

**UNIVERSITE DE PARIS-SUD
U.F.R. SCIENTIFIQUE D'ORSAY**

T H E S E

présentée

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN SCIENCES
DE L'UNIVERSITE PARIS 11, ORSAY**
Discipline : Sciences de la Terre

par

Nury GUZMAN GUERRA

Soutenue le 12 juillet 2004

**Validation d'une approche scléroclimatologique sur la côte du Chili et
du Pérou par l'analyse microstructurale et biogéochimique
des coquilles du gastéropode *Concholepas concholepas* [Bruguère, 1789]**

Directeurs de thèse :

M. Jean-Pierre CUIF

M. Luc ORTLIEB

Devant le JURY formé par:

Mlle Annie GAUDICHET, Professeur à l'Université de Paris XII
M. Jean-Pierre CUIF, Professeur à l'Université de Paris Sud-XI
M. Bernard METIVIER, MC au Musée National d'Histoire Naturelle
M. Luc ORTLIEB, Directeur de Recherche de l'IRD
M. Georges RICHARD, Professeur à l'Université de La Rochelle

Président
Directeur
Examineur
Directeur
Rapporteur

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une coopération scientifique entre l'Université d'Antofagasta et l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement, connue auparavant sur le nom d'ORSTOM). Elle s'inscrit donc dans les travaux que l'Unité de Recherche "PALEOTROPIQUE" (Paléoenvironnements tropicaux et variabilité climatique) mène sur les côtes Pacifique de l'Amérique du Sud. Ce travail de thèse a été rendu possible par l'attribution d'une allocation de recherche de la part du Département de Soutien et Formation de l'IRD.

En premier lieu, j'ai plaisir à remercier sincèrement mes deux directeurs de Thèse, le Professeur Jean-Pierre Cuif (Université Paris-XI) et Luc Ortlieb (Directeur de Recherche IRD), qui m'ont guidée tout au long de l'étude, me faisant bénéficier de leur expérience et leurs connaissances, tout en me transmettant leur passion pour la science (et leur énergie dans certains moments de découragement).

Ensuite, je remercie mes deux rapporteurs, le Professeur G. Richard (Univ. de La Rochelle) et le Dr. M. Oliva (Institut de Recherches Océanologiques, Univ. d'Antofagasta) qui ont bien voulu consacrer du temps à la lecture de ma thèse et à formuler des remarques et observations qui m'ont été très utiles.

Je suis également reconnaissante aux autres membres du Jury, la Professeur A. Gaudichet (Univ. de Créteil) et Monsieur B. Métivier (Museum National d'Histoire Naturelle) qui m'ont fait l'honneur de m'écouter, avec mon accent chilien, un frais après-midi du début de l'été 2004.

Je tiens aussi à remercier deux grandes personnalités scientifiques qui ont joué un rôle fondamental dans le développement de la thématique de cette thèse. Je veux parler d'abord de Lex van Geen (Lamont Global Earth Observatory) qui m'a permis de participer à un projet IAI (Inter-American Institute for the study of Global Change) sur la comparaison des systèmes d'upwellings sur les côtes occidentales des Amériques. C'est sous sa direction que j'ai commencé à faire des analyses géochimiques à haute résolution sur des coquilles du "loco" et c'est dans son laboratoire, à Palisades (New York), que j'ai obtenu les premiers résultats encourageants sur l'utilisation du rapport Mg/Ca de la coquille de ce gastéropode comme indicateur de conditions environnementales. La seconde personnalité mentionnée est le Professeur José Rutllant (Directeur du Département de Géophysique de l'Univ. du Chili, Santiago), climatologue distingué, qui m'a beaucoup appris quant à l'importance des interactions océan-atmosphère et qui m'a guidé dans la programmation de certaines études de terrain qui n'ont pas été indiquées dans la présente thèse (Pepe, je te dois encore l'exploitation des données obtenues ... !).

Au cours de cette étude, j'ai bénéficié de nombreuses collaborations dans des domaines divers, notamment en géochimie et minéralogie. J'exprime ma gratitude à tous ceux qui m'ont aidé dans l'obtention et l'interprétation des observations et mesures, en particulier A. Denis et Y. Dauphin (du groupe « biominéralisation » de l'Université Paris XI, Orsay), C. Lazareth, M. García et M. Mandeng-Yogo (de l'UR PALEOTROPIQUE, Bondy), F. LeCornec et S. Caquineau (de l'US 094 de l'IRD, Bondy), C. Pierre et F. Saliège (du LODYC, à Paris VI).

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements aux nombreux collaborateurs chiliens et péruviens, chercheurs ou étudiants, qui ont été indispensables pour le bon déroulement des activités de terrain, notamment dans le cadre des opérations du Projet CONCHAS (programme PNEDC). Un grand merci donc à C. Bahamondes, K. Barahona, E. Montanares et J. Valdés (Univ. d'Antofagasta), A. Padilla (Univ. Arturo Pratt, Iquique), R. Zuleta (Syndicat de Pêcheurs de L'Ile Sta Maria), F. Rabasté (VCI IRD, Antofagasta), S. Zeballos et F. Velazco (IMARPE, Institut de la Mer du Pérou).

C'est aussi grâce à toute l'équipe PALEOTROPIQUE et à de nombreuses personnes du centre IRD de Bondy que j'ai travaillé dans une ambiance agréable, et que je me suis sentie accueillie dans ce pays qui n'est pas le mien. Merci Nathalie, Anne-Marie, Bruno, Patricia, Abdel, Françoise, Annick, Michel, Grégory, pour votre aide et votre affection maintes fois renouvelées au cours de ces dernières années. J'ai une pensée tout à fait spéciale pour Jacques Bertaux, qui nous a quitté de façon tout à fait prématurée, et qui m'a soutenue dans les premières études minéralogiques tout en me témoignant son amitié !

Aux amis, Gabriel, Alex, Radia, Seb, toujours prêts à me donner un coup de main, aussi bien pour me dépanner pour des problèmes informatiques, que pour me donner des conseils avisés dans divers domaines, je vous exprime ma reconnaissance.

Enfin, je ne peux manquer de mentionner ma profonde gratitude à ma famille, qui m'a encouragée à vivre ces années loin d'eux, loin de ma terre natale, pour mon seul bien. Mes remerciements vont aussi à ma famille "adoptive", qui m'a accueillie avec beaucoup de tendresse et de prévenance: Evelyn, Luc et Gilles, merci infiniment!

Même si tu n'es plus sur cette terre, je te dédie, Mamá, l'aboutissement de ce travail.

AVANT PROPOS

Cette étude vise à extraire les informations structurales (croissance) et chimiques (isotopes stables et éléments traces) du squelette calcifié (ou coquille) du gastéropode littoral *Concholepas concholepas* [Bruguère, 1789] qui seraient susceptibles de refléter certaines conditions, ou plus exactement variations de conditions, du milieu de vie des organismes. Le principal paramètre environnemental auquel nous nous attacherons est la température de l'eau durant le processus de biominéralisation.

Le travail s'inscrit dans le contexte général de la reconstruction de la variabilité climatique dans le milieu tropical et de l'étude des interactions océan-atmosphère dont le phénomène El Niño est l'une des manifestations les plus connues.

Initialement, j'avais pensé que des mesures géochimiques, élémentaires et isotopiques, effectuées sur une série de coquilles de l'espèce considérée, d'âges différents (holocènes et pléistocènes) seraient susceptibles de fournir des éléments permettant de reconstruire les variations de température du milieu (variations saisonnières et interannuelles, et anomalies thermiques liées à des événements El Niño) ou de conditions d'upwellings durant les périodes considérées. Je me suis vite rendu compte que le projet n'était pas seulement ambitieux, mais proprement irréalisable dans les délais d'une thèse doctorale. L'utilisation de coquilles d'une espèce de mollusque donnée dans une perspective de reconstruction de variations de conditions environnementales passées devrait s'appuyer, au préalable, sur l'établissement de la relation entre un marqueur géochimique ("proxy") et un paramètre physico-chimique déterminé de l'environnement (température, salinité, intensité des résurgences d'eau froide, etc.). Or dans le cas d'une espèce (*C. concholepas*) dont on ne savait rien, cette validation de proxies géochimiques représentait en soi un travail de plusieurs années, et ne constituait pas une simple étape préliminaire ou un travail de routine. En commençant cette étude, dans l'unité de biominéralisation de l'Université d'Orsay, sous la direction du Prof. J.P. Cuif, j'ai vite réalisé qu'en fait cette approche de validation de proxies présentait un caractère novateur, à plus d'un titre.

Au cours de cette étude, j'ai dû apprendre beaucoup, auprès des deux laboratoires qui m'ont encadrée (à l'Université de Paris XI et dans les laboratoires de l'UR PALEOTROPIQUE, IRD Bondy), dans des domaines pour lesquels je n'étais pas (ou mal) préparée, moi qui suis de formation biologiste et ingénieur en aquaculture. Je suis reconnaissante à tous ceux qui m'ont aidé, avec patience, à me former en pétrographie, minéralogie, géochimie, traitement de données, etc. Ce travail m'a permis de combiner des opérations de terrain (marquages, mesures physico-chimiques), des expériences de laboratoire (cultures des mollusques), de très nombreuses observations microscopiques dans des conditions variées (MEB, fluorescence, microscopie optique avec lumière incidente, etc.) et des mesures géochimiques sur des équipements plus ou moins sophistiqués.

Finalement, je suis loin d'avoir atteint les objectifs que je pensais que l'on pouvait obtenir, il y a un peu plus de trois ans... Mais, au terme de ce travail, je crois avoir commencé à comprendre comment croît une coquille de *C. concholepas* et combien il est illusoire de penser qu'il suffit de mesurer de variations d'un élément au sein de la calcite de cette coquille pour reconstituer les événements El Niño des millénaires passés.

TABLE DE MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES TABLEAUX	17
CHAPITRE I: INTRODUCTION	19
I.1. Généralités sur la formation des tests de mollusques.....	19
1.1.1. Biominéralisation des tests de mollusques.....	19
1.1.2. Les mollusques et les études sclérochronologiques	23
I.2. Les proxies géochimiques dans les carbonates biogéniques.....	23
1.2.1. Variations de composition isotopique et de teneurs en éléments mineurs et traces	24
1.2.2. Mise en évidence d'effets physiologiques et autres impacts biologiques.....	26
1.2.3. La notion d'« effet vital ».....	27
I.3. L'espèce étudiée	28
1.3.1. Position taxonomique	28
1.3.2. L'importance économique de ce mollusque	32
1.3.3. Le cycle vital	35
1.3.4. La croissance	37
1.3.4.1. Travaux antérieurs sur les modèles de croissance	37
1.3.4.2. Relations croissance/latitude et croissance/température.....	38
1.3.4.3. Une autre approche, microstructurale, de la croissance.....	39
1.3.5. L'utilisation de coquilles archéologiques de <i>C. concholepas</i> comme marqueurs paléoenvironnementaux	40
1.3.5.1. Les travaux de Falabella <i>et al.</i> (1991).....	40
1.3.5.2. Les études sur des coquilles de 10 000 ans BP, à Antofagasta.....	41
1.3.5.3. Des mesures isotopiques récentes sur des coquilles de l'Holocène moyen du sud Pérou.	45
I.4. Variations climatiques et ENSO	47
1.4.1. La circulation atmosphérique et océanique dans les tropiques et ENSO.....	47
1.4.2. Variabilité dans le temps du système ENSO.....	51
I.5 La zone d'étude.....	53
1.5.1 .Le contexte climatique de la côte du Désert d'Atacama.....	53
1.5.2. La circulation océanique locale et l'upwelling	54
1.5.3. La température superficielle de la mer à Antofagasta.....	56

CHAPITRE II: MICROSTRUCTURE ET MINERALOGIE DES COQUILLES

DE <i>C. CONCHOLEPAS</i>	61
II.1. Méthodologies utilisées	61
II.1.1. Préparation des lames minces.....	61
II.1.2. Préparation des sections polies, attaquées ou non	63
II.1.3. Etude minéralogique par microcopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	65
II.1.4. Observations au MEB et au Microscope à force atomique	66
II.2. Composition minéralogique et microstructure	66
II.2.1. Bref rappel sur les relations entre microstructure et minéralogie des coquilles de mollusques.....	66
II.2.2. Composition minéralogique de <i>C. concholepas</i>	68
II.2.2.1. Minéralogie des coquilles actuelles.....	68
II.2.2.2. Analyses minéralogiques ponctuelles dans des coquilles fossiles	74
II.2.3. Microstructure de la couche aragonitique	79
II.2.4. Microstructure de la couche calcitique.....	83
II.2.5. Altérations microstructurales dans des coquilles pléistocènes	88
II.3. Conclusions	91

CHAPITRE III: MODALITES DE LA CROISSANCE

DES COQUILLES DE <i>C. CONCHOLEPAS</i>	95
III.1. Les incertitudes sur les rythmes de croissance de <i>C. concholepas</i>	95
III.1.1. Les lamelles protubérantes	95
III.1.2. L'étude de S. Adlerstein (1987)	96
III.1.3. Incréments de croissance et échelles d'observation	99
III.2. Marquage et étude de croissance d'organismes dans leur milieu naturel.....	100
III.2.1. La première expérience à l'Ile Santa Maria	100
III.2.2. Observations microscopiques sur la coquille récupérée	102
III.2.3. Autres expériences en cours au Pérou.....	105
III.3. Marquage chimique et suivi de croissance d'organismes en laboratoire.....	107
III.3.1. Conditions expérimentales	107
III.3.1.1. Le dispositif utilisé.....	107
III.3.1.2. Les spécimens étudiés.....	108
III.3.1.3. Alimentation des organismes.....	108
III.3.2. Les marquages aux fluorochromes.....	111

III.3.2.1. Sélection du fluorochrome et détermination des temps et concentrations	111
III.3.2.2. Observation des marques fluorescentes dans les coquilles marquées.....	113
III.3.3. Les suivis de croissance après marquage	114
III.4. Etablissement des bases d'une sclérochronologie de <i>C. concholepas</i>	116
III.4.1. Variation des taux de croissance en novembre 2002 de la coquille M62.....	116
III.4.2. Comparaison des taux de croissance de quatre coquilles en novembre 2002	118
III.4.3. La croissance quotidienne des coquilles marquées	120
III.4.4. Autres résultats de l'expérience de marquages périodiques de 2002	124
III.5 Conclusion	125
 CHAPITRE IV: ETUDES GEOCHIMIQUES PRELIMINAIRES DE COQUILLES	
DE <i>C. CONCHOLEPAS</i>	129
IV.1. Mesures géochimiques globales des composants de la coquille.	129
IV.1.1. Analyse de la partie organique des coquilles	130
IV.1.1.1. Importance de la fraction organique des biominéraux.....	130
IV.1.1.2. Dégradation précoce de la matière organique.....	130
IV.1.1.3. Etude des acides aminés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	133
IV.1.2. Analyses globales de la partie minérale (calcite et aragonite) par microsonde.....	135
IV.1.3. Composition géochimique de la calcite d'une coquille actuelle par ICP-MS.....	137
IV.2. Etudes ponctuelles de la composition chimique élémentaire	141
IV.2.1. Analyses sériées par IPC-MS	142
IV.2.2. Analyses par ICP-MS à ablation laser.....	144
IV.2.3. Analyses par microsonde électronique.....	156
IV.2.3.1. Conditions analytiques.....	156
IV.2.3.2. Le magnésium.....	157
IV.2.3.3. Le strontium	160
IV.2.3.4. Comparaison microsonde/ablation laser	162
IV.3. Etude géochimique par spectrométrie de masse (isotopes de l'oxygène).....	162
IV.3.1. Quelques rappels théoriques.....	162
IV.3.2. Analyses spectrométriques classiques avec échantillonnage au Micromill	165
IV.3.3. Analyse localisée à très haute résolution, sur SIMS (CRPG, Nancy).....	171
IV.4. Interprétation des variations de la composition chimique des coquilles.....	173

CHAPITRE V: CONCLUSIONS	177
V.1. Les atouts de l'espèce étudiée	177
V.2. La structure de la coquille	178
V.3. Compréhension des modalités de croissance	179
V.3.1. Justification des études microstructurales	179
V.3.2. Croissance linéaire et paramètres de croissance traditionnels.....	180
V.3.3. Modalité de croissance à l'échelle journalière	182
V.3.4. Variations de vitesses de croissance.....	184
V.3.5. Croissance et biominéralisation.....	185
V.3. Variations de composition géochimique dans les coquilles.....	186
V.4. Perspectives d'études futures	187
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 198
 ANNEXES	 201

LISTE DES FIGURES

Chapitre I

Figure 1.1. Section schématique de <i>Mytilus</i> montrant la disposition des couches de la coquille et du manteau, sur la bordure externe (palléale) (d'après Klein <i>et al.</i> , 1996).	19
Figure 1.2. Processus de biominéralisation « biologiquement induits » selon Weiner et Dove, 2003.....	20
Figure 1.3. Processus de biominéralisation «biologiquement contrôlés extracellulaires», selon Weiner et Dove, 2003..	21
Figure 1.4. Processus de biominéralisation «biologiquement contrôlés intracellulaires» selon Weiner et Dove (2003)..	22
Figure 1.5. Relations entre les rapports Mg/Ca et Sr/Ca et la température dans la calcite du mollusque <i>Pinna</i> , selon Richardson et al (2003).....	24
Figure 1.6. Comparaison de reconstructions paléothermo-métriques fondées sur les variations de teneurs en Mg (cercles ouverts) et les teneurs en isotopes de l'oxygène (ronds fermés) dans la calcite de <i>Mytilus trossulus</i> (Klein <i>et al.</i> , 1996a).....	26
Figure 1.7. Non-permanence de la relation entre Mg/Ca mesurée dans une coquille de <i>Mytilus trossulus</i> et variations de température du milieu (d'après Vander Putten <i>et al.</i> , 2000).....	27
Figure 1.8. Gamme de variation de température de croissance dans <i>Phacosoma japonicum</i> , selon Schöne <i>et al.</i> , 2003.	27
Figure 1.9. <i>Concholepas concholepas</i> , l'espèce étudiée. Ce mollusque est couvert d'une coquille grande et épaisse et possède un large pied qui lui permet de se mouvoir rapidement et d'adhérer fortement aux substrats rocheux.	30
Figure 1.10. <i>Concholepas kieneri</i> Hupé, ancêtre probable de <i>C. concholepas</i> , trouvé dans le Mio-pliocène du nord Chili et disparu avant le début du Quaternaire. Echelle en mm.	30
Figure 1.11. Distribution géographique actuelle de <i>C. concholepas</i> , principalement dans la province malacologique péruvienne.....	31
Figure 1.12. Vue ventrale du <i>C. concholepas</i> : pied (P) rétracté permettant d'observer le manteau (M), le siphon (S) et l'opercule corné (Op).	32
Figure 1.13. Coquille et pied du "loco" ; ressource intensément exploitée sur les côtes du Chili et du Pérou, rappelant l'abalone de Californie.	32
Figure 1.14. Accumulation monospécifique de coquilles dans le site "Quebrada Los Burros", 18°S, Pérou (~8500-3500 BP) (Photo: D. Lavallée).....	33
Figure 1.15. Captures (en tonnes) de <i>C. concholepas</i> au Chili pendant la période 1951-1998 (source: IFOP-Chile, http://www.ifop.cl).....	34
Figure 1.16. Schéma du cycle de vie de <i>C. concholepas</i>	35
Figure 1.17. Le principal paramètre morphométrique utilisé par les auteurs chiliens est la longueur péristomale Lp (cf. Fig 1.18). Lu est le paramètre utilisé dans les études des incréments de la coquille le long de l'axe de croissance maximale.	37
Figure 1.18. Différentes équations de von Bertalanffy et Gompertz, selon les localités d'étude, pour <i>C. concholepas</i> , avec indication des paramètres Lpmax et k (coefficient de Brody).....	38
Figure 1.19. Croissance de <i>C. concholepas</i> dans deux systèmes de culture et comparaison avec des données enregistrés en milieu naturel (d'après Varela & López, 1989).....	39
Figure 1.20. Mesures isotopiques dans une coquille de <i>C. concholepas</i> moderne comparés avec une "courbe théorique" de salinité et température, et avec des	

mesures mensuelles de température de la mer, modifié selon Falabella <i>et al.</i> (1991).	41
Figure 1.21. Localisation du site archéologique "Chimba 13" et des niveaux d'occupation humaine soulignée par des coquilles de mollusques.	42
Figure 1.22. Variations isotopiques (oxygène et carbone) mesurées dans deux coquilles modernes de <i>C. concholepas</i> provenant de Caleta La Chimba, baie d'Antofagasta (cf. localisation Fig. 1.18) (Ortlieb et al. non publié).	43
Figure 1.23. Variations isotopiques (oxygène et carbone) mesurées dans des coquilles fossiles de <i>C. concholepas</i> provenant du site archéologique "Chimba 13" (cf. localisation Fig. 1.16) (modifié de Ortlieb et al (1997))	44
Figure 1.24. Comparaison des gammes de variation et valeurs isotopiques moyennes (oxygène et carbone) mesurées dans des coquilles modernes (à Antofagasta et Las Cruces, en bleu) et dans le site archéologique de Chimba 13, datant de la transition Pléistocène-Holocène (en vert).	45
Figure 1.25. Section exposée du site "Km4" au nord d'Ilo, Pérou, où furent prélevées les coquilles de <i>C. concholepas</i> analysées par Kennett (2003).	46
Figure 1.26. Variations de la composition isotopique de l'oxygène mesurées dans deux coquilles (9 et 4) provenant du site archéologique "Km4" (d'après Kennett, 2003).	46
Figure 1.27: Indice de l'Oscillation Australe (SOI), entre 1968 et 1998, et son étroite relation avec les anomalies thermiques de la partie centrale de l'océan Pacifique équatorial dans la zone dénommée Niño3.4 (cf. Fig. 1.29).	48
Figure 1.28. Circulation dans le Pacifique équatorial (d'après McGregor et Nieuwolt, 1998).	48
Figure 1.29. Conditions atmosphériques et océaniques normales dans le Pacifique central.	49
Figure 1.30 Conditions El Niño dans le Pacifique central	50
Figure 1.31: Zones géographiques du Pacifique équatorial dans lesquelles les mesures océanographiques sont utilisées pour définir les anomalies « El Niño ».	50
Figure 1.32. Conditions La Niña dans le Pacifique central.	51
Figure 1.33. Distribution des récifs coralliens autour du monde (SeaWorld et BuschGardens, 2002).	52
Figure 1.34. Principaux courants le long de la côte ouest de l'Amérique du Sud durant l'hiver (gauche) et l'été (droite) (Strub <i>et al.</i> , 1998).	55
Figure 1.35. Images satellitaires de la température superficielle de la mer dans la zone d'Antofagasta (23°S).	56
Figure 1.36. Variation mensuelle de la température superficielle de la mer à Antofagasta (données CENDOC).	57
Figure 1.37. Variation interannuelle de la température superficielle de la mer à Antofagasta entre 1987 et 2001 (données CENDOC).	58
Figure 1.38. Variations de température de la mer à différentes profondeurs (0m, 3m, 9m, et 15 m) durant la période 21 décembre 1999 et 15 janvier 2000, au sud de la Baie d'Antofagasta (Kaplan <i>et al.</i> , 2003).	59

Chapitre II

Figure 2.1: Illustration des coupes réalisées sur un coquille de référence.	62
Figure 2.2. Coupe le long de l'axe de croissance maximal d'une coquille actuelle, partie antérieure. Cette coquille présente des incrustations par des endobiontes dans la zone proche de l'apex.	62
Figure 2.3. Lame mince de <i>C. concholepas</i> .	63

Figure 2.4. Section polie : échantillon inclus dans la résine époxy et ultérieurement poli à l'abrasif.	64
Figure 2.5. "Peel" d'acétate d'une coquille actuelle de <i>C. concholepas</i>	65
Figure 2.6. Exemple de série de spectres obtenus par analyse spectrométrique (FTIR) à l'aide d'un microscope couplé.	66
Figure 2.7. Représentation schématique de l'arrangement géométrique caractéristique de la structure lamellaire croisée (in Dauphin <i>et al.</i> , 2003).	68
Figure 2.8. Photographie prise au microscope optique (nicols croisés) d'une coquille actuelle du sud Pérou (PS18).	69
Figure 2.9. Coquille de site archéologique (3 ka) (PS 22) du sud Pérou.	69
Figure 2.10. Spectres FTIR montrant la minéralogie calcitique des couches claires de la Fig. 2.9 (éch. 9 et 11) dans la région de l'apex d'une coquille fossile. Le reste des unités échantillonnées sont aragonitiques.	70
Figure 2.11. Coupe détaillée de la couche interne aragonitique, près de l'apex d'une coquille actuelle (AC3b) de la baie d'Antofagasta.	70
Figure 2.12. Spectres IR des couches aragonitiques les plus externes (1 à 5) indiquées dans la section d'une coquille actuelle (AC3b), Fig. 2.11.	71
Figure 2.13. Spectres IR des couches aragonitiques les plus internes (6 à 10) indiquées dans la section d'une coquille actuelle (AC3b), Fig. 2.11.	71
Figure 2.14. Zone de contact nette entre la couche interne aragonitique et la couche externe calcitique, à grands cristaux. Lamelle ultra-mince.	72
Figure 2.15. Transition inhabituelle, en éventail, entre les couches aragonitique et calcitique dans une coquille actuelle de la baie d'Antofagasta (AC3).	72
Figure 2.16. Section d'une coquille actuelle de <i>C. concholepas</i> (AC3) effectuée près du bord palléal.	73
Figure 2.17. Analyses FTIR montrant la composition aragonitique des échantillons 1, 2, 4, 6, et 7, localisés dans la Fig. 2.16. Coquille actuelle de la baie d'Antofagasta (AC3a).	73
Figure 2.18. Analyses FTIR montrant la composition calcitique des échantillons 3, 5, 8, 9 et 11, localisés dans la Fig. 2.16. L'échantillon 10 a été prélevé juste au contact des deux couches et reflète un mélange minéralogique. Coquille actuelle de la baie d'Antofagasta (AC3a).	74
Figure 2.19. Section d'une coquille fossile montrant la structure de la couche interne aragonitique (échantillons 1 à 4) et de la couche prismatique externe faite de calcite (échantillons 6 et 7) (cf. Fig. 2.20). Coquille 6B2 du site archéologique Chimba 13 (10 ka).	75
Figure 2.20. Spectres IR de diverses unités de la coquille fossile (10 ka) identifiées dans la Fig. 2.19.	75
Figure 2.21. Détail de la zone de contact entre couche aragonitique interne et couche calcitique externe, à proximité du bord palléal, dans une coquille (6B2) du site Chimba 13.	76
Figure 2.22. Spectres IR des échantillons localisés dans la Fig. 2.21. Coquille fossile (6B2) du site Chimba 13.	76
Figure 2.23. Section proche de l'apex d'une coquille de site archéologique (~3 ka) du sud Pérou (PS 22) qui a subi une forte érosion mécanique et une incrustation de micro-organismes. La Fig. 2.24 indique que les couches 1, 2 et 3 sont restées aragonitiques.	77
Figure 2.24. Spectres FTIR indiquant la permanence de la composition aragonitique des couches initialement aragonitiques (éch. 1, 2 et 3) dans une coquille fossile	

largement érodée (PS 22). L'échantillon 4 correspond à une couche d'altération avec intervention d'organismes incrustants.....	77
Figure 2.25. Comparaison de spectres obtenus par microscopie FTIR dans des coquilles actuelles du Chili (AC3a) et du Pérou (PS22) et de coquilles de sites archéologiques du Pérou (PS 22) et du Chili (6B2, La Chimba 13), selon les couches aragonitique (en haut) et calcitique (en bas).....	78
Figure 2.26. Détail de la structure lamellaire croisée vue au MEB, avec cristaux d'aragonite en chevrons.....	79
Figure 2.27: Détail de la structure lamellaire croisée, vue au MEB, au contact de deux sous-couches à orientations distinctes des axes de cristallisation.	80
Figure 2.28. Unités de premier ordre, sous forme de baguettes parallèles, de la structure lamellaire croisée de la couche aragonitique. Vue au MEB. Coquille actuelle du Chili (AC3a).....	80
Figure 2.29. Détail des unités de premier ordre dans la structure lamellaire croisée, montrant les empilements d'unités de deuxième ordre. Vue au MEB. Coquille actuelle PS18 du sud Pérou.	81
Figure 2.30. Couche aragonitique à structure lamellaire croisée. A : Lamelles de premier ordre (verticales) composée de couches du second ordre (horizontales), vue au MEB. B : Lamelle de premier ordre formée de cristallites du second ordre, vue à l'AFM. C : Détail de (B) montrant la structure complexe des cristallites de second ordre. D : Détail de (C) montrant l'hétérogénéité des lamelles de troisième ordre. E : Vue en image de phase à l'AFM de (D). F : Lamelle du 4e ordre, vue en image de phase à l'AFM. G : Hétérogénéité des éléments du 4e ordre, et variété de leur forme en fonction de l'angle de vue, image de phase à l'AFM. H : Subdivision des éléments du 4e ordre, image de phase à l'AFM. I : Détail de la structure des unités de 4e ordre, image de phase à l'AFM (Dauphin <i>et al.</i> , 2003).....	82
Figure 2.31. Structure interne complexe et variété des formes apparentes des unités de 3e ordre dans la couche aragonitique à structure lamellaire croisée, selon l'angle de vue. Image de phase à l'AFM (Dauphin <i>et al.</i> , 2003).	83
Figure 2.32. Bordure d'une coquille actuelle de la région d'Antofagasta (MA3) montrant la couche calcitique externe, composée de larges prismes perpendiculaires aux lignes de croissance. Dans cette partie de la coquille, la couche aragonitique interne se termine en biseau. lame mince vue en nicols croisés.	83
Figure 2.33. Variation de taille des cristaux de calcite, dans la couche externe, entre la zone de l'apex (A) et la partie médiane d'une coquille (B). Vue en lumière analysée (nicols croisés). P : prismes calcitiques, CL : structure lamellaire croisée de la couche aragonitique (Dauphin <i>et al.</i> , 2003).....	84
Figure 2.34. lame ultra-mince montrant l'irrégularité des formes des cristaux de calcite, la variabilité des orientations des axes de cristallisation, et la décroissance de la taille moyenne des prismes vers le bord externe de la coquille (en haut).	84
Figure 2.35. Vues en nicols croisés (à gauche) et en lumière non analysée (droite) d'un même fragment de la couche calcitique prismatique (p). Les lignes en tirets qui soulignent les lignes de croissance, sont souvent orthogonales par rapport aux cristaux de calcite. CL : limite de la couche aragonitique (structure lamellaire croisée) (Dauphin <i>et al.</i> , 2003).	85
Figure 2.36. Détail au MEB de la couche calcitique prismatique de <i>C. concholepas</i> , et de l'absence de microstructure visible. Coquille actuelle du Chili (ISM1).....	85

Figure 2.37. Au MEB, les seules structures visibles dans la couche calcitique sont les lignes de croissance, ici légèrement ondulées. Les cristaux, perpendiculaires à ces lignes ne sont pas observables.	86
Figure 2.38. Fort grandissement au MEB (1015x) de la Fig. 2.37, permettant de discerner des cristaux allongés de calcite qui ne présentent pas d'orientation préférentielle..	86
Figure 2.39. Observations sur la couche calcitique externe de <i>C. concholepas</i> . A : Au MEB les grands cristaux (visibles en lumière transmise) ne sont pas observables, mais les lignes de croissances sont apparentes. B, C et D : Détails de (A) avec petits cristallites aciculaires ordonnés perpendiculairement ou obliquement par rapport aux lignes de croissances. E : Cristallites aciculaires le long d'une ligne de croissance à proximité du bord palléal, vue à l'AFM. F : Cristallites aciculaires composées de petites unités alignées, vue à l'AFM. G et H : Cristallites de deux tailles distinctes, entourées d'une fine couche de matière organique (?), image de phase à l'AFM. I : Détail des cristallites (à structure composite ?) entourées de leur enveloppe sombre, image de phase à l'AFM. (Dauphin <i>et al.</i> , 2003).	87
Figure 2.40. Section polie et attaquée montrant les arrangements géométriques des cristallites aciculaires de calcite, ordonnées le long des incréments de croissance. Image de phase à l'AFM (Dauphin <i>et al.</i> , 2003).	88
Figure 2.41. Aspects de la structure lamellaire croisée dans la couche aragonitique d'une coquille du Pléistocène supérieur (C93-58).	89
Figure 2.42. Vue au MEB de cristaux de calcite dans une coquille du Pléistocène supérieur (C93-58).	90
Figure 2.43. Vue au MEB de cristaux de calcite dans une coquille du Pléistocène inférieur (C94-135).	90
Figure 2.44. Lignes de croissance visibles dans la couche calcitique externe, vue au microscope avec nicols croisés.	92

Chapitre III

Figure 3.1. Structure générale de la coquille <i>C. concholepas</i> , montrant les lamelles protubérantes sub-concentriques par rapport à l'apex, visibles en coupe (b, cercle blanc), et les côtes radiales. Coquille actuelle de l'Ile Santa Maria (Antofagasta, Chili) (ISM1-7).	96
Figure 3.2. Vue en 3D d'un fragment de coquille, à proximité du bord palléal (à gauche), montrant la structure des lamelles protubérantes au sein de la couche calcitique. Coquille actuelle, Ile Santa Maria (Antofagasta, Chili).	96
Figure 3.3. Représentation schématique de la structure d'une coquille de 6 ans d'âge, avec indication des « winter checks » (W) formés chaque hiver, selon Adlerstein (1987). U= Umbo (apex), L= bord postérieur, A= direction de croissance de la zone antérieure.	97
Figure 3.4. Localisation de l'Ile Santa Maria, dans la région d'Antofagasta où fut réalisée la première expérience de marquage in situ de <i>C. concholepas</i>	100
Figure 3.5. Structures externes de la coquille de <i>C. concholepas</i> . La ligne bleue correspond à la section limée durant la première expérience de marquage. Coquille ISM5-1.	101
Figure 3.6. ISM5-1, seule coquille retrouvée après l'opération de marquage à l'Ile Santa Maria. Le cercle rouge montre la portion construite par l'organisme en deux mois maximum.	102

Figure 3.7. Observation au MEB du bord palléal de la coquille ISM5-1, avec indication de la forme initiale de la coquille avant limage (en rouge), et de la trace du limage (en bleu).....	103
Figure 3.8. « Peel » d'acétate du bord palléal de ISM5-1, montrant les mêmes phénomènes de réparation, puis de reprise de la croissance, que la Fig. 3.7, en un point voisin du bord de la même coquille.	103
Figure 3.9. Agrandissement photographique de photo MEB (cf. Fig. 3.7) permettant l'identification et le comptage d'incréments de croissance « unitaires », d'épaisseur à peu près constante (entre 1 et 2 μm). A gauche de la « discordance », fragment de la coquille ISM5-1 avant limage.	104
Figure 3.10. Localisation des deux sites péruviens où se poursuivent actuellement des expériences de suivi de croissance de coquilles après marquage, en milieu naturel.....	105
Figure 3.11. Identification et numération de spécimens pour une opération de marquage et suivi de croissance en milieu naturel à Pocoma, sud Pérou.....	106
Figure 3.12. Bac expérimental utilisé à l'Université d'Antofagasta	107
Figure 3.13. Regroupement habituel (durant la journée) des organismes dans le bac expérimental.	109
Figure 3.14. Traces de déplacements et de quête d'aliments (petites moules, ici en noir) durant la nuit précédant la prise de photo : dans le bac expérimental, les individus ne se nourrissent que la nuit.	109
Figure 3.15. Coquille d'un organisme (S41) sacrifié après 8 mois de croissance en bac expérimental, période durant laquelle la diète était composée exclusivement de <i>Perumytilus purpuratus</i> . La partie de coquille formée durant cette période est de couleur violacée (comme le sont les mytilidés).	110
Figure 3.16. Seaux avec deux des quatre marqueurs testés : (de gauche à droite) calcéine (50 ppm), alizarine concentrée (50 ppm) et alizarine diluée (10 ppm).	111
Figure 3.17. Expérience de marquage de <i>C. concholepas</i> avec une solution de calcéine (50 ppm). Ce fluorochrome, bien accepté par les organismes, s'est révélé le plus approprié pour les observations microscopiques en fluorescence des coquilles.....	112
Figure 3.18. Marque fluorescente dans une coquille immergée durant 3 heures dans une solution de calcéine (50 ppm), lors de la phase de test des opérations de marquage. La ligne verte suit une ligne de croissance et longe l'interface aragonite (en bas)-calcite.....	113
Figure 3.19. Croissance observée entre fin août et fin novembre 2002, dans quatre coquilles (M27, M35, M62 et M67), lors des premières opérations de marquage et de suivi de croissance dans les installations de l'Université d'Antofagasta.	115
Figure 3.20. Lame mince de la coquille M62 observée au microscope fluorescent, montrant les traces des 5 opérations de marquage effectuées entre le 5 et le 29 novembre 2002.	115
Figure 3.21. Montage de photographies MEB prises sur l'autre face de la section correspondant à la fig. 3.20. Les marques fluorescentes ont été re-dessinées. Voir le texte pour l'explication des vitesses de croissance durant la deuxième (en rouge) et la quatrième semaine (en bleu) de novembre 2002.	116
Figure 3.22. Photographie MEB montrant les incréments formés : A, entre le 15 et le 22 novembre; B, entre le 5 et le 8 novembre, dans la coquille M62. Une division de l'échelle mesure 100 μm	117
Figure 3.23. Représentation graphique des accroissements hebdomadaires durant les 3 dernières semaines de novembre 2002, pour les quatre spécimens M35, M27, M62 et M67 (cf. Tableau 3.3). Ordonnées en microns.	119

