scannée). Une phase supplémentaire de sulfate de calcium, interprétée au mieux comme de la S-apatite (cesanite), a été détectée par MEB-EDXS (0,2 % de la surface scannée).

Nous avons interprété l'ensemble de cette minéralogie en proposant deux hypothèses : la première hypothèse avancée est que les phases formées sont dues à une variation de chimie de l'eau, induite par l'évaporation. En effet, l'évaporation conduit à des variations du rapport Mg/Ca de l'eau pouvant induire des variations du rapport Mg/Ca dans la calcite formée à une

échelle globale, ainsi que la précipitation d'aragonite pour des rapports Mg/Ca supérieurs à 5 (Berner, 1975). De même les phases anhydrite et S-apatites ont été interprétées comme produit de l'évaporation, commençant à se former lorsque tous les ions  $\text{HCO}_3^-$  ont été consommés. Une seconde hypothèse avancée est que ces variations locales du rapport Mg/Ca dans les calcites sont dues à un contrôle biologique de la minéralogie des carbonates. En effet, plusieurs études expérimentales ont montré qu'un certain nombre de molécules organiques, dont plusieurs formées et excrétées par les bactéries, pouvaient induire un enrichissement de calcites précipitées en Mg par rapport à ce qui serait attendu d'après le rapport Mg/Ca de l'eau environnante.

## 4.2.2 Manuscrit de l'article

Chemical Geology 609 (2022) 121059



Contents lists available at ScienceDirect

Chemical Geology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chemgeo](http://www.elsevier.com/locate/chemgeo)

## Mapping mineralogical heterogeneities at the nm-scale by scanning electron microscopy in modern Sardinian stromatolites: Deciphering the origin of their laminations

Juliette Debric<sup>a</sup>, Dimitri Prêt<sup>b</sup>, Nicolas Menguy<sup>a</sup>, Imène Estève<sup>a</sup>, Pierre Sans-Jofre<sup>a</sup>, Jean-Paul Saint Martin<sup>c</sup>, Karim Benzerara<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Sorbonne Université, Muséum National d'Histoire Naturelle, CNRS, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (IMPMC), Place Jussieu, 75005 Paris, France

<sup>b</sup> Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP), Université de Poitiers, UMR CNRS 7285, rue Albert Turpaud, Poitiers, France

<sup>c</sup> Centre de recherche en paléontologie de Paris (CR2P) UMR CNRS 7207, Muséum National d'Histoire Naturelle, Sorbonne Université, 8 rue Buffon, 75005 Paris, France

### ARTICLE INFO

Editor: Michael E. Boettcher

#### Keywords:

Stromatolites  
Evaporites  
Mineral mapping  
High magnesian calcite  
Laminations  
X-ray fluorescence

### ABSTRACT

Stromatolites are found throughout the geological record and have received strong attention because they provide precious information about paleoenvironments and microbial paleobiodiversity. However, while this information is interpreted based on our knowledge about modern analogs, the latter remains incomplete. Here, we investigated the environmental and biological information recorded by modern stromatolites in Mari Ermi, a coastal pond in Western Sardinia that experiences severe seasonal evaporation and large salinity variations. For this purpose, we combined a variety of analytical tools, allowing to characterize the mineralogical composition of these stromatolites from the bulk, centimeter-scale to the nanometer-scale and assess the spatial distribution of the mineral phases. In particular, we used quantified x-ray elemental maps provided by energy dispersive x-ray spectrometry analyses coupled with scanning electron microscopy (SEM-EDXS). These maps were processed using an innovative data treatment allowing (i) mineral phase recognition, (ii) assessment of the mineral formula of each phase and (iii) mapping of their spatial distribution with a spatial resolution down to a hundred nanometers. Overall, this proved as an efficient approach to unravel mineralogical heterogeneities and detect informative mineral phases overlooked by bulk analyses. Mari Ermi stromatolites were mostly composed of magnesian calcite with an average Mg/Ca of ~0.1–0.2 as indicated by bulk analyses. However, microscopy observations revealed variable Mg-contents of calcite with a specific distribution, the most Mg-enriched calcites (Mg/Ca up to ~0.5) being systematically distributed around microbial remnants. Moreover, Mari Ermi stromatolites comprised an alternation of Mg-rich and Mg-poorer laminae, which paralleled the varying enrichment in microbial remnants of alternating laminae. The combination of SEM-EDXS, focused ion beam milling and transmission electron microscopy allowed to detect several minor phases, hardly or not detected at all by bulk analyses, such as aragonite, a variety of clay minerals as well as a gypsum-like phase. An additional calcium sulfate phase, best interpreted as S-apatite (cesanite), was detected by SEM-EDXS. Overall, this mineral assemblage and its definite spatial distribution record only discrete stages of the evaporation of Mari Ermi lagoon. Moreover, microorganisms seem to have a major control on Mg substitution in calcite. As a result, the dynamics of microbial populations, influenced by the salinity variations induced by evaporation in the lagoons, generates the formation of laminae in Mari Ermi stromatolites.

Abbreviations: SEM-EDXS, energy dispersive x-ray spectrometry analyses coupled with scanning electron microscopy;  $\mu$ -XRF, micro-x-ray fluorescence; XRD, x-ray diffraction; FTIR, Fourier transform infrared; MEN, Mari Ermi North; MES, Mari Ermi South; ICP-AES, inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy; BSE-SEM, Back-scattered electron scanning electron microscopy; FIB, Focused ion beam; TEM, Transmission electron microscopy; STEM, scanning transmission electron microscopy; SAED, Selected area electron diffraction; LOI, loss of ignition; LMC, low magnesian calcite; HMC, high magnesian calcite; VHMC, very high magnesian calcite; APS, aluminum-phosphate-silicate.

\* Corresponding author at: IMPMC, Case 115, 4 Place Jussieu, 75005 Paris, France.  
E-mail address: [karim.benzerara@sorbonne-universite.fr](mailto:karim.benzerara@sorbonne-universite.fr) (K. Benzerara).

<https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2022.121059>

Received 31 March 2022; Received in revised form 9 August 2022; Accepted 10 August 2022

Available online 18 August 2022

0009-2541/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.



## 1. Introduction

Stromatolites are macroscopically laminated benthic microbial deposits formed by diverse microbial communities (Riding, 1991). They are particularly emblematic geobiological materials since they are considered as the oldest evidence of life-mineral interactions, dating up to 3.5 Gyrs ago (Allwood et al., 2006; Dunlop et al., 1978; Walter, 1970). They are found throughout the geological record and have received substantial attention because they potentially provide precious information about microbial paleobiodiversity (Forel, 2013; Forel et al., 2021; Hohl and Viehmann, 2021; Ribbert and Piecha, 2014) and paleoenvironments (Aubineau et al., 2019; Bourillot et al., 2020; Mary and Woods, 2008; Petrash et al., 2016). Yet, assessing how this information is recorded in the chemical, mineralogical, and textural composition of these rocks as well as their microfossil content is not straightforward (Benzerara et al., 2014). First, there is a need to assess the taphonomic processes that affected these more or less ancient materials (De Boever et al., 2017). Additionally, the study of present-day analogs appears crucial to understand the relationships between the mineralogical and chemical composition of stromatolites, their micro- and macro-textures and the biological and environmental conditions prevailing where these microbialites form (Zeyen et al., 2021, 2017). For example, several authors (Al Disi et al., 2021; Ries, 2010; Ries et al., 2008) proposed that the nature of the carbonate mineral phases composing modern stromatolites (e.g., Mg-calcite, aragonite and/or hydromagnesite) is primarily determined by the aqueous dissolved (Mg/Ca) ratio in the solution where they form. Lately, Zeyen et al. (Zeyen et al., 2021) further suggested that water in which stromatolites form, may need to be saturated with an amorphous calcium carbonate (ACC) phase that would precipitate as a precursor phase before transforming to monohydrocalcite, Mg-calcite or aragonite depending on the (Mg/Ca)<sub>aq</sub>. However, the diversity of these mineral phases, and how they may record environmental variations within one single microbialite remains to be further documented.

Modern microbialites show a great variety of mineralogical and chemical compositions and diverse degrees of preservation of microorganism-mineral assemblages (Couradeau et al., 2013; Eymard et al., 2020; Wacey et al., 2018; Zeyen et al., 2015). Mineralogical assemblages are most often fine-grained and chemical variations can therefore occur at a fine spatial scale. Diverse analytical techniques such as x-ray diffraction (XRD) or Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy have been used to identify the different mineral phases composing stromatolites. However, it appears challenging to find microanalytical tools that provide

mineralogical information at a high spatial resolution, in a quantitative manner and over large areas, which is essential to assess these microorganism-mineral assemblages with statistical significance. Among the state-of-the-art analytical techniques able to generate accurate and precise mineralogical information,  $\mu$ -XRD appears interesting (Flemming, 2007). However, despite ongoing developments to achieve nm-scale resolutions (e.g., Elmaleh et al., 2018), the spatial resolution of this technique often remains limited to the micrometer-scale, and there is a need to complement the obtained structural information by additional chemical information. Raman microspectroscopy has been increasingly used to generate maps of mineral phases with a spatial resolution better than 1  $\mu$ m and assess potential correlations between some phases and specific microorganisms in natural communities (Gérard et al., 2013). However, the occurrence of high-intensity fluorescence caused by laser excitation in biogenic carbonates sometimes overwhelms the Raman signal, hindering the identification of individual Raman-active vibrational modes (Guido et al., 2019; Sánchez-Beristain et al., 2010). Micro-X-ray fluorescence (hereafter  $\mu$ -XRF) is another powerful tool that can rapidly produce bulk elemental maps with a spatial resolution better than 1  $\mu$ m, allowing to visualize and quantify chemical heterogeneities within a sample (Flude et al., 2017; Winter and Claeys, 2017). Commonly,  $\mu$ -XRF facilities are available on synchrotron light sources (Aubineau et al., 2019; Sancho-Tomás et al., 2020, 2018), but with limited access. However, the recent developments by Kaskes et al. (2021) demonstrate the potential of high-resolution, qualitative to semi-quantitative element mapping based on XRF maps with lab-based equipment, opening promising perspectives for more routine analyses.

By contrast, scanning electron microscopy combined with energy dispersive X-ray spectrometry (SEM-EDXS) appears as a widespread laboratory-based technique, which allows assessing chemical heterogeneities down to the scale of a few tens of nanometers. It is relatively simple to use, and the sample preparation is limited compared with some other techniques, mostly involving polishing and sputtering or evaporation coating. While SEM is very often used for the study of stromatolites, the information provided by EDXS analyses usually remains incompletely exploited, mostly as qualitative data. Yet, several analytical tools have been developed to retrieve quantitative mineralogical maps from SEM-EDXS maps (Graham and Keulen, 2019; Haberlah et al., 2015; Prêt et al., 2010a). These tools have been applied in the context of material science and geoscience studies (Cosenza et al., 2019; Gaboreau et al., 2017), but not on objects such as stromatolites, to our knowledge. The application of these tools to

stromatolites might be challenging. Indeed, when the primary electron beam hits a sample, X-rays are generated from an interaction volume. The size of this interaction volume is a function of the primary energy of the beam, the mean atomic number of the sample and its density. For instance, for a geological sample containing silicates, interaction volumes could reach 2–5  $\mu\text{m}^3$ , with a 20 keV primary electron beam (Graham and Keulen, 2019). Therefore, at such an energy, it may be impossible to accurately identify and map mixtures of very fine-grained phases, which are common in stromatolites. Thus, decreasing the energy of the beam becomes crucial to resolve and visualize submicrometer-sized phase assemblages with an unprecedented accuracy.

Here, we used a combination of analytical tools, including SEM-EDXS, to map from the cm-scale down to the submicrometer scale the mineralogical composition of modern stromatolites collected in the coastal ponds of Mari Ermi, Western Sardinia. This provides a deep insight into the chemical and mineral heterogeneities occurring in stromatolite laminations, the origin of which remains a matter of intense discussion. The morphological and textural description of these stromatolites at a macroscopic and mesoscopic scale has been provided by Saint Martin and Saint Martin 2015. They form in a saline to hypersaline environment where conditions are extremely fluctuating seasonally with almost complete drying of the pond in the summer and flooding during the fall and winter. One primary question was whether these environmental variations could impact the nature of the mineral phases forming over time in the stromatolites. For that purpose, we conducted a multi-scale mineralogical characterization of these stromatolites and discussed the complex processes that affected their formation, in particular inferring how they may be related to biological and environmental drivers.

## **2. Materials and methods**

### *2.1. Geological setting and samples*

Mari Ermi is located on the west coast of Sardinia in the Sinis peninsula (Fig. 1a). Mari Ermi ponds (Mari Ermi North (MEN) and Mari Ermi South (MES)) are two water bodies measuring few hundreds of meters in length, stretching parallel to the shore and separated from each other by a transversal land strip (Fig. 1b). Saint Martin and Saint Martin (2015 provided an extensive description of the regional setting. The microbialites have a cerebroid pustular aspect (Fig. 1c). They are abundant on and close to the shores of the ponds and become scarce in their center. During the dry season, they become subaerial, whereas they are immersed and covered by green

microbial biofilms during the wet season. These microbialites are macroscopically laminated and are therefore defined as stromatolites. The laminated, microbialitic part grows on hard substrates, such as limestone pebbles. In cross-sectioned samples, one can clearly distinguish a non-stromatolitic part (the substrate) from the stromatolitic part accreting on top of it (Fig. 1d). Samples were observed *in situ* and collected in September 2016, when ponds were completely dried as well as in June 2018, when ponds were filled with water.

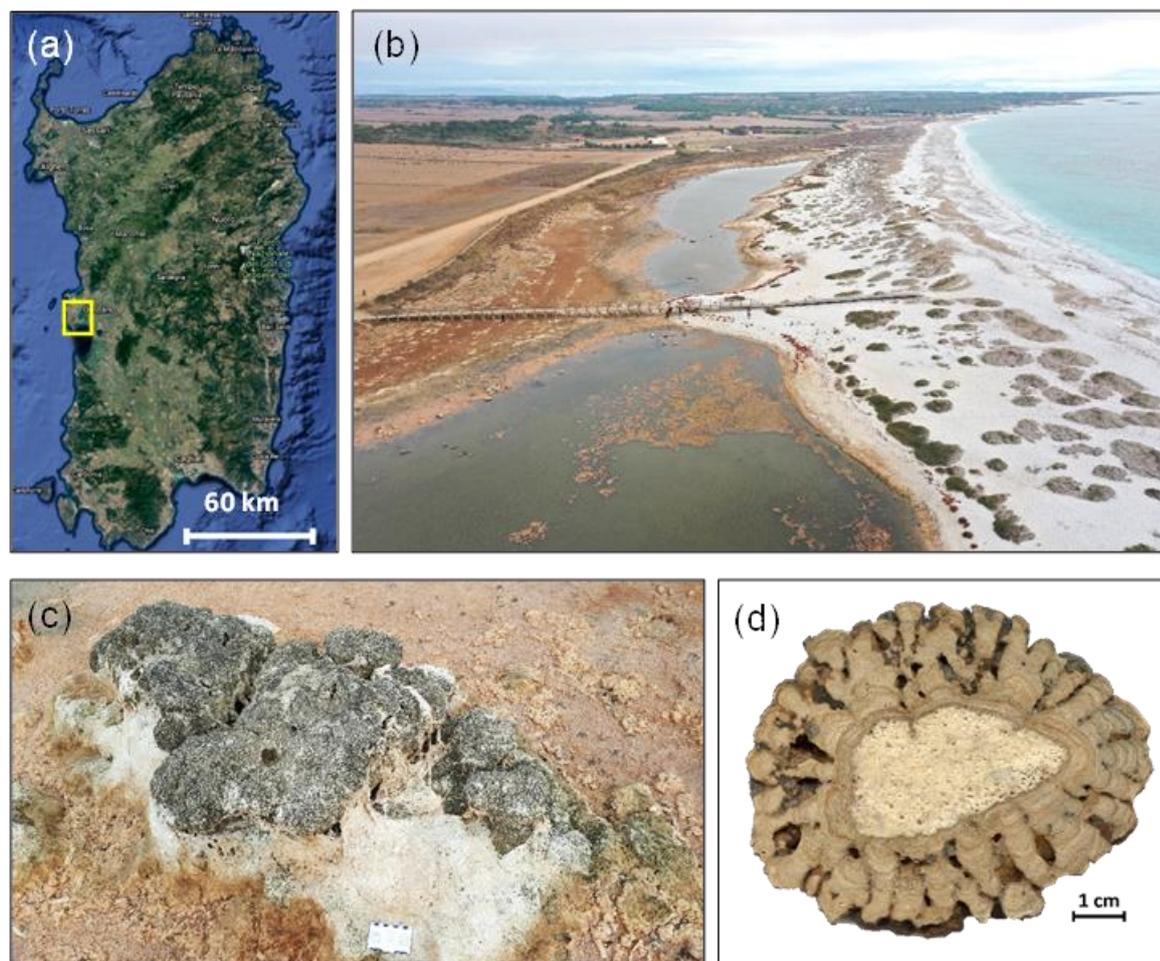


Fig. 1 Mari Ermi geographical location and microbialite features. (a) Satellite image of Sardinia. The yellow square indicates Mari Ermi coastal ponds. (b) Drone picture of Mari Ermi North. Note that the coastal ponds (to the left) are separated by a land strip from the Mediterranean Sea. (c) Macrofacies Mari Ermi stromatolites. (d) Polished slab section of Mari Ermi stromatolite.

## 2.2. Bulk chemical & mineralogical characterization

The stromatolitic part was hand-separated from the substrate beforehand. About 10 g of the stromatolitic part was finely ground in ethanol and homogenized in an agate mortar. Aliquots of the same powdered sample were used for the different bulk chemical analyses, i.e., X-ray diffraction (XRD) Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES).

### 2.2.1. Bulk chemical analyses

Chemical compositions (in oxide wt%) of major and minor elements were measured by the *Service d'Analyses des Roches et Minéraux* (SARM, Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques, Nancy, France). Major element analyses were performed using an ICP-AES ICap 6500 (Thermo Fischer) after alkali fusion of rock samples with LiBO<sub>2</sub> followed by dissolution in HNO<sub>3</sub>. The precision of the measurements was between 1% and 25%, depending on their concentrations (Table S1).

### 2.2.2. X-ray diffraction

The bulk mineralogical composition of stromatolites was determined by XRD. About 1 g of each stromatolite sample was deposited on an aluminum sample holder. XRD measurements were performed using a Panalytical X'Pert diffractometer equipped with a cobalt anode (Co-K $\alpha$ ). Data were recorded at 40 kV and 40 mA in the continuous-scan mode between 5 and 80° (2 $\theta$ ) with a step of 0.016° and a total counting time around 4 h. Diffractograms were analyzed using the PANalytical X'Pert Highscore software for background subtraction, peak finding, and matching with XRD patterns of reference compounds. Reference patterns were obtained from the international crystal structure database (ICSD, Fachinformationszentrum Karlsruhe, Germany; US Institute of Standards and Technology, USA). Le Bail refinement was computed using the FullProf software and the following calcite cell parameters  $a = b = 4.9896 \text{ \AA}$  and  $c = 17.061 \text{ \AA}$  were implemented as initial parameters.

Mg substitution was assessed based on the calcite  $c$  parameter and the relationship derived by Dos Santos et al. (2017):  $c = -1.8603 \cdot x(\text{Mg}) + 17.061$ , where  $x(\text{Mg})$  is the molar fraction of Mg replacing Ca.

### *2.2.3. Fourier transform infrared spectroscopy analyses*

For FTIR spectroscopy analyses, 2.5 mg of stromatolite powder were mixed with 300 mg of potassium bromide (KBr) and ground together in an agate mortar. A KBr pellet was prepared for each sample using a vacuum press under 8 tons of pressure for 1 minute. Pellets were placed overnight in a drying oven (95 °C) to remove the adsorbed water vapor and were pressed a second time. Transmission spectra were recorded between 400 and 4000  $\text{cm}^{-1}$ , using a Nicolet 6700 FTIR spectrometer.

### *2.3. Petrographic thin section preparation*

Petrographic thin sections were prepared for light and electron microscopies. First, the stromatolite samples were cut in half using a circular saw. One half was embedded in a polyester resin (GBS1, Aeri SAS) under vacuum, then sawn, polished with alumina suspension (0.1  $\mu\text{m}$  grain size) and glued on a glass slide with Araldite (HUNTSMAN). Finally, it was thinned by polishing down to 30  $\mu\text{m}$  in thickness. The resin mainly contains C and O elements and possible N as amine groups in the resin hardener.

### *2.4. Light microscopy*

Petrographic thin sections measuring 30  $\mu\text{m}$  in thickness were observed using a Leica DM 2500P light microscope (IMPMC, Paris). One section was fully imaged in transmitted light using a macro-apotome Zeiss Axio Zoom.V16 motorized stereo microscope (Institut de Biologie Paris-Seine, Paris). This provided images at a 1000  $\times$  magnification (corresponding to  $\sim 1 \mu\text{m}/\text{pixel}$ ) over a large area.

### *2.5. X-ray fluorescence microscopy*

The spatial distribution of chemical elements was determined at the near surface of a non-embedded polished rock slab measuring 5 cm in thickness by micro X-ray fluorescence ( $\mu\text{XRF}$ ) using a Bruker M4 Tornado  $\mu\text{XRF}$  scanner (Bruker nano GmbH, Germany) at the Laboratoire Géoscience Océan (Laboratoire Bretagne Occitanie, Ifremer, Brest). The X-ray tube was a Rh anode operating at 599  $\mu\text{A}$  with an accelerating voltage of 50 kV. Chemical maps measured 1440 x 1820 pixels, with a pixel size of 40  $\mu\text{m}$ , and a dwell time of 6 ms. The individual  $\mu\text{XRF}$  pixel spectra were quantified by removing the background and applying a fundamental

parameter algorithm based on the Sherman equation (Sherman, 1955; Rousseau, 2013). As a standardless approach was used, the chemical maps were semi-quantitative with measured concentrations being proportional to the actual ones but with some potential absolute errors on some elements. A binning of 2 x 2 pixels (resulting in a pixel size of 80  $\mu\text{m}$ ) was used allowing to reach a signal-to-noise statistics satisfying for quantification, except for Mg for which a binning of 8 x 8 pixels was chosen, resulting in a pixel size of 320  $\mu\text{m}$ . Finally, all the semi-quantitative chemical maps were denoised to improve the signal-to-noise ratio, color encoded and sometimes histogram equalized to enhance the contrast (Russ, 1999) using an in-house *ImageJ* plugin.

## 2.6. Scanning electron microscopy

Petrographic thin sections were carbon-coated to make their surface conductive for electrons. They were fixed to an aluminum holder using copper tape. Petrographic thin sections were observed by scanning electron microscopy (SEM). Since they measure 30  $\mu\text{m}$  in thickness, only part of the thinned rock sample and not the underlying glass slide was probed by SEM-EDXS.

### 2.6.1. Back-scattered electron scanning electron microscopy (BSE -SEM) mosaics

A high resolution centimetric mosaic ( $3.46 \times 4.14 \text{ cm}^2$ ,  $231\ 000 \times 276\ 000$  pixels, pixel size of 150 nm), covering most of one stromatolite sample was built from 77 x 92 tiles. The total acquisition time was about 78 hours. Tiles were acquired using a SEM-FEG Zeiss Crossbeam Neon40 EsB) equipped with the Atlas5 module at IMPMC, with an acceleration voltage of 15 kV, a working distance of 12 mm and a dwell time of 3.0  $\mu\text{s}$  per pixel. The Atlas5 module allows the automatic acquisition of multi-detectors large mosaics within a correlative space, with an auto-focus and auto-stigmatism correction for each tile. The acquired mosaic is then stitched by an Atlas5 tool to reach perfect tiling.

### 2.6.2. SEM-EDXS quantitative chemical maps

The elemental composition and texture of the samples were studied using a JEOL JSM-7900F SEM-FEG equipped with a BRUKER Quantax FlatQuad annular EDXS detector at IC2MP. Acquisition parameters were selected to achieve (1) the best energy resolution (124 eV) of the EDXS detector, needed for an accurate deconvolution of interfering emission lines, (2) a high

X-ray counting statistics to allow a precise quantification of the maps and (3) optimize the spatial resolution. The hypermaps were performed with the following analytical conditions: an accelerating voltage of 5 kV, a probe current of 2.15 nA, a working distance of 10.9 mm, a dwell time per pixel of 35 ms and pixel sizes of 230/61 nm for large/small hypermaps with a live beam drift correction. The FlatQuad detector allows fast acquisition of large hyperspectral maps (e.g., 1400 x 1050 pixels in 14 hrs) with a convenient counting statistic of 15 kcps per EDXS spectrum on a single pixel. This is achieved based on a large solid angle of detection (~1 str) and a thin Mylar window allowing low energy X-ray detection. Moreover, the use of such an annular detector over the sample cancelled the effects of potential local relief at the surface of the sample which would otherwise induce well-known quantification errors (tilt effect, shadowing) if only one directional EDXS/WDS detector was used instead. The accelerating voltage was the most important parameter to tune because it controls the spatial resolution of the acquired image (Hombourger and Outrequin, 2013; Fournelle et al., 2016). Here, the diameter of the BSE and X-ray emission volumes is estimated to be smaller than 380 nm for calcite and 700 nm for resin at 5 kV on the basis of the Kanaya-Okayama equation (Kanaya and Okayama, 1972). By contrast, the probe diameter has a minor effect since it is smaller than the probed volume by several orders of magnitude. The probe diameter controls the spatial resolution of in-lens secondary electron images and has been estimated down to 5.8 nm for the acquisition parameters used. A specific library of standards with synthetic and natural oxides and silicates (calcite, apatite, albite, augite, celestine, diopside, forsterite, garnet, orthose, TiO<sub>5</sub>, almandine, and anhydrite) were acquired using the same parameters. Then, each EDXS spectrum for each pixel was quantified using the ESPRIT, Bruker software based on the following procedure: 1) X-ray background generated by Bremsstrahlung was modeled accounting for X-ray absorption by the sample/carbon coating layer / detector window (Zanetta et al., 2019) and removed to obtain unbiased elemental maps in comparison with raw count maps (Donovan et al., 2021) 2) Quantification by a standard-based extended Pouchou-Pichoir (XPP) matrix correction was applied to provide a weight percentage for each element per pixel. The very small X-ray emission volumes achieved at this low voltage decreased the heterogeneity of the probed volume, allowing more robust element quantification. Most of the light element, at least the most abundant ones (e.g., C, O, F, N) were quantified. To back-control the list of detected elements and the robustness of spectrum quantification, we extracted manually the EDXS spectrum of few different phases from one pixel as well as from an area with clear porosity (Fig. S1). Some quantifications issues were encountered: 1) the overlap of

the Si with the Sr peaks induced inaccurate quantification of Sr for Si-bearing minerals. However, we were able to discriminate true Sr hotspots from false Sr-/ true Si-hotspots by comparing Si and Sr maps. 2) The background removal procedure implemented in the Bruker software did not account for the large range of X-ray take-off angles associated with the FlatQuad annular detector but instead considered a usual mean take-off angle. This hinders a perfect removal of the background at low energy when interferences of emission lines occur within the low energy range. As a result, only semi-quantitative concentrations maps are generated for the low energy emission lines of N, F (based on K emission lines), Co, Mn and Fe (based on the L emission lines) and Ba (based on M emission line). 3) The C and O contents are measured on the basis of a calcite standard that induces slight errors on oxygen contents measured for silicates. Before further numerical treatment, all the quantitative maps were denoised, color encoded and sometimes contrast-enhanced by equalization using the in-house *ImageJ* plugin detailed above.

### 2.6.3. SEM-EDXS hypermaps mosaic

A mosaic ( $14 \times 0.91 \text{ mm}^2$ ;  $20,500 \times 15,375$  pixels) was built from 41 hypermaps (pixel size of  $\sim 680 \text{ nm}$ ) acquired by a JEOL® JSM-7900 SEM, with an acceleration voltage of 8 kV (X-ray emission volume radius around 520 nm in calcite), a probe current of 2.18 nA, at a working distance of 10.9 mm, and a dwell time of 64  $\mu\text{s}$  per pixel. This hypermap mosaic provides a qualitative chemical map (i.e., raw count maps), extending across the full stromatolite thickness, with a spatial resolution drastically improved in comparison with  $\mu\text{XRF}$ .

### 2.6.4 Translating elemental maps into quantitative mineralogical maps

Mineralogical maps, i.e. the spatial distribution of the diverse mineral phases, were created for two surface areas of  $18 \times 14 \mu\text{m}^2$  and  $330 \times 230 \mu\text{m}^2$  with a pixel size of 61 or 230 nm, respectively. The processing of these maps was based on mineral identification methods that accommodate phase mixtures and solid solutions and are implemented in the *in-house*  $\mu\text{PhaseMap}$  software (Prêt, 2003). This methodology consists in identifying the mineral phases composing the analyzed area based on step-by-step projections of the scanned elemental composition points into ternary scatterplots. This allows to visualize contrasting elemental compositions for all the mineral phases. Each axes of the ternary diagram represents a 100% content of an element or a combination of elements. Since, three chemical elements are not

enough to discriminate most rock-forming minerals, more complex ternary plots are used, where different element concentrations can be added, subtracted, divided, or multiplied to calculate the coordinate along one axis of the plot. A sequence of successive ternary projections is needed to discriminate all the rock-bearing minerals, especially when they show close stoichiometries. Then, we identify several clusters of pixels with similar compositions within each ternary plot. Here, the amount of pixels located at the same position within the scatterplot is encoded by a Log-3-band color scale that facilitates the recognition of few-pixels clusters (*i.e.*, mineral corresponding to trace phases) as well as hundreds-of-thousands-pixel clusters (major phases) (Prêt et al., 2010). Each cluster represents the chemical compositional field of one mineral phase endmember. For mineral recognition, the calculated stoichiometry of the phase represented by a cluster is compared with a database of different theoretical endmembers, the composition of which is displayed as a red dot in the ternary plots (Table S2). Mixtures of different phases and solid solutions (highlighted by dashed arrows and dashed lines, respectively) appear as pixels along lines in between the endmembers within the ternary projections. Then, outlining the clusters of interest by hand-drawn polygons (a procedure called segmentation) allows to either back-project the selected pixels on a phase map or re-plot them into another scatterplot. The calculation of the mean mineral unit formula of a phase is achieved by segmenting pixels using restricted polygons (indicated as black squares) that represent the purest chemical analyses of the detected phase. More details are provided by (Prêt, 2003; Prêt et al., 2010a,b; Gaboreau et al., 2017) who successfully demonstrated the capability of this approach to properly identify all the minerals (and detect some unknown ones) in well-known porous materials such as the worldwide reference of compacted clay targeted for nuclear waste storage or cementitious materials for which an extended literature combining all the known bulk methods is available. This proved that it is possible to reach a robust mineral identification by careful analysis of local chemical compositions in a first step. Additional techniques may be needed for refining the identification of *e.g.*, various polymorphs that cannot be distinguished based on their stoichiometry alone.

### *2.7. Focused ion beam (FIB) milling*

The mineral maps generated by SEM-EDXS allowed localizing some minor nanophases identified as areas of interest that were subsequently cut by FIB and further studied by TEM. Four ultrathin electron-transparent foils were cut from a stromatolite section. This was achieved

by focused ion beam milling using a FEI Strata Dual-beam 235 instrument operating at 30 kV and 5 nA following the FIB lift-out method as described by Benzerara et al., (2005). Before milling, a platinum strap was deposited onto the region of interest of the sample. After *in situ* transfer to a copper grid, the foil was thinned down to around 100 nm with a Ga<sup>+</sup> beam current of about 100 pA and at glancing angle.

### 2.8. Transmission electron microscopy (TEM)

FIB foils were analyzed using a JEOL 2100F transmission electron microscope (TEM) operating at 200 kV. This microscope is equipped with a FEG, an ultra-high resolution pole piece, a JEOL EDXS detector with an ultrathin window allowing the detection of light elements, and a scanning TEM (STEM) device, which allows Z-contrast imaging in high angle annular dark field (HAADF) mode. Elemental mapping was acquired by EDXS in the STEM mode, using the JEOL Analysis Station software. Selected area electron diffraction (SAED) patterns were recorded to refine the identification of mineral phases, discriminate the different polymorphs and assess their crystallinity. SAED patterns were processed using the *Image J* software in order to measure d-spacings. SingleCrystal software 3.1 was used to index diffraction patterns.

## 3. Results

### 3.1. Bulk mineralogical characterization

Bulk XRD analyses showed that Mari Ermi stromatolites are mostly composed of magnesian calcite (Fig. 2a). LeBail refinement of the Mg-calcite cell lattice parameters assessed that  $a = b = 4.939113 \text{ \AA}$  and  $c = 16.859440 \text{ \AA}$ . Mg substitution (expressed as  $\text{Mg}/[\text{Mg}+\text{Ca}]$ ) was estimated from the  $c$  parameter at 10.8% (Dos Santos et al., 2017). It is equivalent to a molar Mg/Ca ratio of 0.12. Additional minor peaks were detected at  $(2\theta)37^\circ$ ,  $(2\theta)53^\circ$  and  $(2\theta)78^\circ$  for halite and  $(2\theta)24^\circ$ ,  $(2\theta)31^\circ$  and  $(2\theta)76^\circ$  for quartz. FTIR analyses were consistent with XRD analyses (Fig. 2b). Indeed, the main vibrational bands at 715, 877, 1428, 1803 and  $2519 \text{ cm}^{-1}$  were respectively attributed to the  $\nu_4$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$  ( $\nu_1 + \nu_4$ ) and ( $\nu_1 + \nu_3$ ) bands of calcite (, 1974). By comparison with reference spectrum, weak bands at  $1023$  and  $1153 \text{ cm}^{-1}$  reveals some Mg substitution in calcite. In addition, we noticed the presence of small bands at 1082 and 1457

cm<sup>-1</sup>, suggesting the presence of aragonite based on a comparison with reference spectra from the RRUFF database.

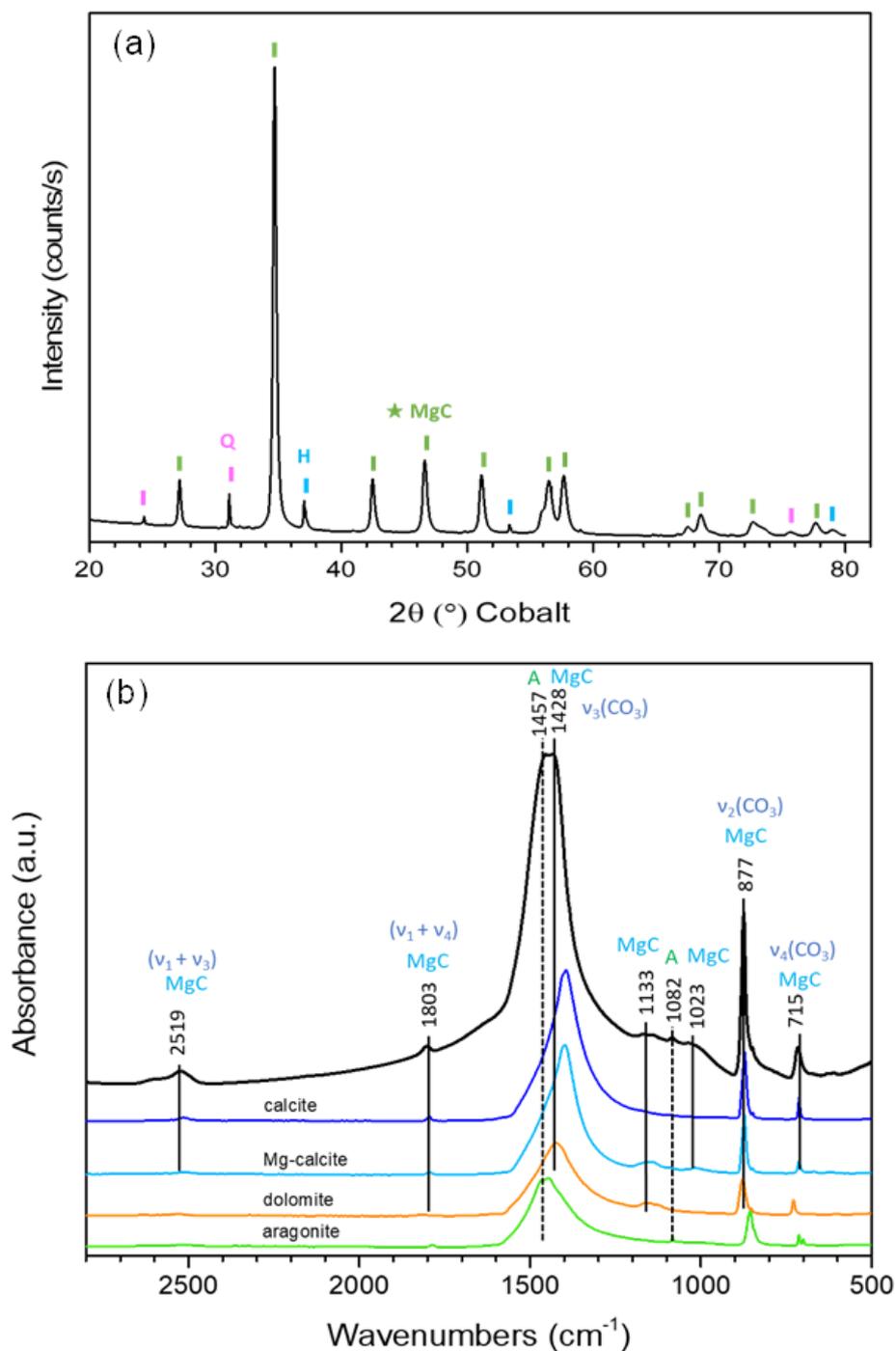


Fig. 2 Bulk analyses of Mari Ermi stromatolites. (a) Bulk X-ray diffraction pattern. Magnesian calcite (MgC) in green, Halite (H) and Quartz (Q) in pink are identified. The green star indicates that MgC is the main phase. (b) FTIR spectrum in the 500-2800  $\text{cm}^{-1}$  wavenumber range. Reference spectra of aragonite (green), MgC ( $\text{Ca}_{0.99}\text{Mg}_{0.01}\text{CO}_3$ ) in cyan, dolomite (orange), and calcite (blue) from the RRUFF database are shown for comparison. Vertical lines at 2519, 1803, 1428, 1133, 1082, 1023, 877 and 715  $\text{cm}^{-1}$  are indexed as bands characteristics of Mg-calcite. The shoulder at 1457  $\text{cm}^{-1}$  is indexed as aragonite. Also note the 1082  $\text{cm}^{-1}$  band, characteristic of aragonite.

Bulk chemical analyses of major elements are shown in Table 1. The samples from MEN and MES have similar chemical compositions: Ca (CaO mass content of ~ 43%), Mg (MgO mass content of ~5%), and Si (SiO<sub>2</sub> mass content of ~2 -3%) are the most abundant chemical elements in the samples (Table 1) followed by sodium, aluminum, and iron. Moreover, the low Al mass content (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mass content of ~0.5 %), suggests that samples are dominated by authigenic phases and only little affected by detrital contamination. Assuming that most of the Mg is contained in the magnesian calcite, bulk chemical analyses give a Mg/Ca ratio equal to ~ 0.2, which is close to the Mg/Ca ratio determined independently by XRD.

Table 1. Major element compositions of microbialites from Mari Ermi lagoons obtained by bulk chemical analyses (LOI = loss of ignition)

Sample	SiO (wt %)	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (wt %)	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (wt %)	MgO (wt %)	CaO (wt %)	Na <sub>2</sub> O (wt %)	K <sub>2</sub> O (wt %)	MnO (wt %)	TiO <sub>2</sub> (wt %)	Mg/Ca (atom)	LOI (wt %)	Total
SAR16- MES-1	2.72 ± 0.2	0.46 ± 0.09	0.27 ± 0.05	4.8 ± 0.5	43.4 ± 0.9	0.91 ± 0.09	0.12 ± 0.04	0.04 ± 0.04	0.025 ± 0.006	0.19 ± 0.02	46.18	99.0
SAR16- MEN-1	2.24 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.46 ± 0.09	5.2 ± 0.1	42.6 ± 0.8	0.9 ± 0.1	0.19 ± 0.04	0.0869 ± 0.04	0.024 ± 0.008	0.205 ± 0.05	46.29	98.7
	Si (wt %)	Al (wt %)	Fe (wt %)	Mg (wt %)	Ca (wt %)	Na (wt %)	K (wt %)	Mn (wt %)	Ti (wt %)	Mg/Ca (atom)		
SAR16- MES-1	1.2	0.25	0.21	2.9	30.8	0.7	0.12	0.03	0.015	0.16		
SAR16- MEN-1	1	0.28	0.36	3.15	30.3	0.7	0.156	0.067	0.0144	0.17		

### 3.2. Microscopy analyses at large scale

Transmitted light microscopy observations (Fig. 3a) and SEM mosaics (Fig. 3b & Fig. S2) were achieved over relatively large (~12 cm<sup>2</sup>) areas to obtain an overview of the texture and distribution of mineral phases. The sample is composed of a non-laminated substrate overlain by the stromatolite *sensu stricto*, which shows a laminated mesofabric, with a typical alternation of dark and bright laminae as observed by both light microscopy (Fig. 3a) and BSE-SEM (Fig. 3b). We note that laminae seen as bright by light microscopy (Fig. 3a) appear dark in BSE since they are filled with organic-rich material (resin and/or organic matter) (Fig. 3b) and conversely. Thereafter, bright and dark will refer to the contrast observed in light microscopy unless mentioned otherwise. These laminae are typically seen as a succession of growth stages.

The lowest basal lamina, directly above the substrate, is very dense (Fig. 4a-b), i.e., almost without any porosity as assessed by SEM, making it different from the overlying laminae. Bright laminae contain numerous upward-oriented filaments (Fig. 4c-d). They are particularly abundant in the upper part of the stromatolite. These filaments, interpreted as microbial remnants, measure ca. 10-15 µm in diameter and 100 to 150 µm in length, and they appear darker in BSE than the carbonate matrix surrounding them. They show variable degrees of lithification, poorly to densely cemented, and often contain elongate voids (Fig. 4e). The voids are sometimes filled by micrite and other recrystallized grains (Fig. 3-4). Circular sections of microfossils with diameters of ca 10-20 µm were also observed (Fig. 4g). While they could be the same filamentous fossils as the ones mentioned above but cut perpendicularly, they seem to exhibit a higher degree of encrustation by carbonates. By contrast to the bright laminae, dark laminae exhibit carbonate phases with only very few filamentous microfossils (Fig. 4d).

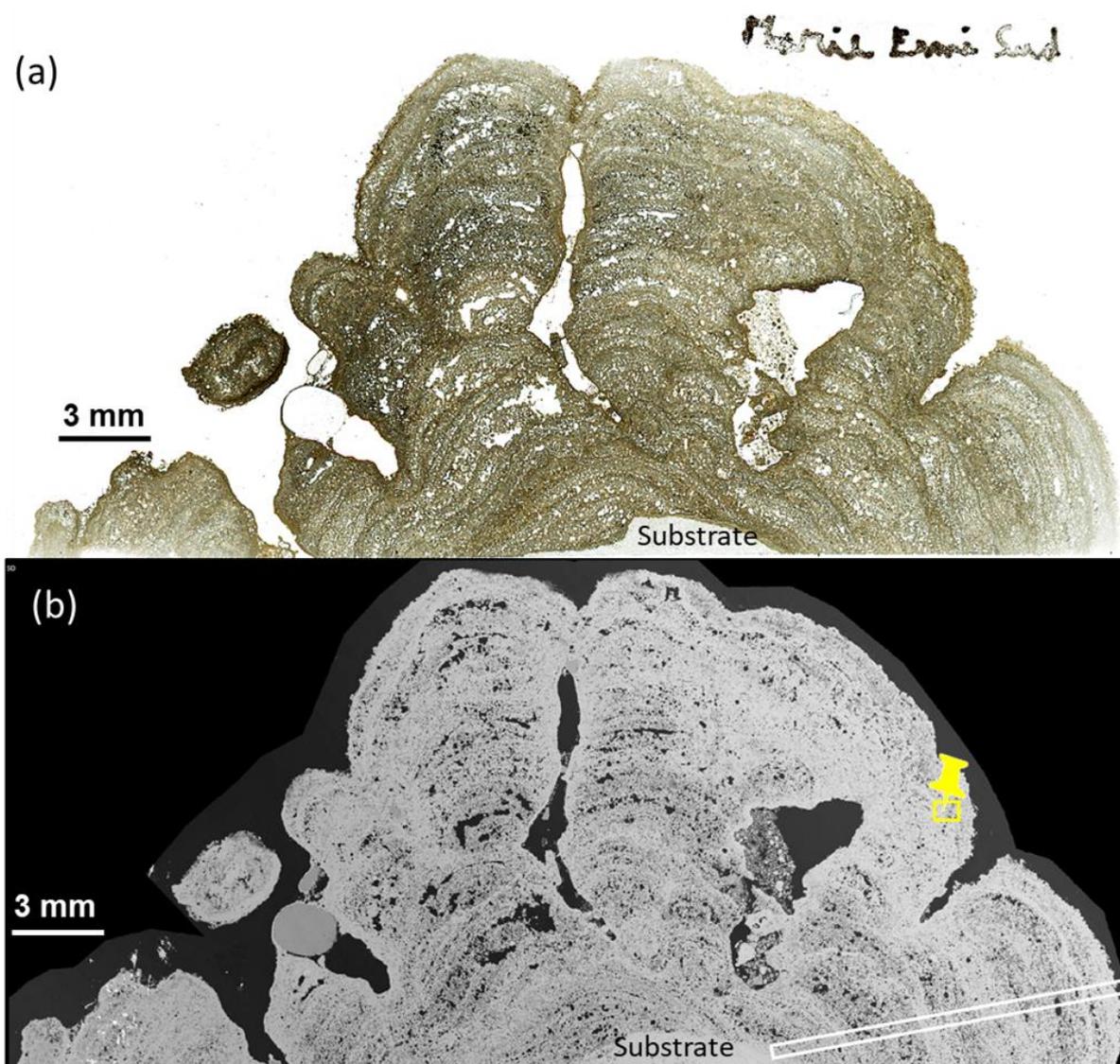


Fig. 3 Correlative light microscopy and scanning electron microscopy mosaics. (a) Light microscopy mosaic acquired on a thin section of a Mari Ermi stromatolite (b) SEM-BSE mosaic acquired on the same sample as in (a). The yellow pin and the white rectangle indicate the areas chosen for the EDX hypermaps-mineral mapping (Figs. 6 & 15) and the EDX mosaic, respectively (Fig. S4). Note that the thick and porous dark laminae in BSE correspond to the light brown ones in optical microscopy, whereas the thin and dense light laminae in BSE correspond to the dark brown ones in optical microscopy.

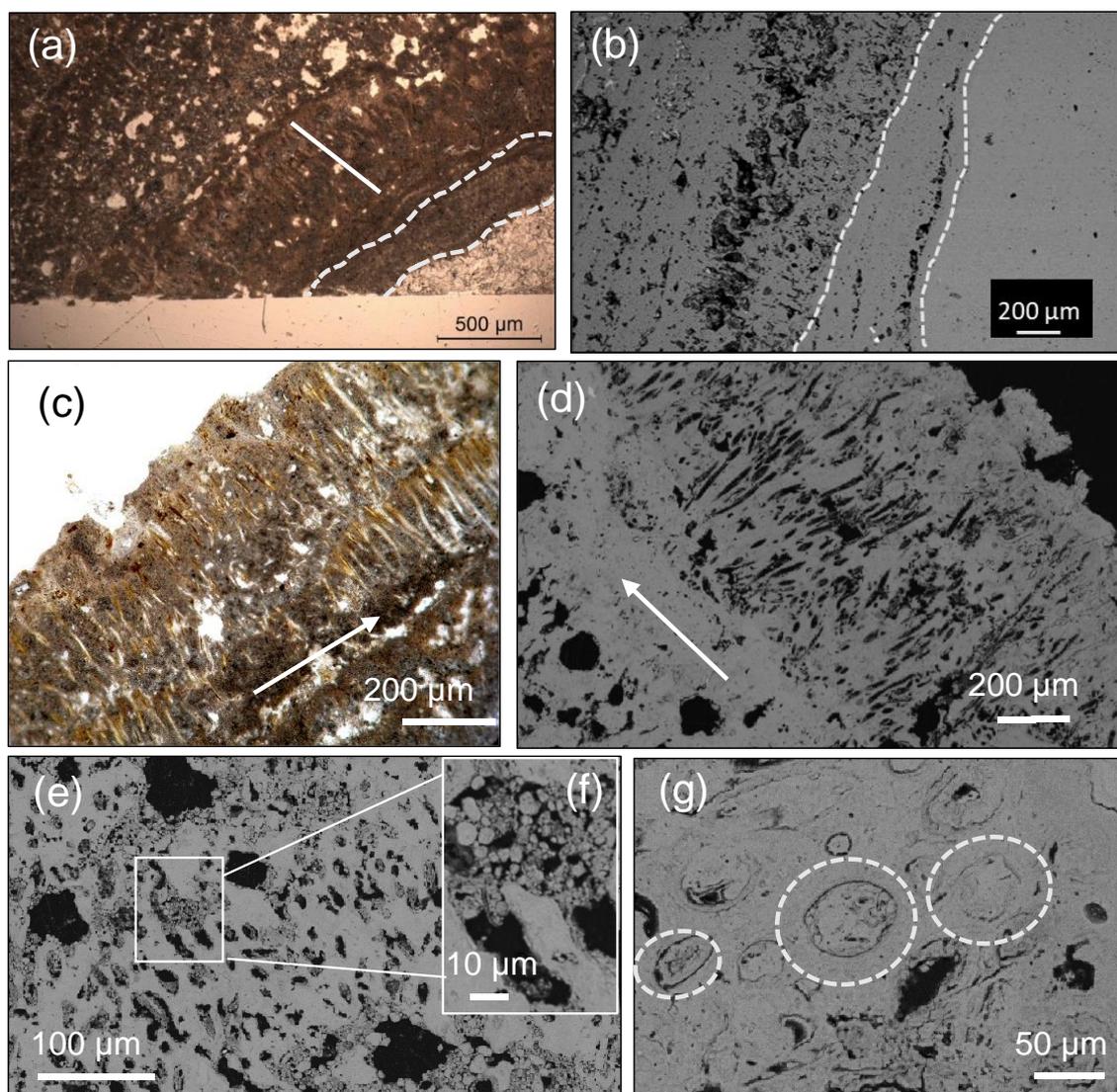


Fig. 4 Light microscopy and scanning electron microscopy observations of Mari Ermi stromatolites. (a) Light microscopy image of the bottom part of the stromatolite. On the bottom right hand, the substrate appears as a bright and almost transparent area. It is overlain by a dense lamina (highlighted by white dotted lines). A succession of filamentous layers overlain this first lamina. (b) SEM-BSE image of the same area as shown in (a), rotated by 90° counterclockwise. The white dotted lines show that the first laminated layer is denser and contain few or no microfossils. (c) Light microscopy image of the top part of the stromatolite. Detail of successive filamentous layers that exhibiting a cyanobacteria sheath-like structure, probably already fossilized. (d) SEM-BSE image of the same area as shown in (c) rotated by 90° clockwise. Filamentous cyanobacteria sheaths filled by resin and/or organic matter appear in dark and are contained within bright laminae, whereas dark laminae (white arrow) appear denser (i.e., with little to no porosity). (e) SEM-BSE image showing filamentous microfossils poorly entombed in the carbonate matrix. The voids are filled with carbonate and non-carbonate particles. (f) Close-up of (e) showing micrite filling up the voids associated with microfossils. (g) SEM-BSE image showing microfossils entombed in the carbonate matrix (circled by white dotted lines).

Additionally, a  $\mu$ XRF map ( $\sim 42 \text{ cm}^2$ ) was measured to spatialize the chemical element distribution over a whole section of a Mari Ermi stromatolite with a  $80 \text{ }\mu\text{m}$  spatial resolution for most elements and  $320 \text{ }\mu\text{m}$  for Mg (Fig. 5). Semi-quantitative maps of Al, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, S, Si, and Sr, obtained by  $\mu$ -XRF, evidenced chemical variations in the stromatolitic laminae. The stromatolitic part is composed of Mg-calcite and appears chemically distinct from the Mg-poor calcitic substrate. Assuming that all Mg is contained within calcite, the average Mg/Ca ratio estimated in the stromatolitic part is  $\sim 0.1$  (Table 2), consistently with the value assessed by XRD. The high Mg content (mapped with a  $320 \text{ }\mu\text{m}$  spatial resolution) correlates with the highest grey values of the optical images, meaning that high Mg-carbonate are contained within bright laminae (Fig. S3). The suspected correlation between bright/dark laminae and Mg content was further confirmed at a higher spatial resolution ( $0.8 \text{ }\mu\text{m}$ ) based on an EDXS mosaic acquired over an extended area, spanning across laminae, from the substrate to the top of the stromatolite (Fig. S4). It confirms presence of higher Mg concentrations within bright laminae, i.e., laminae containing filamentous microfossils. Si-rich grains are inferred to represent either quartz, feldspar or clays and Si average content over the whole XRF map ( $\sim 0.7 \text{ wt.}\%$ ) (Table 3) was in the same order of magnitude as the one provided by bulk analyses. Si-rich grains are mostly present in dark laminae as shown by the negative correlation between optical grey values and Si concentration (Fig. S3). The highly correlated distributions of Cl and Na suggest the presence of halite. However, some surficial halite patches detected by XRF might be local artefacts of sample preparation, hiding emission lines of other elements (e.g., Ca, Mg, and S) contained beneath, within the sample. Although Fe, Mn and Sr yielded low count rates, they showed particular distributions: Mn was mainly distributed at low concentration in the upper part of the stromatolites; Fe was abundant in the basal dense laminae, while in the rest of the stromatolite, some Fe-rich grains were associated with Si grains. Sr was significantly enriched in the stromatolite compared to the substrate. Contrary to Mg and Si that show strong correlation with bright and dark laminae respectively, Fe, Mn, S and Sr are not uniquely correlated with bright or dark laminae. This suggests that these elements are contained within both dark and bright laminae and may be carried by different mineral phases. Thus, a more spatially resolved mineral study of the different phases composing Mari Ermi stromatolites was conducted to understand the chemical mineral composition of the stromatolitic laminae.

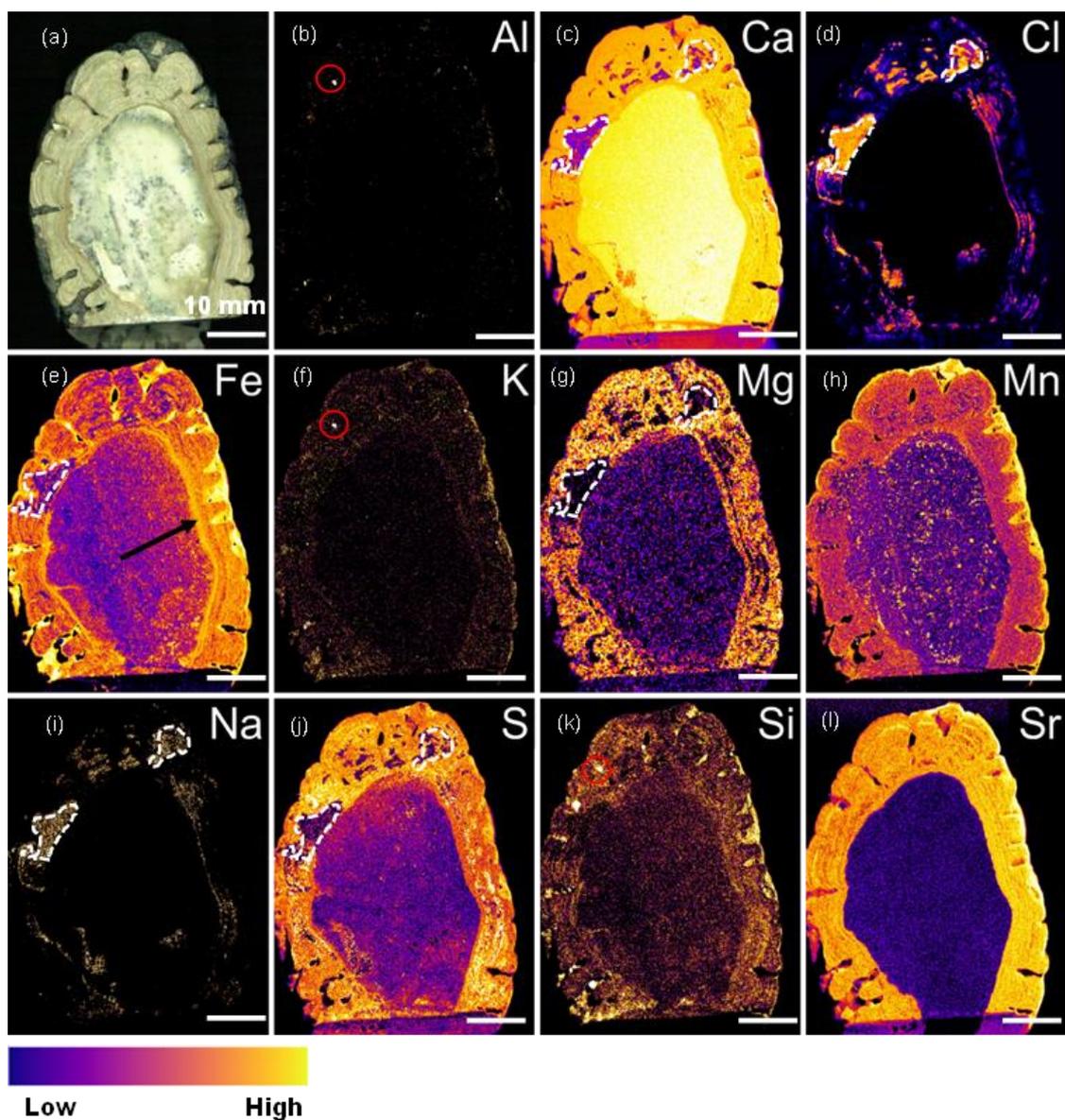
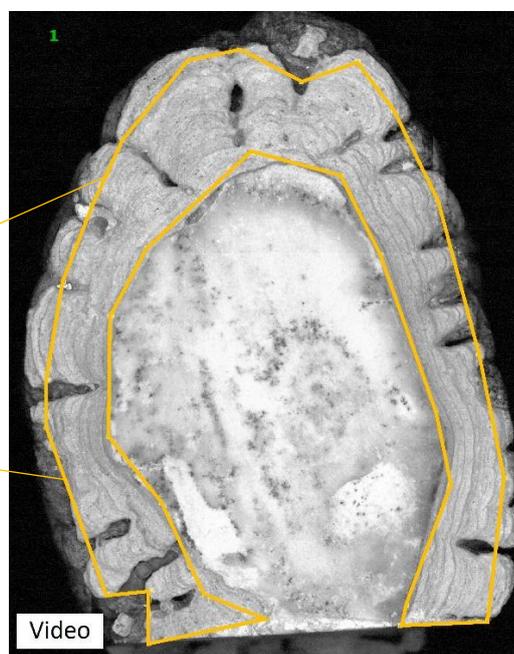


Fig. 5 Micro X-ray fluorescence analysis of a Mari Ermi stromatolite. (a) Photograph of a polished section of a whole stromatolite showing the substrate in the center and the stromatolitic part surrounding it. (b)-(l):  $\mu$ -XRF quantitative maps of Al, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, S, Si and Sr. Some spots are rich in Al and Si, (red dotted circles). The white dotted lines highlight a surficial Na- and Cl-rich deposits, which likely absorbs most x-ray emitted beneath and therefore prevents the detection of other elements such as Ca, Mg and S. Quantification of the elements is encoded in false color following a color scale from dark blue (absence) to bright yellow (maximum concentration).

Table 2. Chemical composition associated with the area outlined by a yellow line in the XRF map.

Element	Mass [wt%]	abs. error [%] (2 sigma)
Aluminium	0.300	0.001
Calcium	20.559	0.003
Carbon	6.82	/
Chlorine	7.786	0.003
Iron	0.1188	0.0001
Magnesium	1.243	0.005
Manganese	0.0021	0.0001
Oxygen	30.43	/
Potassium	0.1224	0.0003
Silicon	0.613	0.001
Sodium	6.28	0.03
Strontium	0.1135	0.0001
Sulfur	0.4724	0.0006
<b>Mg/Ca</b>	<b>0.0996</b>	<b>0.0008</b>
Total	74.86	



### 3.3. High resolution quantitative SEM-EDXS chemical and mineral phase mapping

Quantitative SEM-EDXS maps were measured in an area close to the top surface of the stromatolite, to further investigate chemical heterogeneities, including the local enrichments in Mg, Si, Sr and S evidenced by  $\mu$ -XRF measurements. The BSE image of the chosen area (Fig. 6) shows the presence of two bright laminae alternating with two dark laminae. The bright laminae contain abundant microfossils, completely or partially entombed by carbonates. An intensely bright phase can also be noticed by SEM, distinguishable from the rest of the carbonate matrix in the upper left-hand corner of the image. It consists of a Ca-carbonate phase with ca. 1 wt. % Sr (Table 3). This phase has little to no porosity as suggested by the fact that the sum of the analyzed element concentrations in this phase is about equal to 100%, according to Prêt et al. (2010b).

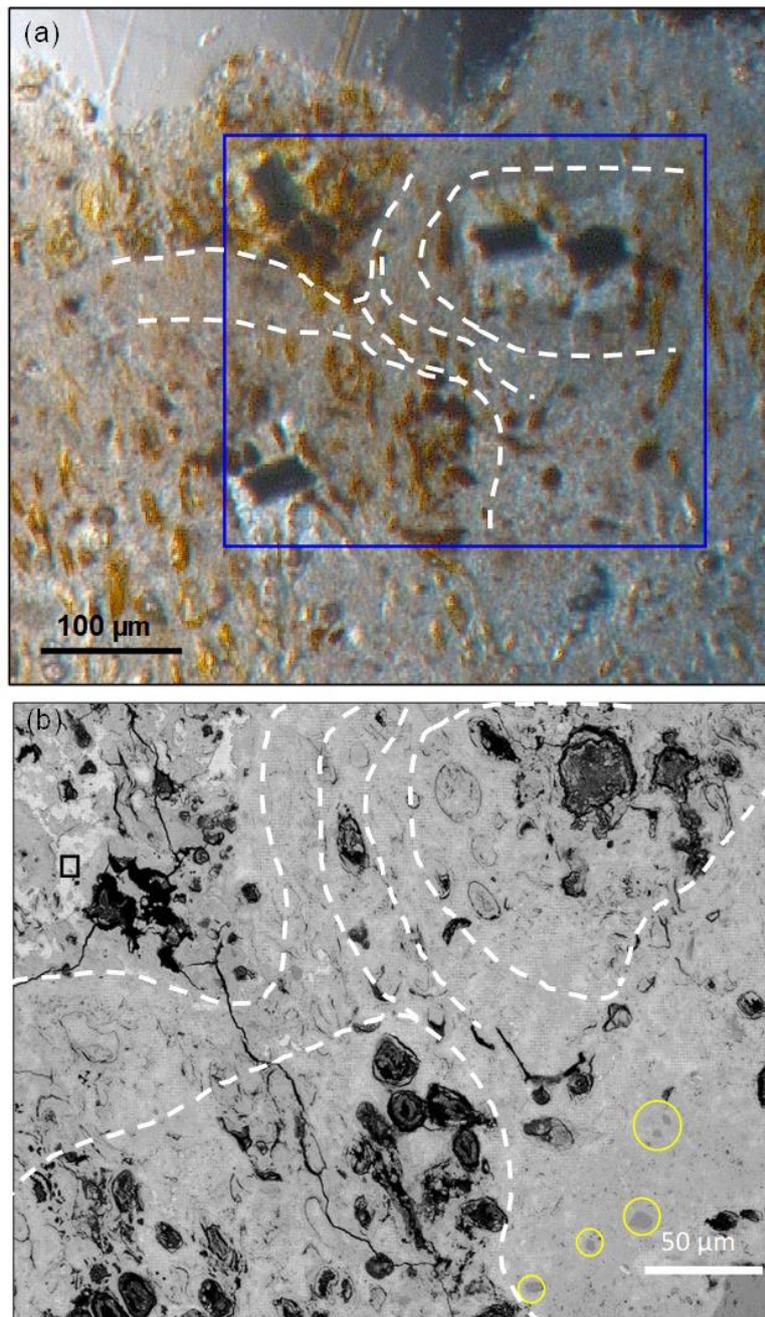


Fig. 6 Studied area corresponding to the yellow pin in Fig. 3b. The white dotted lines delimit the bright micro laminae full of microfossils from the dark micro laminae. (a): Optical image. The blue square delimit the area analyzed in (b). Note that the four dark squares correspond to excavations milled by FIB. (b) SEM-BSE micrograph. Contrast variations are indicative of chemical variations. Very bright areas (higher average atomic number) are observed in the top left-hand corner, whereas middle gray grains (lower average atomic number) are observed in the bottom right hand corner (yellow circle). The chemical composition of the bright area outlined by the black rectangle was analyzed in Table 3.

Table 3. Chemical composition of the whole EDX map and of the bright area in BSE (black square in Fig. 6.)

Element	Whole map		Bright area (square in Fig. 6)	
	Mass [wt%]	abs. error [%] (2 sigma)	Mass [wt%]	abs. error [%] (2 sigma)
Aluminium	0.96	0.01	0.08	0.03
Calcium	29	1.0	42	2
Carbon	12.3	0.1	9.8	0.1
Chlorine	0.12	0.02	0.21	0.04
Cobalt	1.6621	0.0007	/	/
Fluorine	1.08	0.02	/	/
Iron	1.62	0.04	/	/
Magnesium	3.10	0.03	0.27	0.03
Nitrogen	2.402	0.004	/	/
Oxygen	40.5	0.3	44.3	0.5
Potassium	0.151	0.006	1.1	0.3
Silicon	0.708	0.007	/	/
Sodium	0.615	0.008	0.80	0.03
Strontium	0.324	0.003	1.2	0.1
Sulfur	0.496	0.005	0.71	0.06
<b>Mg/Ca (at)</b>	<b>0.18</b>	<b>0.02</b>	<b>0.010</b>	<b>0.003</b>
Total	95		101	

Raw EDXS maps were converted into quantitative chemical maps (Fig. 7). The Mg/Ca ratio was evaluated to  $\sim 0.18$  over the whole mapped area (Table 3), which is consistent with the values found by bulk analyses (Table 1). In agreement with  $\mu$ -XRF analyses (Fig. 5) and the EDXS mosaic (Fig. S4), the Mg content reaches the highest values in the bright laminae. However, a Mg/Ca zoning can also be observed at a finer scale with a Mg enrichment around microfossils. Similarly, enrichments in Fe and F can also be seen around microfossils (Fig. S5). Several isolated submicrometer-sized grains, rich in Si are observed in the dark lamina in the bottom right hand corner of the maps (Fig. 7). Based on their Al, Na, or K contents, these grains are inferred to be clays and/or feldspar detrital grains as later discussed. Finally, microfossils and pores are well detected on the C map with some co-located enrichments with S, P, Al, Si, Co, N, Na and Cl. Nitrogen may be associated with indigeneous carbonaceous matter and/or amine groups composing the resin hardener (Fig. S5).

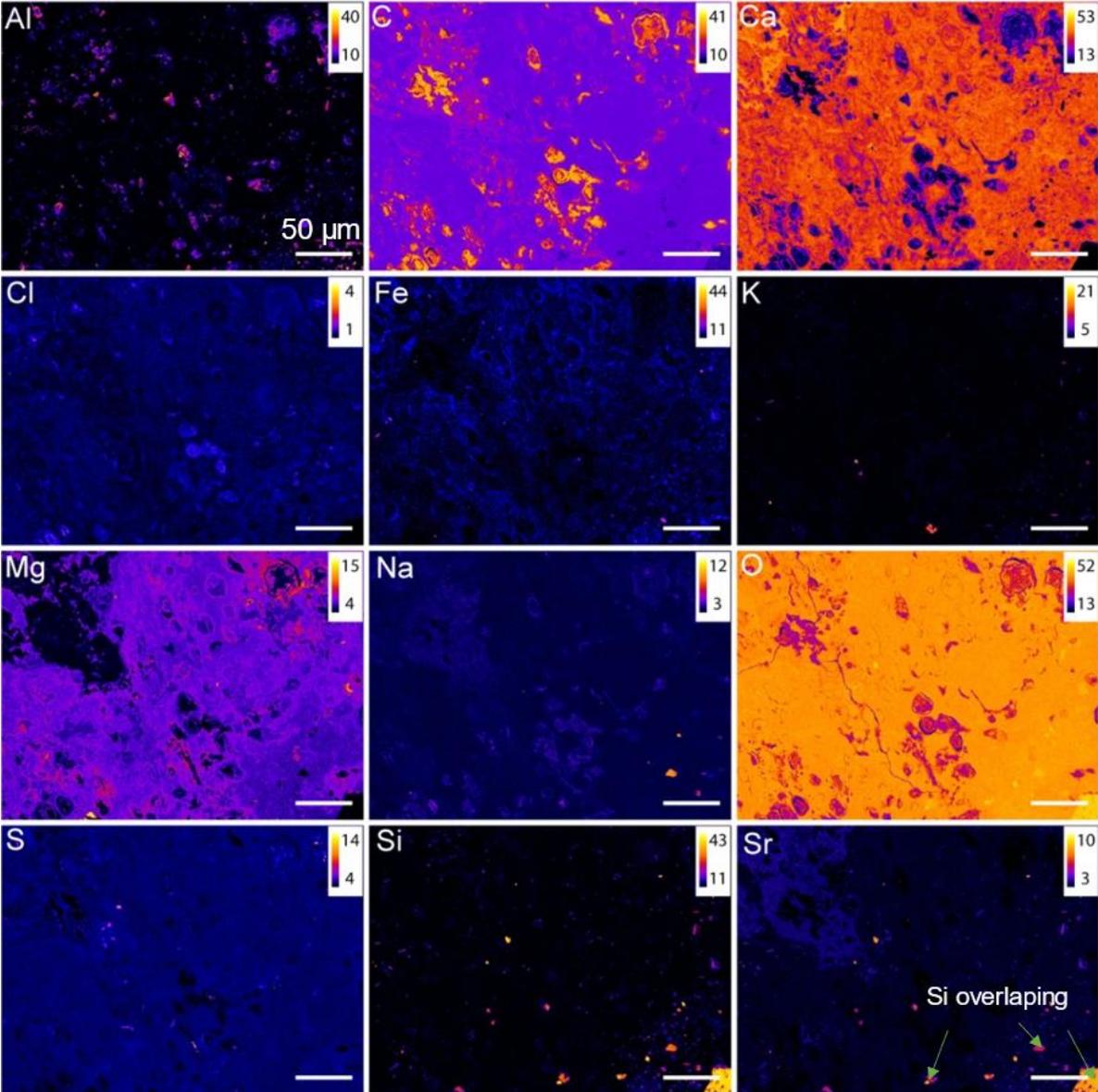


Fig. 7 Quantified SEM-EDXS maps of Al, C, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Na, O, S, Si, Sr. Note that the green arrow indicates inaccurately quantified Sr hotspots due to an overlap between Si and Sr.