Figure 3.24. Variations de température de l'eau du bac expérimental (UA), situé à l'Université d'Antofagasta, comparées à celles mesurées dans le milieu naturel au nord de l'Ile Santa Maria (ISM-B). Durant le mois de novembre 2002, n'a pas été enregistrée d'anomalie thermique susceptible d'influencer la croissance des coquilles.....	120
Figure 3.25. Détail de la Fig. 3.19, montrant des alternances de zones claires et sombres, qui pourraient correspondre aux incréments quotidiens.....	121
Figure 3.26. Rythmes quotidiens dans la coquille M77 entre les marquages du 22 et du 29 novembre 2002 (souligné par un trait vert additionnels). Section polie observée en lumière incidente et lumière bleue (fluorescente).....	122
Figure 3.27. Rythmes quotidiens dans la coquille M60 entre les marquages du 22 novembre et du 13 décembre 2002. Section polie observée en lumière incidente et lumière bleue (fluorescente).	123
Figure 3.28. Mise en évidence des rythmes quotidiens dans la coquille M6, entre les marquages du 8 et du 22 novembre 2002. Section polie observée en lumière incidente et lumière bleue (fluorescente).	125
Figure 3.29. Correspondance entre les variations thermiques du milieu de vie (artificiel) et une cartographie du fragment de la coquille M62 qui a été formé durant le mois de novembre 2002.....	126

Chapitre IV

Figure 4.1. Représentation schématique de la méthodologie suivie pour la caractérisation de la fraction organique des coquilles.	131
Figure 4.2. Localisation des échantillons et courbes de dessalage (filtration sur gel) de la matière organique soluble incluse dans la calcite de <i>C. concholepas</i>	132
Figure 4.3. Composition des acides aminés de la matière organique provenant de la fraction calcitique de trois coquilles actuelles de l'Ile Santa Maria.	134
Figure 4.4. Composition des acides aminés de la matière organique provenant de la fraction calcitique d'une coquille de ~ 3000 ans BP (AJL1).....	134
Figure 4.5. Composition élémentaire de la calcite et de l'aragonite d'une coquille actuelle de Santa Maria (ISM1-7-1), mesures EDS.....	136
Figure 4.6. Composition élémentaire moyenne de la couche prismatique externe de calcite des coquilles actuelle (ISM1-7) et fossiles (AJL1~3ka ; FM1 ~120 ka).	137
Figure 4.7. Coquille actuelle de <i>C. concholepas</i> (ISM1-7) échantillonnée le long de son axe de croissance maximale pour analyses à l'ICP-MS.	142
Figure 4.8. Variations des rapports Mg/Ca et Sr/Ca le long de la coquille actuelle de <i>C. concholepas</i> (ISM1-7) de l'Ile Santa Maria (Antofagasta, Chili).	143
Figure 4.9. Variations des rapports Ba/Ca et Cd/Ca le long d'une coquille actuelle de <i>C. concholepas</i> (ISM1-7) de l'Ile Santa Maria (Antofagasta, Chili).	143
Figure 4.10. Zoom des points d'échantillonnage d'une coquille actuelle de <i>C. concholepas</i> (ISM 7) pour les analyses sériées par ICP-MS.	144
Figure 4.11. Exemple de signal obtenu sur une coquille de <i>C. concholepas</i> par LA-ICP-MS et zones d'intégrations choisies pour le traitement de ce signal.	147
Figure 4.12. Les standards externes. A: Résultats du test de reproductibilité; B: CAL-S calibré avec GRS-6 et NIST-610.....	148
Figure 4.13. Série de cratères faits par ablation laser le long d'une même ligne de croissance.....	150
Figure 4.14. Rapports Mg/Ca et Sr/Ca le long d'un incrément de croissance de <i>C. concholepas</i> (M77) (cf. Fig. 4.13).	150

Figure 4.15. Cratères faits par ablation laser sur la coquille M77 (Série 1 du 26/08/03).....	151
Figure 4.16. Points d'échantillonnage avec l'ablation laser (points 53 à 66) dans la coquille M77. On observe aussi quelques points de l'analyse SIMS (points 19 à 28, cf. § 4. 3.2). La ligne verte correspond au marquage à la calcéine du 29/11/02	151
Figure 4.17. Deuxième série d'analyses par ablation laser sur la section M77-3. Les séries 1 et 2 du 01/04/04 sont montrées en rose et rouge, respectivement.	152
Figure 4.18. Rapport Mg/Ca dans la coquille M77.....	153
Figure 4.19. Rapport Mg/Ca (Série 1, M77-3) et série de température re-échantillonnée à partir des données du senseur du bac expérimental en novembre-décembre 2002.....	155
Figure 4.20. Corrélation entre le rapport Mg/Ca et température de tous les échantillons étudiés par ICP-MS à ablation laser.....	155
Figure 4.21. Profils de magnésium réalisés dans la coquille de <i>C. concholepas</i> M77.	158
Figure 4.22. Reproductibilité des analyses du magnésium dans la coquille M77. A/ Profils réalisés dans la même section de coquille (M77). B/ Profils réalisés dans deux sections conjointes, M77 et M77-3 (cf. Fig. 1 et 2).....	159
Figure 4. 23. Reproductibilité des analyses du Sr dans la coquille M77, au sein d'une même section (M77-3 07/01/04 et 03/03/04) et dans deux sections conjointes (M77 et M77-3).	160
Figure 4.24. Rapport Sr/Ca dans la coquille M77 (section M77-3 du 03/03/04) et température	161
Figure 4.25. Corrélation du rapport Sr/Ca des séries analysées à la microsonde (EMP) et données de température moyennées par jour (analyse par SAS).....	161
Figure 4.26. Profils du Mg dans la coquille M77 obtenus à l'ICP-MS à ablation laser (couleur) et par microsonde électronique (grisé).....	162
Figure 4.27. Echantillonnage d'une coquille de <i>C. concholepas</i> avec le micromill. L'échelle représente 0,5 mm.....	166
Figure 4.28. Sillons d'environ 200 μm de large, formés par le micromill lors de l'échantillonnage de la coquille M62. Les divisions de l'échelle mesurent 1 mm.....	167
Figure 4.29: Profils de $\delta^{18}\text{OPDB}$ (‰, en rose) des coquille actuelles (A, M16; B, M77-2) comparés avec la température re-échantillonnée du bac expérimental (°C, rouge).	169
Figure 4.30. Corrélation entre le $\delta^{18}\text{O}$ de plusieurs coquilles marquées à la calcéine et la température du bac expérimental.....	170
Figure 4. 31. Gamme de variation de la composition isotopique en ^{18}O de la calcite de coquilles actuelles et fossiles de <i>C. concholepas</i> . Voir l'âge estimé des coquilles fossiles Annexe A1.....	171
Figure 4.32. Echantillons SIMS dans la coquille M77. Le diamètre de chaque point est d'environ 60 μm	172
Figure 4.33: Profil du $\delta^{18}\text{O}$ de la coquille M77, analysée avec la microsonde ionique Cameca IMS 1270	173

Chapitre V

Figure 5.1. Principales caractéristiques de la coquille de <i>C. concholepas</i> , en section, au microscope optique et au MEB.....	178
Figure 5.2. Relation entre longueur péristomale et longueur de croissance maximale dans des coquilles de <i>C. concholepas</i> , selon les données de Bustos et al. (1986) et les données obtenues dans ce travail.	182

Figure 5.3. Croissance et microstructure de la coquille de <i>C. concholepas</i> aux échelles millimétriques (1 et 2) et micrométriques (3 et 4). L'encart 3 présente le sillon formé par l'échantillonneur Micromill.	183
Figure 5.4. Variation de vitesse de croissance d'une coquille (I31) élevée dans un bac de l'Université A. Prat (Iquique, 450 km au N de Antofagasta), marquée successivement le 3 septembre et le 9 octobre 2003, et sacrifiée le 22 novembre 2003.	184
Figure 5.5. Mise en évidence de variations de la composition en composés soufrés liés à la matrice organique des biominéraux qui soulignent la structure de croissance journalière d'un test de <i>C. concholepas</i>	186

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I

Tableau 1.1. Masses d'eau de la zone côtière du Nord du Chili et ses caractéristiques océanographiques (d'après Escribano <i>et al.</i> , 2002).	56
---	----

Chapitre III

Tableau 3.1. Concentrations et temps d'exposition des quatre marqueurs utilisés pour la phase de test des marquages de coquilles.	112
Tableau 3.2. Caractéristiques techniques des filtres du microscope à fluorescence.	114
Tableau 3.3. Mesures des incréments de quatre coquilles marquées en novembre 2002, et calcul de incréments hebdomadaires et quotidiens (moyennes durant chacune des semaines).	118

Chapitre IV

Tableau 4.1. Standards internes choisis pour chaque élément à analyser par ICP-MS.	139
Tableau 4.2. Concentration des standards externes préparés pour l'analyse par ICP-MS.	139
Tableau 4.3. Concentrations des éléments (standards internes et « spikes » des isotopes de Ba et Mg) contenus dans la solution pour dissoudre les échantillons de poudre de calcite.	140
Tableau 4.4. Paramètres d'acquisition de la méthode "coquille" pour l'analyse élémentaire par ICP-MS.	140
Tableau 4.5. Concentrations moyennes des principaux éléments dans la calcite de <i>C. concholepas</i>	141
Tableau 4.6. Concentrations moyennes des principaux éléments dans la calcite de <i>C. concholepas</i> : test de reproductibilité.	141
Tableau 4.7. Concentration (en ppm) des éléments dans les matériels de référence, pour les analyses ICP-MS à ablation laser.	145
Tableau 4.8. Conditions analytiques et d'acquisition pour l'analyse par ICP-MS à ablation laser.	146
Tableau 4.9. Récapitulatif de la calibration des standards externes pour l'analyse élémentaire par ICP-MS à ablation laser.	149
Tableau 4.10. Description des profils réalisés avec l'ablation laser sur la coquille de <i>C. concholepas</i> M77 et valeurs moyennes de Mg et Sr.	154
Tableau 4.11. Conditions analytiques utilisées à la microsonde électronique (Centre Camparis, IPG, Paris VI).	157

Tableau 4.12. Description des profils réalisés à la microsonde sur la coquille de <i>C. concholepas</i> M77 et valeurs moyennes de Ca, Mg et Sr.....	158
Tableau 4.13. Valeurs moyennes, minimales et maximales de $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ des fragments de 6 coquilles actuelles provenant du bac expérimental..	167

CHAPITRE I
INTRODUCTION GÉNÉRALE

CHAPITRE I. INTRODUCTION

1.1. Généralités sur la formation des tests de mollusques

1.1.1. Biominéralisation des tests de mollusques

Le terme biominéralisation s'applique au processus de production de structures minéralisées par les organismes vivants (biominéraux). Les mollusques sont capables de construire un squelette externe minéralisé, ou coquille, qui est sécrété par le bord du manteau. Cette coquille est composée de cristaux de carbonate de calcium, principalement sous forme d'aragonite ou de calcite, et de matériel organique. En général la coquille des mollusques possède une couche interne de type lamellaire, une grande couche externe prismatique ou cortex, et une couche de matériel organique ou periostracum (Fig. 1.1).

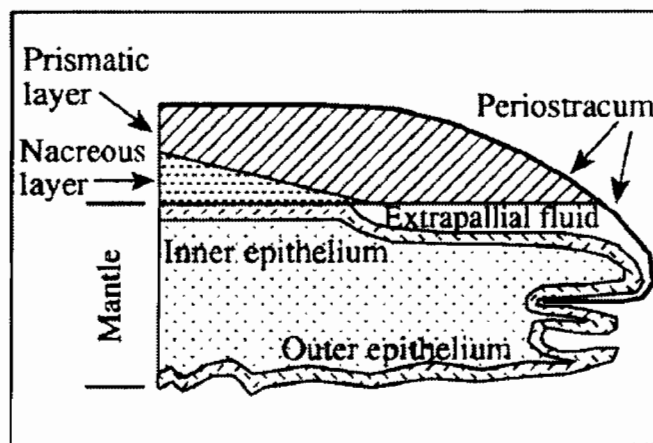


Figure 1.1. Section schématique de *Mytilus* montrant la disposition des couches de la coquille et du manteau, sur la bordure externe (palléale) (d'après Klein *et al*, 1996).

Bøggild (1930) réalisa dans les années 30 la première étude sur la structure des coquilles de mollusques. La classification qu'il proposa comprenait huit groupes microstructuraux différents. Seuls quatre sont fréquents chez les Gastropodes (Philippon, 1974), et nous y reviendrons plus loin (cf. chapitre II).

Les processus de biominéralisation ont pu être classés en deux catégories, selon les mécanismes biologiques qui les contrôlaient (Lowenstam, 1981): les processus « biologiquement induits » et ceux qui dépendent spécifiquement de la matrice organique, autrement dénommés « biologiquement contrôlés » (Mann, 1983). Les premiers concernent les phénomènes de précipitation minérale qui résultent des interactions entre l'activité biologique et le milieu environnant et se manifestent par les aspects de nucléation et

croissance des cristaux à l'extérieur des cellules. Ils interviennent peu sur les types et faciès minéralogiques, bien qu'ils soient « induits » par les aspects métaboliques de l'organisme, qui régulent le pH, la pression de CO₂ et les produits organiques sécrétés par les cellules (Fig. 1.2). Dans ce type de processus, la cellule peut être considérée simplement comme un agent causal, sans influence sur les caractéristiques des minéraux formés.

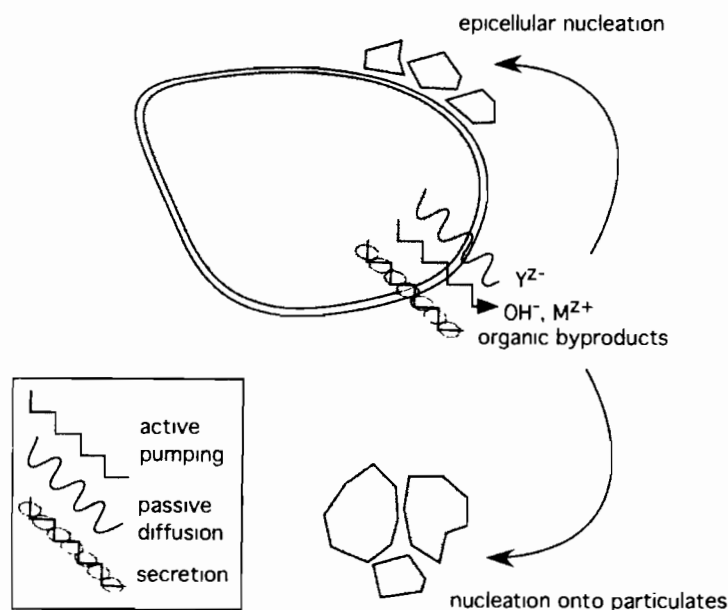


Figure 1.2. Processus de biominéralisation « biologiquement induits » selon Weiner et Dove, 2003. Voir texte pour explication.

Les processus de biominéralisation « biologiquement contrôlés » se réfèrent à ceux qui, au sein même des cellules, contrôlent la nucléation, la croissance, la morphologie et la localisation finale du minéral précipité. Ces phénomènes, évidemment complexes, varient d'une espèce à une autre, et sont génétiquement déterminés. Weiner et Dove (2003) distinguent trois sous-catégories de ce type de processus « biologiquement contrôlés » :

- ceux qui se produisent à l'extérieur des cellules, par l'intermédiaire d'une matrice formée de macromolécules (protéines, polysaccharides et glycoprotéines) dont la composition et la structure exercent des fonctions de régulation et d'organisation qui aboutissent à la formation de biominéraux composites ;
- ceux qui résultent d'une activité intercellulaire, dans le cas d'organismes unicellulaires (algues calcaires), et qui aboutissent à une sorte d'exosquelette ;
- et enfin, ceux qui sont situés à l'intérieur des cellules, dans des vésicules ou vacuoles spécialisées, et qui initient la nucléation intracellulaire des biominéraux.

Dans le cas des processus « biologiquement contrôlés extracellulaires », le transfert de constituants de l'intérieur de la cellule à la matrice externe peut se faire de deux façons, illustrées schématiquement dans la Fig. 1.3. Dans la première modalité, la cellule expulse des cations à travers la membrane cellulaire et ceux-ci sont véhiculés par des fluides extracellulaires jusqu'au site de minéralisation (Fig. 1.3.a). Dans le second cas de figure, les cations se concentrent dans des vésicules qui sont ensuite secrétées, à travers la membrane, dans le milieu extracellulaire (Fig. 1.3.b). Ultérieurement les vésicules relâchent leurs cations sur le site de formation des biominéraux. De tels processus « biologiquement contrôlés extracellulaires » semblent se produire, notamment, chez des foraminifères, exosquelettes de bryozoaires, coraux scléractinaires, os et dents de vertébrés. Ce serait aussi des mécanismes actifs dans la formation de tests de mollusques (Grégoire *et al.*, 1955; Weiner et Traub, 1980, 1984; Falini *et al.*, 1996; Gotliv *et al.*, 2003).

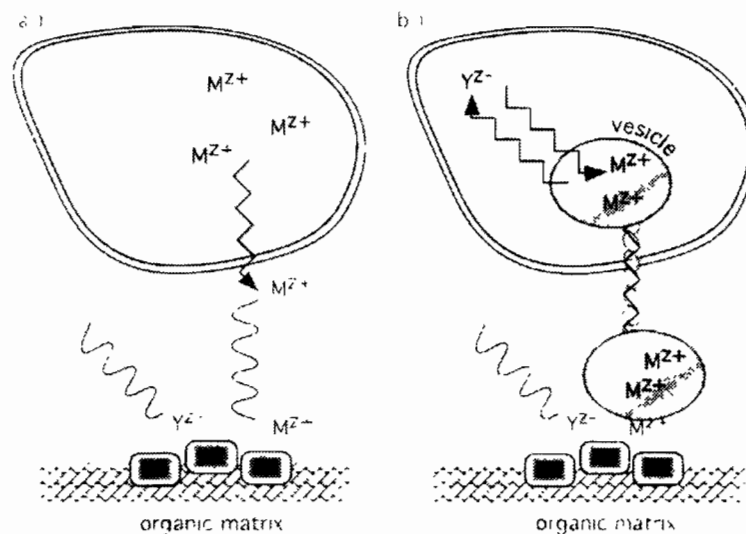


Figure 1.3. Processus de biominéralisation « biologiquement contrôlés extracellulaires », selon Weiner et Dove, 2003. Voir texte pour explication.

Dans le cas de processus « biologiquement contrôlés intracellulaires », ce ne sont pas simplement des cations qui sont rassemblés dans des vésicules, mais de véritables unités (nucléi) de biominéralisation, caractérisées par une composition et une morphologie particulière. Ces unités biominérales peuvent être exportées hors de la cellule en tant que telles, et s'assembler à d'autres unités, telles des briques, sur le site de minéralisation (cas 3b et 4, Fig. 1.4.a). Il peut aussi se former des assemblages d'unités, au sein de la cellule,

(cas 2, Fig. 1.4.a et b) qui sont ensuite secrétées dans le milieu extracellulaire (cas 3a, Fig. 1.4.a).

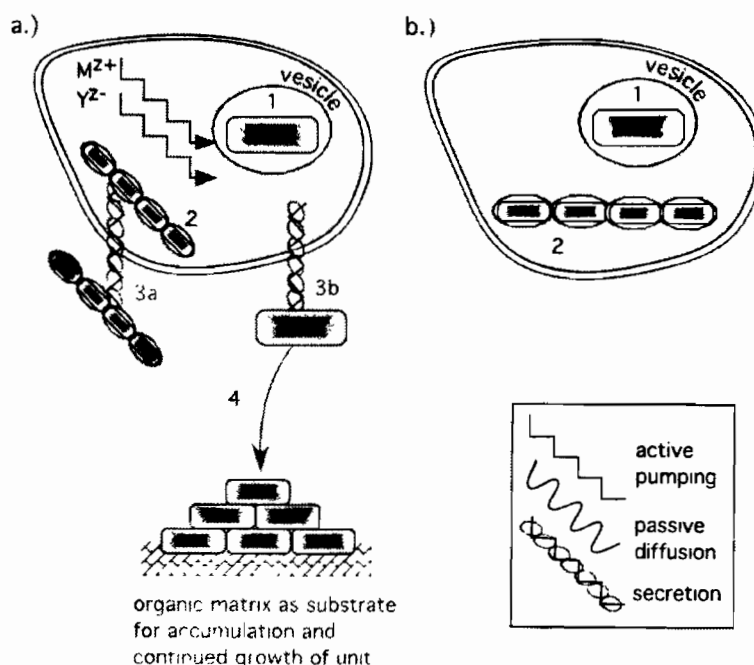


Figure 1.4. Processus de biominéralisation « biologiquement contrôlés intracellulaires », selon Weiner et Dove (2003). Voir texte pour explication.

La plupart des études biochimiques et histochimiques des matrices organiques de coquilles de mollusques ont mis en évidence que celles-ci sont constituées principalement de protéines, polysaccharides et lipides (Wilbur, 1976). Chez les lamellibranches, les composés minéralisants sont majoritairement protéiques. Ces protéines se caractérisent par un haut poids moléculaire et par une forte proportion d'acides aminés acides (Cuif, 1998). Suite à l'analyse des protéines séparées des couches minéralisantes des coquilles, d'autres auteurs indiquent que ces matrices organiques contiennent de grandes quantités d'acide aspartique, glycine et sérine (Hare, 1963; Wada, 1966). En quelque sorte celles-ci serviraient de modèle pour le processus de minéralisation en disposant des séquences d'acides aminés avec résidus comportant un groupe carboxyle chargé négativement (Wada, 1980).

La forme et l'arrangement géométrique des unités élémentaires qui donnent à chaque couche formant les coquilles une microstructure particulière est sous la dépendance d'un contrôle biologique. Ce contrôle est très important et explique que les caractéristiques structurales soient constantes et propres à chaque espèce (Cuif, 1998; Cuif et Dauphin, 2003).

1.1.2. Les mollusques et les études sclérochronologiques

La sclérochronologie est l'étude des marques temporelles enregistrées dans l'arrangement structural et géométrique des pièces calcifiées. Après l'étude pionnière de Wells (1963), qui suggéra que des incréments de coraux fossiles ont été formés avec une périodicité journalière et qu'ils semblent être regroupés par périodes correspondant à un cycle annuel, l'intérêt pour les études sclérochronologiques s'est accentué. Les incréments de croissance des fossiles sont utilisés comme géochronomètres par les paléontologues. Il a été mis en évidence que la périodicité des incréments de croissance suivait des rythmes annuels, mensuels, bihebdomadaires (« fortnightly », en anglais), journaliers et semi journaliers. Ces différentes périodicités, plus ou moins bien enregistrées, témoignent de l'influence d'une série de facteurs environnementaux et de rythmes endogènes (Dunca et Mutvei, 2001).

Plusieurs travaux ont démontré la grande utilité des études sclérochronologiques pour :

- la détermination des âges des organismes (Richardson, 1987; Richardson *et al.*, 1993; Millstein et O'Clair, 2001),
- des études écologiques et paléontologiques visant à établir les effets du stress environnemental et biologique (Pannella et MacClintock, 1968; Rhoads et Pannella, 1970; Rhoads et Lutz, 1980; Goodwin *et al.*, 2001; Schöne *et al.*, 2003),
- des études archéologiques permettant de reconstruire des modes d'occupation des populations préhistoriques de pêcheurs-recollecteurs (Coutts, 1970; Chenorkian, 1992; Quitmyer *et al.*, 1997) et
- des études géophysiques pour définir les changements de vitesse de rotation de la terre (Rosenberg et Runcorn, 1975).

Des marques externes et des incréments internes de croissance ont été observés dans un grand nombre de mollusques, mais la plupart des études ont été réalisées sur des bivalves. Dans le cas des gastéropodes, l'utilisation des marques de la coquille pour la détermination des âges et des taux de croissance est limitée à très peu d'espèces, le plus souvent des espèces intertidales, comme *Fissurella* (Bretos, 1980), *Littorina* et *Nucella* (Ekaratne et Crisp, 1982, 1984) et *Terebralia* (Tojo et Ohno, 1999).

1.2. Les proxies géochimiques dans les carbonates biogéniques

Un « proxy » géochimique est un marqueur de conditions de milieu, dont les valeurs sont fonction de variables environnementales telles que la température, la salinité ou la productivité, dans le cas du milieu marin. La géochimie élémentaire et les isotopes stables

de l'oxygène et du carbone des carbonates biogéniques ont été amplement utilisés pour la reconstitution de conditions environnementales à différentes échelles de temps dans le passé (Shackleton, 1973; Killingley et Berger, 1979; Williams *et al.*, 1982; Jones *et al.*, 1983; Krantz *et al.*, 1987; Cornu *et al.*, 1993; Andreasson et Schmitz, 1998; Richardson, 2001; Mannino *et al.*, 2003). Ce type d'études repose sur un ensemble d'hypothèses qui concernent non seulement la pertinence et la validité du proxy utilisé, mais également l'absence d'effets diagénétiques, la continuité du signal enregistré (absence de lacunes), la représentativité des échantillons (ou individus) analysés, etc. Or, ces différents aspects n'ont pas été (ou, pu être) vérifiés ou quantifiés dans la plupart des études. Il en est souvent résulté des conclusions contradictoires donnant lieu à des discussions, voire des constats d'échec.

1.2.1. Variations de composition isotopique et de teneurs en éléments mineurs et traces

Plusieurs éléments traces (Mg, Sr, Ba, U, Cd, Pb) ont été utilisés comme proxies de variables environnementales, et notamment de variations de températures, dans les carbonates biogéniques. Le Magnésium a été l'un des marqueurs potentiels de paléotempératures les plus étudiés, tant dans les foraminifères que dans les coraux (Mitsuguchi *et al.*, 1996; Mashiotta *et al.*, 1999; Nürnberg *et al.*, 2000; Lea *et al.*, 2002; Martin *et al.*, 2002; Eggins *et al.*, 2003) et les mollusques (Dodd, 1965; Lorens et Bender, 1980; Klein *et al.*, 1996a; Richardson, 2001; Richardson *et al.*, 2003). Dans certains cas au moins, pour des taxons particuliers, il semble qu'une relation étroite lie les variations de teneur en Mg de la calcite et les fluctuations thermiques du milieu (Fig.1.5) (Richardson *et al.*, 2003).

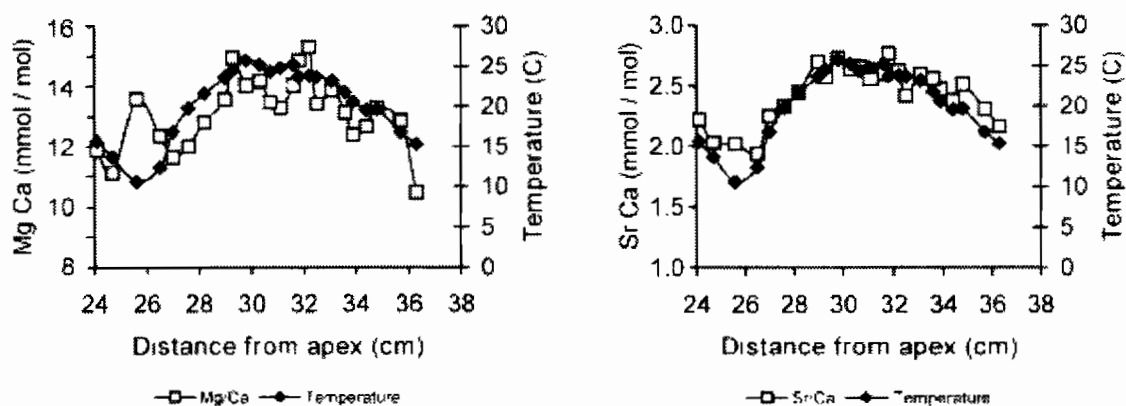


Figure 1.5. Relations entre les rapports Mg/Ca et Sr/Ca et la température dans la calcite du mollusque *Pinna*, selon Richardson *et al* (2003).

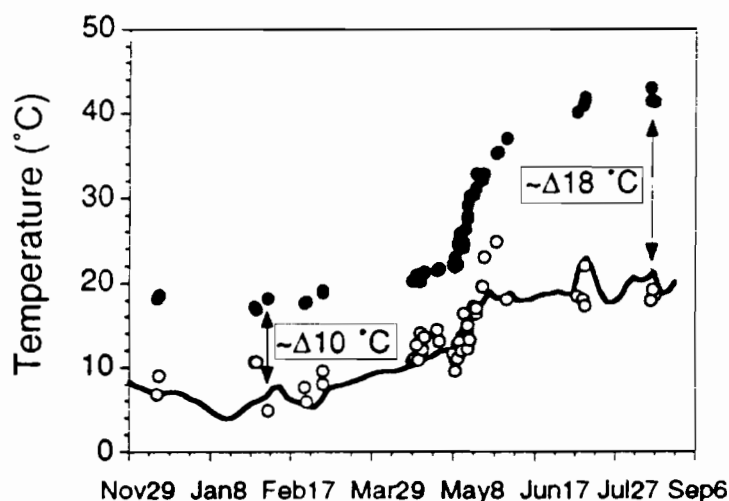
Le Strontium a fait aussi l'objet de nombreuses discussions quant à son rôle de proxy. Sr montre une relation négative avec la température dans l'aragonite des coraux (Beck *et al.*, 1992; Shen *et al.*, 1992; Marshall et McCulloch, 2002). Mais cette relation, également négative dans l'aragonite de *Mytilus*, devient positive dans la calcite de cette même espèce (Dodd, 1965). *Cardium edule*, un autre bivalve dont la coquille est entièrement aragonitique montre une relation inverse entre les paramètres mentionnés (Hallam et Price, 1968). D'autres auteurs considèrent que, en fait, la température aurait un effet moindre que d'autres facteurs tels que les variations des taux de croissance (Stecher *et al.*, 1996; Cardinal *et al.*, 2001), la salinité (Klein *et al.*, 1996b), ou l'activité métabolique des organismes (Purton *et al.*, 1999). Enfin, certains auteurs doutent fortement du caractère de proxy du rapport Sr/Ca pour les variations des conditions environnementales (Vander Putten *et al.*, 2000).

Le Cadmiun, le Barium et l'Uranium ont aussi été considérés comme des marqueurs de l'intensité des upwellings (Shen *et al.*, 1987; Lea *et al.*, 1989; Mashiotta *et al.*, 1997). Pour le Barium, comme pour les isotopes stables du carbone, des coraux, quelques auteurs trouvent une relation avec la température (Shen *et al.*, 1992) et d'autres considèrent qu'une telle relation n'existe pas et que les variations géochimiques dans ces biocarbonates correspondent à des variations des paramètres environnementaux différents, comment les remontés d'eaux froides riches en nutriments (Lea *et al.*, 1989) ou les niveaux d'énergie solaire, donc indirectement la couverture nuageuse (Fairbanks et Dodge, 1979; Grottoli, 2000).

Pour consolider les interprétations de fluctuations de conditions environnementales, de nombreux auteurs se sont appuyés sur des mesures de plusieurs proxies, c'est-à-dire sur des variations de composition de plusieurs éléments, ou de certains éléments et de variations de composition isotopique de l'oxygène. Pour la reconstruction de la température superficielle de la mer, à partir des squelettes aragonitiques de coraux, ont ainsi été utilisées les variations de rapports Sr/Ca, U/Ca et les isotopes stables de l'oxygène (Beck *et al.*, 1992; Min *et al.*, 1995; Shen et Dunbar, 1995; Shen *et al.*, 1996; McCulloch *et al.*, 1999; Corrège *et al.*, 2000; McCulloch et Esat, 2000; Cardinal *et al.*, 2001; Marshall et McCulloch, 2002).

Grâce à des expériences de calibration qui permettent de prendre en compte les variations des paramètres du milieu (température de l'eau), il est parfois possible de préciser la valeur relative des proxies étudiés de façon concomitante, comme par exemple les isotopes de l'oxygène et le Magnésium (Fig. 1.6).

Figure 1.6. Comparaison de reconstructions paléothermométriques fondées sur les variations de teneurs en Mg (cercles ouverts) et les teneurs en isotopes de l'oxygène (ronds fermés) dans la calcite de *Mytilus trossulus* (Klein *et al.*, 1996a).



I.2.2. Mise en évidence d'effets physiologiques et autres impacts biologiques

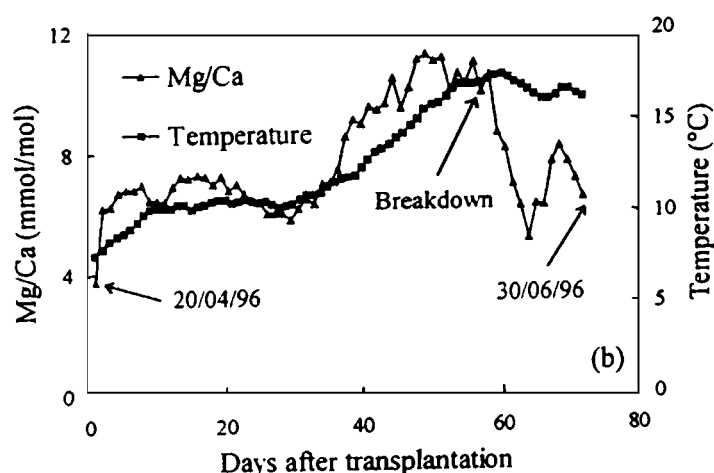
Dans de nombreux cas, les variations d'éléments mineurs ou en traces, comme les variations de composition isotopique de l'oxygène et du carbone ne sont pas un reflet direct du milieu environnant dans la mesure où les facteurs biologiques, notamment physiologiques, interviennent de façon significative, et variable dans le temps, dans les processus de minéralisation des carbonates (Rosenberg et Hughes, 1991; Klein *et al.*, 1996a, 1996b; McConnaughey *et al.*, 1997; Purton *et al.*, 1999; Surge *et al.*, 2001). Klein *et al.* (1996b) ont ainsi montré la double influence de la salinité et du métabolisme de l'organisme sur la variabilité des teneurs en Sr et en ^{13}C dans les couches de croissance de *Mytilus trossulus*.

Dans un travail portant sur la même espèce, *Mytilus edulis* (= *M. trossulus*), Vander Putten *et al.* (2000) démontrent que ce sont des phénomènes physiologiques qui, à certains moments, bouleversent fondamentalement la relation de co-variation Mg/température, laquelle n'est vérifiée que durant quelques mois de l'année (Fig. 1.7).

C'est aussi en s'appuyant sur des considérations d'ordre ontogénétique et physiologique, que Harrington (1989) remet en cause certaines interprétations de variations de composition isotopique de l'oxygène et du carbone de certains bivalves proposées par Krantz *et al.* (1987).

Par ailleurs, il y a des organismes qui s'arrêtent de croître, par exemple, si les conditions du milieu environnant ne sont pas optimales; dans de tels cas il n'est évidemment pas possible qu'ils enregistrent dans leur test d'éventuels paramètres du milieu.

Figure 1.7. Non-permanence de la relation entre Mg/Ca mesurée dans une coquille de *Mytilus trossulus* et variations de température du milieu (d'après Vander Putten *et al.*, 2000)



Par exemple Schöne *et al.* (2003) ont montré que *Phacosoma japonicum* croît seulement si les températures du milieu sont supérieures à 14.2°C. Leurs observations montrent que les taux de croissance commencent à augmenter seulement au-dessus de 16.8°C, en obtenant des meilleurs taux à des températures entre 24.6 et 27.2°C, au-delà desquelles la croissance recommence à diminuer (Fig. 1.8). D'autres espèces montrent de tels arrêts de croissance en dessous et au-dessus de leur gamme de température dite "de croissance" (Goodwin *et al.*, 2001; Schöne *et al.*, 2002a; Schöne *et al.*, 2002b).

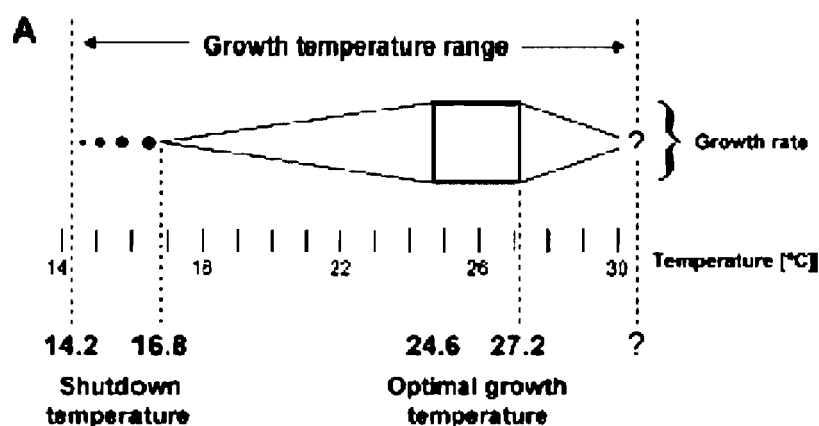


Figure 1.8. Gamme de variation de température de croissance dans *Phacosoma japonicum*, selon Schöne *et al.* (2003).

1.2.3. La notion d'« effet vital »

Depuis les premières études de proxys géochimiques sur des carbonates biogéniques, (Epstein *et al.*, 1951; Urey *et al.*, 1951; Chave, 1954; Lowenstam, 1963), le concept d'« effet physiologique », ou « effet vital », a été utilisé pour se référer aux écarts observés entre les mesures géochimiques effectuées et les valeurs des modèles prédictifs fondés sur des relations d'équilibre chimique. Classiquement, on considère que cette notion d'« effet vital » recouvre deux types de phénomènes : des effets cinétiques et des effets dits

« taxonomiques ». Les premiers se rapportent à la vitesse relative des phénomènes de biominéralisation, qui expliqueraient, par exemple, que l'équilibre isotopique soit atteint ou non. La notion d'« effets taxonomiques » s'appuie sur l'observation que la composition géochimique du squelette carbonaté de certains taxons semble traduire un équilibre isotopique (ou une relation directe entre la teneur en un élément et un paramètre environnemental) et d'autres non. On a ainsi pu considérer que certains mollusques, brachiopodes et foraminifères planctoniques formaient leurs tests en équilibre géochimique avec le milieu, tandis que d'autres taxons ne le faisaient pas. Selon cette théorie, certains taxons fourniraient de « bons » marqueurs (proxies) des environnements passés, et d'autres non. Il faut souligner que cette classification est tout à fait empirique, et ne présente pas de caractère consensuel entre les auteurs. Comme le firent remarquer Lowenstam et Weiner (1989), le concept d'« effet vital » tel qu'il a été (et est encore) utilisé dans la littérature manifeste surtout notre ignorance des phénomènes complexes qui sont en jeu dans les processus de biominéralisation et dans les relations qui existent entre les paramètres du milieu et les proxies utilisés.

Weiner et Dove (2003) fournissent une revue bibliographique récente sur les diverses causes possibles d'« effets vitaux » selon les proxies, les mécanismes de biominéralisation concernés, et les phénomènes annexes impliqués.

I.3. L'espèce étudiée

I.3.1. Position taxonomique

Phylum	:	Mollusca
Classe	:	Gastropoda
Sous-classe	:	Prosobranchia
Ordre	:	Neogastropoda
Famille	:	Muricidae
Genre	:	Concholepas
Espèce	:	<i>Concholepas concholepas</i> (Bruguière, 1789)

Une révision taxonomique complète de cette espèce a été réalisé par Stuardo (1979). L'auteur définit plus de 25 synonymes dont *Murex loco*, le premier nom proposé par Molina en 1782, mais qui n'a pas été utilisé dans la littérature zoologique pendant plus de 50 ans (*nomen oblitum*). Bruguière fait sa première description originale en 1789 et le désigne comme *Buccinum concholepas*. Un peu plus tard, en 1801, Lamarck le décrit

comme *Concholepas peruvianus* Hupé, nom que a été amplement utilisé, mais qui n'a pas priorité sur le nom spécifique attribué antérieurement par Bruguière.

Comme l'explique Stuardo (1979), c'est l'importance exagérée que l'on a donné aux variations des différentes caractéristiques de la coquille qui a conduit à la création du grand nombre de noms spécifiques donnés à cette espèce.

Les différences morphologiques entre les différentes populations tout au long des côtes chiliennes (et d'une grande partie de la côte péruvienne) correspondent à des variations liées à l'environnement (Lozada *et al.*, 1976; Gallardo et Carrasco, 1996). Il n'y a pas de justifications génétiques pour valider l'existence de sous-espèces (Guiñez *et al.*, 1992; Gallardo et Carrasco, 1996). Seule une sous-espèce a été reconnue: *Concholepas concholepas fernandezianus* Stuardo, 1979, dans les Iles Juan Fernandez (33°S, au large de La Serena). Même dans ce cas, la différenciation de la soi-disant sous-espèce semble n'être fondée que sur l'isolement géographique et quelques différences biométriques.

Concholepas concholepas (Fig. 1.9) est une espèce endémique de la côte sudorientale du Pacifique. Actuellement il n'existe qu'une espèce de ce genre, mais les dépôts mio-pliocènes du Pérou et du Chili contiennent des fossiles qui sont attribuables à plusieurs espèces du genre *Concholepas* (Stuardo, 1979; DeVries, 1995, 2000), les plus connues étant *Concholepas nodosa* et *Concholepas kieneri* (Fig. 1.10).

La distribution géographique de *C. concholepas* (Fig. 1.11) est limitée au sud par le Détroit de Magellan et s'étend au nord jusqu'au niveau de Chiclayo (~7°S), bien que la plupart des auteurs mentionnent Callao (~12°S) comme limite septentrionale. Des coquilles de *C. concholepas* ont été recueillies dans des sites archéologiques relativement tardifs (environ 700 BC et 700 AD) de la région de Illescas (6°S) (Huapaya et Alamo, 1993).



Figure 1.9. *Concholepas concholepas*, l'espèce étudiée. Ce mollusque est couvert d'une coquille grande et épaisse et possède un large pied qui lui permet de se mouvoir rapidement et d'adhérer fortement aux substrats rocheux.



Figure 1.10. *Concholepas kieneri* Hupé, ancêtre probable de *C. concholepas*, trouvé dans le Mio-pliocène du nord Chili et disparu avant le début du Quaternaire. Echelle en mm.

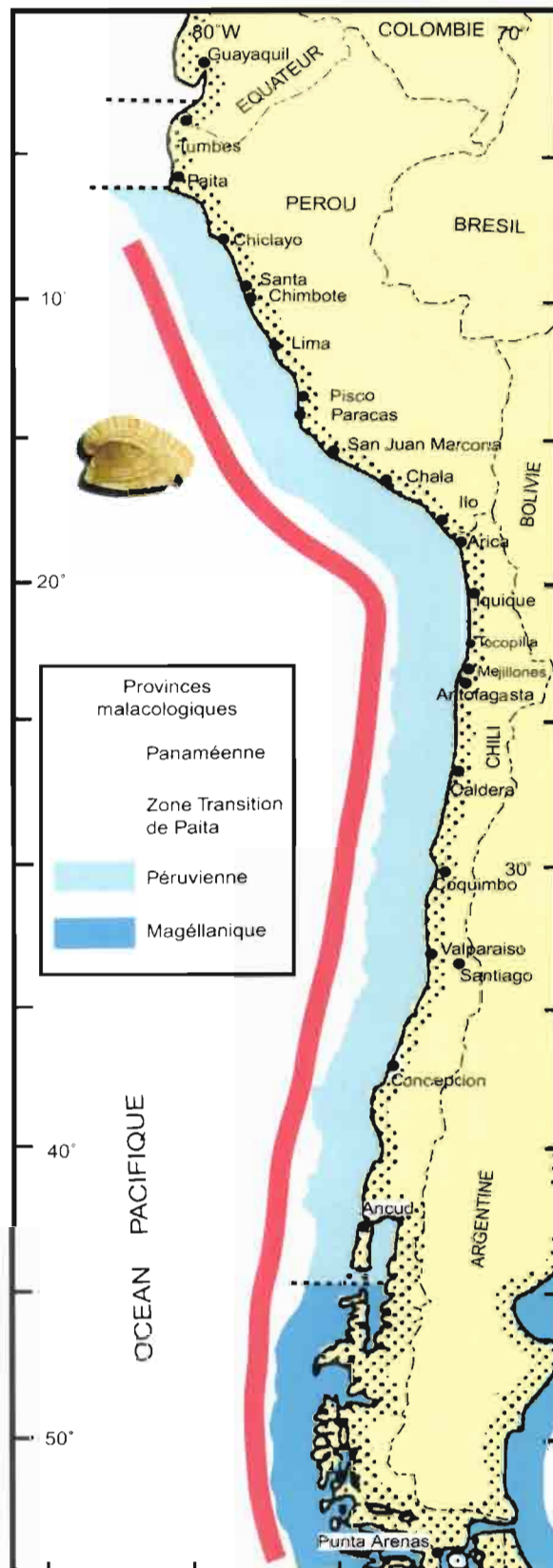


Figure 1.11. Distribution géographique actuelle de *C. concholepas*, principalement dans la province malacologique péruvienne. Sont indiquées sur la carte les principales localités mentionnées dans ce travail.

1.3.2. L'importance économique de ce mollusque

Concholepas concholepas (Figs.1.9, 1.12, 1.13) est connu sous le terme de "loco" ce qui, en araucano (langue des indiens du même nom qui habitaient une partie du territoire chilien à l'arrivée des Espagnols), veut dire "fruit de mer très recherché". Les Péruviens le désignent sous les noms de « chanque » ou "pata de burro" (étant donnée sa forme qui fait penser à un sabot d'âne). Déjà en 1646 Allonso de Ovalle, en parlant des richesses naturelles de la côte du Chili, cite le "loco" comme un fruit de mer très apprécié et appétissant.



Figure 1.12. Vue ventrale du *C. concholepas*: pied (P) rétracté permettant d'observer le manteau (M), le siphon (S) et l'opercule corné (Op).



Figure 1.13. Coquille et pied du "loco" ; ressource intensément exploitée sur les côtes du Chili et du Pérou, rappelant l'abalone de Californie.

C. concholepas est une espèce très largement représentée dans les sites archéologiques proches de côtes rocheuses au Chili et dans la partie méridionale du Pérou (fig. 1.14). Cette abondance de coquilles de « loco » dans les sites d'occupation humaine tout au long de l'Holocène, voire de l'extrême fin du Pléistocène, indique clairement que l'espèce a toujours été largement représentée, et que les premiers habitants de ces contrées ont de tout temps apprécié sa chair.



Figure 1.14. Accumulation monospécifique de coquilles dans le site "Quebrada Los Burros", 18°S, Pérou (~8500-3500 BP) (Photo: D. Lavallée).

C. concholepas est aussi connu, commercialement, comme "faux abalone", spécialement sur le marché international. La ressemblance avec les espèces de *Haliotis* (« oreille de mer ») qui peuplent les côtes de Californie américaine et de Basse Californie (Mexique), tient à la grande taille du pied et à la qualité de la chair. Cependant, ces ressemblances ne concernent que les caractéristiques gustatives du muscle, une fois débarrassé de sa coquille. *C. concholepas* et les diverses espèces de *Haliotis* ont de profondes différences écologiques et biologiques. *Haliotis*, qui appartient à l'ordre des Archéogastéropodes, est un herbivore, tandis que *C. concholepas* est un carnivore de l'ordre des Neogastropodes.

Historiquement, *C. concholepas* est le gastropode qui a présenté les niveaux d'exploitation les plus élevés du Chili. Il a représenté l'une des plus grandes ressources économiques marines de ce pays (Hancock, 1969; Castilla, 1988; Leiva et Castilla, 2001). Entre les années 1974 et 1980 les captures de « loco » ont augmenté constamment pour

atteindre les 25.000 tonnes en 1980, ce qui a représenté 73 % du total des captures de mollusques pour le Pacifique sud-oriental (FAO, 1981). En 1987, les captures ont également atteint des niveaux extrêmement élevés (Fig. 1.15). Par la suite, en 1993, le gouvernement chilien a dû prendre une série de mesures pour contrôler la surexploitation à laquelle la ressource avait été soumise. Ainsi, à partir de l'année 2000 et pendant trois ans, la pêche du "loco" a été totalement interdite dans onze des douze régions administratives du Chili. Le 18 juin 2003, cette réglementation a été prorogée, pour une durée de deux ans et demi, par le Sous-Secrétariat d'Etat à la Pêche (Décret N° 436 du 24/06/03): on ne pourra donc pas exploiter légalement cette ressource jusqu'au 31 décembre 2005. Des quantités d'extraction de « locos » préalablement établies par l'autorité régulatrice sont cependant possibles dans un nombre restreint de "zones de concession", placées sous la responsabilité de pêcheurs artisanaux organisés en syndicats dûment approuvés par les autorités maritimes.

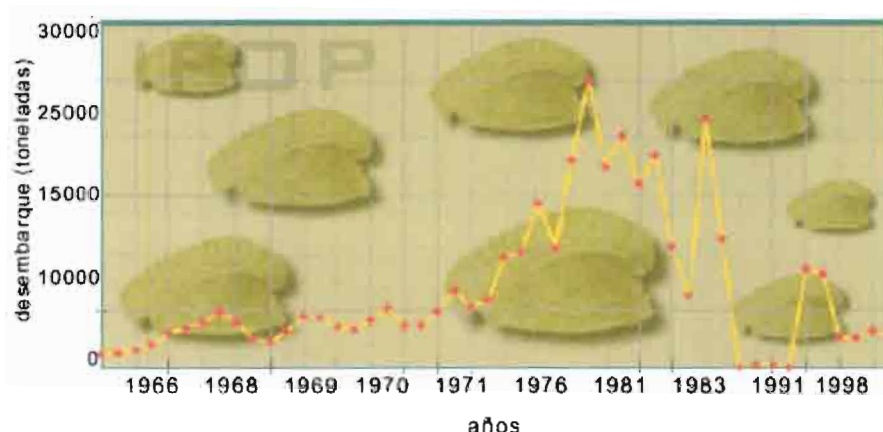


Figure 1.15. Captures (en tonnes) de *C. concholepas* au Chili pendant la période 1951-1998 (source: IFOP-Chile, <http://www.ifop.cl>)

La pêche du "loco" a été justifiée par l'intérêt que lui portent non seulement les populations locales, mais surtout un vaste marché commercial de l'est asiatique.

Par ailleurs, depuis des millénaires (700 BC, MacGovern, (2003)), la glande hypobranchiale de *C. concholepas* a été utilisée par les habitants du Pérou pour la teinture de textiles et autres matériaux (cf. description de la méthode d'extraction des pigments à partir des glandes fraîches, par Gibaja et Salazar (1977)). Au cours des dernières années un autre type d'intérêt, médical et biotechnologique, s'est manifesté pour *C. concholepas*. En effet, il a été possible d'extraire de l'hémocyanine, une glycoprotéine amplement utilisée en immunologie, à partir de l'hémolymphe de ce mollusque. L'hémocyanine du « loco », protéine très stable et de grande taille, est utilisée dans des applications biomédicales pour

combattre les tumeurs cancéreuses (De Ioannes *et al.*, 2004). En 1999, les premiers 150 grammes de cette nouvelle protéine, nommée Blue Carrier®, ont été exportés aux Etats-Unis pour une valeur de 15,000 U\$.

1.3.3. Le cycle vital

C. concholepas est un prédateur carnivore de haut niveau trophique. L'espèce est dioïque (sexes séparés), avec fécondation interne et sans évidences externes de dimorphisme sexuel. Selon des études réalisées par Castilla (1974), la copulation a lieu pendant la nuit et dure entre 2 et 5 minutes.

A mesure que les œufs fécondés descendent dans l'oviducte, ils sont enrobés de fluide albuminoïde. Ensuite il s'encapsulent grâce à une glande spéciale. La capsule est une gaine bouchonnée à une extrémité, qui s'ouvre quand les larves sont prêtes à être libérées. La capsule se fixe à un substrat naturel à travers un court pédoncule. La période d'incubation à l'intérieur de la capsule dure entre 1 et 2 mois (Gallardo, 1979; Disalvo, 1988; Riquelme et Chavez, 1991), durant lesquels l'organisme se transforme successivement en œuf, pre-trochophore, trochophore, véligrè précoce, et enfin véligrè d'éclosion (Fig.1.16). Après éclosion, les larves véligrè nagent activement au sein du plancton marin. A ce stade, la proto-coquille mesure entre 240 et 260 μm (Ramorino, 1975; Disalvo, 1988).

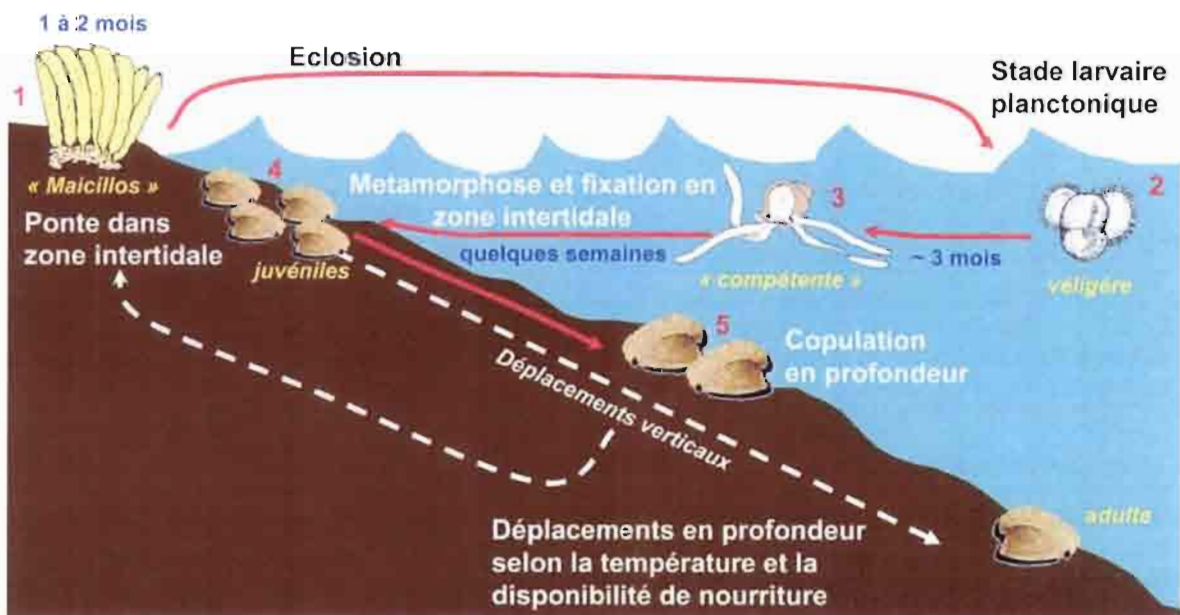


Figure 1.16. Schéma du cycle de vie de *C. concholepas*.

Les larves demeurent en domaine planctonique pendant 4 mois environ, jusqu'à ce que la coquille atteigne une taille d'environ 1500 μm (~6500 μm avec le vélum) et soit prête

pour la métamorphose finale. A ce stade, les larves sont nommées « pre-métamorphiques » ou "compétentes". Ces larves, finalement, se fixent en tant que petits juvéniles de 1,6 mm (Castilla *et al.*, 1979) à 1,8 mm (Gallardo, 1979) de largeur. La fixation se fait préférentiellement dans la zone intertidale rocheuse, bien que des fixations de juvéniles ait été observées jusqu'au 18 m de profondeur (Stotz *et al.*, 1991).

Quand les juvéniles atteignent environ 50 mm de long, ils commencent à migrer d'abord vers le subtidal peu profond. Quand ils ont entre 100 et 110 mm, ils se déplacent vers des profondeurs plus grandes (Guisado et Castilla, 1983), allant jusqu'à 40 mètres (DuBois *et al.*, 1980).

Au stade de la maturité sexuelle, quand les organismes atteignent un longueur péristomale entre 50 et 67 mm (Aviles et Lozada, 1975; Lozada *et al.*, 1976; Castilla et Duran, 1985; Rabi *et al.*, 1996), les individus adultes migrent vers la zone subtidale peu profonde, se regroupent et se reproduisent. A faible profondeur, ils déposent leurs capsules. Les capsules s'observent dans la zone intertidale pendant toute l'année, mais sont plus abondantes a la fin de l'été, entre les mois de mars et mai (Ramorino, 1975; Stotz, 1997). La figure 1.13 récapitule schématiquement ce cycle de vie de *C. concholepas*.

Les larves pélagiques filtrent des microalgues, tandis que juvéniles et adultes se nourrissent principalement de bivalves, cirripèdes et ascidies. Quelques cas de cannibalisme et des comportements de charognard ont aussi été documentés (Castilla *et al.*, 1979; DuBois *et al.*, 1980). La plupart des observations *in situ* ou dans des bacs expérimentaux indiquent que *C. concholepas* a une plus grande activité la nuit que le jour, notamment pour ce qui concerne ses habitudes alimentaires (Castilla et Guisado, 1979; DuBois *et al.*, 1980; Olivares *et al.*, 1994). Cependant, Stotz et al (2003) se demandent si ce ne sont pas les conditions d'observation qui biaisent cette interprétation d'une prédominance des activités nocturnes de l'espèce. Des analyses de contenus gastriques suggèrent que les locos se nourrissent autant durant la journée que la nuit.

Un travail intéressant réalisé par Dubois et al (1980) sur le comportement de *C. concholepas* dans la zone subtidale montre que les organismes peuvent se déplacer à une vitesse moyenne de 6 cm/min, mais peuvent aller jusqu'à 13 cm/min si le substrat est adéquat. Ces déplacements rapides ont une durée limitée (5 à 15 minutes) et sont très probablement motivés par la recherche de nourriture. Des déplacements sur des distances plus grandes ont aussi été observés par DuBois et al (1980) sur des organismes adultes (longueur péristomale supérieure à 5 cm). Les auteurs ont observé un "loco" se déplacer de 8 mètres pendant une période de 8 heures. Ils mentionnent aussi la possibilité pour *C.*

concholepas de parcourir des distances plus longues, à partir d'informations sur la localisation d'organismes marqués à des distances de 200 à 400 mètres de leur lieu de marquage, 6 à 8 mois plus tard.

1.3.4. La croissance

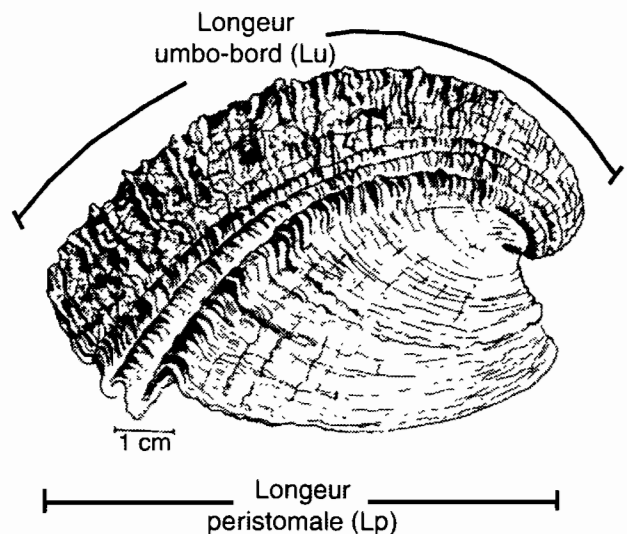
1.3.4.1. Travaux antérieurs sur les modèles de croissance

La croissance de *C. concholepas* a été étudiée par divers auteurs dans différentes localités chiliennes, mais les résultats sont très variables selon la zone d'étude et la méthodologie utilisée. Les premières études sont essentiellement descriptives et se bornent à déterminer quelques valeurs des incréments en mm de la longueur péristomale (Lp, Fig. 1.17) de la coquille des populations étudiées (Tobella, 1975; Lozada *et al.*, 1976; Acuña et Stuardo, 1979; Guisado et Castilla, 1983). On ne reviendra pas ici sur le détail de ces données qui ne différencient pas toujours les catégories d'âge où les tailles des organismes étudiés. Par la suite, depuis le milieu des années 1980, les travaux ont souvent porté sur le problème du modèle de croissance de l'espèce, dans une perspective d'optimisation du « management » de la pêche du "loco". Pour ce faire, les études tendaient à établir les paramètres qui définissent ces modèles de croissance. Les méthodes utilisées dans cette optique ont été assez variées :

- des analyses de fréquence de tailles (Wolff, 1989),
- des études par marquage et re-capture (Stotz et Pérez, 1992),
- des expériences d'élevage en milieu naturel (Rodriguez *et al.*, 2001) et en laboratoire (Varela et Lopez, 1989; Rabi et Maravi, 1997), et
- des études des marques dans la coquille (Adlerstein, 1986; Bustos *et al.*, 1986).

Ces paramètres ont été utilisés ensuite pour modéliser la croissance de cet organisme avec les équations de von Bertalanffy et Gompertz. Dans la figure 1.18 ont été indiqués les estimations de paramètres pertinents, obtenus par différents auteurs, pour ces modèles de croissance de *C. concholepas*.

Figure 1.17. Le principal paramètre morphométrique utilisé par les auteurs chiliens est la longueur péristomale Lp (cf. Fig 1.18). Lu est le paramètre utilisé dans les études des incréments de la coquille le long de l'axe de croissance maximale.



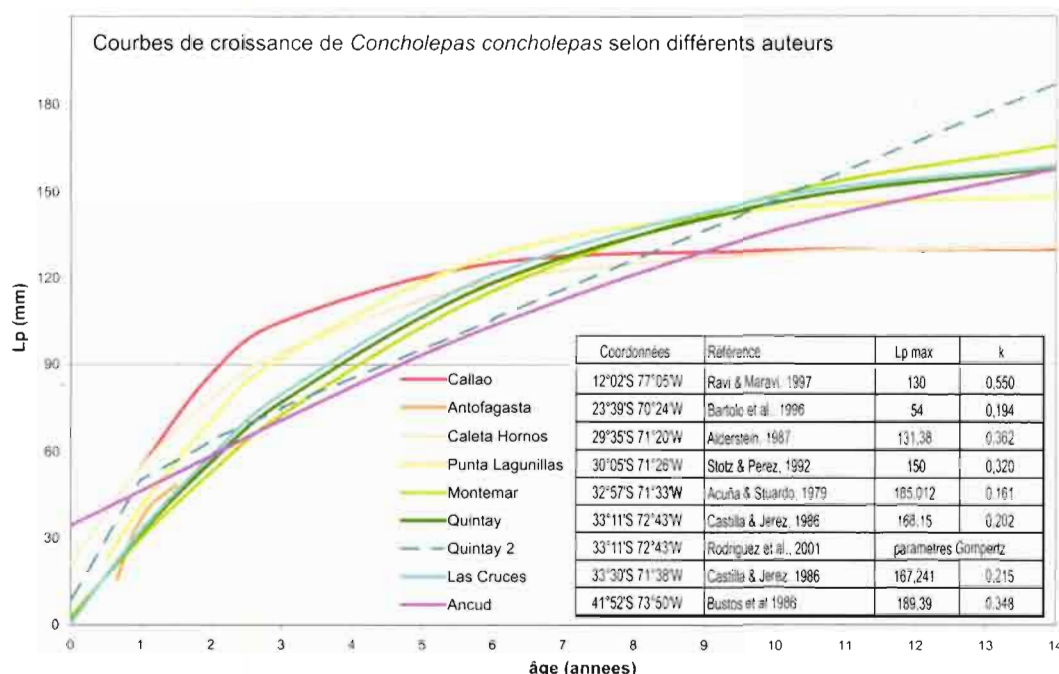


Figure 1.18. Différentes équations de von Bertalanffy et Gompertz, selon les localités d'étude, pour *C. concholepas*, avec indication des paramètres Lpmax et k (coefficient de Brody ou de courbature).

1.3.4.2. Relations croissance/latitude et croissance/température

A première vue, la compilation des courbes de croissance établies dans différentes localités chiliennes montre une tendance à l'augmentation de la taille des organismes vers les plus hautes latitudes. En revanche, il semble que les organismes croissent plus rapidement aux latitudes plus basses (Fig. 1.18).

Lorsque l'on compare dans une même localité, ou dans deux localités proches l'une de l'autre, les taux de croissance mesurés par différentes méthodes d'estimation des paramètres (par ex. : élevage en laboratoire, élevage en systèmes suspendus dans le milieu naturel et/ou étude d'une population naturelle), on observe des différences tout à fait significatives (Fig. 1.19). En fait, tous ces travaux montrent que la vitesse de croissance de *C. concholepas* est éminemment variable, et dépend largement des zones géographiques concernées et des conditions dans lesquelles sont effectuées les mesures.

Quelques expériences ont été menées en laboratoire pour vérifier les relations entre paramètres thermiques du milieu et croissance. Ces travaux ont produit des résultats qui restent contradictoires.

Mendez & Cancino (1992) ont mesuré, sur des juvéniles ($L_p < 20$ mm), des vitesses de croissance supérieures à 20°C qu'à 10°C, tandis que Rabi *et al.* (1994) ont démontré une corrélation négative entre température et croissance des organismes juvéniles et adultes

($L_p > 30$ mm) maintenus entre 15° et 22°C . D'autres expériences sur des organismes maintenus en système d'élevage indiquent aussi des vitesses de croissance supérieures lorsque les températures sont plus basses (Rodriguez *et al.*, 2001). Dans le même ordre d'idée, des auteurs ont décrit des déplacements en masse de *C. concholepas* vers la profondeur, lorsque se produisent des réchauffements anormaux des eaux superficielles comme durant les événements El Niño (Tomicic, 1983; Soto, 1985; Tomicic, 1985). Il apparaît que cette espèce fuit les eaux temporairement chaudes, et l'on peut supposer que ces augmentations de la température ne favorisent pas la croissance des coquilles.

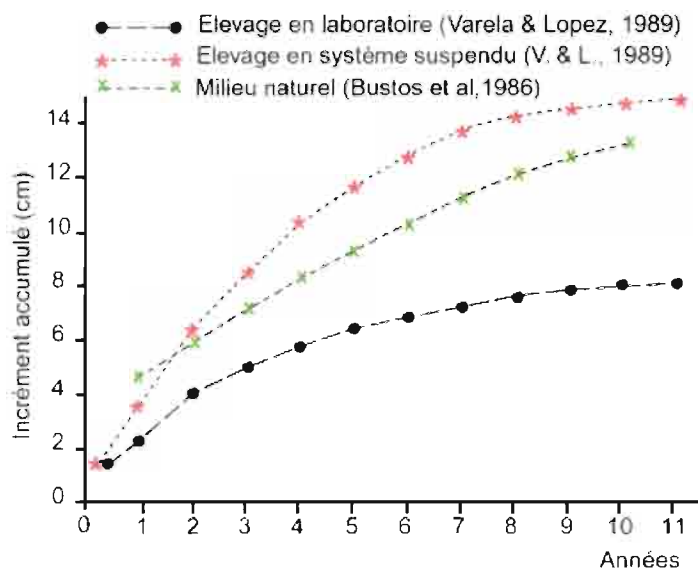


Figure 1.19. Croissance de *C. concholepas* dans deux systèmes de culture et comparaison avec des données enregistrés en milieu naturel (d'après Varela & López, 1989)

Par ailleurs il a été noté que des processus des remontées d'eaux froides riches en nutriments qui génèrent de la production primaire, semblent favoriser la croissance du "loco". En se nourrissant des balanes et ascidies (« suspension feeders »), *C. concholepas* raccourcit la chaîne alimentaire et accède à beaucoup plus de l'énergie disponible dans la colonne d'eau (Stotz *et al.*, 2003).

1.3.4.3. Une autre approche, microstructurale, de la croissance

La grande majorité des auteurs antérieurs qui se sont penchés sur la croissance de *C. concholepas* se sont focalisés sur les variations, au cours du temps, de la longueur péristomale de la coquille (Fig. 1.17). Quelques auteurs ont cependant commencé à aborder le problème sous un angle sclérochronologique, en s'intéressant aux accroissements microstructuraux qu'il nomment "anillos" (anneaux de croissance) (Bustos *et al.*, 1986) ou "microgrowth increments" (Adlerstein, 1986). Cette approche conduit à travailler selon l'axe de croissance maximale, qui est oblique par rapport aux deux axes de la longueur et de la largeur (péristomales) (cf. Fig. 1.17).

Les auteurs mentionnés tentèrent donc de quantifier la croissance des coquilles en mesurant, perpendiculairement à l'axe de croissance, l'épaisseur des incréments formés par l'organisme au cours du temps. Cela impliquait notamment de travailler sur des coupes de coquilles parallèlement à la direction des côtes principales (axe Lu, Fig. 1.17). Nous reviendrons plus loin sur certains aspects de cette approche que nous avons nous-même suivie.

Notons toutefois ici que les auteurs cités, soucieux de comparer leurs résultats à ceux de l'ensemble de la communauté qui avait travaillé sur la croissance de *C. concholepas*, se sont efforcés de traduire leurs observations et leurs mesures en équivalents d'accroissement de longueur péristomale. C'est ainsi que par le biais d'équations de transformation des valeurs de ΔLu en ΔLp , ils pouvaient produire des courbes de Bertalanffy, comparables à celles des autres travaux. La Fig. 1.18 inclut ainsi les courbes reconstituées de Bustos (1986) et d'Adlerstein (1986).

1.3.5. L'utilisation de coquilles archéologiques de C. concholepas comme marqueurs paléoenvironnementaux

1.3.5.1. Les travaux de Falabella et al. (1991).

Compte tenu de l'abondance des coquilles de *C. concholepas* dans les sites archéologiques, il était naturel que ce matériel malacologique soit utilisé dans une perspective paléo-environnementale. Quelques études se fondaient sur les variations de taille des coquilles de *C. concholepas* dans les différents sites ou entre les strates d'occupation de certains sites. En général ces informations sur la taille des coquilles étaient difficiles à interpréter du fait d'un certain nombre de problèmes : effets de la sélection par l'homme durant la pêche, représentativité des tailles de coquilles récoltées par rapport aux populations de "locos", problème de l'accessibilité des coquilles en profondeur, etc.. Au-delà d'un aspect strictement descriptif de ce matériel de nature archéologique, les mesures ne permettaient pas de caractériser des conditions environnementales particulières, ni de préciser les périodes (saisons) d'occupation des sites (préoccupation constante des archéologues de ces régions pour déterminer le caractère saisonnier ou permanent des sites).

Une autre approche paléo-environnementale a été développée au début des années 1990 : l'utilisation des variations de composition isotopique de l'oxygène et du carbone le long des axes de croissance de coquilles de cette espèce. Dans ce domaine, le premier travail a été réalisé par des archéologues travaillant sur des sites occupés entre 4000 et 500 ans BP, proches de la localité de Las Cruces, dans le Chili central (Falabella *et al.*, 1991).

Cette étude, pionnière au Chili, visait à établir la représentativité des variations de teneurs en $\delta^{18}\text{O}$ en termes de variations saisonnières de température des eaux de surface (Fig. 1.20). Dans ce but fut réalisée une étude de « calibration » sur des coquilles modernes qui prenait en compte des variations mesurées de température et de salinité de l'eau superficielle de la zone de Las Cruces. Nous reviendrons plus loin sur certaines approximations de la méthode employée pour la calibration, et sur les réserves que l'on peut exprimer quant aux applications de la méthode sur des coquilles fossiles.

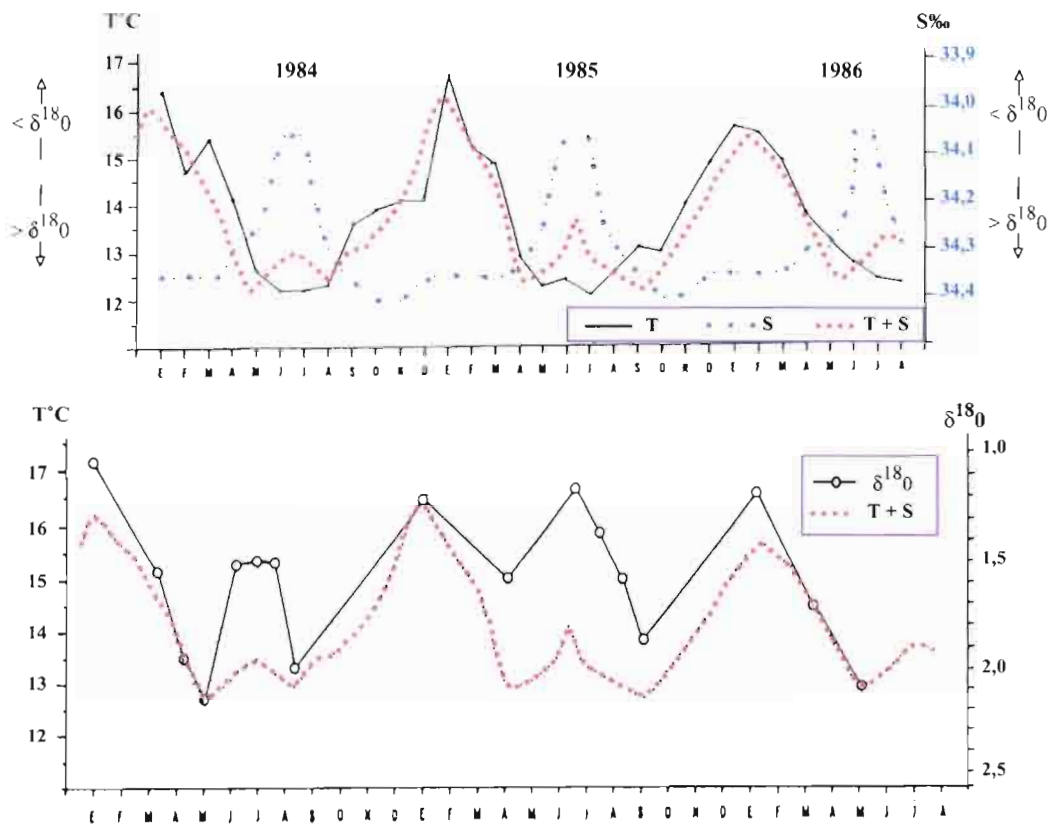


Figure 1.20. Mesures isotopiques dans une coquille de *C. concholepas* moderne comparés avec une "courbe théorique" de salinité et température, et avec des mesures mensuelles de température de la mer, modifié selon Falabella *et al.* (1991).