### 3.4. Deriving mineral phase maps and calculated mineral formulae of phases in the stromatolites from SEM-EDXS analyses

We obtained a mineral phase map based on the segmentation of pixels with similar chemical compositions using ternary scatterplot projections. Then, the mineral phase represented by these pixels is identified based on its stoichiometry (major and minor elements, including measured light elements such as O, F and C). For this purpose, pixel clusters are compared with the ideal composition of reference minerals. The mineral unit formula of the phase is latter refined based on the quantified EDXS analyses of a limited set of pixels recognized as representing a pure phase. The obtention of a fully equilibrated unit formula appears as a robust validation of the mineral identification. By contrast, mixtures appear as pixels aligned between clusters associated with pure mineral phases. Here, this approach was adapted to Mari Ermi stromatolites which contain numerous minerals with complex chemical compositions and extended solid solutions. Overall, it allowed to map the mineralogy of the samples with a few-hundreds-of-nanometer spatial resolution over an area measuring 10,000 square micrometers. In order to distinguish the main types of phases in the mapped area, all pixels were first plotted in a 4(Al+Cl+P+S+Si)-C-O ternary diagram (Fig. 8a). Four main clusters were identified: (1) an organic-rich cluster corresponding to pixels with a high C/O ratio. When back-projected in the BSE image (Fig. 8b), their distribution is consistent with the darkest areas observed in BSE. Part of the porosity in the sample is filled by the resin used to prepare the petrographic thin sections. The other part of the porosity is filled by the remains of organic matter indigenous to the sample. Here, the term “organic-rich phase” encompasses both the carbon associated with the resin and the indigenous organic matter that cannot be properly distinguished from each other. Moreover, some remaining resin-free pores are encountered, and were segmented by an additional thresholding of the BSE image based on their low grey level values (removal of the darkest pixels). (2) A carbonate cluster was identified based on a C/(C+O) atom ratio of 0.75, perfectly matching their theoretical composition. This cluster was further analyzed by plotting the pixels in a 10Sr-Ca-Mg ternary plot (Fig. 9a).

We note that some, but not most of these segmented pixels consist of a mixture between carbonates and the “organic-rich phase”, but the latter was, by construction, limited in abundance in these pixels. In agreement with bulk analyses, carbonates are the most abundant phases since they show the maximum density in the scatterplot and were pervasive in the mapped area. (3) Finally, a so-called “non-carbonate” cluster was clearly evidenced. Its location

in the ternary plot is slightly shifted towards carbon compared with pure quartz, talc or other silicate phases (Fig. 8a). This is due to the conductive carbon layer evaporated at the sample's surface before SEM analyses. A few pixels (blue shade on the scatterplot corresponding to a local density lower than 100 pixels) trend towards the “organic-rich phase” cluster and the non-carbonate ones, corresponding to organic-rich phase mixed with the surrounding minerals.

The “non-carbonate” cluster is further divided in two subclusters after plotting pixels in a  $(Ca+K+Mg+Na+Sr)-3P-(Al+Si)$  diagram (Fig. 11a): one corresponds to apatite, gypsum, S-apatite and aluminum phosphate-sulfate (APS) phases and the other one to silicates, e.g., quartz, feldspar, and clay minerals (Fig. 13a). (4) A fourth cluster comprises pixels corresponding to an organic rich-phase/carbonates in mixture with non-carbonate phases (Fig. 8a). Carbonates are dominant in these mixtures and the non-carbonates grains are smaller than the X-ray emission volume. Even if they can be segmented separately in the same way than the “non-carbonate” cluster, the mixtures with carbonates drastically downgrade the clarity of the scatterplots presented hereafter. Therefore, the mineral phases comprised within these pixels were not retrieved and were not analysed further.

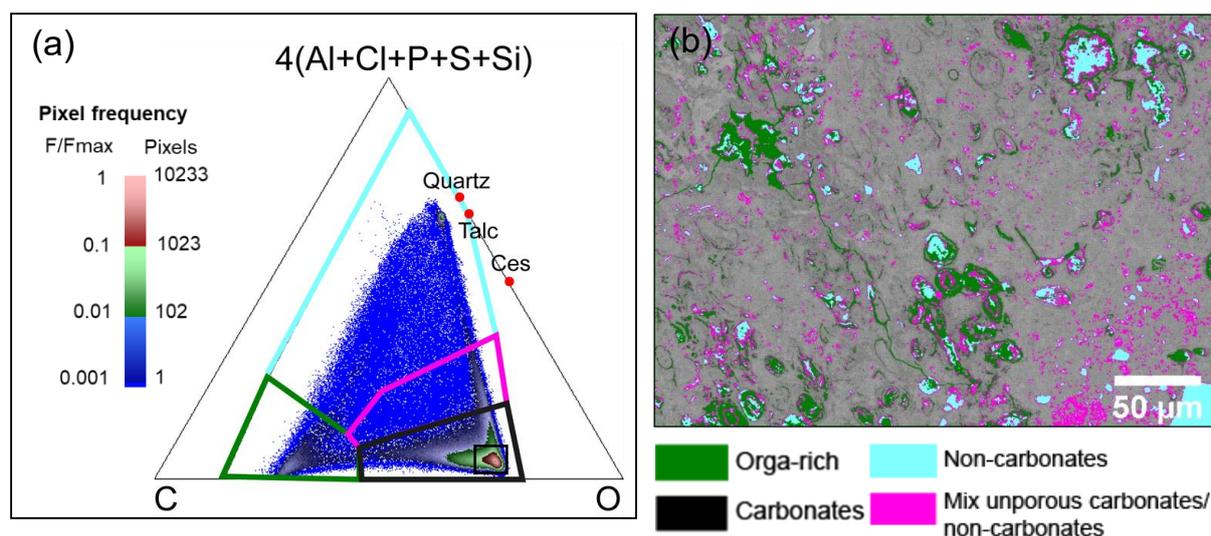


Fig. 8 Mineral phase mapping of organic-rich, carbonate, non-carbonate and carbonate/non-carbonate phases mixtures. (a) Plot of all the pixels of the mapped area in the  $4(\text{Al}+\text{Cl}+\text{P}+\text{S}+\text{Si})$  – C – O ternary diagram. Colored polygons outline the selected pixels for four clusters of mineral phases. Note the use of a logarithmic 3-band color scale which is indicative of the density of stacked pixels at each point of the ternary plot and allows to simultaneously represent poorly abundant compositions (in blue) and predominant compositions (in red). (b) Back-projection on a BSE image of the organic-rich (green), non-carbonate (cyan) and mixed carbonate-non-carbonate clusters (pink). Same color code as the polygons in the ternary. Carbonates are not back-projected since they compose most of the area.

### 3.4.1. Segmentation of the carbonate cluster

The inclusive selection of pixels corresponding to carbonates in the  $4(\text{Al}+\text{Cl}+\text{P}+\text{S}+\text{Si})$  – C – O ternary diagram (Fig. 8a) was further analysed by plotting the corresponding pixels in a 10Sr-Ca-Mg ternary plot (Fig. 9a). This discriminated different carbonate phases, i.e. low magnesian calcite ( $\text{Mg}/\text{Ca} < 0.05$ ), high-magnesian calcite with a Mg-substitution (i.e.,  $\text{Mg}/\text{Ca}$  varying between 0.05 and 0.43, and a Sr-rich carbonate phase. Most pixels corresponding to magnesian calcite are aligned between pure calcite and dolomite (Fig. 9b). This shows that carbonate phases in Mari Ermi stromatolites belong to an extended solid solution between calcite and dolomite. There are no distinct clusters along this continuous solid solution and the highest pixel density corresponds to a  $\text{Mg}/\text{Ca}$  of 0.15, matching bulk estimations. The spatial distribution of  $\text{Mg}/\text{Ca}$  substitution was assessed by selecting four polygons along this mixing line corresponding to low magnesian calcite (LMC,  $\text{Mg}/\text{Ca} < 0.05$ ), high magnesian calcite 1

(HMC 1,  $0.05 < \text{Mg}/\text{Ca} < 0.18$ ), high magnesian calcite 2 (HMC 2,  $0.18 < \text{Mg}/\text{Ca} < 0.43$ ) and very high magnesian calcite (VHMC,  $\text{Mg}/\text{Ca} > 0.43$ ).

Interestingly, HMC 2 and VHMC are systematically distributed around microfossils (Fig. 9b). By contrast, HMC 1 is distributed everywhere else. Only a few isolated grains of pure calcite are detected (LMC). Few pixels showed a Mg/Ca higher than that of dolomite (Fig. 9a). This was surprising since there is a theoretical immiscibility gap for Mg above dolomite. One possible explanation is that these pixels correspond to a mixture between a carbonate phase and other Mg-rich phases. This hypothesis was confirmed by reprocessing the selection of the pixels in the  $4(\text{Al}+\text{Cl}+\text{P}+\text{S}+\text{Si}) - \text{C} - \text{O}$  ternary diagram, choosing a more restrictive cluster (Fig. 8a) comprising only pixels corresponding to pure carbonate phases and excluding mixtures with other phases. When these pixels were replotted in the 10Sr-Ca-Mg ternary plot (Fig. S6a), only few pixels corresponding to VHMC were observed. However, this time, no dolomite cluster and no pixel with a Mg content higher than that of dolomite were detected (Fig. S6b). This suggests that there is no anomalous “Mg-too-rich” carbonate phase and that other Mg-bearing phases are mixed with carbonates in some pixels.

Some other pixels from the above-mentioned restrictive selection positioned along the Ca-Sr line in the 10Sr-Ca-Mg ternary plot, showing that some carbonates, not mixed with an “organic-rich phase” (hence non-porous), are enriched in Sr with no Mg. This suggests the presence of aragonite (Theye and Seidel, 1993). When back-projected on the BSE image, these pixels appear in the upper bright microlamina (Fig. 9b) over the intensely bright phase observed by BSE-SEM (Fig. 6). These non-porous carbonates are surrounded by similar porous (i.e., mixed with an “organic-rich phase”) Sr-rich carbonates (Fig. S6b). TEM-SAED of these Sr-bearing and Mg-poor carbonates analyzed in a FIB foil extracted from this area confirmed the presence of aragonite (Fig. 10). In addition, STEM-HAADF images confirmed that some aragonite was homogeneously bright, i.e. devoid of porosity, whereas some aragonite contained a lot of pores. We note that the presence of these pores does not prevent a robust determination of the calculated unit formula of these phases. Indeed, both porous and non-porous aragonites show similar Gaussian distributions for the frequency histograms of the number of Sr atom per formula unit, centered around 0.02 (Fig. S7, Table 4). Areas with a BSE brightness similar to the non-porous aragonite were rare but some could be observed in the large SEM mosaic (Fig. S2), in the upper part of the stromatolite only.

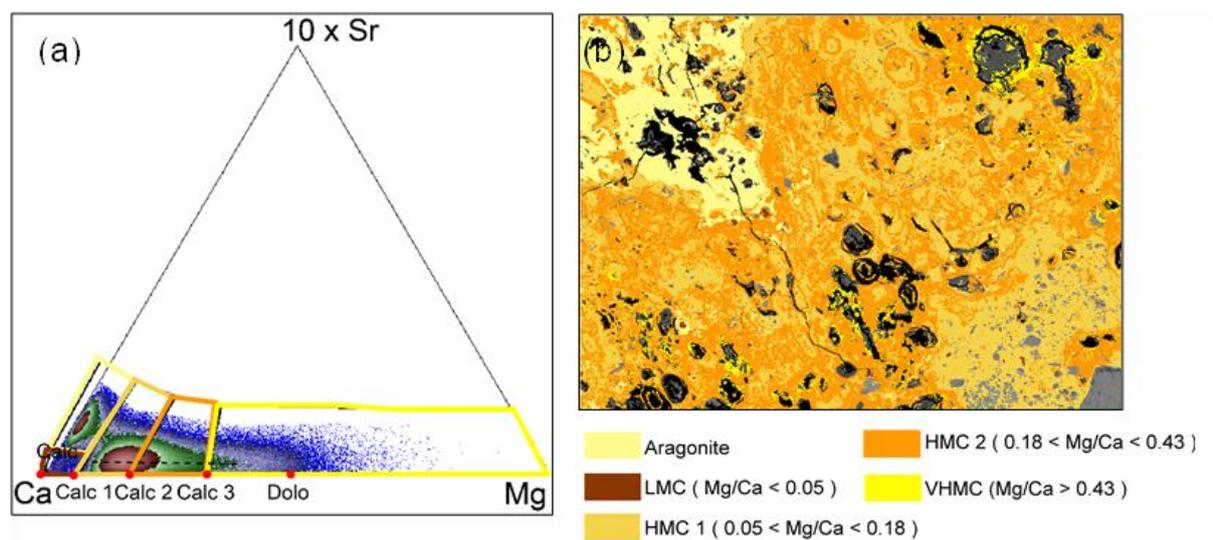


Fig. 9 Segmentation of the carbonate cluster. (a) The pixels corresponding to the carbonate cluster as defined in figure 8 are plotted in a  $10\text{Sr} - \text{Ca} - \text{Mg}$  ternary diagram to discriminate five different carbonate phases. The dotted line highlights a solid solution between magnesian calcite (LMC) and very high magnesian calcite (VHMC). The red dots correspond to the theoretical chemical compositions implemented in the software  $\mu\text{MAPphase}$  (see Table S2) helping the segmentation of the low magnesian calcite (LMC), high magnesian calcite 1 (HMC), high magnesian calcite 2 (HMC 2) and very high magnesian calcite (VHMC) clusters. (b) The five different clusters of pixels are displayed on a mineral map and superimposed over the BSE image.

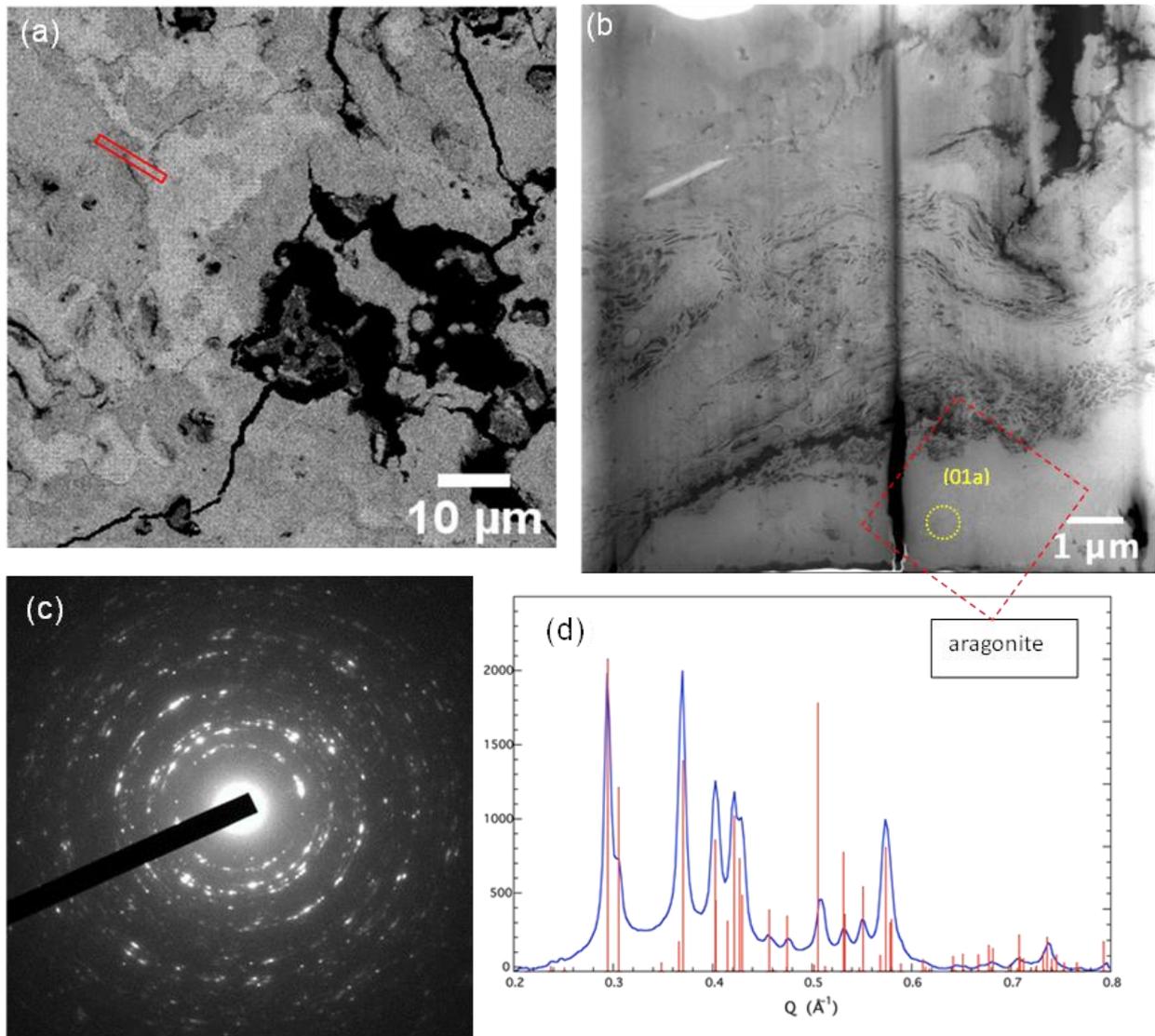


Fig. 10 Study of aragonite. (a) SEM image of the area where the FIB foil was extracted (b) STEM-HAADF image of the FIB foil extracted from the area outlined in (a). (c) Selected area electron diffraction pattern measured on the area labelled (01a) in (b). (d) Radial Fourier transform of the SAED pattern, indexed based on aragonite.

### 3.4.2. Segmentation of S- and P-bearing minerals

As mentioned above, the apatite was firstly discriminated by re-plotting pixels from the “non-carbonate” cluster in a  $(\text{Ca}+\text{K}+\text{Mg}+\text{Na}+\text{Sr})\text{-}3\text{P}\text{-(Al+Si)}$  ternary plot (Fig. 11a). Some of the pixels in this diagram were scattered towards the P-apatite end-member  $(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{OH}, \text{Cl}))$ . They were segmented as indicated in Figure 11a and back-projected on a map (Fig. 11b).

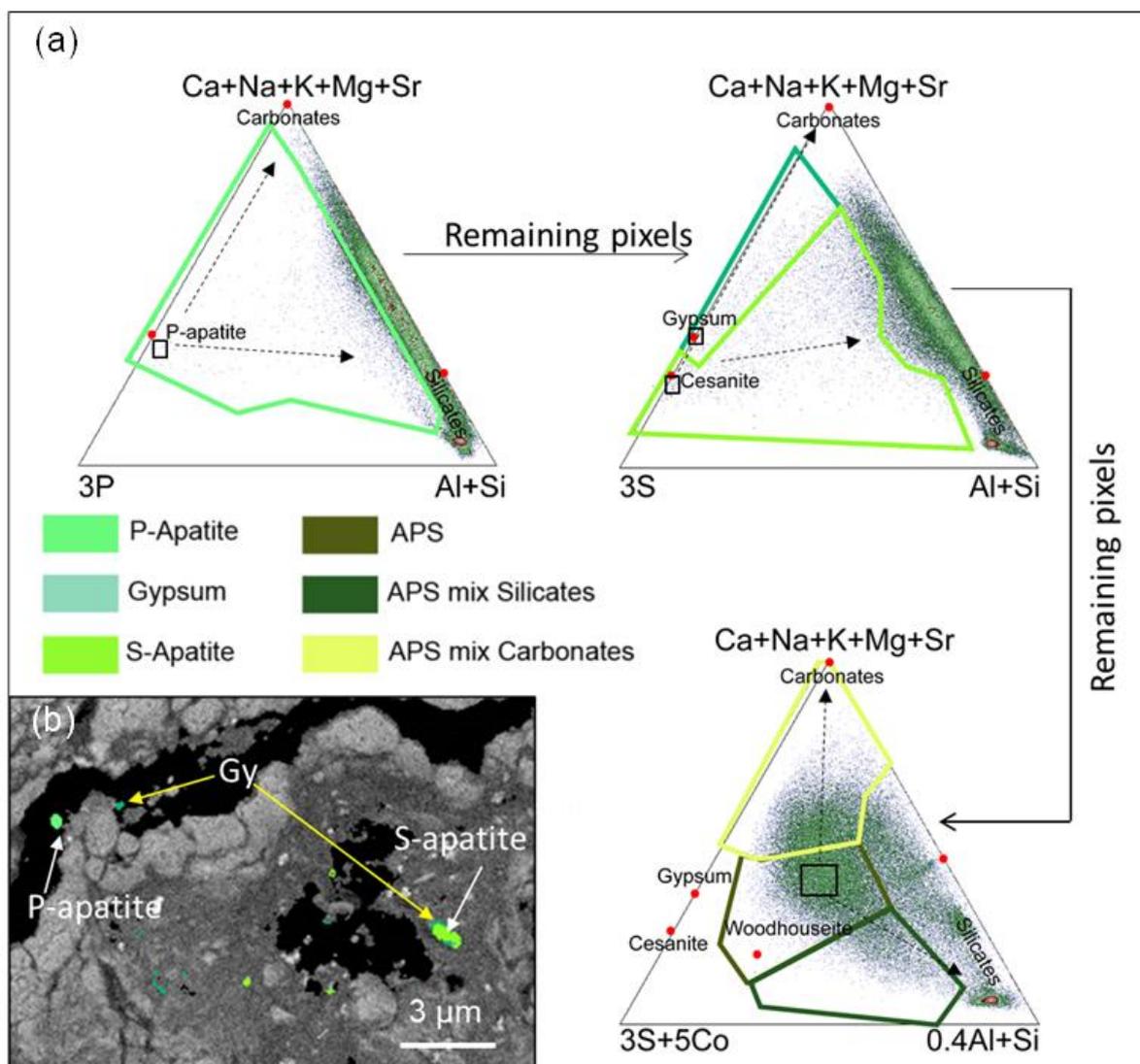


Fig. 11 Segmentation of the non-carbonate cluster (S- and P-bearing phases). (a) The cluster is first segmented in the Ca+Na+K+Mg+Sr-3P-Al+Si ternary plot. This evidences few pixels corresponding to P-apatite. The rest of the pixels are plotted in the Ca+Na+K+Mg+Sr-3S-Al+Si ternary plot which evidences pixels related to gypsum and S-apatite. The rest of the pixels are plotted in the Ca+Na+K+Mg+Sr-0.4Al+Si-3S+5Co ternary plot which evidences two clusters affiliated to S-apatite and gypsum. Their identification was confirmed by the determination of their average calculated unit formula (Table 4). (b) BSE image with the thresholded pixels. Note the possible overlap between gypsum and S apatite especially at the border of the grains (yellow arrow). The term APS refers to aluminum-phosphate-silicate phases that are speculated to be present but with no robust identification.

The remaining pixels were plotted in a (Ca+K+Mg+Na+Sr)-3S-(Al+Si) ternary plot (Fig. 11a). Some pixels were attributed to a gypsum-like phase ( $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). The term gypsum-like includes anhydrite, gypsum and any other Ca-sulfate phase with the same Ca/S stoichiometry but a different hydration level. Another group of pixels was attributed to S-apatite ( $\text{Ca}_5(\text{SO}_4)_3(\text{F}, \text{OH}, \text{Cl})$ ). S-apatites result from the substitution of  $\text{PO}_4$  by  $\text{SO}_4$  in an apatite structure. The distinction between S-apatite and gypsum-like phases was complicated because their theoretical endmembers were close to each other in terms of chemistry and they were both mixed with carbonates and silicates with some overlap of their mixture lines. The retrieval of two distinct mean mineral formulae from the purest pixels undoubtedly identified a gypsum-like phase with the following stoichiometry:  $(\text{Ca}_{0.52}\text{Na}_{0.17}\text{K}_{0.05}\text{Mg}_{0.18}\text{Co}_{0.03}\text{Si}_{0.02}\text{Al}_{0.07})(\text{C}_{0.02}\text{S}_{0.98}\text{O}_4)(\text{O}_{0.89}\text{F}_{0.02}, \text{Cl}_{0.03})$  and an S-apatite phase with the stoichiometry:  $(\text{Ca}_{3.07}\text{Na}_{0.64}\text{K}_{0.17}\text{Mg}_{0.32}\text{Fe}_{0.02}\text{Sr}_{0.03}\text{Co}_{0.17})(\text{P}_{0.02}\text{S}_{1.86}\text{Si}_{0.16}\text{Al}_{0.33}\text{C}_{0.63}\text{O}_{12})(\text{OH}_{0.68}, \text{F}_{0.22}, \text{Cl}_{0.10})$ . However, few gypsum-like pixels appeared within S-apatite grains after back-projection, suggesting also some overlapping mixture between both phases (Fig. 11b). TEM-SAED performed on a FIB foil extracted from this area showed the presence of  $\gamma$ -anhydrite ( $\gamma\text{-CaSO}_4$ , (Lager et al., 1984)) in agreement with the SEM identification of gypsum-like phases (Fig. 12). All the P and S-phases back-projected in the BSE image correspond to grains measuring few hundreds of nanometers in size (Fig. 11b). Furthermore, all these phases are located inside organic-rich microfossil areas. The remaining pixels (non-gypsum-like, non S-apatite) bearing S and Co were plotted in the (Ca+K+Mg+Na+Sr)-(3S+5Co)-(0.4Al+Si) ternary scatterplot (Fig. 11a). Even if no well-defined cluster was recognized, some pixels were distributed close to a solid solution between a Ca/Na/Sr-woodhouseite and a Al/Si-rich one and were tentatively attributed to “APS-like” mineral phases, the general mineral formula of which is  $\text{AB}_3(\text{XO}_4)_2(\text{OH})_6$ , where A is a large cation (such as  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ , REE), B may correspond to  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  or  $\text{Zn}^{2+}$  and X is dominated by P and S (Dill, 2001). However, no mineral formula with an accurate charge balance could be retrieved so that the true nature of these pixels remains undetermined. Some other pixels were affiliated to a mixture between these undetermined “APS-like” phases and silicates or carbonates.

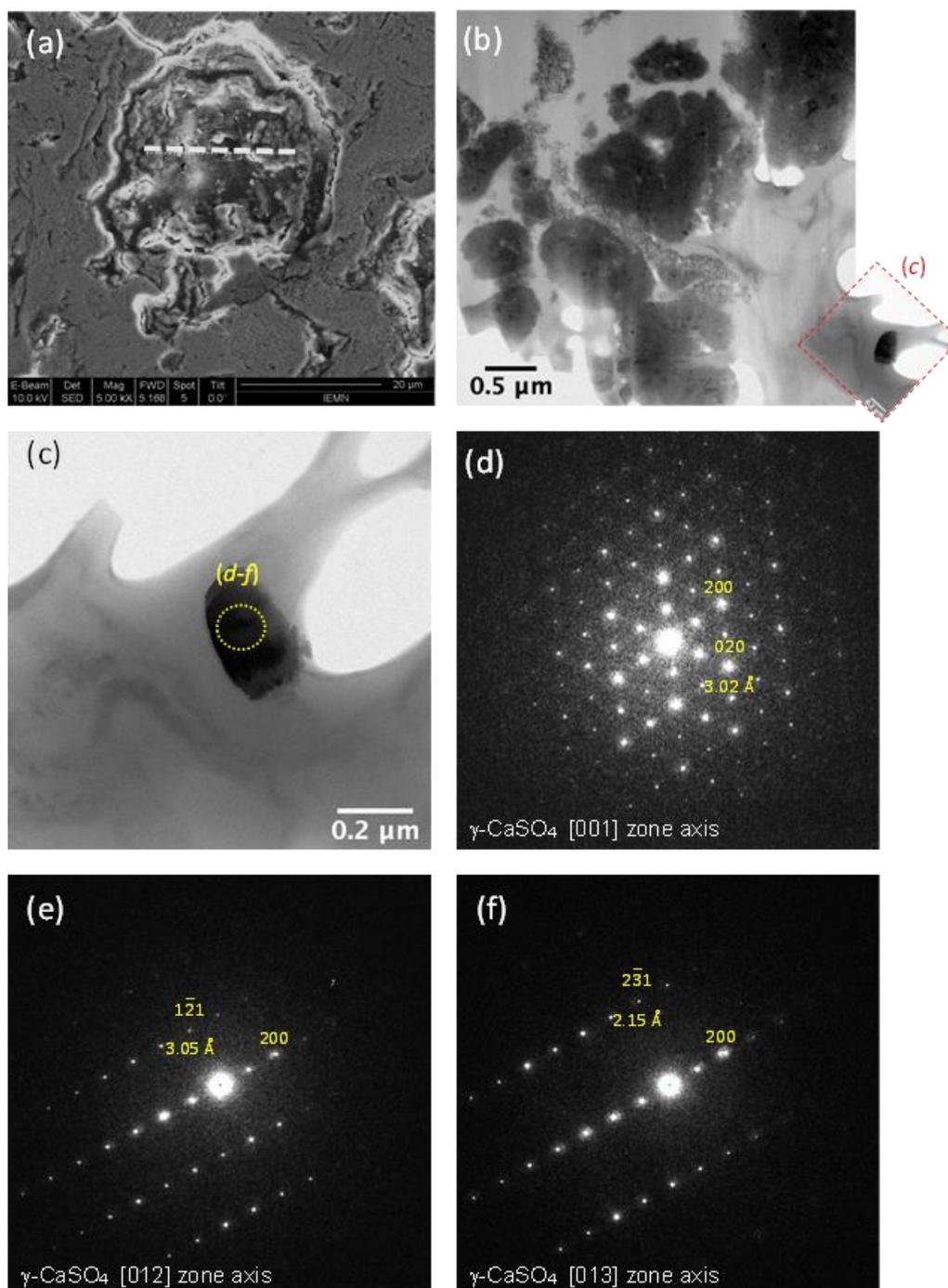


Fig. 12 TEM characterization of anhydrite (a) SEM image. The dashed white line outlines the location where the FIB foil was milled. (b) TEM bright-field image of part of the FIB foil. (c) Close-up of the area outlined in (b). The yellow circle outlines the area studied by SAED. (d-f) SAED patterns of the particle shown in (c) seen along different zone axes. They all match a  $\gamma$ -CaSO<sub>4</sub> (Lager et al., 1984)) structure observed along (d) [001], (e) [012] and (f) [013] zone axes.

### 3.4.3. Segmentation of quartz, feldspar, Al-phases and clay minerals

In order to segment the remaining pixels, they were plotted in a  $M\text{-Si}/4\text{-}2x(\text{AlFeMg})$  ternary plot, where  $M = 2 \times \text{Ca (mol\%)} + \text{Na (mol\%)} + \text{K (mol\%)}$  (Fig. 13a). First, quartz grains and their mixture with carbonates and other silicates were segmented. Then, non-segmented pixels were plotted in a  $2M\text{-Si-}2\text{Al}$  ternary diagram in order to discriminate Mg-rich silicates from Al-rich silicates, both mixed with carbonates (Fig. 13a). In this diagram, we could segment kaolinite in mixture with carbonates, and alkali feldspar (albite and orthose) also in mixture with carbonates (Fig. 13a). The pixels located along the  $2M - 2\text{Al}$  axis correspond to Al-rich and Si-free phases. These Al nanograins may correspond to contaminants from the alumina suspension used for the preparation of petrographic thin sections.

Al-poor-Mg-rich silicates were detected, distributed close to the Si-2M axis along a mixture line. One endmember of this mixture line is centered on the theoretical composition of talc/kerolite/sepiolite/serpentine. Sepiolite and serpentine did not match with the measured chemical compositions as shown by projections in the  $M\text{-Si}/4\text{-R2}$  ternary (Fig. S7a-b). Thus, this favors the presence of a talc-like phase (i.e., talc or kerolite). A more spatially resolved (pixel size of 61 nm) chemical map (Fig. 13b) was acquired in the area where talc-like phases were detected. It allowed to retrieve the following calculated mineral formula for the purest pixels:  $(\text{Ca}_{0.01}\text{Na}_{0.08})(\text{Si}_{3.96}\text{Al}_{0.04})(\text{Al}_{0.03}\text{Mg}_{2.82}\text{Fe}_{0.09}\text{Co}_{0.01})\text{O}_{10}((\text{OH}_{1.37})\text{F}_{0.14}\text{Cl}_{0.01})$ . Furthermore, TEM-SAED analyses of a FIB foil extracted from this area confirms the presence of a crystalline talc-like phase, i.e., talc or kerolite, which cannot be unambiguously distinguished from each other based on the available data (Fig. 14; Brindley et al., 1977).

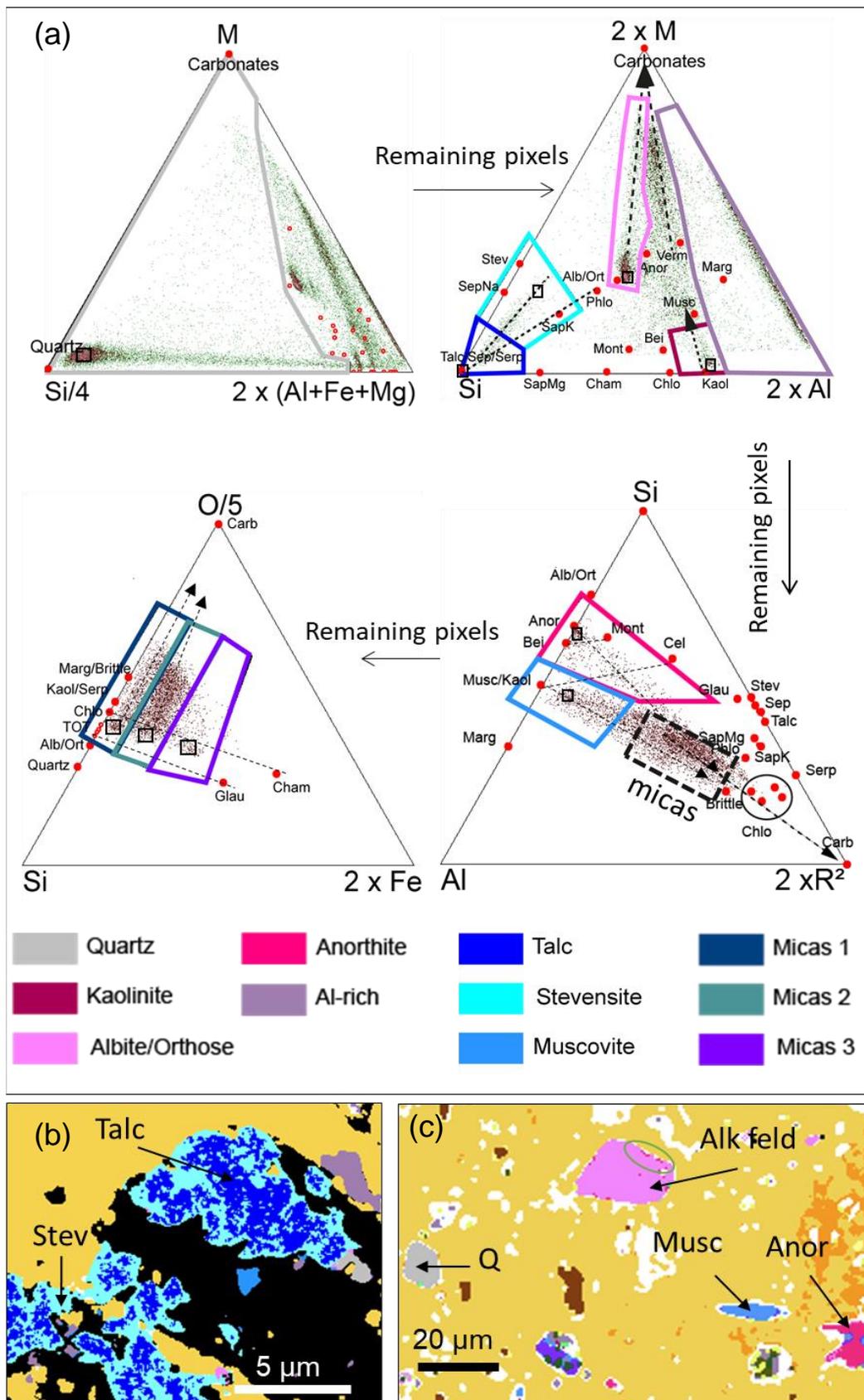


Fig. 13 Further segmentation of the non-carbonate cluster (silicate phases). (a) The pixels are first plotted in the M ( $2x\text{Ca}+\text{Na}+\text{K}$ )-Si/4- $2x(\text{Al}+\text{Fe}+\text{Mg})$  ternary plot to segment quartz. The remaining pixels are plotted in the  $2x\text{M}$ -Si- $2xA$  ternary plot allowing to segment kaolinite, albite/orthose, talc and Al-rich phases. Non segmented pixels are plotted in the Si-Al- $2 \times R^2$  ternary plot, where  $R^2 = \text{Mg (mol\%)} + \text{Fe (mol\%)}$ . Last, the remaining pixels are plotted in the Si-O/5- $2x\text{Fe}$  ternary plot. This allows segmenting pixels affiliated to 3 different types of micas. TOT refers to the trioctahedral phyllosilicates = talc/sepiolite/kerolite/saponite/stevensite) (b) Mineral map calculated from a small hypermap ( $18 \times 14 \mu\text{m}^2$ , pixel size = 61 nm) centered around a talc-rich area. Note the presence of the talc-like phase (in blue) surrounded by a stevensite-like phase (Stev) in cyan. (c) Close-up of the alkali feldspar (Alk feld = orthose + albite), anorthite (Anor), muscovite (Musc) and quartz (Q) clusters back-projected on the BSE. Note the physical contacts between alkali feldspar and anorthite which explain the existence of mixing trends between these phases (green circle).

In the  $2\text{M}-\text{Si}-2\text{Al}$  ternary diagram (Fig. 13a), pixels corresponding to the pure talc-like cluster stretch along a line. This can be explained by the fact that chemical compositions of clay minerals can be highly complex due to diverse extended solid solutions. When  $\text{Al}^{3+}$  substitutes a  $\text{Si}^{4+}$  in a tetrahedral sheet, this causes a charge deficiency in the T-O-T layer which is compensated by  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{Na}^+$ , bonded in-between successive T-O-T layers as observed in saponite/phlogopite (or iron-rich glauconite). For trioctahedral phyllosilicates, the decrease of  $\text{Mg}^{2+}$  content (or  $\text{Fe}^{2+}$ ) in the octahedral sheet, induces a similar increase of the layer charge as observed for stevensite. Consequently, the talc-like cluster stretch can be interpreted as a solid solution/mixture between talc and either (i) glauconite or (ii) a phase or a mixture of phases located in-between stevensite and saponite. In the Si-Al- $R^2$  ternary plot (where  $R^2 = \text{Mg (mol\%)} + \text{Fe (mol\%)}$ ), Fig. S6b), the above-mentioned cluster radiating from talc does not elongate towards glauconite. Therefore, a simple talc/glauconite mixture is unlikely. Furthermore, the retrieved calculated mineral formula is  $(\text{Na}_{0.19}\text{K}_{0.99}) (\text{Si}_{2.98}, \text{Al}_{1.02}) (\text{Al}_{1.80}\text{Mg}_{0.17}\text{Fe}_{0.10}\text{Co}_{0.01}) \text{O}_{10}((\text{OH})_{1.43} \text{F}_{0.18}\text{Cl}_{0.01})$ . The low iron content further confirms that it does not match with glauconite. However, the mineral formula suggests both a saponite-like feature (relatively high tetrahedral Al) and a stevensite-like feature (relatively lower Mg octahedral occupancy). Tetrahedral and octahedral charges are balanced by interlayer Ca and Na. When back-projected on the BSE image, this phase/mixture of phases surrounds the pure talc inner cores in some grains and it is associated to microfossils.

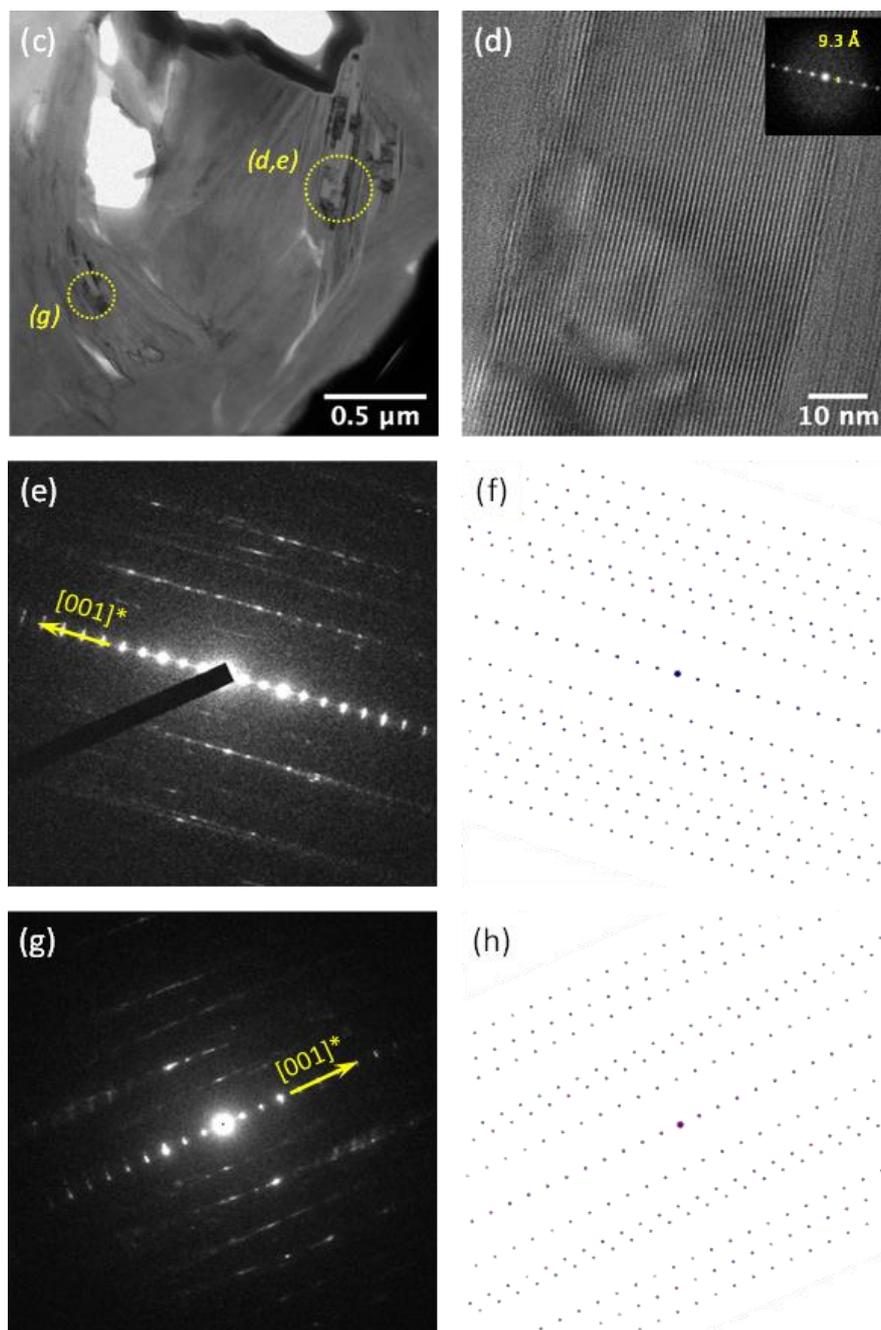


Fig. 14 Study of the talc-like phase (talc and/or kerolite). (a) SEM image showing the location from where the FIB foil was extracted (white dashed line). (b) STEM-HAADF image of the FIB foil extracted from the area outlined in (a). (c) Bright-field TEM close-up of the area outlined in (b), containing the talc-like phase. (d) HRTEM image showing the (001) planes of talc-like platelets. The insert shows the fast Fourier transform (FFT) pattern indicating a d-spacing equal to 9.3 Å. (e) SAED pattern related to the areas labelled (d,e) in image (c); (f) corresponding simulation calculated using a talc structure observed along [110]. (g) SAED pattern measured on the area labelled (g) in image (c); (h) corresponding simulation using a talc structure observed along [110] and [310] directions.

Last, pixels affiliated to anorthite are difficult to segment because their distribution overlaps that of pixels corresponding to mixtures between carbonates and other phyllosilicates located in the bottom part of the ternary plot (Fig. 13a). Among them, a cluster widely spread around the muscovite endmember is suspected. Overall, there are two remaining clusters of pixels: (i) one corresponds to anorthite and (ii) the other one to muscovite. Both are mixed with carbonates. The remaining pixels were plotted in a Si-Al-2R<sup>2</sup> ternary plot (Fig. 13a) in order to properly segment these two clusters. Anorthite and muscovite-containing pixels had the following calculated mineral formula for the purest pixels:  $(\text{Na}_{0.76}\text{Ca}_{0.23}\text{K}_{0.03})(\text{Si}_{2.66}\text{Al}_{1.37})(\text{O}_{7.82}\text{F}_{0.05})$  and  $(\text{Ca}_{0.15}\text{Na}_{0.18}\text{K}_{0.80})(\text{Al}_{1.05}\text{Si}_{2.95})(\text{Al}_{1.74}\text{Mg}_{0.17})\text{O}_{10}(\text{OH}_{1.97})$ , respectively. Finally, several pixels plotted in the central part of the Si-Al-2R<sup>2</sup> ternary plot. They correspond to mixture lines between carbonates and both muscovite and anorthite but also another phase with a composition close to that of micas such as phlogopite or brittle micas. These remaining unidentified pixels in the micas area were plotted in an O/5-Si-2Fe ternary plot (Fig. 13a). Pixels scattered along mixing lines between carbonates and three clusters. All three clusters are close to the TOT – glauconite mixing line and beneath the chlorite-chamosite mixing line. No theoretical calculated mineral formula perfectly matched these three pixel-clusters. Overall, all pixels containing these diverse silicate phases were back-projected on the BSE image (Fig. 13c). They were distributed in the bottom right-hand corner dark lamina of Figure 6, which contains no microfossil (Fig. 6b).

#### 3.4.4. Summary mineralogical map and calculated mineral formulae

Overall, we computed a mineralogical map displaying the distribution of all the identified mineral phases (Fig. 15), together with their associated calculated mineral formula and relative abundance (Table 4). With a mineral content of c.a. 80%, carbonates are the most abundant mineral phases, which was confirmed at a larger scale by bulk analyses. The mineralogical map highlights the remarkable distribution of the Mg/Ca ratio in calcite, with a higher Mg content within calcite around microfossils. The calculated mineral formulae for calcite show variations of the Mg/Ca from 0.02 in LMC up to 0.53 in VHMC. HMC 2 and VHMC are distributed in bright laminae and have an average Mg substitution of 0.21 and 0.53, respectively. With an average Mg/Ca of 0.15, HMC 1 is distributed in both bright and dark laminae. Some other phases such as (i) the Sr-rich carbonate, confirmed as aragonite owing to TEM-SAED, as well

as (ii) clay minerals, are mostly distributed in dark laminae. The Sr/Ca in LMC, HMC 1 and HMC 2 is less than 0.2%, whereas it is more than 1% in aragonite. The mineral formula retrieved for carbonates with a C:O close to 1:3 confirms the good accuracy of the method for the determination of the calculated mineral formulae. The mineralogical map shows that P- and S-bearing phases measure few micrometers in size. They represent less than 0.5% of the mineral content. Their phases are borne by a small number of pixels, which make their identification difficult and they are distributed inside microporosities. Furthermore, they have a complex structure with various possible substitutions especially in apatite as shown here (Table 4) and in the literature (Nathan, 1984; McClellan and Van Kauwenbergh, 1990; Hughes and Rakovan, 2002; Pan and Fleet, 2002). Regarding silicate phases, quartz and feldspar are the most abundant ones and can reach centimeters in size. The determination of some phases remains uncertain: aluminum-phosphate-sulfate-like phases and micas. S-apatite is robustly supported by stoichiometric analyses. The identification of other phases is further supported by TEM data.

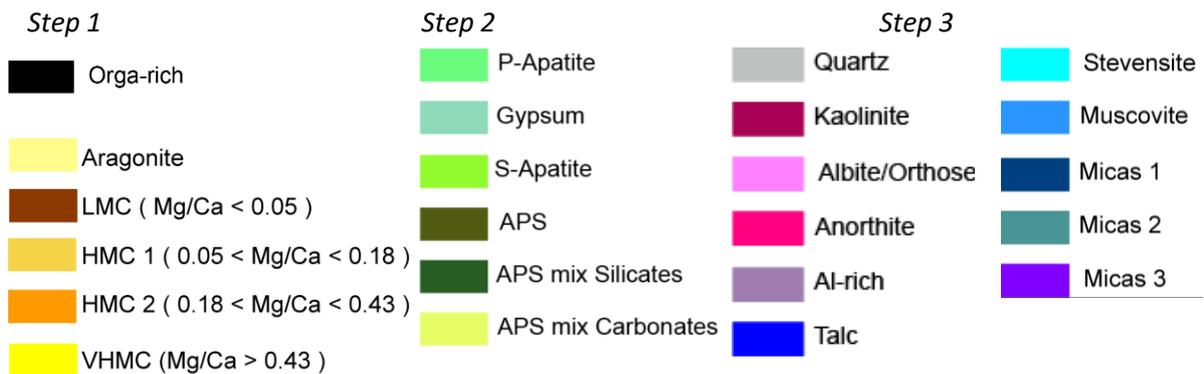
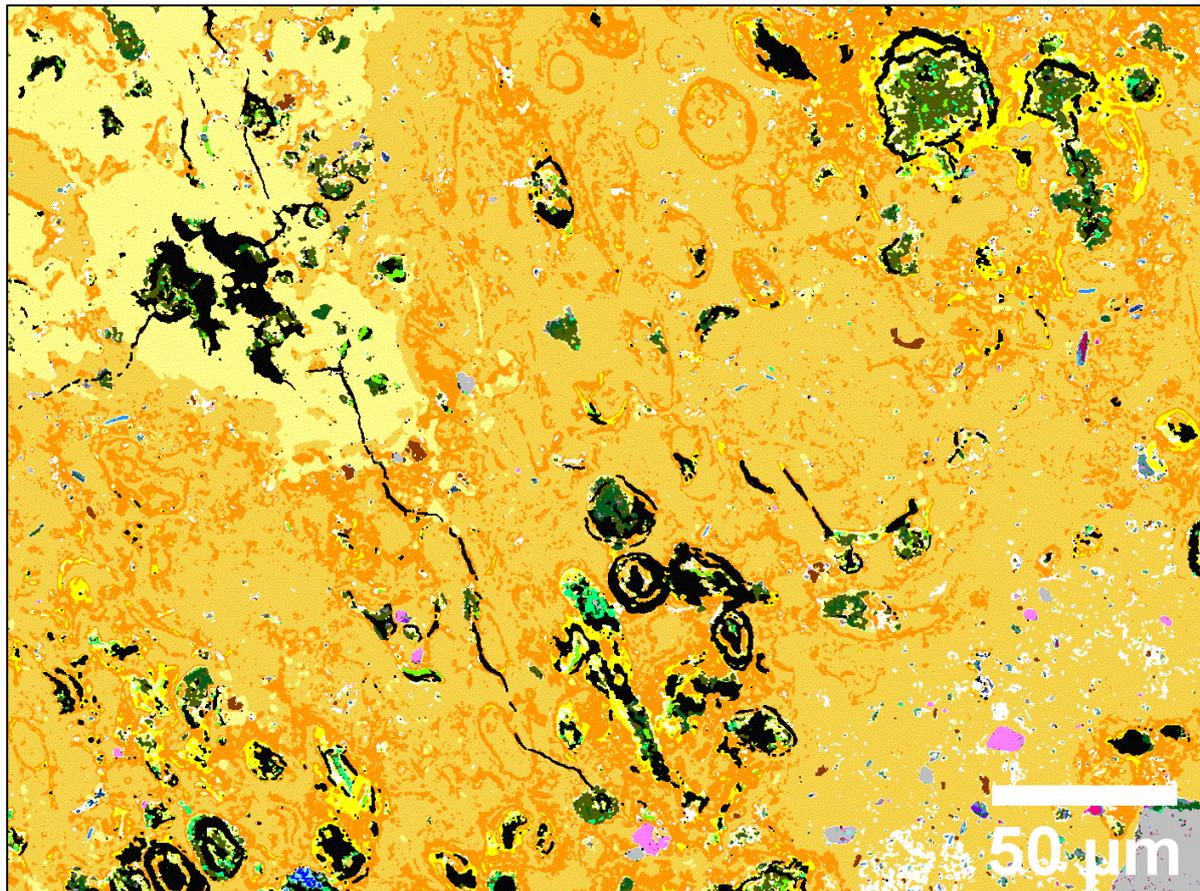


Fig. 15 Mineralogical map of the analyzed area of Mari Ermi stromatolite, obtained after successive segmentation steps (carbonates, and P-/S-bearing phases and silicates/feldspar/clays). The white spots correspond to grains that were too small to be robustly segmented (e.g., mixtures between non-porous carbonates and non-carbonates phases in Fig. 8).

Table 4 Average calculated unit formula and mineral content of the mineral phases detected in Mari Ermi stromatolites and calculated from the SEM-EDXS hypermaps. Unit formulae have been calculated for a sum of 5 cations in the octahedron site for apatite; a sum of 1 cation in the calcium site for gypsum-like, and using a stoichiometric oxygen basis calculated from all the measured cations (including C for carbonates) for other minerals.

Mineral	Calculated stoichiometric formula	Mg/Ca	Mineral content (%)
Aragonite	$(\text{Mg}_{0.013}\text{Sr}_{0.014}\text{Fe}_{0.005}\text{Ca}_{0.97})\text{C}_{0.93}\text{O}_{2.8}\text{F}_{0.042}$	0.012	9
LMC	$(\text{Mg}_{0.022}\text{Sr}_{0.002}\text{Fe}_{0.009}\text{Ca}_{0.97})\text{C}_{0.98}\text{O}_{3.0}\text{F}_{0.042}$	0.023	0.2
HMC 1	$(\text{Mg}_{0.13}\text{Sr}_{0.003}\text{Fe}_{0.008}\text{Ca}_{0.86})\text{C}_{0.94}\text{O}_{2.9}\text{F}_{0.046}$	0.15	52
HMC 2	$(\text{Mg}_{0.19}\text{Sr}_{0.003}\text{Fe}_{0.01}\text{Ca}_{0.82})\text{C}_{0.94}\text{O}_{2.8}\text{F}_{0.057}$	0.21	21
VHMC	$(\text{Mg}_{0.34}\text{Sr}_{0.002}\text{Fe}_{0.02}\text{Ca}_{0.64})\text{C}_{0.97}\text{O}_{2.9}\text{F}_{0.066}$	0.53	3
P-apatite	$(\text{Ca}_{3.0}\text{Na}_{0.66}\text{K}_{0.10}\text{Mg}_{0.32}\text{Fe}_{0.09}\text{Sr}_{0.01}\text{Si}_{0.13}\text{Al}_{0.59})(\text{P}_{2.64}\text{S}_{0.13}\text{Si}_{0.01}\text{O}_{12})(\text{OH}_{0.32},\text{F}_{0.55},\text{Cl}_{0.33})$		0.3
S-apatite	$(\text{Ca}_{3.07}\text{Na}_{0.64}\text{K}_{0.17}\text{Mg}_{0.32}\text{Fe}_{0.02}\text{Sr}_{0.03}\text{Co}_{0.17})(\text{P}_{0.02}\text{S}_{1.86}\text{Si}_{0.16}\text{Al}_{0.33}\text{C}_{0.63}\text{O}_{12})(\text{OH}_{0.68},\text{F}_{0.22},\text{Cl}_{0.10})$		0.2
Gypsum-like	$(\text{Ca}_{0.52}\text{Na}_{0.17}\text{K}_{0.05}\text{Mg}_{0.18}\text{Co}_{0.03}\text{Si}_{0.02}\text{Al}_{0.07})(\text{C}_{0.02}\text{S}_{0.98})(\text{O}_{4.89}\text{F}_{0.02},\text{Cl}_{0.03})$		0.04
Quartz	$\text{Si}_{0.95}\text{O}_{2.0}$		0.7
Kaolinite	$\text{Al}_{2.0}\text{Si}_{1.9}\text{O}_4(\text{OH})_{3.8}$		0.03
Alkali feldpsar	$(\text{Na}_{0.85}\text{K}_{0.23}\text{Ca}_{0.01})(\text{Si}_{2.90}\text{Al}_{1.09})(\text{O}_{7.89},\text{F}_{0.05})$		0.2
Anorthite	$(\text{Na}_{0.76}\text{Ca}_{0.23}\text{K}_{0.03})(\text{Si}_{2.66}\text{Al}_{1.37})(\text{O}_{7.82},\text{F}_{0.05})$		0.3
Talc-like	$(\text{Ca}_{0.01}\text{Na}_{0.08})(\text{Si}_{3.96}\text{Al}_{0.04})(\text{Al}_{0.03}\text{Mg}_{2.82}\text{Fe}_{0.09}\text{Co}_{0.01})\text{O}_{10}((\text{OH})_{1.37}\text{F}_{0.14}\text{Cl}_{0.01})$		0.02
Stevensite-like	$(\text{Na}_{0.19}\text{K}_{0.99})(\text{Si}_{2.98},\text{Al}_{1.02})(\text{Al}_{1.80}\text{Mg}_{0.17}\text{Fe}_{0.10}\text{Co}_{0.01})\text{O}_{10}((\text{OH})_{1.43}\text{F}_{0.18}\text{Cl}_{0.01})$		0.02
Muscovite	$(\text{Ca}_{0.15}\text{Na}_{0.18}\text{K}_{0.80}(\text{Al}_{1.74}\text{Mg}_{0.17})(\text{Si}_{2.95}\text{Al}_{1.05})\text{O}_{10}(\text{OH})_{1.97}$		0.05

## 4. Discussion

### 4.1. Mineralogy of carbonates and origin of the laminae in Mari Ermi stromatolites

X-ray diffraction, FTIR,  $\mu$ XRF, and SEM-EDXS analyses all consistently show that magnesian calcite is the main mineral phase composing Mari Ermi stromatolites. Moreover, FTIR analyses together with TEM-SAED analyses demonstrate the presence of aragonite in minor abundance. Aragonite appears as a Sr-enriched and Mg-poor carbonate phase arranged in fine layers within bright laminae, as attested SEM-EDXS analyses. The Sr/Ca ratio of these carbonates reached up to 1.4, compatible with the ratio measured for some aragonite occurrences reported in the literature (Siegel, 1960; Katz et al., 1972). Bulk analyses agree with spatially resolved analyses about an average Mg/Ca ratio of  $\sim 0.1 - 0.2$  in calcite. This ratio is commonly found in high-Mg calcite, (Paquette and Reeder, 1990; Stanienda-Pilecki, 2018). However, at the micrometer scale,  $\mu$ XRF and SEM-EDXS analyses show that there is not just one single calcite phase in Mari Ermi stromatolites with one single Mg/Ca value but several carbonate phases instead, with varying Mg/Ca ratios. In particular, SEM-EDXS analyses show the presence of low-Mg calcite grains with a Mg/Ca lower than 0.05 on one hand, and on the other hand a solid solution of high-Mg calcite with a Mg/Ca ratio varying continuously from 0.05 to 0.43. Mg-Ca carbonates with varying Mg substitutions were also reported in single stromatolites from the hypersaline Lagoa Vermelha (Keim et al., 2020) and the soda lake Petukhovskoe (Samylina and Zaytseva, 2019). Lagoa Vermelha shares some environmental similarities with Mari Ermi, which may explain the variations in the Mg content of calcite as further discussed later: they are both shallow coastal ponds with seasonal salinity fluctuations between brackish and hypersaline conditions (Bahniuk et al., 2015a; Moreira et al., 2004; Spadafora et al., 2010; Van Lith et al., 2002; Vasconcelos et McKenzie, 1997). Interestingly, calcite phases with diverse Mg contents were not randomly distributed in Mari Ermi stromatolites. At a global scale, the SEM-EDXS mosaic as well as the  $\mu$ -XRF maps highlight that the laminae distribution is correlated with the Mg/Ca variations: calcite in bright laminae has a Mg content higher than calcite in dark laminae. Two possible non-exclusive scenarios may explain the fluctuating Mg content observed in calcite in the Mari Ermi stromatolites.

#### 4.1.1. 1<sup>st</sup> scenario: full abiotic control of the mineralogy of Mari Ermi stromatolites

A first “abiotic evaporitic” hypothesis suggests that variations of Mg/Ca in calcite result from the evaporitic context of Mari Ermi. Indeed, carbonate mineralogy and chemical composition have been shown to be primarily controlled by the Mg/Ca ratio of the aqueous solution in which they form (Müller et al., 1972). Moreover, it has been shown that upon net evaporation, the dissolved Mg/Ca of water in ponds increases because almost pure calcite precipitates first (Hardie and Eugster, 1970). With the increase of the dissolved Mg/Ca, precipitating calcite becomes increasingly enriched in Mg. When evaporation proceeds further, other mineral phases may start to precipitate. Their identity depends on the initial chemical composition of the ponds, especially the  $(Ca+Mg)/2*(HCO_3^-)$  ratio (Hardie and Eugster, 1970). If enough carbonates remain in solution, some other carbonate phases may precipitate such as aragonite, huntite or hydromagnesite (Zeyen et al., 2021). Aragonite precipitates at a relatively high aqueous Mg/Ca ratio (although it contains very little Mg) because it is not kinetically inhibited by the presence of Mg, whereas calcite is (Berner, 1975). Therefore, the identification of some Sr-bearing aragonite in dark laminae, where no or only few microfossils are observed, might be explained by a relatively higher aqueous Mg/Ca ratio at the time this phase precipitates. Consistently with this scenario, Carvalho et al. suggested that the co-occurrence of HMC and aragonite in Lagoa Vermelha stromatolites resulted from different seasonal conditions (Carvalho et al., 2018). In our study, the rare occurrence of aragonite suggests that when the dissolved Mg/Ca is high enough to be conducive to aragonite precipitation, only little bicarbonate is left in the solution and therefore only limited carbonate precipitation occurs before the precipitation of other salts.

Furthermore, aragonite is only found in the upper layers of Mari Ermi stromatolites. This may be due to a poor preservation of aragonite and a diagenetic transformation of this phase over time. Starting from seawater, evaporation usually ends with the precipitation of sulfate phases before chlorides. Accordingly, anhydrite and halite were observed, which could be the last minerals forming in the evaporative sequence described by Hardie and Eugster (1970). While we suspect that halite grains observed in the  $\mu$ -XRF analyses are not in place and may have been artefactually mobilized to the surface of the sample during sample preparation, we assume that anhydrite was in place. Since we did not detect major amounts of gypsum-like phases in the stromatolites, it is possible that (i) they precipitate at some stage but then dissolve back, once less saline conditions reappear in the next season and/or (ii) that microbialites do not grow or grow only little during the high salinity episodes when those phases precipitate. Overall, this first scenario follows the idea that mostly the geochemical conditions of the environment impact

the mineralogy and chemical composition of the Mari Ermi stromatolites. And also, that the mineralogical composition of Mari Ermi stromatolites does not record exhaustively the full range of salinities encountered in the Mari Ermi ponds, i.e. records only to a limited extent the most advanced stages, when halite and gypsum precipitate. This hypothesis is also consistent with the experimental study by Ries et al. (Ries et al., 2008), who advocated for an “abiotic-like” mineralogical response of bacterial biofilms to altered seawater Mg/Ca ratios upon CaCO<sub>3</sub> mineralization. They concluded that biofilm carbonatogenesis operates more through alkalization than a local change of the dissolved Mg/Ca ratio in their microenvironment.

#### *4.1.2. 2<sup>nd</sup> scenario: biological control of the mineralogy of Mari Ermi stromatolites*

The second hypothesis is that the high to very high enrichment of Mg in calcite is biologically driven. This is in line with several studies emphasizing the role of microorganisms in high-Mg calcite formation (Van Lith et al., 2003; Kaczmarek et al., 2017). In particular, the role of sulfate-reducing bacteria has been pointed out, possibly involving an increase of pH and sulfate removal (Van Lith et al., 2003; Vasconcelos et al., 2006; Spadafora et al., 2010). As revealed by SEM-EDXS analyses, the spatial distribution of the high Mg-calcite is strongly correlated with the distribution of microbial fossils.

In our study, variations of the Mg/Ca ratio of calcite distribute along a gradient around microfossils. We note that this spatial correlation between microbial fossils and high Mg-calcite was observed even within a single lamina. In other words, we not only evidence different Mg/Ca compositions between two laminae but we also detect calcite phases with very different Mg/Ca ratios close to each other. The ones with the highest Mg/Ca are associated with fossil microbes. This supports the idea that Mg/Ca variations might be mostly due to the proximity of microorganisms and not the prevailing global aqueous conditions, since the impact of the latter would be expected to be observed at a larger scale only (e.g., between different laminae).

Several studies, including some using cultivated strains have shown that some microorganisms promote the formation of carbonate phases with a Mg content higher than what would be expected from the dissolved Mg/Ca ratio of the solution (Van Lith et al., 2003; Stephenson et al., 2008; Zhang et al., 2015; Al Disi et al., 2017, 2019; Han et al., 2017). The exact mechanism of the modulation of carbonate Mg content and the formation of high-Mg calcite remains

uncertain but all these studies agree on the crucial role of organic molecules such as those composing exopolymeric substances (EPS), polyacrylic and polyaspartic acids, peptides or other carboxylated organic acids (Raz et al., 2000; Wang et al., 2009; Zhang et al., 2015; Liu et al., 2020). Zhang et al., 2015 suggested that this catalytic effect may result from interactions between organic molecules and the surface of calcite which displace water molecules, limiting hydration of  $Mg^{2+}$  and thereby facilitate  $Mg^{2+}$  incorporation within the carbonate phase structure. Overall, what we see in Mari Ermi laminae might be a consequence of such a high Mg incorporation in carbonate phases catalysed by e.g., the sheath of cyanobacteria and leading to their permineralization. Whether only specific organic molecules excreted by specific bacteria may be more prone to induce this Mg enrichment will need to be assessed in the future. Here, the precise taxonomic affiliation of the microfossils around which Mg enrichment occurs could not be achieved. However, based on the morphology of some of these fossils, i.e. filaments measuring several micrometers in length and width, Saint Martin and Saint Martin, (2015) suggested that they might affiliate with *Scytonema*-like filaments, similar to the ones observed in surficial biofilms. Last, we also observe at a local scale that Mg enrichments correlate with Fe and F enrichments. While the creation of locally anoxic microenvironments may explain enrichments in Fe, the origin of F enrichment remains to be explained in the future.

A last possibility conciliating the two scenarios is that the microbially-mediated enrichment of calcites in Mg might be accentuated in evaporitic environments, i.e. physico-chemical conditions prevailing in Mari Ermi lagoons may be crucial so that biological factors promote high Mg-carbonates formation. This idea is in line with recent studies which are studying the influence of abiotic parameters (e.g. pH, temperature, Mg/Ca, salinity) on the precipitation of microbially mediated Mg-carbonates (Al Disi et al., 2019, 2021). For instance, in a sabkha environment, salinity, temperature, Mg/Ca (Al Disi et al., 2019) and carbonate supply (Al Disi et al., 2021) have a strong effect on bacterial activity, which in turn affect the incorporation of Mg within the calcite.

Overall, a general scenario for the laminae formation could be the following (Fig. 16): (1) a biofilm settles at the surface of Mari Ermi stromatolites in a solution with a chemical composition close to that of seawater. At times of elevated salinity and high Mg/Ca ratio, high-Mg calcite starts permineralizing cyanobacteria filamentous sheaths and some high Mg-calcite also possibly forms in decaying matrices of EPS. Meanwhile, because of extreme fluctuations and steep chemical gradients occurring within the microbial mats, Mg-calcite with a lower Mg/Ca also crystallizes. Then, upon evaporation and the increase of dissolved Mg/Ca and salinity, some aragonite form. When bicarbonates finally lack, sulfate phases start precipitating. With time and degradation of the EPS, the individual carbonate layers merge together and lithify according to the amalgamation process (Bahniuk et al., 2015b; Vasconcelos et al., 2014). With conditions becoming harsher, microbes become inactive and the stromatolite stops growing. Sulfates and halite may further precipitate but they partly dissolve in the next season when water is supplied again. However, 2) A new season favorable for precipitation starts over, but this time, because there is little biomass and/or a low dissolved Mg/Ca, dark laminae, which are thicker and denser with a Mg/Ca between 0.05 and 0.1, form. At this point, freshwater excursions (meteoric water and/or groundwater) could affect the balance of dissolved nutrients (P, N) and/or trace metals (e.g., Zn, Mn), which may in turn impact the microbially mediated precipitation of Ca-phosphate and especially Mg-containing calcite phases.

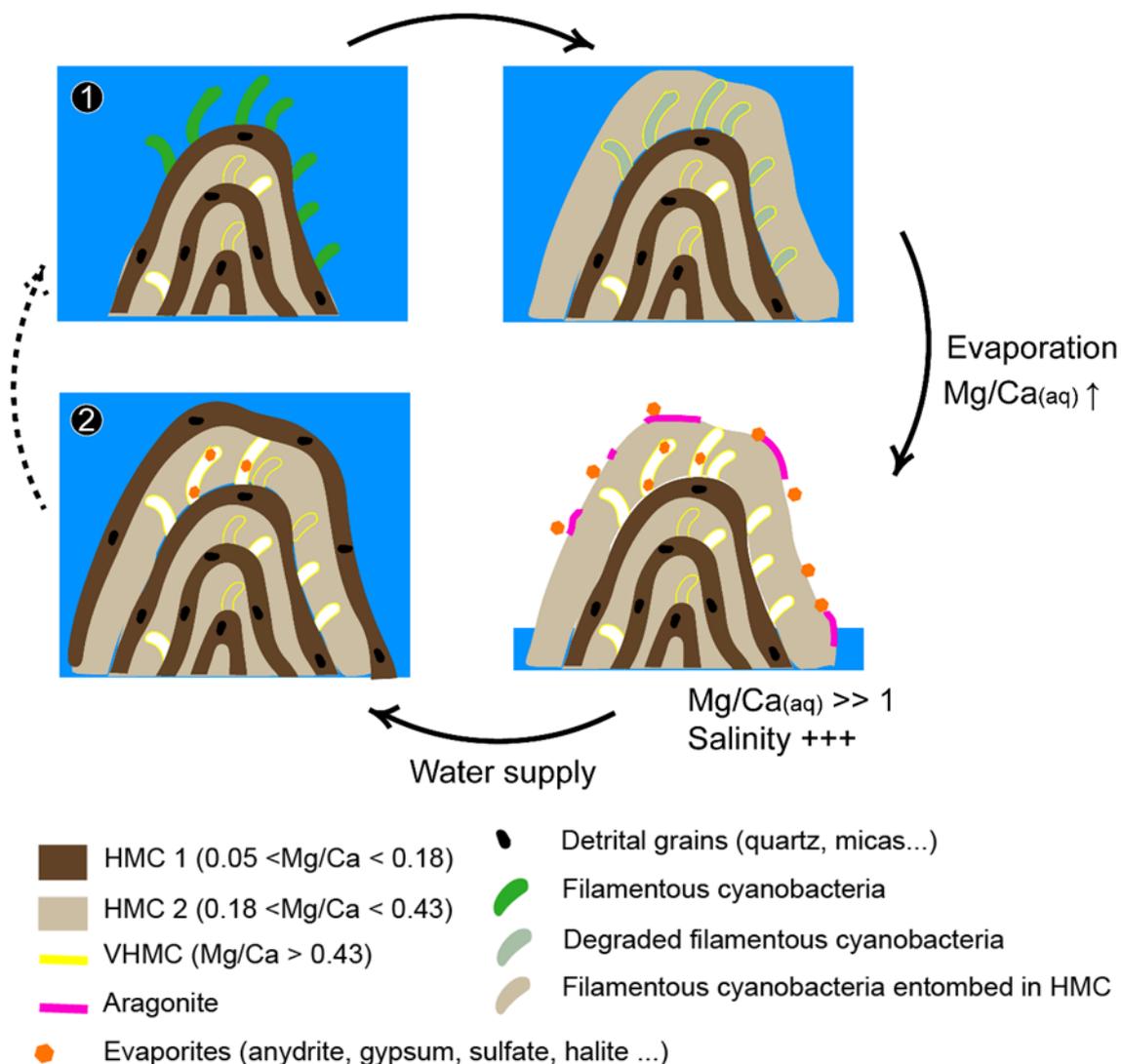


Fig. 16 Proposed sketch for the formation of Mari Ermi stromatolites over seasons. (1) Permineralization of the bacteria sheaths resulting in the formation of a bright lamina composed of HMC2 with a Mg/Ca higher than ~ 0.18. (2) Formation of a dark lamina composed of HMC1 with a Mg/Ca lower than 0.18. Note that no mineral phases related to Mari Ermi evaporation is recorded in the stromatolitic layers unless they are trapped and preserved in the microporosities.

*4.2. Advantage of the quantitative SEM-EDXS approach: identifying possibly authigenic minor phases and their paleoenvironmental message*

This study provides a clear example of the necessity to quantify and process EDXS analyses to retrieve the highest amount of mineralogical information in an heterogeneous sample. First, quantifying EDXS hypermaps was essential to reliably assess the distribution of chemical elements in our samples. Indeed, whereas the raw EDXS maps of Ca and Mg (Fig. S9) suggested a quite homogeneous distribution, this was proved wrong by quantified maps which depicted a much more complex and informative pattern, with Mg enrichment of calcite around microfossils as discussed above. Then, although the BSE mosaic (Fig. S2) and BSE micrographs (Fig. 6) provide a slightly better spatial resolution than EDXS maps and are faster to acquire, contrast variations between some of the mineral phases are not high enough to clearly differentiate them, whereas they can be detected by quantified EDXS mapping.

Because the capability to identify the smallest grains requires to achieve the smallest beam interaction volume as possible, we used the lowest voltage that allowed exciting the X-ray emission lines of all chemical elements of interest. While bulk analyses such as FTIR and XRD detected only few mineral phases in Mari Ermi stromatolites, quantified SEM-EDXS maps at high spatial resolution allowed the detection of many more “minor” phases, both allochthonous and authigenic. As discussed below, the latter phases may provide clues about the geochemical and possibly biological conditions controlling their formation.

A first class of mineral phases undetected by bulk analyses but evidenced by SEM analyses was clay minerals. We advocate that some of these clays are authigenic, i.e. formed by direct precipitation from an aqueous solution (neoformed), or resulting from the transformation of a precursor (such as e.g. a detrital clay). Authigenic clays are particularly interesting since they have been shown to provide insight into the chemistry of the water in which they form/transform. Here, we detected some Al-poor and Mg-rich phyllosilicates by SEM-EDXS. They chemically resemble the amorphous Mg-phyllosilicates that have been increasingly found in modern carbonate microbialites (Zeyen et al., 2015; Chagas et al., 2016) and that precipitate spontaneously from alkaline, Mg- and  $\text{H}_4\text{SiO}_4$ -rich solutions (Birsoy, 2002; Tosca et al., 2011; Tosca and Masterson, 2014) Considering the low concentration of dissolved  $\text{H}_4\text{SiO}_4$  in Mari Ermi water (Table S5), compared with other Mg-silicate-forming environments (Zeyen et al.,

2015), we assume that Si may be provided by diatoms, which are abundantly found in this ecosystem (Saint Martin and Saint Martin, 2015). We note that in Mari Ermi they appear crystalline as attested by TEM-SAED on the contrary to many amorphous occurrences reported in freshwater systems. This might be due to a higher degree of dehydration (Tosca and Masterson, 2014), resulting from the particular environmental conditions at Mari Ermi. In Mari Ermi, these phyllosilicates are detected in association with the “organic-rich phase” cluster suggesting a possible intimate association of these mineral phases with organic matter, if the latter is not just resin. Similarly, past studies reporting these phases evidenced their frequent association with organic molecules, especially extracellular polymeric substance (EPS) that may favour their precipitation (Konhauser and Urrutia, 1999; Souza-Egipsy et al., 2005; Perri et al., 2017; del Buey et al., 2018, 2021; Pace et al., 2018). It has been shown that the nature of the Mg-phyllosilicate phase that is precipitated (i.e. sepiolite, stevensite, talc or kerolite) depends on the prevailing environmental conditions, especially salinity (Decarreau, 1980; Klopogge, 1999; Pozo, 2000; Tosca and Masterson, 2014). In Mari Ermi, TEM SAED and SEM-EDXS indicate that this phase was a talc-like phase (talc or kerolite). Moreover, EDXS data suggest the presence of a zoning with a talc-like phase in the center and stevensite which shows Al-enrichment (saponite like) in the outer part. According to Tosca and Masterson, (2014), stevensite preferentially forms in seawater at a high Mg/Si ratio ( $Mg/Si > 6$ ) and at pH around 9 which is compatible with the conditions prevailing in Mari Ermi (Table S5) but the evolution detected from talc-like inner cores towards stevensite/saponite in the outer part will need further studies to be associated with the geochemical evolution of Mari Ermi solution.

Another example of mineral phases undetected by bulk analyses but evidenced by quantitative SEM-EDXS analyses are the P- and S-bearing phases. P-bearing phases usually consist of P-apatite, which is widely found in nature and have lately been increasingly reported in carbonate deposits/microbialites from alkaline lakes (Zeyen et al., 2021; Pietzsch et al., 2022). Some F and Cl enrichment was detected in P-apatite, consistent with the presence of chlor- and fluoro-apatite. In Mari Ermi stromatolites, P-apatite phases may result from the diagenetic decomposition of P-containing organic matter and the diversion of part of the released orthophosphate anions to apatite precipitation favored by the high Ca concentration in seawater (Baturin, 1982, 1988). Alternatively, they may form authigenically with relatively high dissolved orthophosphate concentrations possibly favored by evaporation and high alkalinity as suggested by Pietzsch et al. (2022).

S-bearing phases encompass gypsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), corresponding dehydrated phases (basanite, anhydrite) and S-apatite (e.g., cesanite,  $\text{Ca}_2\text{Na}_3[(\text{OH})(\text{SO}_4)_3]$ ). Anhydrite in Mari Ermi stromatolites is interpreted as an evaporitic byproduct as mentioned above. The well equilibrated unit formula highlights strong substitution of Ca by Na, Mg, Al. More surprisingly, we also clearly detect S-bearing phases which differ from gypsum based on their stoichiometry and are affiliated to S-apatite. Compared to apatite, the substitution of  $\text{PO}_4^{3-}$  by  $\text{SO}_4^{2-}$  in S-apatite results in a negative charge deficit, which is compensated by an increase of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  substituting calcium. Here, some substitutions of S by Si/Al and Ca by Co are detected when retrieving the unit formulae. S-apatite also contained Cl and F similarly to P-apatite. Unfortunately due to their very small size, these particles could not be successfully retrieved by FIB for further TEM analyses. To our knowledge, S-apatites have not been reported in microbialites before. Interestingly, some occurrences of these phases have been reported in low-temperature systems, especially in caves (Onac et al., 2001). In these cases, cesanite was associated with hydroxylapatite and filled corroded pits in gypsum. It was suggested to precipitate directly from a sodium- and sulfate-rich, calcium-depleted solution, possibly following gypsum precipitation (Onac and Vereş, 2003). Overall, S-apatite may speculatively be either seen as an alteration product of apatite and/or gypsum by a Na- and  $\text{SO}_4$ -rich solution such as that found in Mari Ermi lagoon, or appear as one intermediate of the evaporitic sequence precipitating when Ca becomes depleted relatively to sulfates. Investigating the solubility of cesanite formed at low temperature, will help in the future to constrain the Ca, Na,  $\text{SO}_4^{2-}$  concentrations and pH necessary for its formation which may therefore allow its use as a paleoenvironmental proxy.

### **Acknowledgements**

We would like to thank the financial support from the Paris Ile-de-France Region – DIM “Matériaux anciens et patrimoniaux” (MAP). We also thank financial support from the French national INSU program Interrvie. KB is funded by the French Agence Nationale de la Recherche (ANR), under grant Microbialite, ANR-18-CE0-0013-02. We would also like to thank several instrumentation facilities located at IMPMC that enabled streamlines measurement and analysis of datasets presented in this work: Maxime Guillaumet and Keevin Béneut for the Spectroscopy platform; Imène Esteve, Stéphanie Delbrel and Béatrice Doisneau for SEM support; Ludovic Delbes and Benoît Baptiste for X-ray diffraction facility and Jean

Michel Guignier for TEM platform. We thank SARM (Nancy, France) for bulk chemical analyses. We thank David Troadec from IEMN for the FIB sections preparation. We thank France Lam for macro-apotome imaging. We thank Laurane Fogret and Stefan Lalonde for  $\mu$ -XRF analyses. We thank Simona Saint Martin for her proofreading of the manuscript. We thank Samuel Domino for bulk analyses. We thank Margot Coutaud and Laure Cordier for wet chemical analyses. Last, we thank Massimo Marras and Roberto Brundu and at a larger scale all the staff from the marine protected area "Peninsula of Sinis - Island of Mal di Ventre".

## References

- Al Disi, Z. A., Bontognali, T. R. R., Jaoua, S., Attia, E., Al-Kuwari, H. A. S., and Zouari, N. (2019). Influence of temperature, salinity and Mg<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup> ratio on microbially-mediated formation of Mg-rich carbonates by *Virgibacillus* strains isolated from a sabkha environment. *Scientific Reports* 9, 19633. doi: 10.1038/s41598-019-56144-0.
- Al Disi, Z. A., Jaoua, S., Bontognali, T. R. R., Attia, E. S. M., Al-Kuwari, H. A. A. S., and Zouari, N. (2017). Evidence of a Role for Aerobic Bacteria in High Magnesium Carbonate Formation in the Evaporitic Environment of Dohat Faishakh Sabkha in Qatar. *Front. Environ. Sci.* 5. doi: 10.3389/fenvs.2017.00001.
- Al Disi, Z. A., Zouari, N., Attia, E., Al-Asali, M., Al Saad Al-Kuwari, H., Sadooni, F., et al. (2021). Systematic laboratory approach to produce Mg-rich carbonates at low temperature. *RSC Adv.* 11, 37029–37039. doi: 10.1039/D1RA06206A.
- Bahniuk, A. M., Anjos, S., França, A. B., Matsuda, N., Eiler, J., McKenzie, J. A., et al. (2015a). Development of microbial carbonates in the Lower Cretaceous Codó Formation (north-east Brazil): Implications for interpretation of microbialite facies associations and palaeoenvironmental conditions. *Sedimentology* 62, 155–181. doi: 10.1111/sed.12144.
- Bahniuk, A., McKenzie, J. A., Perri, E., Bontognali, T. R. R., Vögeli, N., Rezende, C. E., et al. (2015b). Characterization of environmental conditions during microbial Mg-carbonate precipitation and early diagenetic dolomite crust formation: Brejo do Espinho, Rio de Janeiro, Brazil. *Geological Society, London, Special Publications* 418, 243–259. doi: 10.1144/SP418.11.
- Baturin, G. N. (1982). *Phosphorites on the sea floor*. Elsevier.
- Baturin, G. N. (1988). Disseminated phosphorus in oceanic sediments — A review. *Marine Geology* 84, 95–104. doi: 10.1016/0025-3227(88)90127-2.
- Benzerara, K., Menguy, N., Guyot, F., Vanni, C., and Gillet, P. (2005). TEM study of a silicate-carbonate-microbe interface prepared by focused ion beam milling. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 69, 1413–1422. doi: 10.1016/j.gca.2004.09.008.
- Berner, R. A. (1975). The role of magnesium in the crystal growth of calcite and aragonite from sea water. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 39, 489. doi: 10.1016/0016-7037(75)90102-7.

- Birsoy, R. (2002). Formation of sepiolite-palygorskite and related minerals from solution. *Clays and Clay Minerals* 50, 736–745. doi: 10.1346/000986002762090263.
- Brindley, G. W., Bish, D. L., and Wan, H.-M. (1977). The nature of kerolite, its relation to talc and stevensite. *Mineral. mag.* 41, 443–452. doi: 10.1180/minmag.1977.041.320.04.
- Carvalho, C., Oliveira, M. I. N., Macario, K., Guimarães, R. B., Keim, C. N., Sabadini-Santos, E., et al. (2018). Stromatolite Growth in Lagoa Vermelha, Southeastern Coast of Brazil: Evidence of Environmental Changes. *Radiocarbon* 60, 383–393. doi: 10.1017/RDC.2017.126.
- Chagas, A. A. P., Webb, G. E., Burne, R. V., and Southam, G. (2016). Modern lacustrine microbialites: Towards a synthesis of aqueous and carbonate geochemistry and mineralogy. *Earth-Science Reviews* 162, 338–363. doi: 10.1016/j.earscirev.2016.09.012.
- Decarreau, A. (1980). Cristallogénèse expérimentale des smectites magnésiennes : hectorite, stévensite. *bulmi* 103, 579–590. doi: 10.3406/bulmi.1980.7423.
- del Buey, P., Cabestrero, Ó., Arroyo, X., and Sanz-Montero, M. E. (2018). Microbially induced palygorskite-sepiolite authigenesis in modern hypersaline lakes (Central Spain). *Applied Clay Science* 160, 9–21. doi: 10.1016/j.clay.2018.02.020.
- del Buey, P., Sanz-Montero, M. E., Braissant, O., Cabestrero, Ó., and Visscher, P. T. (2021). The role of microbial extracellular polymeric substances on formation of sulfate minerals and fibrous Mg-clays. *Chemical Geology* 581, 120403. doi: 10.1016/j.chemgeo.2021.120403.
- Dill, H. G. (2001). The geology of aluminium phosphates and sulphates of the alunite group minerals: a review. *Earth-Science Reviews* 53, 35–93. doi: 10.1016/S0012-8252(00)00035-0.
- Donovan, J. J., Allaz, J. M., von der Handt, A., Seward, G. G. E., Neill, O., Goemann, K., et al. (2021). Quantitative WDS compositional mapping using the electron microprobe. *American Mineralogist* 106, 1717–1735. doi: 10.2138/am-2021-7739.
- Dos Santos, H. N., Neumann, R., and Ávila, C. A. (2017). Mineral Quantification with Simultaneous Refinement of Ca-Mg Carbonates Non-Stoichiometry by X-ray Diffraction, Rietveld Method. *Minerals* 7, 164. doi: 10.3390/min7090164.
- Farmer, V. C. ed. (1974). *The Infrared Spectra of Minerals*. Mineralogical Society of Great Britain and Ireland doi: 10.1180/mono-4.
- Fournelle, J., Cathey, H., Pinard, P. T., and Richter, S. (2016). Low voltage EPMA: experiments on a new frontier in microanalysis - analytical lateral resolution. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 109, 012003. doi: 10.1088/1757-899X/109/1/012003.
- Gaboreau, S., Prêt, D., Montouillout, V., Henocq, P., Robinet, J.-C., and Tournassat, C. (2017). Quantitative mineralogical mapping of hydrated low pH concrete. *Cement and Concrete Composites* 83, 360–373. doi: 10.1016/j.cemconcomp.2017.08.003.

- Haberlah D., Loehr S., Kennedy M., Debenham N. and Lattanzi D. (2015) Innovative Sub-Micron SEM-EDS Mineral Mapping and Analysis Applied to Australian Shale Samples. In *International Conference and Exhibition, Melbourne, Australia 13-16 September 2015* International Conference and Exhibition, Melbourne, Australia 13-16 September 2015. Society of Exploration Geophysicists and American Association of Petroleum Geologists, Melbourne, Australia. pp. 419–419.
- Han, Z., Meng, R., Yan, H., Zhao, H., Han, M., Zhao, Y., et al. (2017). Calcium carbonate precipitation by *Synechocystis* sp. PCC6803 at different Mg/Ca molar ratios under the laboratory condition. *Carbonates Evaporites* 32, 561–575. doi: 10.1007/s13146-016-0322-5.
- Hardie, L. A., and Eugster, H. P. (1970). The evolution of closed-basin brines. *Mineral.Soc.Amer.Spec* 3, 273–290.
- Hombourger, C., and Outrequin, M. (2013). Quantitative Analysis and High-Resolution X-ray Mapping with a Field Emission Electron Microprobe. *Microscopy Today* 21, 10–15. doi: 10.1017/S1551929513000515.
- Hughes, J. M., and Rakovan, J. (2002). The Crystal Structure of Apatite,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F},\text{OH},\text{Cl})$ . *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48, 1–12. doi: 10.2138/rmg.2002.48.1.
- Kaczmarek, S. E., Gregg, J. M., Bish, D. L., Machel, H. G., Fouke, B. W., MacNeil, A., et al. (2017). Dolomite, very-high magnesium calcite, and microbes: implications for the microbial model of dolomitization. in, 7–20.
- Kanaya, K., and Okayama, S. (1972). Penetration and energy-loss theory of electrons in solid targets. *Journal of Physics D: Applied Physics* 5, 43.
- Katz, A., Sass, E., Starinsky, A., and Holland, H. D. (1972). Strontium behavior in the aragonite-calcite transformation: An experimental study at 40–98°C. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 36, 481–496. doi: 10.1016/0016-7037(72)90037-3.
- Keim, C. N., dos Santos, H. N., Santiago, C. S., Pennafirme, S., Neumann, R., Schnellrath, J., et al. (2020). Microstructure and mineral composition of Holocene stromatolites from Lagoa Vermelha, a hypersaline lagoon in Brazil: Insights into laminae genesis. *Journal of Sedimentary Research* 90, 887–905. doi: 10.2110/jsr.2020.40.
- Klopprogge, J. T. (1999). Synthesis of Smectite Clay Minerals: A Critical Review. *Clays and Clay Minerals* 47, 529–554. doi: 10.1346/CCMN.1999.0470501.
- Konhauser, K. O., and Urrutia, M. M. (1999). Bacterial clay authigenesis: a common biogeochemical process. *Chemical Geology* 161, 399–413. doi: 10.1016/S0009-2541(99)00118-7.
- Lager, G. A., Armbruster, T., Rotella, F. J., Jorgensen, J. D., and Hinks, D. G. (1984). A crystallographic study of the low-temperature dehydration products of gypsum,  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : hemihydrate,  $\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ , and  $\gamma\text{-CaSO}_4$ . *American Mineralogist* 69, 910–919.

- Liu, D., Fan, Q., Papineau, D., Yu, N., Chu, Y., Wang, H., et al. (2020). Precipitation of protodolomite facilitated by sulfate-reducing bacteria: The role of capsule extracellular polymeric substances. *Chemical Geology* 533, 119415. doi: 10.1016/j.chemgeo.2019.119415.
- McClellan, G. H., and Van Kauwenbergh, S. J. (1990). Mineralogy of sedimentary apatites. *Geological Society, London, Special Publications* 52, 23–31. doi: 10.1144/GSL.SP.1990.052.01.03.
- Moreira, N. F., Walter, L. M., Vasconcelos, C., McKenzie, J. A., and McCall, P. J. (2004). Role of sulfide oxidation in dolomitization: Sediment and pore-water geochemistry of a modern hypersaline lagoon system. *Geol* 32, 701. doi: 10.1130/G20353.1.
- Müller, G., Irion, G., and Förstner, U. (1972). Formation and Diagenesis of Inorganic Ca-Mg Carbonates. *Naturwissenschaften* 59, 158–164.
- Nathan, Y. (1984). “The Mineralogy and Geochemistry of Phosphorites,” in *Phosphate Minerals*, eds. J. O. Nriagu and P. B. Moore (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), 275–291. doi: 10.1007/978-3-642-61736-2\_8.
- Onac, B. P., Mylroie, J. E., and White, W. B. (2001). Mineralogy of cave deposits on San Salvador Island, Bahamas. *Carbonates Evaporites* 16, 8–16. doi: 10.1007/BF03176222.
- Onac, B. P., and Vereş, D. S. (2003). Sequence of secondary phosphates deposition in a karst environment: evidence from Magurici Cave (Romania). *ejm* 15, 741–745. doi: 10.1127/0935-1221/2003/0015-0741.
- Pace, A., Bourillot, R., Bouton, A., Vennin, E., Braissant, O., Dupraz, C., et al. (2018). Formation of stromatolite lamina at the interface of oxygenic-anoxygenic photosynthesis. *Geobiology* 16, 378–398. doi: 10.1111/gbi.12281.
- Pan, Y., and Fleet, M. E. (2002). Compositions of the Apatite-Group Minerals: Substitution Mechanisms and Controlling Factors. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48, 13–49. doi: 10.2138/rmg.2002.48.2.
- Paquette, J., and Reeder, R. J. (1990). Single-crystal X-ray structure refinements of two biogenic magnesian calcite crystals. *American Mineralogist* 75, 1151–1158.
- Perri, E., Gindre-Chanu, L., Caruso, A., Cefalà, M., Scopelliti, G., and Tucker, M. (2017). Microbial-mediated pre-salt carbonate deposition during the Messinian salinity crisis (Calcare di Base fm., Southern Italy). *Marine and Petroleum Geology* 88, 235–250. doi: 10.1016/j.marpetgeo.2017.08.028.
- Pietzsch, R., Tosca, N. J., Gomes, J. P., Roest-Ellis, S., Sartorato, A. C. L., and Tonietto, S. N. (2022). The role of phosphate on non-skeletal carbonate production in a Cretaceous alkaline lake. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 317, 365–394. doi: 10.1016/j.gca.2021.09.032.
- Pozo, M. (2000). Origin and evolution of magnesium clays in lacustrine environments: Sedimentology and geochemical pathways. in, 117–133.

- Prêt, D. (2003). Nouvelles méthodes quantitatives de cartographie de la minéralogie et de la porosité dans les matériaux argileux: application aux bentonites compactées des barrières ouvragées.
- Prêt, D., Sammartino, S., Beaufort, D., Fialin, M., Sardini, P., Cosenza, P., et al. (2010a). A new method for quantitative petrography based on image processing of chemical element maps: Part II. Semi-quantitative porosity maps superimposed on mineral maps. *American Mineralogist* 95, 1389–1398. doi: 10.2138/am.2010.3433.
- Prêt, D., Sammartino, S., Beaufort, D., Fialin, M., Sardini, P., Cosenza, P., et al. (2010b). A new method for quantitative petrography based on image processing of chemical element maps: Part II. Semi-quantitative porosity maps superimposed on mineral maps. *American Mineralogist* 95, 1389–1398. doi: 10.2138/am.2010.3433.
- Raz, S., Weiner, S., and Addadi, L. (2000). Formation of High-Magnesian Calcites via an Amorphous Precursor Phase: Possible Biological Implications. *Adv. Mater.* 12, 38–42. doi: 10.1002/(SICI)1521-4095(200001)12:1<38::AID-ADMA38>3.0.CO;2-I.
- Riding R. (1991) Classification of Microbial Carbonates. In *Calcareous Algae and Stromatolites* Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 21–51.
- Ries, J. B., Anderson, M. A., and Hill, R. T. (2008). Seawater Mg/Ca controls polymorph mineralogy of microbial CaCO<sub>3</sub>: A potential proxy for calcite-aragonite seas in Precambrian time. *Geobiology* 6, 106–119. doi: 10.1111/j.1472-4669.2007.00134.x.
- Rousseau, R. (2013). How to Apply the Fundamental Parameters Method to the Quantitative X-ray Fluorescence Analysis of Geological Materials. *Journal of Geosciences and Geomatics* 1, 1–7. doi: 10.12691/jgg-1-1-1.
- Russ, J. C. (1999). *The image processing handbook*. 3rd ed. Boca Raton: CRC press.
- Saint Martin, J.-P., and Saint Martin, S. (2015). Discovery of calcareous microbialites in coastal ponds of western Sardinia (Italy). *Geo-Eco-Marina* 21, 35–53.
- Samylina, O. S., and Zaytseva, L. V. (2019). Characterization of modern dolomite stromatolites from hypersaline Petukhovskoe Soda Lake, Russia. *Lethaia* 52, 1–13. doi: 10.1111/let.12286.
- Sherman, J. (1955). The theoretical derivation of fluorescent X-ray intensities from mixtures. *Spectrochimica Acta* 7, 283–306. doi: 10.1016/0371-1951(55)80041-0.
- Siegel, F. R. (1960). The effect of strontium on the aragonite-calcite ratios of Pleistocene corals [Florida]. *Journal of Sedimentary Research* 30, 297–304. doi: 10.1306/74D70A24-2B21-11D7-8648000102C1865D.
- Souza-Egipsy, V., Wierzchos, J., Ascaso, C., and Nealson, K. H. (2005). Mg–silica precipitation in fossilization mechanisms of sand tufa endolithic microbial community, Mono Lake (California). *Chemical Geology* 217, 77–87. doi: 10.1016/j.chemgeo.2004.12.004.
- Spadafora, A., Perri, E., McKenzie, J. A., and Vasconcelos, C. (2010). Microbial biomineralization processes forming modern Ca:Mg carbonate stromatolites:

- Biom mineralization processes forming stromatolites. *Sedimentology* 57, 27–40. doi: 10.1111/j.1365-3091.2009.01083.x.
- Stanienda-Pilecki, K. J. (2018). Magnesium calcite in Muschelkalk limestones of the Polish part of the Germanic Basin. *Carbonates and Evaporites* 33, 801–821. doi: 10.1007/s13146-018-0437-y.
- Stephenson, A. E., DeYoreo, J. J., Wu, L., Wu, K. J., Hoyer, J., and Dove, P. M. (2008). Peptides Enhance Magnesium Signature in Calcite: Insights into Origins of Vital Effects. *Science* 322, 724–727. doi: 10.1126/science.1159417.
- Theye, T., and Seidel, E. (1993). Uplift-related retrogression history of aragonite marbles in western Crete (Greece). *Contributions to Mineralogy and Petrology* 114, 349–356.
- Tosca, N. J. ., and Masterson, A. L. (2014). Chemical controls on incipient Mg-silicate crystallization at 25°C: Implications for early and late diagenesis. *Clay miner.* 49, 165–194. doi: 10.1180/claymin.2014.049.2.03.
- Tosca, N. J., McLennan, S. M., Lamb, M. P., and Grotzinger, J. P. (2011). Physicochemical properties of concentrated Martian surface waters. *J. Geophys. Res.* 116, E05004. doi: 10.1029/2010JE003700.
- van Lith, Y., Vasconcelos, C., Warthmann, R., Martins, J. C. F., and McKenzie, J. A. (2002). Bacterial sulfate reduction and salinity: two controls on dolomite precipitation in Lagoa Vermelha and Brejo do Espinho (Brazil). *Hydrobiologia* 485, 35–49. doi: 10.1023/A:1021323425591.
- Van Lith, Y., Warthmann, R., Vasconcelos, C., and Mckenzie, J. A. (2003). Sulphate-reducing bacteria induce low-temperature Ca-dolomite and high Mg-calcite formation. *Geobiology* 1, 71–79. doi: 10.1046/j.1472-4669.2003.00003.x.
- Vasconcelos, C., Dittrich, M., and McKenzie, J. A. (2014). Evidence of microbiocoenosis in the formation of laminae in modern stromatolites. *Facies* 60, 3–13. doi: 10.1007/s10347-013-0371-3.
- Vasconcelos, C., and McKenzie, J. A. (1997). Microbial Mediation of Modern Dolomite Precipitation and Diagenesis Under Anoxic Conditions (Lagoa Vermelha, Rio de Janeiro, Brazil). *SEPM JSR* Vol. 67. doi: 10.1306/D4268577-2B26-11D7-8648000102C1865D.
- Vasconcelos, C., Warthmann, R., McKenzie, J. A., Visscher, P. T., Bittermann, A. G., and van Lith, Y. (2006). Lithifying microbial mats in Lagoa Vermelha, Brazil: Modern Precambrian relics? *Sedimentary Geology* 185, 175–183. doi: 10.1016/j.sedgeo.2005.12.022.
- Wang, D., Wallace, A. F., De Yoreo, J. J., and Dove, P. M. (2009). Carboxylated molecules regulate magnesium content of amorphous calcium carbonates during calcification. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 21511–21516. doi: 10.1073/pnas.0906741106.

- Zanetta, P.-M., Le Guillou, C., Leroux, H., Zanda, B., Hewins, R. H., Lewin, E., et al. (2019). Modal abundance, density and chemistry of micrometer-sized assemblages by advanced electron microscopy: Application to chondrites. *Chemical Geology* 514, 27–41. doi: 10.1016/j.chemgeo.2019.03.025.
- Zeyen, N., Benzerara, K., Beyssac, O., Daval, D., Muller, E., Thomazo, C., et al. (2021). Integrative analysis of the mineralogical and chemical composition of modern microbialites from ten Mexican lakes: What do we learn about their formation? *Geochimica et Cosmochimica Acta* 305, 148–184. doi: 10.1016/j.gca.2021.04.030.
- Zeyen, N., Benzerara, K., Li, J., Groleau, A., Balan, E., Robert, J.-L., et al. (2015). Formation of low-T hydrated silicates in modern microbialites from Mexico and implications for microbial fossilization. *Front. Earth Sci.* 3. doi: 10.3389/feart.2015.00064.
- Zhang, F., Xu, H., Shelobolina, E. S., Konishi, H., Converse, B., Shen, Z., et al. (2015). The catalytic effect of bound extracellular polymeric substances excreted by anaerobic microorganisms on Ca-Mg carbonate precipitation: Implications for the “dolomite problem.” *American Mineralogist* 100, 483–494. doi: 10.2138/am-2015-4999.

### 4.2.3 Supplementary Materials

Table S1. Precisions of the bulk chemical ICP-AES measurements for the major elements depending on their wt% (first column).

ICP-OES iCap6500	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MnO	MgO	CaO	Na <sub>2</sub> O	K <sub>2</sub> O	TiO <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
>10 %	<2%	<2%	<2%			<2%				
>5 %		<10%			<2%	<5%	<5%	<5%	<5%	
>1 %		<15%	<10%	<5%	<10%		<10%	<10%	<10%	<5%
>0.5 %	<10%		<15%	<15%	<15%	<15%	<15%	<20%	<20%	<15%
>0.1 %	<20%	<20%								**
>0.05 %	**	**	<20%	<20%	<20%	<25%	<25%	<25%	<25%	
>0.01 %			**	**	**	**	**	**	**	
<b>L.D. %</b>	0.05	0.04	0.015	0.015	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02	0.10

Table S2. Theoretical endmembers used in the  $\mu$ phasemap software

Abbreviations	Mineral name	Theoretical composition
Calc	Calcite	$\text{Ca}_1\text{C}_1\text{O}_3$
Calc 1	Calcite 1	$(\text{Ca}_{0.95}\text{Mg}_{0.05})\text{C}_1\text{O}_3$
Calc 2	Calcite 2	$(\text{Ca}_{0.85}\text{Mg}_{0.15})\text{C}_1\text{O}_3$
Calc 3	Calcite 3	$(\text{Ca}_{0.7}\text{Mg}_{0.3})\text{C}_1\text{O}_3$
Dolo	Dolomite	$(\text{Ca}_{0.5}\text{Mg}_{0.5})\text{C}_1\text{O}_3$
P-apatite	Apatite	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_1$
Ces	Cesante	$\text{Ca}_5(\text{SO}_4)_3(\text{OH})_1$
Gy	Gypsum	$\text{Ca}_1\text{S}_1\text{O}_4$
woodhouseite	woodhouseite	$\text{Ca}_1\text{Al}_3(\text{PO}_4\text{SO}_4)(\text{OH})_6$
Quartz	Quartz	$\text{Si}_1\text{O}_2$
Ort	Orthose	$\text{K}_1\text{Al}_1\text{Si}_3\text{O}_8$
Alb	Albite	$\text{Na}_1\text{Al}_1\text{Si}_3\text{O}_8$
Anor	Anorthite	$\text{Ca}_1\text{Al}_1\text{Si}_2\text{O}_8$
Kaol	Kaolinite	$\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$
Serp	Serpentine	$\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$
Talc	Talc	$\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Sep	Sepiolite	$\text{Mg}_{2.66}\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_{2.66}$
SepNa	SepioliteNa	$\text{Mg}_{2.33}\text{Na}_{0.66}\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_{2.66}$
Musc	Muscovite	$\text{K}_1\text{Al}_2(\text{AlSi}_3)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Cel	Celadonite	$\text{K}_1(\text{Mg}_1\text{Al}_1)\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Phlo	Phlogopite	$\text{K}_1\text{Mg}_3(\text{Al}_1\text{Si}_3)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Glau	Biotiteglauconite	$\text{K}_{0.8}(\text{Fe})_2(\text{Si}_{3.7}\text{Al}_{0.3})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Bei	Beidellite	$\text{Na}_{0.3}\text{Al}_2(\text{Si}_{3.7}\text{Al}_{0.3})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Mont	Montmorillonite	$\text{Na}_{0.3}(\text{Al}_{1.7}\text{Mg}_{0.3})(\text{Si}_4)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Stev	Stevensite	$\text{Na}_{0.5}\text{Mg}_{2.5}(\text{Si}_4)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
SapMg	SaponiteMginter	$\text{Mg}_{0.25}\text{Mg}_3(\text{Si}_{3.5}\text{Al}_{0.5})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
SapK	SaponiteMgKinter	$\text{K}_{0.5}\text{Mg}_3(\text{Si}_{3.5}\text{Al}_{0.5})\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Cham	Chamoisite	$(\text{Fe}_2\text{Al}_1)(\text{OH})_6(\text{Si}_3\text{Al}_1)\text{Fe}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Chlo	Chloriteditri	$(\text{Mg}_2\text{Al}_1)(\text{OH})_6(\text{Si}_3\text{Al}_1)\text{Mg}_3\text{O}_{10}(\text{OH})_2$
Marg	Margarite	$\text{Ca}_1\text{Al}_2(\text{Al}_2\text{Si}_2)\text{O}_{10}(\text{OH})_2$

Table S3. Chemical composition of the Mari Ermi waters (unpublished data)

<b>pH</b>	<b>Salinity</b>	<b>Ca<sup>2+</sup> mM</b>	<b>K<sup>+</sup> mM</b>	<b>Mg<sup>2+</sup> mM</b>	<b>Na<sup>+</sup> mM</b>	<b>Sr<sup>2+</sup> mM</b>	<b>H<sub>4</sub>SiO<sub>4</sub> mM</b>	<b>Br- mM</b>
9.1	42.9	12.15	11.99	59.05	536.83	0.103	0.070	2.69

<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> mM</b>	<b>CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> mM</b>	<b>Cl<sup>-</sup> mM</b>	<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> mM</b>	<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> mM</b>	<b>∑cations mM</b>	<b>∑anions mM</b>	<b>Bal %</b>
0.8712	0.061	627.13	0.0013	29.85	620.13	660.60	-3.16

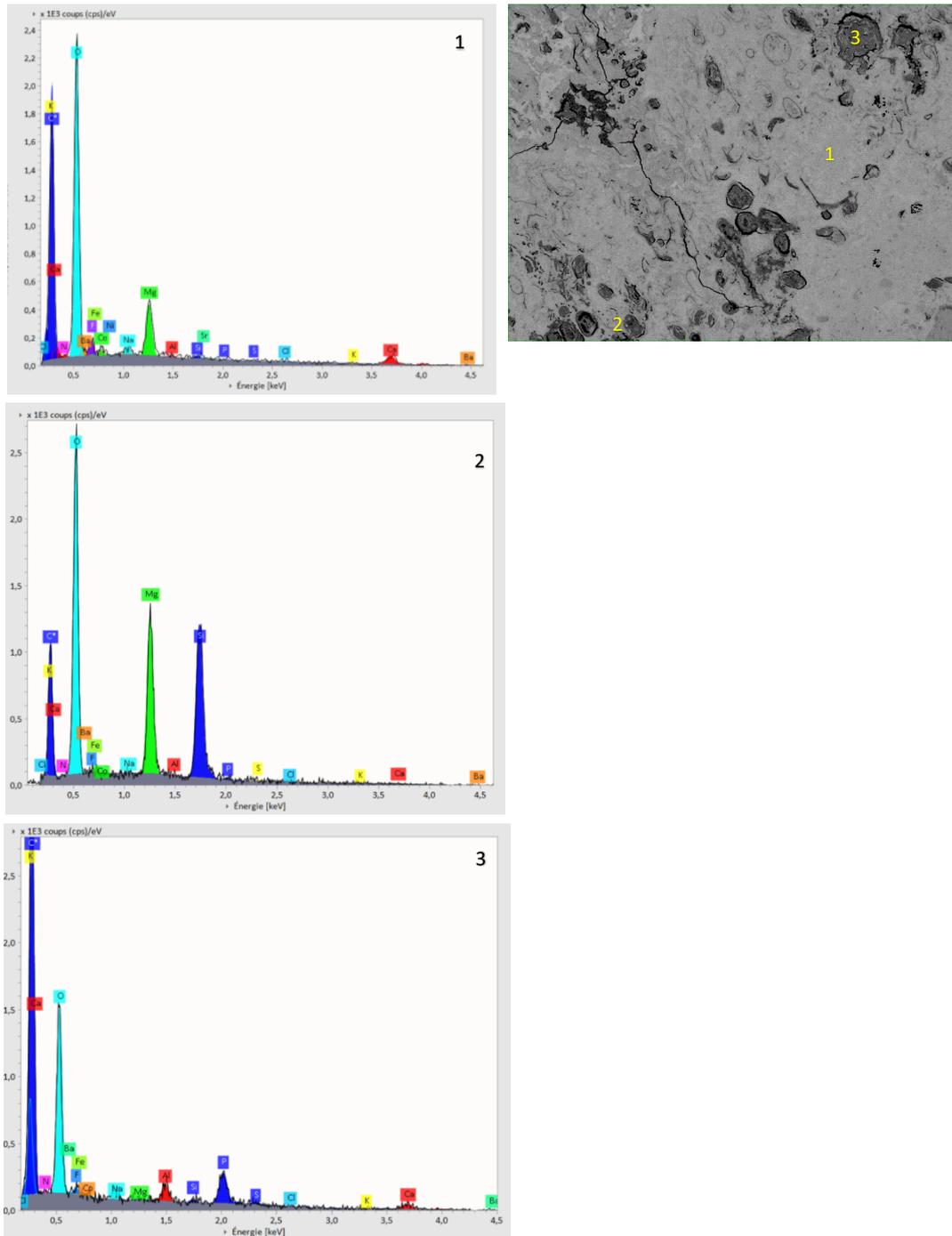


Fig. S1. 1-pixel EDX quantified spectra located in different mineral phase (1 and 2) and in porosities (3) to cross validate the EDX quantification method.

Fig. S2. BSE mosaic (html file)

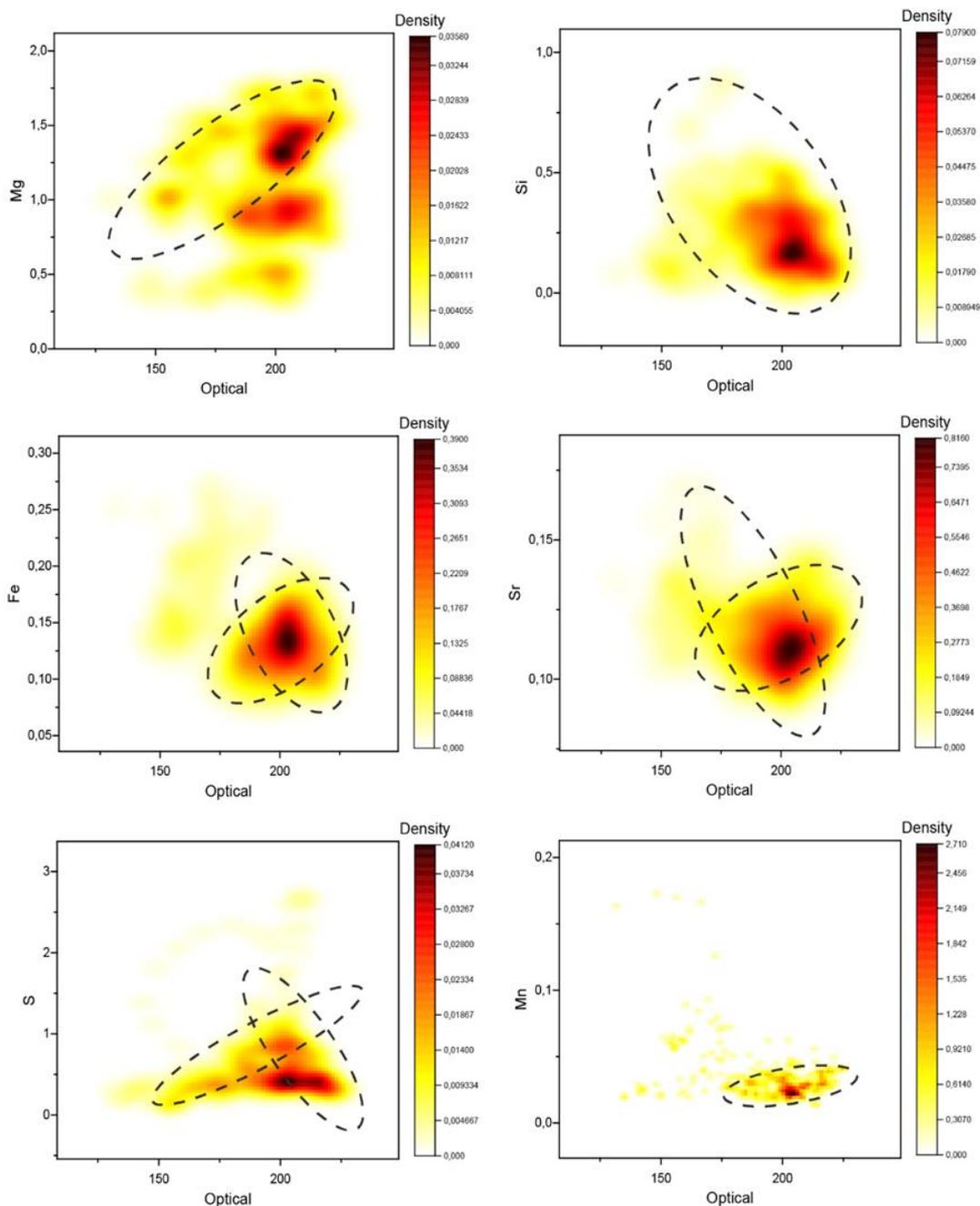


Fig. S3. 2D-kernel density scatter plots highlighting correlations between (on y axes) the gray values from an optical image and (on x axis) elemental concentrations retrieved from the same pixels in  $\mu$ XRF maps. The optical image and x-ray maps were obtained at the same time, using the same XRF instrument. The optical image is shown in Table 2 and x-ray maps in Figure 5. Grey values and x-ray intensities for the different chemical elements were retrieved from one rectangle drawn using FIJI on the optical image and the x-ray maps along a transect drawn perpendicularly to the dark and bright laminae.

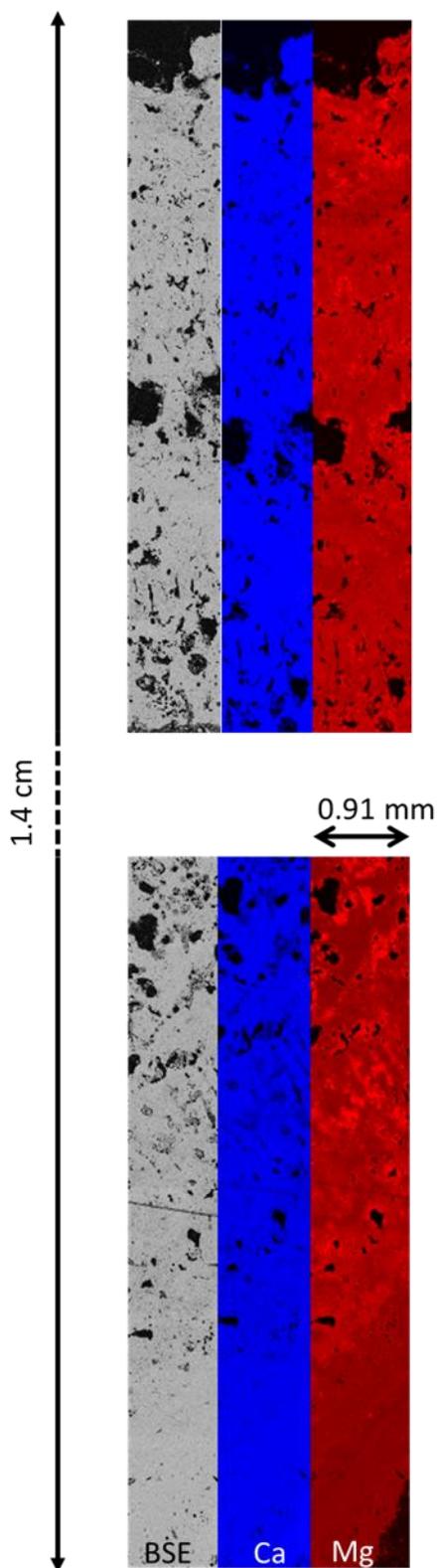


Fig. S4. SEM-EDXS mosaic showing the distribution of Mg and Ca along a profile across a Mari Ermi stromatolite. (a) SEM-BSE image. The substrate appears at the bottom right hand corner of the image and the top surface of the stromatolite at the top of the image. (b) Calcium raw count map. (c) Magnesium raw count map. Note that the Mg heterogeneities in calcite distributed along the laminae.

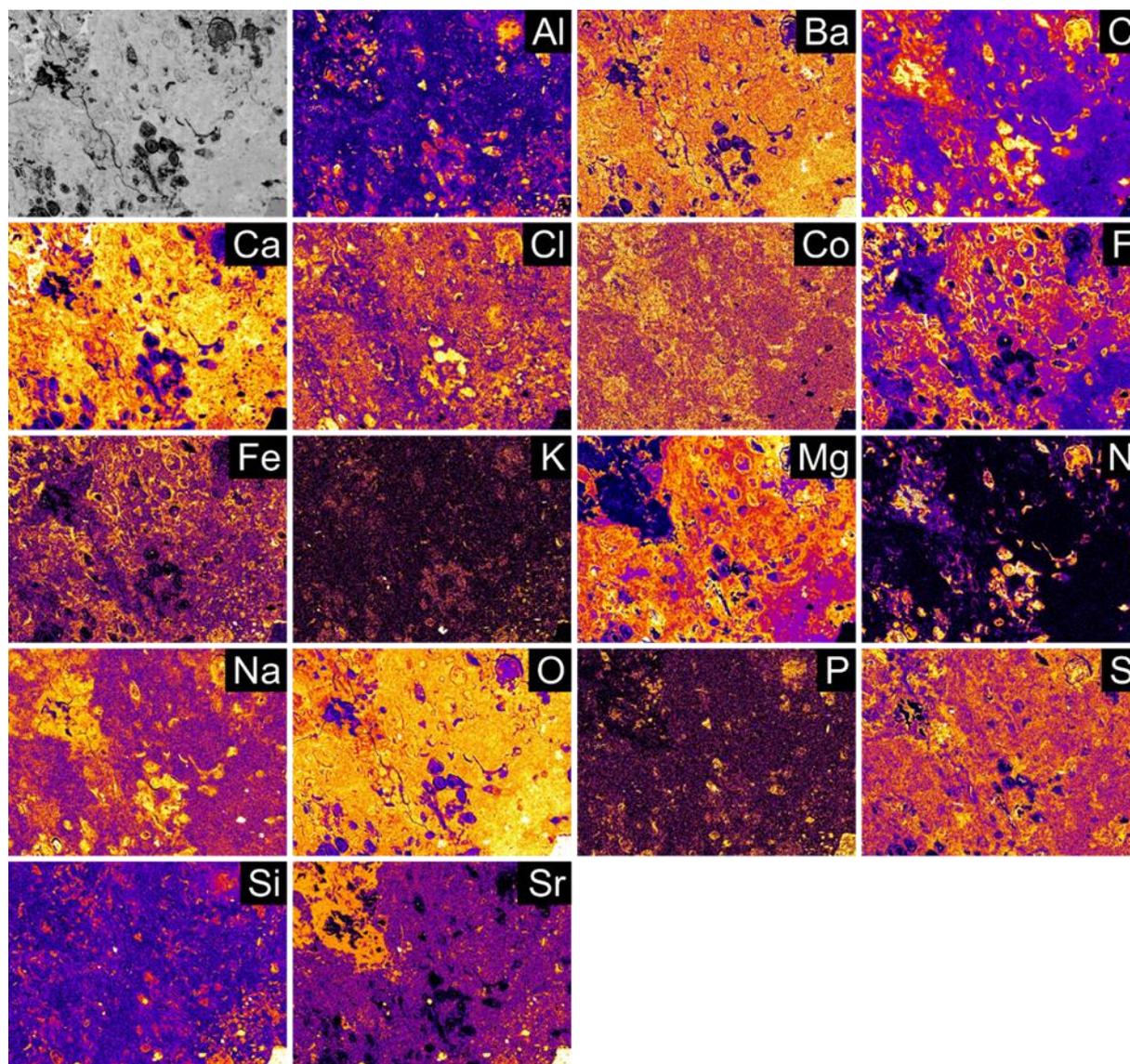


Fig. S5. Quantified SEM-EDXS maps of Al, Ba, Ca, Cl, Co, F, Fe, K, Mg, N, Na, O, P, S, Si, Sr encoded with histogram equalization to enhance the contrast.

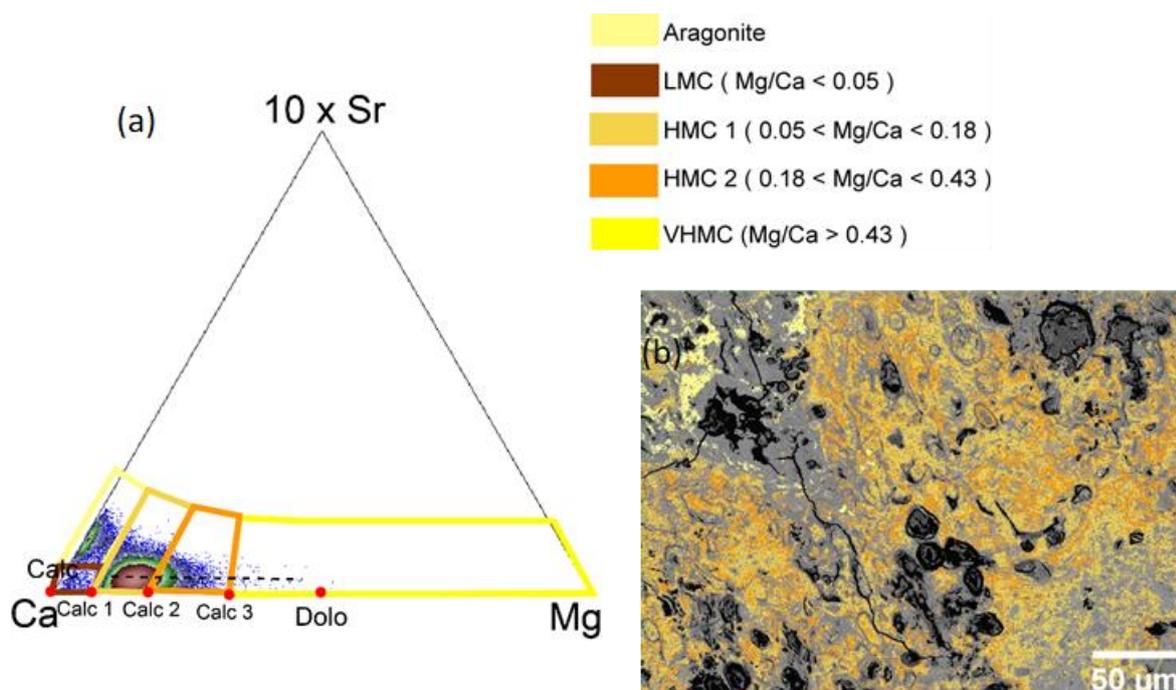


Fig. S6. Study of the pure carbonate cluster segmentation (a) 10Sr – Ca – Mg ternary diagram containing the pixels coming from the pure carbonate cluster extracted from Fig. 8a. Note that no pixel with a Mg content higher than that of dolomite is observed. (b) Back projection of the carbonate pixels in the BSE.

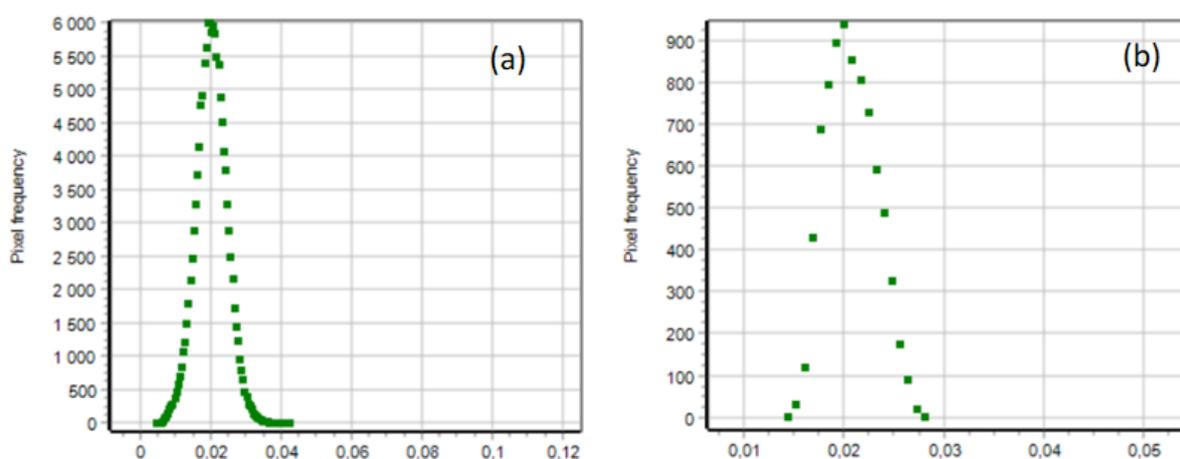


Fig. S7 Frequency histogram of the number of Sr atoms per formula unit (p.f.u) in the (a) porous aragonite phase and (b) non-porous aragonite phase. Note that both normal distributions are centered at 0.02 Sr atom p.f.u. and range between 0.015 and 0.03.

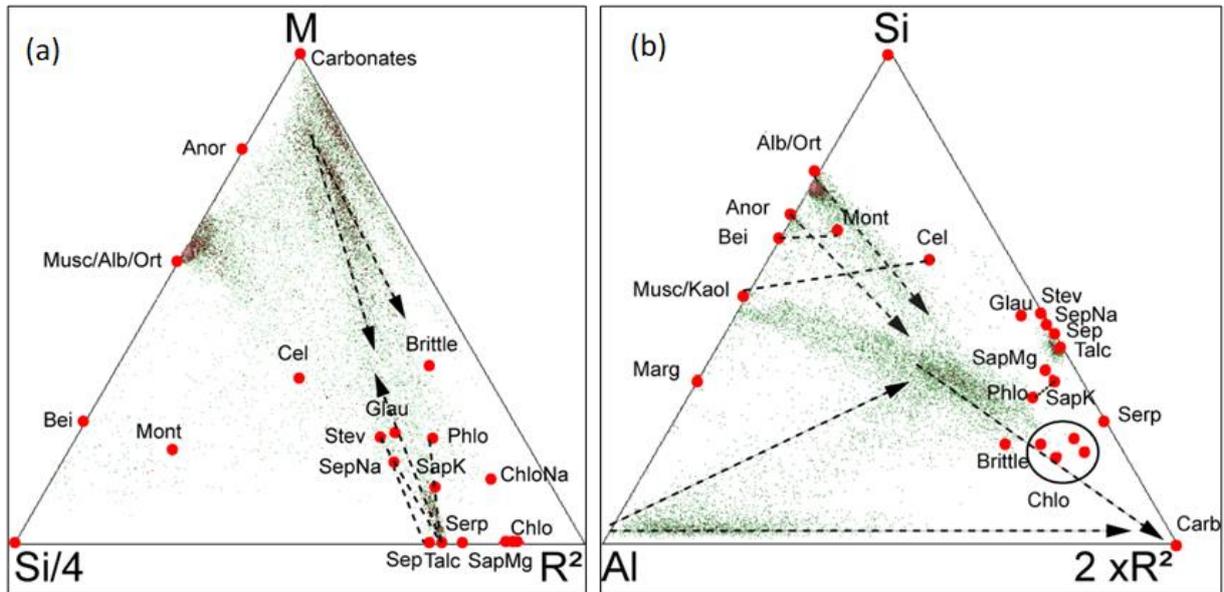


Fig. S7. Additional ternary plots. (a) M-Si/4-R<sup>2</sup> diagram shows that Mg-phyllsilicate composition match with talc and not with serpentine or sepiolite. Note that the talc cluster is stretched between either glauconite or an in-between stevensite - saponite phase. (b) Si-Al-R<sup>2</sup> diagram shows that the mixture talc/glauconite is unlikely since there is no pixels around glauconite endmembers. R<sup>2</sup> = Mg (mol%) + Fe (mol%)

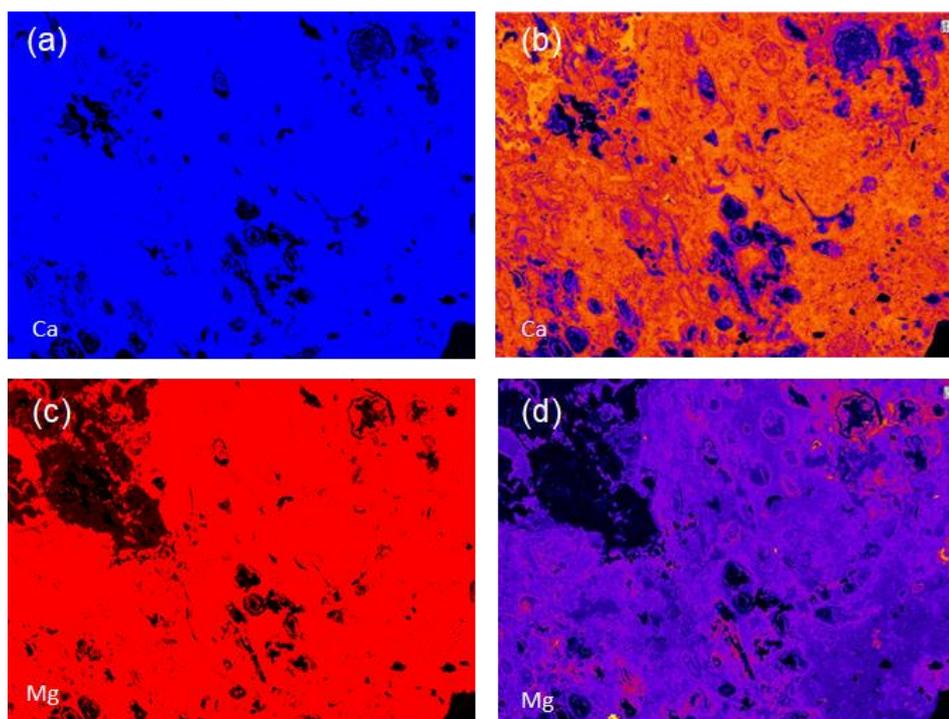


Fig. S9. Study raw EDX map vs quantified EDX maps. (a) Raw count Ca map vs (b) Ca-quantified map (c) Raw count Mg map vs (d) Mg-quantified map. The raw maps come from the Bruker software where an automatic contrast is applied.

### 4.3 Conclusion

Dans le **chapitre 3**, grâce à la modélisation de l'activité des espèces en solution, en fonction de l'évolution chimique des lagunes au cours de l'évaporation, nous avons déterminé quelles phases minéralogiques pouvaient précipiter de manière abiotique. Nous avons prédit la précipitation de calcites magnésiennes, plus ou moins substituées en magnésium en fonction du stade de l'évaporation et de l'aragonite. Nous avons postulé que ces phases pouvaient précipiter en début d'évaporation, avec un taux d'évaporation aux alentours de 2. En fin d'évaporation et avec un taux d'évaporation maximal aux alentours de 8 – 10, nous avons prédit la précipitation de sulfates de calcium plus ou moins hydratés (type anhydrite, gypse etc..).

Dans le **chapitre 4**, nous avons mené des investigations très poussées sur la minéralogie. Tout d'abord, seules, les analyses globales ne nous ont pas permis de retrouver les phases minéralogiques prédites abiotiquement, puisque seule de la calcite magnésienne, un peu de quartz et d'halite ont été retrouvés avec les analyses DRX. Les analyses FT-IR ont suggéré la possibilité d'aragonite dans les échantillons mais de façon incertaine. Nous avons mené des cartographies MEB-EDXS basse tension, haute résolution nous permettant de cartographier la distribution d'hétérogénéités chimiques à des échelles nanométriques. Grâce aux traitements des données de spectro-imagerie et aux approches d'identification de phases en mélanges par projections ternaires, nous avons pu cartographier la distribution des phases minéralogiques présentes et calculer les formules structurales associées. Dans une zone de  $320 \times 240 \mu\text{m}^2$ , nous avons identifié plus d'une quinzaine de phases minéralogiques comprenant celles prédites au **chapitre 3** : de la calcite magnésienne avec différents rapport Mg/Ca, de l'aragonite et de l'anhydrite. Les variations du rapports Mg/Ca ont donc été reliées à la fois, aux variations environnementales dues à l'évaporation, et à l'activité microbienne. À partir de l'ensemble de nos résultats, nous avons proposé un modèle de formation des lamines stromatolitiques, comprenant ces deux aspects. Contrairement **au chapitre 3**, où nous avons discuté d'une possible formation simultanée d'un doublet lamine claire/lamine sombre, nous proposons ici, un modèle de formation successif. Nous proposons que les lamines claires et les lamines sombres se forment à la même saison, mais que leurs formations retranscrivent des conditions environnementales différentes (facteurs abiotiques et biotiques) : un rapport  $\text{Mg}/\text{Ca}_{\text{aq}}$  et une biomasse plus importante pour les lamines claires, un rapport  $\text{Mg}/\text{Ca}_{\text{aq}}$  moins élevé et une biomasse plus faible pour les lamines sombres.

## 4.4 Perspectives

Les différentes cartographies minéralogiques haute résolution, présentées dans ce chapitre et dans l'article, ont fait l'objet d'un long développement méthodologique pour 1) quantifier les cartographies chimiques basse tension, haute résolution et 2) traduire ces cartographies chimiques quantifiées en cartes minéralogiques. Maintenant que ce développement méthodologique a été fait, il peut maintenant être appliqué sur d'autres zones ou d'autres échantillons. Une première perspective qui ne demande aucune acquisition de données supplémentaire est de traiter la mosaïque EDXS acquise sur un transect de 0,91 x 14 mm<sup>2</sup>. Cette mosaïque est constituée de 41 cartographies MEB-EDXS et est présentée dans la **Figure S4** de l'article Debrie et. al (2022). Cela permettrait de confirmer les phases minéralogiques identifiées, peut-être d'en identifier de nouvelles mais surtout de comprendre comment ces phases se distribuent depuis le substrat jusqu'aux couches supérieures du stromatolite. Ces données sont pour le moment laissées en cartes de coups bruts pour cause de limitations techniques. Le traitement de ces données nécessite deux actions : l'automatisation de la quantification des 41 cartographies (quantification en lot) et l'acquisition d'une station de calculs permettant de segmenter dans des temps raisonnables ces plus de 315 millions de pixels scannés et quantifiés.

Une deuxième perspective à mettre en place est d'appliquer les acquis de cette méthodologie aux échantillons du Messinien, susceptibles d'enregistrer des variations environnementales même si une partie de l'information a pu être perdue par la diagenèse. Tout comme pour les échantillons sardes, nous avons commencé une première description pétrologique des échantillons du Messinien (**Annexe 2 à 11**), ainsi que des premières descriptions minéralogiques globales (**Annexe 12**). Nous avons classé ces échantillons en fonction de leur minéralogie : majorité de calcite, majorité de dolomite ou mélange de calcite/ dolomite. Nous devons maintenant, nous intéresser aux potentielles hétérogénéités chimiques/minéralogiques de ces échantillons. Par analogie avec les échantillons sardes nous devrions choisir un échantillon qui contient de la calcite, un peu de détritisme et un peu d'aragonite. Les échantillons provenant d'Oued Amroun (OA2 et OA11) sont de bon candidats (voir **Figure A.12.1**). De plus, ce sont des échantillons bien laminés mésoscopiquement (**Figure A.5.1**). Nous pourrions donc envisager de commencer l'approche méthodologique sur ces échantillons notamment, par analogie avec les échantillons sardes, sur des zones à l'intersection entre lamines claires et lamines sombres.



# 5 Étude des propriétés de luminescence : fluorescence dans le visible, cathodoluminescence et fluorescence des rayons X

---



## 5.1 Introduction

Afin d'étudier les constituants minéraux et organiques des stromatolites, de nombreuses techniques de microscopie sont utilisées, à commencer par la microscopie optique qui permet de discerner les différentes phases en fonction de leurs propriétés optiques et de leurs propriétés différentielles d'absorption. Par la suite, d'autres techniques sont nécessaires, comme nous venons de le voir dans le **chapitre 4**, telles que la microscopie électronique à balayage ou en transmission. Plus rarement, mais avec un apport d'information pertinentes, les propriétés de luminescence de ces matériaux sont également étudiées (Blanco et al., 2014a ; Sforza et al., 2017). En effet, ces signaux sont particulièrement sensibles à la préservation de molécules organiques mais également aux éléments présents en quantité trace, enregistrés dans les minéraux précipités.

Les minéraux et les matériaux peuvent devenir luminescents lorsqu'ils sont exposés à un faisceau d'électrons (cathodoluminescence), de rayons X, d'ions ou de photons. Dans ce chapitre, nous étudierons trois types de fluorescence : la fluorescence avec une excitation par de la lumière visible, la cathodoluminescence et la fluorescence des rayons X. Nous appellerons fluorescence dans le visible ou simplement fluorescence, le phénomène d'émission spontanée de lumière visible après absorption de photons eux-mêmes dans le domaine du visible. Nous la distinguons de la fluorescence X, qui est un phénomène d'émission secondaire de rayons X caractéristiques des éléments atomiques composant l'échantillon et suivant une excitation par des rayons X incidents.

Pour certaines techniques de caractérisation, la fluorescence dans le visible peut être un effet indésirable. Par exemple, en spectroscopie Raman, un signal de fluorescence causé par l'excitation laser dans les carbonates biogènes a généralement une intensité très supérieure à celle du signal Raman, ce qui empêche l'identification des modes vibrationnels individuels actifs sur le plan Raman (Sánchez-Beristain et al., 2010 ; Guido et al., 2019). Cependant, pour l'étude des microbialites, la fluorescence dans le visible est un outil très utile puisque c'est un signal particulièrement sensible à la préservation de molécules organiques liées aux traces de vie fossiles (Schopf et al., 2006, 2010, 2011 ; Schopf et Kudryavtsev, 2012). C'est d'ailleurs un signal fréquemment observé dans des microbialites anciennes grâce à la microscopie en épifluorescence (Hao et al., 2008 ; Vescogni et al., 2011 ; Chen et al., 2014). De plus, certains

auteurs utilisent la fluorescence des microbialites anciennes pour démontrer l'origine biogénique de minéraux, notamment dans des études de cas concernant la dolomite (Russo et al., 1997 ; Perri et Tucker, 2007 ; Mastandrea et al., 2010).

Depuis quelques années, la microscopie confocale à balayage laser (CLSM) est fréquemment utilisée dans l'étude des microbialites actuelles. Décrite en 1953 par Marvin Minsky, cette technique permet d'obtenir des images de fluorescence émise par l'échantillon au niveau d'une tranche fine (par exemple 1  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) au niveau du plan focal de l'objectif. Un premier avantage de la microscopie confocale est d'éliminer les photons provenant des plans défocalisés et d'augmenter ainsi le rapport signal sur bruit (Mahmudi-Azer et al., 2001). Un second avantage est qu'il est alors possible de reconstruire le signal en 3D en prenant des images à différents z successifs. Enfin, le troisième avantage de cette technique est qu'il est possible de faire de l'imagerie hyper-spectrale grâce à la présence de plusieurs photo-multiplicateurs permettant de filtrer les photons émis par fluorescence en fonction de leur longueur d'onde, de les amplifier et de les convertir en un signal électrique.

Dans les études sur les microbialites, le CLSM est traditionnellement utilisé pour visualiser des micro-organismes naturellement fluorescents, tels que les cyanobactéries (Zippel et Neu, 2011 ; Pace et al., 2016 ; Gomez et al., 2018 ; Rouillard et al., 2020), mais il sert également à visualiser des micro-organismes non auto-fluorescents mais marqués avec des sondes fluorescentes plus ou moins spécifiques (Kawaguchi et Decho, 2002 ; Amann et Fuchs, 2008; Goh et al., 2009). Couplé à la spectroscopie Raman, le CLSM permet de mettre en évidence des assemblages micro-organismes/ minéraux à l'instar des Alphaproteobacteria et des Pleurocapsales intimement associées à la précipitation respectivement d'aragonite et de phases Mg-silicatées dans les microbialites d'Alchichica (Mexique) (Gérard et al., 2013) et du Lac Dziani Dzaha (Mayotte) (Gérard et al., 2018). En revanche, le CLSM est très peu employé sur des microbialites anciennes. Pourtant, grâce à cette technique, Lepot et al. (2014) ont fourni des informations inédites concernant la diversité de reliques de microfossiles préservés dans des tapis microbiens fossiles d'un lac en Antarctique.

La plupart des études utilisant la microscopie confocale dans les microbialites actuelles utilisent des marqueurs fluorescents. Parmi ceux-ci, les plus courants sont le DAPI (marqueur d'ADN) pour révéler, en bleu, la matrice organique et la calcéine (marqueur des ions  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$ ) pour révéler, en vert, les carbonates et les argiles magnésiennes (voir Kawaguchi et Decho, 2002 ;

Handley et al., 2008 ; Zippel et Neu, 2011 ; Gérard et al., 2013, 2018 ; Pace et al., 2016 ; Gomez et al., 2018). Le problème de ces marqueurs fluorescents est que leurs spectres d'émission de fluorescence se superposent aux spectres de fluorescence de certains pigments photosynthétiques (que l'on nomme autofluorescence) (Billinton et Knight, 2001). Bien que ce soit une technique d'imagerie hyperspectrale, les spectres d'émission de fluorescence sont rarement montrés (excepté dans Gérard et al., 2013 ; Lepot et al., 2014 ; Sancho-Tomás et al., 2018 liste non exhaustive). Dans la grande majorité des cas, les analyses CLSM restent limitées à des images qualitatives et les informations spectrales ne sont pas exploitées. C'est pourquoi, dans ce chapitre, nous nous sommes particulièrement focalisés sur le traitement des données CLSM hyperspectrales afin de proposer une méthodologie permettant 1) de caractériser la variabilité spectrale et 2) cartographier la distribution de ces variations.

En géosciences (Marshall, 1991; Boggs et Krinsley, 2006; Götze, 2012), et plus particulièrement dans l'étude des roches carbonatées (Pufahl et Hiatt, 2012; Hiatt et Pufahl, 2014), la cathodoluminescence (CL) est fréquemment utilisée pour 1) mettre en évidence les stades de croissance des carbonates en identifiant des zonations, 2) caractériser les carbonates abiotiques *vs* biogéniques (Barbin, 2000) et 3) améliorer la compréhension des archives paléoenvironnementales, notamment grâce à la distribution des éléments du Fe et du Mn dans les carbonates. La CL se traduit par l'émission de lumière dans le visible par un solide soumis à un bombardement électronique. La longueur d'onde d'émission du photon, émis lors de la désexcitation de la matière, est fonction de plusieurs paramètres : la nature chimique et la structure du minéral, sa conductivité et la présence d'autres éléments activateurs *vs* inhibiteurs de luminescence, dans le minéral (Waychunas, 2014). La sensibilité de la cathodoluminescence est telle, que l'on peut détecter des variations de concentrations d'impuretés de l'ordre de  $10^{14}$  atomes/cm<sup>3</sup>, permettant de détecter des concentrations bien inférieures à celles détectées par la microanalyse X (Sieber, 2012). C'est donc, en général, une méthode très informative pour l'identification des éléments traces dans les minéraux.