1.3.5.2. Les études sur des coquilles de 10 000 ans BP, à Antofagasta.

Dans le cadre d'un projet archéologique consacré à la plus ancienne des occupations humaines reconnues sur la côte du nord Chili (culture Huentelauquén, env. 11-9 ka), auquel nous avons participé pour la partie malacologique, a été effectuée une autre tentative d'utilisation des variations de composition isotopique de l'oxygène dans des coquilles de *C. concholepas* comme marqueurs des conditions thermiques des eaux côtières de la baie d'Antofagasta (23°S). Cette étude isotopique a été faite, dans un premier

temps, pour répondre à un problème paléoclimatologique précis : quelle était la température de l'eau de la baie d'Antofagasta vers 10 ka ?

Le porteur du projet "Huentelauquén" financé par le CONICYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, du Chili), A. Llagostera, avait antérieurement émis l'hypothèse que, vers 10 ka, les eaux côtières avaient été plus chaudes, de plusieurs degrés, par rapport aux eaux actuelles (Llagostera, 1979). Cette interprétation était fondée, en première instance, sur la présence, dans le site de Chimba 13 (Fig. 1.21), de nombreux otolithes de poissons qu'il attribuait à des espèces (*Micropogonias cf. altipinnis*) qui vivent actuellement sur les côtes du sud de l'Equateur.

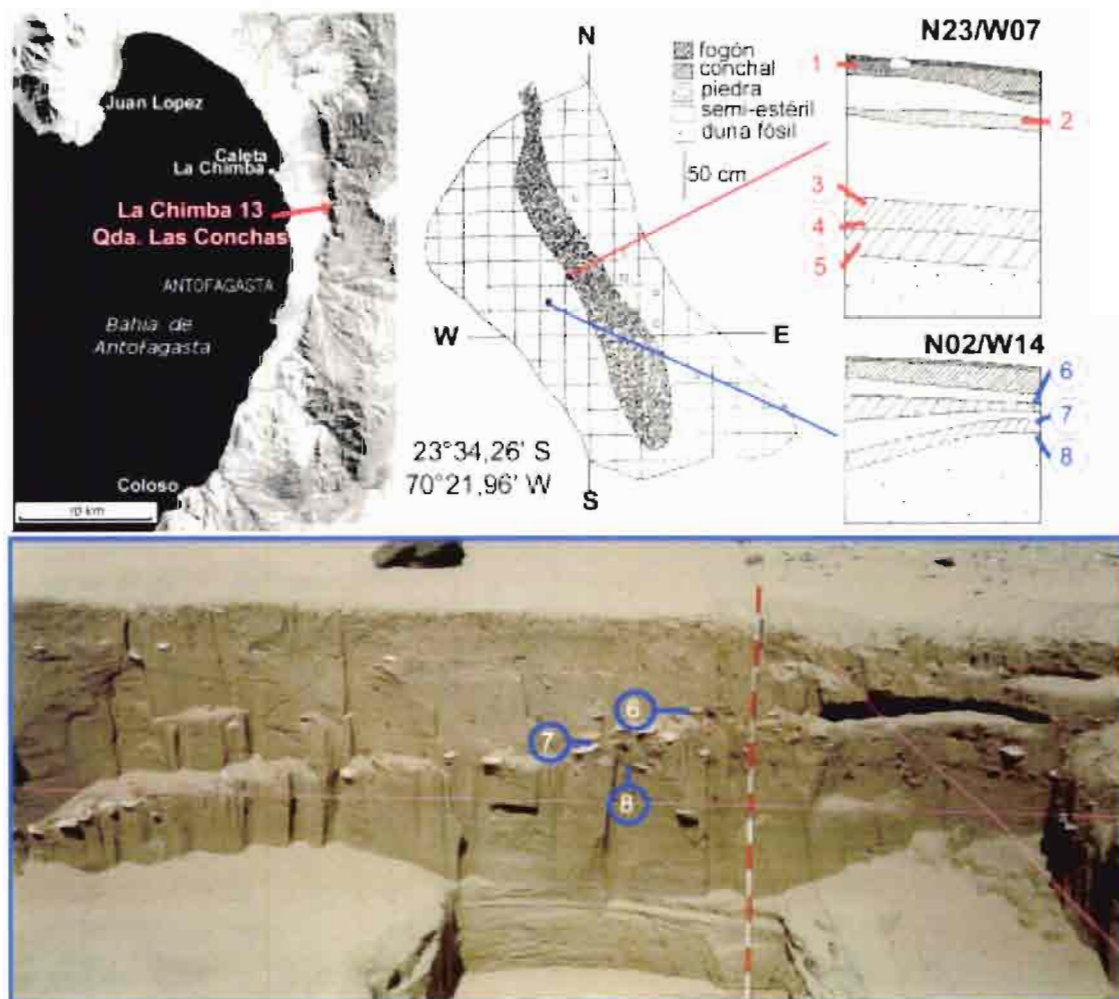


Figure 1.21. Localisation du site archéologique "Chimba 13" et des niveaux d'occupation humaine soulignée par des coquilles de mollusques. Sur la photo une coupe du site montrant les coquilles de *C. concholepas* des niveaux 6, 7 et 8 analysés par Ortlieb *et al.* (1997) (cf. Fig 1.23).

D'un point de vue paléoclimatologique, cette interprétation était contradictoire avec les données paléocéanographiques régionales disponibles (fin de la déglaciation), et posait

donc problème. Si l'interprétation initiale de poissons d'eaux chaudes à 23°S, vers 10 ka, se confirmait, il faudrait peut-être envisager que cela reflétait des conditions anormales de type El Niño, de durée limitée dans le temps (quelques mois, toutes les quelques années).

Une façon de résoudre le problème a été de vérifier la composition isotopique moyenne de coquilles littorales du site en question et de la comparer au $\delta^{18}\text{O}$ de coquilles modernes de la même espèce, et de la même zone. En effet, si l'on pouvait supposer que des poissons côtiers étaient susceptibles de se déplacer, en provenance du Pérou, avec des masses d'eaux chaudes (hypothèse de conditions El Niño), des coquilles de *C. concholepas*, elles, devraient enregistrer sur plusieurs années, les variations de température (saisonniers, aussi bien que anormales) de la baie. Ce projet de recherche a été mené à bien par l'ORSTOM (IRD), en collaboration avec le lab. GEOTOP (Université du Québec à Montréal, Cl. Hillaire Marcel) et le CONICYT.

Des mesures isotopiques sériées le long de l'axe de croissance maximal (Lu) de coquilles modernes et fossiles de *C. concholepas* ont ainsi été effectuées (GEOTOP). La figure 1.22 montre les variations de $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ mesurées dans deux coquilles modernes (pêchées en août 1996, à proximité immédiate du site Chimba 13). Ces courbes suggèrent que les coquilles enregistrèrent des variations saisonnières (thermiques notamment ?) durant trois, ou quatre années.

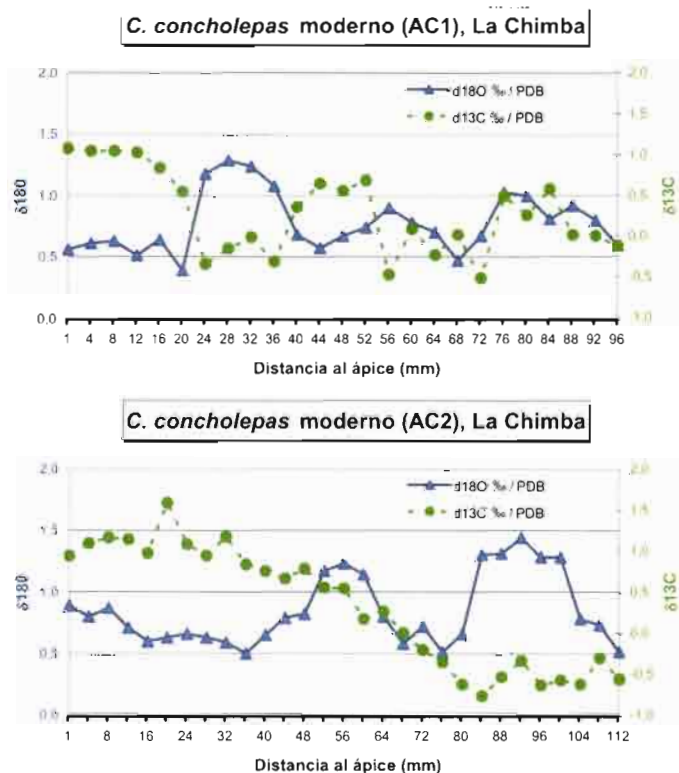


Figure 1.22. Variations isotopiques (oxygène et carbone) mesurées dans deux coquilles modernes de *C. concholepas* provenant de Caleta La Chimba, baie d'Antofagasta (cf. localisation Fig. 1.21) (Ortlieb *et al.* non publié).

Des analyses furent également effectuées, selon les mêmes procédures, sur des coquilles de divers niveaux archéologiques du site Chimba 13. Les résultats obtenus (Fig. 1.23) montrent des variations de composition isotopique comparables, bien que d'amplitude inférieure ($\delta^{18}\text{O}$), à celles mesurées sur les coquilles modernes. Cela suggère que la gamme de variabilité saisonnière de la température de surface (SST) pourrait avoir été légèrement inférieure à l'actuelle, durant la transition Pléistocène-Holocène à la latitude du Tropic du Capricorne.

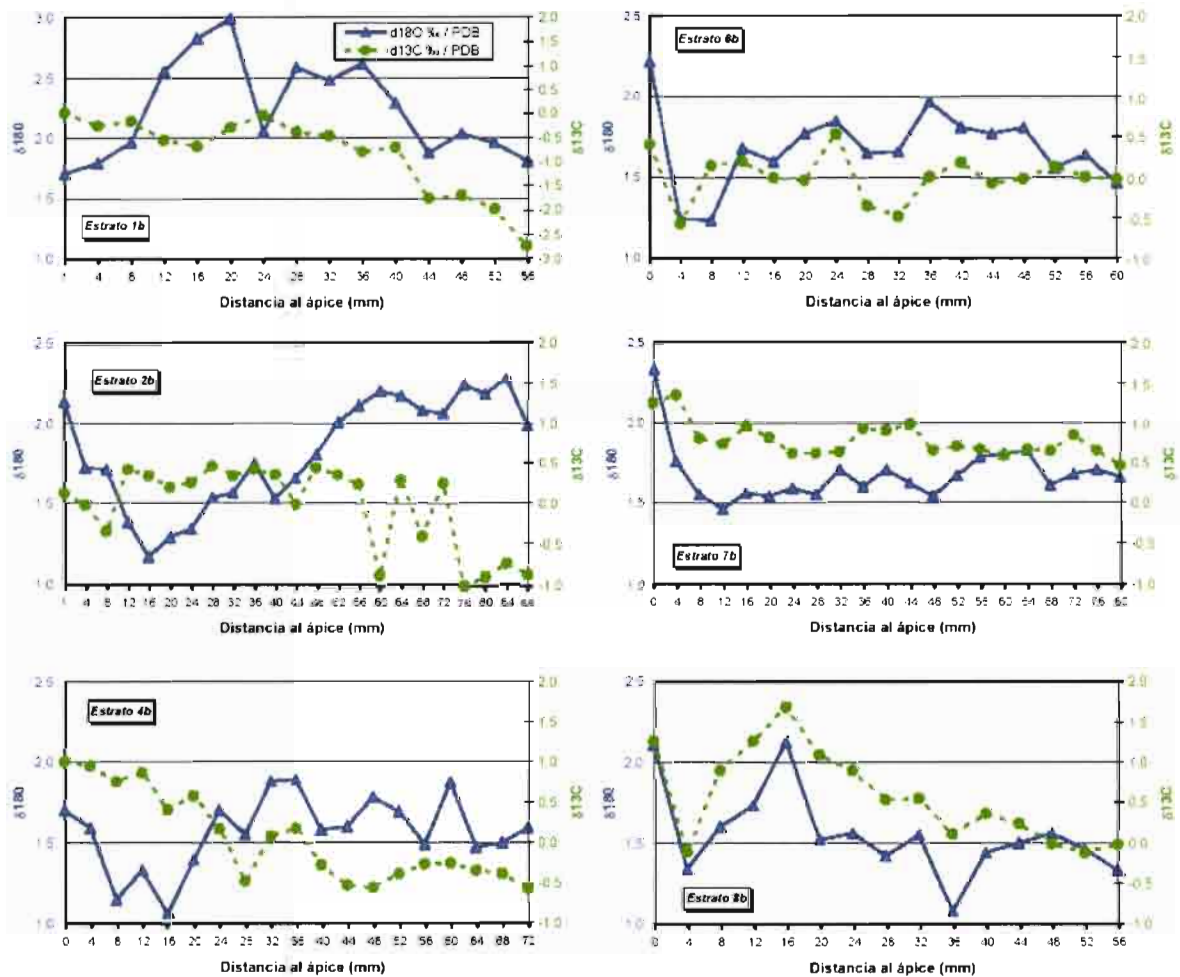


Figure 1.23. Variations isotopiques (oxygène et carbone) mesurées dans des coquilles fossiles de *C. concholepas* provenant du site archéologique "Chimba 13" (cf. localisation Fig. 1.21) (modifié de Ortlieb *et al.* (1997))

Une interprétation préliminaire des différences des valeurs moyennes de $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles fossiles du site Chimba 13 et des coquilles modernes a ainsi conduit à proposer que la température de la mer était inférieure d'environ 4°C par rapport à la température moyenne de l'eau dans la baie d'Antofagasta (Ortlieb *et al.*, 1997). Dans un travail plus récent, fondé sur les mêmes données géochimiques et sur de nouvelles analyses

isotopiques sur une autre coquille moderne de Antofagasta et une coquille moderne de la région de Valparaiso (Las Cruces, 33°S) (Fig. 1.24), il a été suggéré que vers 10 ka, la température moyenne de la mer à Antofagasta pourrait avoir été comparable à celle que l'on observe à la latitude de Valparaiso aujourd'hui (Ortlieb *et al.*, 2002).

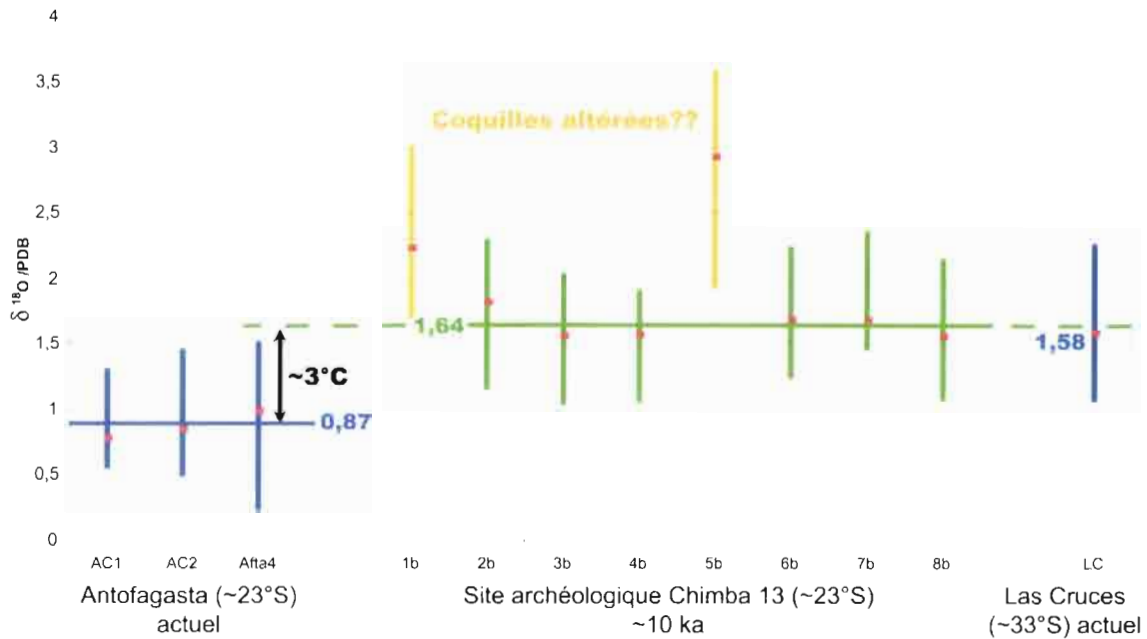


Figure 1.24. Comparaison des gammes de variation et valeurs isotopiques moyennes (oxygène et carbone) mesurées dans des coquilles modernes (à Antofagasta et Las Cruces, en bleu) et dans le site archéologique de Chimba 13, datant de la transition Pléistocène-Holocène (en vert). Les barres jaunes représentent les résultats de deux coquilles fossiles qui pourraient avoir subi des altérations diagénétiques. Données non publiées.

Nous reviendrons plus loin sur la validité et l'interprétation de ces résultats.

Pour ce qui concerne le problème paléoclimatologique évoqué ci-dessus, ajoutons que des études ultérieures ont infirmé les déterminations taxinomiques initiales des otolithes de poissons (Bearez, 2001, comm. pers.). Ces poissons n'auraient pas appartenu aux espèces vivant sur les côtes de l'Equateur mais plutôt celles que l'on trouve actuellement dans les eaux froides des fjords de la côte méridionale du Chili. Ainsi l'hypothèse initiale de la présence d'eaux chaudes, permanente ou temporaire, lors d'événements ENSO, à la transition Pléistocène-Holocène, dans le Nord-Chili, ne serait pas vérifiée.

1.3.5.3. Des mesures isotopiques récentes sur des coquilles de l'Holocène moyen du sud Pérou.

Dans un travail récent Kennett (2003) effectua des mesures isotopiques sériees (oxygène et carbone) dans deux coquilles de *C. concholepas* provenant d'un site archéologique de l'Holocène moyen (5400-4950 BP) de la côte sud du Pérou (Fig. 1.25).



Figure 1.25. Section exposée du site "Km4" au nord d'Ilo, Pérou, où furent prélevées les coquilles de *C. concholepas* analysées par Kennett (2003).

Selon l'auteur, les courbes de $\delta^{18}\text{O}$ reflètent des variations de température des eaux côtières comparables à celles observées actuellement, et les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ rendent compte, dans une certaine mesure, des variations de conditions d'upwelling au cours des 3 années durant lesquelles vécurent les coquilles (Fig. 1.26). L'auteur est confiant dans les possibilités de reconstructions paléo-environnementales à partir d'analyses isotopiques sur ces organismes, considérant même qu'il devrait être faisable de déterminer la période de l'année à laquelle ont été pêchées les organismes.

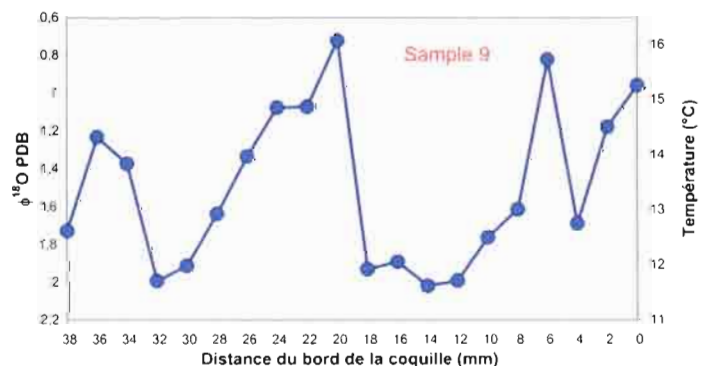
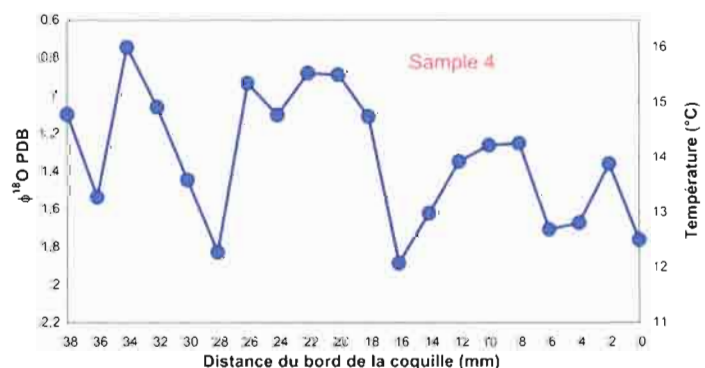


Figure 1.26. Variations de la composition isotopique de l'oxygène mesurées dans deux coquilles (9 et 4) provenant du site archéologique "Km4" (d'après Kennett, 2003)



I.4. Variations climatiques et ENSO

Le phénomène El Niño (ENSO: El Niño Southern Oscillation) constitue la première cause de variabilité climatique interannuelle non seulement dans le Pacifique tropical et les régions bordières, mais également aux moyennes latitudes et à l'échelle de la planète. Il se caractérise par une série d'anomalies océaniques et climatiques qui incluent, notamment, des pluies diluviennes dans des zones côtières arides, des sécheresses dramatiques dans des régions normalement humides, des élévations de température de la mer de plusieurs degrés durant des mois qui ont des conséquences catastrophiques sur des écosystèmes entiers. Depuis l'événement de 1982-83 qui eut une très forte magnitude, de nombreuses équipes de chercheurs, de diverses disciplines (océanographes, hydrologues, climatologues, biologistes, modélisateurs) se consacrent à l'étude de cette manifestation particulière des interactions océan-atmosphère dans le domaine tropical. Ces études visent à comprendre le phénomène, les paramètres qui en modulent les manifestations, et les processus déclencheurs, de façon à être en mesure de prévoir son occurrence avec suffisamment d'anticipation pour limiter les dommages que produit cette altération quasi-périodique du système climatique.

1.4.1. La circulation atmosphérique et océanique dans les tropiques et ENSO

Dans la zone tropicale, la circulation atmosphérique est dominée par les cellules de Hadley. Ce système de circulation, dite méridienne, comporte une branche ascendante dans la bande équatoriale, un flux de vapeur vers les moyennes latitudes et une branche descendante dans la zone sub-tropicale (Sturman et Tapper, 1996). Dans les années 1920, Walker mit en évidence une circulation atmosphérique zonale (est-ouest) à partir d'observations sur les différences de pression entre le Pacifique central (Tahiti) et le Pacifique ouest (Darwin, en Australie). Ce système permet de définir un indice d'Oscillation Australe (SOI, "Southern Oscillation Index") (Fig. 1.27), qui est positif lorsque la pression est plus élevée près de Tahiti, et lorsque de forts alizés entraînent l'air vers l'ouest. Quand l'atmosphère bascule dans une phase d'indice négatif, les pressions sont plus fortes à l'ouest du Pacifique, les alizés sont affaiblis et on observe un déplacement de la zone de convection vers le Pacifique central.

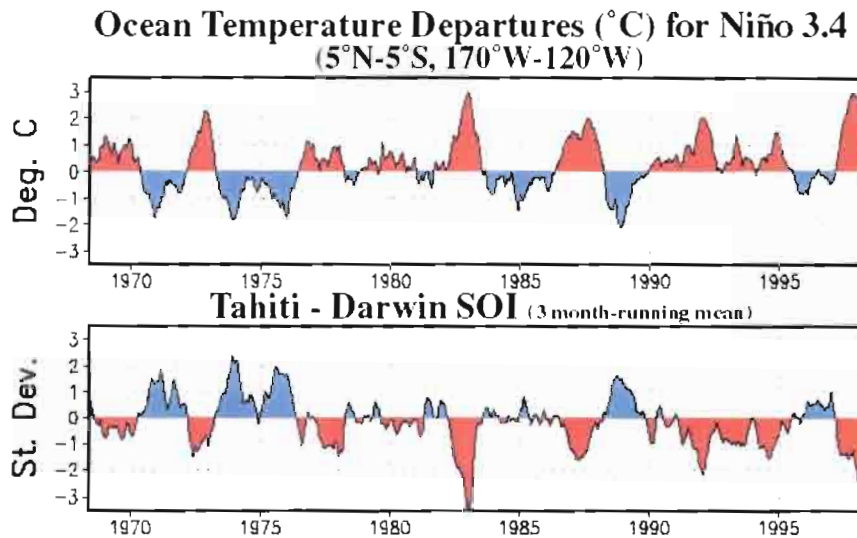


Figure 1.27: Indice de l'Oscillation Australe (SOI), entre 1968 et 1998, et son étroite relation avec les anomalies thermiques de la partie centrale de l'océan Pacifique équatorial dans la zone dénommée Niño3.4 (cf. Fig. 1.31)

Dans le Pacifique, deux courants s'écoulent vers l'ouest de part et d'autre de l'Equateur: le courant sud équatorial et le courant nord équatorial, tandis que le contre-courant nord équatorial, situé entre les deux premiers, coule vers l'est, dans le sens opposé à celui des alizés (Fig. 1.28). A l'est, le courant de Humboldt et le courant de Californie apportent des eaux froides depuis les hautes latitudes vers l'équateur. Ces deux courants bifurquent vers l'ouest et contribuent à l'existence de la langue d'eau froide de l'est Pacifique (« Cold Tongue ») (Dijkstra et Neelin, 1995).

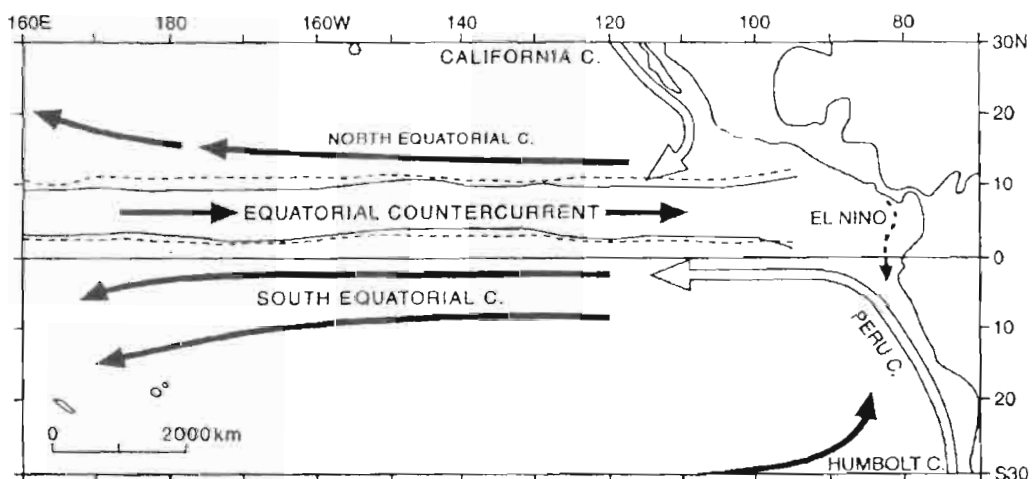


Figure 1.28. Circulation dans le Pacifique équatorial (d'après McGregor et Nieuwolt, (1998).

Dans les conditions normales (Fig 1.29) les alizés tendent à pousser vers l'ouest du Pacifique les eaux chaudes qui s'accumulent dans la zone dénommée la "Warm Pool", ce qui provoque un abaissement de la profondeur de la thermocline dans le Pacifique ouest. Dans la zone du Pacifique ouest et en Indonésie, la convection atmosphérique est plus active, les mouvements sont ascendants, de fortes pluies s'observent et le vent souffle vers l'ouest. Dans le Pacifique est les pressions sont hautes, les mouvements d'air sont descendants, il pleut moins, la "Cold Tongue" est développée, et la thermocline est très peu profonde. L'une des conséquences de la différence de température superficielle moyenne de la mer entre l'est et l'ouest du Pacifique est une variation de hauteur du niveau de la mer, supérieure à l'ouest qu'à l'est de cet océan. Dans cette configuration, caractérisant les conditions "normales", se développe la circulation équatoriale de Walker à une branche (Barry et Chorley, 1998).

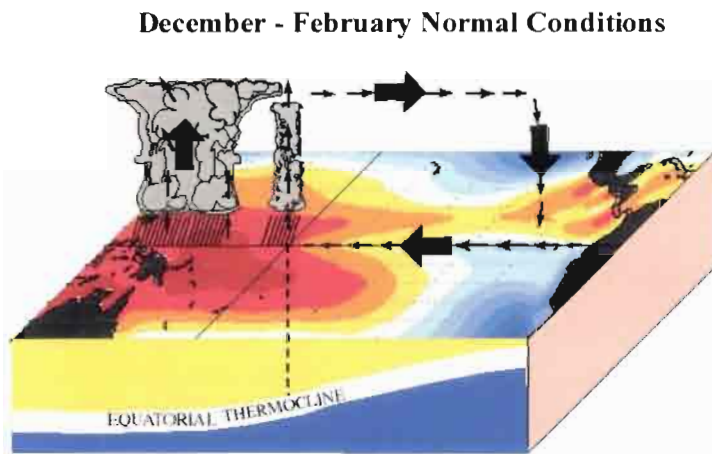


Figure 1.29. Conditions atmosphériques et océaniques normales dans le Pacifique central.

Le système ENSO (El Niño-Southern Oscillation) qui englobe les aspects océanographiques et atmosphériques, correspond à une alternance entre deux extrêmes d'un système oscillatoire : El Niño (EN) et La Niña (LN).

La phase chaude EN (Fig. 1.30) est caractérisée par des changements océaniques et climatiques à grande échelle au long du Pacifique tropical. D'un point de vue climatique, on observe : un affaiblissement des alizés, un déplacement de la zone de convection atmosphérique vers l'est, et de fortes pluies à l'est, contrastant avec une sécheresse à l'ouest.

Durant la phase chaude EN, la structure sub-superficielle de l'océan se caractérise par une couche anormalement profonde d'eau chaude et par une augmentation de la profondeur de la thermocline dans le Pacifique tropical est. Le niveau de la mer est plus haut que

normal dans le Pacifique est. Plusieurs définitions des événements EN ont été proposées. Celle qui est la plus communément admise de nos jours, par la communauté des océanographes physiciens notamment, concerne le réchauffement des eaux de la région de l'Océan Pacifique équatorial dénommée région Niño 3.4 (Fig. 1.31), lequel doit être supérieur d'au moins $0,4^{\circ}\text{C}$ pendant trois mois consécutifs pour que l'on puisse parler d'un événement EN.

December - February El Niño Conditions

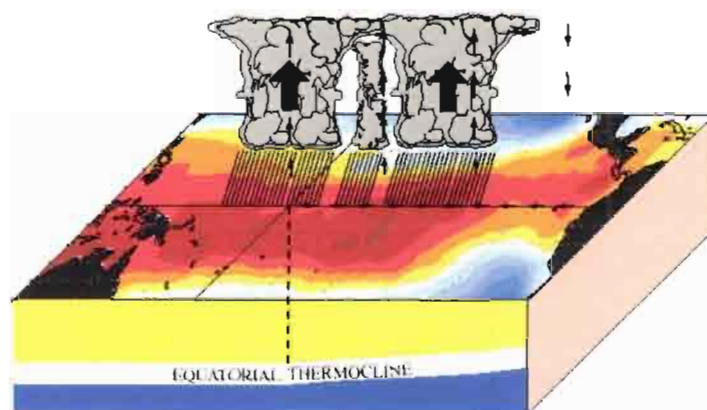


Figure 1.30 Conditions El Niño dans le Pacifique central

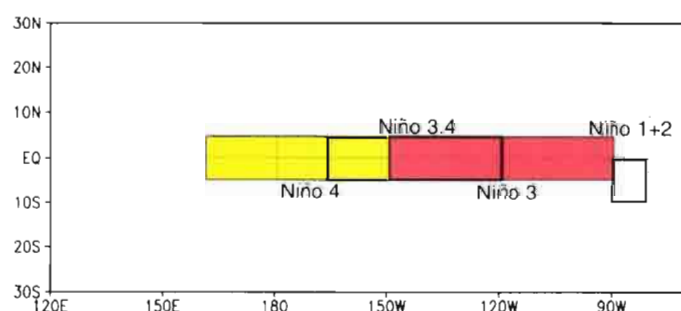


Figure 1.31: Zones géographiques du Pacifique équatorial dans lesquelles les mesures océanographiques sont utilisées pour définir les anomalies « El Niño ». La plupart des études se réfèrent à la région dite « Niño 3.4 », à cheval sur les zones 3 et 4.

La phase froide (LN) d'ENSO (Fig. 1.32) est aussi marquée par des changements de circulation atmosphérique dans le Pacifique tropical : un renforcement des vents vers l'ouest au niveau de la couche atmosphérique inférieure et une intensification des vents vers l'est dans la couche atmosphérique supérieure. Les alizés renforcés repoussent la "warm pool" vers l'ouest tandis que l'upwelling équatorial est intensifié. Les précipitations sont très fortes sur le Pacifique ouest, alors qu'une sécheresse s'étend dans une zone triangulaire entre le Pacifique central, l'Amérique centrale et le Chili. Ces conditions reflètent une circulation de Walker renforcée. La structure sub-superficielle de l'océan dans l'ouest du Pacifique se caractérise par une couche d'eau chaude superficielle anormalement peu profonde, une profondeur réduite de la thermocline et des eaux froides riches en nutriments proches de la surface de l'océan. Une montée du niveau de la mer dans le

Pacifique occidental provoque une augmentation de la pente de la surface de l'océan d'est en ouest (Fig. 1.32)

December - February La Niña Conditions

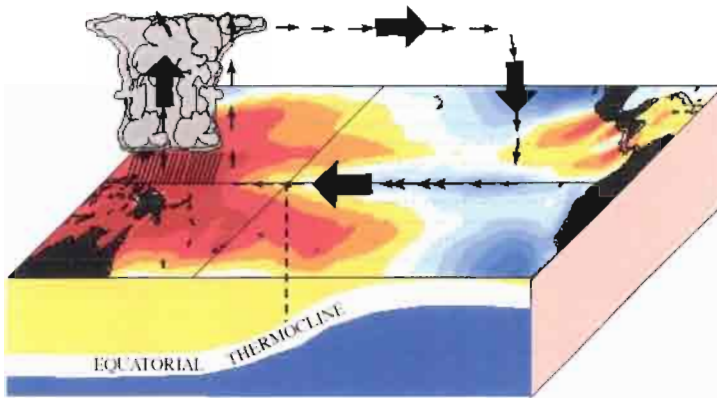


Figure 1.32. Conditions La Niña dans le Pacifique central

1.4.2. Variabilité dans le temps du système ENSO

La récurrence du phénomène El Niño, c'est-à-dire la phase chaude du système ENSO, est de l'ordre de 3 à 7 ans, mais celle-ci a varié dans le passé à toutes les échelles de temps, décennales, séculaires et millénaires. Les événements El Niño de 1982-83 et 1997-98 ont eut une magnitude exceptionnelle, qui n'a eu d'autre équivalent au XXe siècle qu'en 1925. Un, deux, ou au plus trois, événements d'une intensité comparable semblent avoir eu lieu au cours des siècles passés (Quinn *et al.*, 1987; Quinn et Neal, 1992; Ortlieb, 2000)

Le fait que deux événements El Niño de très forte intensité se soient produits à une quinzaine d'années d'intervalle, après plusieurs décennies d'occurrence d'événements d'intensité moyenne, a pu être interprété par certains comme une manifestation possible du réchauffement climatique planétaire. Ce lien n'est cependant pas prouvé et fait l'objet de discussions entre spécialistes. En fait de nombreuses questions relatives aux relations entre le système ENSO et l'évolution du climat se posent. Va-t-on vers un régime caractérisé par des événements El Niño de plus en plus fréquents, et ou des événements de plus en plus souvent de forte intensité ?

Comme les séries de données océanographiques et climatiques sont relativement courtes (quelques décennies ou un siècle ou deux) au regard des phénomènes étudiés, il est apparu nécessaire de développer des études paléoclimatologiques spécifiquement orientées sur la reconstruction des occurrences passées d'événements ENSO. Quinn et co-auteurs (Quinn *et al.*, 1987; Quinn et Neal, 1992) ont été les premiers à tenter d'établir une chronologie historique des événements El Niño des quatre derniers siècles. D'autres travaux ont porté sur des périodes plus anciennes, au cours de l'Holocène (Beck *et al.*,

1992; Dunbar *et al.*, 1994; Perrier *et al.*, 1994; Corrège *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2000).

L'un des objets des études sur les manifestations anciennes d'événements El Niño est de déterminer si durant les périodes relativement chaudes du passé, comme à l'Holocène moyen par exemple, la fréquence et l'intensité des occurrences ENSO étaient distinctes de celles que nous connaissons au XXe siècle. Est-ce que, lors des fluctuations chaudes du climat passé, le phénomène El Niño obéit aux mêmes lois que durant les périodes plus froides ?

Du fait de la durée relativement courte des anomalies ENSO des conditions climatiques et océanographiques, qui sont de quelques mois seulement, ce ne sont que des archives à haute résolution temporelle qui peuvent être utilisées pour ce genre d'étude paleo-ENSO. Les principaux types d'enregistrement qui ont été étudiés sont les séries dendrochronologiques, les carottes de glace des très hautes montagnes, et les séries coralliennes.

Les proxies les plus utilisés pour la reconstitution de variations de conditions paléocéanographiques à haute résolution temporelle, et notamment des événements EN, dans le Pacifique Est sont les récifs coralliens (Dunbar *et al.*, 1994; Wellington et Dunbar, 1995; Lindsley et Ren, 2000). Les colonies coralliennes ont une aire de distribution géographique limitée par divers facteurs dont la température de l'eau (Figure 1.33).



Figure 1.33. Distribution des récifs coralliens autour du monde (SeaWorld et BuschGardens, 2002).