Très récemment, grâce à l'utilisation de techniques analytiques de pointe basées sur la microscopie de fluorescence des rayons X ( $\mu$ -XRF) et le rayonnement synchrotron, il a été suggéré que la distribution d'enrichissements en éléments tels que Fe, Mn, Zn, Ni, As etc., et en particulier leur distribution spatiale à des échelles sub-micrométriques pouvaient être utilisés comme des indicateurs de l'activité microbienne passée (Sforna et al., 2017, 2022; Sancho-Tomás et al., 2018, 2020; Warke et al., 2019; Callefo et al., 2019, 2022; Baumgartner et al.,

2020). Toutefois, les compositions en éléments traces des microbialites sont aussi proposées comme des marqueurs paléoenvironnementaux. Par exemple, von Blanckenburg et al. (2008) ont suggéré que la plupart du Fe trouvé dans certaines microbialites marines modernes et anciennes se trouvait dans des carbonates hydrogénés, plutôt que dans des Fe et Mn-hydroxydes. Dans cette optique, nous nous sommes intéressés à l'enregistrement des conditions oxiques/anoxiques dans les stromatolites sardes pouvant survenir à l'échelle de la lagune et/ou à l'échelle du biofilm. Pour cela nous avons cartographié le Ca, le Fe et le Mn à des échelles sub-micrométriques grâce à des approches  $\mu$ -XRF utilisant le rayonnement synchrotron (SR-XRF). Par la suite, nous avons semi-quantifié ces cartographies, et comparé les abondances relatives de Fe et de Mn dans les carbonates aux concentrations de Fe et du Mn dans les eaux de Mari Ermi. Dans le même temps, nous nous sommes demandé s'il existait une corrélation entre la distribution des variations du Fe et du Mn dans les carbonates et la distribution du signal de fluorescence dans le visible et/ou de cathodoluminescence.

## 5.2 Matériels et méthodes

### 5.2.1 Liste des échantillons

Les analyses de fluorescence, microscopie optique, SR-XRF et de chimie globale ont été faites sur des stromatolites de Mari Ermi et du Messinien. En revanche, les analyses de CL n'ont été faites que sur les stromatolites de Mari Ermi. La liste des échantillons utilisés pour ces analyses est détaillée dans le **Tableau 5.1**.

**Tableau 5.1** Liste des échantillons et des analyses effectuées dans ce chapitre. Abréviations : MES = Mari Ermi sud ; MEN = Mari Ermi nord ; Opt = microscopie optique ; CLSM = microscopie confocale à balayage laser ; CL = cathodoluminescence ; SR-XRF = fluorescence des rayons X par rayonnement synchrotron.

Échantillon ID	Site	Nature	Analyses
SAR16_MES_1	MES	lame couverte	Opt / CLSM
SAR16_MES_1bis	MES	lame non couverte	Opt / CLSM
SAR16_MES_1ter	MES	lame non couverte	Opt / CLSM
SAR16_MES_z2	MES	section 1 x 1 cm <sup>2</sup> x 30 µm	SR-XRF
SAR16_MEN_1	MEN	lame couverte	Opt / CLSM
SAR16_MEN_1bis	MEN	lame non couverte	CL
SAR16_MEN_1_z1	MEN	section 1 x 1 cm <sup>2</sup> x 30 µm	SR-XRF
MESS_L_NC_Ame.2	Amekrane	lame non couverte	Opt / CLSM
MESS_L_NC_B25	Benejuzar	lame non couverte	Opt / CLSM
MESS_L_NC_B25_z1	Benejuzar	section 1 x 1 cm <sup>2</sup> x 30 µm	SR-XRF
MESS_L_NC_z3	Lampedusa	section 1 x 1 cm <sup>2</sup> x 30 µm	SR-XRF
MESS_L_NC_M97-2	Mellila	lame non couverte	Opt / CLSM
MESS_L_NC_S2	Sassel	lame non couverte	Opt / CLSM
MESS_L_NC_SP	Santa Pola	lame non couverte	Opt / CLSM

### 5.2.2 Préparation des échantillons

Dans ce chapitre, les analyses de chimie du solide ont été faites sur des poudres prélevées sur des échantillons de Mari Ermi et du Messinien. La microscopie optique et confocale a été réalisée sur des lames minces couvertes et non couvertes d'environ 30 µm d'épaisseur. Il est à préciser que la résine utilisée pour préparer les lames minces est une résine qui ne fluoresce pas. En revanche, la CL s'est faite uniquement sur une lame mince non couverte. Enfin, certaines lames minces non couvertes ont été utilisées pour la préparation des micro-sections pour les analyses SR-XRF

### 5.2.3 Analyse chimique des éléments en trace

Les analyses de la composition en éléments traces ont été réalisées simultanément avec celles en éléments majeurs (voir **chapitre 4**). Elles ont été faites par ICP-AES au service

d'analyses des roches et des minéraux (SARM) du centre de recherches pétrographiques et géochimiques (CRPG) de Nancy, France. Les incertitudes sont de 5% pour les concentrations >10 ppm et de 15% pour les concentrations entre 10 et 1 ppm (voir Carignan et al., (2001) pour une description détaillée des protocoles expérimentaux utilisés au SARM pour les analyses d'éléments majeurs).

## 5.2.4 Microscopie optique

Les observations en microscopie optique ont été faites sur lames minces couvertes et non couvertes à l'aide un microscope optique Leica DM 2500P (IMPMC, Paris).

## 5.2.5 Microscopie confocale à balayage laser (CLSM)

### 5.2.5.1 Paramètres d'acquisition

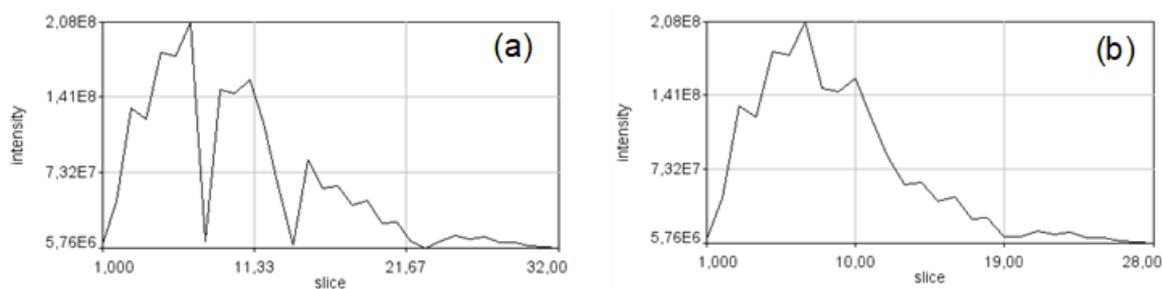
Les lames minces ont été examinées à l'aide d'un microscope confocale à balayage laser Zeiss LSM 710 (IMPMC) monté sur un AxioImager z2 avec une résolution latérale de 0,4  $\mu\text{m}$ . Le Zeiss LSM 710 était équipé d'une diode laser de 405 nm et de lasers multilignes à argon (458, 488 et 514 nm), à hélium-néon-vert (543 nm) et à hélium-néon-rouge (633 nm). Les acquisitions hyperspectrales de fluorescence (lambda mode) ont été obtenues avec une excitation simultanée aux longueurs d'onde de 405, 488 et 633 nm, une résolution spectrale de 10 nm sauf mentionnée dans le cas contraire. Le signal de fluorescence a été recueilli entre 400 et 730 nm. Les miroirs dichroïques MBS 488/543/633 et le miroir dichroïque MBS 405 ont été activés pour éviter les réflexions des excitations visibles (488, 543, 633 nm) et invisibles (405 nm) des lasers sur l'échantillon. Les images ont été acquises avec un objectif x 10 ou x 20 et avec un temps de balayage de 330 ms /pixels pour le mode exploratoire. Par la suite, des acquisitions plus longues ont été entreprises avec des temps de balayage allant jusqu'à 1,14s/pixel et des temps d'acquisition totaux de l'ordre d'une vingtaine de minutes.

Une mosaïque centimétrique ( $7,08 \times 7,08 \text{ mm}^2$ ;  $5120 \times 5120$  pixels, taille de pixel de 1,40  $\mu\text{m}$ ), a été construite à partir de 5 x 5 tuiles ( $1024 \times 1024$  pixels). Le temps total d'acquisition de cette mosaïque avec un temps de balayage de 330 ms/pixel était d'environ 30 min. Cette mosaïque a été obtenue avec une excitation simultanée des longueurs d'onde 405, 488 et 633

nm en recueillant la pile image de fluorescence émise entre 425-475 nm, 500-530nm et 5560-733 nm avec un pas spectral de 10 nm.

### 5.2.5.2 Traitement des données CLSM

Finalement, nous obtenons une donnée hyperspectrale, c'est-à-dire une image composée d'un grand nombre de pixels (autour de 4 millions de pixels), et pour chacun de ces pixels, un spectre d'émission de fluorescence de la lumière. Il a donc fallu développer une méthodologie pour extraire l'information de ces données particulièrement riches. Le traitement des données CLSM a fait l'objet de plusieurs tests avant d'aboutir au protocole ci-dessous. Pour toutes les piles-images obtenues, les images à 488, 537, 546 et 634 nm ont été supprimées du fait de l'activation des miroirs dichroïques et donc d'un signal de fluorescence nul à ces longueurs d'onde (**Figure 5.1**). La donnée hyperspectrale est donc une combinaison de 28 images, recueillies pour 28 longueurs d'onde d'émission allant de 430 à 720 nm avec un pas spectral de 10 nm.



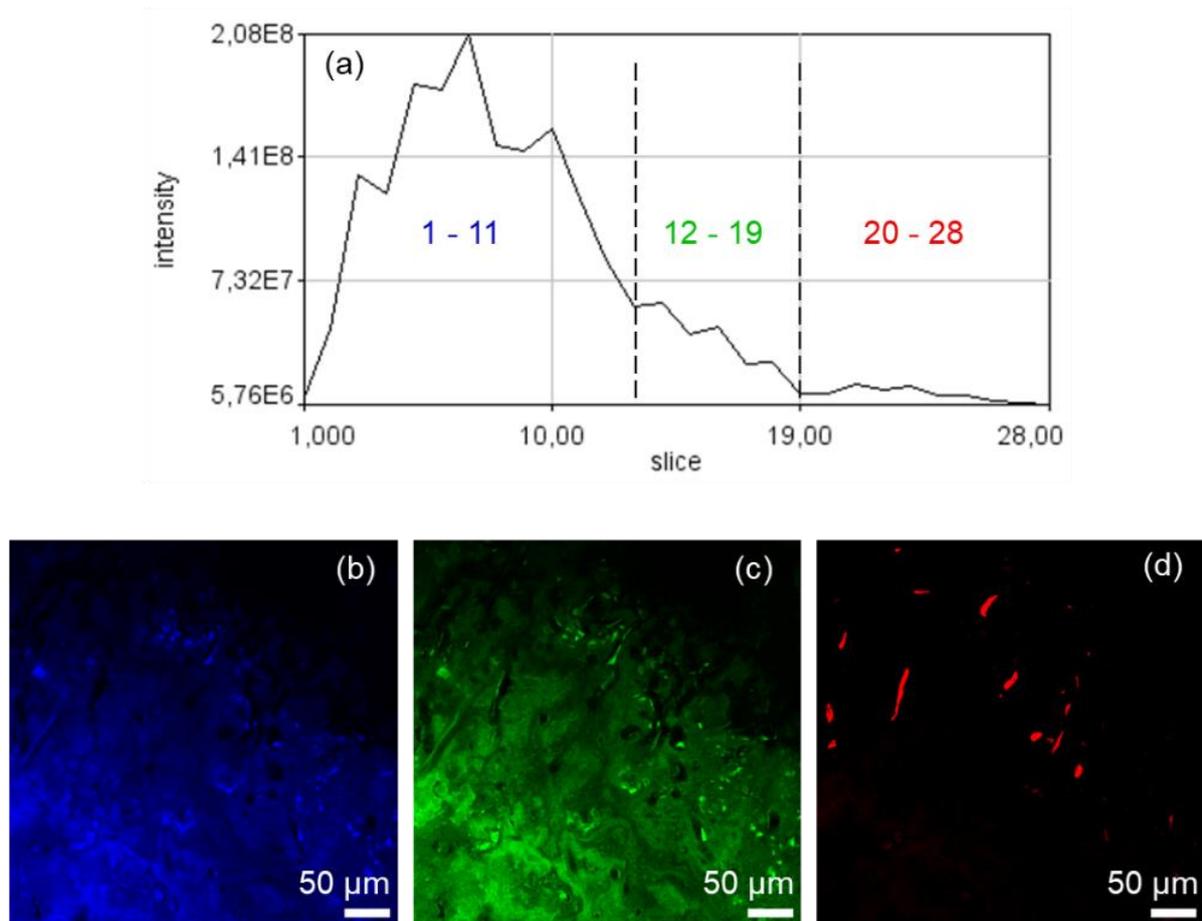
**Figure 5.1** Comparaison des spectres somme du signal de fluorescence sur l'ensemble d'une donnée hyperspectrale (a) avant et (b) après la suppression des canaux associés aux longueurs d'onde 488, 437, 446 et 634 nm.

### 5.2.5.3 Démixage linéaire du signal hyperspectral de fluorescence

L'ensemble des données CLSM a été traité avec le logiciel Fiji/ImageJ. Une zone analysée peut présenter des variations des propriétés de fluorescence, par exemple parce qu'il y a différents matériaux ou différentes molécules fluorescentes qui peuvent être par ailleurs en mélange dans des proportions variables. Pour étudier la variabilité spectrale de fluorescence et sa distribution au sein d'une zone, nous avons utilisé le principe du démixage spectral linéaire. Ce principe a pour but de trouver les spectres de composés purs (ou les plus purs possibles) permettant d'expliquer l'ensemble des pixels de l'image par des combinaisons linéaires de composantes spectrales (« endmembers »). Cependant, comme nous ne connaissons pas l'origine de la fluorescence dans nos échantillons, nous avons testé deux méthodes qui sont détaillées dans les paragraphes suivants.

a) Détermination des composantes spectrales par découpage du spectre de fluorescence

Dans cette méthode, les composantes spectrales sont identifiées pratiquement à l'œil en essayant de repérer différents pics sur les spectres somme du signal de fluorescence et en les faisant correspondre aux différentes composantes spectrales. Dans l'exemple suivant (**Figure 5.2**), nous observons un premier pic entre les canaux 1 à 11, puis un deuxième entre les canaux 12 à 19 et enfin un dernier pic très peu intense entre les canaux 20 à 28. Finalement, les trois composantes spectrales correspondent aux trois piles-images reconstruites, respectivement entre les canaux 1 à 11, 12 à 19 et 20 à 28.

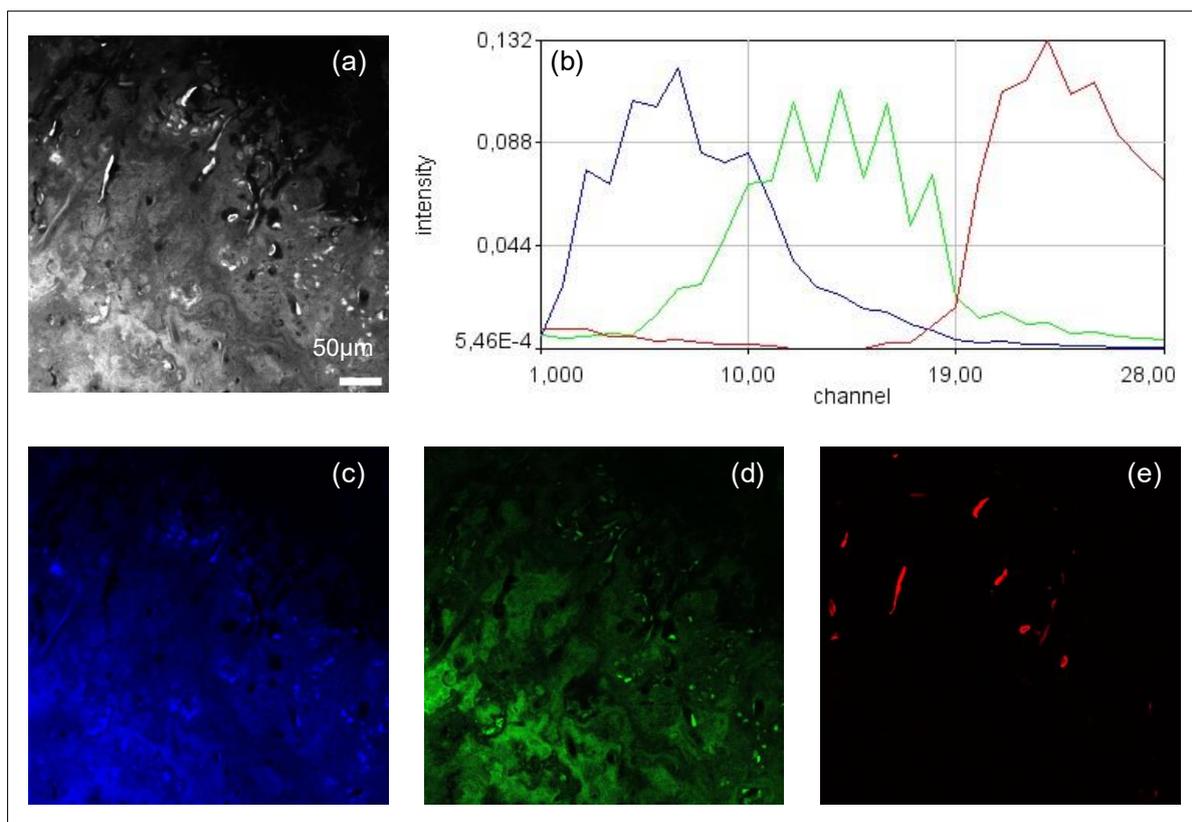


**Figure 5.2** Résultats obtenus après découpage arbitraire du spectre de fluorescence total. (a) Le spectre de fluorescence total a été découpé en trois gammes d'émission. Images piles reconstruites en additionnant les intensités de fluorescence entre les canaux (b) 1 à 11 (bleu), (c) 12 à 19 (vert) et (d) 20 à 28 (rouge).

#### b) Utilisation d'un algorithme de factorisation matricielle non négative

Comme indiqué précédemment, nous disposons dans ces données hyperspectrales d'un grand nombre de spectres (pour rappel, jusqu'à 4 millions de spectres). Ainsi, il peut être difficile de distinguer toutes les nuances de variabilité au sein d'un tel jeu de données. Il devient ainsi intéressant d'utiliser des approches statistiques multivariées pour mieux saisir cette variabilité. Nous avons utilisé le plug-in Stowers (Jay Unruh, Stowers Institute for Medical Research in Kansas City) pour lequel un algorithme permettant la décomposition spectrale d'une image

hyperspectrale « en aveugle » (Neher et al., 2009), par factorisation matricielle non négative (NNMF), est implanté (**Figure 5.3**). Cet algorithme est, de plus, adapté aux échantillons ne contenant pas dans leur image, de pixels unique représentant un spectre pur. Nous avons imposé arbitrairement un nombre de trois composés et aucune condition initiale (longueur d'onde, pic gaussien etc...) pour la recherche des spectres. Pour chaque composé trouvé, nous avons obtenu une signature spectrale et une image associée reconstruite à partir des pixels purs ou en mélange, contenant cette signature spectrale.



**Figure 5.3** Exemple de résultats obtenus après décomposition spectrale en aveugle en utilisant le plug-in Stowers. (a) Image pile reconstruite à partir de la somme des 28 canaux. (b) Signature spectrale trouvées par algorithme NNMF. (c) Image reconstruite à partir du spectre bleu (d) Image reconstruite à partir du spectre vert. (e) Image reconstruite à partir du spectre rouge.

## c) Comparaison des deux méthodes

Dans cet exemple précis, les composantes spectrales obtenus à l'aide des deux méthodes (**Figure 5.2** et **Figure 5.3**) semblent être identiques. Néanmoins, ce n'est pas le cas pour tous les échantillons, notamment ceux n'ayant pas un fort signal d'émission de fluorescence dans les canaux 20 à 28 (émission dans le rouge). Or, si nous voulons par la suite comparer les résultats entre différentes cartographies et différents échantillons, nous devons avoir un protocole d'analyse d'images avec des paramètres identiques. C'est pourquoi, dans la suite de ce travail, l'obtention des composantes spectrales s'est effectuée par découpage du spectre de fluorescence. Par la suite, nous utiliserons toujours les trois mêmes composantes spectrales correspondant à :

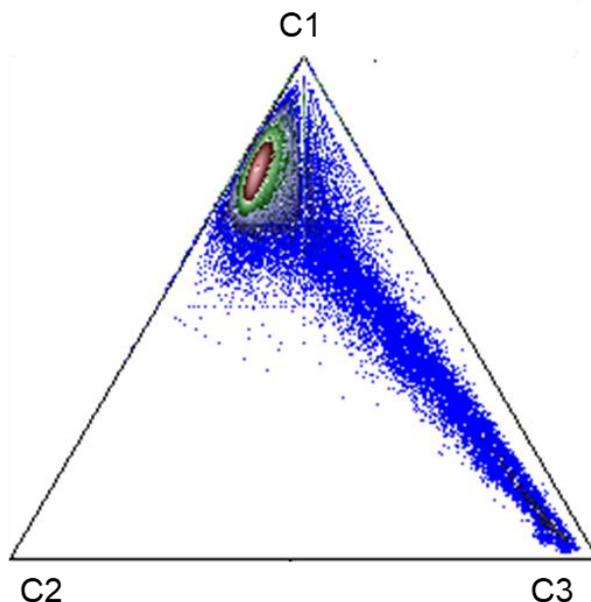
C1 : pile-image entre 430 et 537 nm (canaux 1 à 11)

C2 : pile-image entre 556 et 624 nm (canaux 12 à 19)

C3 : pile-image entre 644 et 722 nm (canaux 20 à 28)

## 5.2.5.4 Traitement d'image pour l'étude de la distribution du signal de fluorescence

Exceptée la présence de composés purs avec une signature spectrale de fluorescence particulière à l'instar des filaments rouges observées en **Figure 5.2d** et en **Figure 5.3<sup>e</sup>**, nous avons remarqué que, dans nos échantillons, les signatures spectrales de fluorescence étaient davantage le résultat d'un mélange de composés plutôt que celui d'un composé pur (**Figure 5.2b&c** et **Figure 5.3c&d**). Nous avons opéré un traitement d'image utilisant des projections ternaires (**Figure 5.4**) afin de mieux visualiser la répartition du signal total de fluorescence entre les trois différents endmembers (C1, C2, C3). Pour cela, nous avons utilisé le logiciel  $\mu$ phase map (Prêt et al., 2010a, b) (**voir chapitre 4**) en le détournant de son utilisation originale. En effet, les paramètres d'entrée ne sont pas des cartes de concentration chimique élémentaires, mais des cartes d'intensité de fluorescence des trois composantes spectrales identifiées.



**Figure 5.4** Exemple de projection ternaire des composantes spectrales. L'échelle de couleur logarithmique à 3 bandes est indicative de la densité des pixels représentés à chaque point du graphe ternaire permettant de représenter simultanément les compositions peu abondantes (en bleu) et les compositions prédominantes (en rouge).

#### 5.2.5.5 Extraction des spectres de fluorescence

Les spectres de fluorescence correspondant aux pixels les plus purs sont extraits en sélectionnant un petit groupe de pixels dans le système ternaire et en le rétroprojetant sur la pile image. En convertissant cette image en masque binaire et en l'appliquant ensuite sur l'image stack, nous avons pu extraire le spectre des pixels correspondants. Par la suite, les spectres sont normalisés et débruités en utilisant le logiciel OriginPro, v2016.

#### 5.2.6 Cathodoluminescence

Les observations en cathodoluminescence ont été effectuées au laboratoire IStEP avec Laurence le Callonec (Sorbonne Université, Paris, France) sur un microscope optique couplé à une cathode froide (Catodine Opéa). Les paramètres d'observation étaient de 15-20 kV et 200-400  $\mu\text{A mm}^{-2}$  à une pression de 0,05 Torr.

## **5.2.7 Analyses synchrotron de nano-fluorescence des rayons X (SR-XRF) à balayage**

### 5.2.7.1 Principe de la méthode

La XRF résulte de l'éjection d'un électron d'une couche interne d'un atome suite à une illumination par des rayons X d'une énergie suffisante. La désexcitation de l'atome par la transition d'un électron d'une couche électronique supérieure conduit à l'émission d'un photon dans le domaine d'énergie des rayons X, avec une énergie caractéristique de l'élément excité. Il s'agit d'un procédé non destructif, qui, peut être réalisé avec des faisceaux micro- ou nano-focalisés en 2D ou 3D. Les analyses SR-XRF ont été réalisées sur la ligne NANOSCOPIUM (Somogyi et al., 2015). Cette ligne, longue de 155 m est dédiée à l'imagerie X (5 à 20 keV), multimodale et multi-échelle (35 nm à 1  $\mu\text{m}$ ), par balayage rapide (technologie flyscan). Elle offre la possibilité d'avoir simultanément et dans les mêmes conditions expérimentales, à la fois des informations quantitatives 2D et 3D (tomographie) sur la composition élémentaire, les spéciations chimiques et la morphologie de l'échantillon étudié. Dans cette étude, nous sommes uniquement intéressés à la composition élémentaire des échantillons analysés.

### 5.2.7.2 Préparation des échantillons

Pour les analyses synchrotron, les échantillons ont été préparés de façon à obtenir des micro-sections d'environ 1 cm x 1 cm x 30 $\mu\text{m}$ . Pour ce faire, des lames minces non couvertes ont été utilisées et laissées à tremper pendant au moins 2 h dans de l'eau tiède afin de décoller l'échantillon, initialement collé à une lame de verre avec de la colle Araldite. Puis l'échantillon a été précautionneusement retiré de la lame de verre grâce à l'utilisation d'un scalpel. Enfin, des carrés d'environ 1 x 1 cm<sup>2</sup> ont été découpés avant d'être collés avec du vernis à ongle sur des porte-échantillons en plastique adaptés à la ligne Nanoscopium (Synchrotron SOLEIL, Saint Aubin).

### 5.2.7.3 Paramètres d'acquisition

Les mesures SR-XRF ont été effectuées sur plusieurs zones des échantillons étudiés sur la ligne de lumière Nanoscopium au Synchrotron Soleil (L'Orme des Merisiers Saint-Aubin, France). Le faisceau monochromatique de rayons X d'une énergie de 18,3 keV a été focalisé à

la position de l'échantillon par un système de nano-focalisation type « Kirkpatrick-Baez » avec une taille de 100 nm. Afin d'obtenir une résolution micrométrique pour les cartes élémentaires de zones d'échantillons de taille  $\text{mm}^2$ , nous avons utilisé la technique de balayage continu rapide (FLYSCAN). Dans ce travail, un pas de balayage allant de 0,7 à  $1\mu\text{m}$  a été utilisé. Les spectres XRF complets ont été collectés pour chaque pixel par deux détecteurs Si-drift (VITUS H50, KETEK GmbH) afin d'augmenter l'angle solide de détection. Les distributions de K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Ga, Si et Al dans les régions d'échantillons mesurées ont été calculées par un code Matlab développé par la ligne Nanoscopium.

#### 5.2.7.4 Traitement des données

##### a) Semi-quantification des cartes $\mu$ -XRF

Le logiciel PyMca a été utilisé pour extraire les spectres-somme XRF afin d'identifier les éléments présents dans l'échantillon (Solé et al., 2007). Ensuite, la région spectrale d'intérêt (ROI) de chaque élément détectable a été identifiée à partir des spectres-somme. Les cartographies élémentaires ont été reconstruites par un code Matlab fait maison en utilisant les ROIS spectraux. Une correction pour le temps mort, le temps de mesure et le chevauchement des pics a été incluse dans le code Matlab fait maison.

La semi-quantification en  $[\text{fg}/\mu\text{m}^2]$  a été obtenue par la méthode de l'étalon interne (Jenkins, 1995) en utilisant PyMca ; le spectre moyen de la région de l'image contenant la calcite de chaque carte a été extrait. La concentration massique connue de 40% de Ca dans la calcite et sa densité de masse de  $2,71\text{ g/cm}^3$  ont été utilisées comme étalon interne dans le spectre moyen de la région de calcite, ce qui a permis de déterminer le facteur d'étalonnage des concentrations, dépendant des conditions expérimentales, pour chaque élément présent dans ce spectre moyen. Les cartographies élémentaires semi-quantitatives ont ensuite pu être calculées directement pour chaque élément.

##### b) Prétraitements des données avant segmentation

Afin d'étudier la distribution du manganèse et du fer dans les phases carbonates de calcium, nous devons discriminer les pixels appartenant aux phases carbonatées uniquement. Pour cela, nous avons utilisé le logiciel  $\mu$ phasemap (déjà introduit au **chapitre 4**). Nous avons travaillé uniquement sur les cartes du Ca, Fe et Mn qui sont les éléments qui nous intéressent pour notre

étude. Tout d'abord, pour chaque pixel, le pourcentage en poids ( $At_i$ ) wt% de chaque élément mesuré ( $At_i$ ) a été converti en pourcentage molaire ( $At_i$ ) mol%. La teneur totale stœchiométrique d'oxygène (O) mol% pour un pixel a été calculée comme suit :

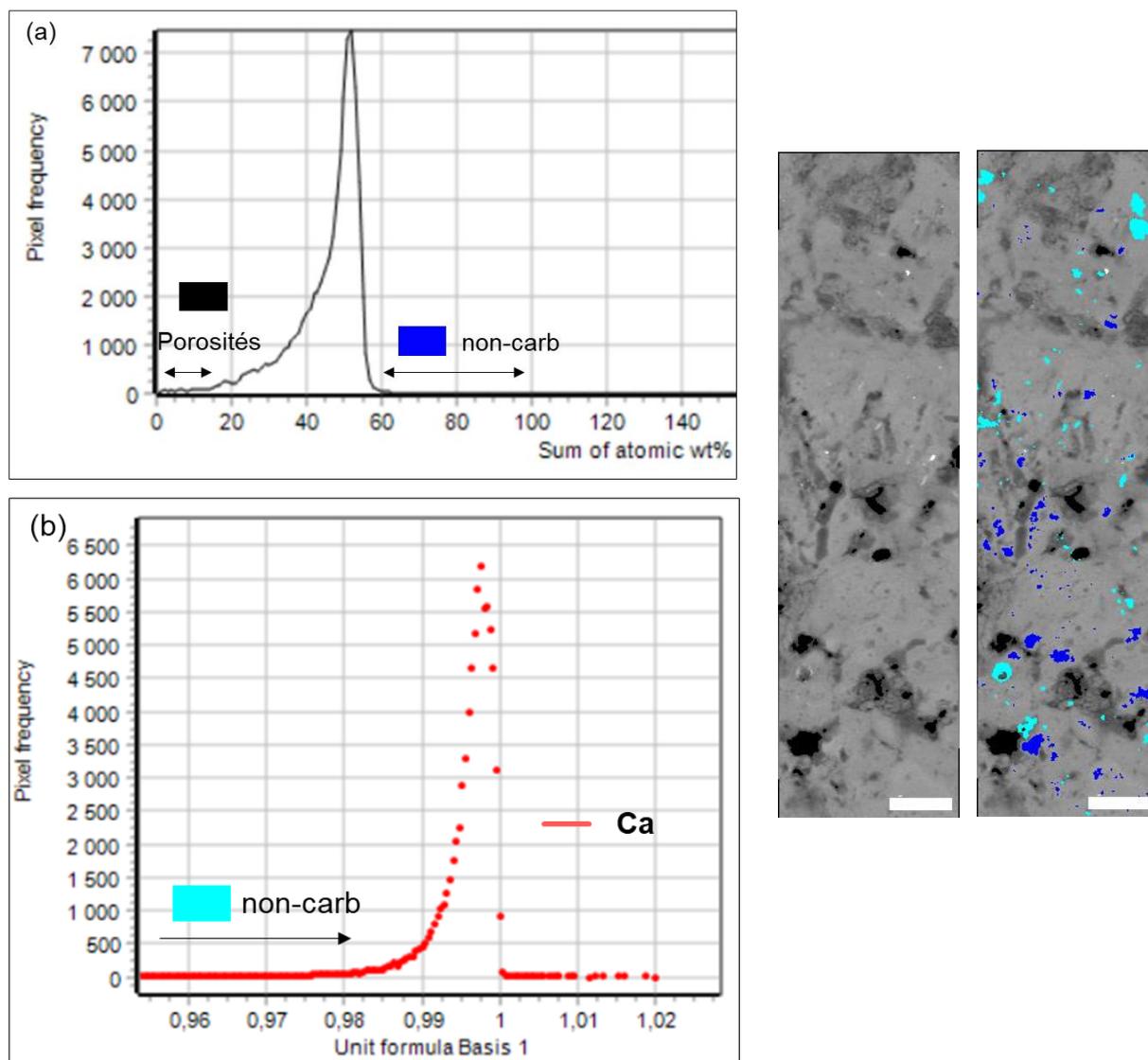
$$(O)mol\% = \sum_i \frac{(At_i)mol\% \times Valence(At_i)}{2}$$

Ce qui dans notre cas donne :

$$(O)mol\% = \frac{2 \times Ca(mol\%) + 2 \times Fe(mol\%) + 2 \times Mn(mol\%)}{2}$$

Par la suite, nous avons utilisé les histogrammes de fréquence (FH) des concentrations en éléments pour segmenter les phases non carbonatées. L'histogramme de fréquence permet de fournir une représentation visuelle de la dispersion des concentrations d'éléments entre les différentes phases. Nous savons que la concentration théorique en poids d'oxyde de la calcite (CaO) est de 56%. Pour segmenter les phases non carbonatées, nous utilisons premièrement la somme des concentrations pondérales des éléments analysés par pixel  $\Sigma$  (oxyde) wt% (incluant la teneur stœchiométrique en O) (**Figure 5.5a**). Dans cet histogramme de fréquence de la somme des poids d'oxyde, nous avons délimité trois domaines : les porosités/macropores/microfossiles situés entre 0 et 28% en poids d'oxyde, les carbonates de calcium, située entre 28 et 60 % en poids d'oxyde et les phases non carbonatées situées après 60 % en poids d'oxyde. Nous avons donc seuillé et segmenté les pixels en dessous de 28% en poids d'oxyde et situés au-dessus de 60% en poids d'oxyde. Ces pixels ont été reprojétés dans l'image contenant l'intensité totale des X émis (à toutes les énergies). Cependant, comme il restait des phases non carbonatées, nous avons opéré une deuxième segmentation. Pour cela, nous avons utilisé l'histogramme de fréquence du Ca exprimé en formule cationique avec une base d'oxygène de 1 (1 oxygène pour 1 Ca) (**Figure 5.5b**). L'histogramme de fréquence du Ca montre une distribution gaussienne de la fréquence des pixels avec un pic situé autour de 0,995 pour 1 atome d'oxygène. Les phases non-calcitiques et non segmentées précédemment ont été différenciées en fonction de leur teneur en calcium. Les pixels ayant moins de 0,98 atome de calcium pour 1 atome d'oxygène ont été seuillés et rétroprojétés dans l'image des intensités totales. Par la suite, les pixels associés aux phases non-carbonatées ont été masqués, ce qui a

permis d'obtenir un masque image pour les phases carbonatées, correspondant à l'ensemble des pixels restants. Le masque image a été appliqué aux cartes semi-quantifiées du Mn et du Fe.



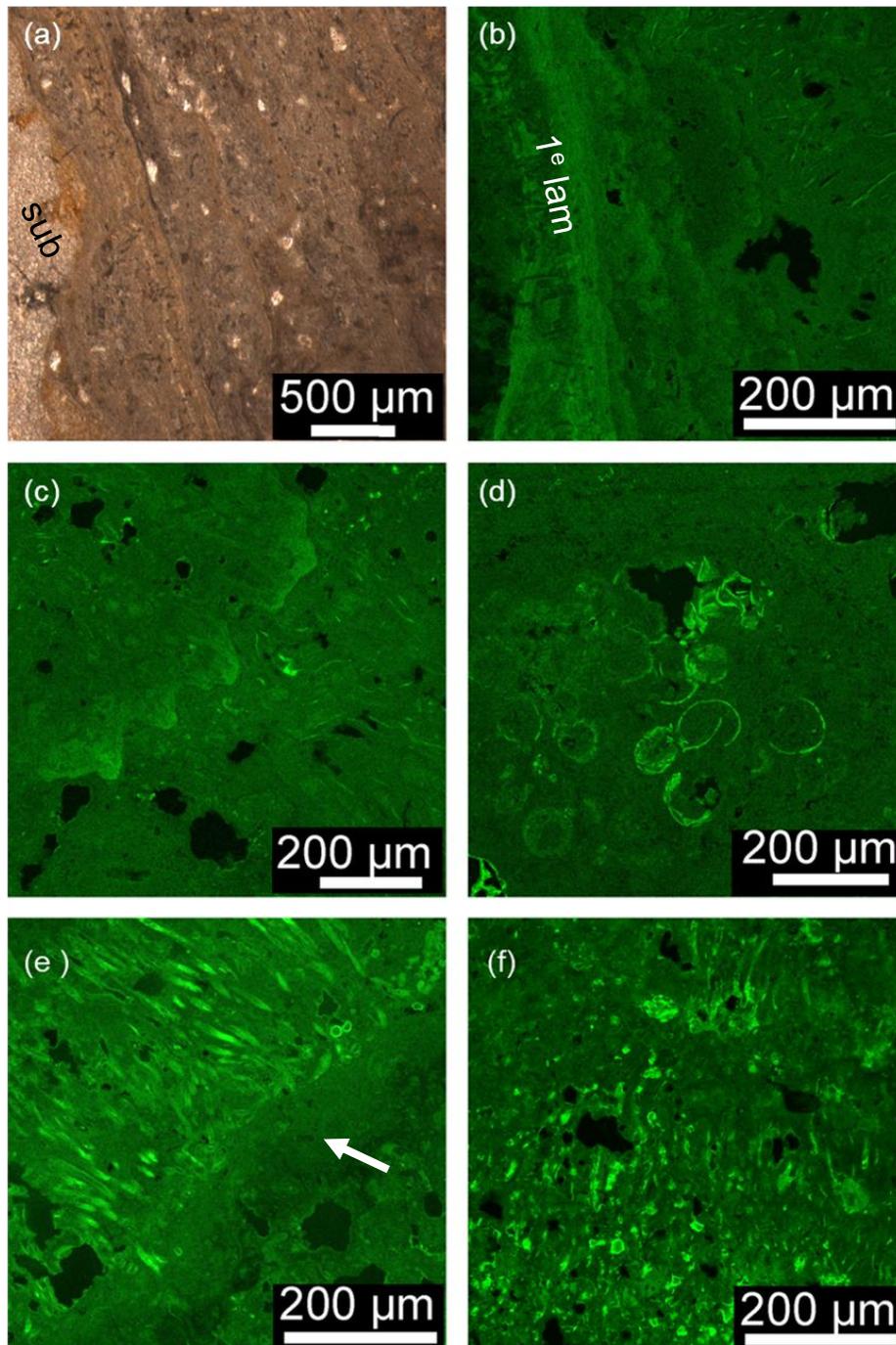
**Figure 5.5** Segmentation des phases non-carbonatées. (a) Histogramme de fréquence de la somme des % atomiques en poids permet de seuiller les phases macropores (en noire) et les phases non carbonatées (en bleu). (b) Histogramme de fréquence du calcium exprimé en formule cationique avec une base de 1 atome O (largeur de classe = 0,0005 cations par unité de formule). Les phases non-carbonatées (en cyan) ont été seuillées jusqu'à 0,985 cations de Ca par unité de formule. La barre d'échelle représente 50  $\mu\text{m}$ .

## 5.3 Résultats

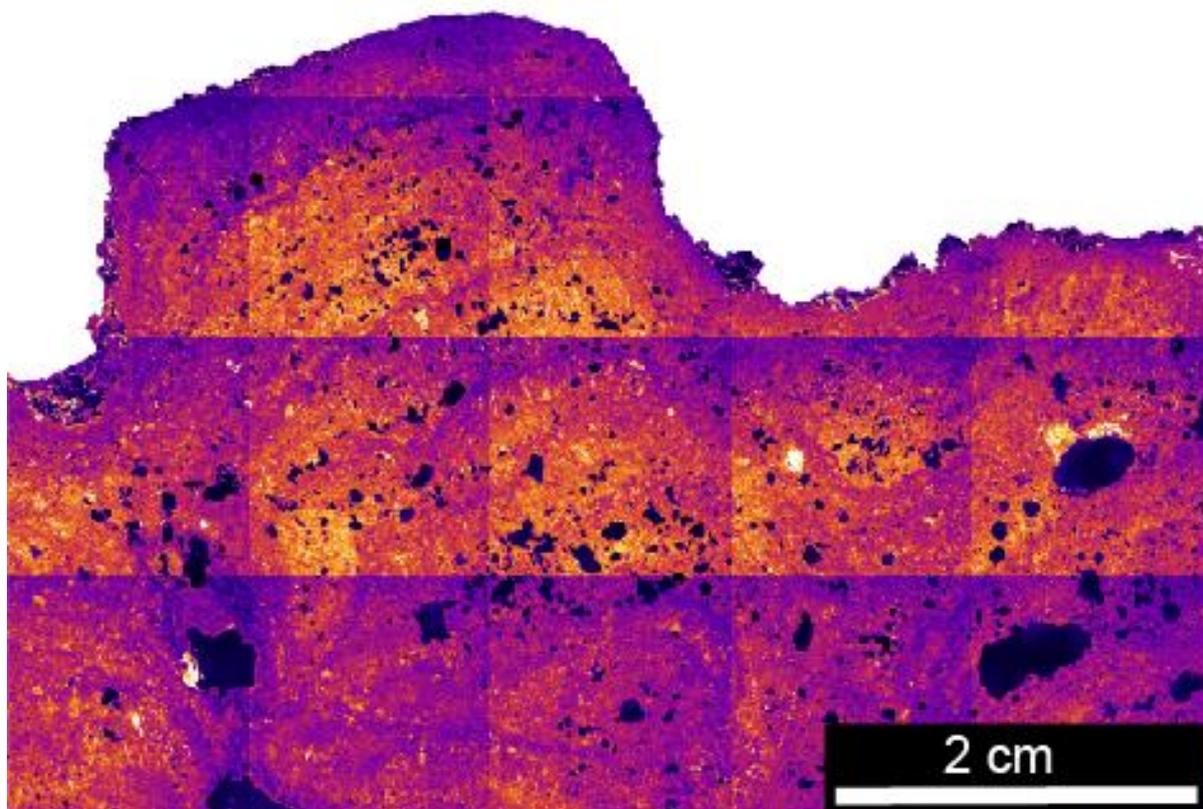
### 5.3.1 Analyses CLSM

#### 5.3.1.1 Fluorescence dans le visible des stromatolites actuels de Mari Ermi

Les observations en imagerie confocale, systématiquement couplées avec des observations en microscopie optique ont montré l'omniprésence de la fluorescence dans la partie stromatolitique des échantillons (**Figure 5.6**). En revanche, aucun signal de fluorescence, différenciable du bruit de fond, n'a été observé dans la partie substrat des échantillons (**Figure 5.6a&b**). Le signal de fluorescence n'est pas homogène. Un signal de fluorescence plus intense (vert clair) est présent à la jonction entre deux zones de la matrice carbonatée (**Figure 5.6c**), mettant en évidence des stades de croissance. Une fluorescence très intense est présente dans des structures indiscernables en microscopie optique comme des structures filamenteuses enroulées sur elles-mêmes et situées sur la partie supérieure des stromatolites, en dessous de la surface de l'échantillon (**Figure 5.6d**). Les lamines claires et sombres ont été définies au **chapitre 4** : les lamines claires sont riches en microfossiles (surtout filamenteux), et sont composées de calcite plus fortement substituée en magnésium. Ici, le signal de fluorescence dans les lamines claires est très intense surtout à l'intérieur des reliques de microfossiles mais il est peu intense dans le ciment entourant les microfossiles (**Figure 5.6 e, f**). Cette observation a été confirmée par la mosaïque de fluorescence (**Figure 5.7**) acquise sur une zone centimétrique, où les lamines claires filamenteuses arborent un signal de fluorescence beaucoup plus intense que dans les lamines sombres. En revanche, les lamines sombres, qui sont des lamines très denses avec peu ou pas de microfossiles et constituées de calcites moins substituées en magnésium, ont un signal de fluorescence très faible, voire éteint (**Figure 5.6e**).



**Figure 5.6** Observations de lames minces en microscopie optique confocale. Les échantillons proviennent des stromatolites de SAR16\_MES\_1 (MES) et SAR16\_MEN\_1 (MEN). (a) Image optique dans une zone à l'interface entre le substrat (sub) et les lamines (lam) stromatolitiques, MEN. (b) Image confocale de la zone montrée en (a). (c) Image confocale, milieu du stromatolite, MES. La flèche blanche souligne un stade de croissance. (d) Image confocale permettant de mettre en évidence des structures filamenteuses ou des files de cellules, MEN. (e) Image confocale d'une lamine sombre (flèche blanche) suivie d'une lamine claire à construction filamenteuse, milieu du stromatolite, MES. (f) Image confocale dans une zone à construction filamenteuse, haut du stromatolite, MEN. Les piles images sont artificiellement représentées en vert.

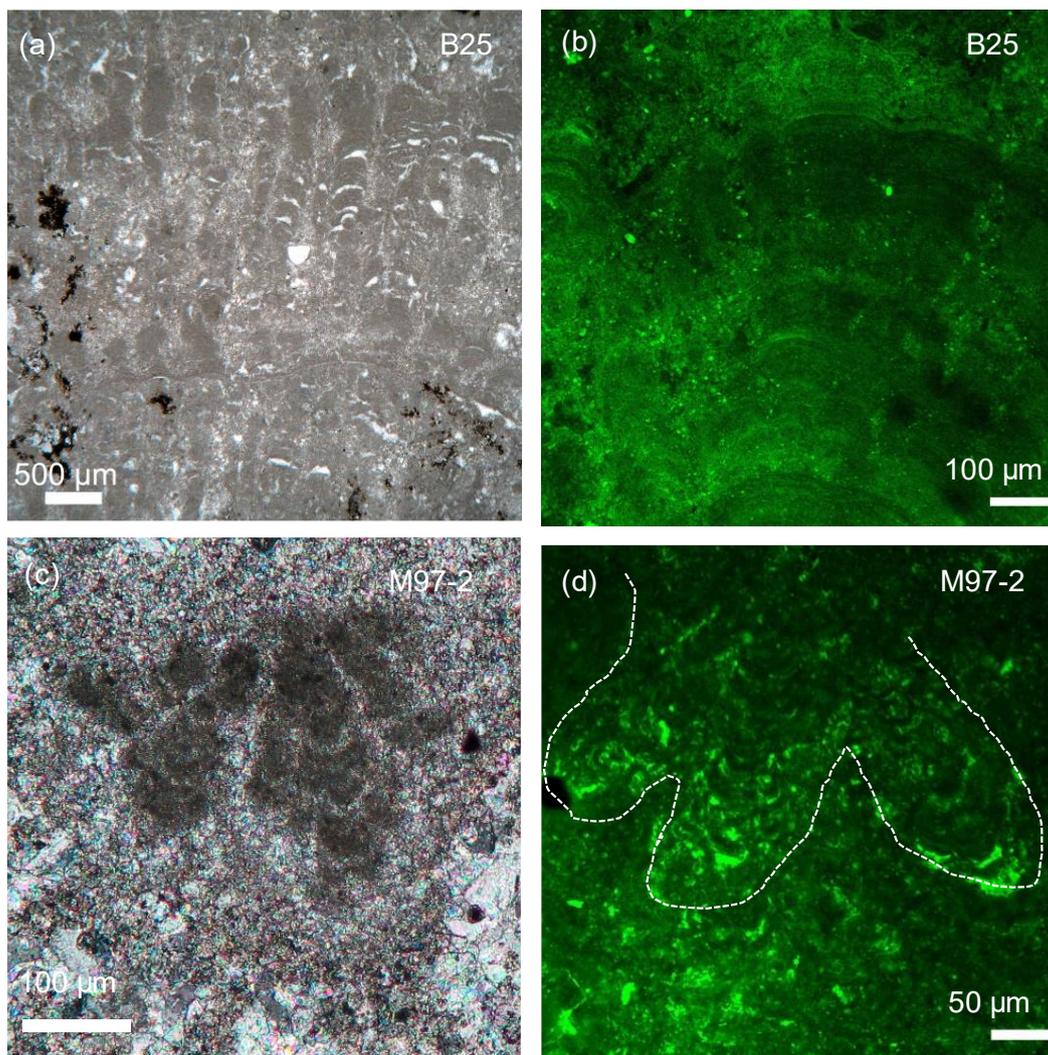


**Figure 5.7** Mosaïque CLSM acquise sur Mari Ermi nord (SAR16\_MEN\_1). L'intensité du signal d'autofluorescence est codée en fausse couleur depuis le bleu foncé (absence) au jaune très claire (très intense). La distribution du signal d'autofluorescence alterne entre des lamines peu intenses et lamines très intenses constituées de microfossiles filamenteux.

### 5.3.1.2 Fluorescence dans le visible des stromatolites anciens du Messinien

#### a) Fluorescence dans les structures laminées

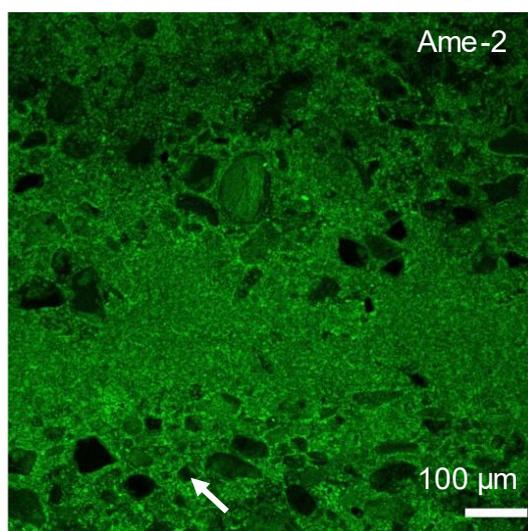
Dans la description pétrologique des stromatolites du Messinien (**Annexes 2 à 11**) faite en microscopie optique, nous avons souligné le caractère laminé, évident à l'échelle mésoscopique et beaucoup moins distinct à l'échelle microscopique. Nous avons également mis en évidence l'absence de structure microbienne filamenteuse au sein des lamines à l'inverse des stromatolites de Mari Ermi. Néanmoins, pour certains échantillons, nous observons de la fluorescence dans des structures laminées, que ce soit dans des zones à micro-colonnette (**Figure 5.8a&b**) (ou **Figure A.3.2e**) ou des zones à choux-fleurs (**Figure 5.8c&d**) (voir aussi **Figure A.6.2d** et **Figure A.10.2e&f**). La fluorescence dans ces échantillons est variable mais semble néanmoins dessiner des motifs de laminations.



**Figure 5.8** Structures micro-laminées dans des échantillons du Messinien. (a) Image optique (lumière non polarisée) de micro-colonnettes présentes dans l'échantillon MESS\_L\_NC\_B25 (b) Image CLSM de la vue de (a). (c) Image optique (en lumière polarisée) de micro-colonnette en forme de chou-fleur présent dans MESS\_L\_NC\_M97-2. (d) Image CLSM de la vue de (c). La ligne blanche en pointillés souligne la structure chou-fleur qui est beaucoup moins visible en fluorescence. Les images de fluorescence sont représentées arbitrairement en vert car le signal de fluorescence émet principalement dans le vert.

## b) Fluorescence dans les lamines riches en grains détritiques

Certains échantillons du Messinien sont influencés par le détritisme, notamment par un phénomène de piégeage et d'agglutination de grains détritiques au sein des lamines (voir par exemple **Figure A.5.2b**, **Figure A.11.2d**). Certains de ces grains détritiques non coalescents sont encore présents mais d'autres peuvent avoir été arrachés, notamment lors de la fabrication des lames minces. Dans ces zones, les grains détritiques fluorescent très peu et les trous dus à l'absence de ces grains, ne fluorescent pas du tout. En revanche, nous remarquons que le signal de fluorescence est subtilement plus intense tout autour des grains détritiques, par rapport au reste de la matrice carbonatée, ce qui renforce l'idée d'un piégeage de chacun de ces grains dans une sorte de matrice organique, probablement fluorescente (**Figure 5.9**).

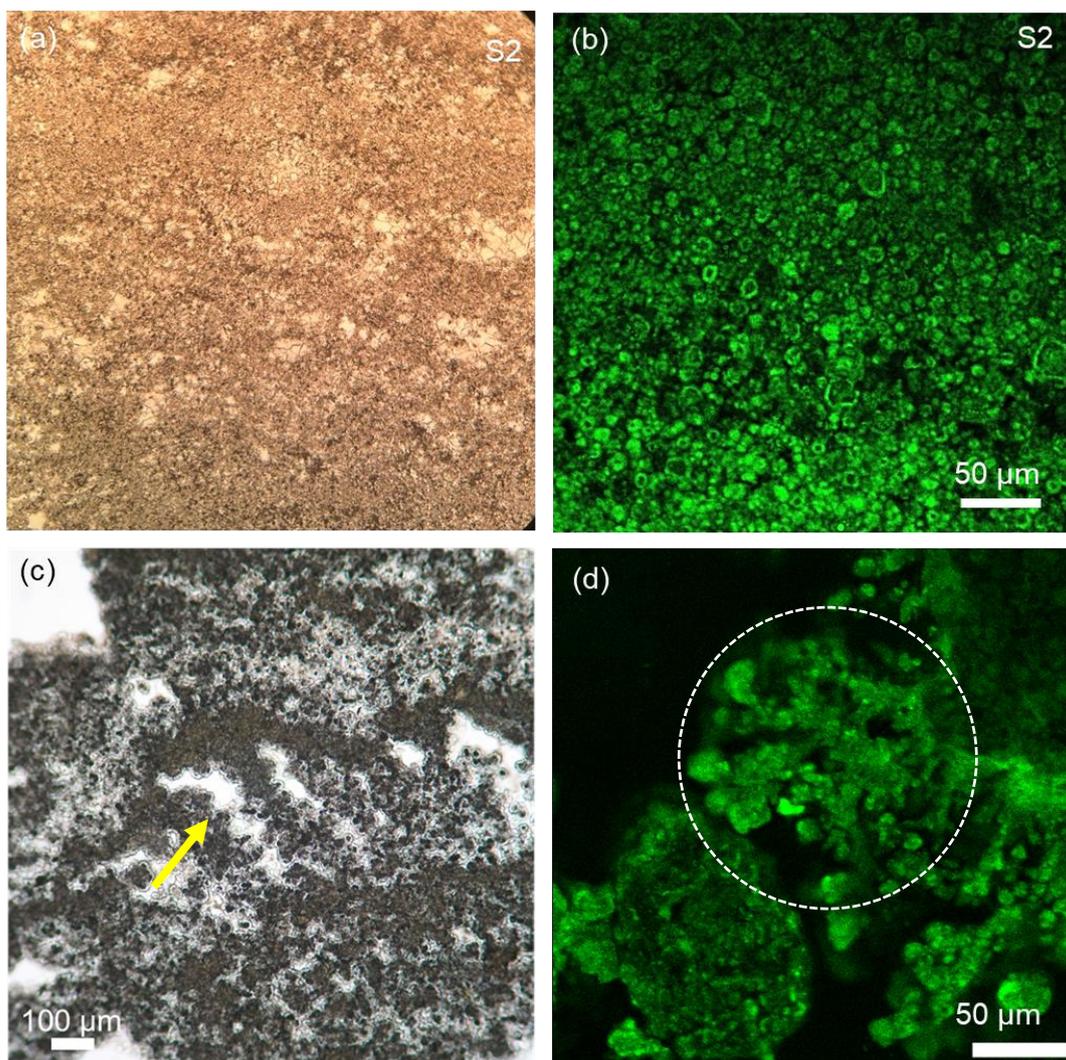


**Figure 5.9** Image CLSM montrant les variations du signal de fluorescence dans une lamines formées par le piégeage et l'agglutination de grains détritiques. La fluorescence est absente dans les grains détritiques mais intense autour de ces grains (flèche blanche). Échantillon MESS\_L\_NC\_Ame.2.

## c) Fluorescence dans les structures péloïdales

Les stromatolites du Messinien contiennent énormément d'éléments péloïdaux (**Figure 5.10a**) (voir aussi **Figure A.4.2**, **Figure A.9.2**, **Figure A.11.2b**). Ces composés carbonatés, souvent présents dans les échantillons, s'arrangent sur de grandes plages et ne sont pas forcément visibles en microscopie optique (**Figure 5.10a**). En revanche, l'imagerie confocale de fluorescence permet de mieux distinguer ces structures en mettant en exergue les morphotypes

caractéristiques de ces péloïdes. Ce contraste est d'autant plus marqué que le signal de fluorescence s'intensifie à la périphérie des péloïdes (**Figure 5.10b**). Quelquefois, ces structures péloïdales s'agencent en forme de bâtonnets verticaux (**Figure 5.10c**) permettant de faire la jonction entre deux lamines. La fluorescence dans ces bâtonnets, conférant parfois une forme de « chou-fleur » est également plus intense que dans le reste de la matrice carbonatée (**Figure 5.10d**).



**Figure 5.10** Distribution du signal d'autofluorescence dans des structures péloïdales. (a) Vue aux oculaires. Échantillon MESS\_L\_NC\_S2 (b) Image CLSM de (a). Les péloïdes bien individualisés sont mis en évidence par une fluorescence très intense autour de chaque péloïde. (c) Image optique d'un amas de péloïdes faisant la jonction de deux lamines (flèche jaune). Échantillon MESS\_L\_NC\_SP. (d) Image CLSM d'une structure chou-fleur (rond blanc en pointillés) observée dans une lamine claire issue d'agrégats péloïdaux. Échantillon MESS\_L\_NC\_SP.

### 5.3.1.3 Distribution spatiale des variations spectrales de fluorescence dans les stromatolites de Mari Ermi

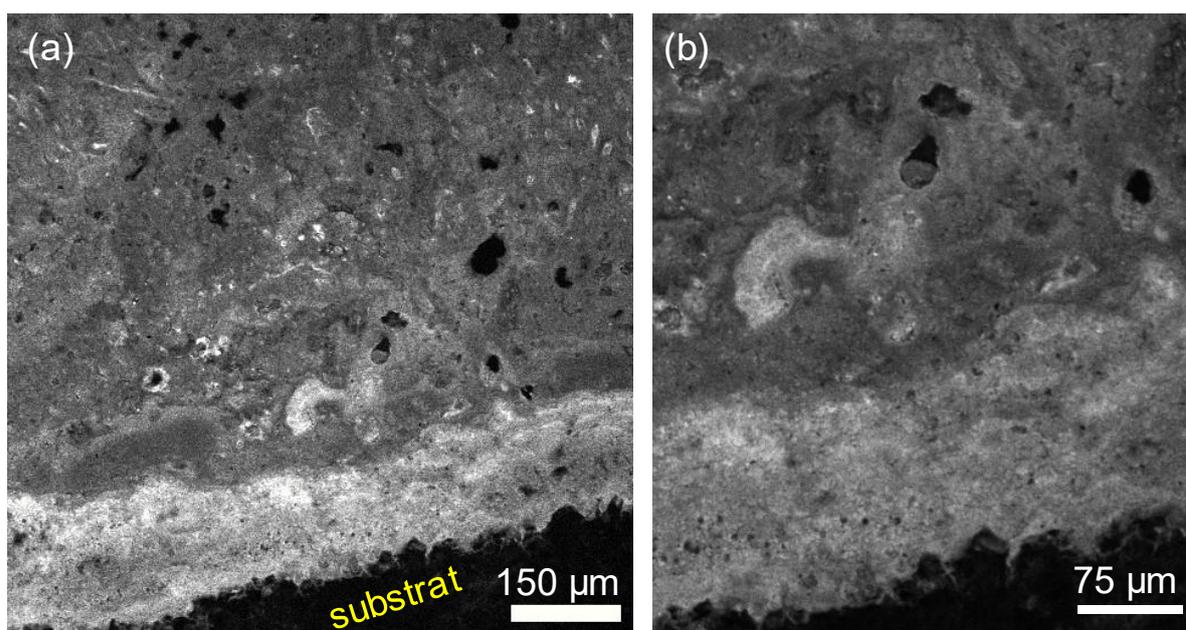
L'intensité de la fluorescence d'émission est un paramètre que l'on a vu varier spatialement, entre motifs texturaux au sein des stromatolites. Un autre paramètre est la « couleur » de cette fluorescence d'émission que l'on va nommer signature spectrale. L'objectif, ici, est d'étudier les variations des signatures spectrales, à la fois au sein d'un même échantillon mais également entre divers échantillons. L'ensemble des données a été acquis avec exactement les mêmes paramètres d'acquisition excepté le gain du détecteur. C'est pourquoi, dans la suite de ce travail, nous comparerons les intensités de fluorescence, uniquement au sein d'un même échantillon.

#### a) Interface substrat-stromatolite

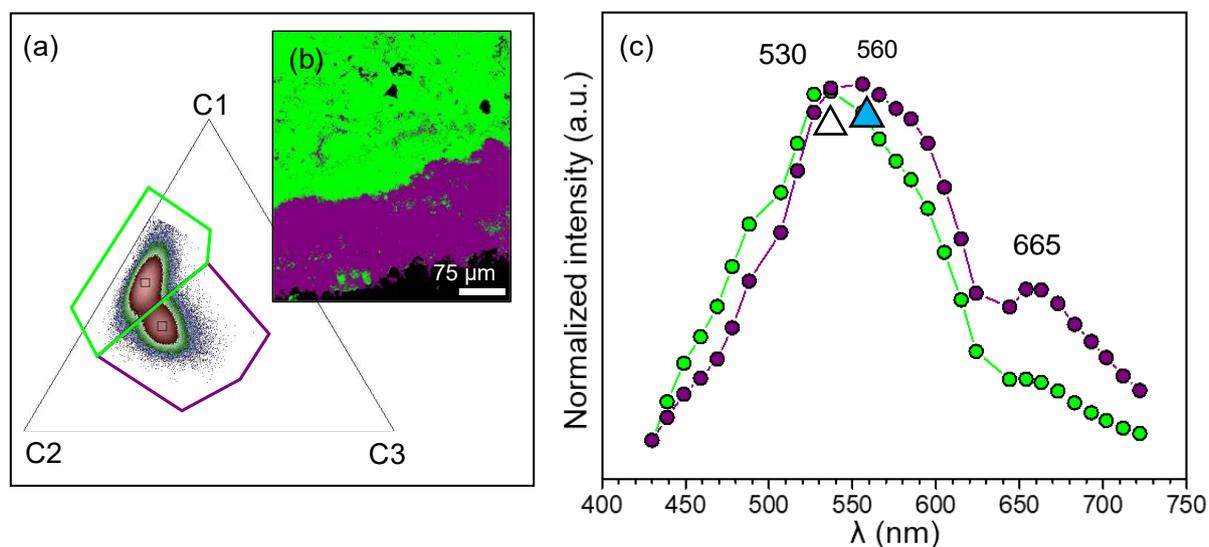
Dans cette lamine, le signal de fluorescence est plus intense que celui retrouvé dans les lames suivantes (**Figure 5.11**). Une zone de 378 x 435 pixels (soit 957 x 1101  $\mu\text{m}^2$ ) a été délimitée pour faire l'analyse d'image. Avant toute projection, les pixels ayant un signal d'intensité de fluorescence trop faible ont été segmentés et projetés en noir dans la pile-image. Cela a permis de s'affranchir des pixels associés aux porosités et au substrat, dont le signal d'autofluorescence est quasi-nul. Par la suite, l'ensemble des pixels restant a été projeté dans le diagramme ternaire C1-C2-C3, qui, pour rappel, correspond à l'intensité dans trois canaux de fluorescence différents (C1 : 430-537 nm ; C2 : 556-624 ; C3 : 644-722 nm (**Figure 5.12a**)).

Deux clusters principaux ont été identifiés grâce à la segmentation faite grâce au diagramme ternaire C1-C2-C3. Ces deux clusters sont étendus et pourraient éventuellement faire l'objet de segmentations supplémentaires. Cependant, nous nous intéressons, ici, à la tendance générale fournie par ces deux clusters. Un des clusters est situé le long de l'axe C1-C2 et est peu influencé par le pôle C3 (gamme 644-722 nm). Lorsque l'on reprojette les pixels composant ce premier cluster dans la pile-image (**Figure 5.12b**), ils correspondent, en grande majorité, aux pixels associés à la partie stromatolitique privée de sa première lamine. À l'inverse, les pixels composants le deuxième cluster, correspondent presque exclusivement aux pixels associés à la première lamine. En comparant les spectres de fluorescence extraits à partir d'un petit groupe de pixels (**Figure 5.12c**), nous observons que, bien qu'ils aient la même allure générale, la signature spectrale associée à la première lamine est légèrement décalée par rapport à celle associée au reste du stromatolite. Il existe deux maxima d'émission pour les deux spectres : l'un

à 530 nm et l'autre à 560 nm pour respectivement, la partie stromatolitique et la première lamine. En revanche, nous remarquons, dans les deux signatures spectrales un deuxième pic d'émission, situé autour de 655 nm mais qui est beaucoup plus intense dans la première lamine.



**Figure 5.11** Zone à l'interface entre le substrat et la partie stromatolitique. (a) Pile d'images de fluorescence obtenue par analyse CLSM. (b) Vue zoomée sur la première lamine stromatolitique. Échantillon SAR16\_MES\_1bis.

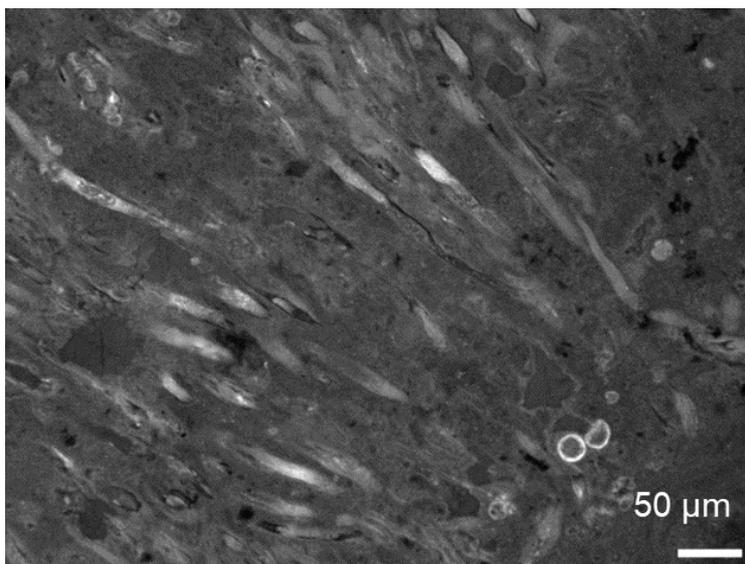


**Figure 5.12** Distribution du signal de fluorescence dans la zone à l'interface entre le substrat et la partie stromatolitique et spectres associés. (a) Projection des pixels dans le diagramme ternaire C1-C2-C3. On note l'utilisation d'une échelle de couleur logarithmique à 3 bandes qui est indicative de la densité des pixels empilés à chaque point du diagramme ternaire et permet de représenter simultanément les compositions peu abondantes (en bleu) et les compositions prédominantes (en rouge). Les polygones vert et violet soulignent la présence de deux clusters principaux. (b) Rétroprojection sur la pile-image de fluorescence des pixels associés aux substrat et porosités (en noir), à la première lamine (en violet) et au reste de la partie stromatolitique (en vert). (c) Spectres de fluorescence normalisés extraits des pixels encadrés par le rectangle noir dans (a). Les couleurs des spectres correspondent aux couleurs utilisées pour la segmentation des clusters. Le spectre vert à un pic d'émission autour des 530 nm (flèche blanche) alors que le pic d'émission pour le spectre violet est décalé vers les 560 nm (flèche bleue). On distingue un deuxième pic d'émission pour les deux spectres vers 655 nm mais celui-ci est largement plus marqué sur le spectre violet.

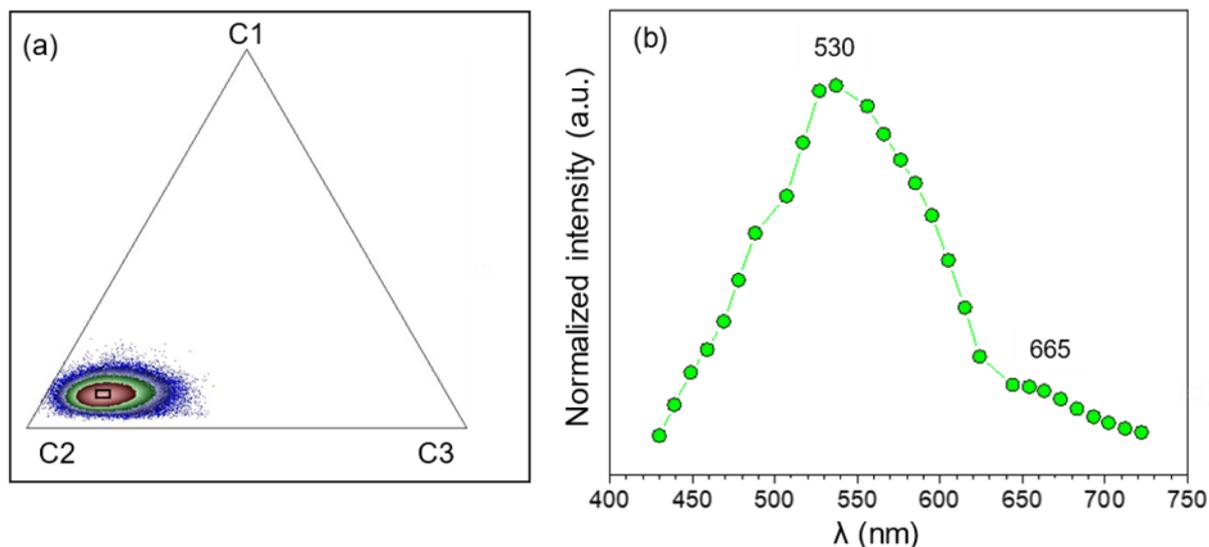
b) Lamines claires constituées de microfossiles filamenteux

Nous avons appliqué la même méthodologie que précédemment, cette fois-ci, sur une portion de lamine claire à filaments (**Figure 5.13**) qui sont pour la plupart vides, et ont été interprétés comme des fossiles de cyanobactéries (cf. **chapitre 4**). Nous avons délimité une zone de 58 x 438 pixels (soit 1470 x 1110  $\mu\text{m}^2$ ) pour faire l'analyse spectrale.

Dans le diagramme ternaire C1-C2-C3 (**Figure 5.14a**), un unique cluster est identifié. Celui-ci est positionné tout près du pôle C2 mais il s'étend néanmoins quelque peu le long de l'axe C2-C3. Nous avons essayé de segmenter un peu plus le cluster en le coupant en deux afin de voir s'il existait un motif récurrent dans la distribution des pixels, fonction de leur proximité avec le pôle C2 ou C3. Plus exactement, nous nous attendions à pouvoir segmenter d'un côté les filaments, dont le signal de fluorescence semble plus intense, et de l'autre la matrice carbonatée qui les entoure. Mais cela n'a pas été concluant, c'est pourquoi, nous n'avons identifié, sur cette zone-là, qu'une seule signature spectrale (**Figure 5.14b**), similaire à celle identifiée précédemment pour les pixels associés à la partie stromatolitique. Son maximum d'émission est situé à 530 nm et il y a un petit épaulement autour de 655 nm.



**Figure 5.13** Zone à filaments. Pile-image de fluorescence obtenue par analyses CLSM.



**Figure 5.14** Distribution du signal d'autofluorescence dans une zone à filaments et spectre associé. (a) Projection des pixels dans le diagramme ternaire C1-C2-C3. Un seul cluster situé près du pôle C2 est identifié. (b) Spectre de fluorescence normalisé extrait des pixels encadrés par le rectangle noir dans (a) avec un maximum d'émission situé autour de 530 nm (flèche blanche).

### c) Partie supérieure du stromatolite

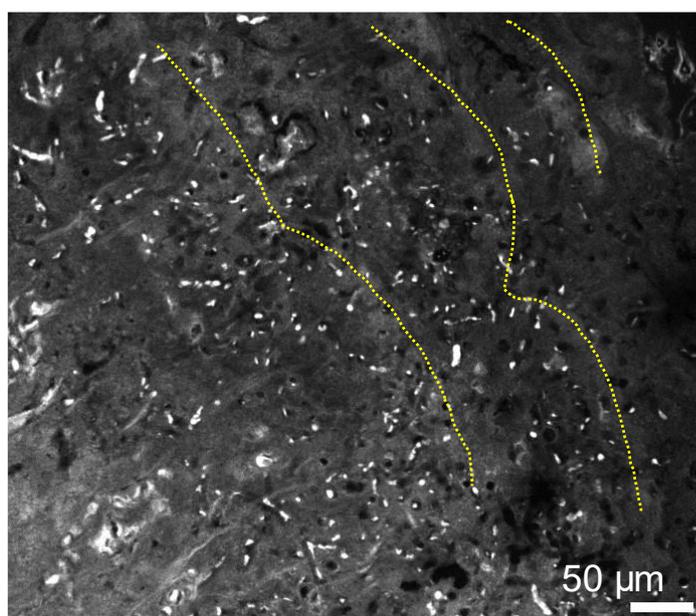
La zone choisie est proche de la surface supérieure du stromatolite, elle fait 1398 x 1236 pixels (soit 3495 x 3090  $\mu\text{m}^2$ ). La **Figure 5.16** montre la présence d'une succession de lamines remplies de fossiles de micro-organismes (lamines claires) alternant avec des lamines beaucoup plus fines et denses (lamines sombres). L'étude de la distribution du signal de fluorescence dans cette zone va permettre de mettre en évidence s'il existe ou non des variations spectrales liées à la nature claire ou sombre de la lamine. Avant toute projection, les pixels ayant un signal d'intensité de fluorescence trop faible ont été segmentés et projetés en noir dans la pile-image. Cela a permis de s'affranchir des pixels associés aux porosités et à la résine notamment dans le coin supérieur droit de l'échantillon. L'ensemble des pixels projetés dans le diagramme ternaire C1-C2-C3 a permis d'identifier trois clusters (**Figure 5.15**).

Comme dans la section a), nous identifions un cluster très étendu situé le long de l'axe C1-C2. Rejetés dans la pile-image, ces pixels sont distribués dans la matrice carbonatée, uniquement dans les lamines claires. Dans la projection ternaire, nous observons que les pixels situés à proximité du pôle C2, s'éloignent de l'axe C1-C2 et se décalent très légèrement vers le pôle

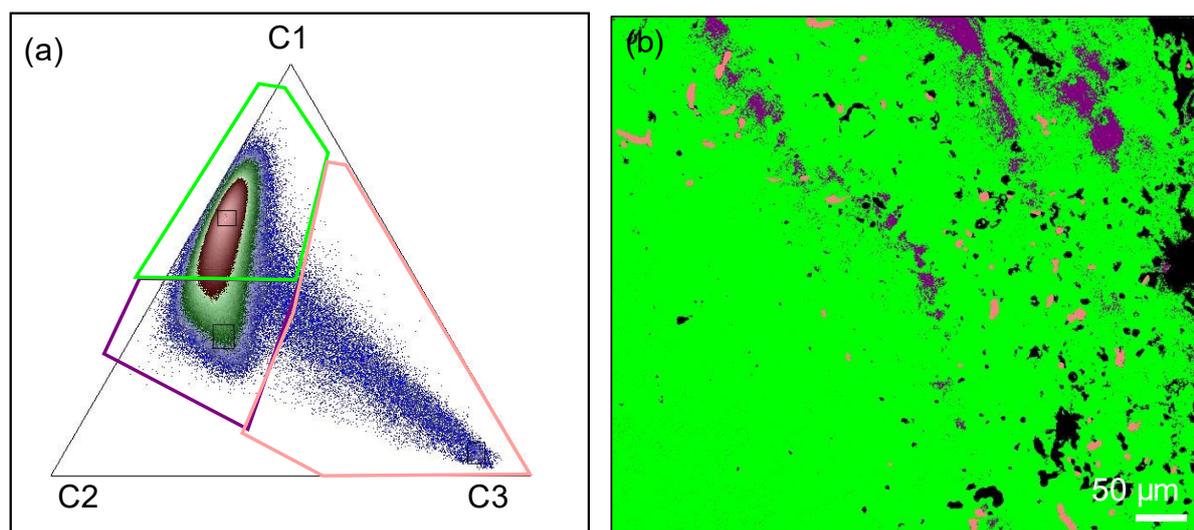
C3, nous permettant d'identifier un deuxième cluster. Malgré un évident chevauchement de pixels, la segmentation de ces deux clusters est pertinente car lorsque nous projetons les pixels associés à ce deuxième cluster, nous remarquons que ces pixels sont uniquement distribués dans les lamines sombres, mises en évidence dans la **Figure 5.16**. Les pixels associés aux lamines claires ont une signature spectrale (**Figure 5.17**) ressemblant aux signatures spectrales identifiées dans les sections a) et b) avec un pic d'émission autour des 530 nm et un très faible épaulement à 655 nm. En revanche, les pixels associés aux lamines sombres ont une signature spectrale ressemblant à la signature spectrale des pixels associés à la première lamine dans la section a) : le pic d'émission principale est légèrement décalé vers les 560 nm et l'épaulement à 655 nm est davantage marqué. Contrairement à toutes les autres zones analysées, nous identifions un dernier cluster où les pixels associés sont situés près du pôle pur C3 ainsi que le long de la ligne de mélange entre le pôle C3 et les deux clusters précédemment identifiés. Ces pixels sont uniquement distribués dans certains microfossiles filamenteux et ont une signature spectrale bien caractéristique avec un maximum d'émission situé à 670 nm.

Le spectre d'émission de fluorescence centré autour de 670 nm est caractéristique des pigments photosynthétiques, et plus particulièrement des chlorophylles (Vermaas et al., 2008 ; Roldán et al., 2014). Cette signature chlorophyllienne est abondamment retrouvée dans les micro-organismes fluorescents peuplant les tapis microbiens comme montré dans la **Figure 5.18**.

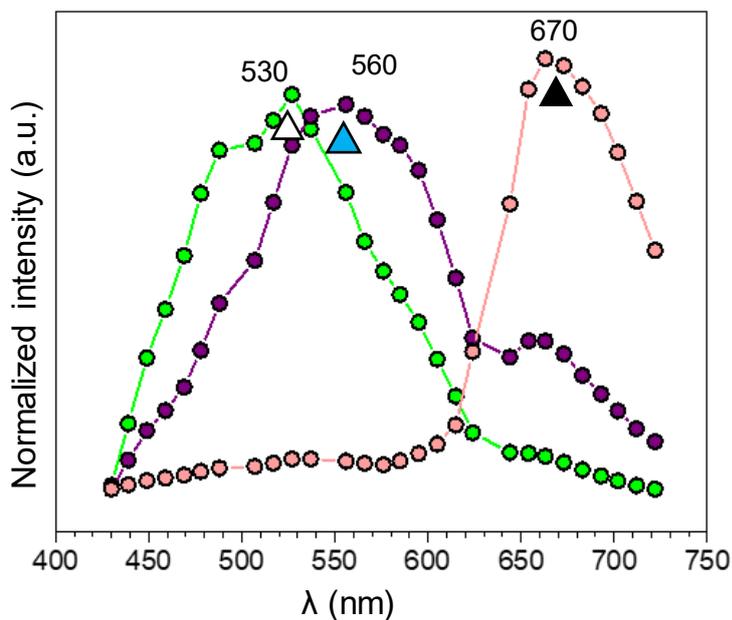
Afin d'étudier si les pigments chlorophylliens étaient conservés dans d'autres échantillons stromatolitiques, nous avons examiné plusieurs échantillons provenant de Mari Ermi sud et Mari Ermi nord, en nous concentrant sur des zones proches de la surface des stromatolites. Bien que non systématiques, des signatures spectrales associées aux pigments photosynthétiques ont fréquemment été retrouvées dans les parties supérieures de différents stromatolites. Ces signatures spectrales sont en grande majorité distribuées dans des structures qui ressemblent morphologiquement à des micro-organismes (**Figure 5.19 a ; c**), le plus souvent filamenteux, mais elles peuvent également se retrouver sous la forme de fins liserés situés à l'extrémité du bord de l'échantillon (**Figure 5.19b**). Leur pic d'émission varie entre 660 et 675 nm (**Figure 5.19d**).



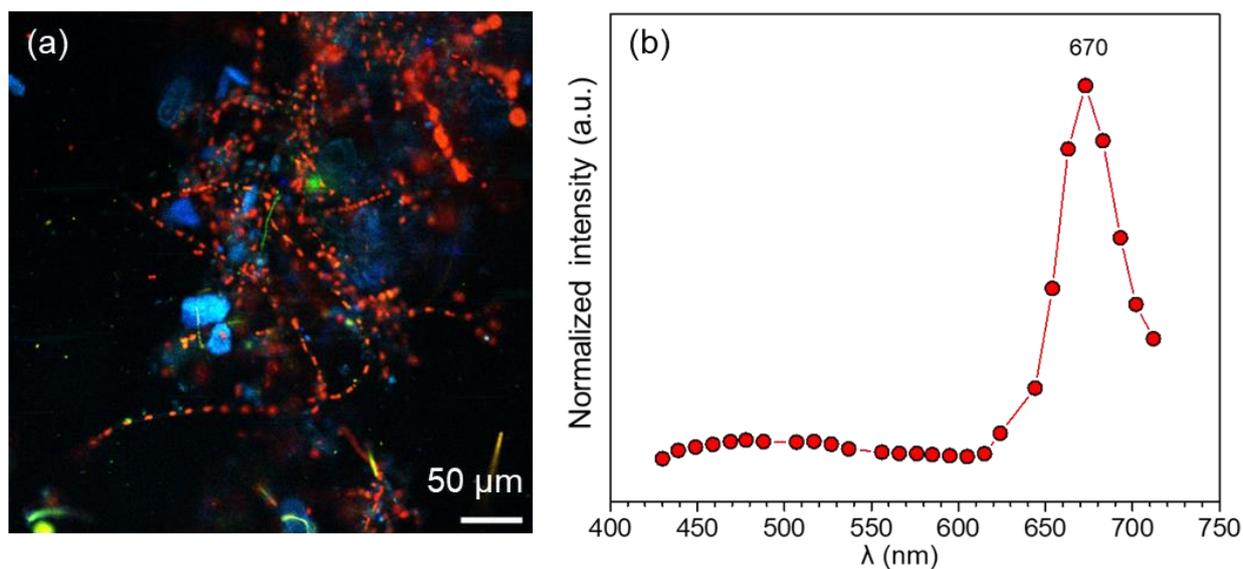
**Figure 5.16** Pile-image de fluorescence obtenue par analyses CLSM. Zone située dans la partie supérieure, proche de la surface. Les lignes jaunes en pointillés sont superposées aux lamines sombres et délimitent les lamines claires présentant une densité importante de microfossiles. Échantillon SAR16\_MES\_1bis.



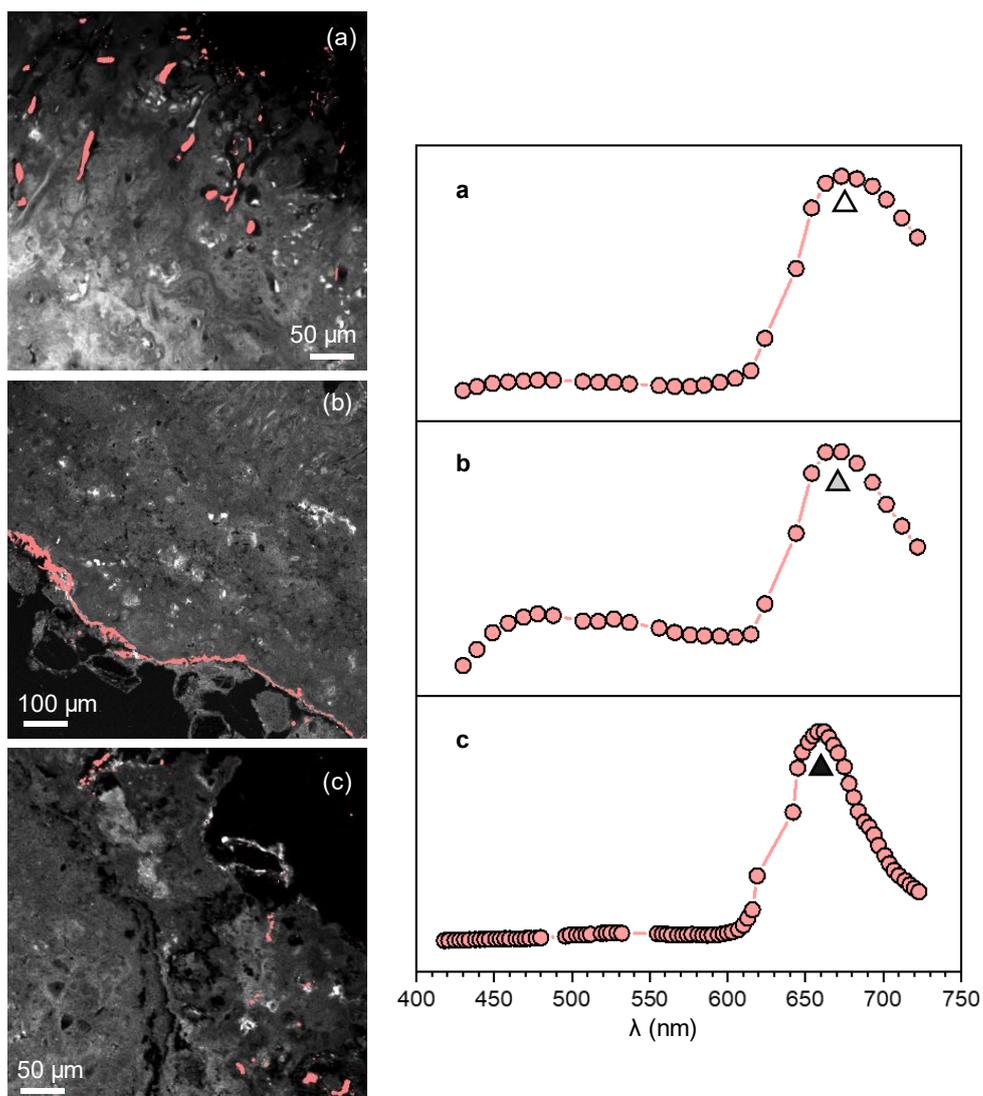
**Figure 5.15** Distribution du signal de fluorescence dans la partie haute du stromatolite et carte de distribution des pixels segmentés. (a) Projection des pixels dans le diagramme ternaire C1-C2-C3. Les polygones vert, violet et rose soulignent la présence de trois clusters. Les rectangles noirs correspondent aux pixels sélectionnés pour extraire la signature spectrale associée. (b) Rétroprojection sur la pile-image de fluorescence des pixels associés aux porosités (en noir), aux lamines sombres (en violet), à certains fossiles de micro-organismes (en rose) et au reste de la partie stromatolitique (en vert).



**Figure 5.17** Spectres de fluorescence normalisés extraits des pixels encadrés par le rectangle noir dans la **Figure 5.15**. Les couleurs des spectres correspondent aux couleurs utilisées pour la segmentation des clusters. Les spectres vert, violet et rose ont respectivement un maximum d'émission à 530 (flèche blanche), 560 (flèche bleue) et 670 nm (flèche noire).



**Figure 5.18** Micro-organismes autofluorescents retrouvés dans les tapis microbiens « frais » de Mari Ermi. (a) Image CLSM obtenue en superposant les sous piles C1, C2, C3, respectivement coloriées en bleu, vert, et rouge. (b) Spectre d'émission de fluorescence provenant des micro-organismes apparaissant en rouge sur a). Le spectre a un pic d'émission de fluorescence à 670 nm et est caractéristique de la signature spectrale de la chlorophylle a.

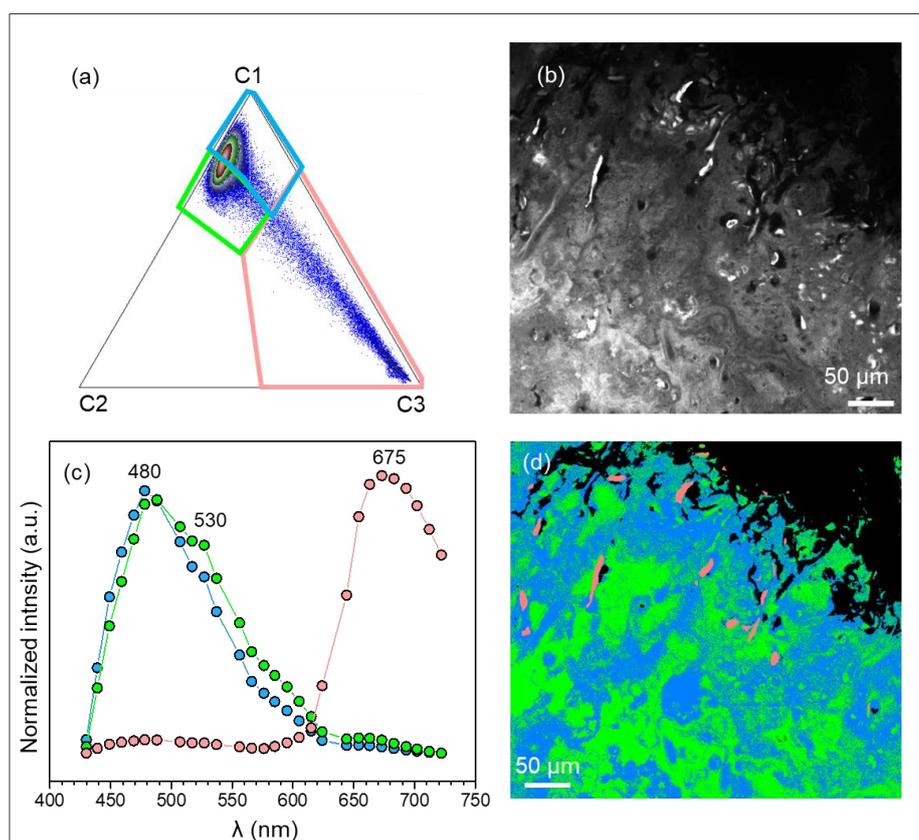


**Figure 5.19** Préservation du signal de fluorescence chlorophyllien dans des échantillons provenant de (a) et (c) Mari Ermi sud, (b) Mari Ermi nord. Les pixels dont la signature spectrale de fluorescence est associée à la chlorophylle ont été reprojétés en rose dans la pile-image de fluorescence. (d) Spectre d'émission de fluorescence pour les échantillons (a), (b) et (c). Pour l'échantillon (c), la résolution spectrale est de 2.7nm contre 10 nm pour les deux autres échantillons. a, b et c ont des pics d'émissions respectivement à 670 (flèche blanche), 665 (flèche grise) et 660 nm (flèche noire).

d) Influence du choix de la longueur d'onde d'excitation

Dans la figure ci-dessous (**Figure 5.20**), nous avons cartographié la partie haute d'un stromatolite de Mari Ermi sud en excitant uniquement avec le laser à 405 nm. Nous avons

appliqué exactement le même traitement de données que pour les sections a), b) et c) et nous avons observé une différence dans les signatures spectrales par rapport à celles obtenues avec une triple excitation laser (405, 488 et 633 nm). La suppression de l'excitation à 488 nm entraîne l'absence du pic d'émission à 560 nm et le pic d'émission à 530 nm n'est que faiblement présent. Lors d'analyses en fluorescence, il peut être compliqué d'observer la fluorescence d'un composé si l'on n'excite pas à une longueur d'onde, proche de la longueur d'onde d'émission de ce composé. Cependant, nous observons que, malgré la suppression de l'excitation à 633 nm, nous pouvons distinguer un pic d'émission à 675 nm, correspondant à la signature spectrale de la chlorophylle.

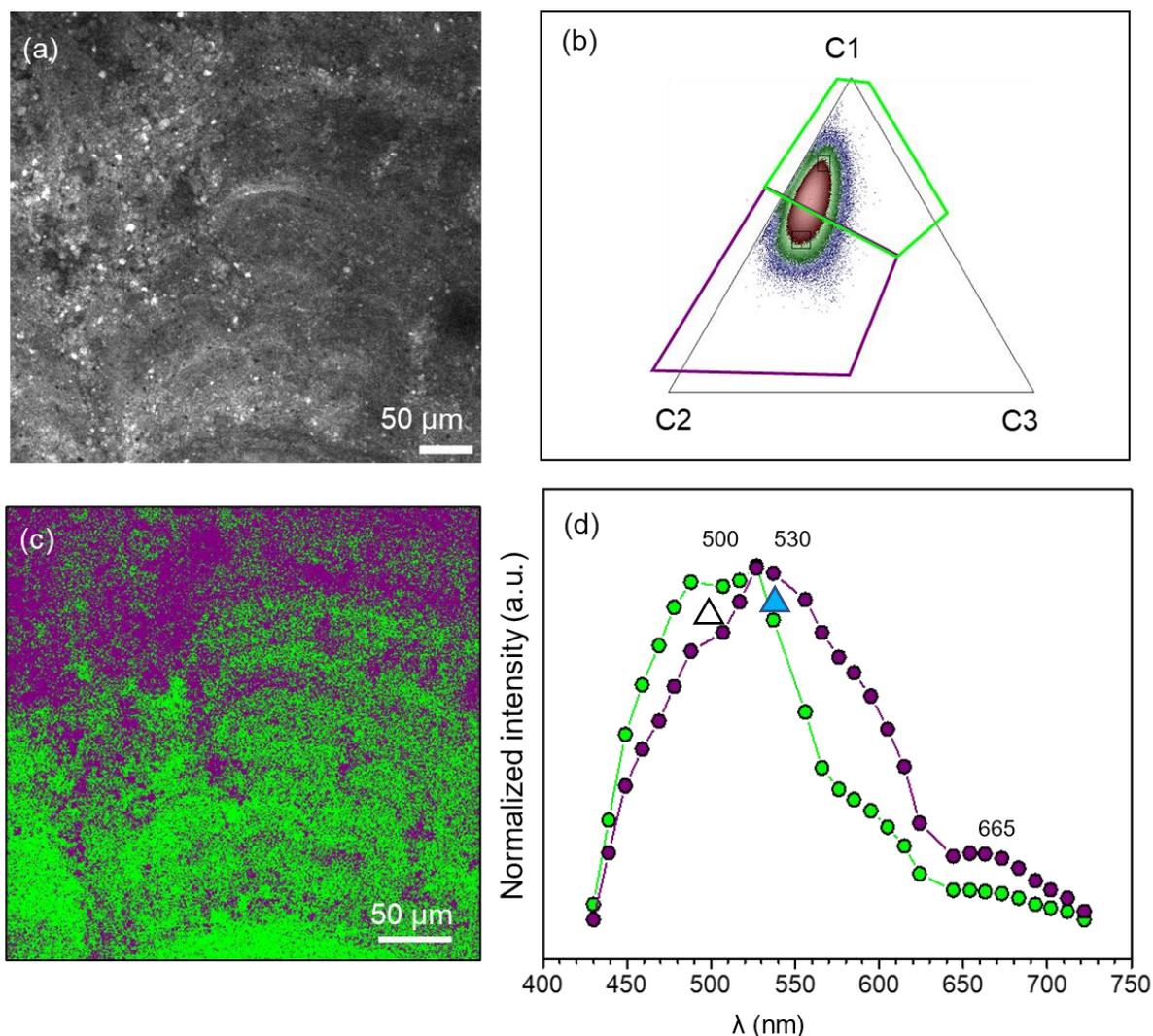


**Figure 5.20** Distribution du signal d'autofluorescence avec une excitation à 405 nm. (a) Projection des pixels dans le diagramme ternaire C1-C2-C3. Les polygones bleu, vert et rose soulignent la présence de trois clusters. (b) Pile-image de fluorescence de la zone cartographiée. (c) Spectres de fluorescence normalisés. Les couleurs des spectres correspondent aux couleurs utilisées pour la segmentation des clusters. Les spectres bleu et vert un maximum d'émission à 480 nm et le spectre rose a un maximum d'émission à 675 nm. (d) Rétroprojection sur la pile-image de fluorescence des pixels associés à la résine (en noir), avec une autofluorescence intense (en vert), pour certains fossiles de micro-organismes (en rose) et pour reste de la partie stromatolitique (en bleu).

#### 5.3.1.4 Distribution spatiale des variations spectrales d'auto-fluorescence dans des échantillons du Messinien

Pour tester la robustesse de ce traitement de données hyperspectrales, nous l'avons appliqué sur un échantillon du Messinien. Nous avons choisi l'échantillon MESS\_L\_NC\_B25 provenant de Benejuzar (B25), dont la pile-image de fluorescence est déjà représentée à la **Figure 5.8b**.

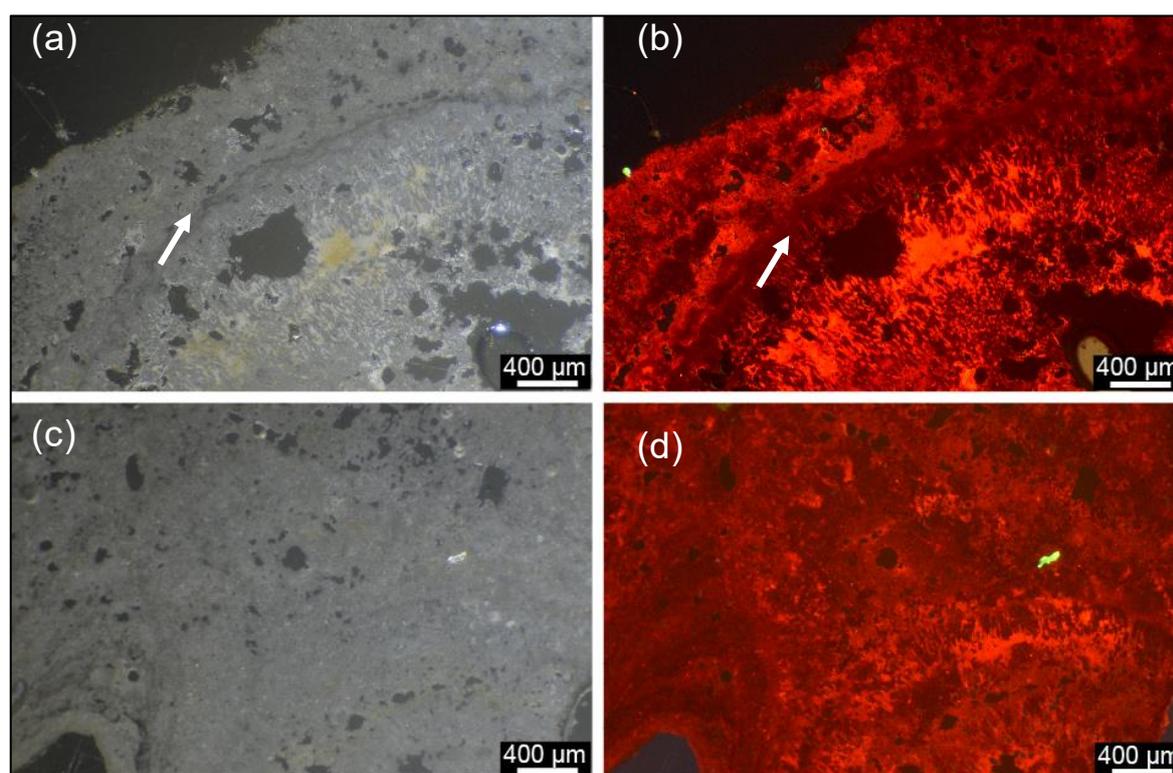
La zone choisie fait 116 x 1077 pixels (soit 440 x 425  $\mu\text{m}^2$ ). La pile-image (**Figure 5.21a**) montre la présence d'une succession de lamines avec un intense signal de fluorescence, qualifiées de lamines claires alternant avec des lamines sombres plus fines dont le signal de fluorescence est moindre. Nous observons également des grains avec une fluorescence très intense. L'ensemble des pixels projeté dans le diagramme ternaire C1-C2-C3 a permis d'identifier un unique cluster étendu le long de l'axe C1-C2 (**Figure 5.21b**). Une segmentation supplémentaire de ce cluster s'est révélée pertinente. En effet, en séparant en deux le cluster, nous observons que les pixels situés depuis le milieu du cluster jusqu'au pôle C1 sont distribués majoritairement dans les lamines sombres, alors que les pixels situés depuis le milieu du cluster jusqu'au pôle C2 sont majoritairement distribués dans les lamines claires (**Figure 5.21c**). La tendance des signatures spectrales (**Figure 5.21d**) associées aux deux sous-groupes est similaire aux signatures spectrales précédemment identifiées mais nous observons un décalage vers les basses longueurs d'onde pour les pics d'émission. En effet, la signature spectrale associée aux lamines sombres a un pic d'émission autour des 500 nm alors que le spectre associé aux lamines claires a un maximum d'émission autour des 530 nm. En revanche, nous observons toujours un léger épaulement autour de 665 nm, davantage marqué dans les lamines claires.



**Figure 5.21** Distribution du signal de fluorescence dans l'échantillon B25. (a) Pile-image de fluorescence obtenue par analyses CLSM. (b) Projection des pixels dans le diagramme ternaire C1-C2-C3. Les polygones vert et violet soulignent la présence de deux sous-clusters dans le cluster distribué le long de l'axe C1-C2. Les rectangles noirs correspondent aux pixels sélectionnés pour extraire la signature spectrale associée. (c) Rétroprojection sur la pile-image de fluorescence des pixels associés aux lamines claires (en vert) et aux lamines sombres (en violet). (d) Spectres de fluorescence normalisés extraits des pixels encadrés par le rectangle noir dans (b). Les couleurs des spectres correspondent aux couleurs utilisées pour la segmentation des clusters. Les spectres vert et violet ont respectivement un maximum d'émission à 500 nm (flèche blanche), 530 nm (flèche bleue).

### 5.3.2 Analyses par cathodoluminescence (CL)

La microscopie CL à cathode froide permet de mettre en évidence trois types différents de calcite dans les échantillons de Mari Ermi (**Figure 5.22**). Le premier type forme la majeure partie du composant carbonaté, comprenant de la micrite luminescente rouge-orange terne. Le deuxième type est constitué par les lamines sombres, non luminescentes. Enfin, un troisième type correspond aux phases les plus luminescentes avec un rouge plus vif tirant sur l'orange. Ces phases se retrouvent à l'intérieur des filaments abondamment observés dans les lamines claires.



**Figure 5.22** Cathodoluminescence à cathode froide (CL) dans un échantillon stromatolitique provenant de Mari Ermi nord. (a) Partie supérieure du stromatolite. Image acquise en lumière polarisée plane. (b) image CL de la même zone. Les filaments sont luminescents rouge vif alors que les lamines sombres ne sont pas luminescentes (flèches blanches). (c) Milieu du stromatolite. Image acquise en lumière polarisée plane. (d) image CL de la même zone. La matrice carbonatée est luminescente en rouge terne. Échantillon SAR16\_MEN\_1bis.

### 5.3.3 Analyses chimiques globales en ICP-MS/AES

La composition chimique globale ainsi que la minéralogie des échantillons ont déjà été étudiées dans le **chapitre 2** pour les échantillons de Mari Ermi, et dans l'**Annexe 13** pour les échantillons du Messinien. Dans le **Tableau 5.2**, nous avons rappelé les concentrations déterminées pour les éléments Ca, Mg, Fe et Mn, calculé les rapport Mn/Fe et rappelé les phases minéralogiques majeures déterminées par des analyses de diffraction des rayons X. Les deux échantillons de Mari Ermi ont un rapport Mn/Fe global similaire de 0,2. En revanche, il existe une large gamme de variations du rapport Mn/Fe pour les échantillons du Messinien, allant de 0,06 à 0,86. Il semble qu'il y ait une corrélation entre la valeur du rapport Mn/Fe et la minéralogie carbonatée de l'échantillon. En effet, excepté l'échantillon A397, où le rapport Mn/Fe n'a pas pu être déterminé, le rapport Mn/Fe est plus élevé dans les stromatolites calcitiques que dans les stromatolites dolomitiques. En revanche, lorsque le stromatolite est à la fois calcitique et dolomitique, son rapport Mn/Fe peut être très élevé, comme dans l'échantillon B15 (Mn/Fe = 0,86) ou très bas comme dans l'échantillon B23 (Mn/Fe = 0,1).

**Tableau 5.2** Abondance des éléments Ca, Mg, Fe et Mn et minéralogie principale dans des stromatolites provenant de Mari Ermi sud et nord ainsi que de stromatolites du Messinien. Les concentrations sont en pourcentage massique (wt%) HMC = calcite très magnésienne ( $\text{MgCO}_3$  > 5%).

ID éch.	Ca (wt%)	Mg (wt%)	Fe (wt%)	Mn (wt%)	Mn/Fe (atom)	Minéralogie
MErmS_impmpc_1	30.8	2.9	0.19	0.03	0.2	HMC
MErmN_impmpc_1	30.3	3.1	0.32	0.07	0.21	HMC
B25	33.4	0.64	0.62	0.37	0.61	Calcite
OA2	34.8	0.80	0.74	0.36	0.49	Calcite
B15	25.9	7.6	0.27	0.23	0.86	Calcite, Dolomite
A397	33.0	4.0	0.11	< L.D.	/	Calcite, Dolomite
SP	23.6	10.9	0.11	0.04	0.40	Dolomite
A179	18.9	9.2	0.93	0.05	0.06	Dolomite
OA11	34.7	1.2	0.49	0.24	0.50	Calcite
B23	29.9	5.3	0.49	0.06	0.1	Calcite, Dolomite
L6	19.0	11.2	0.28	0.03	0.1	Dolomite

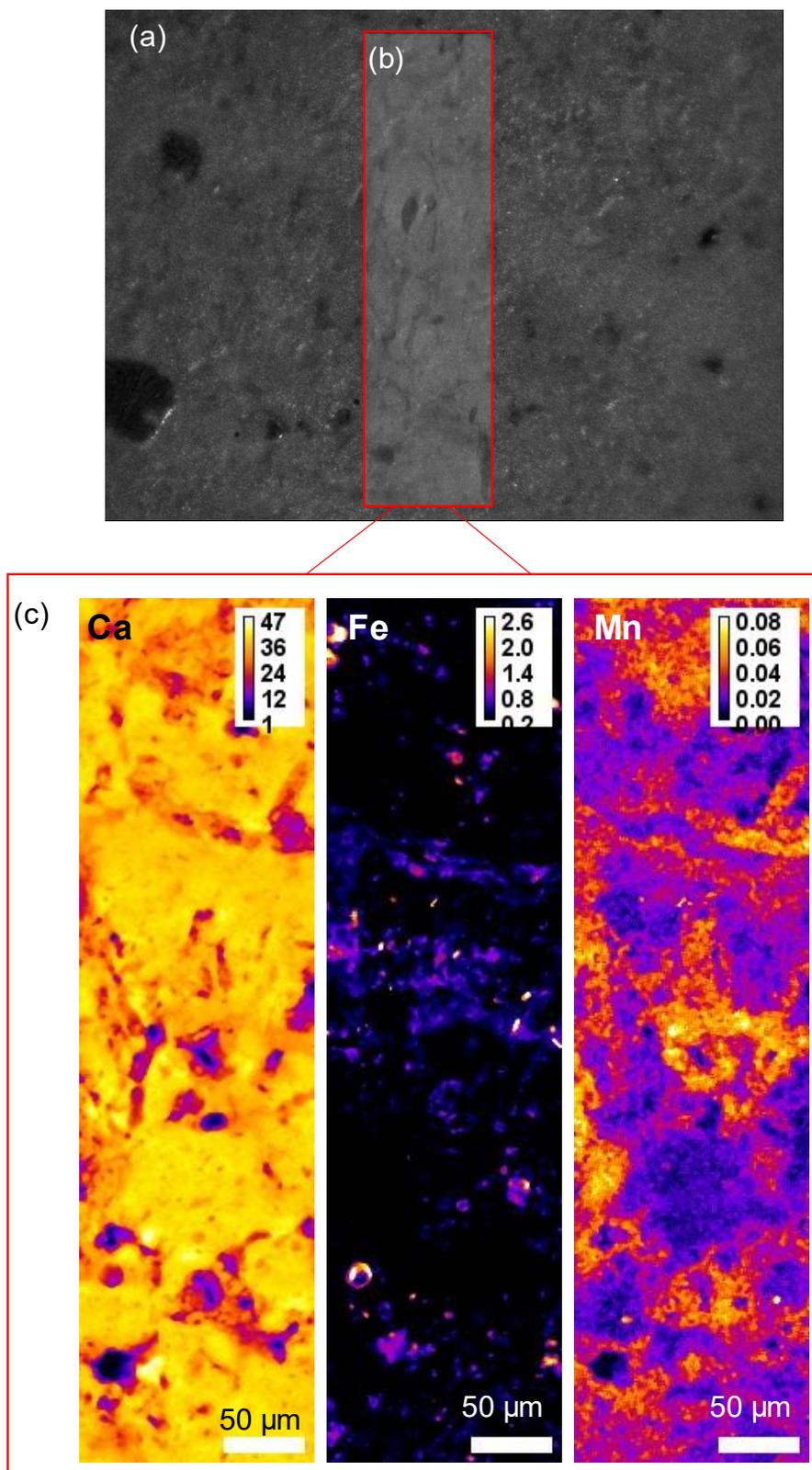
### 5.3.4 Analyses SR-XRF

#### 5.3.4.1 Stromatolites de Mari Ermi

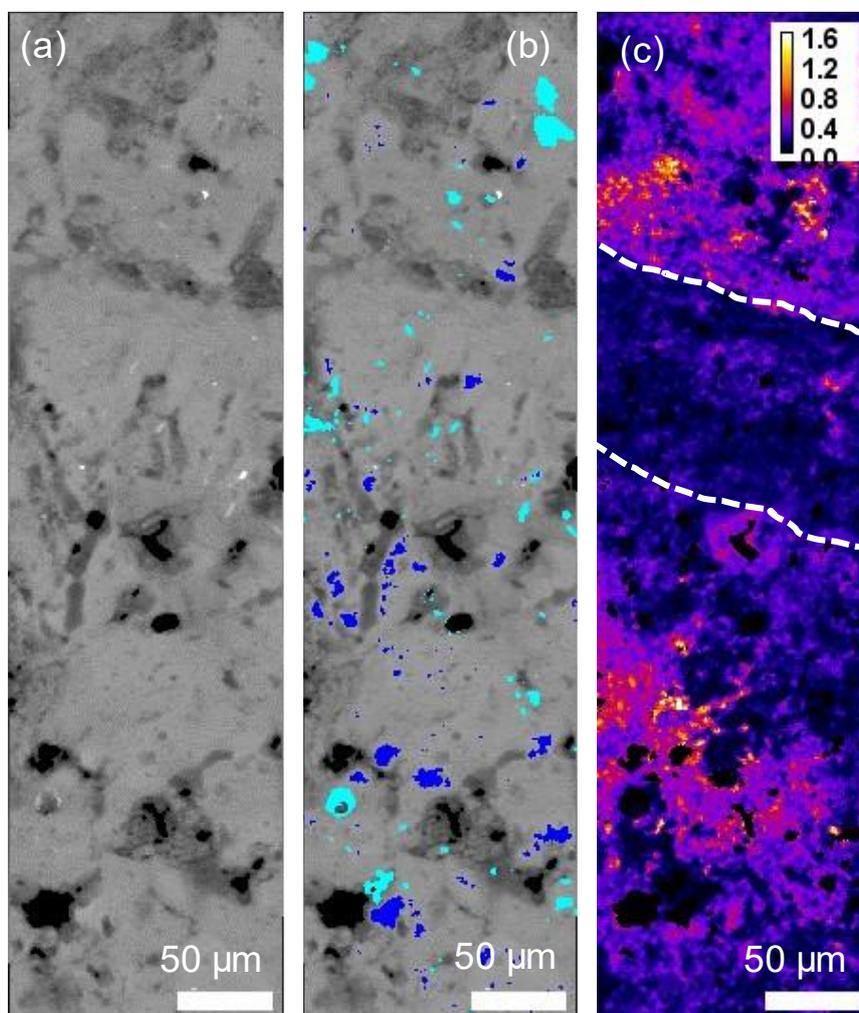
##### a) Échantillon provenant de Mari Ermi sud – milieu du stromatolite

Les cartes semi-quantitatives du Ca, Fe et Mn avec un pas de balayage de 1  $\mu\text{m}$  (**Figure 5.23c**) ont été acquises sur une surface de 144 x 537  $\mu\text{m}$  dans une zone située au milieu du stromatolite (**Figure 5.23a-b**). Le Ca est distribué dans toute la zone cartographiée mais est plus intense dans les zones inter filamenteuses. Le Fe atteint une plus grande intensité dans des grains détritiques en corrélation quelquefois avec des grandes intensités pour le Mn.

Les phases non-carbonatées sont distribuées, pour la plupart, dans des grains apparaissant blancs sur l'image somme totale des éléments. Certains grains de forme allongée présentent une morphologie semblable aux micas identifiés dans le **chapitre 4** et s'apparentent donc à des grains détritiques. En revanche, d'autres phases non-carbonatées n'ont pas de morphologie particulière et leur niveau de gris est semblable à celui de la matrice carbonatée. Comme, nous travaillons avec des cartes semi-quantifiées, les concentrations mesurées sont proportionnelles aux concentrations réelles mais avec potentiellement un décalage par rapport aux concentrations réelles C'est pourquoi, dans la suite de cette étude, nous nous intéressons au rapport Mn/Fe afin de nous affranchir de ce décalage. La distribution du rapport Mn/Fe est représentée dans la **Figure 5.24c**. Le rapport Mn/Fe varie de 0,4 à 1,2. Comme dans le chapitre 2, nous distinguons des lamines riches en microfossiles appelées lamines claires et des lamines avec peu ou pas de microfossiles et/ou de porosités appelées lamines sombres. Ces lamines sombres sont donc beaucoup plus denses. Une tendance générale que nous remarquons est que dans les lamines sombres, le rapport Mn/Fe est moins élevé que dans les lamines claires. Nous remarquons également dans les lamines claires, des enrichissements très intenses et très localisés du rapport Mn/Fe. Afin de confirmer nos observations, nous choisissons d'observer un autre échantillon, cette fois-ci provenant de Mari Ermi nord.



**Figure 5.23** Analyses SR-XRF d'un échantillon de stromatolite provenant de Mari Ermi sud. (a) Image microscopique de l'aire analysée. Le rectangle rouge représente la zone cartographiée avec un balayage spatial de 1µm. (b) Zone analysée (rectangle rouge). (c) Cartes semi-quantitatives du Ca, Fe et Mn.

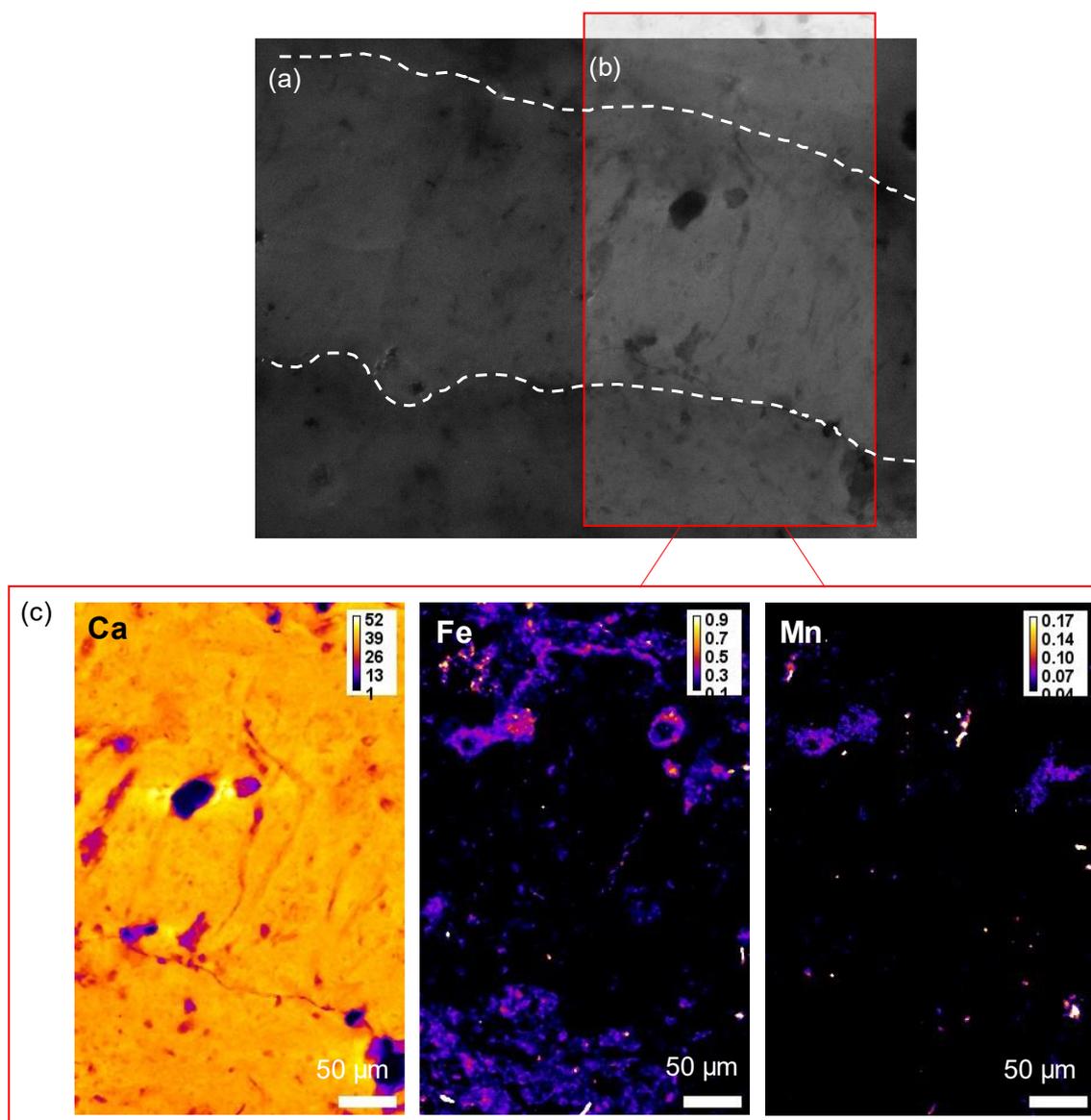


**Figure 5.24** Cartographie des phases (a) Cartographie de la distribution des macropores/microfossiles en noir. (b) Cartographie de distribution des phases non carbonatées. Les phases non carbonatées sont représentées en bleu foncé et cyan. (c) Cartographie de la distribution du rapport Mn/Fe dans les phases carbonatées. Les variations du rapport Mn/Fe sont codées depuis le bleu sombre jusqu'au jaune-blanc. Les lignes blanches en pointillés délimitent la zone dense sans trop de microfossiles où le rapport Mn/Fe est faible.

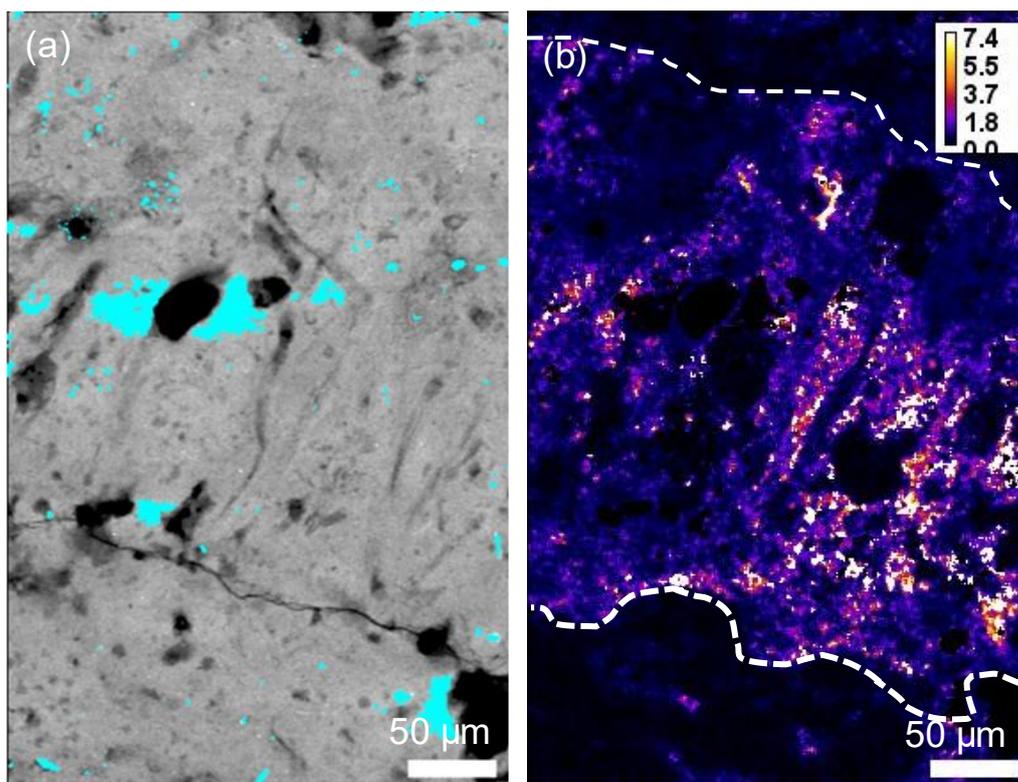
- b) Échantillon provenant de Mari Ermi nord – interface entre lamine claire et lamines sombres

Les cartes semi-quantitatives du Ca, Fe et Mn avec un pas de balayage de 1  $\mu\text{m}$  (**Figure 5.25c**) ont été acquises sur une surface de 283 x 434  $\mu\text{m}$  dans une zone située dans la partie supérieure du stromatolite, à l'interface entre une lamine claire d'environ 300  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, entourées par deux lamines sombres d'environ 70  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (**Figure 5.25 a et b**). La lamine claire comprend de nombreuses porosités filamenteuses. Le calcium est distribué dans toute la zone cartographiée. Des hotspots de Fe et de Mn sont observés dans des grains sub-micrométriques, probablement détritiques. Dans le reste de la zone cartographiée, les lamines sombres semblent être plus enrichies en Fe que la lamine claire. Par la suite, nous avons appliqué notre méthodologie pour distinguer les phases carbonatées des phases non carbonatées. Le résultat de la segmentation des pixels associés aux macropores et aux phases non carbonatées est représenté dans la **Figure 5.26a**. Puis nous avons cartographié la distribution du rapport Mn/Fe dans les carbonates (**Figure 5.26b**).

Tout d'abord, les valeurs du rapport Mn/Fe varient entre 1,8 et 7,4. Elles sont donc relativement plus élevées que pour la zone cartographiée antérieurement. Comme précédemment, nous observons des variations du rapport Mn/Fe en fonction de la nature claire vs sombre des lamines. Il apparaît très clairement que la lamine claire, située au milieu de l'échantillon, a un rapport Mn/Fe plus élevée que les lamines sombres qui l'entourent et qui ont des rapports Mn/Fe très faibles (entre 0 et 1,8). De plus, le pourtour de certaines porosités et/ou microfossiles atteint des valeurs Mn/Fe les plus élevées (ici autour de 7).



**Figure 5.25** Analyses SR-XRF d'un échantillon de stromatolite provenant de Mari Ermi nord. (a) Image microscopique de l'aire analysée. Le rectangle rouge représente la zone cartographiée avec un balayage spatial de 1µm. Les lignes blanches en pointillés délimitent une lamine claire à filaments entourée de deux lamines sombres. (b) Zone analysée (rectangle rouge). (c) Cartes semi-quantitatives du Ca, Fe et Mn.



**Figure 5.26** (a) Cartographie de la distribution des phases non-carbonatées (en cyan). (b) Cartographie de la distribution du rapport Mn/Fe. Les ligne blanche en pointillés délimitent la lamine claire.

#### 5.3.4.2 Stromatolites du Messinien

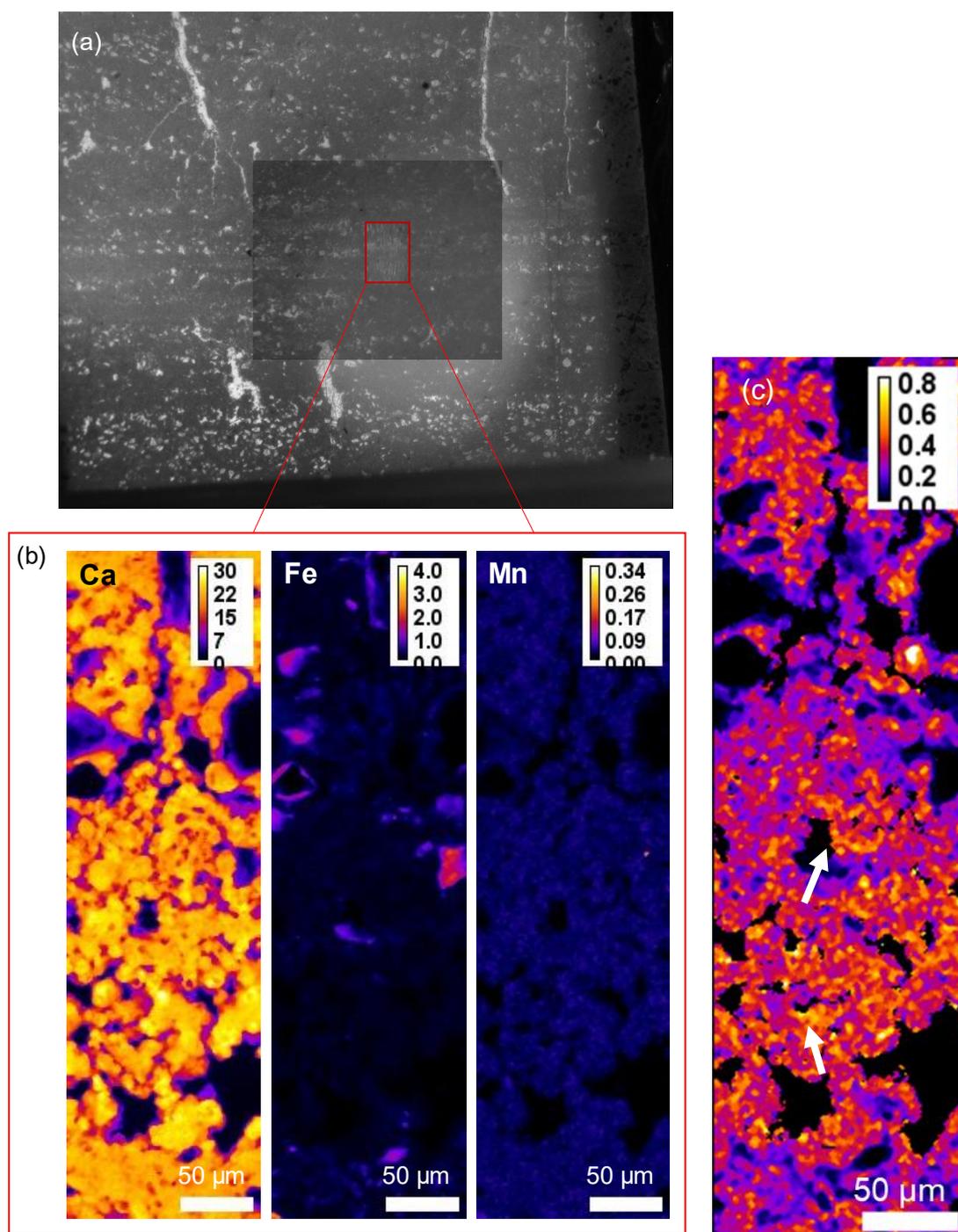
##### a) Échantillon provenant de Lampedusa (L6) ; zone à péloïdes

Les cartes semi-quantitatives du Ca, Fe et Mn avec un pas de balayage de 1  $\mu\text{m}$  (**Figure 5.27b**) ont été acquises sur une surface de 131 x 457  $\mu\text{m}$  dans une zone située proche de la surface de l'échantillon. Cette zone a été choisie car elle est à l'interface entre plusieurs lamines : une lamine composée de péloïdes dolomitiques entourées de deux lamines contenant des grains détritiques non coalescents. (**Figure 5.27a**) Les porosités observées proviennent des grains détritiques (probablement quartz) arrachés lors de la préparation de l'échantillon (polissage de la lame mince). Le Ca est distribué dans toute la zone cartographiée, aussi bien dans les péloïdes que dans le ciment autour des grains détritiques. Le Fe est très peu présent à l'exception de hotspots dans certains grains détritiques encore présents ou bien autour de certains trous laissés par les grains de quartz. Enfin, le Mn est présent partout avec une

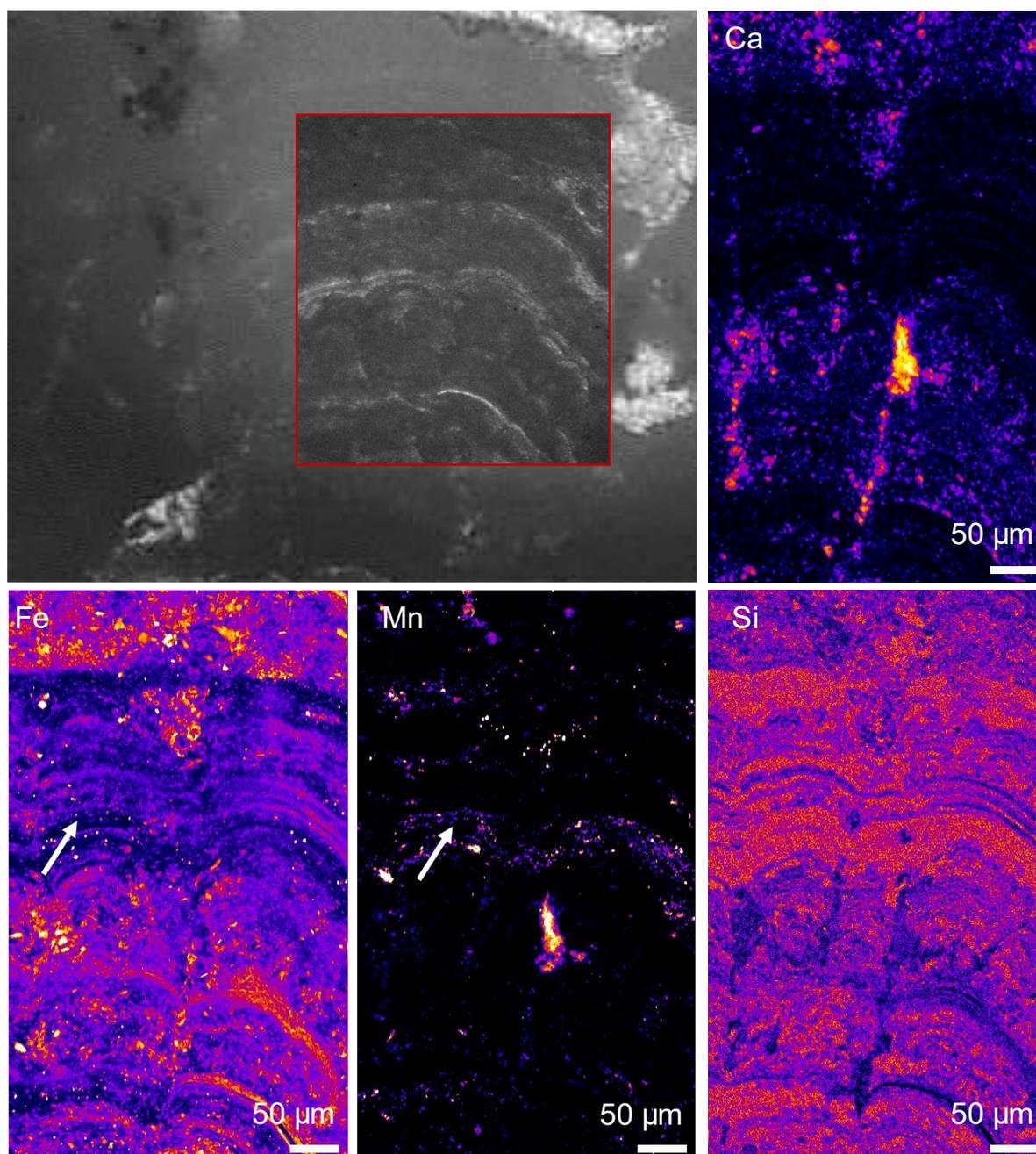
distribution quasi homogène à l'exception d'un unique hotspot situé dans un grain également très riche en Fe. La cartographie de la distribution du rapport Mn/Fe dans la matrice carbonatée est représentée en **Figure 5.27**. Sur la zone analysée, les valeurs du rapport Mn/Fe varient entre 0,2 et 0,8. Cela signifie que l'échantillon est relativement peu enrichi en Mn par rapport au Fe. Même si elles sont inférieures à 0,3 des variations du rapport Mn/Fe sont observables dans la zone cartographiée. Plus précisément, il semble que des enrichissements très légers dessinent des lignes autour des amas de péloïdes.

b) Échantillon provenant de Benejuzar (B25) – Micro-dômes laminés

Les cartes de distribution élémentaire du Ca, Fe, Mn et Si (**Figure 5.28**), avec un balayage spatial de  $0,8 \mu\text{m}$  ont été acquises sur une surface de  $368 \times 323 \mu\text{m}^2$  dans une zone à micro-dômes laminés. Le Si est un élément à relativement faible numéro atomique, ce qui signifie que son signal de fluorescence est plus absorbé dans la roche ou dans l'air par rapport à un élément avec un plus grand numéro atomique. C'est pourquoi, sa détection plus difficile. C'est, entre autres, pour cette raison que nous n'avons pas étudié les éléments légers dans les précédentes cartographies. Or, ici, la cartographie du Si montre un intense signal de fluorescence traduisant une prédominance de cet élément. B25 est principalement composé de calcite (**Annexe 12**). Cette prédominance de Si dans ces zones laminées suggère donc qu'il existe localement un important phénomène de silicification. Il n'est donc pas possible d'obtenir des cartes semi-quantifiées en utilisant la calcite comme standard interne. Ainsi, pour cet échantillon, le traitement de données habituel n'a pas été appliqué. Contrairement aux autres échantillons analysés, le Ca n'est pas distribué partout puisqu'il est absent dans les zones où Si prédomine. Au milieu de l'échantillon, nous observons un hotspot où le Ca et le Mn prédominent faisant penser à une phase détritique dépourvue de Fe et de Si ou à une phase de calcite secondaire issue d'une recristallisation. Fe est distribué quasiment dans l'ensemble de la zone et les endroits où les concentrations sont les plus élevées font ressortir les laminations. Enfin, le Mn est présent dans certains hotspots, probablement dû à des grains détritiques.



**Figure 5.27** Analyses SR-XRF de l'échantillon L6. (a) Image microscopique de l'aire analysée. Le rectangle rouge représente la zone cartographiée avec un balayage spatial de 1 $\mu$ m. (b) Cartes semi-quantitatives du Ca, Fe et Mn. (c) Cartographie de la distribution du rapport Mn/Fe dans l'échantillon L6. La flèche blanche montre l'enrichissement du rapport Mn/Fe autour des péloïdes.



**Figure 5.28** Analyses SR-XRF de l'échantillon B25. Image microscopique de l'aire analysée. Le rectangle rouge représente la zone cartographiée avec un balayage spatial de  $0,8\mu\text{m}$  et carte élémentaire du Ca, Fe, Mn et Si. La concentration relative des différents éléments est codée en fausse couleur depuis le bleu foncé (faible) au jaune très clair (élevée). La flèche blanche indique une anti-corrélation entre le Fe et le Mn.

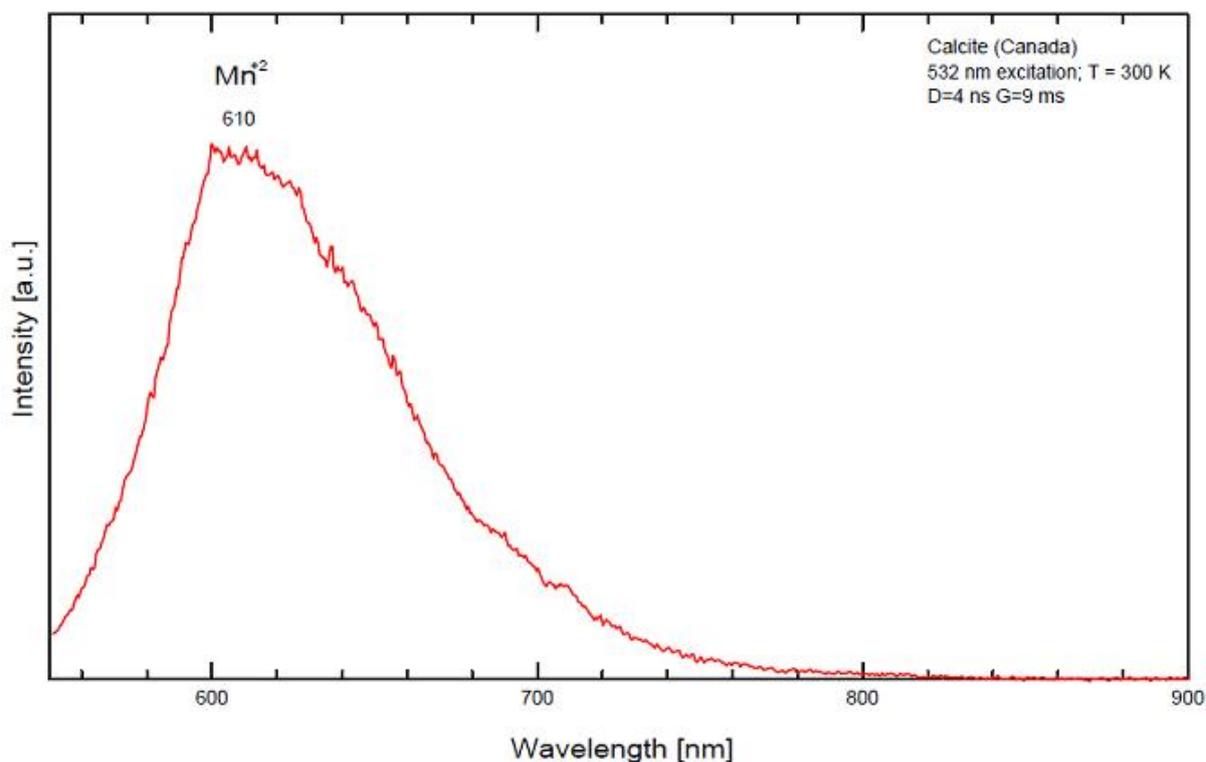
## 5.4 Discussion

### 5.4.1 Fluorescence dans le visible : stromatolites de Mari Ermi

#### 5.4.1.1 Origine des signaux de fluorescence

Les analyses menées par CLSM ont montré des signaux de fluorescence dans le visible, préservés *in situ* dans la partie minéralisée des stromatolites. Le développement de traitement des données hyperspectrales a permis d'identifier au moins trois signatures spectrales différentes. Parmi les signatures spectrales identifiées, on note une signature de pigments photosynthétiques chlorophylle/phycoyanine reconnaissable avec une émission de fluorescence dans le rouge et un maximum d'émission situé *c.a.* 660 – 670 nm (**Figure 5.17** et **Figure 5.19**). Cette signature spécifique est également retrouvée dans les tapis microbiens associés (**Figure 5.18**). La fluorescence rouge associée à la chlorophylle a déjà été observée dans les couches superficielles de microbialites actuelles, par exemple dans ceux du lac d'Alchichica au Mexique (Gérard et al., 2013) ; à Shark Bay en Australie à (Goh et al., 2009) ; dans les lagunes de Laguna Negra en Argentine (Mlewski et al., 2018) ; dans le lac Dziani Dzaha à Mayotte (Gérard et al., 2018) ; dans le cours d'eau de la Solana en Espagne (Sabater, 2000) ; à Big Pond Lake au Bahamas (Sforna et al., 2017) ; en Antarctique (Lepot et al., 2014) (liste non exhaustive).

Deux autres signatures spectrales sont systématiquement retrouvées quelle que soit la zone cartographiée. Ces dernières ont des allures générales similaires : un pic d'émission maximum, respectivement centré autour de 530 nm et 560 nm et un autre pic d'émission, beaucoup moins intense, centré autour de 665 nm. Avant de continuer, nous devons nous poser la question d'une origine organique *vs* inorganique pour ces spectres de fluorescence. Nous faisons l'hypothèse ici, que ces signatures spectrales ont une origine organique. Il se peut que la calcite fluoresce, c'est d'ailleurs un problème que nous avons mentionné dans l'introduction, pour des analyses en spectroscopie Raman. En revanche, avec une excitation dans le domaine du visible (532 nm), le spectre de fluorescence de la calcite (**Figure 5.29**) ne montre seulement qu'un pic d'émission autour de 600 – 610 nm, correspondant aux substitutions du  $Mn^{2+}$  dans la calcite (Gaft et al., 2005).



**Figure 5.29** Spectre de fluorescence d’une calcite (abiotique) provenant du Canada obtenu avec une excitation à 532 nm, proche de l’excitation à 488 nm que nous utilisons dans nos expériences. Le domaine entre 400 et 600 nm n’est pas montré car aucun pic d’émission avec une excitation dans le visible n’est observé. Figure extraite de Gaft et al. (2005).

Avec l’utilisation des excitations laser à 405 et 488 nm telles que nous les avons utilisées, beaucoup de signatures organiques sont compatibles avec un maximum d’émission à 560 nm. Tout d’abord, il pourrait s’agir de la signature des caroténoïdes qui ont un spectre d’émission de fluorescence avec un maximum d’émission aux alentours de 560 nm (Vermaas et al., 2008 ; Lepot et al., 2014). Cela pourrait également être la signature de la phycoérythrine même si, celle-ci possède un maximum d’émission plus bas, autour des 550 nm (Hess et al., 1996). L’origine de la signature spectrale avec un maximum d’émission autour de 530 nm est un peu plus complexe. Dans une étude s’intéressant aux signaux de fluorescence retrouvés dans des sédiments anciens d’Antarctique, Lepot et al. (2014) interprètent un pic d’émission situé à 510 nm comme étant une combinaison du pic à 560 nm provoqué par l’excitation à 488 nm et du pic à 475 nm, distinguable quand seule l’excitation à 405 nm est utilisée. Nous avons observé l’influence du choix de l’excitation sur les maxima d’émission **Figure 5.20**. Par analogie avec l’interprétation proposée par Lepot et al. (2014), nous pourrions expliquer le pic à 530 nm

comme la combinaison du pic à 560 nm (dû à l'excitation à 488 nm) et pouvant provenir des caroténoïdes et du pic à 480 nm (dû à l'excitation à 405 nm). La dégradation des pigments photosynthétiques chlorophylle/phycochlorophylle, après radiation radiolytique (Dartnell et al., 2011) peut contribuer au pic d'émission à 480 nm.

Comme nous l'avons vu, ces deux signatures spectrales possèdent un deuxième pic d'émission, moins intense, situé autour de 665 nm. Ce pic suggère la signature de chlorophylle/phycochlorophylle non dégradée. Si cette hypothèse est vraie, cela signifie qu'il y a préservation *in situ* des pigments photosynthétiques chlorophylle/phycochlorophylle non dégradés, à mesure que l'on s'enfonce vers le substrat mais que leur rendement diminue au profit de pigments mieux conservés tels que les caroténoïdes. La prédominance du signal des caroténoïdes non dégradés sur le signal non dégradé de la chlorophylle/phycochlorophylle peut s'expliquer de deux manières : 1) dans les tapis microbiens, les caroténoïdes sont relativement plus abondants que les pigments photosynthétiques ou 2) les caroténoïdes sont minoritaires par rapport aux pigments photosynthétiques mais ceux-ci se dégradent préférentiellement alors que les caroténoïdes sont beaucoup plus résistants.