On remarque notamment l'absence de coraux massifs sur les côtes d'Amérique du Sud au sud de l'Equateur. Cette situation a conduit à chercher d'autres types de marqueurs potentiels de variations climatiques et océaniques du passé. Les coquilles de mollusques pourraient constituer ce type d'enregistreurs si tant est que l'on parvienne à « calibrer » de

façon satisfaisante la relation entre des variations de composition chimique des coquilles et la température superficielle de la mer. L'étude présente participe de cette problématique de calibration de l'un des mollusques endémique de cette région.

1.5 La zone d'étude

1.5.1 .Le contexte climatique de la côte du Désert d'Atacama

Le climat de la côte ouest de l'Amérique du Sud est sous l'influence principale de l'Anticyclone Subtropical du Pacifique Oriental (ASPO). Ce système gouverne les alizés ou vents de sud-est qui contrôlent une partie des circulations atmosphérique (alizés) et océanique (courant de Humboldt) vers l'Equateur le long des côtes de Chili et Pérou. Les alizés convergent dans la zone équatoriale au niveau de la zone de convergence intertropicale (ZCIT), zone de faible pression où l'advection verticale est forte. L'ASPO permet une grande stabilité atmosphérique en provoquant les conditions d'une subsidence d'air sec quasi-permanente sur la marge occidentale de l'Amérique du Sud. L'installation pendant toute l'année de ces conditions, la présence de la Cordillère des Andes et l'addition d'une série de facteurs locaux associés à des interactions océan-atmosphère concourent à l'établissement d'un climat d'extrême aridité qui caractérise la côte du désert d'Atacama.

Le seul cours d'eau pérenne, alimentée par la fonte des glaces de la Cordillère des Andes, à plus de 5000 m d'altitude, le Río Loa, traverse le désert d'Atacama et atteint l'océan entre Tocopilla et Iquique (Fig. 1.11).

La zone comprise entre Antofagasta (23°S) et la frontière péruvienne (18°S) fait partie des zones les plus arides du monde. Les précipitations (moyennes interannuelles) sont de l'ordre de 7mm/an à Antofagasta et encore moindres à Iquique. Cette hyper-aridité se marque par une absence quasi-totale de végétation, et par voie de conséquence de faune terrestre. Les rares zones où se développe une maigre végétation (Cactus, petits buissons, herbe) sont situées à une altitude de quelques centaines de mètres, sur les flancs occidentaux de la cordillère de la côte ou au sommet de quelques sommets (Cerro Moreno, dans le sud de la péninsule de Mejillones), là où des brouillards littoraux butent contre les reliefs durant les mois les plus froids. Ces brouillards qui résultent de l'évaporation marine, localement appelé « camanchaca », se développent souvent à des altitudes entre 500 et 700 m d'altitude. Ils alimentent par suintement quelques sources qui constituaient les seuls points d'eau qui permettaient à quelques tribus préhistoriques de survivre dans des conditions géographiques particulièrement hostiles. Ces habitants des côtes du nord Chili, les Changos, dépendaient pour leur nourriture presque exclusivement des ressources

marines (poissons, coquillages, échinodermes, algues, otaries) Comme cela a déjà été évoqué, les sites archéologiques de la côte nord-chilienne sont extrêmement riches en coquilles de mollusques, restes de poissons, os de mammifères marins

Dans le contexte d'hyperaridité de la côte du désert d'Atacama, et en l'absence de tout vestige biotique ou lacustre, les restes de faune marine des sites d'occupation humaine holocènes constituent la principale source d'information disponible pour la reconstruction des conditions paléo-environnementales et paleoclimatiques à l'échelle des derniers milliers d'années Cela explique que ces sites archéologiques aient été l'objet d'attention particulière pour les études sur l'évolution du milieu dans cette région

La grande aridité de la région, qui prédomine depuis des centaines de milliers d'années, présente un avantage quant aux conditions de préservation des sédiments et restes paléontologiques Les restes de faune, et notamment les coquilles marines, que l'on retrouve dans les dépôts de terrasses marines et les sites archéologiques, sont susceptibles d'être mieux préservés en l'absence de pluie et d'humidité ambiante Les tests en carbonate de calcium y sont généralement bien mieux préservés que dans des conditions d'humidité communes dans les autres régions tropicales Ces circonstances qui limiteraient les effets de la diagenèse des biocarbonates des fossiles constituent une autre justification des études qui visent à utiliser les coquilles marines comme marqueurs de conditions paléo-environnementales

1.5.2 La circulation océanique locale et l'upwelling

Tout au long de l'Amérique du Sud, c'est le système du Courant de Humboldt qui baigne les côtes La combinaison du forçage par le vent et de la force de Coriolis engendre les phénomènes de remontée d'eaux profondes, froides, riches en nutriments vers la surface de l'océan (pompage d'Ekman ou upwelling) L'abondance de nutriments d'origine profonde dans les eaux côtières du nord Chili et du Pérou explique que cette zone soit l'une des plus productives du globe La dynamique locale de l'upwelling est fortement liée à la topographie locale Le plateau est globalement étroit, avec un élargissement au sud des 36°S, au Chili et vers 10°S, au Pérou Ces différences topographiques génèrent des cellules d'upwelling particulièrement intenses, de caractère saisonnier au sud de 30°S et permanent au nord

Strub *et al* (1998) ont décrit l'océanographie à grande échelle du système d'upwelling du Nord du Chili Le système du Courant de Humboldt est composé de plusieurs courants (Fig 1.34) Au large, le courant de retour de la gyre subtropicale (West Drift Current) s'écoule vers les côtes américaines entre 35° et 48°S Il se sépare en deux branches, dont

celle qui est orientée vers le nord correspond au Courant du Pérou-Chili (PC). Dans l'autre sens, en surface, le contre-courant de Pérou-Chili (PCCC) se situe dans la continuité du sous-courant équatorial (EUC) et transporte vers le sud des eaux d'origine équatoriale, salées et peu concentrées en oxygène. Un autre courant avec un flux vers le pôle est le sous-courant péruvien (PUC) ou Courant de Gunther. Ce courant se trouve vers les 150-200 m de profondeur et a été observé à environ 40 km des côtes (Escribano *et al.*, 2002).

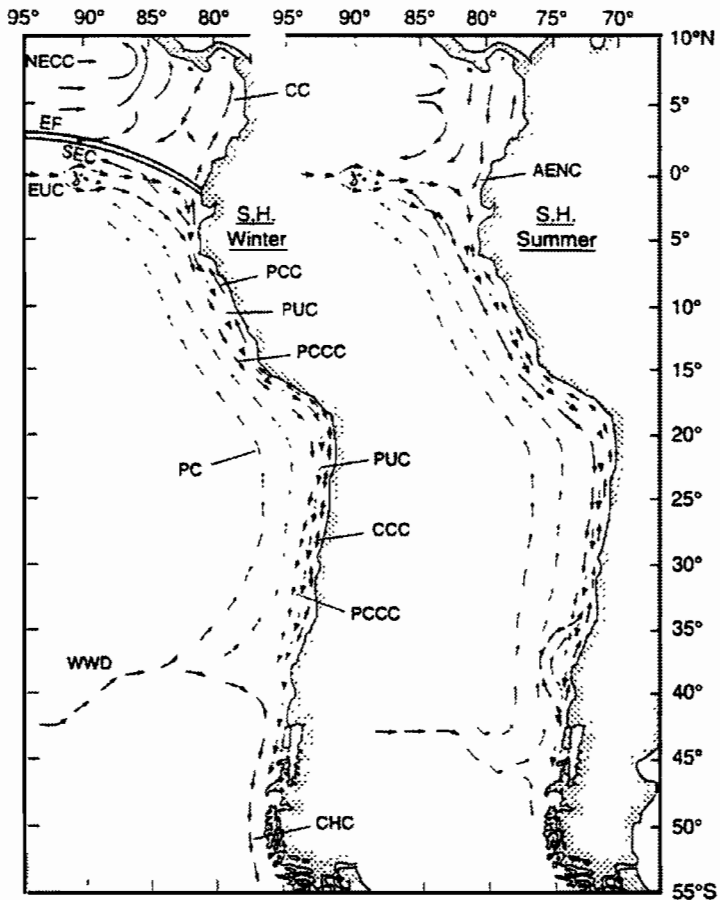


Figure 1.34. Principaux courants le long de la côte ouest de l'Amérique du Sud durant l'hiver (gauche) et l'été (droite) (Strub *et al.*, 1998).

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux côtières du Nord du Chili sont très variables du fait de l'interaction et du mélange de différentes masses d'eau. Selon plusieurs auteurs (Robles *et al.*, 1976; Silva et Sievers, 1981; Strub *et al.*, 1998), trois masses d'eau peuvent être présentes dans la zone côtière dans le Nord du Chili: Superficielle Subtropicale (STSW), Subantarctique (SAW), Subsuperficielle Equatoriale (ESSW). Leurs degrés de prédominance et de mélange dépendent de l'influence des courants locaux, en particulier des PUC, PCCC, PC et CCC. Ce dernier, le courant côtier chilien, est normalement dirigé vers le sud, mais semble pouvoir changer de direction en fonction du régime des vents (Escribano *et al.*, 2002)

Masses d'eau	Température (°C)	Salinité (psu)	Distribution verticale et caractéristiques
Superficielle Subtropicale (STSW)	> 18.5°	> 34.9	35 m supérieurs, près de la côte
Subantarctique (SAW)	11.5 – 14.5	34.1 – 34.8	20 – 50 m près de la côte plus profonde au large
Subsuperficielle Equatoriale (ESSW)	8.5 – 10.5	34.5 – 34.8	300 – 370 dans la région côtière, à faible contenu en oxygène. Eau résurgente

Tableau 1.1. Masses d'eau de la zone côtière du Nord du Chili et ses caractéristiques océanographiques (d'après Escribano *et al.*, 2002).

Dans le nord du Chili, à la latitude de la baie d'Antofagasta, les alizés persistent toute l'année, provoquant de façon continue des événements de remontées d'eau froide riche en nutriments vers la surface (upwelling). Ces événements sont moins intenses pendant l'hiver (Castilla *et al.*, 2002).

Trois cellules actives d'upwelling se trouvent dans la région d'Antofagasta : vers le sud, à 60-70 km d'Antofagasta, la cellule de Caleta el Cobre et, plus proche, la cellule d'intensité moindre de Coloso. Vers le nord, la cellule de Punta Angamos, située à l'extrémité nord de la Péninsule de Mejillones est la plus active (Fig.1.35).

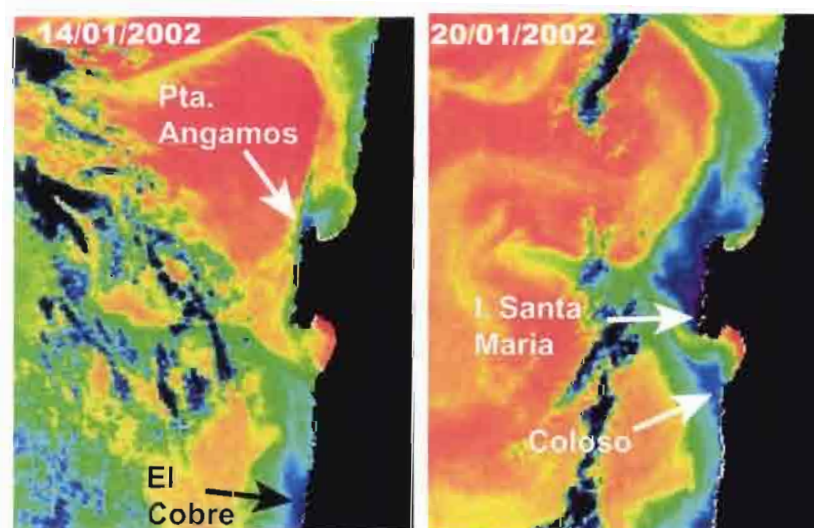


Figure 1.35. Images satellitaires de la température superficielle de la mer dans la zone d'Antofagasta (23°S). Les deux images ont été enregistrées à un intervalle d'à peine 6 jours, pendant l'été austral. Noter les cellules d'upwelling de El Cobre, Coloso et Punta Angamos (Image du Centre d'Etudes Spatiales, Chile).

1.5.3. La température superficielle de la mer à Antofagasta

Dans la région d'Antofagasta, la température superficielle de l'eau varie saisonnièrement, en moyenne, entre 20,5°C en janvier-février (été austral) et 15°C en

juillet-août (Fig. 1.36). Les gammes de variations de température mensuelle, pour un mois donné, sont de l'ordre de 5°C en février, et de 2°C en octobre. Les principales anomalies de température sont enregistrées durant les événements El Niño (augmentation de température) et La Niña (diminution).

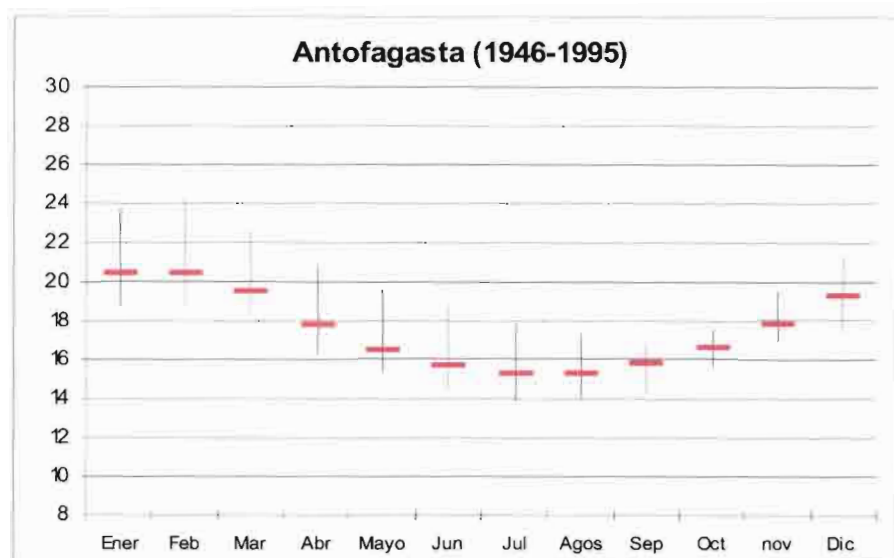


Figure 1.36. Variation mensuelle de la température superficielle de la mer à Antofagasta (données CENDOC).

A une échelle interannuelle, il se confirme que les principales altérations du cycle saisonnier de température sont liées aux effets des manifestations El Niño. On observe ainsi, Fig. 1.37, que l'année 1997 a été marquée par une absence d'hiver thermique : dès l'installation des conditions El Niño 1997-98, à la fin de l'été austral 1997, les eaux se sont réchauffées au lieu de se refroidir. Durant l'hiver 1997, les températures enregistrées à Antofagasta ont été supérieures de plus de 3°C par rapport aux normales saisonnières. En décembre 1997- janvier 1998, les eaux littorales ont atteint des valeurs de plus de 22°C (Fig. 1.37).

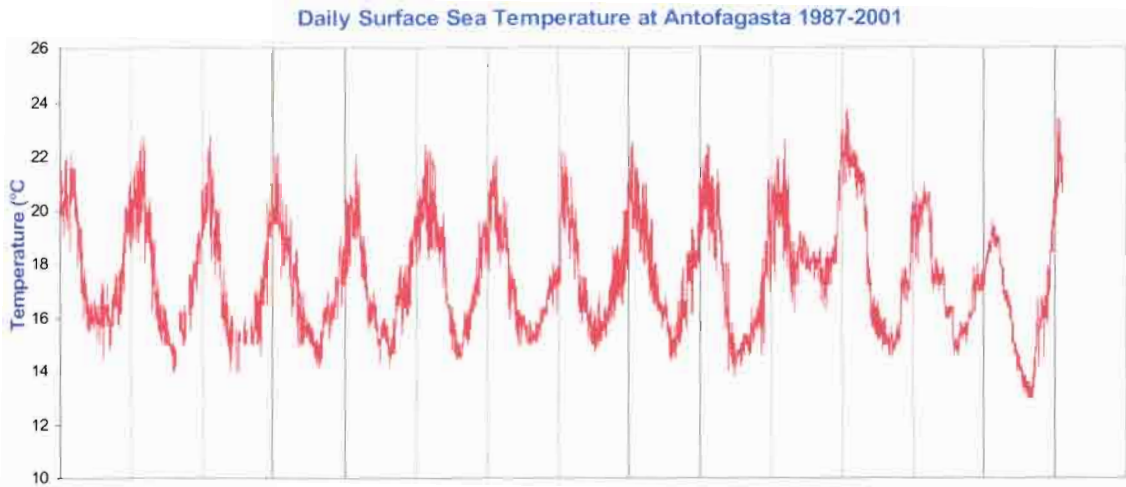


Figure 1.37. Variation interannuelle de la température superficielle de la mer à Antofagasta entre 1987 et 2001 (données CENDOC).

A l'inverse, durant les étés 1998-99 et surtout 1999-2000, les conditions La Niña 1998-2000, qui se vérifiaient à l'échelle du Pacifique tropical, se sont marquées localement, par des températures anormalement basses (Fig. 1.37). Durant l'hiver 2000, la température de l'eau a été inférieure, de plus de 2°C, par rapport aux normales saisonnières.

Ainsi, les variations de la température superficielle de la mer dans la région considérée montrent un régime annuel relativement stable (années 1987-1996), sauf lorsque se produisent des anomalies, positives et négatives, d'ENSO de portée régionale. A la latitude du Tropique du Capricorne (qui passe au nord de la ville d'Antofagasta), les écarts, positifs et négatifs, de température superficielle de la mer sont de l'ordre de 2 à 3°C dans le cas d'événements El Niño ou La Niña de forte intensité. Sur la côte nord du Pérou, les événements El Niño 1982-83 et 1997-98 se manifestent par des anomalies de température qui atteignent une dizaine de degrés C.

Dans la mesure où des mollusques tels que *C. concholepas* passent une partie de leur vie à des profondeurs de plusieurs mètres, où se poursuivent les phénomènes de croissance, il est pertinent de tenir compte des variations de température qui se produisent dans la colonne d'eau. Un travail récent de Kaplan et co-auteurs (Kaplan *et al.*, 2003), fondé sur des séries de mesures faites à diverses profondeurs, entre 0 et 15 m, durant une quinzaine de jours, permet de vérifier que les températures superficielles de la mer diminuent, en moyenne de 1 à 2 °C dans les premiers mètres, puis de plusieurs degrés entre 10 et 15 mètres de profondeur (Fig. 1.38). A partir d'une dizaine de mètres de profondeur, les fluctuations de température quotidiennes (jour-nuit) s'estompent en tant que telles. Pourtant, il doit être noté qu'à des profondeurs de 9 et 15 m, l'amplitude des variations de

température restent du même ordre de grandeur qu'en surface et que ces variations obéissent à des rythmes qui sont subquotidiens (fréquence plus élevées : cf Fig. 1.38).

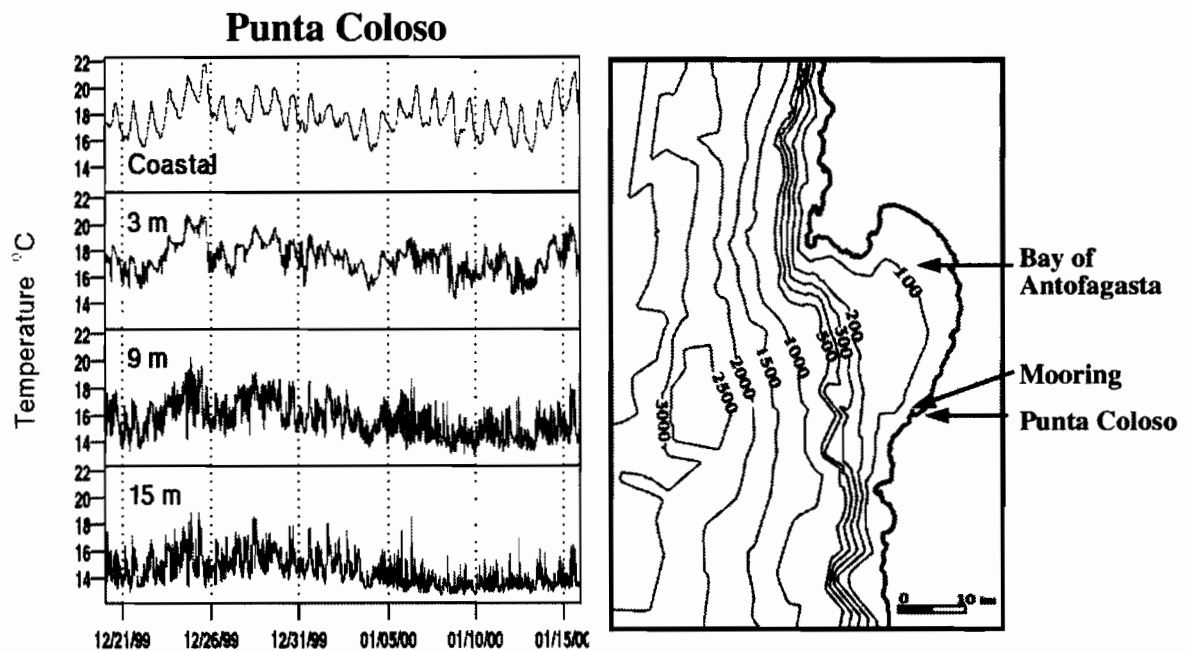


Figure 1.38. Variations de température de la mer à différentes profondeurs (0m, 3m, 9m, et 15 m) durant la période 21 décembre 1999 et 15 janvier 2000, au sud de la Baie d'Antofagasta (Kaplan *et al.*, 2003).

Un récapitulatif des localités ainsi que des échantillons étudiés se montre dans l'annexe A.1.

CHAPITRE II

MICROSTRUCTURE ET MINERALOGIE DES COQUILLES DE *C. CONCHOLEPAS*

CHAPITRE II: MICROSTRUCTURE ET MINÉRALOGIE DES COQUILLES

DE C. CONCHOLEPAS

Il est naturel de commencer ce travail par une description la plus détaillée possible de l'objet d'étude : les tests de *C. concholepas*. On s'attachera donc à déterminer la structure, à diverses échelles spatiales (macro, micro et nanostructures) de cette coquille. Du fait même des relations intimes qui lient structure et minéralogie, nous serons amenés à traiter de la composition minéralogique des sous-ensembles de tests, non seulement dans les coquilles actuelles mais également dans des coquilles fossiles. Une partie de ce chapitre sera consacré à la mise en évidence des altérations observables, notamment au microscope électronique à balayage (MEB), dans les coquilles fossiles par rapport aux coquilles actuelles.

Dans un premier temps nous préciserons les modalités de préparation des échantillons pour les différentes échelles d'observation, du microscope pétrographique au microscope à force atomique, en passant par le MEB, pour déterminer les caractéristiques microstructurales et minéralogiques de la coquille de *C. concholepas*.

II.1. Méthodologies utilisées

II.1.1. Préparation des lames minces

Des lames minces de 40 μm d'épaisseur ont été préparées selon des méthodes standard dans le laboratoire de "lames minces" à l'IRD, Bondy (US 094, Géosciences des Environnements Intertropicaux). La procédure peut être résumée de la façon suivante:

Coupe de la coquille avec une scie, dans son axe de croissance maximal, au niveau de la ligne rouge montrée dans la figure 2.1. La surface sectionnée a été polie avec une série de poudres abrasives de carbure de silicium, de granulométrie progressivement décroissante, de 120, 30, 12 et 5 μm , jusqu'à obtenir une surface plate et lisse (Fig.2.2).

La demi-coquille antérieure a été ensuite débarrassée des restes de poudre et impuretés diverses dans un bac ultrason. Après séchage, elle est ensuite collée sur une lame de verre préalablement dépolie. La colle utilisée dans cette préparation est l'époxy Pack 301 (Logitech®).

Après au moins 12 heures de séchage, quand la résine s'était endurcie, une deuxième coupe, parallèle à la surface de la lame, a été faite avec une scie de précision Buehler® (ISOMET 5000), en laissant une épaisseur approximative de 0,5 mm. Par groupes de cinq, les lames ont ensuite été passées à la rectifieuse (BROT) pour réduire uniformément

l'épaisseur des échantillons à environ 150 μ d'épaisseur. Chaque lame est ensuite usée à la main, avec des poudres abrasives de 30, 15 et 5 μ m (Fig.2.3).

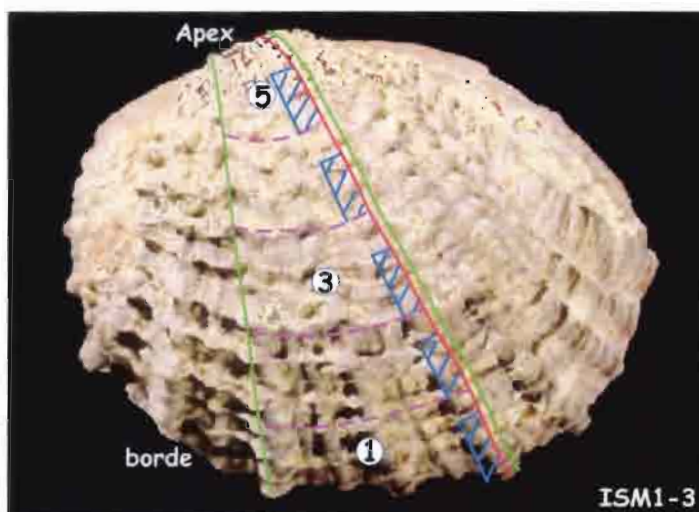


Figure 2.1: Illustration des coupes réalisées sur un coquille de référence. La ligne rouge est la première coupe de la coquille, le long de l'axe de croissance maximale. Avec la moitié antérieure de la coquille est préparée une lame mince, tandis que la moitié postérieure est réservée pour les autres types de mesures. Les fragments hachurés en bleu sont destinés aux analyses au MEB. Les grands fragments numérotés de 1 à 5 séparés par les lignes rouges correspondent aux échantillons destinés à l'étude de la "matière organique". Les lignes vertes représentent les deux sections utilisées pour les analyses géochimiques.



Figure 2.2. Coupe le long de l'axe de croissance maximal d'une coquille actuelle, partie antérieure. Cette coquille présente des incrustations par des endobiontes dans la zone proche de l'apex (à gauche).



Figure 2.3. Lame mince de *C. concholepas*.

Les lames minces ainsi obtenues ne sont pas recouvertes par des lamelles de verre, pour en faciliter l'observation, et permettre de réaliser d'autres manipulations ultérieures, telles les analyses par microscopie spectrométrique.

Les lames minces sont ensuite examinées au microscope pétrographique (Olympus, modèle BX60), à lumière transmise polarisée, analysée ou non. Les grossissements utilisés vont de 20x à 400x. Les photographies des sections ont été prises avec un appareil numérique Olympus DP10 couplé au microscope optique, avec l'aide du logiciel C-2.1W95F. Les montages photographiques ont été effectués avec le logiciel Photoshop (Adobe®).

II.1.2. Préparation des sections polies, attaquées ou non

Des sections polies ont été préparées aussi bien pour l'observation microstructurale que pour les analyses géochimiques variées. La méthode de préparation des échantillons en section polie est adaptée à la procédure d'analyse ou au type d'observation à effectuer.

Après que la coquille a été coupée le long de son axe de croissance maximale (fig 2.1, ligne rouge), des petits morceaux des différentes zones de la coquille (fig 2.1, zones hachurées en bleu) ont été coupés avec une perceuse électrique manuelle (*Dremel*®) dotée d'un disque de coupe diamanté. Les morceaux ont été ensuite inclus dans un mélange de résine époxy et de catalyseur (*Araldite*® Kit 2020) préparé selon les indications du fabricant et en utilisant des moules souples siliconés. Une fois le mélange polymérisé (après 12 à 15 heures à 20°C), les sections ont été polies avec des poudres abrasives de granulométrie décroissante (220, 30, 15 et 5 µm). Entre chaque polissage, l'échantillon est

placé dans un bain à ultrasons pour éliminer les restes de la poudre abrasive. Un résultat de ce type de préparation est montré figure 2.4.



Figure 2.4. Section polie : échantillon inclus dans la résine époxy et ultérieurement poli à l'abrasif.

Pour l'observation au Microscope Electronique à Balayage (MEB), les sections ont été ensuite polies avec de l'alumine (en suspension aqueuse, avec 3 heures de décantation). Les sections sont ensuite attaquées ("etching") avec une solution 0.1 % acide formique et 3 % glutaraldéhyde pendant deux minutes et finalement métallisées avec Or/Paladium dans un métalliseur (Polaron E5100) selon des procédures standard (Guillaumin, 1980).

Pour l'analyse des éléments par spectroscopie d'énergie dispersive (EDS) couplée à un MEB, les échantillons polis et attaqués ont été métallisés au carbone (tresse de carbone portée à incandescence).

Pour les "peels" d'acetate, les sections ont aussi été polies avec de l'alumine. Puis elles sont attaquées par immersion dans une solution d'acide formique dilué à 5% pendant 10 secondes. La section est ensuite rincée avec de l'eau MilliQ® et séchée à température ambiante. La surface attaquée est ultérieurement plongée dans un bain d'acétone et appliquée sur une mince feuille d'acétate (0,03 mm d'épaisseur) par pression manuelle pendant une minute. La feuille d'acétate est détachée délicatement de la surface de la coquille. Les "peels" ainsi obtenus (Fig. 2.5) sont ensuite observés avec un microscope pétrographique, comme les lames minces.



Figure 2.5. "Peel" d'acétate d'une coquille actuelle de *C. concholepas*.

Pour les études géochimiques (Spectrométrie de masse; Microsonde Ionique, SIMS; Microsonde Electronique, EPMA et ICP-MS à ablation laser, LA-ICP-MS), le polissage des sections a été poussé plus loin, à l'aide de pâte diamantée de 1 et 0,25 μm de granulométrie. Le polissage est arrêté lorsque la surface est parfaitement brillante.

Les sections polies ont été métallisées avec de l'or, ou du carbone, selon des procédures standard pour le SIMS et EPMA, respectivement. Pour les échantillonnages destinés aux mesures sur spectromètre de masse (isotopes de l'oxygène et du carbone) ou sur LA-ICP-MS, la métallisation n'est pas nécessaire.

II.1.3. Etude minéralogique par microscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La minéralogie des carbonates a été déterminée par microscopie FTIR ("Fourier Transform Infra Red Spectrometry") en mode réflexion selon la procédure décrite par (Bertaux *et al.*, 1998).

Le spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (Equinox 55, Bruker) est couplé à un microscope (A-590, Bruker) permettant une analyse de petits échantillons entre 20 à 350 μm de diamètre (précision d'ajustement $\pm 1\mu\text{m}$ du spot mesuré), avec un contrôle visuel de la zone mesurée sur des lames minces, et sans destruction du matériel.

L'analyse infrarouge est faite en mode réflexion. Les spectres d'absorbance sont obtenus à partir de 100 balayages réalisés dans une gamme d'énergie entre 1800 et 600 cm^{-1} , avec une précision de 4 cm^{-1} . L'ouverture ou taille de l'échantillon utilisée a été 0.75mm ($\sim 50\mu$ de diamètre), bien que quelques analyses ont été faites en utilisant tout le champ d'observation du microscope (500 μm de diamètre). Les spectres d'absorbance obtenus sont ensuite comparés aux spectres de référence de la calcite et l'aragonite pure (Fig. 2.6). Les pics de la bande ν_2 ont été observés avec une attention particulière.

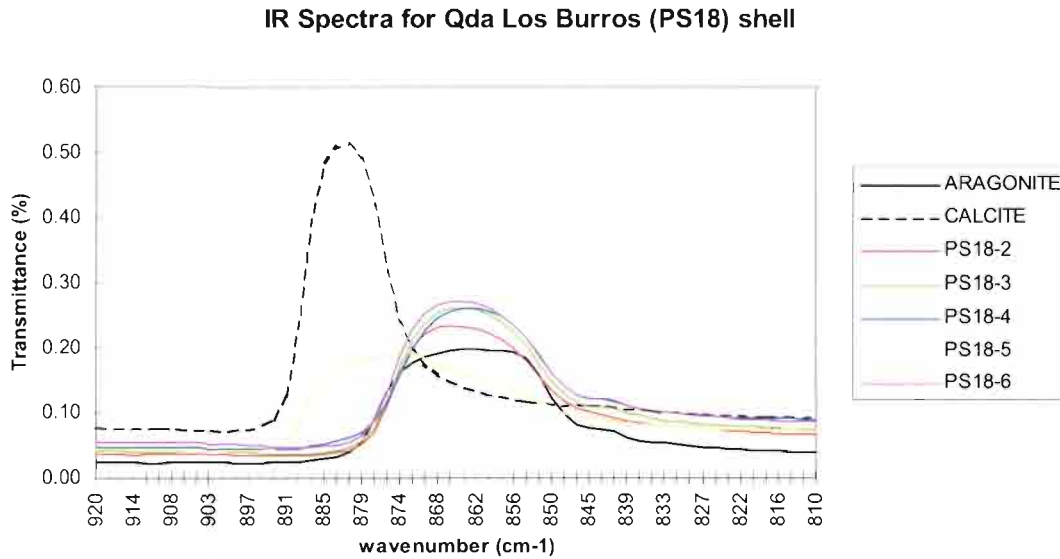


Figure 2.6. Exemple de série de spectres obtenus par analyse spectrométrique (FTIR) à l'aide d'un microscope couplé. Les échantillons correspondent à des spots localisés sur une lame mince de 50 μm , sauf l'échantillon PS18-6 qui intègre les zones couvertes par les échantillons PS18-2, 3 et 4. Dans ce cas, il s'agit d'analyses d'aragonite, sauf pour l'échantillon PS18-5 prélevé au contact d'une couche calcitique et qui révèle donc un mélange calcite et aragonite. Coquille actuelle du sud Pérou (PS 18).

II.1.4. Observations au MEB et au Microscope à force atomique

Les échantillons ont été étudiés au MEB (Philips 505, Laboratoire Orsay-Terre) à des grossissements entre 10X et 5000X. Des photos noir et blanc ont été prises et développées dans le même laboratoire. Quelques échantillons ont également été observés sur le MEB de l'US 094 (IRD, Bondy).

Le microscope à force atomique ("Atomic Force Microscope", AFM) est un outil sophistiqué, disponible à l'Université de Paris Sud (Orsay), qui permet d'atteindre une échelle submicronique. L'instrument est un "Digital Instruments (Veeco) Nanoscope III Dimension 3100". Les images de phase qui peuvent être réalisées en jouant sur diverses propriétés physiques (friction, visco-élasticité, adhésion) sont obtenues à l'air libre et à température ambiante. Nous n'avons pas eu directement accès à l'équipement, mais avons pu bénéficier d'une série de documents obtenus par Y. Dauphin sur des préparations de *C. concholepas*.

II.2. Composition minéralogique et microstructure

II.2.1. Bref rappel sur les relations entre microstructure et minéralogie des coquilles de mollusques

Les composants microstructuraux des tests de mollusques sont organisés en couches dans lesquelles la relation entre les caractéristiques morphologiques des éléments et leur composition minéralogique est nettement déterminée, bien que quelques petites exceptions existent (Mutvei *et al.*, 1985). Les groupes microstructuraux trouvés dans les coquilles des mollusques ont été l'objet du travail de Bøggild (1930). L'auteur essaie de ne pas dissocier les aspects minéralogiques de ceux microstructuraux et propose huit types de microstructures principales: structure lamellaire croisée, structure prismatique, structure nacrée, structure foliée, structure homogène, structure granulaire et structure lamellaire croisé complexe. D'autres classifications de structures ont été proposées (eg. (Carter, 1980), mais celle de Bøggild reste la référence de base pour de nombreux chercheurs.

Dans les tests de gastropodes, Philippon (1974) distingue seulement quatre microstructures fréquemment observées:

- La structure lamellaire croisée: constituée de sub-unités structurales (lamelles) de 0,02 à 0,04 mm d'épaisseur, groupées et dont l'aspect diffère selon l'orientation de la section observé (Fig. 2.7). Cette structure est l'une des plus répandues dans le groupe des gastropodes. A l'exception de *Patella*, la structure lamellaire croisée est aragonitique (Dauphin et Denis, 2000).
- La structure prismatique: ce type de structure réunit des composants aux caractéristiques géométriques simples. Le plus souvent il s'agit des éléments de plusieurs dizaines de microns, à section polygonale, allongés selon une direction perpendiculaire à la surface externe du test. Chez la plupart des gastropodes cette structure est liée à une nature calcitique.
- La structure nacrée: formé de fines couches régulières de $\sim 0,001$ mm d'épaisseur, elle est invariablement aragonitique.
- La structure foliée croisée est l'équivalent de la structure lamellaire croisée, mais de nature calcitique.

Petitjean (1965) étudia plus particulièrement les Muricidés, et notamment l'importance des caractéristiques microstructurales, minéralogiques et chimiques dans la classification systématique de ces derniers. Ne disposant pas de MEB, cet auteur a travaillé sur la base d'observations microscopiques sur lames minces traditionnelles et sur sections ultra-minces ($< 5 \mu\text{m}$ d'épaisseur). Il décrit un "cortex" correspondant à la couche calcitique externe et en fit un critère de séparation taxonomique. Il établit ainsi que la sous-famille

des Muricinae ne possède pas de cortex, à la différence de la sous-famille des Rapaninae, à laquelle se rattache *C. concholepas*. Cette appartenance à la sous-famille des Rapaninae, qui posait problème aux auteurs, a ensuite été confirmée par Kool (1993) sur la base de la structure de la radula.

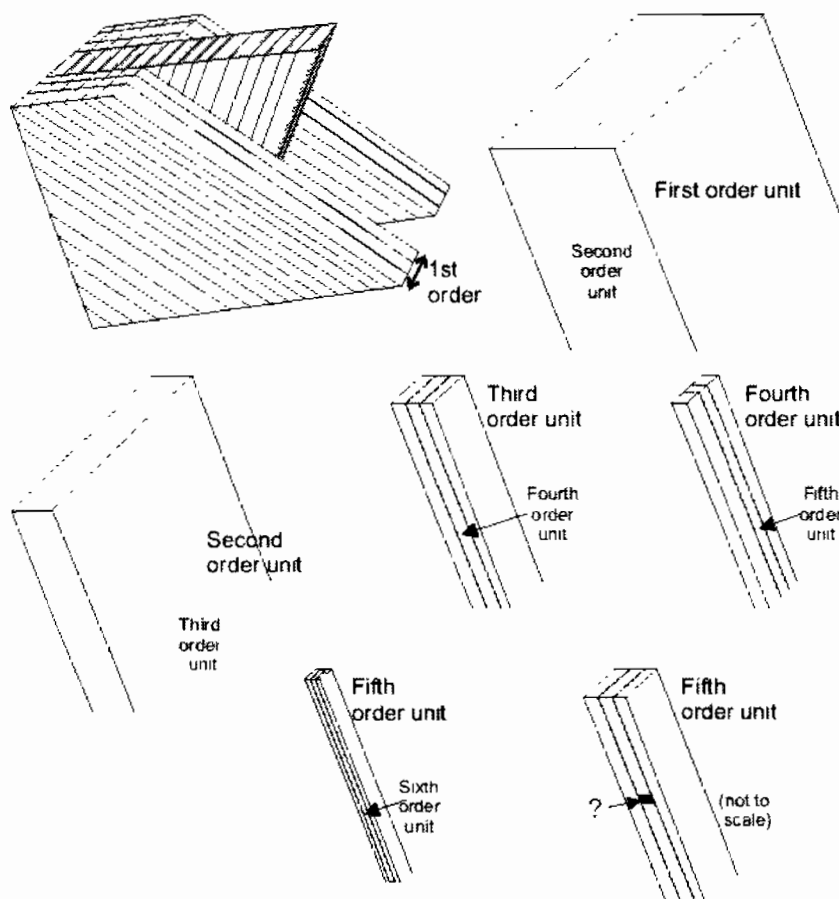


Figure 2.7. Représentation schématique de l'arrangement géométrique caractéristique de la structure lamellaire croisée (in Dauphin *et al.* (2003)).

II.2.2. Composition minéralogique de *C. concholepas*

Pour décrire la composition minéralogique de la coquille de *C. concholepas*, nous nous appuierons largement sur des analyses de spectrométrie infrarouge réalisées sur des coquilles actuelles et des coquilles holocènes provenant de sites archéologiques. Cette approche nous amènera à vérifier si des effets diagénétiques sont observables au niveau minéralogique.

II.2.2.1. Minéralogie des coquilles actuelles

Les lames minces indiquent clairement que les coquilles sont composées de deux couches principales de structure et de minéralogie distinctes (Figure 2.8). Ces deux couches ont des épaisseurs variables depuis l'apex jusqu'au bord palléal.



Figure 2.8. Photographie prise au microscope optique (nicols croisés) d'une coquille actuelle du sud Pérou (PS18). Noter la diminution d'épaisseur de la couche interne aragonitique (de couleur gris clair) depuis la zone de l'apex (à gauche) vers le bord palléal. La couche externe comportant des grands cristaux est calcitique.

La couche interne, aragonitique, est plus développée à l'apex et dans la partie la plus ancienne des coquilles tandis que la couche calcitique externe est mieux développée dans la partie la plus récemment formée. La zone de l'apex est, en fait, composée essentiellement d'aragonite (Fig. 2.9 et Fig. 2.10).

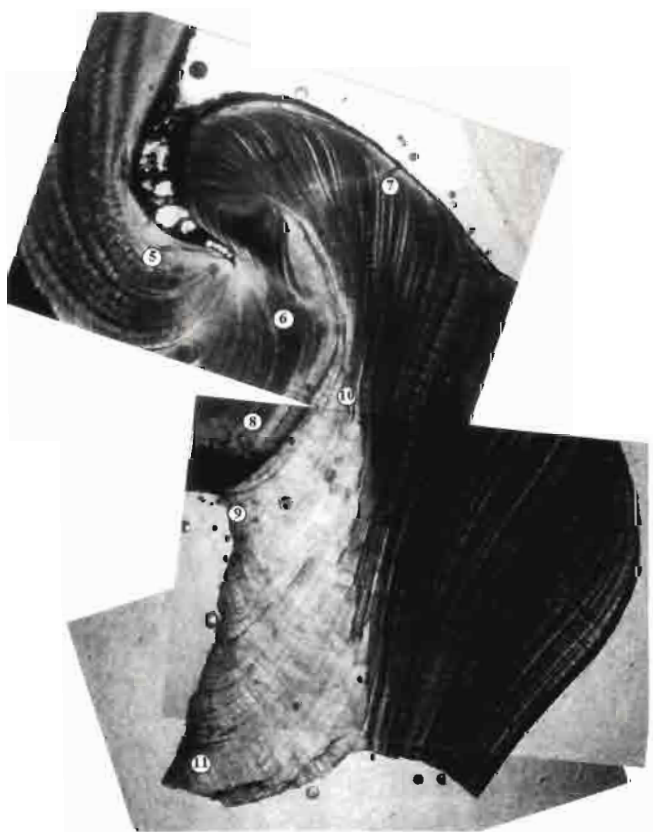


Figure 2.9. Dans la région de l'apex, seules les couches claires (éch. 9, 10 et 11) sont calcitiques (Fig. 2.10), le reste étant de nature aragonitique. Coquille de site archéologique (3 ka) (PS 22) du sud Pérou.

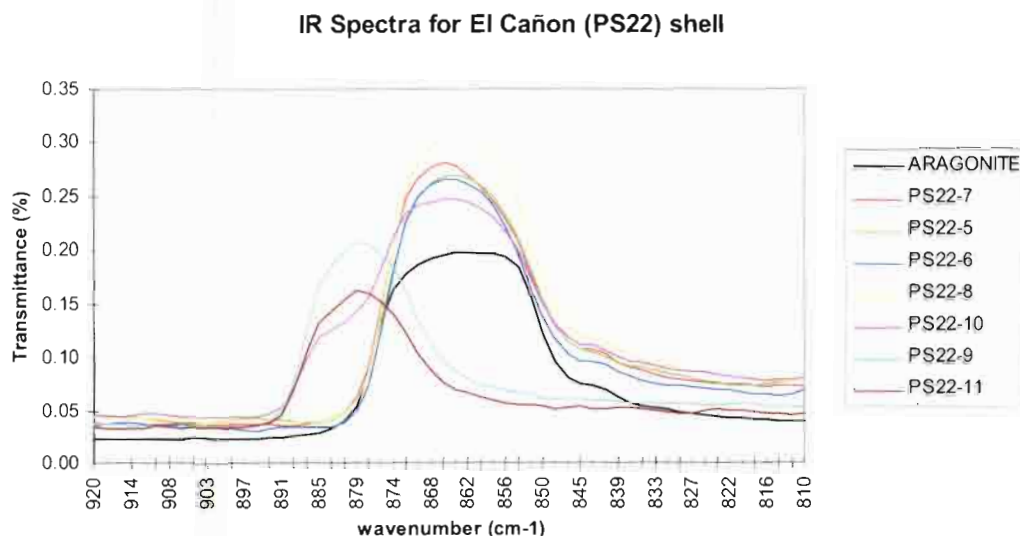
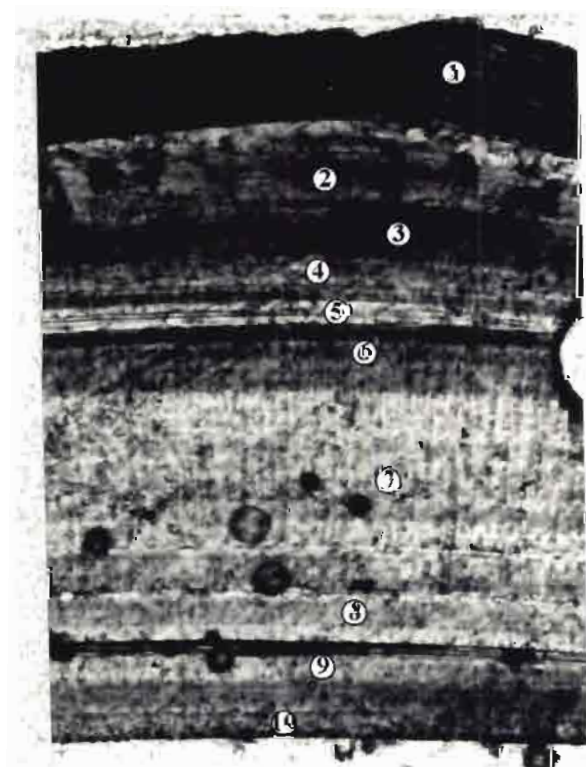


Figure 2.10. Spectres FTIR montrant la minéralogie calcitique des couches claires de la Fig. 2.9 (éch. 9 et 11) dans la région de l'apex d'une coquille fossile. Le reste des unités échantillonnées sont aragonitiques. L'échantillon 10 prélevé à la limite aragonite/calcite, présente un spectre correspondant à un mélange des deux espèces minéralogiques.

Dans la partie la plus anciennement formée des coquilles, la couche aragonitique très développée peut présenter une succession de nombreuses sous-unités. Ces sous-unités visibles au microscope sont en fait toutes de nature aragonitique (Fig. 2. 11), et relèvent toutes de la même structure lamellaire croisée.

Figure 2.11. Coupe détaillée de la couche interne aragonitique, près de l'apex d'une coquille actuelle (AC3b) de la baie d'Antofagasta. Dans cette section la couche calcitique est particulièrement réduite, au dessus de la couche notée 1. Les Fig. 2.12 et 2.13 suggèrent quelques variations ou particularités dans la composition de l'aragonite de certaines des couches identifiées de 1 à 10.



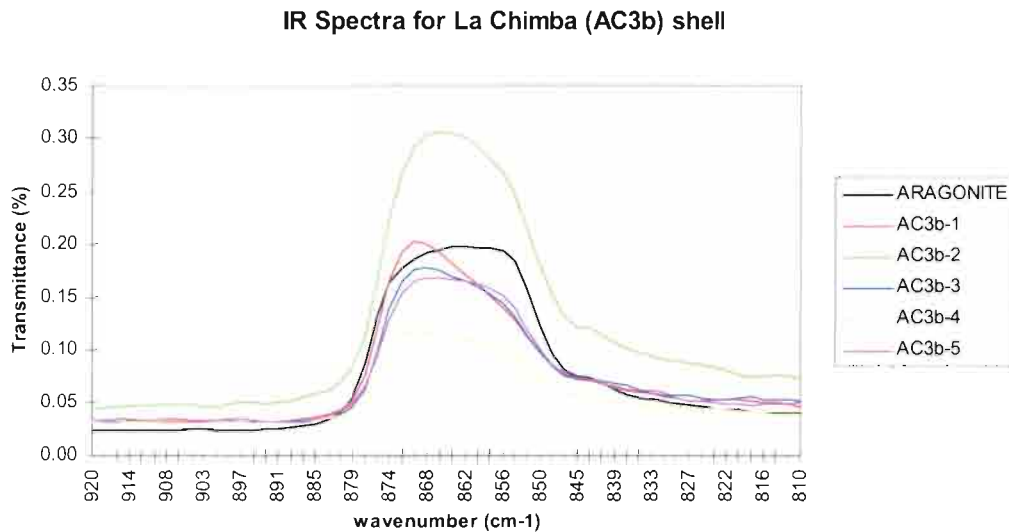


Figure 2.12. Spectres IR des couches aragonitiques les plus externes (1 à 5) indiquées dans la section d'une coquille actuelle (AC3b), Fig. 2.11. L'échantillon 2 est le plus proche de la composition aragonitique standard. Les autres échantillons présentent des spectres irréguliers.

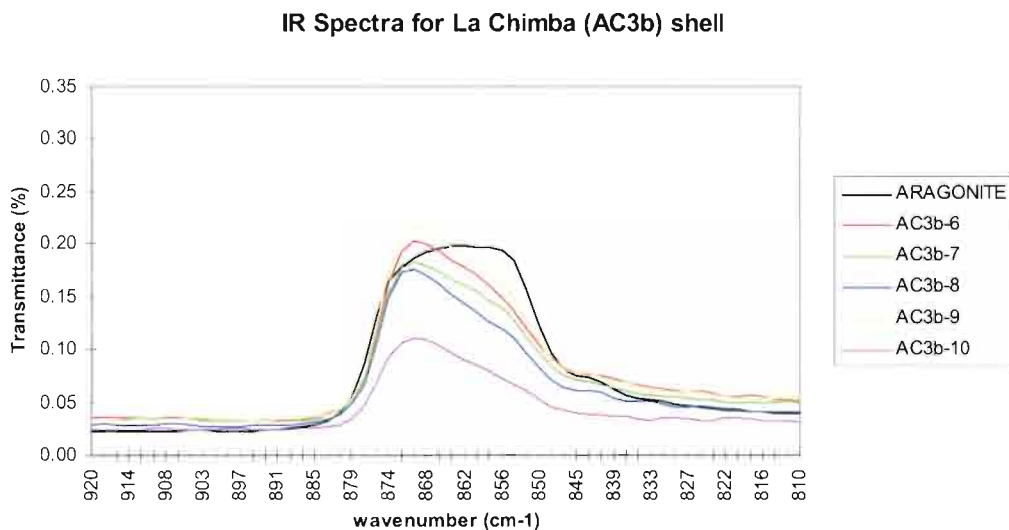


Figure 2.13. Spectres IR des couches aragonitiques les plus internes (6 à 10) indiquées dans la section d'une coquille actuelle (AC3b), Fig. 2.11. L'ensemble des échantillons présente les mêmes anomalies spectrales que les échantillons 1, 3, 4 et 5 de la Fig. 2.12.

En règle générale, et dans la plus grande partie de la coquille, le contact entre les couches aragonitique et calcitique est net et franc (Fig. 2. 14). A cette interface il est parfois observé dans les lames minces, une mince couche plus foncée qui pourrait être une concentration de matière organique.

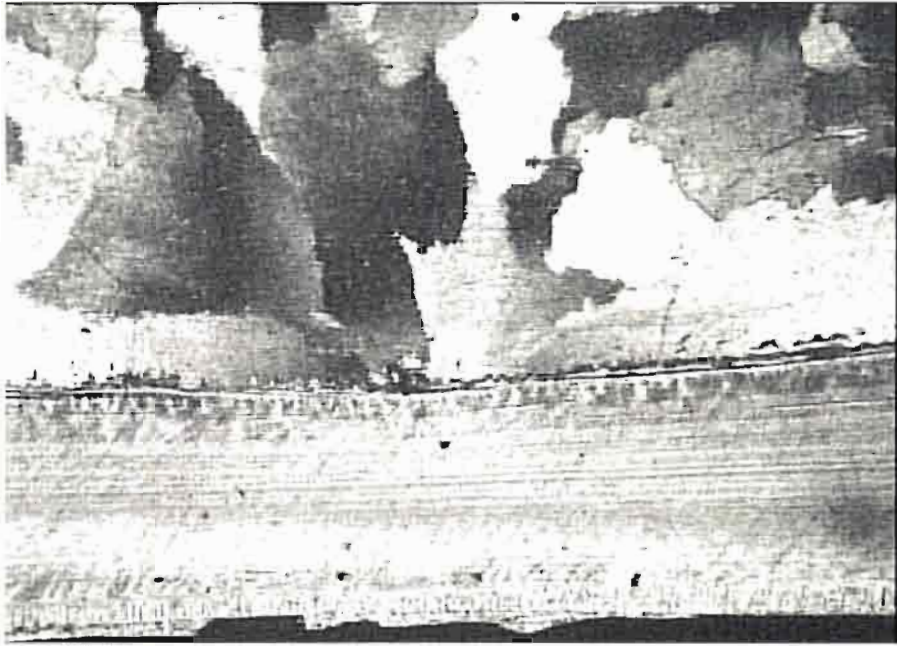


Figure 2.14. Zone de contact nette entre la couche interne aragonitique et la couche externe calcitique, à grands cristaux. Lame ultra-mince.

Dans certains cas, et notamment à proximité du bord palléal des coquilles, dans la partie la plus récemment formée des coquilles, la limite entre les couches calcitique et aragonitique peut être moins nettement définie (Fig. 2.15).

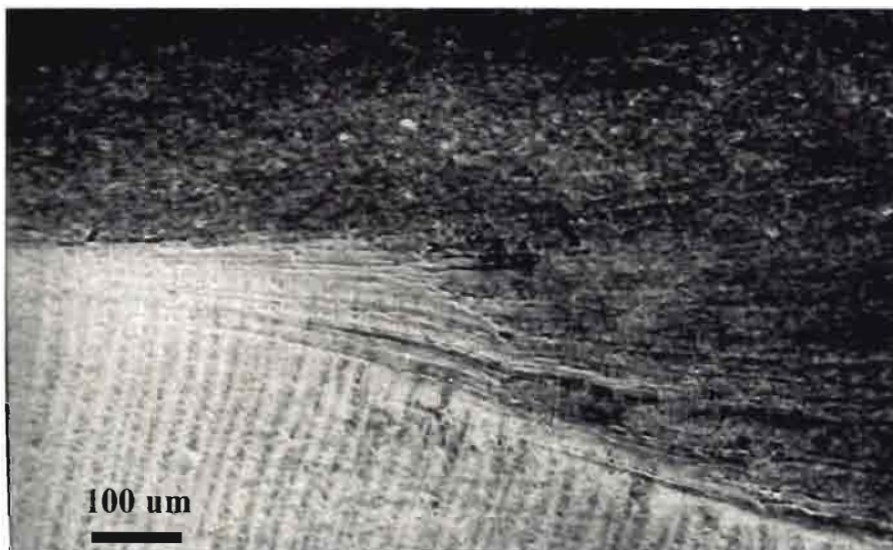
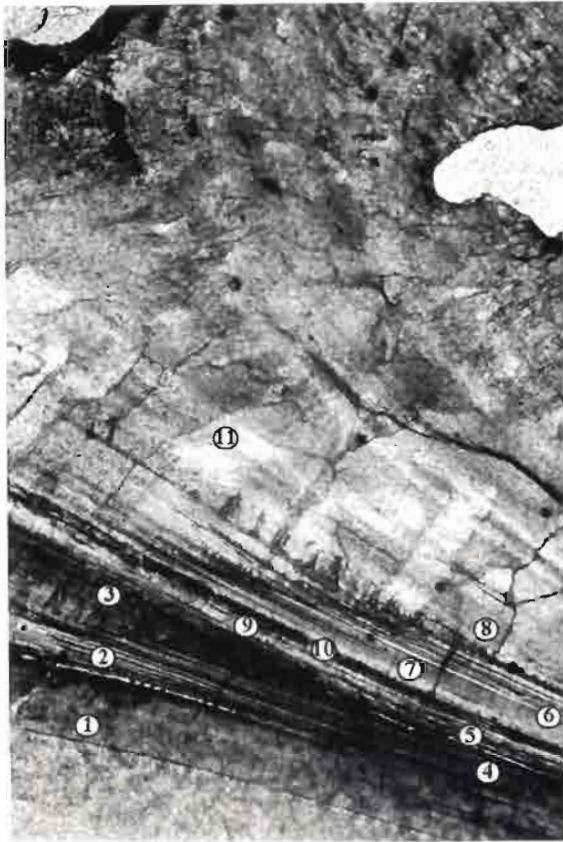


Figure 2.15. Transition inhabituelle, en éventail, entre les couches aragonitique et calcitique dans une coquille actuelle de la baie d'Antofagasta (AC3)

Il peut même être observé, localement, une sorte d'interstratification de couches aragonitique et calcitique (Fig. 2.16). Cependant, l'analyse FTIR montre qu'il n'y a pas de



couche à minéralogie mixte (Fig. 2.17 et 2.18). Ces exemples semblent toutefois être exceptionnels, la limite entre les deux couches minéralogiques étant normalement franche.

Figure 2.16. Section d'une coquille actuelle de *C. concholepas* (AC3) effectuée près du bord palléal. Les analyses minéralogiques par microscopie FTIR établissent la nature aragonitique des couches 1, 2, 4, 6 et 7 (Fig. 2.17) et la nature calcitique des couches 3, 5, 8, 9, 10 et 11 (Fig. 2.18). Ainsi peut il se produire une interstratification d'une petite couche aragonitique à la "base" de la couche calcitique.

IR Spectra for La Chimba (AC3a) shell

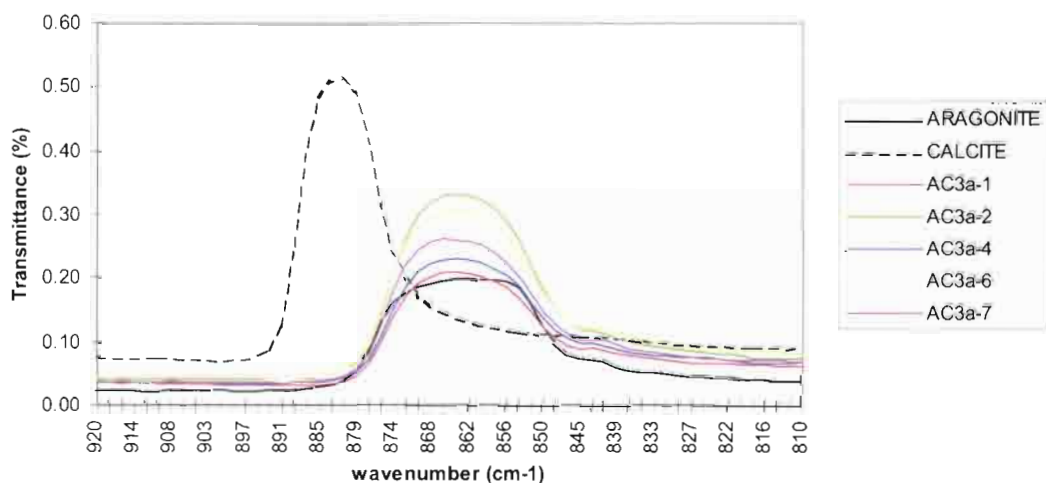


Figure 2.17. Analyses FTIR montrant la composition aragonitique des échantillons 1, 2, 4, 6, et 7, localisés dans la Fig. 2.16. Coquille actuelle de la baie d'Antofagasta (AC3a).

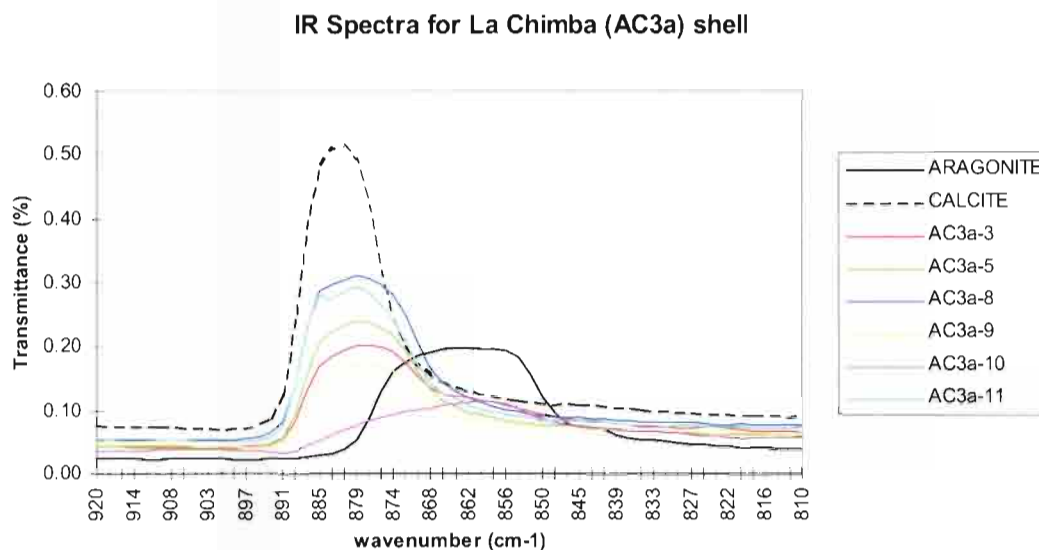


Figure 2.18. Analyses FTIR montrant la composition calcitique des échantillons 3, 5, 8, 9 et 11, localisés dans la Fig. 2.16. L'échantillon 10 a été prélevé juste au contact des deux couches et reflète un mélange minéralogique. Coquille actuelle de la baie d'Antofagasta (AC3a).

II.2.2.2. Analyses minéralogiques ponctuelles dans des coquilles fossiles

L'utilisation de la méthode de microscopie IR à transformée de Fourier permet de réaliser des analyses minéralogiques ponctuelles qui peuvent se révéler particulièrement utiles dans l'étude des coquilles fossiles, susceptibles d'avoir subi des transformations diagénétiques. Une série d'études a ainsi été effectuée sur quelques coquilles provenant de sites archéologiques du sud Pérou et du nord Chili. Une sélection d'exemples est incluse ici pour montrer à la fois que la minéralogie des couches et sous-unités n'est pratiquement pas altérée et que l'outil développé est performant et adapté pour ce genre d'études.

Dans une coquille (échantillon 6B2) provenant du site archéologique de Chimba 13 (Fig. 2.19), les analyses FTIR permettent de confirmer l'absence de transformation significative de l'aragonite et/ou de la calcite. La forme des spectres obtenus pour les horizons aragonitiques est légèrement différente de celle d'un spectre typique de l'aragonite (Fig. 2.20). Cependant on notera que ces particularités sont comparables à celles observées dans les spectres obtenus sur les niveaux aragonitiques d'une coquille actuelle (AC3b) de la même région (dans la baie d'Antofagasta) (Fig. 2.12 et 2.13). On est donc en droit de supposer que ces altérations ne sont pas attribuables à des effets diagénétiques (sauf à considérer la diagénèse des couches du vivant des organismes).

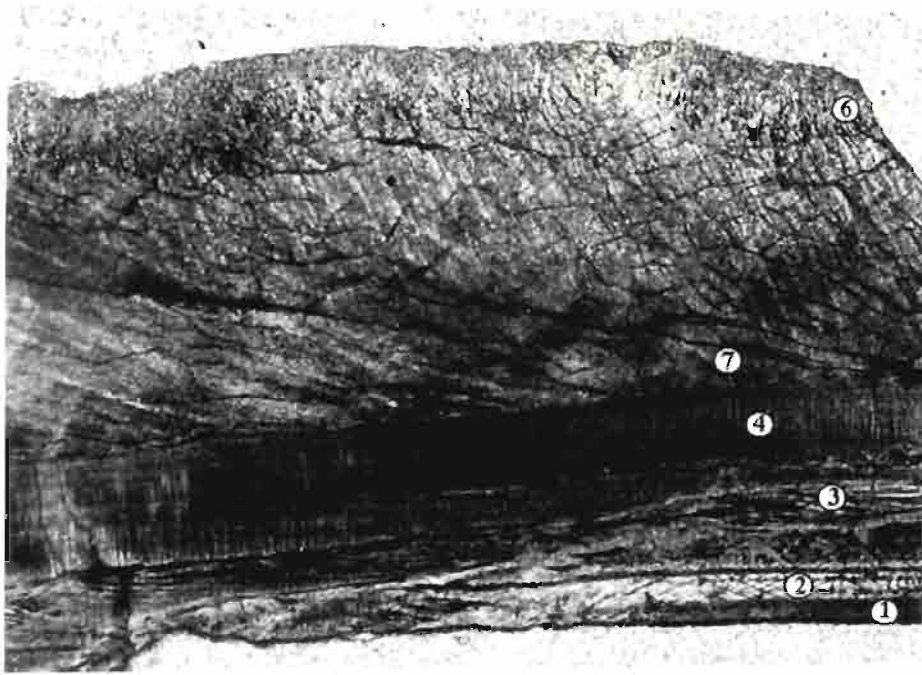


Figure 2.19. Section d'une coquille fossile montrant la structure de la couche interne aragonitique (échantillons 1 à 4) et de la couche prismatique externe faite de calcite (échantillons 6 et 7) (cf. Fig. 2.20). Coquille 6B2 du site archéologique Chimba 13 (10 ka).

IR Spectra for Qda Las Conchas (6B2) shell

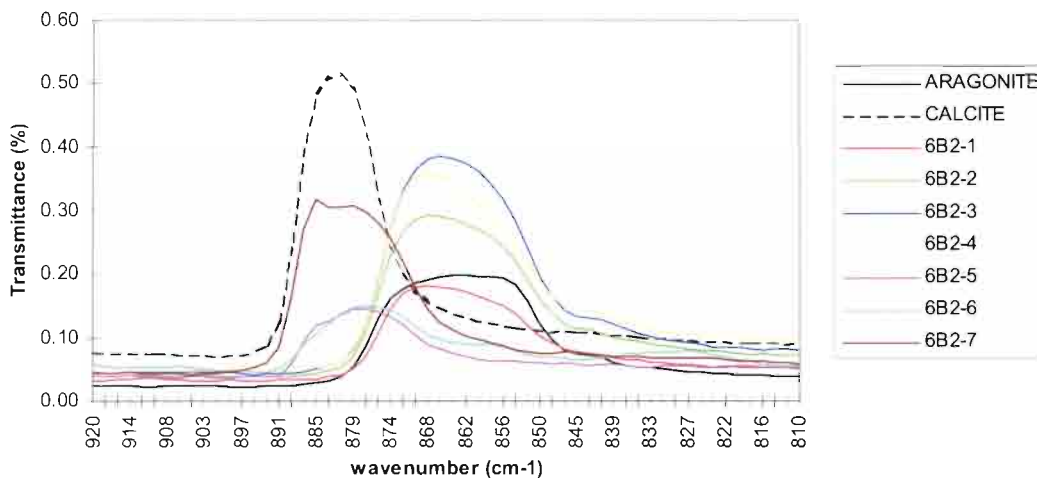


Figure 2.20. Spectres IR de diverses unités de la coquille fossile (10 ka) identifiées dans la Fig. 2.19. Les échantillons 1, 2, 3 et 4 sont clairement de composition aragonitique malgré quelques altérations des spectres par rapport au spectre standard. Les échantillons 5 et 6 ont une composition calcitique légèrement différente que la couche 7, qui est plus proche de la calcite standard. Le point de prélèvement 5, non visible sur la Fig. 2.19, correspond à la même couche de croissance que l'éch. 6 mais a été prélevé à la limite de la couche aragonitique.

Des observations microscopiques et analyses au microscope FTIR au niveau de la limite des couches aragonitique et calcitique, effectuées sur la même coquille fossile (6B2), tendent à montrer que cette zone n'est pas non plus soumise à des modifications minéralogiques notables (Fig. 2.21).

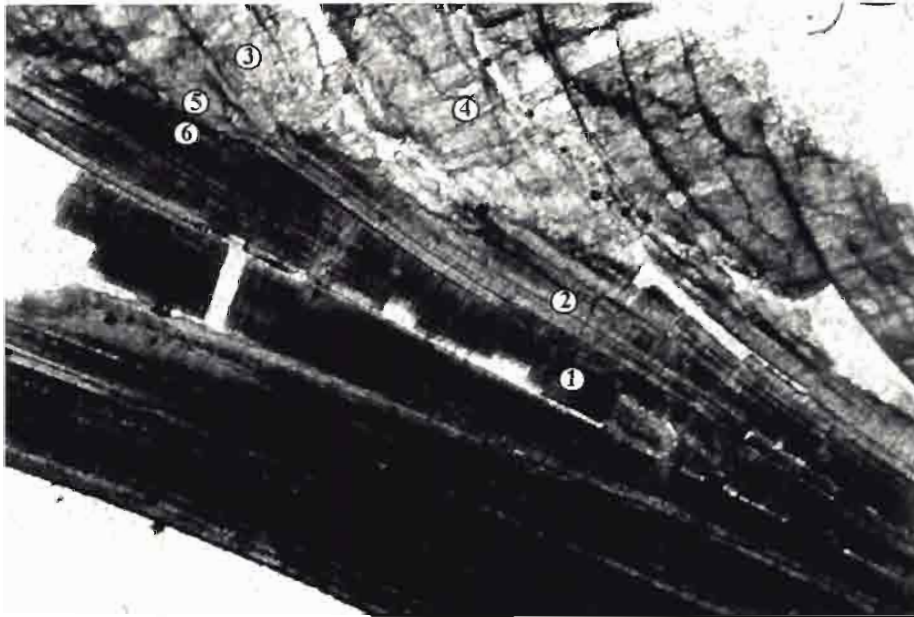


Figure 2.21. Détail de la zone de contact entre couche aragonitique interne et couche calcitique externe, à proximité du bord palléal, dans une coquille (6B2) du site Chimba 13. Les spectres IR (Fig. 2.22) ne révèlent pas de modification diagenétique des unités minéralogiques.

IR Spectra for Qda Las Conchas (6B2b) shell

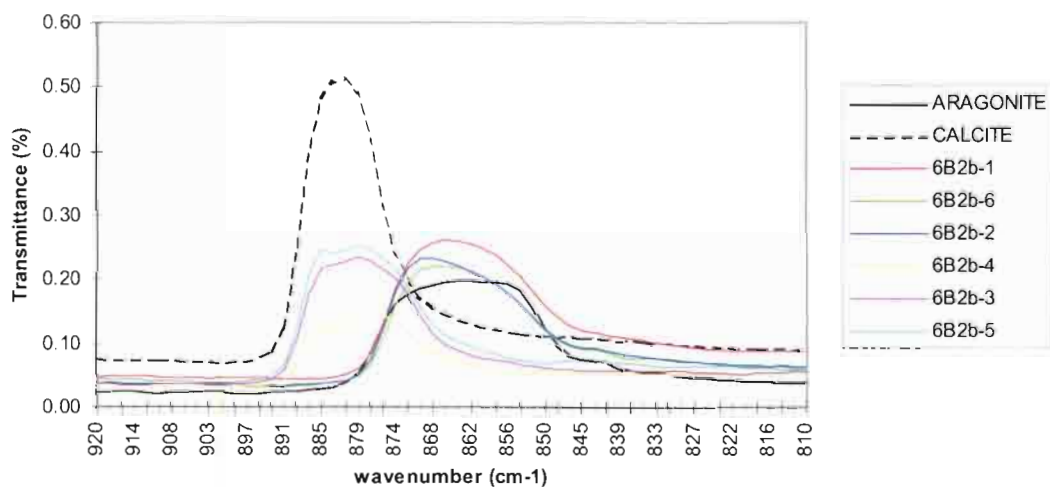


Figure 2.22. Spectres IR des échantillons localisés dans la Fig. 2.21 : les échantillons 1, 2, et 6 sont de nature aragonitique et les échantillons 3, 4 et 5 sont calcitiques. Coquille fossile (6B2) du site Chimba 13.

Un dernier exemple sera pris dans une coquille (PS 22) d'un site archéologique du sud-Pérou. La Fig. 2.23 montre une section prélevée près de l'apex d'une coquille, et donc censée être essentiellement aragonitique. La coquille ayant été érodée, et de surcroît soumise à une bioérosion par des endobiontes, on pouvait se demander si l'aragonite originelle avait subi des transformations minéralogiques (aragonite $\rightarrow$ calcite). Les mesures au microscope FTIR effectuées sur divers échantillons de la lame (1, 2 et 3, Fig. 2.24) montrent que l'ensemble des couches est de nature aragonitique. Seule la couche d'altération superficielle (4, Fig. 2.24), qui n'est pas originelle, présente un spectre anormal, qui pourrait correspondre à une faible teneur en aragonite, mais dénuée de calcite.

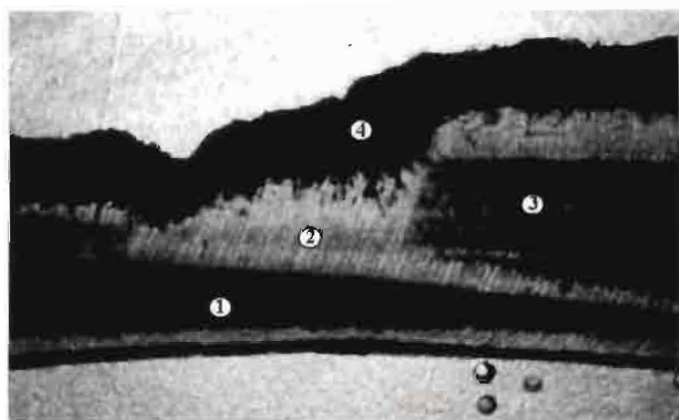


Figure 2.23. Section proche de l'apex d'une coquille de site archéologique (~3 ka) du sud Pérou (PS 22) qui a subi une forte érosion mécanique et une incrustation de micro-organismes. La Fig. 2.24 indique que les couches 1, 2 et 3 sont restées aragonitiques.