Cependant une autre interprétation permet d'expliquer l'origine des pics à 530 et 560 nm. Il s'agit d'interpréter ces signaux comme étant la signature de l'autofluorescence verte non spécifique (appelée GAF pour Green Autofluorescence). Dans la littérature, la GAF est retrouvée dans des algues, des microalgues, des dinoflagellés (Coleman, 1988 ; Kawai, 1988 ; Carpenter et al., 1991 ; Elbrächter, 1994; Tang et Dobbs, 2007), des diatomées (Tang et Dobbs, 2007) et des foraminifères (Apothéloz-Perret-Gentil et al., 2013). Elle est également observée chez les cyanobactéries (Hense et al., 2008 ; Roldán et al., 2014) et est interprétée comme signature de dégradation des pigments photosynthétiques (Beck et Scheibe, 2003 ; Hörtensteiner, 2006 ; Schulze et al., 2011). Chez les micro-organismes photosynthétiques, l'autofluorescence des pigments photosynthétiques est considérée comme un indicateur de la viabilité des cellules (Billi et al., 2011 ; Schulze et al., 2011 ; Franklin et al., 2012 ; Tashyreva et al., 2013). Franklin et al., (2012) ont observé que la perte de fluorescence des pigments pouvait être corrélée avec une diminution de l'activité enzymatique et être utilisée comme indicateur de sénescence. Même si cela semble être le cas dans nos échantillons, la GAF n'est pas toujours colocalisée avec la chlorophylle. En effet, il peut y avoir de la GAF dans des cellules où la chlorophylle est absente (Tang et Dobbs 2007). Dans leur étude, Tang et Dobbs (2007) utilisent une excitation de 470 – 490 nm et enregistrent des maxima d'émission à des

longueurs d'onde à partir de 530 nm et allant jusqu'à 550 nm, ce qui est compatible avec le maximum d'émission à 530 nm et pas si éloigné du pic à 560 nm que nous observons dans nos échantillons. Selon ce second scénario, les signaux de fluorescence à 530 nm et 560 nm sont uniquement attribués à la dégradation des pigments chlorophylle/phycoxyanine. Cela expliquerait pourquoi l'abondance relative de ces pigments, initialement majoritaires dans le tapis microbien, diminuerait au cours du temps de fossilisation, entraînant une modification de la signature spectrale de fluorescence (Hense et al., 2008). C'est le scénario que nous privilégions pour expliquer le signal de fluorescence dans les stromatolites de Mari Ermi.

#### 5.4.1.2 Distribution du signal de fluorescence

Les stromatolites actuels sont relativement bien fluorescents. En revanche, la distribution de fluorescence n'est pas homogène puisque nous avons observé des spots d'intensité de fluorescence autour et dans les reliques de micro-organismes, notamment dans de supposées cyanobactéries filamenteuses (**Figure 5.6** g, h). De plus, la mosaïque CLSM acquise sur la moitié d'une lame mince (**Figure 5.7**) a montré que les lamines claires avaient un signal de fluorescence plus intense que les lamines sombres. Une des explications possibles est de considérer que, lors de la formation des lamines claires, la biomasse disponible était plus abondante. C'est d'ailleurs une hypothèse que nous avons utilisée pour construire le modèle de formation des stromatolites dans Debie et al. (2022). Comme nous avons considéré que la majorité du signal de fluorescence s'expliquait par de la GAF, nous pouvons supposer que la plus forte intensité de fluorescence dans les lamines claires est corrélée à la densité cellulaire initiale des structures filamenteuses.

Les premières observations CLSM faites par Saint Martin et Saint Martin (2015a) sur les stromatolites de Mari Ermi montrent une émission de fluorescence différente en fonction de la nature des lamines. Les lamines claires, avec une importante densité cellulaire de structures filamenteuses émettent dans le vert, alors que les lamines sombres semblent davantage émettre dans le rouge avec même, la présence de couches rougeâtres.

Hormis les signatures très intenses de pigments photosynthétiques de type chlorophylle/phycoxyanine retrouvées dans les parties supérieures des stromatolites, nous avons mis en évidence une variabilité spectrale en fonction de la nature des lamines. Plus précisément, nous avons montré que les signatures avec le pic d'émission à 530 nm étaient

constamment distribuées dans les lamines claires alors que les signatures avec le pic d'émission à 560 nm étaient distribuées dans les lamines sombres (**Figure 5.12c** ; **Figure 5.14b** ; **Figure 5.17**). La distribution des variations spectrales est identique au sein d'un même échantillon mais également entre les différents échantillons. Par exemple, dans la **Figure 5.12**, la première lamine stromatolitique, à l'interface avec le substrat, considérée comme une lamine sombre (**cf. chapitre 3**) a une signature spectrale identique à la lamine sombre cartographiée **Figure 5.17**, située dans la partie supérieure du stromatolite. Les cartographies des distributions spectrales sont donc cohérentes avec les observations de Saint et Saint Martin (2015a). En effet, même si les lamines sombre n'émettent pas à proprement parler dans le rouge, elles ont un maximum d'émission décalé vers le rouge par rapport aux lamines claires. En revanche on peut se demander pourquoi les lamines claires ont un pic à 530 nm vs 560 nm pour les lamines sombres, surtout si l'on suppose que ces deux signatures spectrales ont comme origine la GAF. Une des explications les plus plausibles au vu de l'étude de Tang et Dobbs (2007), est que les phototrophes les plus abondants ne sont pas les mêmes lors de la formation des lamines claires et des lamines sombres. Il se peut également qu'il y ait variations du matériel pigmentaire au sein d'un même organisme. Enfin, nous remarquons que le deuxième pic d'émission autour de 665 nm, semble être plus intense dans les lamines sombres que dans les lamines claires. Cela traduit donc une meilleure préservation des pigments photosynthétiques dans les lamines sombres que dans les lamines claires. Nous pouvons imaginer qu'à cause des nombreuses porosités présentes dans les lamines claires, causées par les reliques de microfossiles, il y ait un processus de dispersion/désolidarisation du contenu organique (contenant les pigments photosynthétiques). Cela pourrait expliquer pourquoi les pigments photosynthétiques sont moins bien fossilisés dans les lamines claires que dans les lamines sombres, qui sont des lamines beaucoup plus denses (avec peu ou pas de porosité).

#### **5.4.2 Fluorescence dans le visible : stromatolites du Messinien**

Des signaux de fluorescence ont également été observés dans les échantillons du Messinien. L'observation de fluorescence par microscopie à épifluorescence a également été reportée dans différents microbialites du Messinien : en Italie dans la Péninsule de Salento (Vescogni et al., 2011; Guido et al., 2012), dans la formation Calcare di Base, Nord de la Calabre (Mastandrea et al., 2010; Guido et al., 2013), dans le bassin du Piémont Tertiaire (Dela Pierre et al., 2012) et en Espagne, à Mallorca (Suarez-Gonzalez et al., 2019). Dans ces études,

l'origine de cette fluorescence est attribuée à de la matière organique résiduelle provenant soit de la décomposition d'organismes métazoaires et planctoniques, soit de l'activité métabolique de micro-organismes ayant participé ou non à la construction microbialitique. De plus, l'intensité du signal de fluorescence est souvent proposé comme étant corrélée à la quantité de matière organique (Guido et al., 2019). Certains auteurs utilisent la fluorescence comme argument supplémentaire pour prouver la biogénicité de microbialites anciennes (Blanco et al., 2014b ; Guido et al., 2019). Par exemple, Guido et al. (2012) observent des micrites très fluorescentes avec un fort contenu en matière organique permettant de les interpréter comme des micrites biogéniques. En revanche, des micrites avec une faible teneur en matière organique et ayant un faible signal de fluorescence sont interprétées comme étant des micrites abiotiques.

Comme pour les échantillons sardes, nous avons attribué une origine biologique à cette fluorescence. Pour aller plus loin dans la caractérisation de cette fluorescence, nous avons appliqué le même traitement de données sur l'échantillon B25, en caractérisant les variations spectrales de son signal de fluorescence. Nous avons identifié deux signatures spectrales avec une allure similaire aux signatures retrouvées dans les échantillons sardes. La première signature présente un premier pic d'émission autour de 500 nm et un deuxième pic, moins intense, autour de 655 nm. La deuxième signature spectrale présente un premier pic autour de 530 nm et un deuxième pic, également moins intense, autour de 655 nm. Nous remarquons un léger décalage de 30 nm par rapport aux maxima d'émission relevés dans les stromatolites de Mari Ermi. Par comparaison avec l'hypothèse que nous avons avancée concernant l'origine de fluorescence dans les stromatolites sardes, nous pouvons suggérer que les signatures spectrales identifiées dans l'échantillon B25, proviennent de la GAF. Même si cela demande d'être confirmé, nous pouvons supposer que le léger pic à 665 nm (**Figure 5.21b**) est la signature de pigments photosynthétiques de type chlorophylle/phycoyanine. On peut cependant se demander si la fluorescence rouge de chlorophylle non dégradée peut être préservée *in situ* dans des stromatolites de 6 Ma. En effet, la chlorophylle des cyanobactéries exposées est susceptible d'être dégradée par les radiations ionisantes et de perdre ses propriétés spectrales (Dartnell et al., 2011). Dans d'autres milieux, par exemple dans des sédiments, la chlorophylle se dégrade généralement au cours des premières phases de l'enfouissement et de la diagénèse (Leavitt, 1993 ; Matile et al., 1999) et ses propriétés de fluorescence « s'évanouissent » en fonction de facteurs environnementaux tels que les UVs et la température (Hense et al., 2008). Cependant, dans une étude consacrée à la préservation du signal spectral de la chlorophylle dans un milieu

évaporitique, il a été démontré que le flux d'UV pouvait être atténué par des minéraux tels que les sulfates et les carbonates. Ces minéraux absorbent les longueurs d'onde qui dégradent les biomolécules, et permettent ainsi aux organismes de survivre dans des conditions difficiles et aux biomolécules d'être préservées (Stromberg et al., 2014). Enfin, Ingalls et al. (2003) rapportent que la chlorophylle est fréquemment observée dans des squelettes de coraux et que des études ont montré que la précipitation de  $\text{CaCO}_3$  sur les filaments d'algues (Schroeder, 1972 ; Kobluk et Risk, 1977) et les parois cellulaires intactes des algues (Duerden, 1902; Lukas, 1969) pouvait également protéger les chloropigments de la dégradation. Dans notre cas, nous pourrions penser que la précipitation de carbonates *in situ* lors de la lithification des biofilms pourrait être à l'origine de la préservation de ces pigments.

### 5.4.3 Cathodoluminescence et fluorescence X

Le couple Mn/Fe est le plus communément discuté dans la littérature comme activateur (Mn) vs inhibiteur (Fe) de luminescence dans la calcite et dolomite (Schulman et al., 1947 ; Long et Agrell, 1965 ; Sippel et Glover, 1965 ; Smith et Stenstrom, 1965 ; Gies, 1975 ; Pierson, 1981 ; Fairchild, 1983 ; Machel, 1985 ; Mason et Mariano, 1990 ; Götte et Richter, 2009 ; Hiatt et Pufahl, 2014). D'autres activateurs, tels que le Pb ou les terres rares (REE) et inhibiteurs, tels que le Ni et le Co sont également discutés dans la littérature (même références que précédemment). Cependant, dans le reste de la discussion, nous allons nous concentrer exclusivement sur le couple Mn/Fe : leur concentration et états d'oxydation, leur distribution, leurs potentielles origines et les implications paléoenvironnementales.

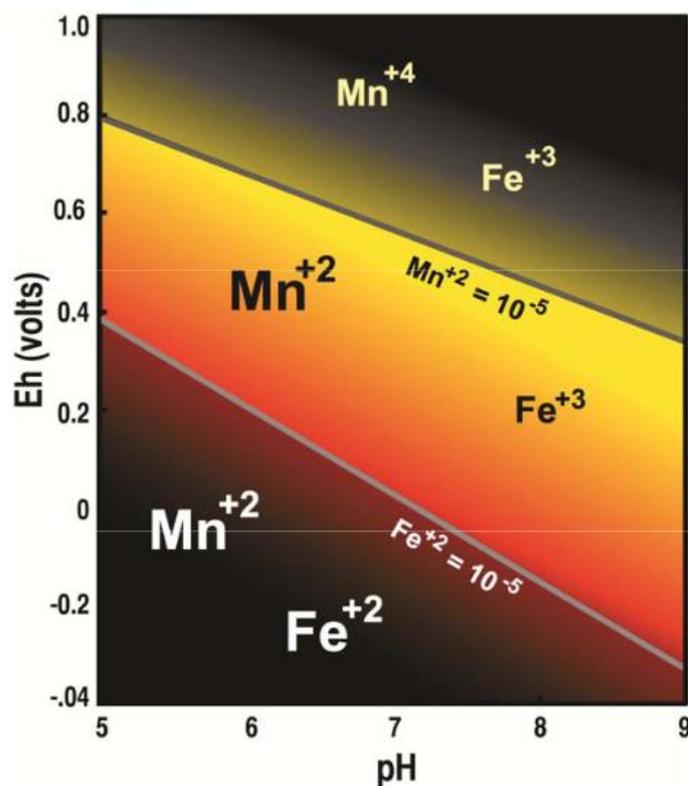
#### 5.4.3.1 Implication de la teneur en Fe et Mn dans l'activation/inhibition de cathodoluminescence

Exceptées quelques zonations rouges-orangées plus intenses, la luminescence dans les échantillons de Mari Ermi est rouge foncé et terne. Une luminescence rouge est habituellement attribuée à l'incorporation de Mn dans la dolomite mais nous n'avons pas de dolomite dans nos échantillons (Debrie et al., 2022). De plus, la luminescence rouge de la dolomite est une luminescence intense et non terne alors que nous avons dans nos échantillons, une CL rouge terne. Il est donc probable que la CL rouge de nos échantillons ne provienne pas de la dolomite mais plutôt d'une teneur élevée de Fe dans la calcite. Bien que les études s'accordent sur le rôle

activateur du Mn dans la CL vs le rôle inhibiteur de CL dans la calcite, elles ne s'accordent pas sur les concentrations et les mécanismes qui régissent la CL. Par exemple, certains auteurs ont montré que la concentration minimale de Mn nécessaire à l'activation de la CL dans la calcite était de l'ordre d'une dizaine de ppm (Mason and Mariano, 1990 ; Habermann et al., 1996 ; Budd et al., 2000), mais que le Fe commençait à exercer un effet d'extinction de la CL à partir de 100 ppm (Ten Have et Heijnen, 1985 ; Budd et al., 2000). La corrélation entre l'intensité de la CL et la concentration en Mn est controversée. Frank et al., (1982) ont rapporté que l'intensité de la CL était uniquement contrôlée par le rapport Fe/Mn. Néanmoins, des comportements de CL plus complexes ont été prédits par Mason (1987) et Hemming et al. (1989) suggérant que l'intensité de la CL était principalement contrôlée par la teneur absolue en Mn et l'efficacité de l'extinction du Fe, qui augmentait avec la concentration en Mn. Cependant, cette hypothèse a été rejetée par Pierson, (1981) et Fairchild, (1983). Si l'on considère que le Fe et le Mn quantifiés par ICP – AES sont uniquement contenus dans les phases carbonatées, alors celles-ci contiennent environ entre 300 et 700 ppm de Mn et entre 2000 (0,2 % wt) et 3000 ppm (0,3 en pourcentage de Fe), soit un rapport Mn/Fe de 0,2. Bien sûr, il est possible que les concentrations en Fe et Mn du solide soient biaisées par l'apport en Fe et Mn provenant d'autres phases minéralogiques que les carbonates (silicates, oxydes etc...). Par exemple, nous voyons très bien avec les cartographies SR-SRF, que des teneurs en Fe très élevées sont atteintes dans des grains nanométriques potentiellement détritiques (**Figure 5.25**). Les concentrations en Fe étant au moins dix fois supérieures à celles du Mn, nous pouvons émettre l'hypothèse que la luminescence rouge foncé de nos échantillons, provient de la dominance du Fe par rapport au Mn dans nos échantillons.

Nous n'avons pas mené d'analyse permettant de déterminer directement les états d'oxydation du Fe et du Mn, par exemple en employant la spectroscopie d'absorption X dans la région proche du seuil (XANES). En revanche, nous pouvons discuter qualitativement de la spéciation du Mn et du Fe retrouvés dans les carbonates en nous appuyant sur les couleurs de CL. La figure ci-dessous (**Figure 5.30**) est un diagramme simplifié permettant de représenter schématiquement les couleurs de cathodoluminescence attendues en fonction du couple potentiel redox/ pH de la solution (Hiatt et Pufahl, 2014). Dans le **chapitre 3**, nous avons vu que le pH des lagunes de Mari Ermi pouvait varier entre 7,5 et 10. Les variations de CL allant de couleur rouge orangé à rouge terne dans nos échantillons semblent suggérer que dans le milieu aqueux, le Mn est sous forme Mn (II) mais que le Fe alterne entre Fe (II) et Fe (III).

Contrairement à la réaction d'oxydation du Mn ( $\text{Mn (II)} \rightarrow \text{Mn (IV)}$ ) qui est favorisée thermodynamiquement (Tebo et al., 2004) mais cinétiquement trop lente (Diem et Stumm, 1984), la réaction d'oxydation du Fe (III) est stable et rapide. En milieu aqueux et oxygène, des oxydes de fer sont facilement formés et le Fe (III) ne s'incorpore pas dans la structure de la calcite. Cela entraînera une CL rouge orangé intense de la calcite. En revanche, durant des épisodes d'anoxie, il n'y a pas d'oxydation du Fe, et le Fe est à l'état de Fe(II). Du  $\text{Fe}^{2+}$  est donc disponible dans le fluide et va pouvoir s'incorporer dans les sites  $\text{Ca}^{2+}$  de la calcite. Cette incorporation du  $\text{Fe}^{2+}$  va entraîner un CL rouge foncé terne, et potentiellement une extinction totale de la CL. Ainsi les variations CL dans la calcite peuvent être qualitativement interprétées comme des variations du niveau d'oxygène soit à l'échelle de l'environnement ou soit, à l'échelle du biofilm.



**Figure 5.30** Diagramme Eh/pH pour une solution aqueuse contenant les ions Fe et Mn. Couleurs CL idéalisées attendues de la calcite formée dans les plages de Eh et de pH donnés. Figure extraite de Hiatt et Pufahl (2014).

Concernant les échantillons du Messinien, nous n'avons pas pour le moment d'image CL. Même si nous avons les concentrations globales du Fe et du Mn, il est difficile de prédire leur luminescence en s'appuyant uniquement sur les concentrations d'activateurs/inhibiteur (Mariano et al., 2014) d'autant que des histoires diagenétiques ainsi que des précipitations secondaires peuvent affecter les propriétés de luminescence. Les échantillons Messinien étant pour beaucoup composés de dolomite (voir **Annexe 12**), il serait intéressant de les observer sous CL afin de déterminer les dolomites authigènes *vs* les dolomites diagenétiques.

#### 5.4.3.2 Distribution du Mn et du Fe dans les carbonates

##### 5.4.3.2.1 Stromatolites de Mari Ermi

Dans les échantillons sardes, les spots de CL sont distribués dans les lamines claires et plus précisément autour et dans les microfossiles filamenteux alors que les lamines sombres révèlent une luminescence beaucoup plus éteinte (**Figure 5.22**). Dans le même temps, les cartographies des variations du rapport Mn/Fe dans les carbonates montrent que le rapport Mn/Fe est beaucoup plus élevé dans les lamines claires que dans les lamines sombres et que, de plus, celui-ci atteint des valeurs maximales, entre 2 et 7 autour des reliques de microfossiles (**Figure 5.24c**, **Figure 5.26b**). Il y a donc des variations locales du rapport Mn/Fe au sein de l'échantillon mais également au sein d'une même lamine. Même si les observations en CL et les cartographies SR-XRF n'ont pas été faites de façon corrélative, nous pouvons raisonnablement penser que nous avons, dans nos échantillons, une corrélation entre l'intensité de la CL et le rapport Mn/Fe dans les carbonates. Une autre corrélation qualitative que nous observons concerne la distribution du signal de fluorescence dans le visible (discuté en section **5.4.1**) qui est aussi corrélée avec la distribution de la CL et du rapport Mn/Fe. Pour résumer on aurait donc :

- Lamines sombres : fluorescence dans le visible peu intense, CL rouge foncé presque éteinte et rapport Mn/Fe peu élevé.
- Lamines claires et notamment autour des reliques de microfossiles filamenteux : fluorescence dans le visible intense, CL rouge-orangée très intense et rapport Mn/Fe élevé.

Cette distinction entre lamines claires et lamines sombres n'est pas sans rappeler celle faite au **chapitre 4**, pour étudier les variations minéralogiques en fonction de la nature des lamines. Du fait de la tension d'accélération utilisée trop faible pour les analyses MEB-EDXS, nous n'avons pas pu quantifier la substitution en Fe et en Mn dans ces calcites magnésiennes.

Essayons maintenant de comprendre les variations du rapport Mn/Fe entre les lamines claires et sombres. Comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, il est fort probable que dans les lamines claires, le Fe (II) incorporé dans la calcite soit faible, du fait d'un environnement avec des conditions locales oxiques et peu de Fe dans le fluide car  $\text{Fe}^{3+}$  est peu soluble. Supposons de plus, que l'augmentation du rapport Mn/Fe soit également due à une augmentation de la teneur en Mn dans la calcite. Dans le **chapitre 4**, nous avons mis en évidence la présence de calcite très magnésienne avec une teneur en  $\text{MgCO}_3 \geq 34\%$  (Debrie et al., 2022), dans les lamines claires surtout autour des microfossiles. Cela suggérerait que l'enrichissement en Mg des carbonates puisse être corrélé à une augmentation du Mn dans les carbonates. Cette corrélation a déjà été observée par certains auteurs. En effet, grâce à des analyses  $\mu$ -XRD et  $\mu$ -XRF, Petrash et al. (2015), ont observé que la dolomite mais surtout des calcites hautement magnésiennes étaient associées avec une accumulation de Mn dans la phase solide. Cette corrélation était interprétée par les auteurs, comme une signature de l'implication du Mn dans la formation de la dolomite. Plus précisément, les auteurs proposent un modèle selon lequel le cycle redox du couple Mn-S permet de générer de l'alcalinité à partir de la décomposition de la matière organique, plus efficacement que la réduction bactérienne de sulfate seule, favorisant la formation de dolomite.

Maintenant, intéressons-nous aux lamines sombres. Nous avons déjà vu précédemment que beaucoup plus de Fe (II) avait pu s'incorporer dans les calcites, potentiellement à cause d'un environnement local beaucoup plus anoxique et donc avec plus de  $\text{Fe}^{2+}$  dans le fluide. Il est donc probable que, dans les lamines sombres, la diminution du rapport Mn/Fe soit due à une augmentation de la teneur en Fe et peut-être, puisse être couplée à une diminution de la teneur en Mn. Macquaker et al. (2014) ont remarqué que la présence d'anions sulfures libres produits biologiquement dans des eaux interstitielles riches en Fe (II), entraînait la précipitation de la pyrite. Ainsi pour que des carbonates pauvres en fer puissent se former, il faut une disponibilité en  $\text{Fe}^{2+}$  et une faible production d'anions de sulfure ( $\text{HS}^-$ ). Ces conditions peuvent être discutées à l'échelle de la colonne d'eau ou à une échelle plus locale, celle du biofilm. Par exemple à l'échelle de la colonne d'eau, Petrash (2016) suggère que l'incorporation du fer dans les réseaux

dolomitiques s'est effectuée à une époque marquée par la disponibilité des ions  $\text{Fe}^{2+}$  et une faible production de  $\text{HS}^-$ . Selon lui, ces conditions traduisent un climat ferrugineux-oxique transitoire permettant la décantation et la dissolution réductrice des oxyhydroxydes réactifs de Fe (III) de la colonne d'eau. Toujours selon cet auteur, ces conditions sont favorables pendant ou peu après l'afflux d'eaux douces dans des environnements schizohalins. Or, d'après le **chapitre 3**, nous avons vu que les lagunes de Mari Ermi pouvaient être définies comme des environnements schizohalins avec afflux d'eau douce. Il est donc tout à fait possible que ces conditions chimiques se produisent au niveau des lagunes.

Une autre hypothèse qui peut venir en complément de la première est qu'à l'échelle du biofilm, il y ait des variations des conditions oxiques/anoxiques. Le Fe, sous sa forme  $\text{Fe}^{3+}$  est abondant dans les biofilms car il sert de liaison entre la matière organique et les minéraux. Il joue un rôle d'accepteur d'électrons, notamment lors de réaction de décomposition de la matière organique par des micro-organismes (Chen et al., 2020). Dans des biofilms préservés d'un *Conophyton cylindricus* du Protérozoïque (estimé à 1,3 Ga), Callefo et al. (2022) ont pu étudier la spéciation du Fe dans ces biofilms lithifiés carbonatés. Ils ont interprété la présence de  $\text{Fe}^{2+}$  comme un produit de la réduction de  $\text{Fe}^{3+}$ , s'effectuant soit de manière abiotique, ce qui renvoie à notre première hypothèse, soit durant un processus de ferriréduction par des bactéries.

#### 5.4.3.2.2 Stromatolites du Messinien

La zone cartographiée dans L6 correspond à une zone de micrite péloïdale dolomitique. La dolomite est connue pour éléments de trace tels que le  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , et  $\text{Cu}^{2+}$ . Contrairement aux stromatolites modernes de Mari Ermi, le rapport Mn/Fe est très peu variable et à la résolution étudiée, les légères augmentations du rapport Mn/Fe ne dessinent aucun motif identifiable. Il semble que le rapport Mn/Fe soit légèrement plus important aux périphéries des péloïdes. Or L6 est principalement composé de dolomite (cf. **Annexe 12**) et ses péloïdes sont donc dolomitiques. L'augmentation du rapport Mn/Fe autour de ces péloïdes suggèrent le lien proposé précédemment entre dolomite et incorporation de Mn dû à la décomposition organique. La teneur organique probablement plus élevée, suggère également pourquoi le signal de fluorescence est plus intense autour de ces péloïdes (**Figure 5.10b**). L'échantillon B25 est silicifié et donc le rapport Mn/Fe n'a pas été caractérisé dans les carbonates. Dans cet

échantillon, la distribution du Fe semble suivre des motifs de laminations. Il semble donc avoir joué un rôle dans la lithification des biofilms comme suggéré par Callefo et al. (2022). Ces observations semblent renforcer le lien intrinsèque entre les signatures géochimiques et les implications biologiques fournies par les études de fluorescence.

## 5.5 Conclusion

Différents signaux de luminescence ont été identifiés dans les stromatolites de Mari Ermi : 1) de la fluorescence d'origine organique interprétée comme les signatures de l'activité métabolique de micro-organismes ayant participé à la construction microbialitique, 2) de la cathodoluminescence, résultante de l'incorporation d'éléments de trace tels que le Mn dans les carbonates et 3) de la fluorescence X associée aux compositions en éléments de trace présents dans les échantillons, parmi lesquels le Fe et le Mn. Grâce à la mise en place d'une stratégie d'analyse pour l'imagerie confocale, nous avons pu cartographier la distribution des variations spectrales du signal de fluorescence sans même connaître l'origine de ce dernier. Nous avons pu déterminer deux origines distinctes pour cette fluorescence : d'une part, une préservation exceptionnelle *in situ* de pigments photosynthétiques chlorophylle/phycoyanine et d'autre part la dégradation de ces mêmes pigments photosynthétiques diffus dans la matrice minérale et engendrant une autofluorescence verte non spécifique (GAF). Par analogie avec les signatures spectrales identifiées dans les échantillons modernes, nous avons également pu discuter de l'origine des signaux de fluorescence identifiés dans les échantillons du Messinien. Nous avons également conclu que de la GAF était présente mais aussi que de la chlorophylle non dégradée en très faible rendement pouvait potentiellement être conservée dans les parties minérales.

Dans les échantillons sardes, la distribution hétérogène du Fe et Mn dans les carbonates a été mise en évidence grâce aux cartographies SR-XRF et a été comparée à la distribution du signal de cathodoluminescence. Nous avons montré que dans les lamines sombres, là où le signal de CL était peu intense voir éteint, le rapport Mn/Fe des carbonates était peu élevé. À l'inverse, dans les lamines claires, et plus particulièrement autour des microfossiles, là où le signal de CL était intense, le rapport Mn/Fe des carbonates était élevé et atteignait les maxima autour des microfossiles. Nous avons également constaté que le rapport Mn/Fe suivait des distributions similaires à celle du rapport Mg/Ca des carbonates (voir **chapitre 4**). Enfin, bien que leurs origines soient physiquement différentes, nous avons remarqué que l'intensité du signal de CL

suivait des distributions similaires à celui de la fluorescence dans le visible *i.e.* que les lamines claires avaient un signal de fluorescence et de CL plus intense que les lamines sombres. Finalement, nous avons proposé que les lamines claires enregistrent des conditions de formation relativement oxiques et l'action de micro-organismes phototrophes alors que les lamines sombres semblent plutôt enregistrer des conditions localement anoxiques ainsi que l'activité de micro-organismes favorisant la réduction de métaux (le fer en particulier).

Concernant les échantillons du Messinien, la distribution du rapport Mn/Fe n'a pas été corrélée avec le signal de CL puisque nous ne disposions pas des données. En revanche, nous avons pu faire des liens entre les variations du rapports Mn/Fe et le signal de fluorescence.

## 5.6 Perspectives

Dans ce chapitre, nous avons longuement discuté des possibles origines des signaux de fluorescence. Que ce soit pour les échantillons modernes ou anciens, quelques interrogations demeurent quant à l'origine des signaux de fluorescence. Par exemple, nous avons préféré le scénario impliquant de la GAF plutôt que des caroténoïdes pour expliquer les spectres d'émission avec un pic à 560 nm. Or les caroténoïdes ont une signature Raman très intense. Il serait donc intéressant d'aller regarder les signatures en UV-Raman dans les échantillons modernes et anciens pour être sûr qu'ils ne soient pas présents, même à l'état de trace. De même, nous pourrions envisager d'utiliser des microscopes permettant de coupler spectre d'excitation et spectre d'émission (Dartnell et al., 2011) pour, peut-être, obtenir des signatures plus fines des pigments présents dans les échantillons. Enfin, la caractérisation à l'échelle moléculaire, non pas en surface mais de manière localisée à l'intérieur des échantillons, serait pertinentes pour approfondir l'identification des pigments photosynthétiques et aussi mieux comprendre la préservation du signal de fluorescence.

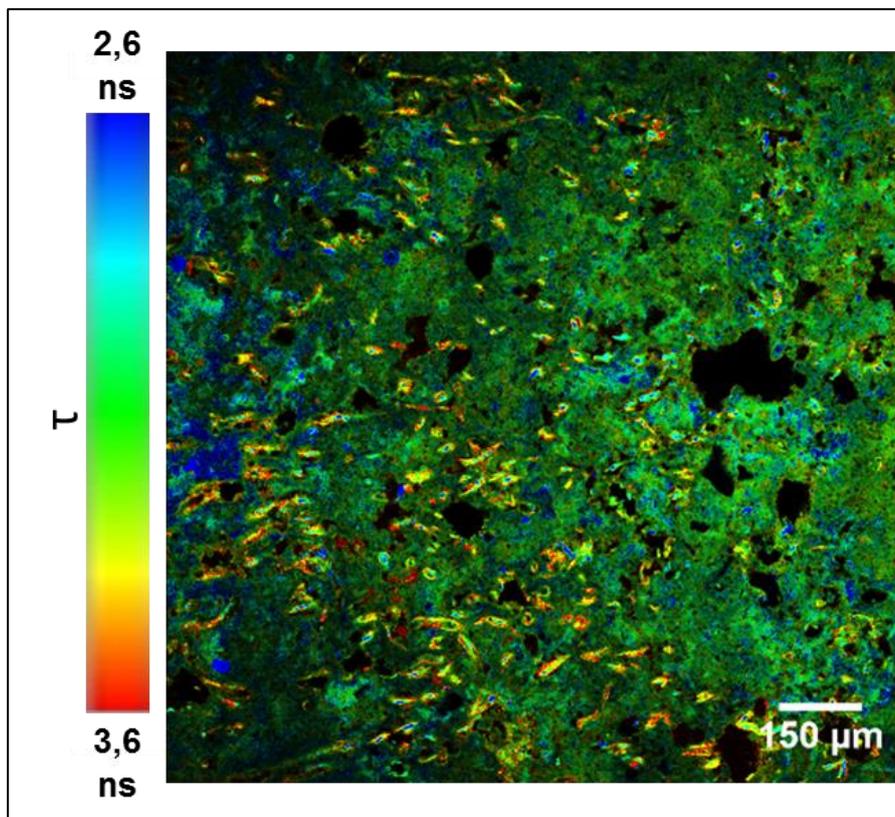
Dans les échantillons anciens, il serait intéressant d'aller regarder de plus près la distribution d'autres éléments trace tels que le Cu, Zn, Ni. Nous avons déjà ces données puisqu'elles ont été acquises simultanément lors des analyses SR-XRF mais pour l'instant elles n'ont pas été exploitées. Or l'étude de la distribution des métaux de transition et métalloïdes est souvent utilisée pour rechercher des indicateurs de l'activité microbienne passée.

Une autre perspective qui peut être mentionnée, concerne la microscopie de fluorescence en temps de vie (FLIM). Le FLIM est une technique complémentaire du CLSM car il permet d'obtenir des informations différentes sur les propriétés de fluorescence. Cette technique consiste à mesurer les temps de vie de fluorescence d'un fluorophore pour chaque pixel de l'image après excitation par laser pulsé. Les fluorophores ne sont alors plus détectés selon leurs longueurs d'ondes d'émission (comme pour le CLSM) mais seulement selon leur temps de vie. Le principal avantage de cette technique découle du fait que le temps de vie de fluorescence est un paramètre intrinsèque qui ne dépend ni de la concentration du fluorophore ni de la puissance d'excitation du laser (van Munster et Gadella, 2005 ; Suhling et al., 2015). En ce qui concerne le traitement des données, nous obtenons une courbe de décroissance de fluorescence. Un modèle mathématique préétabli dans le logiciel de traitement (ici Leica) permet de déconvoluer le signal total de décroissance de fluorescence en une somme de signaux de décroissance de fluorescence. Ainsi nous augmentons progressivement le nombre de signaux (et donc de composés) jusqu'à ce que la courbe de décroissance générale soit parfaitement ajustée et que le  $\chi^2$  soit proche de zéro (ou qu'il ne varie plus de façon significative).

Au début de la thèse, j'ai eu la possibilité d'utiliser l'équipement FLIM de la plateforme d'imagerie cellulaire NeurImag (INPN, Inserm 1266, Université de Paris). Ces expériences sont venues très tôt dans ma thèse, je n'avais pas encore une compréhension globale du signal de fluorescence et les quelques données acquises ne sont pas choisies sur des zones pertinentes.

Néanmoins, ces observations préliminaires ont montré qu'il existait des variations du temps de vie ( $\tau$ ) au sein d'un échantillon et d'une même zone cartographiée. Une zone cartographiée dans la partie haute du stromatolite (**Figure 5.31**) a montré des variations systématiques et de l'ordre de la nanoseconde dans des microfossiles (notamment filamenteux). Ce sont ces microfossiles qui vont être particulièrement pertinents à étudier. En effet, dans ces filaments, les analyses CLSM ont détecté une signature de type pigments photosynthétiques (dégradés ou non) mais spectralement, nous n'avons observé aucune différence entre les microfossiles et au sein d'un même microfossile. En se plaçant sur une zone d'étude relativement restreinte, mais avec un bon taux de comptage, nous pourrions cartographier plus sensiblement des variations de temps de demi-vies et mettre en évidence l'influence de multiples fluorochromes. Ces analyses FLIM devraient également être faites sur des biofilms frais ainsi que des échantillons de référence afin

d'améliorer notre compréhension sur l'origine de l'autofluorescence préservée dans l'encroûtement stromatolitique.



**Figure 5.31** Cartographie de la distribution relative des temps de demi-vie. Excitation à 470 nm et détection hybride. 1er détecteur de 475 nm à 560 nm. 2ème détecteur de 560 nm à 800 nm. Echantillon Mari Ermi sud.



# 6 Conclusions générales et perspectives

---



## 6.1 Conclusions générales

Ce travail de thèse a permis d'étudier des formations stromatolitiques de l'actuel et du registre ancien. Deux cas d'étude ont fait l'objet de nos investigations : les stromatolites des lagunes actuelles de Mari Ermi en Sardaigne, et des stromatolites du Messinien multi-provenances (Maroc, Tunisie, Espagne, Italie et Algérie). Nos observations se sont d'abord focalisées sur les stromatolites de Mari Ermi. Nos questionnements ont principalement concerné l'enregistrement des variations de salinité dans les propriétés chimiques, minéralogiques et texturales des microbialites, ainsi que sur leur contenu en matière organique et en microfossiles. De plus, un travail de terrain, complété par de la cartographie en imagerie satellite a été effectué pour corrélérer la géochimie des eaux et la minéralogie/chimie des stromatolites. Malheureusement, cette action n'a pu être aussi conséquente que l'objectif visé au commencement de cette thèse. En considérant le contexte géographique et géologique ainsi que le contexte évaporitique du Messinien, nous avons également observé un certain nombre d'échantillons stromatolitiques du Messinien. Même si nous avons l'idée d'aborder des problématiques similaires à celles des stromatolites de Sardaigne, il n'a pas été possible de mener un travail exhaustif sur les échantillons du Messinien. C'est la raison pour laquelle une partie de ces problématiques initialement envisagées, sont ici présentées comme des perspectives souhaitables. Les résultats de cette thèse peuvent être synthétisés au sein de quatre grandes problématiques, qui essaient de répondre en partie ou totalement aux questions énoncées dans l'introduction générale.

- A.** *Existe-t-il des marqueurs minéralogiques, isotopiques ou biologiques univoques d'un environnement lagunaire à forte variations de salinité ?*

Cette question est évidemment corrélative d'une étude détaillée du régime hydrologique complexe de Mari Ermi. Nous avons commencé à construire un modèle intégratif du processus d'évolution chimique des lagunes. Nous avons vu, qu'à l'échelle d'une année, les lagunes s'évaporent entre le mois d'avril et le mois d'octobre. De plus, il a été noté qu'il est fort probable qu'à partir du mois de juin, le taux d'évaporation augmente très fortement. Nous avons

également supposé que la remise en eau des lagunes devait s'effectuer entre le mois de novembre et le mois de janvier. Ce modèle géochimique nécessite d'être approfondi notamment par un échantillonnage plus fréquent durant la période d'évaporation (une fois toutes les deux semaines à une fois par semaine par exemple) ainsi que par un échantillonnage entre le mois d'octobre et le mois de janvier. Toutefois, grâce aux premières mesures chimiques et isotopiques des eaux, nous avons pu mieux contraindre le régime hydrologique des lagunes, notamment en identifiant au moins deux sources d'eau d'approvisionnement : un apport évident d'eau douce et un apport d'eau marine.

En s'inspirant des travaux pionniers d'Hardie et Eugster de 1970, nous avons prédit la précipitation de différentes phases minérales durant la période d'évaporation : tout d'abord des carbonates de calcium potentiellement substitués en magnésium et par la suite, des sulfates de calcium. Grâce à des analyses de caractérisation poussées, les phases prédites et même davantage (plusieurs calcites avec différents rapports Mg/Ca, anhydrite, S-apatite) ont été retrouvées dans la partie minérale des échantillons. Cela nous a permis de conclure quant à la présence de marqueurs minéralogiques caractéristiques des variations de salinité ayant lieu dans les lagunes. Certains de ces marqueurs, sont peu présents (anhydrite ou S-apatite) par rapport aux carbonates et sont peut-être moins bien préservés dans les microbialites.

Grâce aux analyses de métagénomiques faites par nos collaborateurs, nous avons pu discuter des populations microbiennes associées aux stromatolites sardes. Parmi la diversité des communautés identifiées, nous avons observé que les stromatolites sardes avaient sélectionné une population « spécifique », différente de celle de microbialites provenant d'un autre type d'environnement (par exemple les microbialites du Mexique). En effet, nous avons observé la présence d'archées halophiles dans des échantillons prélevés en période dite « sèche » (période d'évaporation) qui sont des communautés habituellement retrouvées dans des milieux extrêmes hypersalins. Nous avons donc interprété leur présence comme le signe de marqueurs biologiques caractéristiques de l'environnement de Mari Ermi.

Enfin, dans la partie minérale des échantillons sardes, nous avons mesuré les compositions isotopiques du carbone et de l'oxygène des carbonates. Si *a priori* nous n'avons pas identifié de proxy supplémentaire d'évaporation, nous avons pu interpréter certaines des signatures

isotopiques comme étant des potentiels marqueurs de carbonates biogéniques, même si ces derniers n'ont pas, *a priori*, un lien direct avec l'environnement de formation.

**B. *Quelle est la nature chimique et minéralogique des lamines et quelle est leur origine génétique ?***

Pour répondre à cette problématique et après avoir caractérisé à l'échelle globale la composition chimique et minéralogique des échantillons de Sardaigne, nous avons employé des techniques de spectro-imagerie haute résolution. Nous avons notamment utilisé la cartographie MEB-EDXS basse tension, spatialement étendue, grâce à l'utilisation d'un détecteur EDXS annulaire à la pointe de la technologie ainsi que la cartographie  $\mu$ XRF de laboratoire. Des analyses en MET-SAED sur lames FIB ont été effectuées pour affiner l'identification de certains polymorphes. Enfin, des cartographies chimiques SR-XRF haute résolution des métaux ont été acquises sur ligne synchrotron. Nous avons pu déterminer la nature minéralogique et chimique des lamines en fonction de leur nature claire *vs* sombre. Les analyses MEB-EDXS et SR-XRF ont montré que la distribution des lamines était respectivement corrélée avec le rapport Mg/Ca et le rapport Mn/Fe des carbonates de calcium. Plus spécifiquement, cette distribution était corrélée avec les microfossiles, présents dans les lamines claires (**Tableau 6.1**). Les rapports Mg/Ca ont pu être quantifiés alors que les variations du rapport Mn/Fe sont restées qualitatives. À l'échelle globale des lagunes, les variations du rapport Mg/Ca ont été reliées aux variations environnementales et plus particulièrement à l'évaporation, alors qu'à l'échelle locale, ces variations ont été reliées à l'activité microbienne. Concernant les variations du rapport Mn/Fe, celles-ci ont été reliées aux variations des conditions oxiqes/anoxiques, pouvant survenir localement à l'échelle du biofilm.

Nous avons également observé, dans nos échantillons, de l'aragonite, du talc cristallin, des phases détritiques ainsi que des teneurs minimales en anhydrite, apatite et des apatites sulfatées. Cette dernière phase minéralogique, pour laquelle nous avons calculé une formule unitaire, n'a pour le moment jamais été reportée dans des microbialites anciennes et modernes. Des études plus approfondies seront nécessaires pour déterminer son potentiel en tant que marqueur environnemental. Finalement, grâce à la cartographie des variations chimiques et minéralogiques, nous avons pu proposer un premier modèle de formation des stromatolites intégrant à la fois les facteurs environnementaux et biologiques, même si leurs rôles exacts et

les mécanismes les unissant, ne sont pour le moment pas totalement élucidés. Des perspectives à ce sujet sont développées un peu après dans le manuscrit.

**Tableau 6.1** Récapitulatif des distributions du rapport Mg/Ca et du rapport Mn/Fe en fonction de la nature des lamines des stromatolites de Mari Ermi (**Chapitre 4** et **Chapitre 5**).

	<b>Lamine</b>	<b>Mg/Ca</b>	<b>Mn/Fe</b>
Claire	autour des microfossiles	Mg/Ca > 0,43	++
	reste de la lamine	0,18 < Mg/Ca < 0,43	+
Sombre	/	0,05 < Mg/Ca < 0,18	-

- C.** *Quels restes de l'ultrastructure des structures microbiennes peuvent être identifiés dans ces stades précoces de fossilisation ? Parmi ces traces, lesquelles peuvent être identifiées dans les stromatolites fossiles du Messinien ?*

Les observations pétrologiques des échantillons de Sardaigne ont révélé la présence de nombreux filaments, interprétés comme les témoins fossilisés de cyanobactéries filamenteuses. L'imagerie hyperspectrale (CLSM) a permis de révéler une omniprésence du signal de fluorescence dans le visible pour les échantillons sardes et du Messinien. Aussi, nous avons mis au point un traitement des données innovant permettant de caractériser la variabilité de ce signal puis de la cartographier. Ceci a permis de mettre en évidence, dans les échantillons sardes uniquement, une préservation exceptionnelle de pigments photosynthétiques chlorophylle/phycoyanine notamment à l'intérieur de certains microfossiles filamenteux. D'autres signatures ont été observées dans les échantillons sardes et du Messinien. L'origine de ces signatures a été discutée, mais finalement une hypothèse retenue a été que ces signatures proviennent de la dégradation de pigments chlorophylliens, diffus dans la matrice minérale et engendrant une autofluorescence verte non spécifique (GAF).

La fluorescence des rayons X ainsi que la cathodoluminescence ont également montré des distributions particulières. Par exemple, bien que les sources d'excitation soient différentes pour la cathodoluminescence (électrons) et la fluorescence dans le visible (lumière), nous avons

observé que des signaux de cathodoluminescence et de fluorescence les plus intenses étaient toujours distribués autour des restes de structures microbiennes (dans les échantillons actuels).

Finalement, trois points importants ressortent de ce travail. Tout d'abord, en ce qui concerne les matériaux d'étude : cette thèse a permis d'étudier un exemple inédit de stromatolites formés en domaine lagunaire côtier, dont les connaissances actuelles restent pour le moment relativement fragmentaires. Elle a également permis de faire suite aux réflexions et concepts développés au cours de thèses précédentes (cf. Zeyen, 2016), comme par exemple, l'enregistrement du rapport Mg/Ca de l'eau et du processus d'évaporation dans la minéralogie des microbialites. Enfin, cette thèse a été l'occasion de mettre en place de nouveaux développements méthodologiques. Ceux-ci concernent 1) l'acquisition des données, comme par exemple, l'utilisation d'un détecteur EDXS performant permettant d'acquérir des cartographies EDXS basse tension, haute résolution et 2) le traitement des données : quantification des éléments légers (carbone et oxygène), identification des phases en mélange, par projections ternaires, détermination de formules cationiques. Certaines techniques de traitement des données ont pu être détournées et/ou réexploitées pour d'autres types de données. Par exemple, les projections ternaires utilisées a priori pour traduire des cartes chimiques quantifiées en cartes minéralogiques ont également été utilisées pour explorer la variabilité spectrale de la fluorescence dans le visible. Plus généralement, cette thèse a été l'occasion de faire un important travail sur le traitement des données de type (spectro)-imagerie, souvent sous-exploitées quand elles sont appliquées sur des objets géobiologiques.

## **6.2 Perspectives générales**

Des perspectives spécifiques à chaque sujet développé dans cette thèse ont été présentées à la fin de chaque chapitre. Nous pouvons synthétiser ces perspectives et les compléter en fonction d'objectifs à court et moyen/long terme.

### **A. Perspectives à court terme en lien avec les matériaux d'étude de ce travail de thèse.**

Les développements analytiques appliqués sur les stromatolites de Sardaigne peuvent maintenant être déployés avec intérêt sur les stromatolites du Messinien. Certains de ces

développements ont déjà commencé à être mis en place, notamment pour l'étude des propriétés de fluorescence. La minéralogie globale de la plupart des échantillons du Messinien ayant déjà été déterminée, il s'agira maintenant, d'acquérir des cartographies chimiques haute résolution en MEB-EDXS. Par la suite, ces données pourront être traitées exactement de la même façon que pour les échantillons sardes (quantification des cartographies chimiques, segmentation par projections ternaires et calcul des formules unitaire), ce qui permettra de déterminer les phases minéralogiques constitutives des stromatolites messiniens à des échelles sub-micrométriques. Cette perspective ouvre sur la possibilité de retrouver dans des échantillons anciens, des marqueurs de variations de salinité tels que ceux identifiés dans les stromatolites de Mari Ermi. Cependant, une attention toute particulière devrait être portée à l'interprétation des données en raison du fait que ce matériel est souvent affecté par une diagenèse poussée et même parfois par des phénomènes de karstification.

**B. Perspectives à moyen et long terme pouvant s'appliquer à d'autres microbialites modernes**

Premièrement, des développements méthodologiques d'acquisition et de traitement des données ont été mis en place sur des microbialites actuels de Sardaigne. Bien sûr, ces développements peuvent maintenant être mis en place sur d'autres microbialites actuelles. Les protocoles mis en place pour les analyses MEB-EDXS ainsi que le traitement des données peuvent s'appliquer pour d'autres échantillons. La contrainte demeurante est d'avoir accès à un MEB-EDXS disposant d'un détecteur avec des caractéristiques semblables à celui que nous avons utilisé. L'acquisition et la quantification des données sont reproductibles (*modulo* le logiciel de quantification utilisé). Concernant l'obtention des cartes minéralogiques, le travail sera nécessairement plus long. Dans un premier temps, si les échantillons ont une composition chimique similaire à ceux de Sardaigne, les mêmes successions de projections ternaires peuvent être utilisées. Par la suite, en fonction de la spécificité de chaque environnement, ces projections devront être affinées pour identifier peut-être des phases minéralogiques supplémentaires.

Deuxièmement, nous avons vu, au cours de ce travail, que les problématiques liées aux mécanismes et processus de lithification du tapis microbien n'ont pas été résolues. Plus précisément, il s'agirait de comprendre, comment dans l'environnement de Mari Ermi, les

facteurs biotiques influencent ou induisent la précipitation *in situ* de carbonates de calcium. Il s'agirait également de comprendre, comment les processus de lithification des tapis microbiens donnent lieu aux lamines claires et sombres des stromatolites sardes. Pour répondre à ces questions, une approche pourrait être mise en place. Celle-ci s'inspire des expériences menées par (Al Disi et al., 2019, 2021). Nous pourrions mettre en milieu de culture une ou des bactéries connues pour minéraliser. Il faudrait donc approfondir les analyses métagénomiques pour identifier précisément des souches bactériennes capables de minéraliser et présentes dans les microbialites de Mari Ermi. Par la suite, après isolement de la souche, des expériences préliminaires consisteraient à faire minéraliser ces bactéries. En cas d'expérience concluante, nous pourrions envisager de faire varier la composition du fluide du milieu de culture, notamment la salinité pour se rapprocher des conditions de Mari Ermi. Nous pourrions commencer par des conditions de type marine puis nous pourrions commencer à faire varier les paramètres chimiques du fluide en commençant par : la salinité et le rapport Mg/Ca de la solution. Les paramètres de sortie mesurables seraient la vitesse de précipitation ainsi que la nature minéralogique des phases précipitées. Cela nous permettrait de disposer d'une technique sensible, capable de détecter et de quantifier la précipitation de carbonates. Par la suite, des projets de plus grande ampleur consisteraient à mener ces expériences dans des stations capables de mimer l'environnement de formation, par exemple pour Mari Ermi, de simuler des phénomènes d'évaporation/remise en eau, d'hydrodynamisme (via un modèle d'agitation), de jouer sur la température de l'eau et les variations de salinité. L'influence de ces paramètres serait d'abord évaluée sur la précipitation des carbonates afin de proposer un contrôle abiotique de précipitation. Ensuite, il serait pertinent d'étudier l'influence de ces paramètres environnementaux sur les paramètres biotiques (activité métabolique, composition des EPS etc..), eux même ayant un contrôle sur les différentes caractéristiques des microbialites, parmi lesquelles : la minéralogie, la minéralisation et les modifications morphologiques.



# Bibliographie générale

---



- Akoko E., Atekwana E. A., Cruse A. M., Molwalefhe L. and Masamba W. R. L. (2013) River-wetland interaction and carbon cycling in a semi-arid riverine system: the Okavango Delta, Botswana. *Biogeochemistry* **114**, 359–380.
- Al Disi Z. A., Bontognali T. R. R., Jaoua S., Attia E., Al-Kuwari H. A. S. and Zouari N. (2019) Influence of temperature, salinity and Mg<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup> ratio on microbially-mediated formation of Mg-rich carbonates by *Virgibacillus* strains isolated from a sabkha environment. *Scientific Reports* **9**, 19633.
- Al Disi Z. A., Zouari N., Attia E., Al-Asali M., Al Saad Al-Kuwari H., Sadooni F., Dittrich M. and Bontognali T. R. R. (2021) Systematic laboratory approach to produce Mg-rich carbonates at low temperature. *RSC Adv.* **11**, 37029–37039.
- Allwood A. C., Rosing M. T., Flannery D. T., Hurowitz J. A. and Heirweh C. M. (2018) Reassessing evidence of life in 3,700-million-year-old rocks of Greenland. *Nature* **563**, 241–244.
- Allwood A. C., Walter M. R., Burch I. W. and Kamber B. S. (2007) 3.43 billion-year-old stromatolite reef from the Pilbara Craton of Western Australia: Ecosystem-scale insights to early life on Earth. *Precambrian Research* **158**, 198–227.
- Allwood A. C., Walter M. R., Kamber B. S., Marshall C. P. and Burch I. W. (2006) Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia. *Nature* **441**, 714–718.
- Amann R. et Fuchs B. M. (2008) Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques. *Nature Reviews Microbiology* **6**, 339–348.
- Aminot A. et Kérouel R. (2004) *Hydrologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses*. Ifremer.,
- Andres M. S. et Reid R. P. (2006) Growth morphologies of modern marine stromatolites: A case study from Highborne Cay, Bahamas. *Sediment. Geol.* **185**, 319–328.
- Apothéloz-Perret-Gentil L., Holzmann M. and Pawlowski J. (2013) *Arnoldiellina fluorescens* gen. et sp. nov. – A new green autofluorescent foraminifer from the Gulf of Eilat (Israel). *European Journal of Protistology* **49**, 210–216.
- Awramik S. M. (1971) Precambrian Columnar Stromatolite Diversity: Reflection of Metazoan Appearance. *Science* **174**, 825–827.
- Awramik S. M. et Buchheim H. P. (2009) A giant, late archaean lake system: the meentheena member (tumbiana formation; fortescue group), Western Australia. *Precambrian Research* **174**, 215–240.
- Awramik S. and Margulis L. (1974) Definition of stromatolite: Stromatolite Newsletter (unpublished), v. 2.
- Axelsson L. (1988) Changes in pH as a measure of photosynthesis by marine macroalgae. *Marine Biology* **97**, 287–294.

- Bahniuk A., McKenzie J. A., Perri E., Bontognali T. R. R., Vögeli N., Rezende C. E., Rangel T. P. and Vasconcelos C. (2015) Characterization of environmental conditions during microbial Mg-carbonate precipitation and early diagenetic dolomite crust formation: Brejo do Espinho, Rio de Janeiro, Brazil. *Geological Society, London, Special Publications* **418**, 243–259.
- Barbin V. (2000) Cathodoluminescence of carbonate shells: biochemical vs diagenetic process. In *Cathodoluminescence in geosciences* Springer. pp. 303–329.
- Baumgartner R. J., Van Kranendonk M. J., Pagès A., Fiorentini M. L., Wacey D. and Ryan C. (2020) Accumulation of transition metals and metalloids in sulfidized stromatolites of the 3.48 billion-year-old Dresser Formation, Pilbara Craton. *Precambrian Research* **337**, 105534.
- Beck E. et Scheibe R. (2003) Senescence and ageing in plants and cyanobacteria. *Physiologia Plantarum* **119**, 1–4.
- Beck W. C., Grossman E. L. and Morse J. W. (2005) Experimental studies of oxygen isotope fractionation in the carbonic acid system at 15, 25, and 40 C. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69**, 3493–3503.
- Beeler S. R., Gomez F. J. and Bradley A. S. (2020) Controls of extreme isotopic enrichment in modern microbialites and associated abiogenic carbonates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **269**, 136–149.
- Belilla J., Iniesto M., Moreira D., Benzerara K., Gérard E., López-García J. M., Kotopoulou E. and López-García P. (2022) Active Microbial Airborne Dispersal and Biomorphs as Confounding Factors for Life Detection in the Cell-Degrading Brines of the Polyextreme Dallol Geothermal Field ed. D. R. Lovley. *mBio* **13**, e00307-22.
- Belilla J., Iniesto M., Moreira D., Benzerara K., López-García J. M., López-Archilla A. I., Reboul G., Deschamps P., Gérard E. and López-García P. (2021) Archaeal overdominance close to life-limiting conditions in geothermally influenced hypersaline lakes at the Danakil Depression, Ethiopia. *Environmental Microbiology* **23**, 7168–7182.
- Bemis B. E., Spero H. J., Bijma J. and Lea D. W. (1998) Reevaluation of the oxygen isotopic composition of planktonic foraminifera: Experimental results and revised paleotemperature equations. *Paleoceanography* **13**, 150–160.
- Benzerara K., Couradeau E., Gérard E., Tavera R., Lopez-Archilla A. I., Moreira D. and Lopez-Garcia P. (2014) Geomicrobiological study of modern microbialites from Mexico: towards a better understanding of the ancient fossil record eds. M. Ollivier and M.-C. Maurel. *BIO Web of Conferences* **2**, 02002.
- Berner R. A. (1975) The role of magnesium in the crystal growth of calcite and aragonite from sea water. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **39**, 489.
- Billi D., Viaggiu E., Cockell C. S., Rabbow E., Horneck G. and Onofri S. (2011) Damage Escape and Repair in Dried *Chroococcidiopsis* spp. from Hot and Cold Deserts Exposed to Simulated Space and Martian Conditions. *Astrobiology* **11**, 65–73.

- Billinton N. and Knight A. W. (2001) Seeing the wood through the trees: a review of techniques for distinguishing green fluorescent protein from endogenous autofluorescence. *Analytical biochemistry* **291**, 175–197.
- Birgel D., Meister P., Lundberg R., Horath T. D., Bontognali T. R. R., Bahniuk A. M., de Rezende C. E., Vasconcelos C. and McKenzie J. A. (2015) Methanogenesis produces strong  $^{13}\text{C}$  enrichment in stromatolites of Lagoa Salgada, Brazil: a modern analogue for Palaeo-/Neoproterozoic stromatolites? *Geobiology* **13**, 245–266.
- Black M. et Jones O. T. (1932) VI. The algal sediments of Andros Island, Bahamas. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character* **222**, 165–192.
- von Blanckenburg F., Mamberti M., Schoenberg R., Kamber B. S. and Webb G. E. (2008) The iron isotope composition of microbial carbonate. *Chemical Geology* **249**, 113–128.
- Blanco A., Orofino V., Mancarella F., Fonti S., Mastandrea A., Guido A., Tosti F. and Russo F. (2014a) Microbialites vs detrital micrites: degree of biogenicity, parameter suitable for Mars analogues. *Planetary and Space Science* **97**, 34–42.
- Blanco A., D'Elia M., Orofino V., Mancarella F., Fonti S., Mastandrea A., Guido A., Tosti F. and Russo F. (2014b) Microbialites vs detrital micrites: Degree of biogenicity, parameter suitable for Mars analogues. *Planetary and Space Science* **97**, 34–42.
- Boggs S. et Krinsley D. (2006) *Application of Cathodoluminescence Imaging to the Study of Sedimentary Rocks.*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Bolhar R. and Van Kranendonk M. J. (2007) A non-marine depositional setting for the northern Fortescue Group, Pilbara Craton, inferred from trace element geochemistry of stromatolitic carbonates. *Precambrian Research* **155**, 229–250.
- Buongiorno, J., Gomez, F. J., Fike, D. A., & Kah, L. C. (2019). Mineralized microbialites as archives of environmental evolution, Laguna Negra, Catamarca Province, Argentina. *Geobiology* **17**(2), 199-222.
- Bono P., Gonfiantini R., Alessio M., Fiori C. and D'Amelio L. (2005) Stable isotopes ( $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^2\text{H}$ ) and tritium in precipitation: Results and comparison with groundwater perched aquifers in central Italy. *International Atomic Energy Agency-TECDOC-1453*, IAEA, Vienna, 115–124.
- Boros E. et Kolpakova M. (2018) A review of the defining chemical properties of soda lakes and pans: An assessment on a large geographic scale of Eurasian inland saline surface waters. *PLOS ONE* **13**, e0202205.
- Bourillot R., Vennin E., Dupraz C., Pace A., Foubert A., Rouchy J.-M., Patrier P., Blanc P., Bernard D., Lesseur J. and Visscher P. T. (2020) The Record of Environmental and Microbial Signatures in Ancient Microbialites: The Terminal Carbonate Complex from the Neogene Basins of Southeastern Spain. *Minerals* **10**, 276.

- Bourillot R., Vennin E., Rouchy J.-M., Durllet C., Rommevaux V., Kolodka C. and Knap F. (2010) Structure and evolution of a Messinian mixed carbonate-siliciclastic platform: the role of evaporites (Sorbas Basin, South-east Spain). *Sedimentology* **57**, 477–512.
- Bouton A. (2016) Facteurs de contrôle extrinsèques des dépôts microbiens récents en domaine de transition continental-marin. These de doctorat, Dijon.
- Bouton A., Vennin E., Pace A., Bourillot R., Dupraz C., Thomazo C., Brayard A., Désaubliaux G. and Visscher P. T. (2016) External controls on the distribution, fabrics and mineralization of modern microbial mats in a coastal hypersaline lagoon, Cayo Coco (Cuba). *Sedimentology* **63**, 972–1016.
- Brady A. L., Slater G. F., Omelon C. R., Southam G., Druschel G., Andersen D. T., Hawes I., Laval B. and Lim D. S. S. (2010) Photosynthetic isotope biosignatures in laminated micro-stromatolitic and non-laminated nodules associated with modern, freshwater microbialites in Pavilion Lake, B.C. *Chemical Geology* **274**, 56–67.
- Braga J. C., Martin J. M. and Riding R. (1995) Controls on Microbial Dome Fabric Development along a Carbonate-Siliciclastic Shelf-Basin Transect, Miocene, SE Spain. *PALAIOS* **10**, 347.
- Braissant O., Decho A. W., Przekop K. M., Gallagher K. L., Glunk C., Dupraz C. and Visscher P. T. (2009) Characteristics and turnover of exopolymeric substances in a hypersaline microbial mat. *FEMS microbiology ecology* **67**, 293–307.
- Brečević L. and Nielsen A. E. (1989) Solubility of amorphous calcium carbonate. *Journal of Crystal Growth* **98**, 504–510.
- Briand F. (2008) The Messinian Salinity Crisis from mega-deposits to microbiology—A consensus report. In CIESM Workshop monographs.
- Brown C. T., Hug L. A., Thomas B. C., Sharon I., Castelle C. J., Singh A., Wilkins M. J., Wrighton K. C., Williams K. H. and Banfield J. F. (2015) Unusual biology across a group comprising more than 15% of domain Bacteria. *Nature* **523**, 208–211.
- Brunet F. (2004) Variation de la signature isotopique du  $\delta^{13}\text{C}$  du carbone inorganique dissous dans les rivières et les fleuves. Géochimie, Université Paul Sabatier - Toulouse III.
- Budd D. A., Hammes U. and Ward W. B. (2000) Cathodoluminescence in calcite cements: new insights on Pb and Zn sensitizing, Mn activation, and Fe quenching at low trace-element concentrations. *Journal of Sedimentary Research* **70**, 217–226.
- Burne R. V. et Moore L. S. (1987) Microbialites: organosedimentary deposits of benthic microbial communities. *Palaios*, 241–254.
- Burne R. V., Moore L. S., Christy A. G., Troitzsch U., King P. L., Carnerup A. M. and Hamilton P. J. (2014) Stevensite in the modern thrombolites of Lake Clifton, Western Australia: A missing link in microbialite mineralization? *Geology* **42**, 575–578.

- Burns B. P., Goh F., Allen M. and Neilan B. A. (2004) Microbial diversity of extant stromatolites in the hypersaline marine environment of Shark Bay, Australia. *Environmental Microbiology* **6**, 1096–1101.
- Byerly G. R., Lower D. R. and Walsh M. M. (1986) Stromatolites from the 3,300–3,500-Myr Swaziland Supergroup, Barberton Mountain Land, South Africa. *Nature* **319**, 489–491.
- Cady S. L., Farmer J. D., Grotzinger J. P., Schopf J. W. and Steele A. (2003) Morphological Biosignatures and the Search for Life on Mars. *Astrobiology* **3**, 351–368.
- Callefo F., Maldanis L., Teixeira V. C., Abans R. A. de O., Monfredini T., Rodrigues F. and Galante D. (2019) Evaluating Biogenicity on the Geological Record With Synchrotron-Based Techniques. *Front. Microbiol.* **10**, 2358.
- Callefo F., Ricardi-Branco F., Alves Forancelli Pacheco M. L., Cardoso A. R., Noffke N., de Carvalho Teixeira V., Neckel I. T., Maldanis L., Bullock E., Bower D., Moreira Silva A., Ferreira Sanchez D., Rodrigues F. and Galante D. (2022) Evidence for metabolic diversity in Meso-Neoproterozoic stromatolites (Vazante Group, Brazil). *Front. Earth Sci.* **10**, 804194.
- Canfield D. E. et Farquhar J. (2009) Animal evolution, bioturbation, and the sulfate concentration of the oceans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 8123–8127.
- Carignan J., Hild P., Mevelle G., Morel J. and Yeghicheyan D. (2001) Routine Analyses of Trace Elements in Geological Samples using Flow Injection and Low Pressure On-Line Liquid Chromatography Coupled to ICP-MS: A Study of Geochemical Reference Materials BR, DR-N, UB-N, AN-G and GH. *Geostandards Newsletter* **25**, 187–198.
- Carpenter E. J., Chang J. and Shapiro L. P. (1991) Green and blue fluorescing dinoflagellates in Bahamian waters. *Mar. Biol.* **108**, 145–149.
- Carvalho C., Oliveira M. I. N., Macario K., Guimarães R. B., Keim C. N., Sabadini-Santos E. and Crapez M. A. C. (2018) Stromatolite Growth in Lagoa Vermelha, Southeastern Coast of Brazil: Evidence of Environmental Changes. *Radiocarbon* **60**, 383–393.
- Casaburi G., Duscher A. A., Reid R. P. and Foster J. S. (2016) Characterization of the stromatolite microbiome from Little Darby Island, The Bahamas using predictive and whole shotgun metagenomic analysis. *Environmental microbiology* **18**, 1452–1469.
- Castro-Contreras S. I., Gingras M. K., Pecoits E., Aubet N. R., Petrash D., Castro-Contreras S. M., Dick G., Planavsky N. and Konhauser K. O. (2014) Textural and geochemical features of freshwater microbialites from Laguna Bacalar, Quintana Roo, Mexico. *Palaios* **29**, 192–209.
- Chagas A. A. P., Webb G. E., Burne R. V. and Southam G. (2016) Modern lacustrine microbialites: Towards a synthesis of aqueous and carbonate geochemistry and mineralogy. *Earth-Science Reviews* **162**, 338–363.

- Chen X., Yu C., Kang R. and Tang D. (2020) Iron metabolism in ferroptosis. *Frontiers in cell and developmental biology* **8**, 590226.
- Chen Z.-Q., Wang Y., Kershaw S., Luo M., Yang H., Zhao L., Feng Y., Chen J., Yang L. and Zhang L. (2014) Early Triassic stromatolites in a siliciclastic nearshore setting in northern Perth Basin, Western Australia: Geobiologic features and implications for post-extinction microbial proliferation. *Global and Planetary Change* **121**, 89–100.
- Clark I. D. et Fritz P. (2013) *Environmental isotopes in hydrogeology.*, CRC press.
- Coleman A. W. (1988) The Autofluorescent Flagellum: A New Phylogenetic Enigma1. *Journal of Phycology* **24**, 118–120.
- Corkeron M., Webb G. E., Moulds J. and Grey K. (2012) Discriminating stromatolite formation modes using rare earth element geochemistry: Trapping and binding versus in situ precipitation of stromatolites from the Neoproterozoic Bitter Springs Formation, Northern Territory, Australia. *Precambrian Research* **212–213**, 194–206.
- Cornée J.-J., Maillard A., Conesa G., Garcia F., Saint Martin J.-P., Sage F. and Münch P. (2008) Onshore to offshore reconstruction of the Messinian erosion surface in Western Sardinia, Italy: Implications for the Messinian salinity crisis. *Sedimentary Geology* **210**, 48–60.
- Couradeau E. (2012) Géomicrobiologie des microbialites du lac Alcalin d'Alchichica (Mexique). These de doctorat, Paris 7.
- Couradeau E., Benzerara K., Gérard E., Estève I., Moreira D., Tavera R. and López-García P. (2013) Cyanobacterial calcification in modern microbialites at the submicrometer scale. *Biogeosciences* **10**, 5255–5266.
- Couradeau E., Benzerara K., Gérard E., Moreira D., Bernard S., Brown Jr G. E. and López-García P. (2012) An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates. *Science* **336**, 459–462.
- Couradeau E., Benzerara K., Moreira D., Gerard E., Kaźmierczak J., Tavera R. and López-García P. (2011) Prokaryotic and eukaryotic community structure in field and cultured microbialites from the alkaline Lake Alchichica (Mexico). *PloS one* **6**, e28767.
- Craig H. and Gordon L. I. (1965) Deuterium and oxygen 18 variations in the ocean and the marine atmosphere.
- Daëron M., Drysdale R. N., Peral M., Huyghe D., Blamart D., Coplen T. B., Lartaud F. and Zanchetta G. (2019) Most Earth-surface calcites precipitate out of isotopic equilibrium. *Nature communications* **10**, 1–7.
- D'amore F. et Panichi C. (1985) Geochemistry in geothermal exploration. *Int. J. Energy Res.* **9**, 277–298.

- Dartnell L. R., Storrie-Lombardi M. C., Mullineaux C. W., Ruban A. V., Wright G., Griffiths A. D., Muller J.-P. and Ward J. M. (2011) Degradation of cyanobacterial biosignatures by ionizing radiation. *Astrobiology* **11**, 997–1016.
- Davaud E., Strasser A. and Jedoui Y. (1994) Stromatolite and serpulid bioherms in a Holocene restricted lagoon (Sabkha El Melah, southeastern Tunisia). In *Phanerozoic stromatolites II* Springer. pp. 131–151.
- De Wever A. (2019) Étude de la biominéralisation de carbonates intracellulaires et de silicates de magnésium hydratés dans des environnements lacustres alcalins. These de doctorat, Sorbonne université.
- Debie J., Prêt D., Menguy N., Estève I., Sans-Jofre P., Martin J. P. S. and Benzerara K. (2022) Mapping mineralogical heterogeneities at the nm-scale by scanning electron microscopy in modern Sardinian stromatolites: Deciphering the origin of their laminations. *Chemical Geology*, 121059.
- Decho A. W. (1990) Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role (s) in food webs and marine processes. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev* **28**, 73–153.
- Decho A. W., Visscher P. T. and Reid R. P. (2005) Production and cycling of natural microbial exopolymers (EPS) within a marine stromatolite. In *Geobiology: objectives, concepts, perspectives* Elsevier. pp. 71–86.
- Deines P., Langmuir D. and Harmon R. S. (1974) Stable carbon isotope ratios and the existence of a gas phase in the evolution of carbonate ground waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **38**, 1147–1164.
- Dela Pierre F., Clari P., Bernardi E., Natalicchio M., Costa E., Cavagna S., Lozar F., Lugli S., Manzi V., Roveri M. and Violanti D. (2012) Messinian carbonate-rich beds of the Tertiary Piedmont Basin (NW Italy): Microbially-mediated products straddling the onset of the salinity crisis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **344–345**, 78–93.
- DeMott L. M., Napieralski S. A., Junium C. K., Teece M. and Scholz C. A. (2020) Microbially influenced lacustrine carbonates: A comparison of Late Quaternary Lahontan tufa and modern thrombolite from Fayetteville Green Lake, NY. *Geobiology* **18**, 93–112.
- Denver L. E. et Kaesler R. L. (1992) Paleoenvironmental significance of stromatolites in the Americus Limestone Member (Lower Permian, Midcontinent, USA).
- Des Marais D. J., Nuth J. A., Allamandola L. J., Boss A. P., Farmer J. D., Hoehler T. M., Jakosky B. M., Meadows V. S., Pohorille A., Runnegar B. and Spormann A. M. (2008) The NASA Astrobiology Roadmap. *Astrobiology* **8**, 715–730.
- Diem D. et Stumm W. (1984) Is dissolved Mn<sup>2+</sup> being oxidized by O<sub>2</sub> in absence of Mn-bacteria or surface catalysts? *Geochimica et Cosmochimica Acta* **48**, 1571–1573.