IR Spectra for El Cañon (PS22) shell

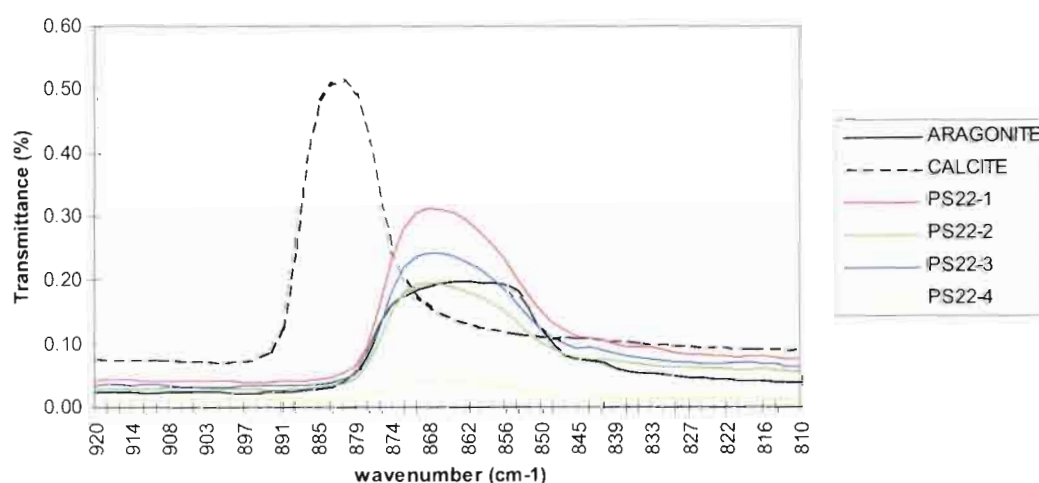


Figure 2.24. Spectres FTIR indiquant la permanence de la composition aragonitique des couches initialement aragonitiques (éch. 1, 2 et 3) dans une coquille fossile largement érodée (PS 22). L'échantillon 4 correspond à une couche d'altération avec intervention d'organismes incrustants. Il n'est pas observé de transformation d'aragonite en calcite.

Ainsi, les analyses au microscope FTIR montrent, d'un point de vue spectrométrique, que les couches aragonitiques des coquilles fossiles holocènes ne diffèrent pas de celles des coquilles actuelles. Dans plusieurs cas les spectres correspondant aux niveaux aragonitiques présentent quelques anomalies par rapport au spectre standard de l'aragonite. On peut interpréter que ces modifications ne correspondent pas des altérations d'ordre diagénétique, dans la mesure où elles se retrouvent indifféremment dans des coquilles actuelles et dans des coquilles fossiles. La fig. 2.25, qui regroupe les spectres d'échantillons, aragonitiques d'une part, et calcitiques d'autre part, illustre ce fait qu'au sein d'une même coquille il peut y avoir plus de différences dans la forme du spectre IR de deux sous-couches qu'entre des couches de même minéralogie dans deux coquilles, l'une des années 1990 et l'autre d'il y a 10 000 ans.

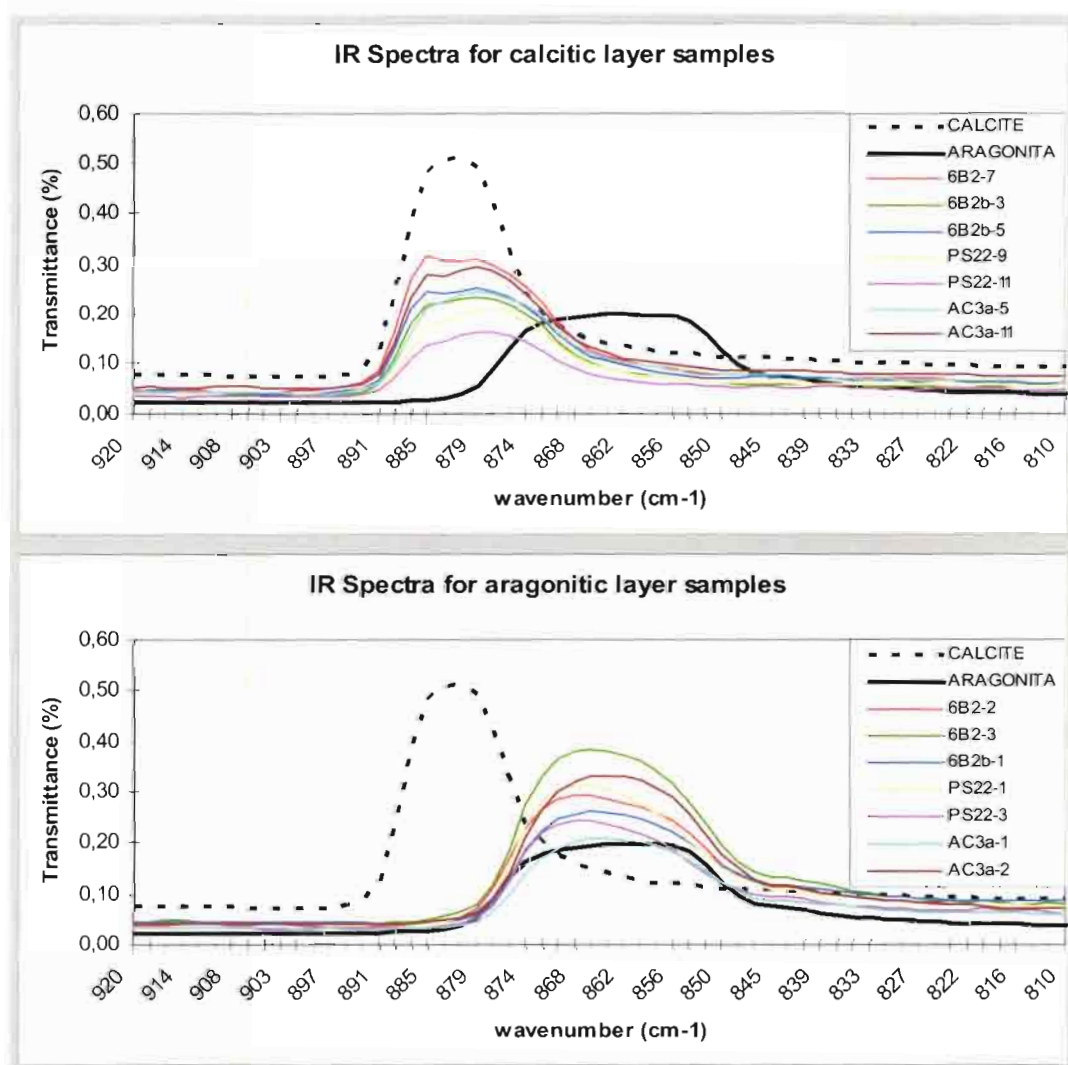


Figure 2.25. Comparaison de spectres obtenus par microscopie FTIR dans des coquilles actuelles du Chili (AC3a) et du Pérou (PS22) et de coquilles de sites archéologiques du Pérou (PS 22) et du Chili (6B2, La Chimba 13), selon les couches aragonitique (en haut) et calcitique (en bas).

Ces observations tendent à suggérer que les altérations diagénétiques, au niveau de la microstructure et de la minéralogie, sont limitées, tout au moins à l'échelle de la dernière dizaine de milliers d'années.

II.2.3. Microstructure de la couche aragonitique

Dans la coquille de *C. concholepas*, la couche aragonitique interne est, comme on l'a vu, formée de divers horizons, ou sous-couches, qui suggèrent des différences microstructurales (Fig. 2.11). Les différences d'aspects sont dues à la disposition géométrique des diverses unités qui composent la structure lamellaire croisée (Fig. 2.7). D'une sous-couche à l'autre, l'orientation des structures cristallines varie, donnant ainsi l'impression que les unes sont formées de cristaux transverses, les autres de cristaux parallèles, et d'autres encore seraient en chevrons (Fig. 2.26 et 2.27).

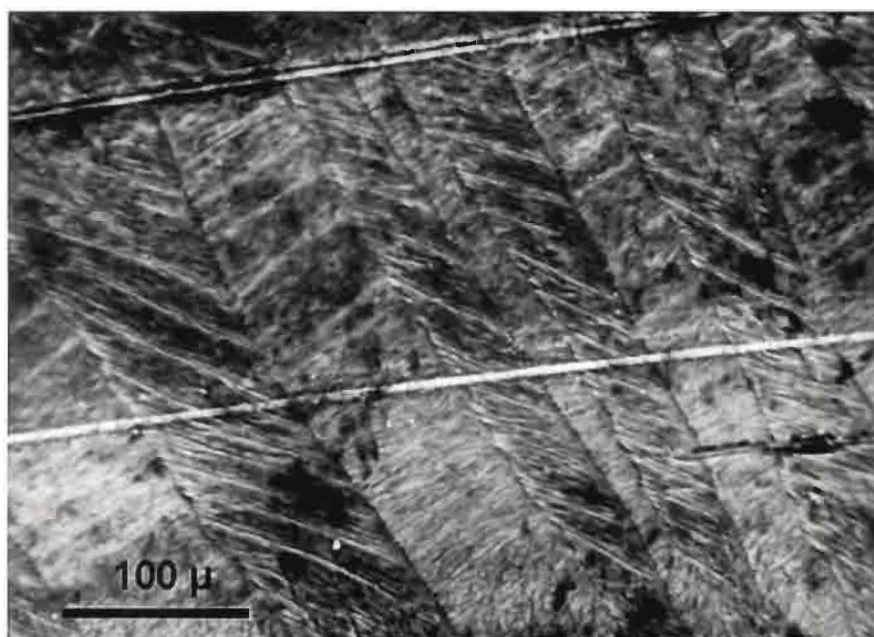


Figure 2.26. Détail de la structure lamellaire croisée vue au MEB, avec cristaux d'aragonite en chevrons. Les fines lignes blanches figurent des lignes de croissance dont on perçoit bien qu'elles "recoupent" la structure cristallographique de la couche.

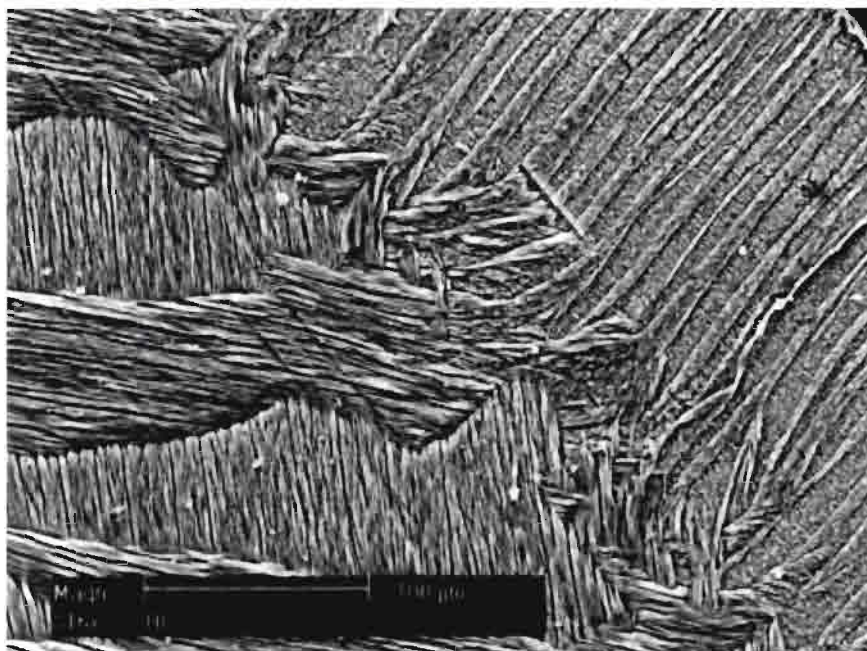


Figure 2.27: Détail de la structure lamellaire croisée, vue au MEB, au contact de deux sous-couches à orientations distinctes des axes de cristallisation. Noter, à gauche, les quelques lignes obliques qui représentent des lignes de temps (incréments de croissance). Coquille holocène du Chili (8B2, La Chimba 13).

Les lamelles de premier ordre de ce type de structure ont des largeurs de l'ordre de la dizaine de microns (Fig. 2.28) et des longueurs qui peuvent dépasser la centaine de microns.

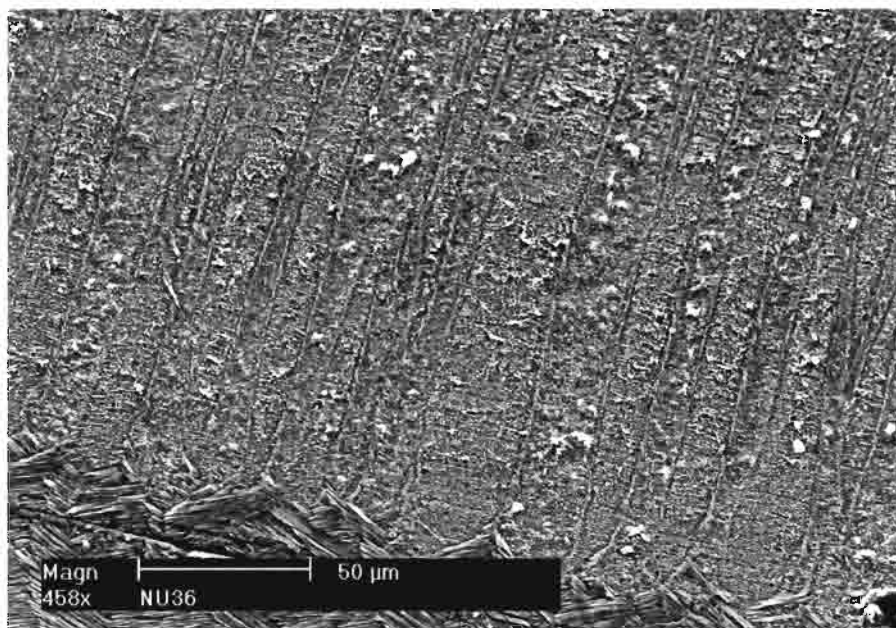


Figure 2.28. Unités de premier ordre, sous forme de baguettes parallèles, de la structure lamellaire croisée de la couche aragonitique. Vue au MEB. Coquille actuelle du Chili (AC3a).

Ces lamelles de premier ordre sont composées d'unités de deuxième ordre qui sont empilées de façon perpendiculaire à l'axe des baguettes de premier ordre (Fig. 2.29). Ces unités de deuxième ordre mesurent communément 1 micron de large.

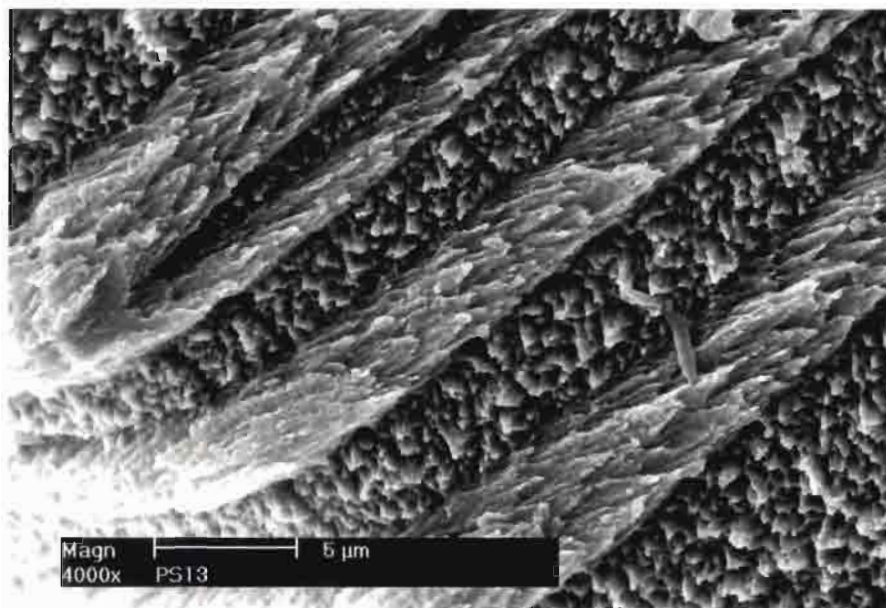


Figure 2.29. Détail des unités de premier ordre dans la structure lamellaire croisée, montrant les empilements d'unités de deuxième ordre. Vue au MEB. Coquille actuelle PS18 du sud Pérou.

L'observation des unités, de 3^e et 4^e ordre, requiert l'utilisation de la microscopie à force atomique (AFM). Les Fig. 2.30 et 2.31 illustrent ces niveaux d'organisation microstructuraux aux échelles infra micronique et nanométrique. Les unités de 3^e ordre mesurent environ 100 nm de large et 600 nm de long (Fig. 2.30, D et E). Les plus petites unités, de 4^e ordre, sont des granules mesurant une quarantaine de nm de diamètre (Fig. 2.30, F, G et H).

Comme pour les unités de premier et de deuxième ordre, les unités de 3^e et 4^e ordre sont systématiquement orientées de façon différente dans deux unités connexes d'ordre supérieur. Les cristallites apparaissent ainsi soit allongées soit, en section, sous une forme arrondie (Fig. 2.31). Les alternances d'orientation des unités, aux divers niveaux, sont une caractéristique de la structure lamellaire croisée.

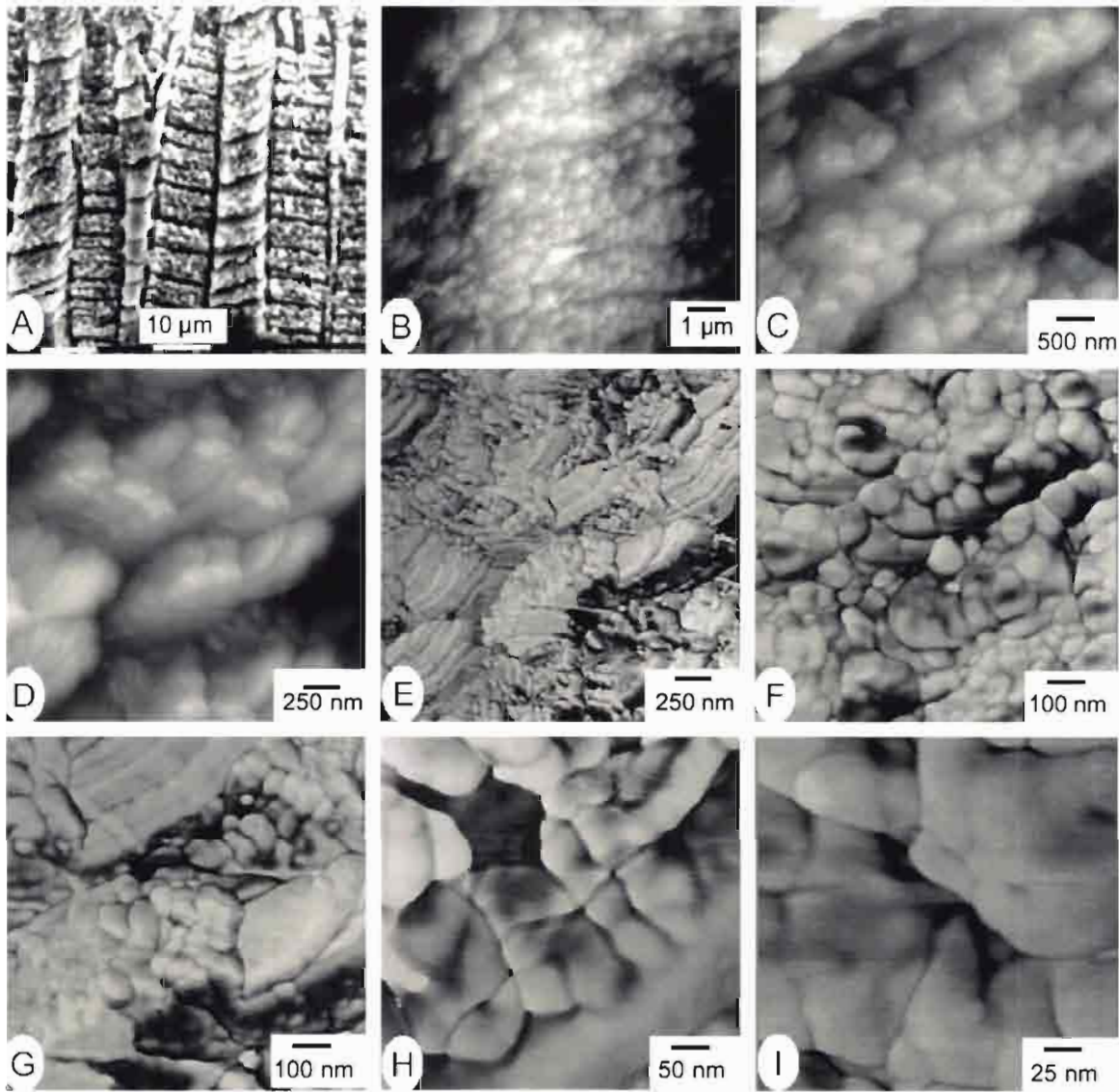


Figure 2.30. Couche aragonitique à structure lamellaire croisée. A : Lamelles de premier ordre (verticales) composée de couches du second ordre (horizontales), vue au MEB d'une section polie et attaquée (acide formique 10%). B : Lamelle de premier ordre formée de cristallites du second ordre, vue à l'AFM d'une section polie et attaquée. C : Détail de (B) montrant la structure complexe des cristallites de second ordre. D : Détail de (C) montrant l'hétérogénéité des lamelles de troisième ordre. E : Vue en image de phase à l'AFM de (D). F : Lamelle du 4^e ordre, vue en image de phase à l'AFM. G : Hétérogénéité des éléments du 4^e ordre, et variété de leur forme en fonction de l'angle de vue, image de phase à l'AFM. H : Subdivision des éléments du 4^e ordre, image de phase à l'AFM. I : Détail de la structure des unités de 4^e ordre, image de phase à l'AFM (Dauphin *et al.*, 2003).

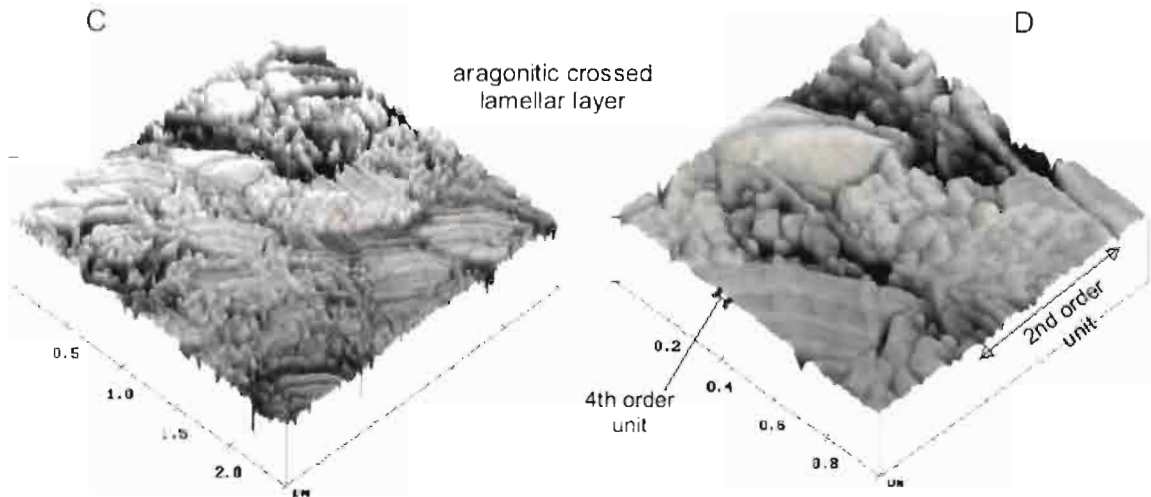


Figure 2.31. Structure interne complexe et variété des formes apparentes des unités de 3^e ordre dans la couche aragonitique à structure lamellaire croisée, selon l'angle de vue. Image de phase à l'AFM (Dauphin *et al.*, 2003).

La structure lamellaire croisée qui caractérise la composante aragonitique des tests de *C. concholepas* est donc assez complexe, nettement plus que celle qui forme la couche calcitique.

II.2.4. Microstructure de la couche calcitique

L'observation de la couche calcitique des tests de *C. concholepas* en lame mince, entre nicols croisés, révèle au premier abord que celle-ci est dominée par de grands cristaux qui peuvent atteindre 2 ou 3 mm (Fig. 2.32). Cette structure a été dénommée prismatique par Boggild (1930). Les cristaux prismatiques n'ont pas de forme précise, ni en section, ni dans le sens de leur plus grande longueur.



Figure 2.32. Bordure d'une coquille actuelle de la région d'Antofagasta (MA3) montrant la couche calcitique externe, composée de larges prismes perpendiculaires aux lignes de croissance. Dans cette partie de la coquille, la couche aragonitique interne se termine en biseau. Lame mince vue en nicols croisés.

Leur taille varie le long de la coquille. La Fig. 2.33 montre que dans certaines parties de la coquille (soit près de l'apex, mais aussi près du bord palléal, cf. Fig. 2.32) les cristaux peuvent se développer depuis la zone de contact avec la couche interne aragonitique, ou présenter une décroissance progressive vers le bord externe de la coquille.

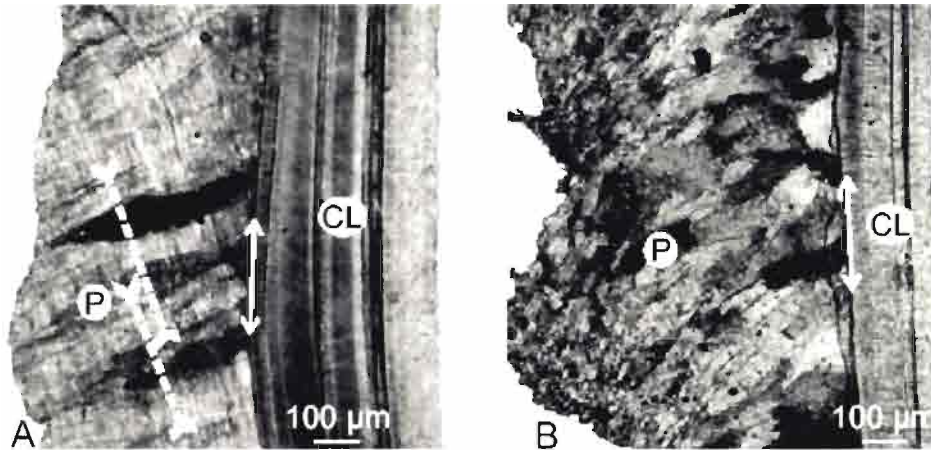


Figure 2.33. Variation de taille des cristaux de calcite, dans la couche externe, entre la zone de l'apex (A) et la partie médiane d'une coquille (B). Dans cette dernière s'observe une diminution de la taille des cristaux vers l'extérieur de la coquille. Vue en lumière analysée (nicols croisés). P : prismes calcitiques, CL : structure lamellaire croisée de la couche aragonitique (Dauphin *et al.*, 2003).

Dans tous les cas, les cristaux ont des axes cristallographiques orientés de façon aléatoire, ce qui explique que, en lumière analysée, l'extinction des cristaux ne soit jamais en phase dans un fragment de coquille (Fig. 2.33 et 2.34).

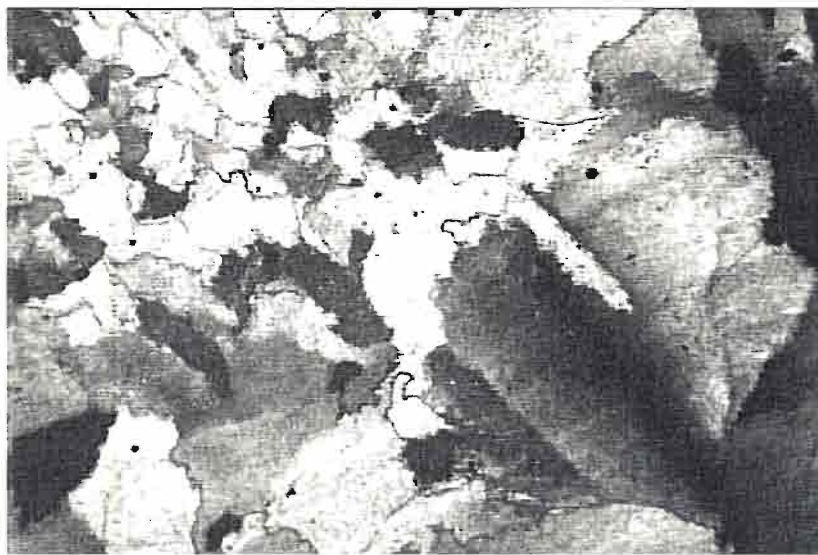


Figure 2.34. Lame ultra-mince montrant l'irrégularité des formes des cristaux de calcite, la variabilité des orientations des axes de cristallisation, et la décroissance de la taille moyenne des prismes vers le bord externe de la coquille (en haut).

L'une des caractéristiques de la couche de calcite prismatique est la netteté des lignes de croissance du test. Ces lignes, soulignées par des impuretés et/ou des inclusions de matière organique, sont souvent orthogonales par rapport à l'orientation des cristaux. (Fig. 2.35).

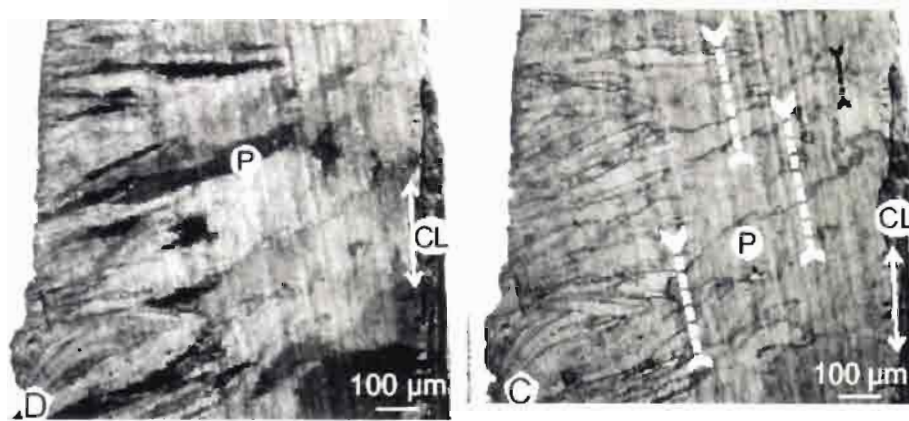


Figure 2.35. Vues en nicols croisés (à gauche) et en lumière non analysée (droite) d'un même fragment de la couche calcitique prismatique (p). Les lignes en tiretés qui soulignent les lignes de croissance, sont souvent orthogonales par rapport aux cristaux de calcite. CL : limite de la couche aragonitique (structure lamellaire croisée) (Dauphin *et al.*, 2003).

Les cristaux prismatiques de calcite ne présentent pas de microstructure particulière visible au microscope optique ou au MEB (Fig. 2.36 et 2.37).

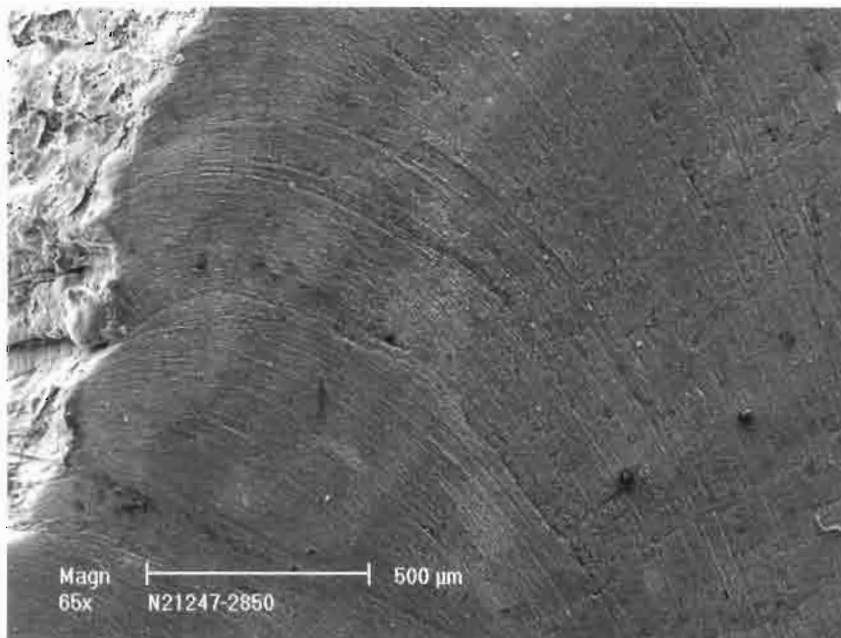


Figure 2.36. Détail au MEB de la couche calcitique prismatique de *C. concholepas*, et de l'absence de microstructure visible. Les lignes incurvées représentent les lignes de croissance, qui sont perpendiculaires aux cristaux de calcite. Coquille actuelle du Chili (ISM1).

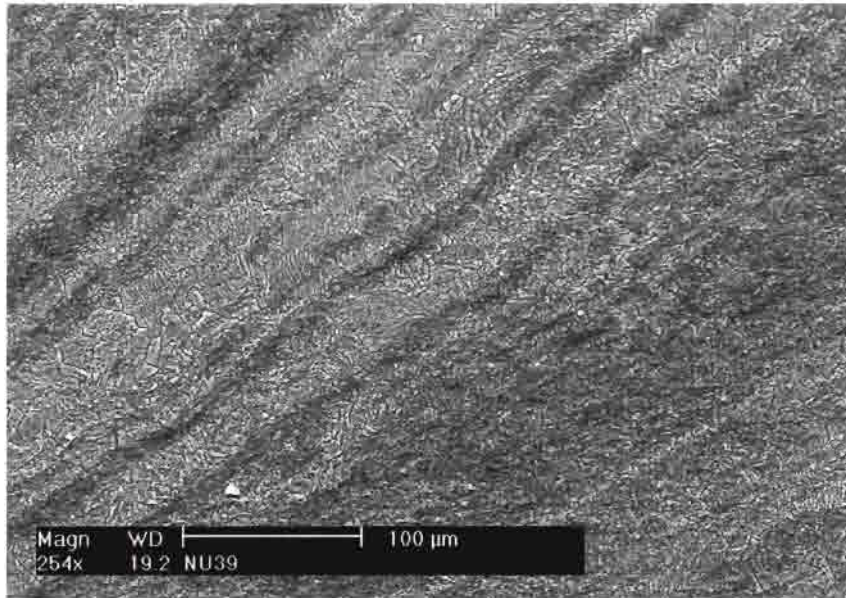


Figure 2.37. Au MEB, les seules structures visibles dans la couche calcitique sont les lignes de croissance, ici légèrement ondulées. Les cristaux, perpendiculaires à ces lignes ne sont pas observables.

A un fort grandissement, il est cependant possible d'observer des cristallites aciculaires d'environ 2 microns de long qui ne paraissent pas ordonnés. (Fig. 2.38).

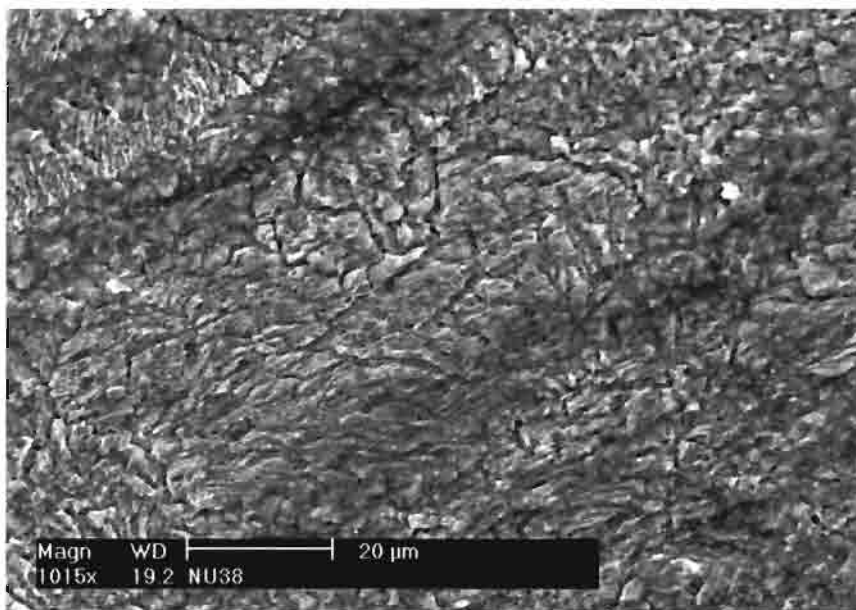


Figure 2.38. Fort grandissement au MEB (1015x) de la Fig. 2.37, permettant de discerner des cristaux allongés de calcite qui ne présentent pas d'orientation préférentielle. Les 3 grandes lignes obliques représentent des lignes de croissance.

Il est nécessaire de faire appel au microscope à force atomique pour préciser la microstructure intime de la calcite prismatique. La Fig. 2.39 montre ainsi que les

cristallites aciculaires sont composées de granules alignés, parfois enveloppés dans une gangue qui pourrait bien être de nature organique. Ces granules ont des tailles variant de 15 à 140 nm (Fig. 2.39, G, H et I).