- Dreybrodt W. et Deiningner M. (2014) The impact of evaporation to the isotope composition of DIC in calcite precipitating water films in equilibrium and kinetic fractionation models. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **125**, 433–439.
- Duerden J. E. (1902) Boring algae as agents in the disintegration of corals. *Bulletin of the AMNH*; v. 16, article 25.
- Dulinski M. et Rozanski K. (1990) Formation of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  Isotope Ratios in Speleothems: A Semi-Dynamic Model. *Radiocarbon* **32**, 7–16.
- Dupraz C., Fowler A., Tobias C. and Visscher P. T. (2013) Stromatolitic knobs in Storr's Lake (San Salvador, Bahamas): a model system for formation and alteration of laminae. *Geobiology* **11**, 527–548.
- Dupraz C., Reid R. P., Braissant O., Decho A. W., Norman R. S. and Visscher P. T. (2009) Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats. *Earth-Science Reviews* **96**, 141–162.
- Dupraz C., Reid R. and Visscher P. (2011) Microbialites, Modern. In *Encyclopedia of EarthschopfSciences Series* pp. 617–635.
- Dupraz C. et Visscher P. T. (2005) Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends in Microbiology* **13**, 429–438.
- Eiler J. M. (2011) Paleoclimate reconstruction using carbonate clumped isotope thermometry. *Quaternary Science Reviews* **30**, 3575–3588.
- Elbrächter M. (1994) Green autofluorescence — a new taxonomic feature for living dinoflagellate cysts and vegetative cells. *Review of Palaeobotany and Palynology* **84**, 101–105.
- Emrich K., Ehhalt D. H. and Vogel J. C. (1970) Carbon isotope fractionation during the precipitation of calcium carbonate. *Earth and Planetary Science Letters* **8**, 363–371.
- Eymard I., Alvarez M., Bilmes A., Vasconcelos C. and Ariztegui D. (2020) Tracking Organomineralization Processes from Living Microbial Mats to Fossil Microbialites. *Minerals* **10**, 605.
- Fairchild I. J. (1983) Chemical controls of cathodoluminescence of natural dolomites and calcites: new data and review. *Sedimentology* **30**, 579–583.
- Falkowski P. G. et Raven J. A. (2013) *Aquatic photosynthesis.*, Princeton University Press.
- Farias M. E., Contreras M., Rasuk M. C., Kurth D., Flores M. R., Poire D. G., Novoa F. and Visscher P. T. (2014) Characterization of bacterial diversity associated with microbial mats, gypsum evaporites and carbonate microbialites in thalassic wetlands: Tebenquiche and La Brava, Salar de Atacama, Chile. *Extremophiles* **18**, 311–329.
- Farquhar J., Zerkle A. L. and Bekker A. (2011) Geological constraints on the origin of oxygenic photosynthesis. *Photosynth Res* **107**, 11–36.

- Faure G. (1977) Principles of isotope geology.
- Feldmann M. et McKenzie J. (1997) Messinian stromatolite-thrombolite associations, Santa Pola, SE Spain: an analogue for the Palaeozoic? *Sedimentology* **44**, 893–914.
- Fischer A. G. (1965) Fossils, early life, and atmospheric history. *Proc Natl Acad Sci U S A* **53**, 1205–1215.
- Folk R. L. et Siedlecka A. (1974) The “schizohaline” environment: Its sedimentary and diagenetic fabrics as exemplified by Late Paleozoic rocks of Bear Island, Svalbard. *Sedimentary Geology* **11**, 1–15.
- Frank J. R., Carpenter A. B. and Oglesby T. W. (1982) Cathodoluminescence and composition of calcite cement in the Taum Sauk Limestone (Upper Cambrian), Southeast Missouri. *Journal of Sedimentary Research* **52**, 631–638.
- Franklin D. J., Airs R. L., Fernandes M., Bell T. G., Bongaerts R. J., Berges J. A. and Malin G. (2012) Identification of senescence and death in *Emiliana huxleyi* and *Thalassiosira pseudonana*: Cell staining, chlorophyll alterations, and dimethylsulfoniopropionate (DMSP) metabolism. *Limnology and Oceanography* **57**, 305–317.
- Frantz C. M., Petryshyn V. A., Marenco P. J., Tripathi A., Berelson W. M. and Corsetti F. A. (2014) Dramatic local environmental change during the Early Eocene Climatic Optimum detected using high resolution chemical analyses of Green River Formation stromatolites. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **405**, 1–15.
- Fukushi K. et Matsumiya H. (2018) Control of Water Chemistry in Alkaline Lakes: Solubility of Monohydrocalcite and Amorphous Magnesium Carbonate in  $\text{CaCl}_2$ – $\text{MgCl}_2$ – $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Solutions. *ACS Earth Space Chem.* **2**, 735–744.
- Fukushi K., Munemoto T., Sakai M. and Yagi S. (2011) Monohydrocalcite: a promising remediation material for hazardous anions. *Sci. Technol. Adv. Mater.* **12**, 064702.
- Gaboreau S., Prêt D., Montouillout V., Henocq P., Robinet J.-C. and Tournassat C. (2017) Quantitative mineralogical mapping of hydrated low pH concrete. *Cement and Concrete Composites* **83**, 360–373.
- Gac J. Y., Droubi A., Fritz B. and Tardy Y. (1977) Geochemical behaviour of silica and magnesium during the evaporation of waters in Chad. *Chemical Geology* **19**, 215–228.
- Gaft M., Reisfeld R. and Panczer G. (2005) *Luminescence spectroscopy of Minerals and Materials*. Springer., Berlin Heidelberg.
- Gallagher K. L. (2012) *The Role of Sulfate-reducing Bacteria in Organomineralization and Microbialite Formation: Mechanisms of Mineral Precipitation.*, University of Connecticut.
- Gallagher K. L., Dupraz C., Braissant O., Norman R. S., Decho A. W. and Visscher P. T. (2010) Mineralization of Sedimentary Biofilms: Modern Mechanistic Insights, in. In *Biofilms: Formation Development and Properties*

- Garrett P. (1970) Phanerozoic Stromatolites: Noncompetitive Ecologic Restriction by Grazing and Burrowing Animals. *Science* **169**, 171–173.
- Gat J. R. (1996) Oxygen and hydrogen isotopes in the hydrologic cycle. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **24**, 225–262.
- Gérard E., De Goeyse S., Hugoni M., Agogué H., Richard L., Milesi V., Guyot F., Lecourt L., Borensztajn S., Joseph M.-B., Leclerc T., Sarazin G., Jézéquel D., Leboulanger C. and Ader M. (2018) Key Role of Alphaproteobacteria and Cyanobacteria in the Formation of Stromatolites of Lake Dziani Dzaha (Mayotte, Western Indian Ocean). *Front. Microbiol.* **9**.
- Gérard E., Ménez B., Couradeau E., Moreira D., Benzerara K., Tavera R. and López-García P. (2013) Specific carbonate–microbe interactions in the modern microbialites of Lake Alchichica (Mexico). *The ISME Journal* **7**, 1997–2009.
- Gerdes G. et Krumbein W. (1994) Peritidal potential stromatolites—a synopsis. In *Phanerozoic stromatolites II* Springer. pp. 101–129.
- Gies H. (1975) Activation possibilities and geochemical correlations of photoluminescing carbonates, particularly calcites. *Mineralium Deposita* **10**, 216–227.
- Giustini F., Brillì M. and Patera A. (2016) Mapping oxygen stable isotopes of precipitation in Italy. *Journal of Hydrology: Regional Studies* **8**, 162–181.
- Glunk C., Dupraz C., Braissant O., Gallagher K. L., Verrecchia E. P. and Visscher P. T. (2011) Microbially mediated carbonate precipitation in a hypersaline lake, Big Pond (Eleuthera, Bahamas). *Sedimentology* **58**, 720–736.
- Goh F., Allen M. A., Leuko S., Kawaguchi T., Decho A. W., Burns B. P. and Neilan B. A. (2009) Determining the specific microbial populations and their spatial distribution within the stromatolite ecosystem of Shark Bay. *ISME J* **3**, 383–396.
- Gomez F. J., Mlewski C., Boidi F. J., Farías M. E. and Gérard E. (2018) Calcium Carbonate Precipitation in Diatom-rich Microbial Mats: The Laguna Negra Hypersaline Lake, Catamarca, Argentina. *Journal of Sedimentary Research* **88**, 727–742.
- Görge S., Benzerara K., Skouri-Panet F., Gugger M., Chauvat F. and Cassier-Chauvat C. (2021) The diversity of molecular mechanisms of carbonate biomineralization by bacteria. *Discov Mater* **1**, 2.
- Götte T. et Richter D. K. (2009) Quantitative aspects of Mn-activated cathodoluminescence of natural and synthetic aragonite. *Sedimentology* **56**, 483–492.
- Götze J. (2012) Application of Cathodoluminescence Microscopy and Spectroscopy in Geosciences. *Microsc Microanal* **18**, 1270–1284.
- Graham S. et Keulen N. (2019) Nanoscale Automated Quantitative Mineralogy: A 200-nm Quantitative Mineralogy Assessment of Fault Gouge Using Mineralogic. *Minerals* **9**, 665.

- Grey K., Moore L., Burne R., Pierson B. and Bauld J. (1990) Lake Thetis, Western Australia: and example of saline lake sedimentation dominated by benthic microbial processes. *Marine and Freshwater Research* **41**, 275–300.
- Grossman E. L. (1997) Stable carbon isotopes as indicators of microbial activity in aquifers. , 565–576.
- Grotzinger J. P. (1990) Geochemical model for Proterozoic stromatolite decline. *American Journal of Science* **290**, 80–103.
- Grotzinger J. P. et Knoll A. H. (1999) Stromatolites in Precambrian carbonates: evolutionary mileposts or environmental dipsticks? *Annual review of earth and planetary sciences* **27**, 313–358.
- Guido A., Kershaw S., Russo F., Miriello D. and Mastandrea A. (2019) Application of raman spectroscopy in comparison between cryptic microbialites of recent marine caves and triassic patch reefs. *PALAIOS* **34**, 393–403.
- Guido A., Mastandrea A. and Russo F. (2013) Biotic vs abiotic carbonates: characterisation of the fossil organic matter with Fourier-Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. *Bollettino della Societ a Paleontologica Italiana* **52**, 63–70.
- Guido A., Vescogni A., Mastandrea A., Demasi F., Tosti F., Naccarato A., Tagarelli A. and Russo F. (2012) Characterization of the micrites in the Late Miocene vermetid carbonate bioconstructions, Salento Peninsula, Italy: Record of a microbial/metazoan association. *Sedimentary Geology* **263–264**, 133–143.
- Haberlah D., Loehr S., Kennedy M., Debenham N. and Lattanzi D. (2015) Innovative Sub-Micron SEM-EDS Mineral Mapping and Analysis Applied to Australian Shale Samples. In *International Conference and Exhibition, Melbourne, Australia 13-16 September 2015* International Conference and Exhibition, Melbourne, Australia 13-16 September 2015. Society of Exploration Geophysicists and American Association of Petroleum Geologists, Melbourne, Australia. pp. 419–419.
- Habermann D., Neuser R. D. and Richter D. K. (1996) REE-activated cathodoluminescence of calcite and dolomite: high-resolution spectrometric analysis of CL emission (HRS-CL). *Sedimentary Geology* **101**, 1–7.
- Handley K. M., Turner S. J., Campbell K. A. and Mountain B. W. (2008) Silicifying Biofilm Exopolymers on a Hot-Spring Microstromatolite: Templating Nanometer-Thick Laminae. *Astrobiology* **8**, 747–770.
- Hao, Y., Yongbiao, W., & Lin, C. (2008). Occurrence of organic matter in calcimicrobialites across Permian–Triassic boundary in Huayingshan region, Sichuan, South China. *Journal of China University of Geosciences* **19**, 518-525.
- Hardie L. A. and Eugster H. P. (1970) The evolution of closed-basin brines. *Mineral.Soc.Amer.Spec* **3**, 273–290.

- Hélie J.-F., Hillaire-Marcel C. and Rondeau B. (2002) Seasonal changes in the sources and fluxes of dissolved inorganic carbon through the St. Lawrence River— isotopic and chemical constraint. *Chemical Geology* **186**, 117–138.
- Hemming N. G., Meyers W. J. and Grams J. C. (1989) Cathodoluminescence in diagenetic calcites; the roles of Fe and Mn as deduced from electron probe and spectrophotometric measurements. *Journal of sedimentary research* **59**, 404–411.
- Hense B. A., Gais P., Jütting U., Scherb H. and Rodenacker K. (2008) Use of fluorescence information for automated phytoplankton investigation by image analysis. *Journal of Plankton Research* **30**, 587–606.
- Hess W. R., Partensky F., van der Staay G. W., Garcia-Fernandez J. M., Börner T. and Vault D. (1996) Coexistence of phycoerythrin and a chlorophyll a/b antenna in a marine prokaryote. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**, 11126–11130.
- Hiatt E. and Pufahl P. (2014) Cathodoluminescence petrography of carbonate rocks: a review of applications for understanding diagenesis, reservoir quality and pore system evolution. *Short Course* **45**, 75–96.
- Hoffman P. (1976) Chapter 10.7 Environmental Diversity of Middle Precambrian Stromatolites. In *Developments in Sedimentology* (ed. M. R. Walter). Stromatolites. Elsevier. pp. 599–611.
- Hörtensteiner S. (2006) Chlorophyll Degradation During Senescence. *Annual Review of Plant Biology* **57**, 55–77.
- Horton T. W., Defliese W. F., Tripathi A. K. and Oze C. (2016) Evaporation induced <sup>18</sup>O and <sup>13</sup>C enrichment in lake systems: A global perspective on hydrologic balance effects. *Quaternary Science Reviews* **131**, 365–379.
- Hudson A. M., Quade J., Ali G., Boyle D., Bassett S., Huntington K. W., Marie G., Cohen A. S., Lin K. and Wang X. (2017) Stable C, O and clumped isotope systematics and <sup>14</sup>C geochronology of carbonates from the Quaternary Chewaucan closed-basin lake system, Great Basin, USA: Implications for paleoenvironmental reconstructions using carbonates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **212**, 274–302.
- Hug L. A., Baker B. J., Anantharaman K., Brown C. T., Probst A. J., Castelle C. J., Butterfield C. N., HERNSDORF A. W., AMANO Y. and ISE K. (2016) A new view of the tree of life. *Nature microbiology* **1**, 1–6.
- Ibarra Y., Corsetti F. A., Cheetham M. I. and Feakins S. J. (2014) Were fossil spring-associated carbonates near Zaca Lake, Santa Barbara, California deposited under an ambient or thermal regime? *Sedimentary Geology* **301**, 15–25.
- Ingalls A. E., Lee C. and Druffel E. R. M. (2003) Preservation of organic matter in mound-forming coral skeletons. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**, 2827–2841.

- Iniesto M., Moreira D., Reboul G., Deschamps P., Benzerara K., Bertolino P., Saghai A., Tavera R. and López-García P. (2021a) Core microbial communities of lacustrine microbialites sampled along an alkalinity gradient. *Environ Microbiol* **23**, 51–68.
- Iniesto M., Moreira D., Benzerara K., Muller E., Bertolino P., Tavera R. and López-García P. (2021b) Rapid formation of mature microbialites in Lake Alchichica, Mexico. *Environ Microbiol Rep* **13**, 600–605.
- Ionescu D., Spitzer S., Reimer A., Schneider D., Daniel R., Reitner J., de Beer D. and Arp G. (2015) Calcium dynamics in microbialite-forming exopolymer-rich mats on the atoll of Kiritimati, Republic of Kiribati, Central Pacific. *Geobiology* **13**, 170–180.
- Ito E. (2002) Application of Stable Isotope Techniques to Inorganic and Biogenic Carbonates. In *Tracking environmental change using lake sediments* Springer. pp. 351–371.
- Jahnert R. J. et Collins L. B. (2012) Characteristics, distribution and morphogenesis of subtidal microbial systems in Shark Bay, Australia. *Marine Geology* **303–306**, 115–136.
- Jenkins R. (1995) *Quantitative X-ray spectrometry.*, CRC Press.
- Johnson D., Beddows P., Flynn T. and Osburn M. (2018) Microbial diversity and biomarker analysis of modern freshwater microbialites from Laguna Bacalar, Mexico. *Geobiology* **16**, 319–337.
- Joseph R. G., Dass R. S., Rizzo V., Cantasano N. and Bianciardi G. (2019) Evidence of Life on Mars? *Journal of Astrobiology and Space Science Reviews* **1**, 40–81.
- Kalkowsky E. (1908) Oolith und Stromatolith im norddeutschen Buntsandstein. *Zeitschrift der deutschen geologischen Gesellschaft*, 68–125.
- Karolytè R., Serno S., Johnson G. and Gilfillan S. M. V. (2017) The influence of oxygen isotope exchange between CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O in natural CO<sub>2</sub>-rich spring waters: Implications for geothermometry. *Applied Geochemistry* **84**, 173–186.
- Kawaguchi T. and Decho A. W. (2002) In Situ Microspatial Imaging Using Two-Photon and Confocal Laser Scanning Microscopy of Bacteria and Extracellular Polymeric Secretions (EPS) Within Marine Stromatolites. *Marine Biotechnology* **4**, 127–131.
- Kawai H. (1988) A Flavin-Like Autofluorescent Substance in the Posterior Flagellum of Golden and Brown Algae. *Journal of Phycology* **24**, 114–117.
- Kellermeier M., Picker A., Kempter A., Cölfen H. and Gebauer D. (2014) A Straightforward Treatment of Activity in Aqueous CaCO<sub>3</sub> Solutions and the Consequences for Nucleation Theory. *Adv. Mater.* **26**, 752–757.
- Kempe S. et Kazmierczak J. (1994) “The role of alkalinity in the evolution of ocean chemistry, organization of living systems, and biocalcification processes.” (*Bulletin de l’Institut océanographique (Monaco)* **NS13**, 61–117.

- Kempe S. et Kaźmierczak J. (1993) Satonda Crater Lake, Indonesia: Hydrogeochemistry and biocarbonates. *Facies* **28**, 1–31.
- Kim S.-T. et O’Neil J. R. (1997) Equilibrium and nonequilibrium oxygen isotope effects in synthetic carbonates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **61**, 3461–3475.
- Kobluk D. R. and Risk M. J. (1977) Calcification of exposed filaments of endolithic algae, micrite envelope formation and sediment production. *Journal of Sedimentary Research* **47**, 517–528.
- Labuhn I., Tell F., von Grafenstein U., Hammarlund D., Kuhnert H. and Minster B. (2022) A modern snapshot of the isotopic composition of lacustrine biogenic carbonates – records of seasonal water temperature variability. *Biogeosciences* **19**, 2759–2777.
- Leavitt P. R. (1993) A review of factors that regulate carotenoid and chlorophyll deposition and fossil pigment abundance. *J Paleolimnol* **9**, 109–127.
- Leng M. J. et Marshall J. D. (2004) Palaeoclimate interpretation of stable isotope data from lake sediment archives. *Quaternary Science Reviews* **23**, 811–831.
- Lepot K., Compère P., Gérard E., Namsaraev Z., Verleyen E., Tavernier I., Hodgson D. A., Vyverman W., Gilbert B., Wilmotte A. and Javaux E. J. (2014) Organic and mineral imprints in fossil photosynthetic mats of an East Antarctic lake. *Geobiology* **12**, 424–450.
- Léveillé R. J., Longstaffe F. J. and Fyfe W. S. (2007) An isotopic and geochemical study of carbonate-clay mineralization in basaltic caves: abiotic versus microbial processes. *Geobiology* **5**, 235–249.
- Li H., Liu X., Tripathi A., Feng S., Elliott B., Whicker C., Arnold A. and Kelley A. M. (2020) Factors controlling the oxygen isotopic composition of lacustrine authigenic carbonates in Western China: implications for paleoclimate reconstructions. *Sci Rep* **10**, 16370.
- Lindsay M. R., Anderson C., Fox N., Scofield G., Allen J., Anderson E., Bueter L., Poudel S., Sutherland K., Munson-McGee J. H., Van Nostrand J. D., Zhou J., Spear J. R., Baxter B. K., Lageson D. R. and Boyd E. S. (2017) Microbialite response to an anthropogenic salinity gradient in Great Salt Lake, Utah. *Geobiology* **15**, 131–145.
- Lloyd R. M. (1968) Oxygen isotope behavior in the Sulfate-Water System. *Journal of Geophysical Research (1896-1977)* **73**, 6099–6110.
- Logan B. W. (1961) Cryptozoon and associate stromatolites from the recent, Shark Bay, Western Australia. *The Journal of Geology* **69**, 517–533.
- Long J. et Agrell S. (1965) The cathodo-luminescence of minerals in thin section. *Mineralogical magazine and journal of the Mineralogical Society* **34**, 318–326.
- Longelli A. and Selmo E. (2003) Isotopic composition of precipitation in Italy: a first overall map. *Journal of Hydrology* **270**, 75–88.

- Lowe D. R. (1994) Abiological origin of described stromatolites older than 3.2 Ga. *Geology* **22**, 387–390.
- Lowe D. R. (1983) Restricted shallow-water sedimentation of Early Archean stromatolitic and evaporitic strata of the Strelley Pool Chert, Pilbara Block, Western Australia. *Precambrian Research* **19**, 239–283.
- Lowe D. R. (1980) Stromatolites 3,400-myr old from the Archean of Western Australia. *Nature* **284**, 441–443.
- Lukas K. (1969) An investigation of the filamentous, endolithic algae in shallow-water corals from Bermuda. *Bermuda Biol. Sta. Res. Spec. Publ.*, 145–152.
- Machel H.-G. (1985) Cathodoluminescence in Calcite and Dolomite and Its Chemical Interpretation. *Geoscience Canada*.
- Macquaker J. H. S., Taylor K. G., Keller M. and Polya D. (2014) Compositional controls on early diagenetic pathways in fine-grained sedimentary rocks: Implications for predicting unconventional reservoir attributes of mudstones. *AAPG Bulletin* **98**, 587–603.
- Mahmudi-Azer S., Lacy P. and Moqbel R. (2001) Tracing Intracellular Mediator Storage and Mobilization in Eosinophils. In *Human Airway Inflammation* Humana Press, New Jersey. pp. 367–381.
- Mann C. J. and Nelson W. M. (1989) Microbialitic Structures in Storr's Lake, San Salvador Island, Bahama Islands. *PALAIOS* **4**, 287.
- Mariano AN, Mariano A and Coulson I. (2014) Cathodoluminescence as a tool in mineral exploration. *Cathodoluminescence and its application to geoscience*, 97–111.
- Marshall J. D. (1991) Cathodoluminescence of geological materials by D. J. Marshall, Unwin Hyman, 1988. No. of pages: 146. Price: £60.00 (Hardback). ISBN 004 5520267. *Geological Journal* **26**, 351–351.
- Mason R. (1987) Ion microprobe analysis of trace elements in calcite with an application to the cathodoluminescence zonation of limestone cements from the Lower Carboniferous of South Wales, UK. *Chemical Geology* **64**, 209–224.
- Mason R. A. et Mariano A. N. (1990) Cathodoluminescence activation in manganese-bearing and rare earth-bearing synthetic calcites. *Chemical Geology* **88**, 191–206.
- Mastandrea A., Barca D., Guido A., Tosti F. and Russo F. (2010) Rare earth element signatures in the Messinian pre-evaporitic Calcare di Base formation (Northern Calabria, Italy): evidence of normal seawater deposition. *Carbonates Evaporites* **25**, 133–143.
- Matile P., Hörtensteiner S. and Thomas H. (1999) Chlorophyll degradation. *Annual review of plant biology* **50**, 67–95.

- McConnaughey T. (1989)  $^{13}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}$  isotopic disequilibrium in biological carbonates: II. In vitro simulation of kinetic isotope effects. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **53**, 163–171.
- McCrea J. M. (1950) On the isotopic chemistry of carbonates and a paleotemperature scale. *The Journal of Chemical Physics* **18**, 849–857.
- McLoughlin N., Wilson L. and Brasier M. (2008) Growth of synthetic stromatolites and wrinkle structures in the absence of microbes—implications for the early fossil record. *Geobiology* **6**, 95–105.
- Meister P. (2013) Two opposing effects of sulfate reduction on carbonate precipitation in normal marine, hypersaline, and alkaline environments. *Geology* **41**, 499–502.
- Mlewski E. C., Pisapia C., Gomez F., Lecourt L., Soto Rueda E., Benzerara K., Ménez B., Borensztajn S., Jamme F., Réfrégiers M. and Gérard E. (2018) Characterization of Pustular Mats and Related Rivularia-Rich Laminations in Oncoids From the Laguna Negra Lake (Argentina). *Front. Microbiol.* **9**, 996.
- Mobberley J. M., Ortega M. C. and Foster J. S. (2012) Comparative microbial diversity analyses of modern marine thrombolitic mats by barcoded pyrosequencing. *Environmental Microbiology* **14**, 82–100.
- Mongelli G., Monni S., Oggiano G., Paternoster M. and Sinisi R. (2013) Tracing groundwater salinization processes in coastal aquifers: a hydrogeochemical and isotopic approach in the Na-Cl brackish waters of northwestern Sardinia, Italy. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* **17**, 2917–2928.
- Moore L. S. et Burne R. (1994) The modern thrombolites of Lake Clifton, western Australia. In *Phanerozoic stromatolites II* Springer. pp. 3–29.
- Moreira D., Tavera R., Benzerara K., Skouri-Panet F., Couradeau E., Gérard E., Fonta C. L., Novelo E., Zivanovic Y. and López-García P. (2017) Description of *Gloeomargarita lithophora* gen. nov., sp. nov., a thylakoid-bearing, basal-branching cyanobacterium with intracellular carbonates, and proposal for *Gloeomargaritales* ord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **67**, 653–658.
- Mucci A. (1987) Influence of temperature on the composition of magnesian calcite overgrowths precipitated from seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **51**, 1977–1984.
- Muller E., Ader M., Aloisi G., Bougeault C., Durllet C., Vennin E., Benzerara K., Gaucher E. C., Virgone A., Chavez M., Souquet P. and Gérard E. (2022) Successive Modes of Carbonate Precipitation in Microbialites along the Hydrothermal Spring of La Salsa in Laguna Pastos Grandes (Bolivian Altiplano). *Geosciences* **12**, 88.
- Müller G., Irion G. and Förstner U. (1972) Formation and Diagenesis of Inorganic Ca-Mg Carbonates. *Naturwissenschaften* **59**, 158–164.

- van Munster E. B. and Gadella T. W. J. (2005) Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM). In *Microscopy Techniques* (ed. J. Rietdorf). Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. pp. 143–175.
- Myshrall K., Mobberley J., Green S., Visscher P., Havemann S., Reid R. and Foster J. (2010) Biogeochemical cycling and microbial diversity in the thrombolitic microbialites of Highborne Cay, Bahamas. *Geobiology* **8**, 337–354.
- Nutman A. P., Bennett V. C., Friend C. R. L., Van Kranendonk M. J. and Chivas A. R. (2016) Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature* **537**, 535–538.
- O’Leary M. H. (1988) Carbon isotopes in photosynthesis. *Bioscience* **38**, 328–336.
- Orrù G. (2007) Analisi della flora residua presente nel settore Centro-Settentrionale del Campidano. Università degli studi di Cagliari.
- Osorio-Rodriguez D. and Sanchez-Quiñónez C. A. (2018) Biological and geological characterization of modern biofilms and microbial mats and comparison with similar lithified structures in Colombian Cretaceous formations. *Earth Sciences Research Journal* **22**, 159–168.
- Pace A., Bourillot R., Bouton A., Vennin E., Galaup S., Bundeleva I., Patrier P., Dupraz C., Thomazo C., Sansjofre P., Yokoyama Y., Franceschi M., Anguy Y., Pigot L., Virgone A. and Visscher P. T. (2016) Microbial and diagenetic steps leading to the mineralisation of Great Salt Lake microbialites. *Scientific Reports* **6**, 31495.
- Perri E. et Spadafora A. (2011) Evidence of Microbial Biomineralization in Modern and Ancient Stromatolites. In *STROMATOLITES: Interaction of Microbes with Sediments* (eds. V. Tewari and J. Seckbach). Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology. Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 631–649.
- Perri E. et Tucker M. (2007) Bacterial fossils and microbial dolomite in Triassic stromatolites. *Geology* **35**, 207–210.
- Petrash D. A. (2016) The trace metal content of modern and ancient peritidal and shallow subtidal dolomites: significance and systematics.
- Petrash D. A., Bialik O. M., Staudigel P. T., Konhauser K. O. and Budd D. A. (2021) Biogeochemical reappraisal of the freshwater–seawater mixing-zone diagenetic model. *Sedimentology* **68**, 1797–1830.
- Petrash D. A., Gingras M. K., Lalonde S. V., Orange F., Pecoits E. and Konhauser K. O. (2012) Dynamic controls on accretion and lithification of modern gypsum-dominated thrombolites, Los Roques, Venezuela. *Sedimentary Geology* **245–246**, 29–47.
- Petrash D. A., Lalonde S. V., González-Arismendi G., Gordon R. A., Méndez J. A., Gingras M. K. and Konhauser K. O. (2015) Can Mn–S redox cycling drive sedimentary dolomite formation? A hypothesis. *Chemical Geology* **404**, 27–40.

- Petrash D. A., Robbins L. J., Shapiro R. S., Mojzsis S. J. and Konhauser K. O. (2016) Chemical and textural overprinting of ancient stromatolites: Timing, processes, and implications for their use as paleoenvironmental proxies. *Precambrian Research* **278**, 145–160.
- Petrash D., Lalonde S., Pecoits E., Gingras M. and Konhauser K. (2010) Microbially catalyzed cementation of modern gypsum-dominated microbialites.
- Pierson B. J. (1981) The control of cathodoluminescence in dolomite by iron and manganese. *Sedimentology* **28**, 601–610.
- Pinckney J. L. and Reid R. P. (1997) Productivity and community composition of stromatolitic microbial mats in the Exuma Cays, Bahamas. *Facies* **36**, 204–207.
- Prêt D., Sammartino S., Beaufort D., Fialin M., Sardini P., Cosenza P. and Meunier A. (2010a) A new method for quantitative petrography based on image processing of chemical element maps: Part II. Semi-quantitative porosity maps superimposed on mineral maps. *American Mineralogist* **95**, 1389–1398.
- Prêt D., Sammartino S., Beaufort D., Meunier A., Fialin M. and Michot L. J. (2010b) A new method for quantitative petrography based on image processing of chemical element maps: Part I. Mineral mapping applied to compacted bentonites. *American Mineralogist* **95**, 1379–1388.
- Pufahl P. et Hiatt E. (2012) Oxygenation of the Earth's atmosphere–ocean system: a review of physical and chemical sedimentologic responses. *Marine and Petroleum Geology* **32**, 1–20.
- Reboul G. (2020) Metabarcoding and metagenomic approaches to decipher microbial communities in suboxic environments. Université Paris-Saclay.
- Reid R. P., Dupraz C. D., Visscher P. T. and Sumner D. Y. (2003a) Microbial Processes Forming Marine Stromatolites eds. W. E. Krumbein, D. M. Paterson, and G. A. Zavarzin. *Fossil and Recent Biofilms: A Natural History of Life on Earth*, 103–118.
- Reid R. P., James N. P., Macintyre I. G., Dupraz C. P. and Burne R. V. (2003b) Shark Bay stromatolites: microfabrics and reinterpretation of origins. *Facies* **49**, 299–324.
- Reid R. P., Visscher P. T., Decho A. W., Stolz J. F., Bebout B., Dupraz C., Macintyre I., Paerl H., Pinckney J. and Prufert-Bebout L. (2000) The role of microbes in accretion, lamination and early lithification of modern marine stromatolites. *Nature* **406**, 989–992.
- Reitner J., Paul J., Arp G., Hause-Reitner D., Neuweiler F. and Gunkel F. (1996) Lake Thetis domal microbialites; a complex framework of calcified biofilms and organomicrites (Cervantes, Western Australia). *Global and regional controls on biogenic sedimentation* **1**, 85–89.
- Riding R. (1991) Classification of Microbial Carbonates. In *Calcareous Algae and Stromatolites* Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 21–51.
- Riding R. (1999) The term stromatolite: towards an essential definition. *Lethaia* **32**, 321–330.

- Riding R., Stanley A., Winsborough B., Griffin K. and Dill R. (1991a) Bahamian giant stromatolites: microbial composition of surface mats. *Geological Magazine* **128**, 227–234.
- Riding R., Braga J. C. and Martin J. M. (1991b) Oolite stromatolites and thrombolites, Miocene, Spain: analogues of Recent giant Bahamian examples. *Sedimentary Geology* **71**, 121–127.
- Rizzo V. (2020) Why should geological criteria used on Earth not be valid also for Mars? Evidence of possible microbialites and algae in extinct Martian lakes. *International Journal of Astrobiology* **19**, 283–294.
- Rizzo V. et Cantasano N. (2009) Possible organosedimentary structures on Mars. *International Journal of Astrobiology* **8**, 267–280.
- Roldán M., Ascaso C. and Wierzchos J. (2014) Fluorescent Fingerprints of Endolithic Phototrophic Cyanobacteria Living within Halite Rocks in the Atacama Desert ed. C. R. Lovell. *Appl. Environ. Microbiol.* **80**, 2998–3006.
- Rouchy J.-M. et Saint Martin J. P. (1992) Late Miocene events in the Mediterranean as recorded by carbonate-evaporite relations. *Geology* **20**, 629–632.
- Rouillard J., García-Ruiz J. M., Kah L., Gérard E., Barrier L., Nabhan S., Gong J. and Zuilen M. A. van (2020) Identifying microbial life in rocks: Insights from population morphometry. *Geobiology* **18**, 282–305.
- Roveri M., Flecker R., Krijgsman W., Lofi J., Lugli S., Manzi V., Sierro F. J., Bertini A., Camerlenghi A. and De Lange G. (2014) The Messinian Salinity Crisis: past and future of a great challenge for marine sciences. *Marine Geology* **352**, 25–58.
- Russo F., Neri C., Mastandrea A. and Baracca A. (1997) The mud mound nature of the Cassian Platform Margins of the Dolomites A case history: the Cipit boulders from Punta Grohmann (Sasso Piatto Massif, northern Italy). *Facies* **36**, 25–36.
- Sabater S. (2000) Structure and architecture of a stromatolite from a Mediterranean stream. *Aquat. Microb. Ecol.* **21**, 161–168.
- Saint Martin J.-P. (2010) The Girvanella -like remains from Messinian marine deposits (Sardinia, Italy): Lagerstätten paradigm for microbial biota? *Annales de Paleontologie* **1759**, 25–65.
- Saint Martin J.-P. and Saint Martin S. (2015a) Discovery of calcareous microbialites in coastal ponds of western Sardinia (Italy). *Geo-Eco-Marina* **21**, 35–53.
- Saint Martin J.-P. and Saint Martin S. (2015b) Calcareous microbialites and associated biota in the Mediterranean coastal lagoons and ponds of southern France: A key for ancient bioconstructions? *GeoEcoMarina* **2015**, 55–71.
- Sakurai R., Ito M., Ueno Y., Kitajima K. and Maruyama S. (2005) Facies architecture and sequence-stratigraphic features of the Tumbiana Formation in the Pilbara Craton,

- northwestern Australia: Implications for depositional environments of oxygenic stromatolites during the Late Archean. *Precambrian Research* **138**, 255–273.
- Sánchez-Beristain F., Schäfer N., Simon K. and Reitner J. (2010) New Geochemical Method to Characterise Microbialites from the St. Cassian Formation, Dolomites, Northeastern Italy. In *Advances in Stromatolite Geobiology* Lecture Notes in Earth Sciences. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Sancho-Tomás M., Somogyi A., Medjoubi K., Bergamaschi A., Visscher P. T., van Driessche A. E. S., Gérard E., Farias M. E., Contreras M. and Philippot P. (2020) Geochemical evidence for arsenic cycling in living microbialites of a High Altitude Andean Lake (Laguna Diamante, Argentina). *Chemical Geology* **549**, 119681.
- Sancho-Tomás M., Somogyi A., Medjoubi K., Bergamaschi A., Visscher P. T., Van Driessche A. E. S., Gérard E., Farias M. E., Contreras M. and Philippot P. (2018) Distribution, redox state and (bio)geochemical implications of arsenic in present day microbialites of Laguna Brava, Salar de Atacama. *Chemical Geology* **490**, 13–21.
- Schneider D., Arp G., Reimer A., Reitner J. and Daniel R. (2013) Phylogenetic Analysis of a Microbialite-Forming Microbial Mat from a Hypersaline Lake of the Kiritimati Atoll, Central Pacific ed. J. L. Balcazar. *PLoS ONE* **8**, e66662.
- Schopf J. W. et Kudryavtsev A. B. (2012) Biogenicity of Earth's earliest fossils: A resolution of the controversy. *Gondwana Research* **22**, 761–771.
- Schopf J. W., Kudryavtsev A. B., Czaja A. D. and Tripathi A. B. (2007) Evidence of Archean life: Stromatolites and microfossils. *Precambrian Research* **158**, 141–155.
- Schopf J. W., Kudryavtsev A. B. and Sergeev V. N. (2010) Confocal laser scanning microscopy and Raman imagery of the late Neoproterozoic Chichkan microbiota of South Kazakhstan. *J. Paleontol.* **84**, 402–416.
- Schopf J. W., Kudryavtsev A. B., Tripathi A. B. and Czaja A. D. (2011) Three-Dimensional Morphological (CLSM) and Chemical (Raman) Imagery of Cellularly Mineralized Fossils. In *Taphonomy: Process and Bias Through Time, Second Edition* (eds. P. A. Allison and D. J. Bottjer). Springer, Dordrecht. pp. 457–486.
- Schopf J. W., Tripathi A. B. and Kudryavtsev A. B. (2006) Three-Dimensional Confocal Optical Imagery of Precambrian Microscopic Organisms. *Astrobiology* **6**, 1–16.
- Schrag D. P., DePaolo D. J. and Richter F. M. (1995) Reconstructing past sea surface temperatures: Correcting for diagenesis of bulk marine carbonate. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **59**, 2265–2278.
- Schroeder J. (1972) Calcified filaments of an endolithic alga in Recent Bermuda reefs. *N Jahrb Geol Paläontol Monatsh* **1972**, 16–33.
- Schulman J. H., Evans L. W., Ginther R. J. and Murata K. J. (1947) The Sensitized Luminescence of Manganese-Activated Calcite. *Journal of Applied Physics* **18**, 732–739.

- Schulze K., López D. A., Tillich U. M. and Frohme M. (2011) A simple viability analysis for unicellular cyanobacteria using a new autofluorescence assay, automated microscopy, and ImageJ. *BMC Biotechnol* **11**, 118.
- Semikhatov M. A., Gebelein C. D., Cloud P., Awramik S. M. and Benmore W. C. (1979) Stromatolite morphogenesis—progress and problems. *Can. J. Earth Sci.* **16**, 992–1015.
- Semikhatov M. A. et Raaben M. E. (2000) Proterozoic Stromatolite Taxonomy and Biostratigraphy. In *Microbial Sediments* (eds. R. E. Riding and S. M. Awramik). Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 295–306.
- Sforna M. C., Daye M., Philippot P., Somogyi A., van Zuilen M. A., Medjoubi K., Gerard E., Jamme F., Dupraz C., Braissant O., Glunk C. and Visscher P. T. (2017) Patterns of metal distribution in hypersaline microbialites during early diagenesis: Implications for the fossil record. *Geobiology* **15**, 259–279.
- Sforna M. C., Loron C. C., Demoulin C. F., François C., Cornet Y., Lara Y. J., Grolimund D., Ferreira Sanchez D., Medjoubi K., Somogyi A., Addad A., Fadel A., Compère P., Baudet D., Brocks J. J. and Javaux E. J. (2022) Intracellular bound chlorophyll residues identify 1 Gyr-old fossils as eukaryotic algae. *Nat Commun* **13**, 146.
- Sieber B. (2012) Cathodoluminescence - Principes physiques et systèmes de détection. *Techniques d'analyse*.
- Sippel R. F. and Glover E. D. (1965) Structures in carbonate rocks made visible by luminescence petrography. *Science* **150**, 1283–1287.
- Smith J. et Stenstrom R. (1965) Electron-excited luminescence as a petrologic tool. *The Journal of Geology* **73**, 627–635.
- Smith M. D., Goater S. E., Reichwaldt E. S., Knott B. and Ghadouani A. (2010) Effects of recent increases in salinity and nutrient concentrations on the microbialite community of Lake Clifton (Western Australia): are the thrombolites at risk? *Hydrobiologia* **649**, 207–216.
- Solé V. A., Papillon E., Cotte M., Walter P. and Susini J. (2007) A multiplatform code for the analysis of energy-dispersive X-ray fluorescence spectra. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **62**, 63–68.
- Somogyi A., Medjoubi K., Baranton G., Le Roux V., Ribbens M., Polack F., Philippot P. and Samama J.-P. (2015) Optical design and multi-length-scale scanning spectro-microscopy possibilities at the Nanoscopium beamline of Synchrotron Soleil. *J Synchrotron Rad* **22**, 1118–1129.
- Spadafora A., Perri E., Mckenzie J. A. and Vasconcelos C. (2010) Microbial biomineralization processes forming modern Ca:Mg carbonate stromatolites: Biomineralization processes forming stromatolites. *Sedimentology* **57**, 27–40.
- Stal L. J. (2001) Coastal microbial mats: the physiology of a small-scale ecosystem. *South African Journal of Botany* **67**, 399–410.

- Stiller M., Rounick J. S. and Shasha S. (1985) Extreme carbon-isotope enrichments in evaporating brines. *Nature* **316**, 434–435.
- Stromberg J. M., Applin D. M., Cloutis E. A., Rice M., Berard G. and Mann P. (2014) The persistence of a chlorophyll spectral biosignature from Martian evaporite and spring analogues under Mars-like conditions. *International Journal of Astrobiology* **13**, 203–223.
- Stüeken E. E., Buick R. and Schauer A. J. (2015) Nitrogen isotope evidence for alkaline lakes on late Archean continents. *Earth and Planetary Science Letters* **411**, 1–10.
- Suarez-Gonzalez P., Arenas C., Benito M. I. and Pomar L. (2019) Interplay between biotic and environmental conditions in pre-salt Messinian microbialites of the western Mediterranean (Upper Miocene, Mallorca, Spain). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* **533**, 109242.
- Suc J.-P. (2016) “Quarante ans de débats autour des évaporites messiniennes de Méditerranée et de la crise qui leur est associée. Un défi scientifique passionnant, mais singulier et déroutant. In *travaux du Comité français d’Histoire de la Géologie (COFRHIGEO)*
- Suc J.-P., Saint Martin J. P., Saint Martin S., Popescu S.-M. and Fauquette S. (2019) Evolution des environnements marins et continentaux depuis 23 Ma dans le domaine méditerranéen. *Géochronique*.
- Suhling K., Hirvonen L. M., Levitt J. A., Chung P.-H., Tregidgo C., Le Marois A., Rusakov D. A., Zheng K., Ameer-Beg S., Poland S., Coelho S., Henderson R. and Krstajic N. (2015) Fluorescence lifetime imaging (FLIM): Basic concepts and some recent developments. *Medical Photonics* **27**, 3–40.
- Sumner D. Y. (2001) Microbial influences on local carbon isotopic ratios and their preservation in carbonate. *Astrobiology* **1**, 57–70.
- Suosaari E., Reid R., Playford P., Foster J., Stolz J., Casaburi G., Hagan P., Chirayath V., Macintyre I. and Planavsky N. (2016) New multi-scale perspectives on the stromatolites of Shark Bay, Western Australia. *Scientific reports* **6**, 1–13.
- Szulc J. et Smyk B. (1994) Bacterially controlled calcification of freshwater Schizothrix-stromatolites: an example from the Pieniny Mts, Southern Poland. In *Phanerozoic Stromatolites II* Springer. pp. 31–51.
- Tang Y. Z. et Dobbs F. C. (2007) Green Autofluorescence in Dinoflagellates, Diatoms, and Other Microalgae and Its Implications for Vital Staining and Morphological Studies. *Appl Environ Microbiol* **73**, 2306–2313.
- Tashyreva D., Elster J. and Billi D. (2013) A Novel Staining Protocol for Multiparameter Assessment of Cell Heterogeneity in Phormidium Populations (Cyanobacteria) Employing Fluorescent Dyes. *PLOS ONE* **8**, e55283.

- Tebo B. M., Bargar J. R., Clement B. G., Dick G. J., Murray K. J., Parker D., Verity R. and Webb S. M. (2004) Biogenic manganese oxydes : Properties and Mechanisms of Formation. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **32**, 287–328.
- Telmer K. et Veizer J. (1999) Carbon fluxes, pCO<sub>2</sub> and substrate weathering in a large northern river basin, Canada: carbon isotope perspectives. *Chemical Geology* **159**, 61–86.
- Ten Have T. and Heijnen W. (1985) experimental approach. *Geologie en Mijnbouw* **64**, 297–310.
- Trichet J. and Défarge C. (1995) Non-biologically supported organomineralization. *Bulletin de l'Institut Océanographique Monaco* **14**.
- Turner J. V. (1982) Kinetic fractionation of carbon-13 during calcium carbonate precipitation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **46**, 1183–1191.
- Urey H. C. (1948) Oxygen isotopes in nature and in the laboratory. *Science* **108**, 489–496.
- Valdespino-Castillo P. M., Alcántara-Hernández R. J., Alcocer J., Merino-Ibarra M., Macek M. and Falcón L. I. (2014) Alkaline phosphatases in microbialites and bacterioplankton from Alchichica soda lake, Mexico. *FEMS Microbiol Ecol*
- Vasconcelos C., Dittrich M. and McKenzie J. A. (2014) Evidence of microbiocoenosis in the formation of laminae in modern stromatolites. *Facies* **60**, 3–13.
- Vasconcelos C. et McKenzie J. A. (1997) Microbial Mediation of Modern Dolomite Precipitation and Diagenesis Under Anoxic Conditions (Lagoa Vermelha, Rio de Janeiro, Brazil). *SEPM JSR* Vol. **67**.
- Vasconcelos C., Warthmann R., McKenzie J. A., Visscher P. T., Bittermann A. G. and van Lith Y. (2006) Lithifying microbial mats in Lagoa Vermelha, Brazil: Modern Precambrian relics? *Sedimentary Geology* **185**, 175–183.
- Vermaas W. F. J., Timlin J. A., Jones H. D. T., Sinclair M. B., Nieman L. T., Hamad S. W., Melgaard D. K. and Haaland D. M. (2008) In vivo hyperspectral confocal fluorescence imaging to determine pigment localization and distribution in cyanobacterial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 4050–4055.
- Vescogni A., Guido A., Mastandrea A. and Russo F. (2011) The Microbialite-Vermetid Community of the Salento Peninsula in Southern Italy: A Late Miocene Example of Automicrite Deposition. In *Kalkowsky Symposium; Advances in stromatolite geobiology* Kalkowsky Symposium; Advances in stromatolite geobiology. Springer,, Berlin. pp. 301–310.
- Visscher P. T., Gritzer R. F. and Leadbetter E. R. (1999) Low-Molecular-Weight Sulfonates, a Major Substrate for Sulfate Reducers in Marine Microbial Mats†. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 3272–3278.

- Visscher P. T., Reid R. P., Bebout B. M., Hoefft S. E., Macintyre I. G. and Thompson J. A. (1998) Formation of lithified micritic laminae in modern marine stromatolites (Bahamas); the role of sulfur cycling. *American Mineralogist* **83**, 1482–1493.
- Wacey D., Urosevic L., Saunders M. and George A. D. (2018) Mineralisation of filamentous cyanobacteria in Lake Thetis stromatolites, Western Australia. *Geobiology* **16**, 203–215.
- Walter M. R. (1976) *Stromatolites*., Elsevier.
- Walter M. R., Buick R. and Dunlop J. S. R. (1980) Stromatolites 3,400–3,500 Myr old from the North Pole area, Western Australia. *Nature* **284**, 443–445.
- Walter M. R. et Des Marais D. J. (1993) Preservation of Biological Information in Thermal Spring Deposits: Developing a Strategy for the Search for Fossil Life on Mars. *Icarus* **101**, 129–143.
- Warden J. G., Casaburi G., Omelon C. R., Bennett P. C., Breecker D. O. and Foster J. S. (2016) Characterization of microbial mat microbiomes in the modern thrombolite ecosystem of Lake Clifton, Western Australia using shotgun metagenomics. *Frontiers in microbiology* **7**, 1064.
- Warden J. G., Coshell L., Rosen M. R., Breecker D. O., Ruthrof K. X. and Omelon C. R. (2019) The importance of groundwater flow to the formation of modern thrombolitic microbialites. *Geobiology* **17**, 536–550.
- Warke M. R., Edwards N. P., Wogelius R. A., Manning P. L., Bergmann U., Egerton V. M., Kimball K. C., Garwood R. J., Beukes N. J. and Schröder S. (2019) Decimeter-scale mapping of carbonate-controlled trace element distribution in Neoproterozoic cusped stromatolites. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **261**, 56–75.
- Warren L. V., Varejão F. G., Quaglio F., Simões M. G., Fürsich F. T., Poiré D. G., Catto B. and Assine M. L. (2017) Stromatolites from the Aptian Crato Formation, a hypersaline lake system in the Araripe Basin, northeastern Brazil. *Facies* **63**, 3.
- Waychunas G. A. (2014) Luminescence Spectroscopy. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* **78**, 175–217.
- Wharton R. (1994) Stromatolitic mats in Antarctic lakes. In *Phanerozoic stromatolites II* Springer. pp. 53–70.
- Winsborough B. M., Seeler J., Golubic S., Folk R. and Maguire B. (1994) Recent fresh-water lacustrine stromatolites, stromatolitic mats and oncoids from northeastern Mexico. In *Phanerozoic stromatolites II* Springer. pp. 71–100.
- Yanez-Montalvo A., Gomez-Acata S., Aguila B., Hernandez-Arana H. and Falcon L. I. (2020) The microbiome of modern microbialites in Bacalar Lagoon, Mexico. *PloS one* **15**, e0230071.

- Yang C., Telmer K. and Veizer J. (1996) Chemical dynamics of the “St. Lawrence” riverine system:  $\delta\text{D}_{\text{H}_2\text{O}}$ ,  $\delta^{18}\text{O}_{\text{H}_2\text{O}}$ ,  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ ,  $\delta^{34}\text{S}_{\text{sulfate}}$ , and dissolved  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . *Geochimica et Cosmochimica Acta* **60**, 851–866.
- Yechieli Y. et Wood W. W. (2002) Hydrogeologic processes in saline systems: playas, sabkhas, and saline lakes. *Earth-Science Reviews* **58**, 343–365.
- Zeyen N. (2016) Etude de microbialites lacustres actuels du Mexique : traçage de l’activité biologique et des conditions environnementales de formation. These de doctorat, Paris 6.
- Zeyen N., Benzerara K., Beyssac O., Daval D., Muller E., Thomazo C., Tavera R., López-García P., Moreira D. and Duprat E. (2021) Integrative analysis of the mineralogical and chemical composition of modern microbialites from ten Mexican lakes: What do we learn about their formation? *Geochimica et Cosmochimica Acta* **305**, 148–184.
- Zeyen N., Benzerara K., Li J., Groleau A., Balan E., Robert J.-L., Estève I., Tavera R., Moreira D. and López-García P. (2015) Formation of low-T hydrated silicates in modern microbialites from Mexico and implications for microbial fossilization. *Front. Earth Sci.* **3**.
- Zeyen N., Daval D., Lopez-Garcia P., Moreira D., Gaillardet J. and Benzerara K. (2017) Geochemical Conditions Allowing the Formation of Modern Lacustrine Microbialites. *Procedia Earth and Planetary Science* **17**, 380–383.
- Zippel B. et Neu T. R. (2011) Characterization of Glycoconjugates of Extracellular Polymeric Substances in Tufa-Associated Biofilms by Using Fluorescence Lectin-Binding Analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 505–516.



# Annexes

---

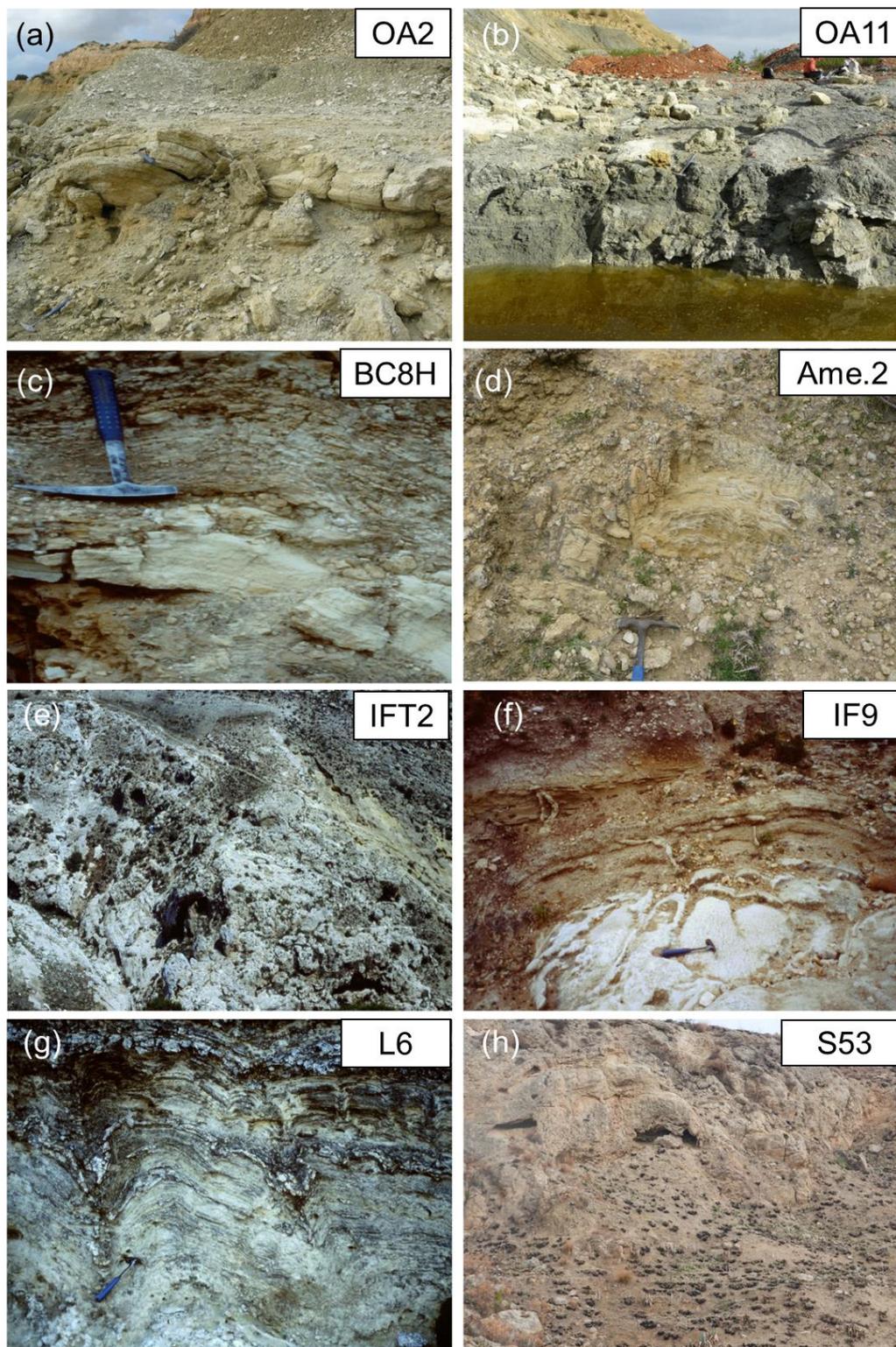


## Annexe 1. Sites d'étude du Messinien

**Tableau A.1** Canevas des échantillons de stromatolites du Messinien étudiés dans cette thèse et échantillonnés par Jean-Paul Saint Martin. Abréviation TCC = Terminal Carbonate Complex

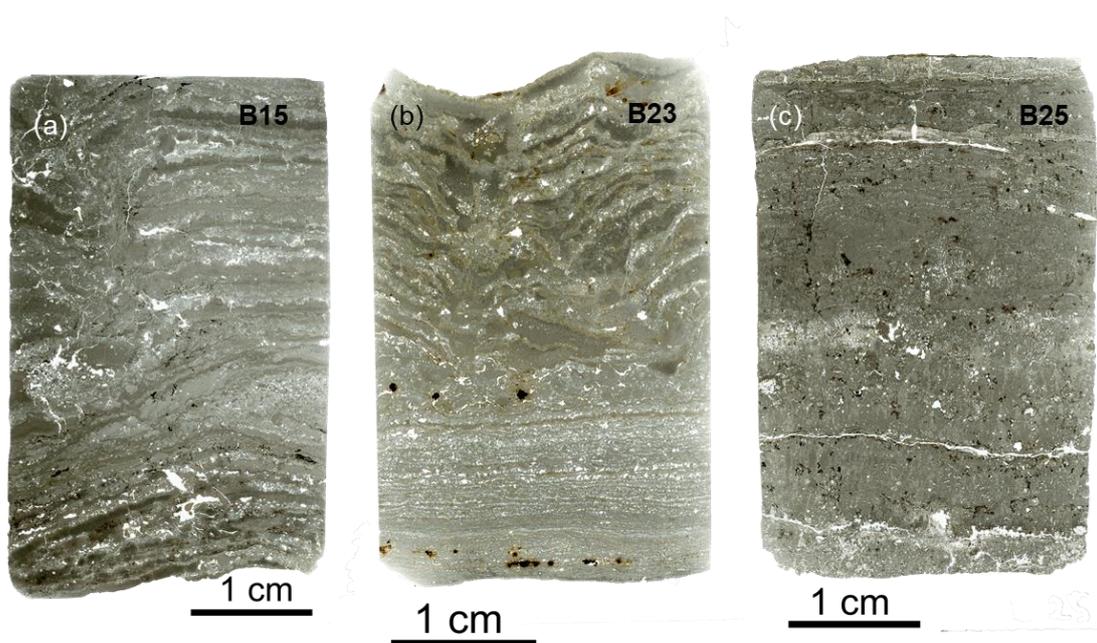
Pays	Lieu	Nom	Contexte géologique	Caractéristiques macroscopiques	Occurrences bibliographiques
Espagne	Réservoir Pedrera	B23	Succession argilo-gréseuse avec masse de gypse	Grands dômes.	(Monty, 1989)
	Benejuzar carrière	B15	Présence directement sous-jacente de niveaux franchement marins à coraux et mollusques littoraux		
		B25	Niveaux intercalés oolitiques et à mollusques		
	Santa Pola	SP	Plate-forme carbonatée à récifs coralliens. Présence de TCC à stromatolites bien développés et niveaux oolitiques.	Niveaux laminés, plus ou moins en dômes.	(Feldmann et McKenzie, 1997)
	Sorbas	A179	Plate-forme carbonatée à récifs coralliens progradants. Présence de TCC à stromatolites thrombolites bien développés et niveaux oolitiques.	Vastes dômes jusqu'à métriques.	(Bourillot et al., 2020, 2010b, 2010a; Braga et al., 1995; Conesa et al., 1999; Cornée et al., 2004; Martin et al., 1993; Roep et al., 1998; Roveri et al., 2009)
A397					
Tunisie	Oued Amroun	OA2	Sédimentation à dominante argileuse avec lentilles stromatolitiques Environnement « laguno-saumâtre » ? Apports continentaux ponctuels.	Grandes coupes métriques à pluri-métriques. Colonnets bien marqués.	(Moissette et al., 2010; Saint Martin et al., <i>in prep.</i> )
		OA11			
Algérie	Hammar Semmoumet	BC8H	Partie supérieure du Messinien, sous lentille de gypse.	Niveaux décimétriques peu onduleux.	(Saint Martin et al., 1992; Saint-

	Beni Chougrane	BC8			Martin et al., 1997)
	Amekrane	Ame.2	TCC sur récifs corallien à <i>Porites</i> .	Petits dômes d'épaisseur plurimétrique.	(Saint Martin et al., 2010)
	Sassel	S2	Partie supérieure du Messinien, sans doute en position de TCC. Ravinement par sédiments pliocènes.	Vastes dômes d'épaisseur plurimétrique dans l'ensemble.	(Saint-Martin et al., 1997)
Maroc	Melilla	IFT2	Vaste plate-forme carbonatée à récifs coralliens progradants. Présence de TCC à stromatos-thrombolites bien développés et niveaux oolitiques intertidaux.	Vastes dômes stromatolitiques en position de TCC coiffant le récif supérieur.	(Garcia et al., 2004, 2004; Münch et al., 2006; Saint-Martin et al., 1997)
		IF9			
		M97-2	Stromatolites retrouvés sur lave datée.		(Cornée et al., 2004)
Italie	Lampedusa	L6	Fin de sédimentation carbonatée d'une plate-forme comprenant des récifs coralliens. Niveau bien individualisé à stromatolites-thrombolites.	Dômes bien évidents.	(André et al., 2002)
	Salemi (Sicile)	S53	Stromatolites intra-constructions coralliennes et microbialites massives.	Niveau laminé décimétrique moulant une construction à <i>Porites</i> .	(Moissette et al., 2002; Saint Martin, 2001)

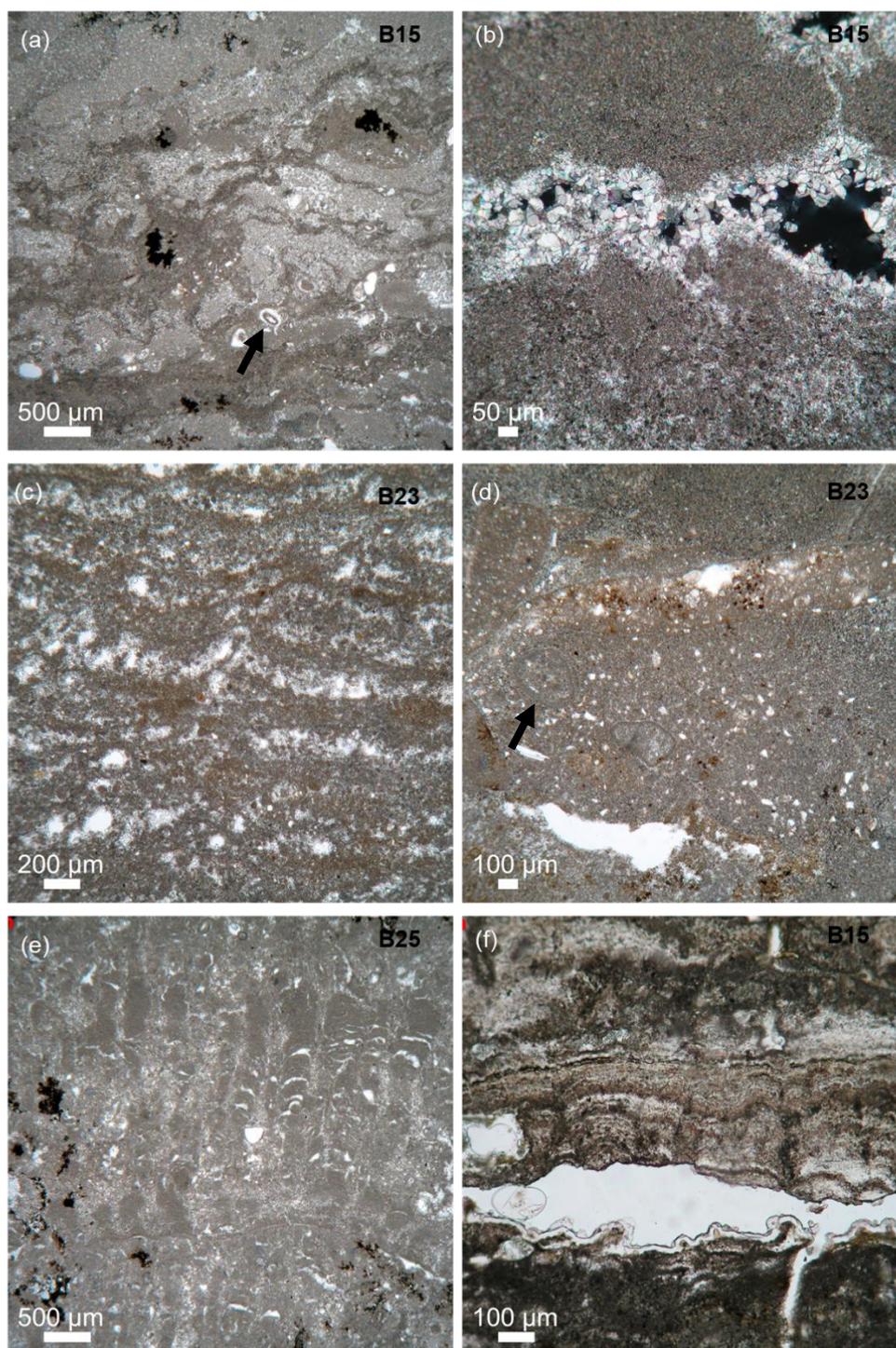


**Figure A.1.1** Photographie des affleurements d'où sont issus les stromatolites Messinien étudiés dans cette thèse. Crédits photo : Jean-Paul Saint-Martin. (a) et (b) Carrières de Oued Amroun, 2009, 2010. (c) Hammar Semmoumet, 1991. (d) Amekrane, 2010. (e) Melilla, 1995. (d) Mellila (1994). (g) Lampedusa, 1996. (h) Salemi, 2019.

## Annexe 2. Benejuzar (Espagne)



**Figure A.2.1** Scans des lames minces provenant de (a) B15, (b) B23 et (c) B25.



**Figure A.2.2** Observations au microscope optique. Images LPNA sauf cas contraire mentionné. (a) Lignes sombres fines et irrégulières soulignant des morphologies intercalées avec des niveaux oolitiques (flèche noire). Les taches noires sont probablement des oxydes de manganèse. (b) Image LPA. Fenestrae remplis par du détritisme. (c) Micrite finalement laminée avec alternance de morphologies : tabulaire et en forme de dôme. (d) Présence de forages remplis de sédiments géopétaux (flèche noire). (e) Micrite laminée formant des micro-colonnette. (f) Stromatolite craquelé par dessiccation.

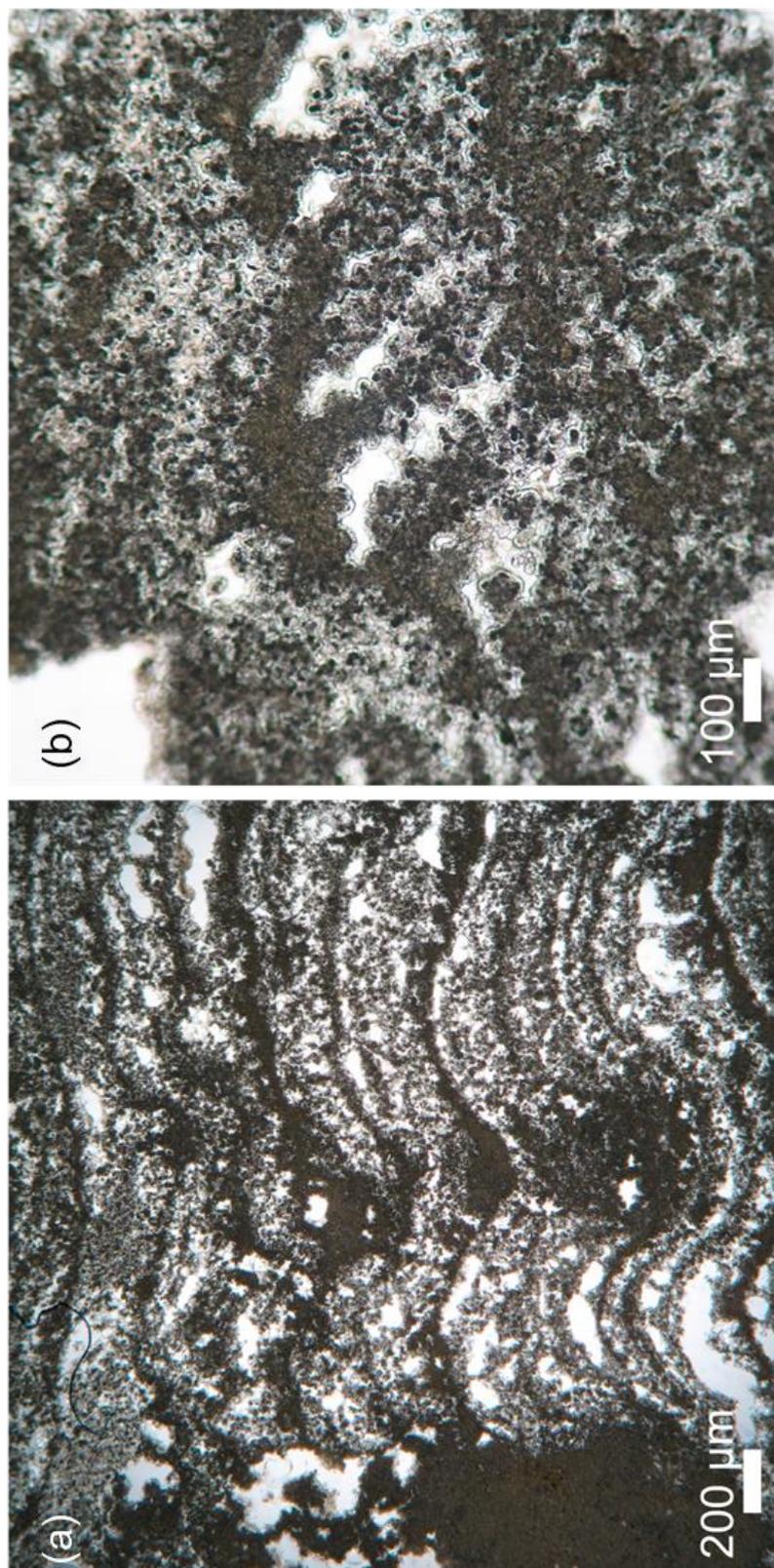
### Annexe 3. Santa Pola (Espagne)



**1 cm**

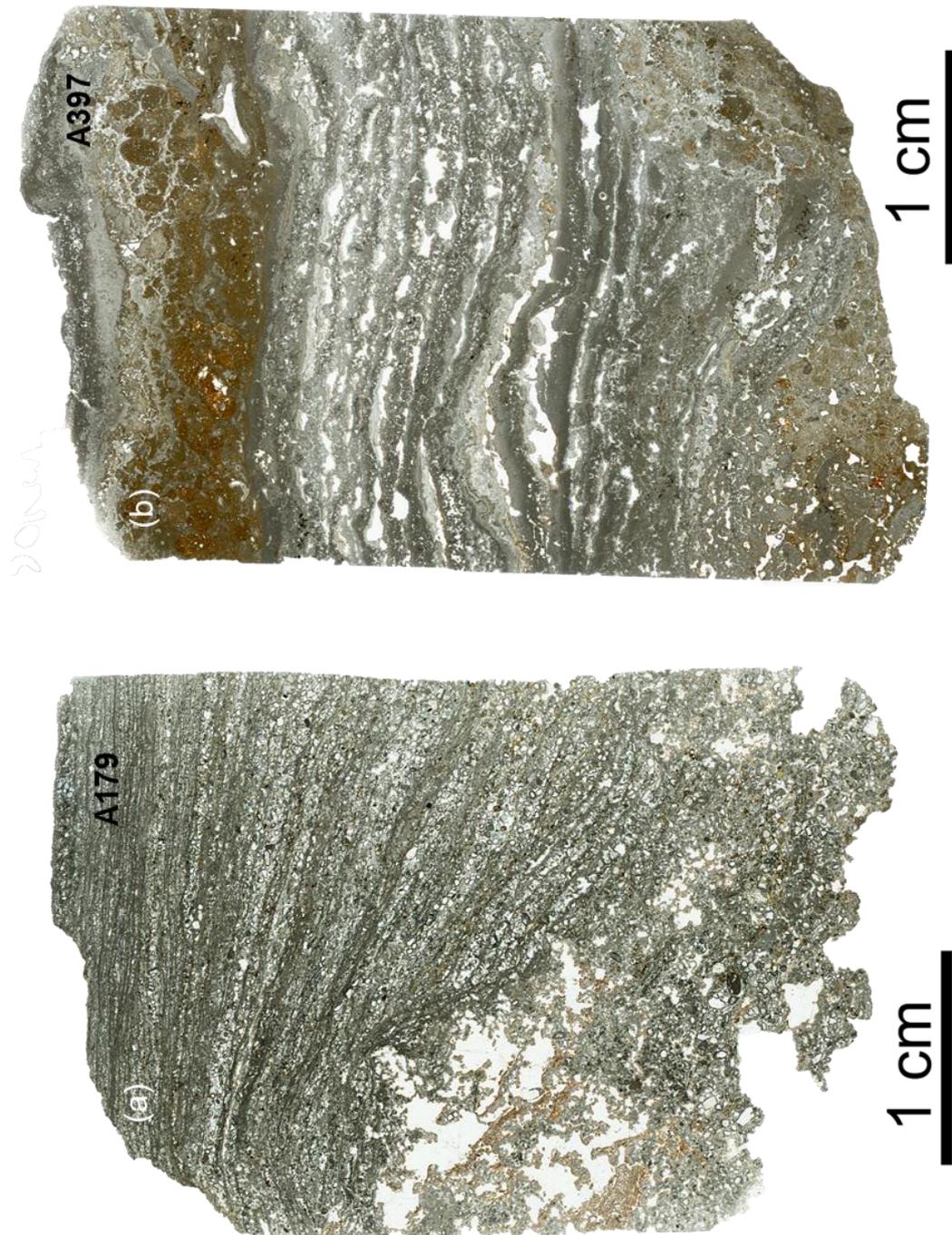
---

**Figure A.3.1** Scan d'une lame mince provenant de SP.

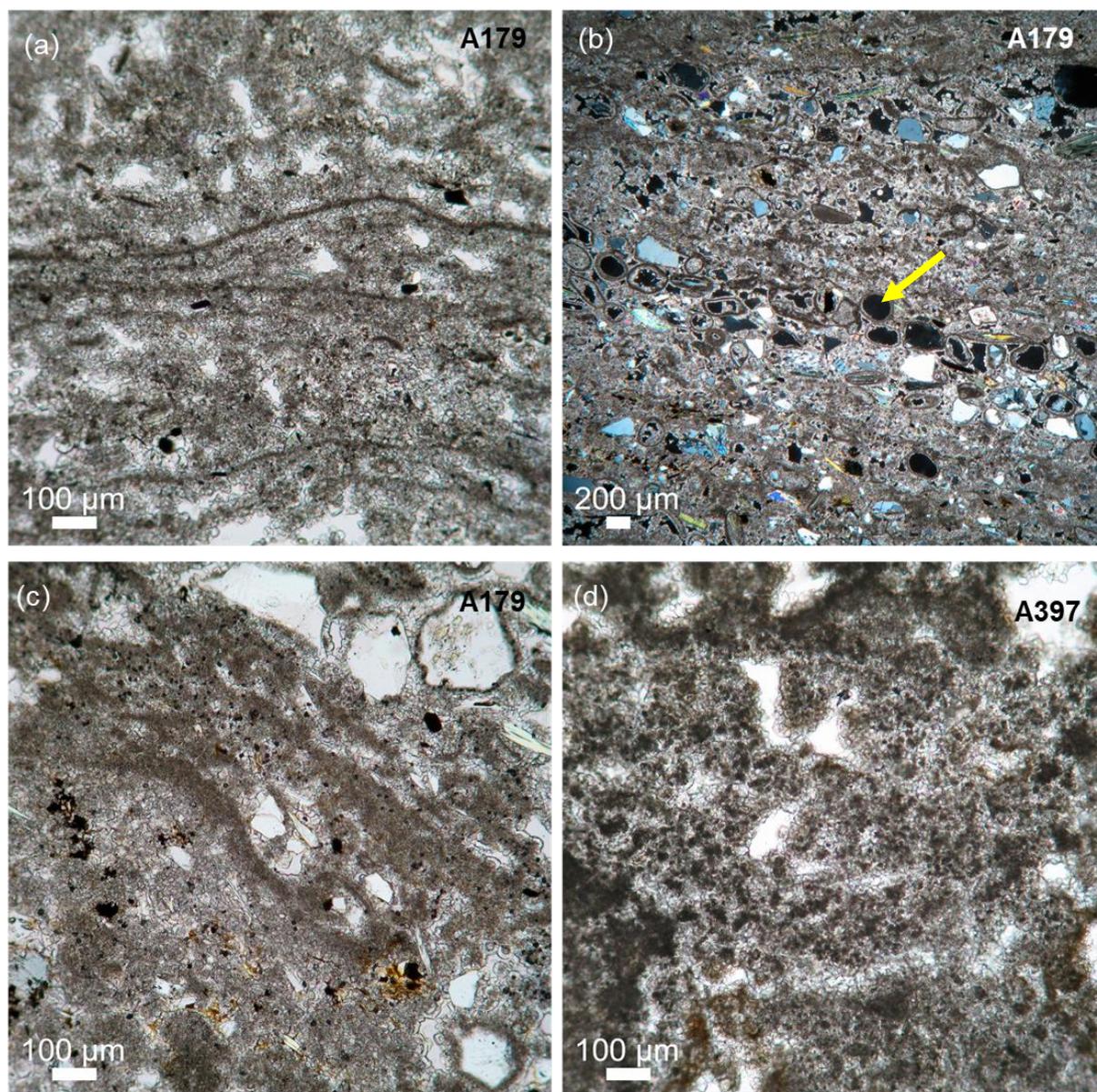


**Figure A.3.2** Observations au microscope optique. Images LNPA. (a) Laminations en couches colonnaires. Les lignes sombres soulignent des vides potentiellement laissés par de la matière organique (b) Vue rapprochée montrant des micro-colonnettes constituées de péloïdes.

## Annexe 4. Sorbas (Espagne)

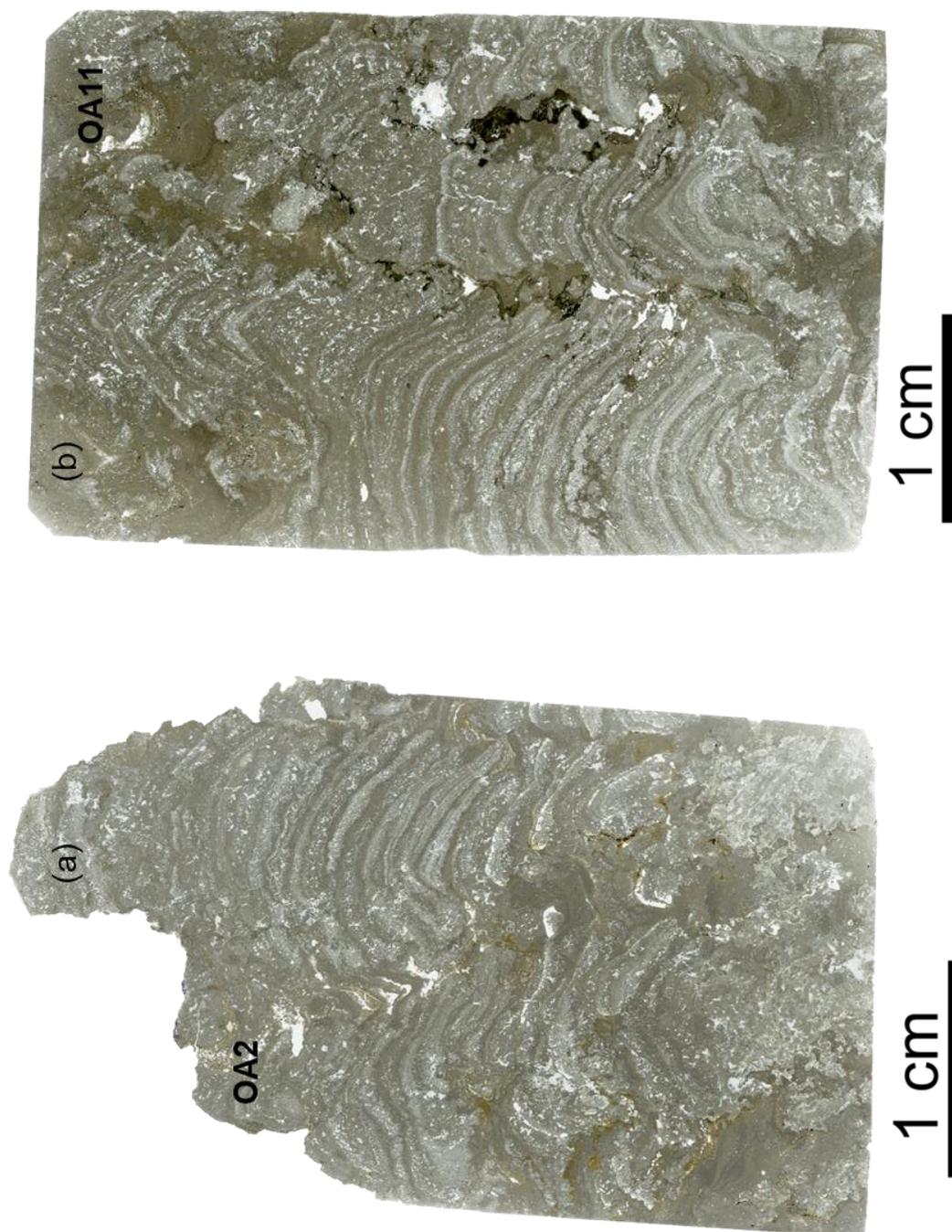


**Figure A.4.1** Scans des lames minces provenant de (a) A179 et (b) A397.

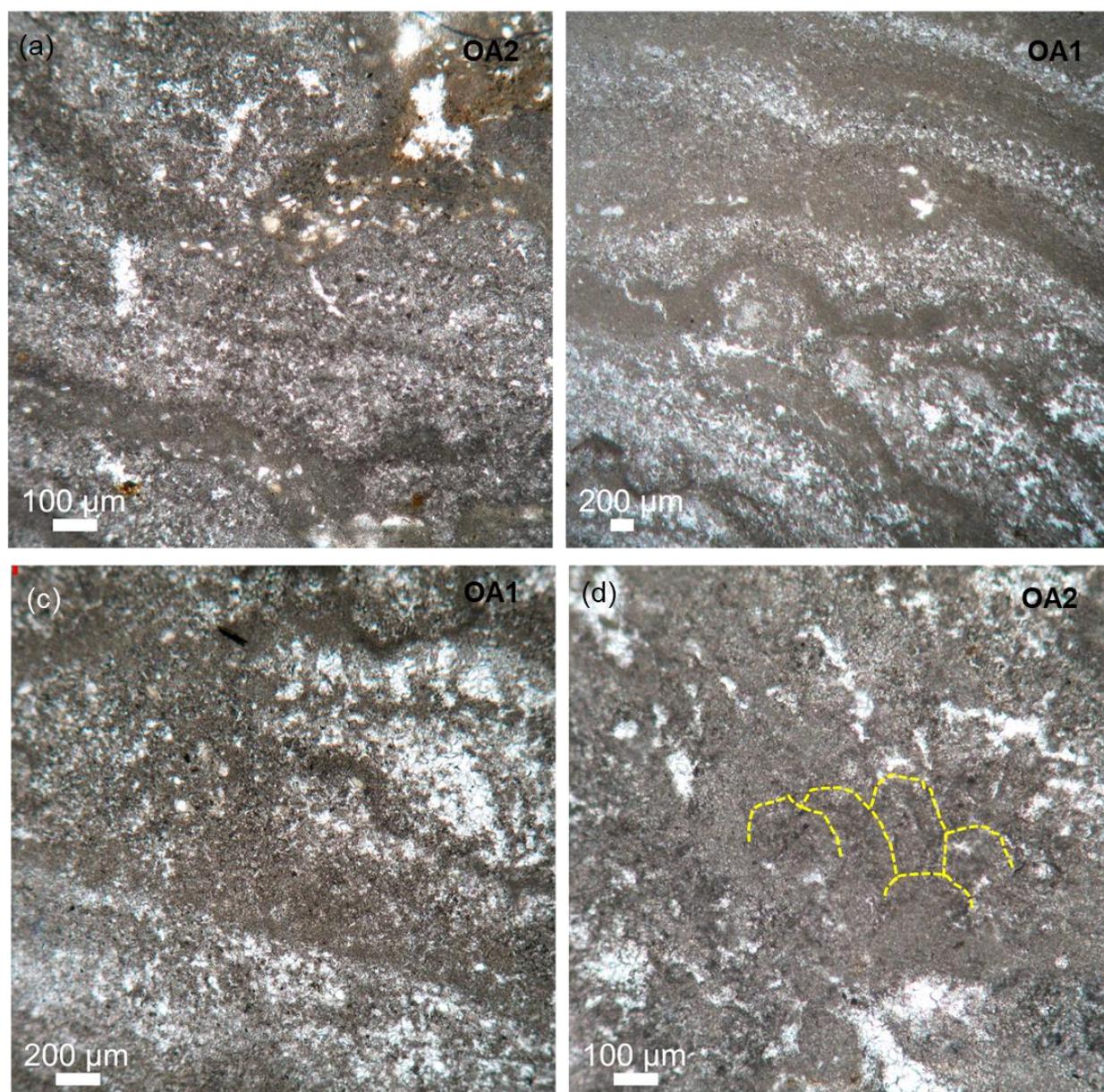


**Figure A.4.2** Observations au microscope optique. Images en LPNA sauf cas contraire mentionné. (a) Film noir irrégulier très souple, interprété comme la signature d'un biofilm. (b) Image en LPA. Lamines détritiques composées de quartz, feldspath et micas et encerclé par des films marron foncé. Présence de micas oolitisés (flèche jaune). (c) Lamines micritiques avec films sombres très fins. (d) Cimentation (secondaire ?) sparitique remplissant une porosité.

## Annexe 5. Oued Amroun (Tunisie)



**Figure A.5.1** Scans des lames minces provenant de (a) OA2 et (b) OA11.



**Figure A.5.2** Observations au microscope optique. Image LNPA. (a) et (b) Alternance irrégulière de lamines micritiques claires et sombres. (c) Présence de fenestrae dans les lamines claires. (d) Microstructure laminée en forme de chou-fleur.

## Annexe 6. Mont des Beni Chougrane (Algérie)

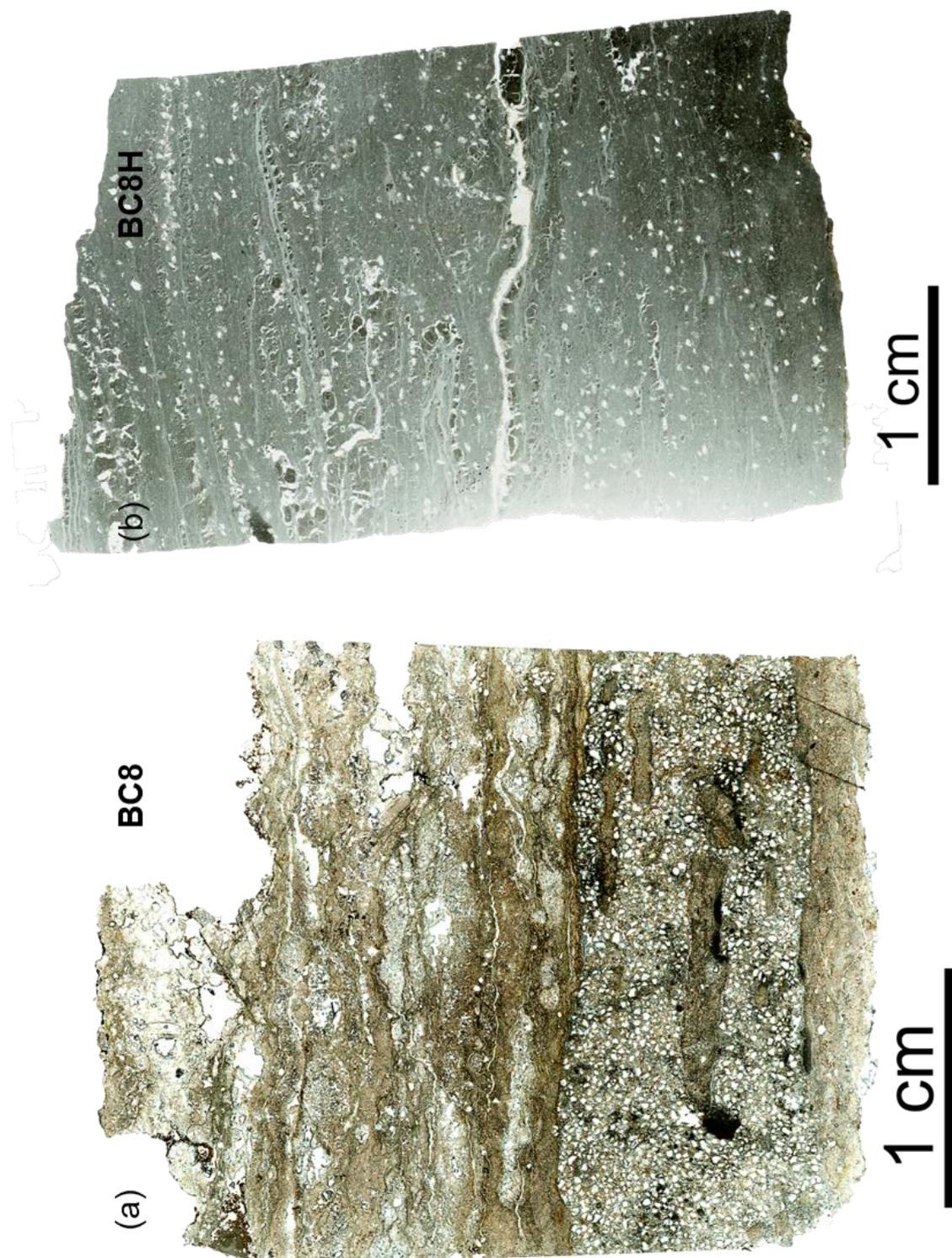


Figure A.6.1 Scans des lames minces provenant de (a) BC8 et (b) BC8H.

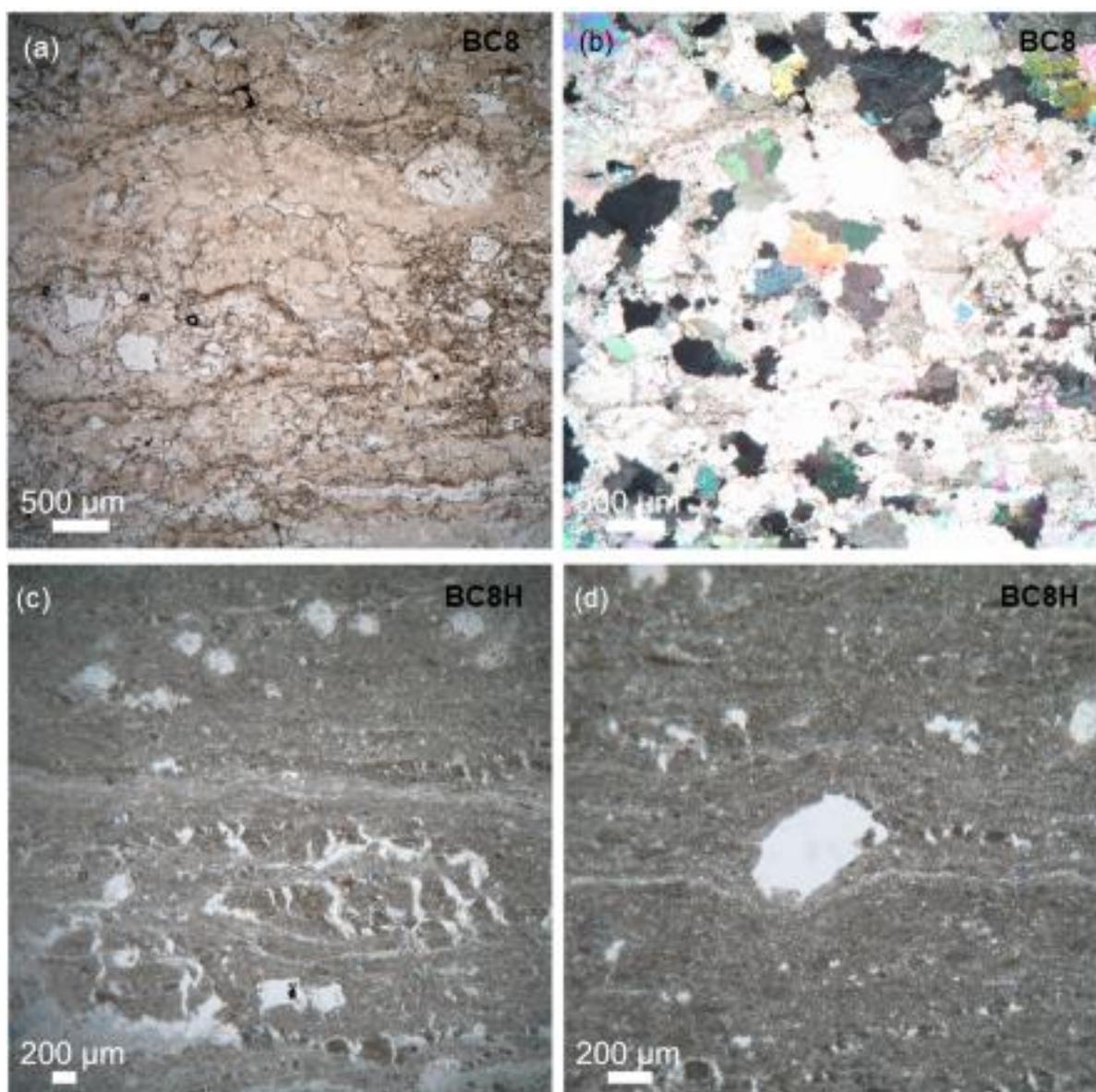
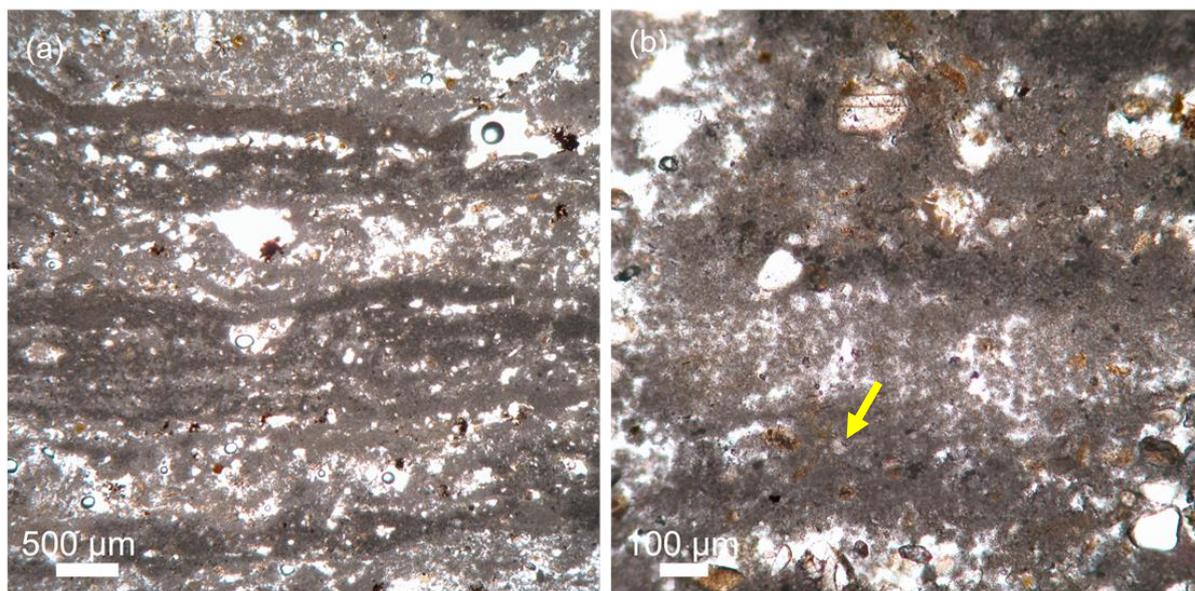


Figure A.6.2 Observations au microscope optique. Image LNPA sauf mentionné cas contraire (a) Échantillon complètement recristallisé. (b) Image en LPA de la même zone acquise en (a). (c) Très fines laminations plates avec présence de craquelures. (d) Création d'une morphologie grâce à une lamination souple épousant un grain de quartz.

## Annexe 7. Amekrane (Algérie)



**Figure A.7.1** Scan d'une lame mince provenant de Ame.2.

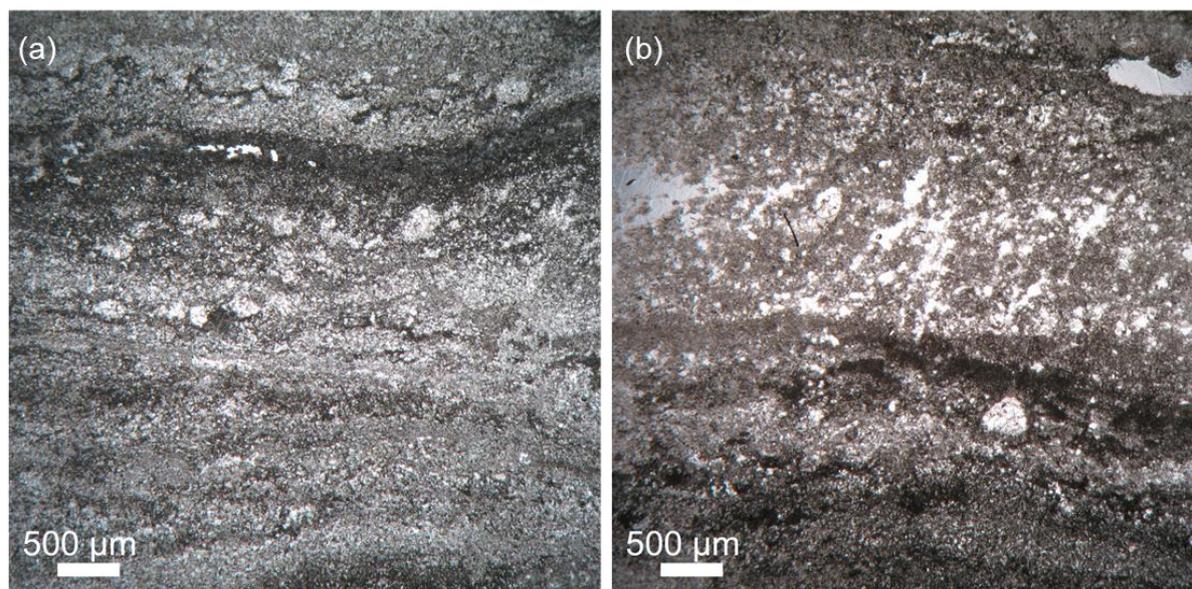


**Figure A.7.3** Observations au microscope optique. Image LNPA. (a) Fines laminations avec nettement alternance de films sombres à caractère plastique pouvant former des ondulations et d'intervalles plus clairs pouvant contenir des grains détritiques. (b) Alignement de grains dans certaines lamines sombres (flèche jaune) caractéristique des processus de piégeage-agglutination

## Annexe 8. Sassel (Algérie)

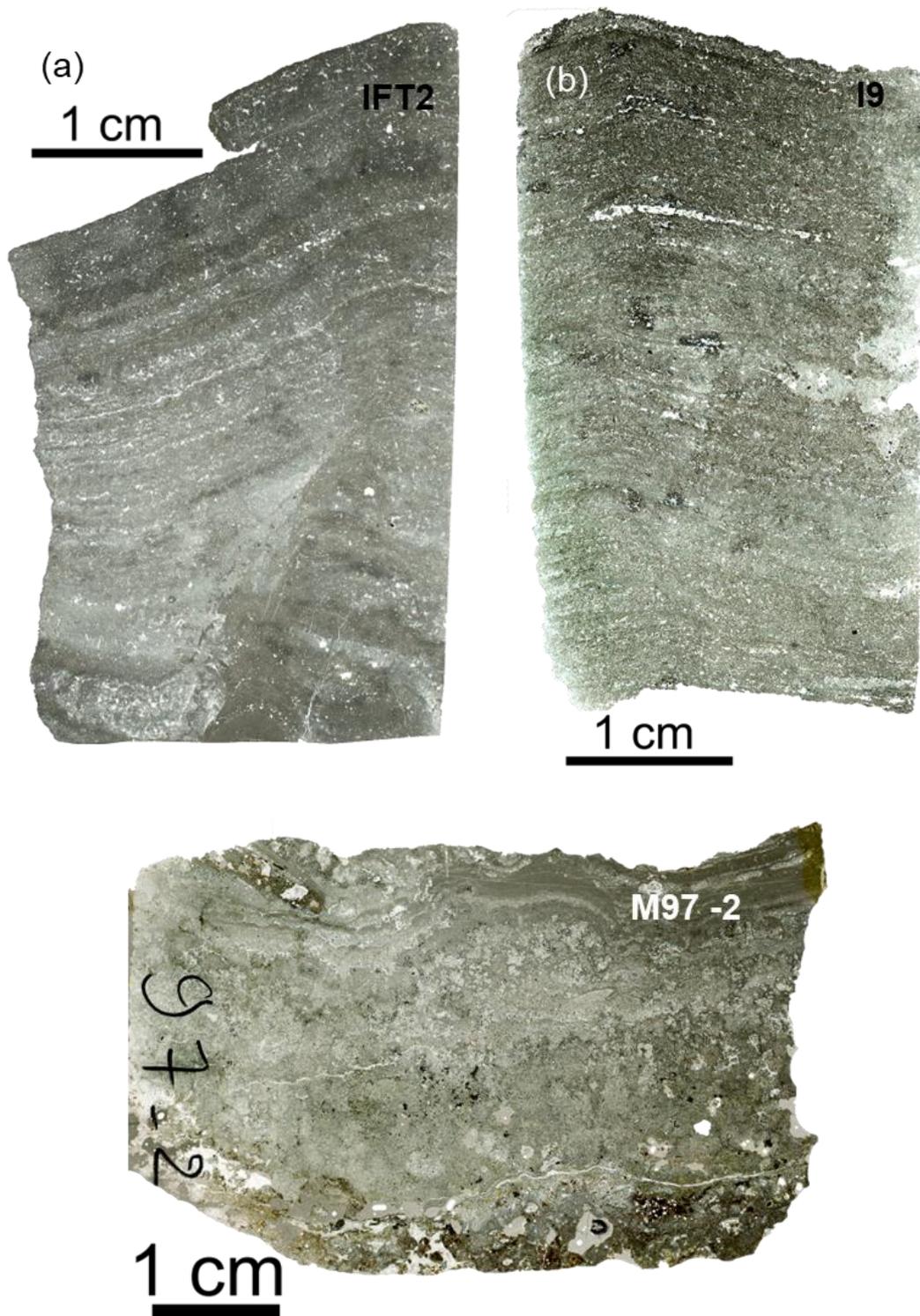


**Figure A.8.1** Scan d'une lame mince provenant de S2.

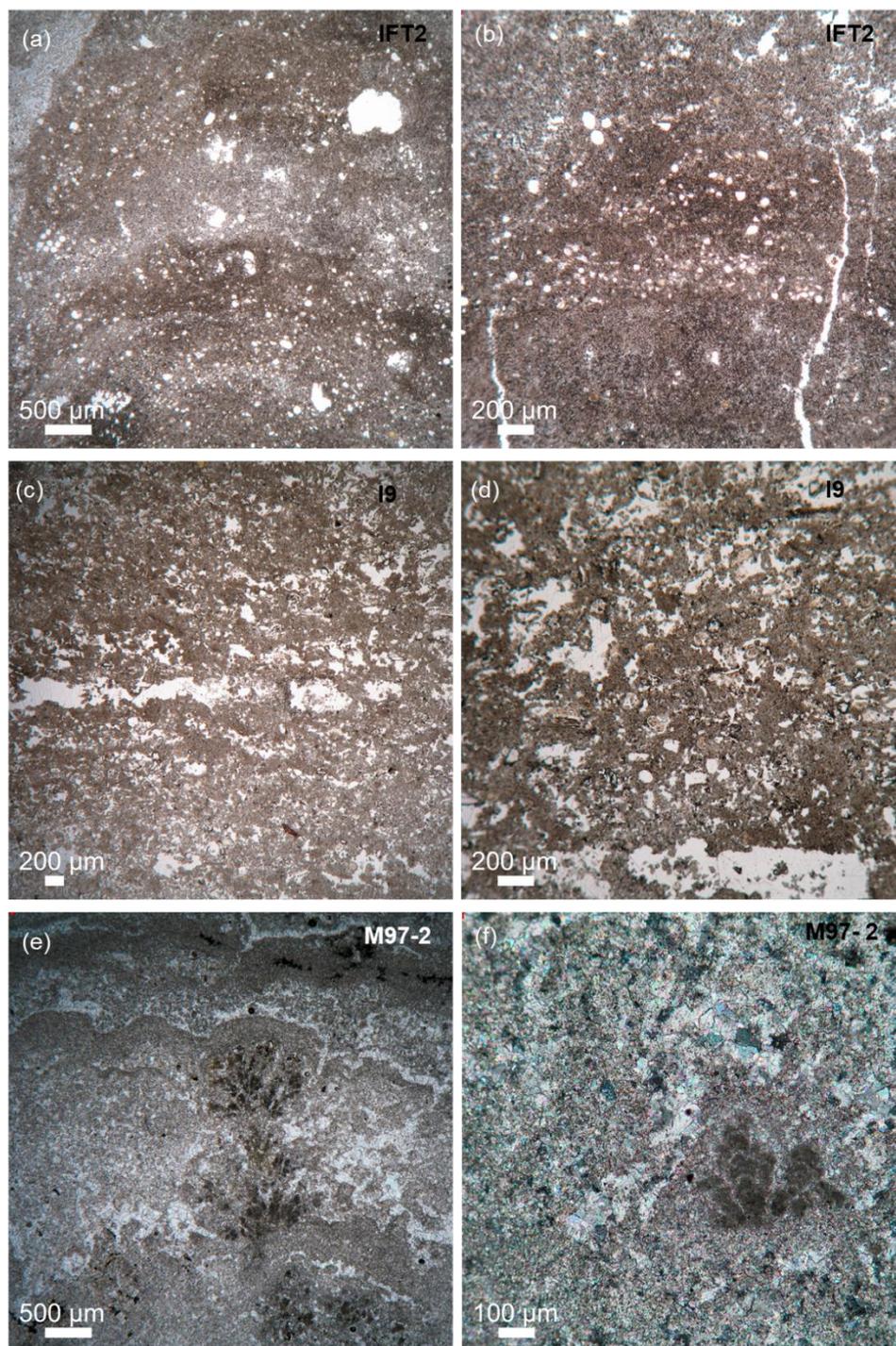


**Figure A.8.2** Observations au microscope optique. Image LNPA. (a) Lamination bien nette avec des lamines sombres onduleuses voire plus ou moins déformées dénotant un caractère souple du tapis microbien. (b) Lamine claire plus poreuse avec localement une impression de structures filamenteuses verticales.

**Annexe 9. Melilla (Maroc)**

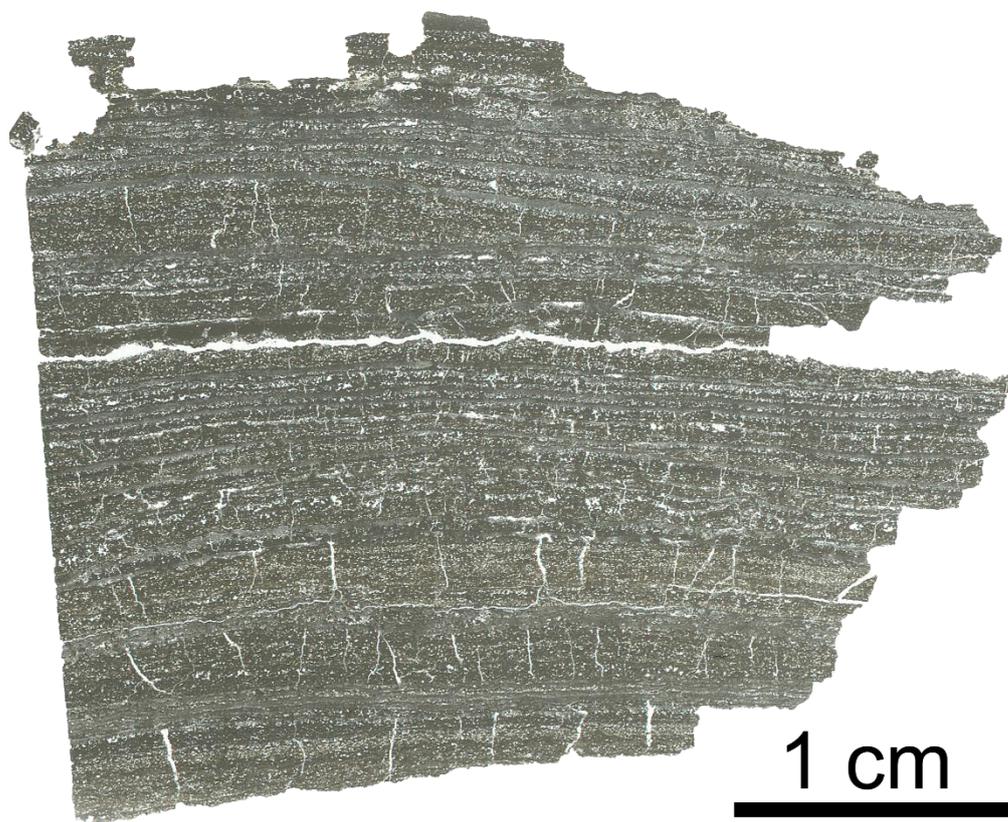


**Figure A.9.1** Scans des lames minces provenant de (a) IFT2, (b) I9 et (c) M97-2.

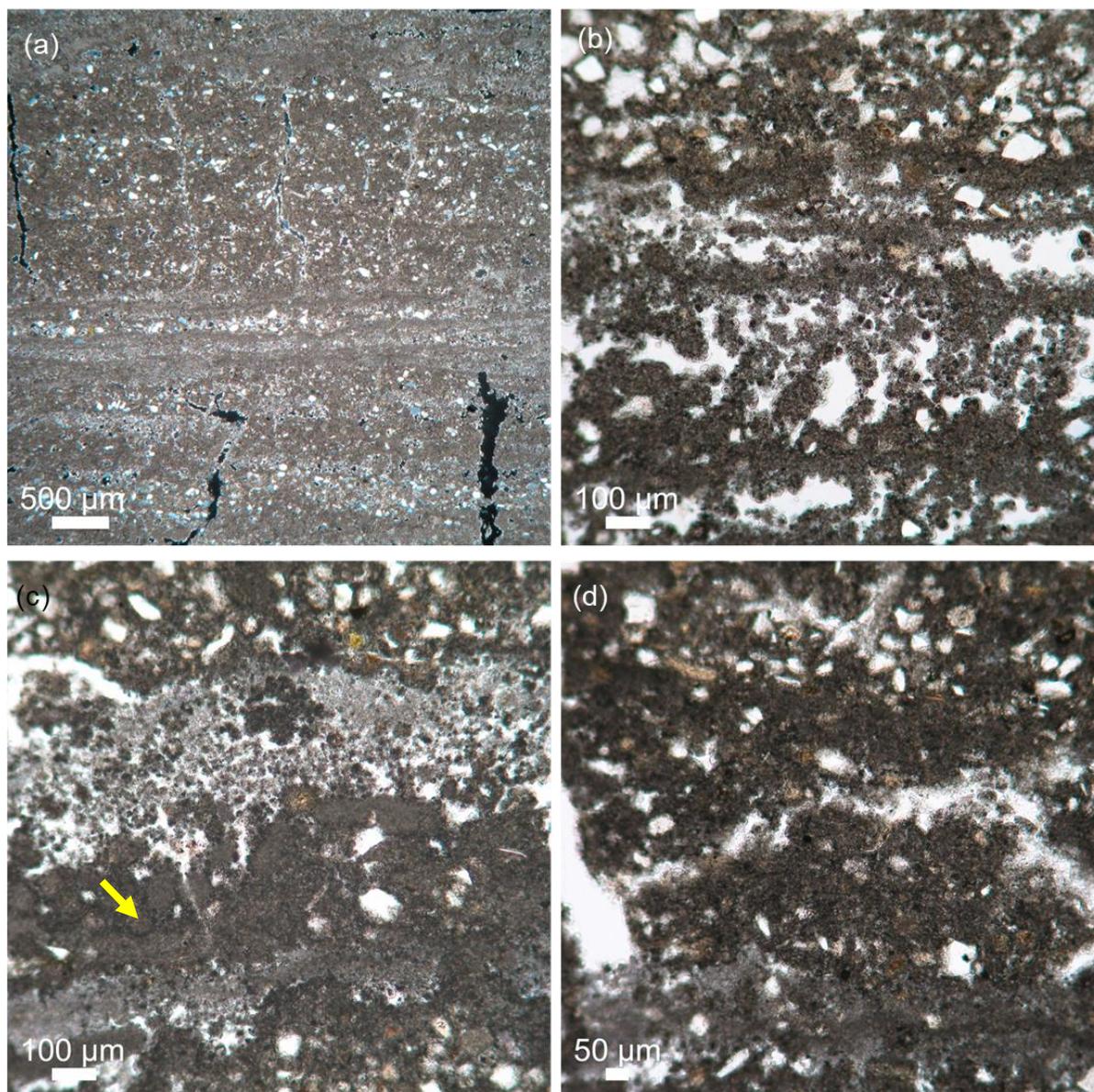


**Figure A.9.2** Observations au microscope optique. Image LNPA sauf cas contraire mentionné. (a) Alternance de lamines claires et sombres avec des épaisseurs irrégulières avec lamines claires plus poreuses. (b) Les grains détritiques (surtout quartz) suivent remarquablement les morphologies suggérant des biofilms souples. (c) Très fines laminations plutôt denses semblant marquer une succession rapprochée de films microbiens. (d) Lamines claires avec grains variés très petits et un fond subpéloïdal. (e) Microstructure en forme de chou-fleur observée entre au sein d'une structure laminée de type dôme. (f) Image en LPA. Observation d'une microstructure en forme de chou-fleur bien définie, entouré d'un fond recristallisé.

## Annexe 10. Lampedusa

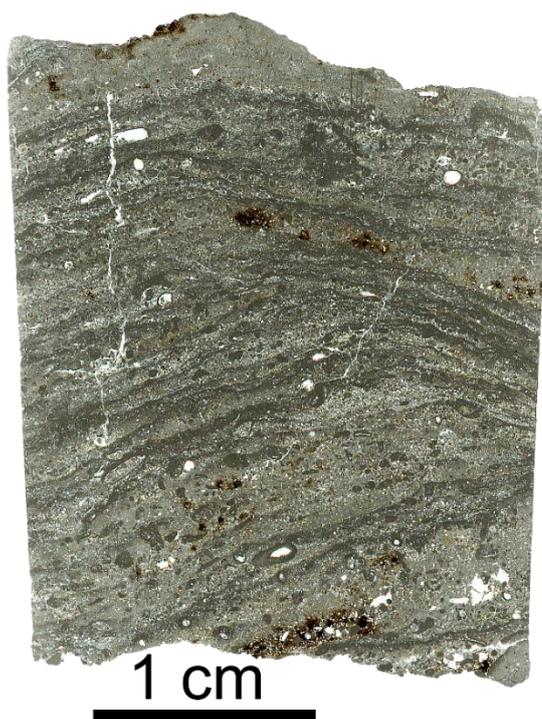


**Figure A.10.1** Scan d'une lame mince provenant de L6.

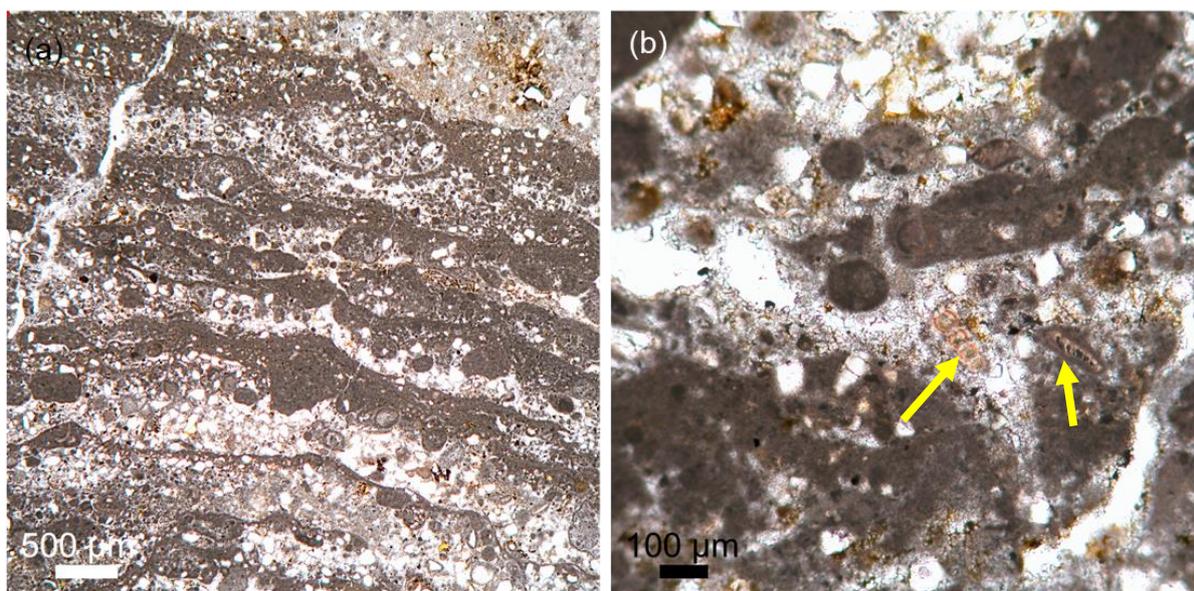


**Figure A.10.2** Observations au microscope optique. Image LNPA sauf cas contraire mentionné. (a) Image LPA. Alternance de lamines claires et sombres. Présence de films sombres très fins autour de grains détritiques non coalescents caractéristique d'un processus de piégeage et d'agglutination. (b) Amas de péloïdes verticaux faisant la jonction entre deux lamines. (c) Structure péloïdale avec impression de films noirs épousant ces structures (flèche jaune). (d) Arrangement de grains détritiques non coalescents par piégeage et agglutination au sein d'une lamine.

## Annexe 11. Salemi (Italie)



**Figure A.11.1** Scan d'une lame mince provenant de S3.



**Figure A.11.2** Observations au microscope optique. Image LNPA. (a) Lamines sombres et claires disposées de manière assez irrégulière. Les lamines sombres sont apparemment formées de films superposés ou englobant des petits paquets de grains détritiques. (b) Présence de microfossiles de foraminifères et des fragments de coquilles (flèches jaunes) dans les grains détritiques.

## Annexe 12. Minéralogie et chimie globale

La composition minéralogique globale ainsi que la composition en éléments majeurs des échantillons du Messinien ont été déterminées de la même manière que pour les échantillons de Mari Ermi. Se référer aux sections **2.2.1** et **2.2.2** du matériel et méthode de l'article Debrie et al. (2022) (cf **chapitre 4**)

Les diffractogrammes des échantillons OA2, OA11 et B25 sont regroupés dans la **Figure A.12.1**. Ils sont majoritairement composés de calcite. De l'aragonite est également présente dans OA11. Des pics mineurs de quartz sont présents pour les trois échantillons et des pics mineurs de dolomite sont présent pour l'échantillon B25.

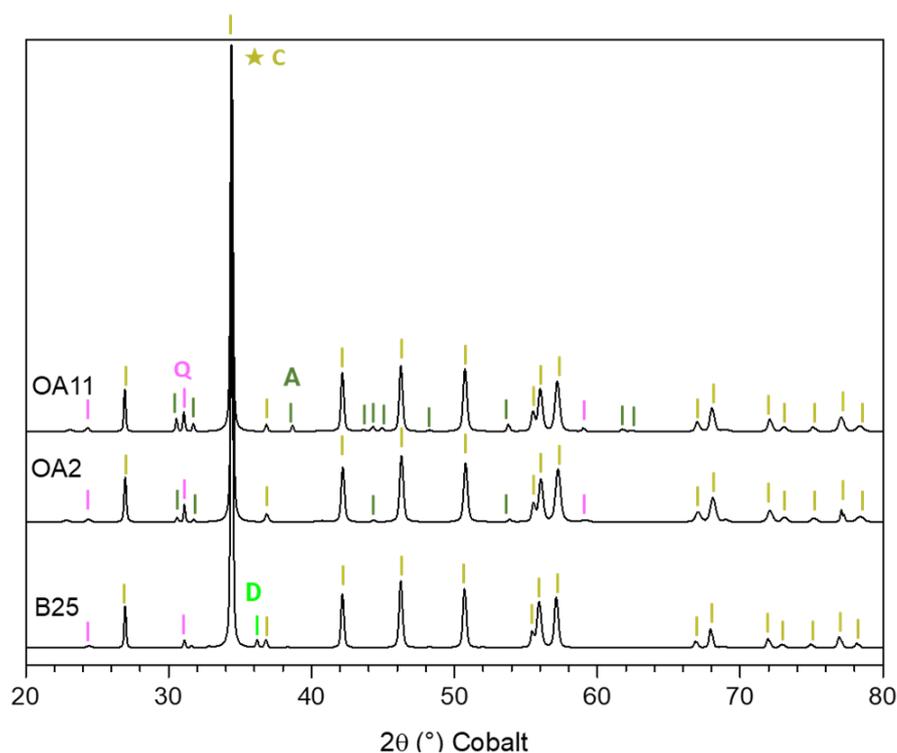
Les diffractogrammes des échantillons B15, B23 et A397 sont regroupés dans la **Figure A.12.2**. Ils sont composés majoritairement de calcite et de dolomite. Des pics mineurs de quartz sont également présents dans les trois échantillons.

Les diffractogrammes des échantillons L6, SP et A179 sont regroupés dans la **Figure A.12.3**. Ils sont majoritairement composés de dolomite avec un peu de calcite. Des pic mineurs de feldspaths sont présents pour les trois échantillons et des pics mineurs de quartz sont présents pour les échantillons L6 et A179. Enfin, des pics mineurs de birnessite (oxyde de manganèse) sont observés pour l'échantillon L6.

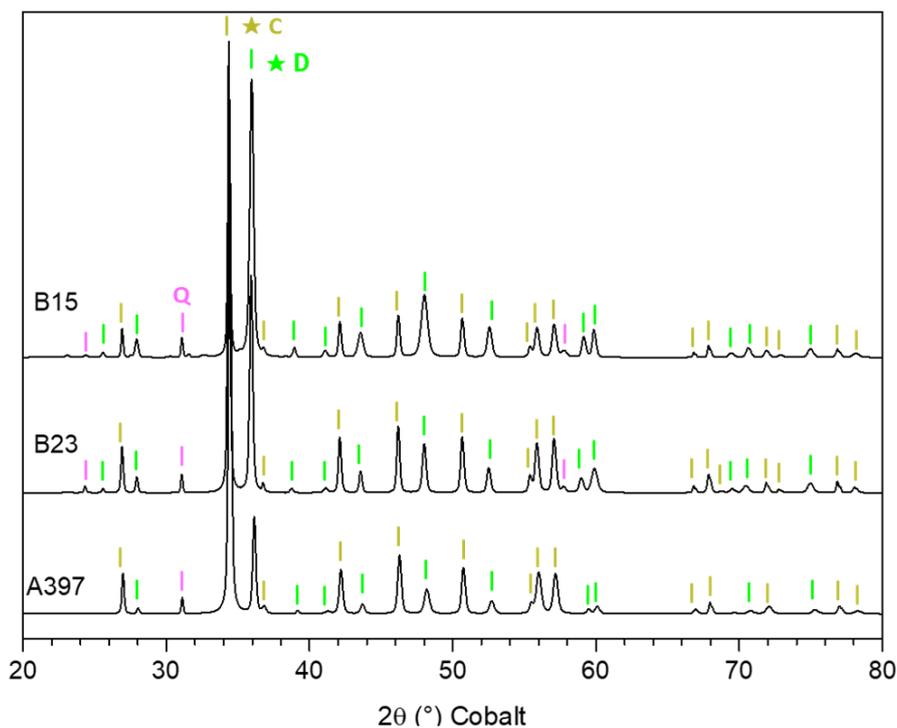
Les analyses chimiques en vrac des éléments majeurs sont présentées dans le **Tableau A.12.1**.

Par la suite, la composition en poids d'oxydes de ces échantillons a été représentée dans un diagramme ternaire Ca-Mg-Si. Tous les échantillons sont situés près de pôle Ca. Nous pouvons identifier trois clusters correspondant aux trois tendances majoritaires pour la distribution de ces échantillons :

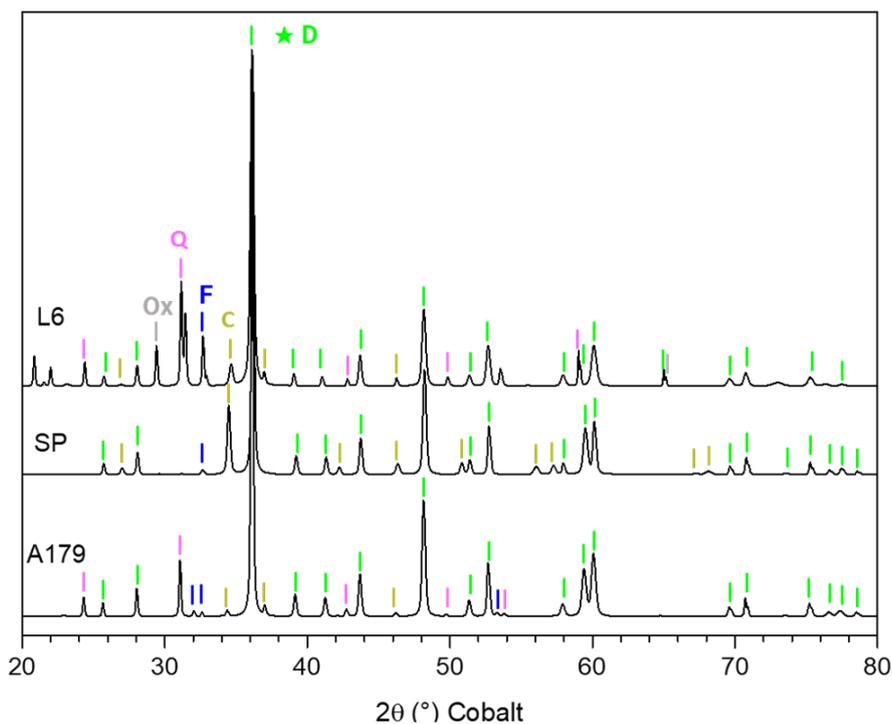
- 1) les échantillons sont situés le long de l'axe Ca-Si mais avec  $85\% < \text{CaO} < 0,95\%$ . Grâce aux analyses DRX, nous pouvons les interpréter comme des échantillons calcitiques un peu influencés par le détritisme. Cela correspond aux échantillons OA2, OA2 et B25.
- 2) Les échantillons sont situé le long de l'axe Ca-Mg avec  $10\% < \text{MgO} < 25\%$ . Ils ont également tous un poids en SiO. Grâce aux analyses DRX, nous pouvons les interpréter comme des échantillons contenant majoritairement de la calcite et de la dolomite avec une légère influence du détritisme. Cela correspond aux échantillons B15, B23 et A397.
- 3) Les échantillons ont un poids en magnésium compris entre  $30\% < \text{MgO} < 45\%$ . Excepté l'échantillon SP, les concentrations de L6 et A179 sont portées par du SiO. Grâce aux analyses DRX, nous pouvons les interpréter comme des échantillons majoritairement dolomitiques et influencés par le détritisme.



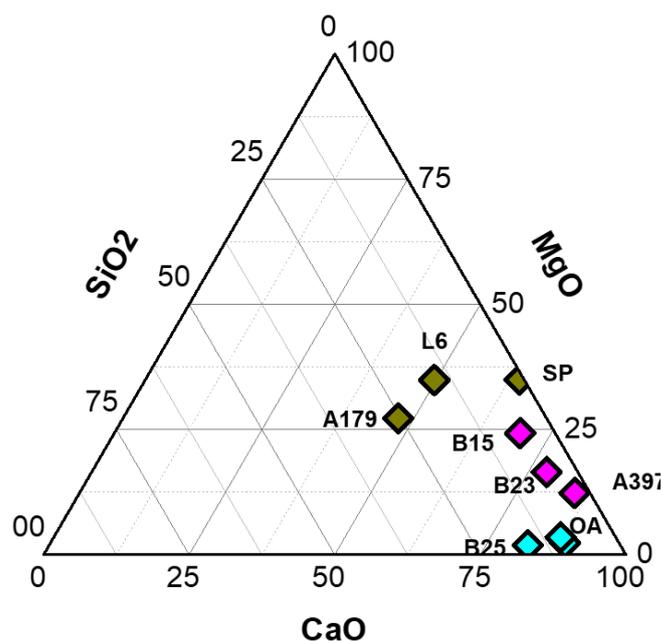
**Figure A.12.1** Diffractogrammes des échantillons OA11, OA2 et B25. Légendes : calcite (C) en vert kaki ; aragonite (A) en vert foncé ; dolomite (D) en vert fluo et quartz (Q) en rose. L'étoile indique la phase principale.



**Figure A.12.2** Diffractogrammes des échantillons B15, B23 et A397. Légendes : calcite (C) en vert kaki ; dolomite (D) en vert fluo et quartz (Q) en rose. Les étoiles indiquent les phases principales.



**Figure A.12.3** Diffractogrammes des échantillons L6, SP et A179. Légendes : dolomite (D) en vert fluo ; calcite (C) en vert kaki ; quartz (Q) en rose ; feldspath (F) en bleu et birnessite (Ox) en gris. L'étoile indique la phase principale.



**Figure A.12.4** Diagramme ternaire Mg-Ca-Si reportant la composition chimique globale (%) des stromatolites étudiées. Les échantillons ont été colorés en fonction de leur(s) phase(s) principale(s), en cyan les échantillons majoritairement calcitiques, en fushia les échantillons calcitiques et dolomitiques et en vert kaki, les échantillons majoritairement dolomitiques.

**Tableau A.12.1** Compositions en éléments majeurs des stromatolites du Messinien obtenues par des analyses chimiques globales. PF = perte au feu

	<b>SiO2</b>	<b>Al2O3</b>	<b>Fe2O3</b>	<b>MnO</b>	<b>MgO</b>	<b>CaO</b>	<b>Na2O</b>	<b>K2O</b>	<b>TiO2</b>	<b>P2O5</b>	<b>PF</b>	<b>Total</b>
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
B25	9,1	1,004	0,881	0,4771	1,068	47,045	0,062	0,237	0,091	< LD	39,65	99,6
OA2	5,13	1,08	1,063	0,4688	1,34	48,973	0,137	0,195	0,058	< LD	41,19	99,6
B15	3,15	0,791	0,389	0,2976	12,71	36,47	0,256	0,18	0,036	< LD	44,87	99,1
A397	1,43	0,381	0,156	< LD	6,737	46,44	0,024	0,053	0,021	< LD	44,23	99,4
SP	0,4	0,152	0,16	0,0578	18,095	33,275	0,139	< LD	< LD	< LD	46,94	99,2
A179	14,37	2,546	1,322	0,0677	15,325	26,595	0,65	0,433	0,235	< LD	38,5	100,0
OA11	5,31	1,188	0,706	0,3177	1,977	48,88	0,078	0,206	0,062	< LD	40,82	99,5
B23	2,88	0,637	0,706	0,078	8,902	42,05	0,118	0,157	0,035	< LD	43,78	99,3
L6	8,32	1,1	0,393	0,041	18,745	26,695	0,48	0,282	0,071	< LD	43,45	99,6

## Références

- André, J.-P., Cornée, J.-J., Saint Martin, J.-P., Lapointe, P., 2002. Organisation séquentielle de la plate-forme carbonatée messinienne du seuil pélagien à Lampedusa (Méditerranée centrale). *Geodiversitas* 24, 625–639.
- Bourillot, R., Vennin, E., Dupraz, C., Pace, A., Foubert, A., Rouchy, J.-M., Patrier, P., Blanc, P., Bernard, D., Lesseur, J., Visscher, P.T., 2020. The Record of Environmental and Microbial Signatures in Ancient Microbialites: The Terminal Carbonate Complex from the Neogene Basins of Southeastern Spain. *Minerals* 10, 276. <https://doi.org/10.3390/min10030276>
- Bourillot, R., Vennin, E., Rouchy, J.-M., Blanc-Valleron, M.-M., Caruso, A., Durllet, C., 2010a. The end of the Messinian salinity crisis in the western Mediterranean: Insights from the carbonate platforms of south-eastern Spain. *Sedimentary Geology* 229, 224–253.
- Bourillot, R., Vennin, E., Rouchy, J.-M., Durllet, C., Rommevaux, V., Kolodka, C., Knap, F., 2010b. Structure and evolution of a Messinian mixed carbonate-siliciclastic platform: the role of evaporites (Sorbas Basin, South-east Spain). *Sedimentology* 57, 477–512.
- Braga, J.C., Martin, J.M., Riding, R., 1995. Controls on Microbial Dome Fabric Development along a Carbonate-Siliciclastic Shelf-Basin Transect, Miocene, SE Spain. *PALAIOS* 10, 347. <https://doi.org/10.2307/3515160>
- Conesa, G., Saint Martin, J.-P., Cornée, J.-J., Muller, J., 1999. Nouvelles contraintes sur la crise de salinité messinienne par l'étude d'une plate-forme carbonatée marginale (bassin de Sorbas, Espagne). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIA-Earth and Planetary Science* 328, 81–87.
- Cornée, J.-J., Saint Martin, J.-P., Conesa, G., Münch, P., André, J.-P., Saint Martin, S., Roger, S., 2004. Correlations and sequence stratigraphic model for Messinian carbonate platforms of the western and central Mediterranean. *Int J Earth Sci (Geol Rundsch)*. <https://doi.org/10.1007/s00531-004-0400-0>
- Feldmann, M., McKenzie, J., 1997. Messinian stromatolite-thrombolite associations, Santa Pola, SE Spain: an analogue for the Palaeozoic? *Sedimentology* 44, 893–914. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3091.1997.d01-53.x>
- Garcia, F., Conesa, G., Münch, P., Cornée, J.-J., Saint Martin, J.-P., André, J.-P., 2004. Évolution des environnements littoraux du bassin de Melilla-Nador (Nord-Est Maroc) au Messinien supérieur entre 6,0 et 5,77 Ma. *Geobios* 37, 23–36. <https://doi.org/10.1016/j.geobios.2003.02.001>
- Martin, J.M., Braga, J.C., Riding, R., 1993. Siliciclastic stromatolites and thrombolites, late Miocene, SE Spain. *Journal of Sedimentary Research* 63, 131–139.
- Moissette, P., Cornée, J.-J., Mannai-Tayech, B., Rabhi, M., André, J.-P., Koskeridou, E., Méon, H., 2010. The western edge of the Mediterranean Pelagian Platform: a Messinian mixed siliciclastic-carbonate ramp in northern Tunisia. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 285, 85–103.
- Moissette, P., Saint Martin, J.-P., André, J.-P., Pestrea, S., 2002. L'association microbialite-bryozoaires dans le Messinien de Sicile et de Sardaigne. *Geodiversitas* 24, 611–623.
- Monty, C., 1989. Le Miocène supérieur de la région de Benjuzar (province d'Alicante), et stromatolithes associés. *Annales de la Société Géologique de Belgique* 109–114.
- Münch, P., Cornée, J., Féraud, G., Saint Martin, J., Ferrandini, M., Garcia, F., Conesa, G., Moullade, M., Roger, S., 2006. <sup>40</sup>Ar/<sup>39</sup>Ar precise dating of the upper Messinian sequences in the Melilla carbonate complex (NE Morocco): implications for the Messinian Salinity Crisis. *International Journal of Earth Sciences* 95, 491–503.

- Roep, Th.B., Dabrio, C.J., Fortuin, A.R., Polo, M.D., 1998. Late highstand patterns of shifting and stepping coastal barriers and washover-fans (late Messinian, Sorbas Basin, SE Spain). *Sedimentary Geology* 116, 27–56. [https://doi.org/10.1016/S0037-0738\(97\)00111-5](https://doi.org/10.1016/S0037-0738(97)00111-5)
- Roveri, M., Gennari, R., Lugli, S., Manzi, V., 2009. The Terminal Carbonate Complex: the record of sea-level changes during the Messinian salinity crisis. *GeoActa* 8, 63–77.
- Saint Martin, J.-P., 2001. Implications de la présence de mud-mounds microbiens au Messinien (Sicile, Italie). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIA - Earth and Planetary Science* 332, 527–534. [https://doi.org/10.1016/S1251-8050\(01\)01577-4](https://doi.org/10.1016/S1251-8050(01)01577-4)
- Saint Martin, J.-P., Cornee, J.-J., Conesa, G., Bessedik, M., Belkebir, L., Mansour, B., Moissette, P., Anglada, R., 1992. Un dispositif particulier de plate-forme carbonatée messinienne: la bordure méridionale du bassin du Bas-Chelif Algérie. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 2 315, 1365–1365.
- Saint Martin, J.P., Néraudeau, D., Belhadji, A., Belkebir, L., Benmoussa, A., Chaix, C., Conesa, G., Djebeli, C., Hlel, S., Mannäi-Tayech, B., Mansour, B., Merle, D., Moissette, P., Ribaud-Laurenti, A., Saint Martin, S., Videt, B., 2010. Vers une écostratigraphie du Messinien ? *Strati Paris Résumés*, 227–228.
- Saint Martin, J.P., Saint Martin, S., Debrie, J., *in prép.* Les stromatolites du Messinien de Tunisie. *Annales de Paleontologie*.
- Saint-Martin, J.-P., Cornée, J.-J., Muller, J., Conesa, G., André, J.-P., 1997. Les constructions microbiennes du Messinien de Méditerranée. *Geobios* 30, 463–470.





Les stromatolites sont des structures organo-sédimentaires laminées, formées grâce à l'activité microbienne. Présents depuis plus de 3,5 milliards d'années, ils comptent parmi les plus anciennes traces de vie connues sur Terre et ils fournissent des informations précieuses sur la paléobiodiversité et les paléoenvironnements. De nombreuses études ont permis de développer une connaissance approfondie sur les stromatolites actuels, marins et lacustres, pouvant servir de référence pour l'interprétation des stromatolites anciens. Cependant, peu de travaux concernent des stromatolites d'environnements côtiers et lagunaires, qui, pourtant, enregistrent des caractéristiques chimiques, biologiques et minéralogiques significatives. Or, certains stromatolites anciens, comme ceux du Messinien (~6 Ma), abondamment présents dans l'ensemble du bassin méditerranéen, se sont possiblement formés dans un environnement côtier et/ou lagunaire soumis à des variations de salinité. L'objectif central de cette thèse est de comprendre comment l'environnement de formation (comprenant les paramètres abiotiques et biotiques) est enregistré dans des stromatolites actuels de Sardaigne, formés dans des étangs côtiers soumis à de fortes variations de salinité. Ces stromatolites sont principalement composés de calcite magnésienne. Une approche corrélative multi-échelles a révélé une diversité de phases minéralogiques comprenant divers carbonates, des phases argileuses authigènes, des phases sulfatées et un peu de détritisme. Nous avons observé des variations et une distribution spécifique des rapports Mg/Ca et Mn/Fe dans les calcites. Les calcites les plus enrichies en Mg et avec le rapport Mn/Fe le plus grand étaient systématiquement distribuées autour des restes microbiens. Nous avons supposé que l'activité microbienne exerçait un contrôle majeur sur la substitution du Mg dans la calcite, avec peut-être, une dynamique des populations microbiennes, influencée par les variations de salinité. De même, les variations du rapport Mn/Fe ont été interprétées comme étant des indicateurs des variations des conditions oxiques/anoxiques pouvant survenir localement dans le biofilm. En revanche, en lien avec le suivi géochimique des eaux des lagunes, il a semblé qu'à grande échelle, la distribution minéralogique était liée aux variations de salinité induites par l'évaporation dans les lagunes. En parallèle, l'évaluation de la distribution spatiale des signaux de fluorescence dans le visible a montré une préservation exceptionnelle de pigments photosynthétiques chlorophylle/phycoyanine dans des échantillons sardes ainsi qu'une possible conservation de pigments photosynthétiques dégradés en lien avec l'activité microbienne dans les échantillons sardes et du Messinien.

Mots clés : stromatolite ; MEB-EDX quantifié ; fluorescence ; environnement lagunaire côtier ; évaporites ; Messinien

### **Tracing environmental conditions and biological activity in stromatolites formed in an evaporitic context: study of modern Sardinian stromatolites and Messinian stromatolites (6Ma).**

Stromatolites are laminated organo-sedimentary structures formed by microbial activity. Documented for more than 3.5 billion years, they are among the oldest known traces of life on Earth, and they provide precious information on paleobiodiversity and paleoenvironments. Modern marine and lacustrine stromatolites are well-studied, and they often use as references for the interpretation of ancient stromatolites. However, little is known about coastal and lagoonal stromatolites whereas they can record significant chemical, biological and mineralogical features. Yet, some ancient stromatolites, such as the Messinian ones (~6 Ma), abundantly present throughout the Mediterranean basin, are considered to have been formed in a coastal and/or lagoon environment subject to salinity variations. The main objective of this thesis is to understand how the formation environment (including abiotic and biotic factors) is recorded in modern sardinian stromatolites, formed in coastal ponds subjected to strong salinity variations. These stromatolites are mainly composed of magnesian calcite. A multi-scale correlative approach revealed a diversity of mineralogical phases including various carbonates, authigenic clays, sulfate phases, and some detritism. We observed variations and specific distribution of Mg/Ca and Mn/Fe ratios in the calcites. Calcites with the highest Mg enrichment and Mn/Fe ratio were systematically distributed around the microbial remains. We assumed that microbial activity had a major control on Mg substitution in calcite and that the dynamic of microbial populations, was influenced by the salinity variations. Similarly, Mn/Fe variations in calcite were interpreted as indicators of local oxidic/anoxic variations in the biofilms. Thanks to the geochemical monitoring of lagoon waters, we proposed that, on a large scale, the mineralogical distribution was related to salinity variations induced by evaporation in lagoons. Meanwhile, the evaluation of the spatial distribution of visible fluorescence signals showed the exceptional preservation of chlorophyll/phycoyanin pigments in Sardinian samples. It also revealed the potential preservation of degraded photosynthetic pigments related to microbial activity in Sardinian and Messinian samples.

Key words: stromatolite; quantified SEM-EDXS; fluorescence; coastal ponds; evaporites; Messinien