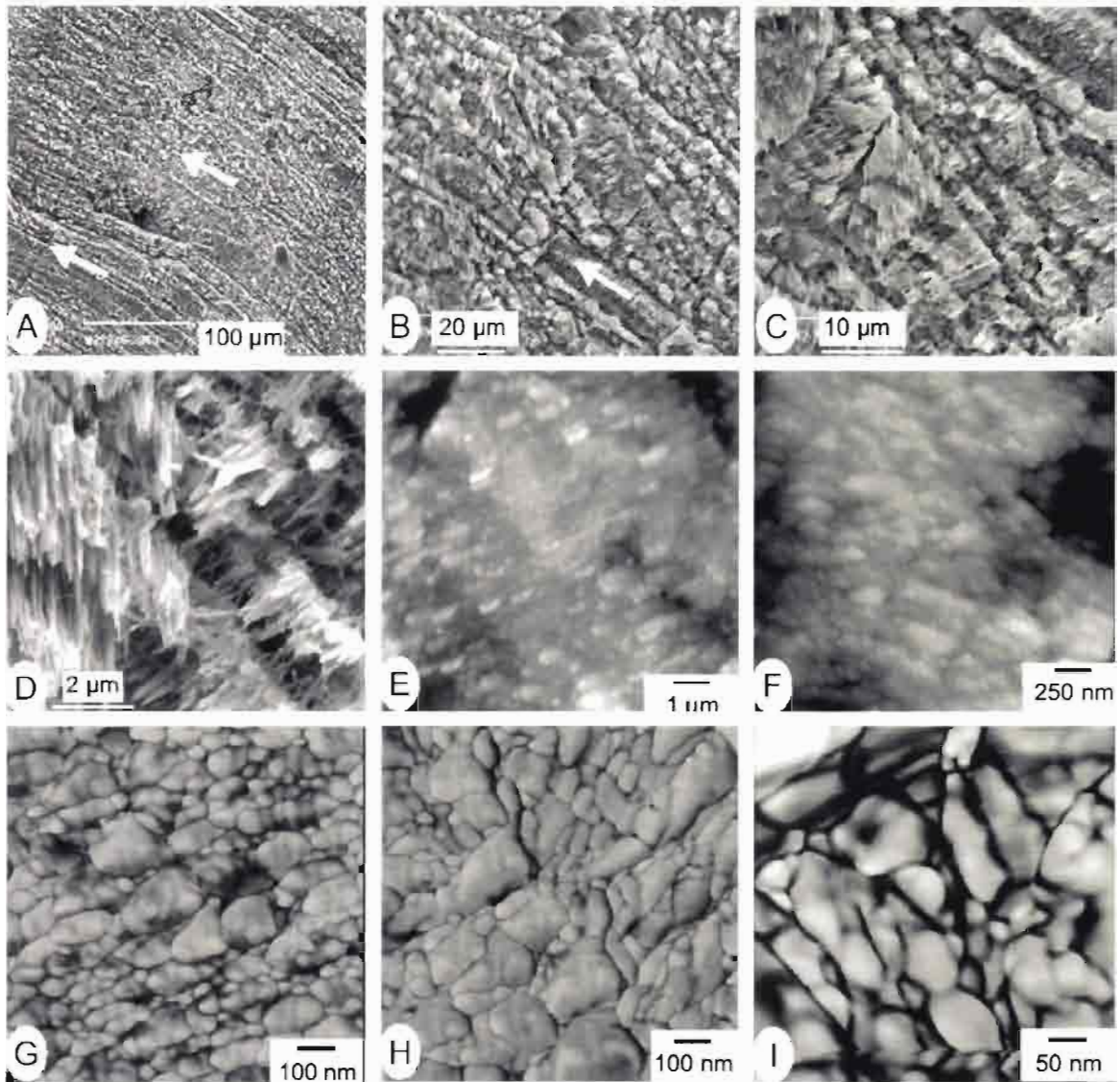


Figure 2.39. Observations sur la couche calcitique externe de *C. concholepas*. A : Au MEB les grands cristaux (visibles en lumière transmise) ne sont pas observables, mais les lignes de croissances sont apparentes. B, C et D : Détails de (A) avec petits cristallites aciculaires ordonnés perpendiculairement ou obliquement par rapport aux lignes de croissances. E : Cristallites aciculaires le long d'une ligne de croissance à proximité du bord palléal, vue à l'AFM. F : Cristallites aciculaires composées de petites unités alignées, vue à l'AFM. G et H : Cristallites de deux tailles distinctes, entourées d'une fine couche de matière organique (?), image de phase à l'AFM. I : Détail des cristallites (à structure composite ?) entourées de leur enveloppe sombre, image de phase à l'AFM. (Dauphin *et al.*, 2003).

La Fig. 2.40 présente une image à l'échelle du micron de la surface d'une couche calcitique, dans laquelle sont toujours visibles les lignes de croissance de l'individu. Il doit être noté qu'à cette échelle d'observation, les incréments de croissance ont des largeurs de l'ordre de la cinquantaine de nm (Fig. 2.40, B).

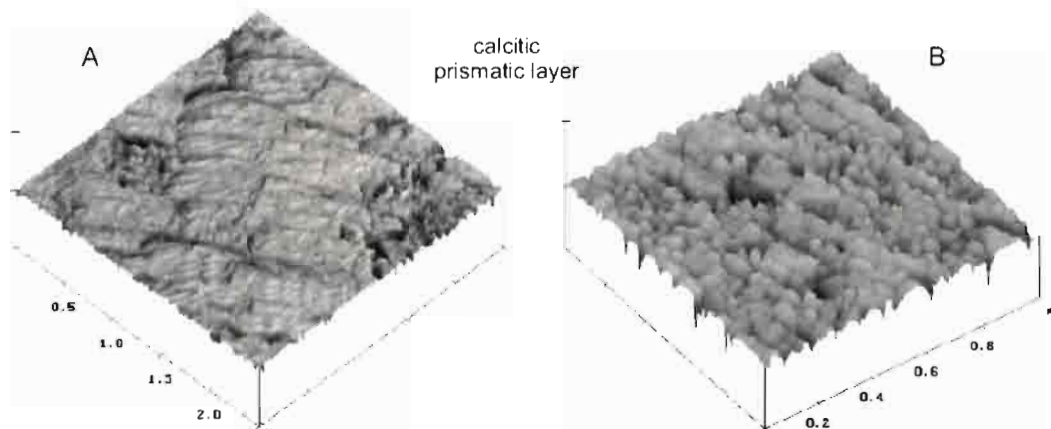


Figure 2.40. Section polie et attaquée montrant les arrangements géométriques des cristallites aciculaires de calcite, ordonnées le long des incréments de croissance. Image de phase à l'AFM (Dauphin *et al.*, 2003).

II.2.5. Altérations microstructurales dans des coquilles pléistocènes

Les observations faites sur des coquilles holocènes (voire de la transition Pléistocène-Holocène, site archéologique Chimba 13) n'ont pas permis de mettre en évidence des différences microstructurales ou minéralogique vis-à-vis de coquilles actuelles. Aucun indice de transformation d'aragonite en calcite, notamment, n'a été décelé au cours de nos études.

D'un autre côté, des examens de coquilles fossiles de *C. concholepas* provenant de dépôts de terrasses marines pléistocènes montrent fréquemment que la couche interne aragonitique est crayeuse, voire pulvérulente, blanchâtre, ou a complètement disparu. Dans des dépôts pliocènes (Formation La Portada, par exemple, dans la région d'Antofagasta-Mejillones) il est même exceptionnel que les coquilles du genre *Concholepas* (*C. kieneri* et/ou *C. nodosa*) comportent encore des traces d'aragonite. Cela indique que la couche aragonitique résiste relativement mal à l'épreuve du temps et subit des transformations diagénétiques plus drastiques que la calcite.

Quelques observations microstructurales, au MEB, ont été effectuées sur des coquilles de *C. concholepas* provenant de dépôts sédimentaires associés à deux terrasses marines de la région de Antofagasta, nord Chili. La terrasse la plus jeune (env. 25 m d'altitude), dans

la région de Michilla (100 km au N de Antofagasta), est attribuée au dernier maximum interglaciaire (~120 ka) (Ortlieb *et al.*, 1995) et a fourni l'échantillon C93-58. La terrasse marine la plus ancienne de la région, dont l'âge précis n'a pu être établi mais qui semble antérieure au Pléistocène moyen et postérieure au Pliocène, pourrait avoir environ 1 Ma (Ortlieb *et al.*, 1997) Des dépôts de cette terrasse ancienne, échantillonnés dans la partie sud de la baie d'Antofagasta (C94-135) a livré des fragments de coquilles de *C. concholepas*.

L'examen au MEB de la couche aragonitique de l'échantillon C93-58 ne fait apparaître que peu de différences avec ce qui a été décrit pour les coquilles holocènes ou actuelles (Fig. 2.41). A première vue, la comparaison avec les aspects de coquilles actuelles (Fig. 2.28 et 2.29) suggère même une absence de modification de la microstructure.

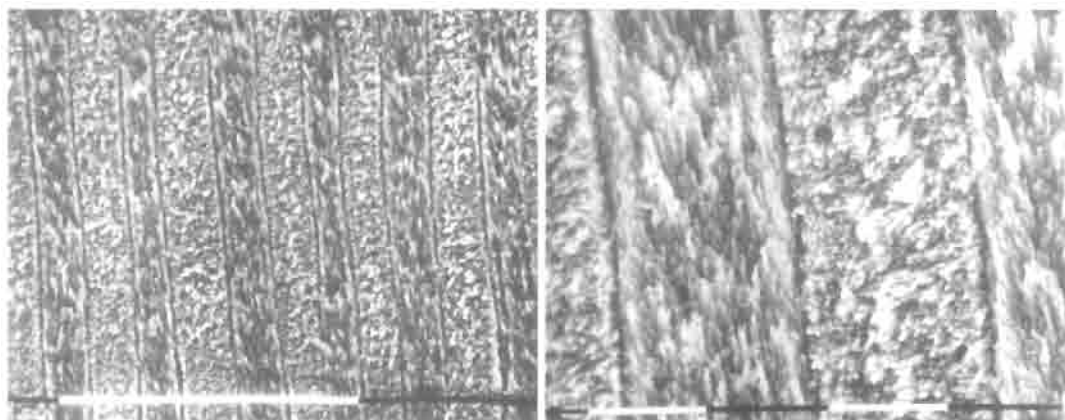


Figure 2.41. Aspects de la structure lamellaire croisée dans la couche aragonitique d'une coquille du Pléistocène supérieur (C93-58). A gauche : lamelle de premier ordre (segment de l'échelle= 50 μm) ; à droite : détail de la précédente montrant les unités de deuxième ordre (segment de l'échelle= 5 μm).

En fait, des examens minutieux au MEB permettent de déceler quelques altérations structurelles, par exemple à l'interface entre les unités de premier ordre qui peuvent présenter des épaisissements ou au contraire, des lacunes de dissolution (Fig. 2.41, droite). Au microscope à force atomique (AFM), des observations en cours (Y. Dauphin) conduisent à caractériser des altérations dans la structure des unités de 3^e ordre. Rappelons que dans les coquilles anciennes, telles l'échantillon C94-135, l'ensemble de la couche aragonite a disparu.

Pour ce qui est de la calcite, des modifications sont observées à la fois dans les coquilles du Pléistocène supérieur et du Pléistocène inférieur (Fig. 2.42), vis-à-vis de coquilles holocènes ou actuelles. En effet, alors que ces dernières ne permettent pas

d'observer au MEB la moindre structure cristalline, on constate que des surfaces polies de coquilles pléistocènes, examinées au MEB, révèlent clairement les contours des cristaux prismatiques.

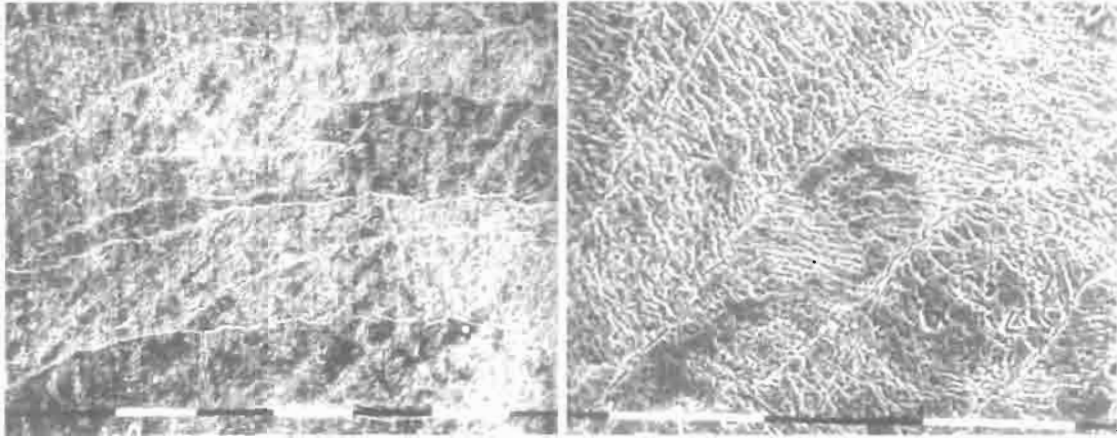


Figure 2.42. Vue au MEB de cristaux de calcite dans une coquille du Pléistocène supérieur (C93-58). A la différence de ce qui est observé dans des coquilles holocènes, on perçoit bien les contours des cristaux calcitiques.

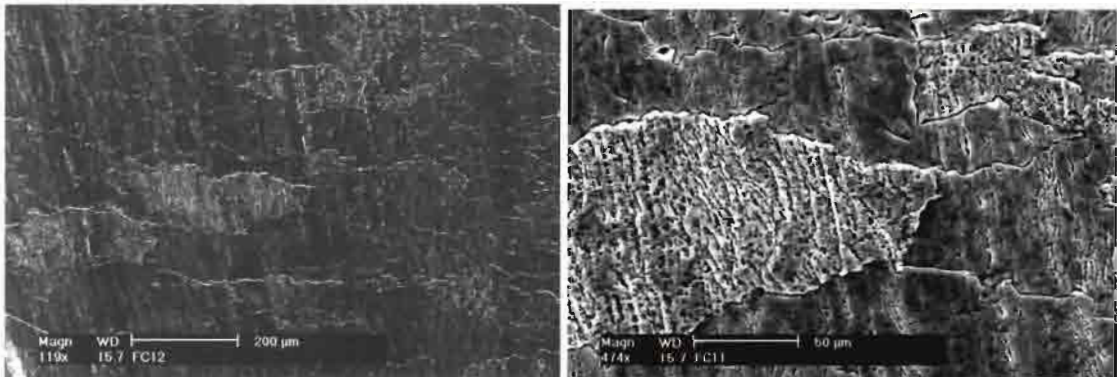


Figure 2.43. Vue au MEB de cristaux de calcite dans une coquille du Pléistocène inférieur (C94-135). A la différence de ce qui est observé dans des coquilles holocènes, mais comme le montre la coquille plus jeune de la g. 2.42, les contours des cristaux calcitiques sont bien visibles.

La comparaison avec l'aspect de la couche calcitique dans les coquilles holocènes (Fig. 2.36 et 2.37), suggère des transformations diagenétiques dans les coquilles les plus anciennes. La disparition d'une partie de la matière organique intimement liée au réseau des cristaux de calcite pourrait être responsable de cette transformation. Des analyses au microscope à force atomique (AFM), actuellement en cours, sur des fragments de coquilles du Pléistocène supérieur visent à préciser les modifications dans la disposition

géométrique, la taille et la forme des granules composant les cristallites aciculaires de calcite.

II.3. Conclusions

Compte tenu de la rareté des informations antérieures sur la microstructure et la minéralogie des constituants de la coquille de *C. concholepas* il était nécessaire de procéder à une série d'observations à différentes échelles spatiales. L'utilisation de la microscopie FTIR et de la microscopie AFM a rendu possible un saut qualitatif important dans la connaissance de l'objet étudié. Ainsi nous avons pu préciser les grands traits de la microstructure de ce muricidé avec de nombreuses observations au MEB, qui complètent et prolongent les travaux pionniers de Petitjean (1965) et Philippon (1974). Les autres outils performants utilisés ont permis de décrire et de comprendre l'architecture de la couche aragonitique, en « descendant » jusqu'au niveau des arrangements de 4^e ordre, c'est-à-dire, à l'échelle de la dizaine de nm.

Les analyses minéralogiques effectuées sur lames minces, donc avec un contrôle visuel direct que ne permettent pas les voies classiques de la diffraction par rayons X, ont servi à conforter l'interprétation des observations microstructurales. Un exemple d'une mince interstratification de couche aragonitique dans la partie « corticale » (extérieure, de nature calcitique) de la coquille a par exemple été donné. Les mesures faites par microscopie FTIR, sur chacune des couches aragonitique et calcitique, dans des coquilles holocènes (datant de 10 ka à 3 ka) ou actuelles, ont montré de subtiles différences spectrales qui ne sont pas encore comprises. Plusieurs « types » de spectres calcitiques et aragonitiques ont ainsi été observés, mais ceux-ci ne reflètent apparemment pas des altérations de nature diagénétique : ils se retrouvent aussi bien dans des coquilles fossiles que des coquilles actuelles. Des travaux ultérieurs devraient préciser ce point.

Les mesures FTIR effectuées à une haute résolution spatiale (50 μm) sur des coquilles holocènes, provenant de sites archéologiques, tendent à indiquer que, à l'échelle des derniers milliers d'années, les couches aragonitique et calcitique n'ont pas subi d'altération importante, décelable avec cet outil. Ce type d'information paraît évidemment pertinent dans une stratégie d'études de géochimie sur les coquilles fossiles.

A une échelle de temps plus grande, il a été observé que des coquilles du Pléistocène supérieur pouvaient n'enregistrer que des modifications mineures dans la couche aragonitique. Ces modifications observables au MEB sont susceptibles d'avoir affecté la

composition géochimique originelle des tests. Pour ce qui est de la calcite, les différences d'aspect de surfaces polies, par rapport à des échantillons holocènes, mettent en évidence une altération certaine, que l'on pense être liée à l'évolution de la matière organique ou à la disparition d'une partie de celle-ci. Les examens menés sur des fragments de coquilles datant d'environ 1 Ma ont montré le même type d'altération dans la couche calcitique (l'aragonite ayant, elle, totalement disparu).

On retire de l'ensemble de ces observations, qui restent ponctuelles et limitées à quelques échantillons, l'impression que des effets diagénétiques affectent la calcite au cours des premières dizaines de milliers d'années de fossilisation, et ne s'intensifieraient pas nécessairement durant les centaines de milliers d'années suivantes. L'aragonite, elle, seraient beaucoup plus sujette à des altérations diagénétiques qui touchent non seulement la microstructure mais aussi, très probablement, la composition chimique du matériel.

La bonne connaissance de la géométrie du test constitue un préalable indispensable à toute étude visant à relier des variations de composition géochimique et des variations de l'environnement. Les observations réalisées permettent notamment de recommander de travailler sur la couche calcitique qui présente l'avantage de bien enregistrer les lignes de croissance de l'organisme (Fig. 2.44).

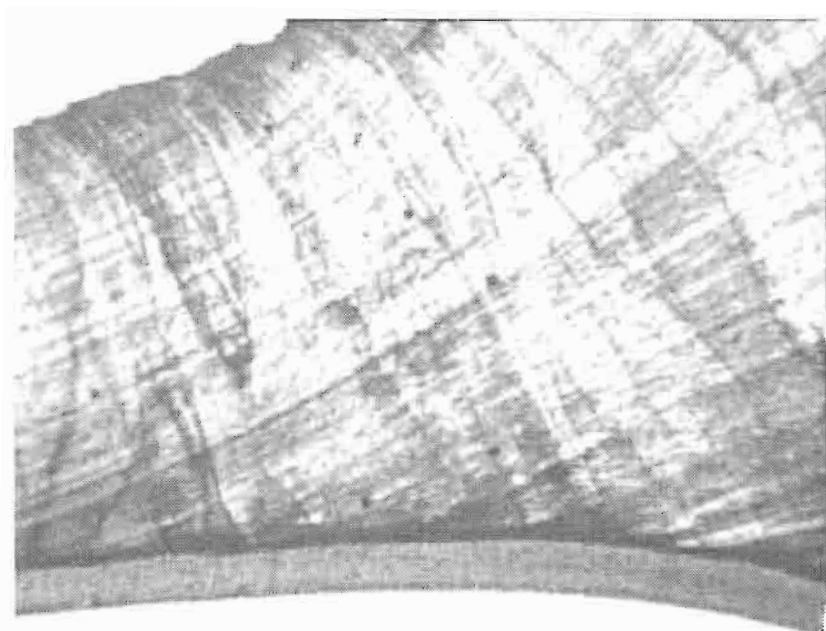


Figure 2.44. Lignes de croissance visibles dans la couche calcitique externe, vue au microscope avec nicols croisés.

Dans le chapitre suivant, nous allons essayer de préciser comment croît la coquille de cet organisme et comment on peut interpréter les lignes de croissance visible dans la

couche externe. Cette démarche est essentielle, autant pour les études de calibration que pour le développement d'une sclérochronologie de *C. concholepas* applicable à des coquilles fossiles.

CHAPITRE III

MODALITÉS DE LA CROISSANCE DES COQUILLES DE *C. CONCHOLEPAS*

CHAPITRE III: MODALITES DE LA CROISSANCE

DES COQUILLES DE *C. CONCHOLEPAS*

L'un des objectifs fondamentaux de ce travail est de comprendre les modalités de croissance de *Concholepas concholepas* et de jeter les bases d'une sclérochronologie de cette espèce. Dans le précédent chapitre, il a été souligné que des lignes de croissance étaient bien visibles dans la couche calcitique mais la signification de ces lignes et leur mode de formation restaient à préciser. La démarche que nous avons suivie s'est largement appuyée sur des expériences de marquage qui visait à fixer, dans la structure de la coquille, lors de sa croissance, des instants déterminés. Pour des raisons qui tiennent à la mobilité de l'animal et à son mode d'alimentation prédateur, mais aussi parce que l'animal constitue une proie très recherchée par l'homme, la tâche n'a pas été facile et a requis des expérimentations en laboratoire.

III.1. Les incertitudes sur les rythmes de croissance de *C. concholepas*

III.1.1. Les lamelles protubérantes

Les coquilles de gastéropodes, comme celles des bivalves, comportent souvent des marques morphologiques qui permettent de déterminer le nombre d'années de croissance de l'organisme. Dans le cas de *C. concholepas*, ceci n'est pas le cas. A un niveau macroscopique, la coquille de *C. concholepas* présente une structure grossièrement réticulée produite par l'intersection de lamelles protubérantes et de côtes radiales issues de l'apex (Fig. 3.1). Les distances séparant les lamelles sont assez régulières dans un même individu. La signification chronologique de ces lamelles n'est pas encore comprise. Du fait même qu'elles soient régulièrement réparties, alors que l'on sait que la croissance de l'organisme suit une loi exponentielle, on peut supposer qu'elles ne sont pas des marqueurs chronologiques absolus, par exemple mensuels ou saisonniers.

Les lamelles se forment donc probablement à un rythme assez soutenu lors de la première année de croissance, un peu moins fréquemment l'année suivante, et ainsi de suite. Elles ne peuvent pas être utilisées comme moyen de détermination de l'âge des coquilles tant que n'auront pas été compris les mécanismes qui contrôlent leur formation.

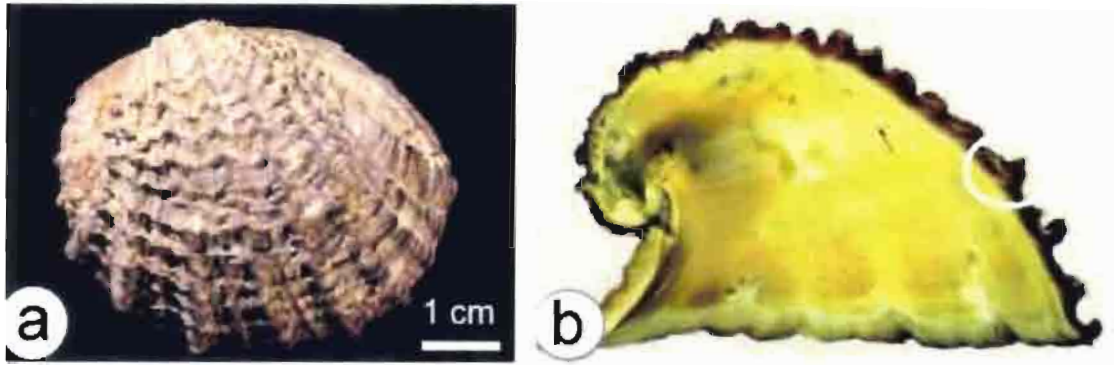


Figure 3.1. Structure générale de la coquille *C. concholepas*, montrant les lamelles protubérantes sub-concentriques par rapport à l'apex, visibles en coupe (b, cercle blanc), et les côtes radiales. Coquille actuelle de l'Ile Santa Maria (Antofagasta, Chili) (ISM1-7).

Des examens microscopiques en lames minces de ces lamelles suggèrent que leur formation répond à des signaux biologiques ou métaboliques (Fig. 3.2.). On observe que la naissance d'une lamelle se manifeste par une prolongation, parfois progressive, des incréments de croissance vers l'extérieur. En revanche, la fin de l'épisode de croissance d'une lamelle est généralement abrupte. Au bout d'un certain temps, les conditions de formation de la lamelle disparaissent, et la taille des incréments redevient conforme à la taille normale, celle qui caractérise l'épaisseur moyenne de la couche calcitique.



Figure 3.2. Vue en 3D d'un fragment de coquille, à proximité du bord palléal (à gauche), montrant la structure des lamelles protubérantes au sein de la couche calcitique. Coquille actuelle, Ile Santa Maria (Antofagasta, Chili).

III.1.2. L'étude de S. Adlerstein (1987)

Dans le cadre d'une thèse doctorale (non publiée) Adlerstein (1987) a entrepris une étude sur la détermination de l'âge et de la croissance des coquilles de *C. concholepas* en s'appuyant sur l'analyse des lignes de croissance d'une population de coquilles (111

spécimens) provenant de la région de Caleta Hornos (29° 35' S, et non 33° 30' S comme indiqué par l'auteur elle même). Cet auteur a procédé à des mesures d'épaisseur de lignes de croissance, le long d'une série de coquilles sciées dans l'axe de croissance maximale (Lu, cf. Fig. 1.12), en utilisant diverses méthodes d'observation (lames minces, MEB, surface polies, « peels » d'acétate) et de comptage (divers logiciels). Ses résultats ont été traités par plusieurs méthodes d'analyse spectrale.

Adlerstein est partie de l'hypothèse que, comme pour la plupart des mollusques, la coquille de *C. concholepas* présentait (devrait présenter !) de « winter checks », c'est-à-dire des zones dans lesquelles la vitesse de croissance était ralentie (incrément plus fins), et que ces zones correspondaient aux périodes hivernales, de températures plus basses (Fig. 3.3). Les comptages d'incrément de croissance et les traitements statistiques des mesures ont été effectués sur la base de cette hypothèse de travail.

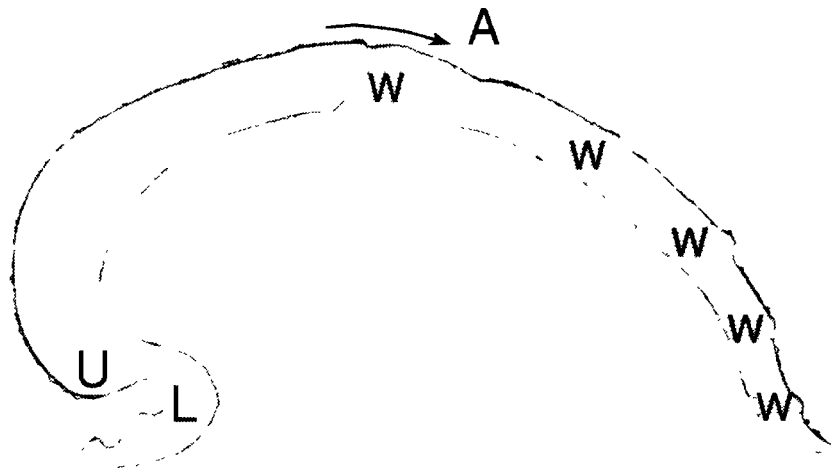


Figure 3.3. Représentation schématique de la structure d'une coquille de 6 ans d'âge, avec indication des « winter checks » (W) formés chaque hiver, selon Adlerstein (1987). U= Umbo (apex), L= bord postérieur, A= direction de croissance de la zone antérieure.

L'auteur conclut son étude par la mise en évidence de deux types de périodicités : l'une correspondant à une quinzaine d'incrément (15 ± 5) et l'autre à environ 300 (± 100) incrément. La première correspondrait à un demi cycle lunaire (14 jours) et la seconde à un rythme annuel. Ces résultats, pour une série des échantillons étudiés, traduits en courbe de croissance de type von Bertalanffy semblent cohérents avec d'autres études antérieures fondées, elles, sur de simples mesures de la longueur péristomale (cf. Fig. 1.13).

L'étude de Adlerstein a le mérite d'être la première qui se soit penchée sur l'étude des microstructures de croissance de *C. concholepas*. Malheureusement, ses résultats sont

difficilement exploitables pour plusieurs raisons (outre qu'ils n'ont pas fait l'objet d'une publication). Un premier problème tient au manque d'explication des critères utilisés pour définir les incréments de croissance qui constituent la base de cette étude. Il est particulièrement regrettable de ne pas trouver d'illustration des incréments mesurés, et de ne pas savoir à quoi se réfère l'auteur lorsqu'il parle d'incrément dont la durée (non explicitée par elle) est d'une journée. La notion de « winter check », présentée comme une donnée de base, n'est pas non plus illustrée (autrement que par la Fig. 3.3), ni ne donne lieu à des descriptions ou discussions dans le corps du texte. L'auteur aborde la question de l'absence de croissance durant certaines périodes, et envisage que de tels phénomènes soient liés aux épisodes d'activité sexuelle des individus concernés. En l'absence d'exemples précis (photos notamment), on est en position de se demander si les soi-disant lacunes de croissance ne correspondraient pas simplement au fait que l'auteur n'a pas retrouvé le nombre d'incrémentes que son modèle d'interprétation prévoyait.

Par rapport à la signification des lamelles protubérantes, Adlerstein considère que tous les « winter checks » observés en coupe sont contemporains d'une lamelle, mais que l'inverse n'est pas vérifié (p. 102). Cette interprétation est paradoxale si l'on accepte le présupposé que les « winter checks » correspondent à des périodes de moindre croissance (dus aux basses températures), alors que ce serait (notamment) à ce moment-là que la coquille formerait une plus grande quantité de calcite sous la forme d'une lamelle protubérante. Le paradoxe n'est pas discuté par Adlerstein.

Parmi les problèmes que soulève le travail cité, on signalera encore le fait qu'un grand cas est fait d'une corrélation possible entre un maréogramme proche de la région d'origine des spécimens et les séquences d'incrémentes de croissance. Cette approche est classique dans l'étude des bivalves. Le motif de préoccupation tient à l'explication fournie par Adlerstein (p.19) : le rythme de formation des incréments dépendrait essentiellement de la position altimétrique des coquilles, au-dessus ou au-dessous du niveau de l'eau. Cette hypothèse selon laquelle la croissance de la coquille serait rythmée par l'immersion périodique (dépendante de la marée) des organismes ne peut être retenue. *C. concholepas* est un organisme qui se trouve dans la zone intertidale s.s. durant une faible proportion de son cycle vital, notamment pour la ponte. La plus grande partie du temps il se comporte comme un organisme subtidal (cf. § I.3.3), de sorte qu'il est peu susceptible d'être systématiquement influencé par les fluctuations même du niveau marin.

Ainsi, l'étude de Adlerstein, la seule consacrée jusqu'ici aux lignes de croissance de notre gastéropode, ne fournit pas beaucoup d'éléments objectifs, solides, sur lesquels on

puisse s'appuyer pour poursuivre une étude des modalités de croissance du test de cet organisme.

III.1.3. Incréments de croissance et échelles d'observation

Dans le chapitre précédent, ont été décrites des lignes et incréments de croissances à diverses échelles spatiales. La Fig. 2.5 présente une vue particulièrement illustrative des incréments dans un « peel » d'acétate, à l'échelle de l'épaisseur de toute une coquille. On y observe notamment des différences de couleur et d'opacité qui sont susceptibles de révéler de subtiles différences de contenu de matière organique. Cette méthode d'observation présente l'avantage de bien mettre en évidence les groupements d'incrément de croissance, et leurs relations géométriques, aux échelles millimétriques (voire infra millimétriques). Cette technique est sans doute la plus appropriée pour l'étude des incréments de croissance à l'échelle de l'ensemble d'une coquille.

En lame mince, avec (Fig. 2.44) ou sans nicols croisés (Fig. 2.35), des incréments de croissance apparaissent généralement de façon nette. Ils correspondent en fait à des regroupements d'unités, de taille variable, qui ne semblent pas représenter des « tranches de temps » comparables entre elles. Ce moyen d'observation n'est donc pas le mieux adapté pour la caractérisation géométrique et le comptage des incréments de croissance.

Dans les Fig. 2.36 et 2.38, correspondant à des photos MEB, s'observent des lignes de croissance dont certaines sont assez nettes et dont l'épaisseur est de l'ordre de la dizaine de microns. La photo de la Fig. 2.36 montre également des groupements de lignes de croissance par faisceaux qui mesurent plusieurs centaines de microns. Les observations faites à ce niveau d'observation sont difficiles à replacer dans le contexte de la coquille entière.

Enfin, en utilisant l'AFM, on a observé que les incréments de croissance les plus fins que l'on puisse reconnaître ont des épaisseurs de l'ordre de la cinquantaine de nm (Fig. 2.40). Ce niveau d'observation permet, encore moins qu'entre MEB et microscopie optique, de franchir les différences d'échelles. Néanmoins, on doit retenir que les unités de base de la croissance de *C. concholepas* semblent être caractérisées par une épaisseur de l'ordre de la cinquantaine de nanomètres.

Ainsi, suite aux observations faites aux diverses échelles, et sur divers instruments, il apparaît que le concept même d'incrément de croissance recouvre des réalités distinctes, des objets de tailles différentes. Par ailleurs, on aura pu noter qu'à aucune des échelles d'observation, ne se dégagent des types d'incrément ou de groupements d'incrément qui

soient attribuables, d'emblée, à des unités chronologiques telles que jours, mois lunaires, ou cycles annuels.

C. concholepas forme son test par addition de couches successives de matériel biocarbonaté à un rythme qui n'est pas encore compris. Contrairement à ce que laissait entendre Adlerstein (1987), sans l'illustrer, il n'est pas possible d'identifier d'emblée des incréments journaliers, ou (semi-)mensuels (« fortnights »). On peut même se demander si la croissance de cet organisme ne serait pas plus directement contrôlée par la qualité ou l'abondance de sa diète que par des rythmes astronomiques. Quelques observations, sur lesquelles nous reviendrons, suggèrent que, en tant que prédateurs, ces animaux croissent d'autant plus vite qu'ils se nourrissent bien. D'autres observations faites dans la station de biologie marine et d'écologie de Las Cruces (33° S), Université Pontificale Catholique du Chili, où des populations naturelles de *C. concholepas* sont préservées hors de toute pression anthropique, tendent à indiquer des variations importantes de vitesses de croissance selon les individus (J.C. Castilla, comm. pers., 2002).

La façon la plus directe de résoudre ce problème consiste à imprimer une marque, d'une façon ou d'une autre, dans la coquille, de laisser croître l'animal un certain temps, et de le sacrifier ensuite pour examiner le nombre et les caractéristiques des incréments qu'il a formé durant l'intervalle de temps écoulé.

III.2. Marquage et étude de croissance d'organismes dans leur milieu naturel

III.2.1. La première expérience à l'Ile Santa Maria

Une première expérience de marquage de coquilles de *C. concholepas*, avec des moyens mécaniques, a été tentée en 2001 dans la région de l'Ile Santa Maria (Fig. 3.4).



Figure 3.4. Localisation de l'Ile Santa Maria, dans la région d'Antofagasta où fut réalisée la première expérience de marquage in situ de *C. concholepas*.

Par rapport aux objectifs initiaux, l'expérience a échoué, mais la récupération d'une seule coquille a, en fait, fourni de nouvelles perspectives et ouvert la voie à d'autres expériences.

Le projet consistait à marquer, par un coup de lime sur une zone déterminée du bord de la coquille, une centaine de spécimens. Ces spécimens étaient remis dans le milieu et devaient être repêchés au bout de quelques semaines ou quelques mois, pour étudier les modalités et caractéristiques des fragments de coquille qui se seraient formés durant l'intervalle entre marquage et la recapture.

Les organismes ont été collectés par plongée autonome, à une profondeur de l'ordre de 5 m, au sud de l'Île Santa Maria, par un plongeur local (R. Zuleta du syndicat de pêcheurs artisanaux de l'Île Santa Maria). Des numéros en plastique (Dymo) ont été collés sur les coquilles avec une résine résistante à l'eau de mer, et la zone de l'apex fut peinte avec une bombe aérosol de couleur phosphorescent à séchage rapide, pour faciliter le repérage ultérieur des organismes. Les mesures morphométriques ont été enregistrées pour chaque organisme. La bordure de la coquille a été limée avec une lime métallique entre la deuxième et la sixième côte à partir du canal siphonal (Figure 3.5). L'ensemble des opérations a été effectué en prenant soin de stresser le moins possible les organismes, et de ne jamais laisser le pied hors du contact de l'eau de mer. Finalement, les organismes ont été remis dans le milieu, dans un endroit bien identifié, aux alentours des installations du syndicat de pêcheurs.

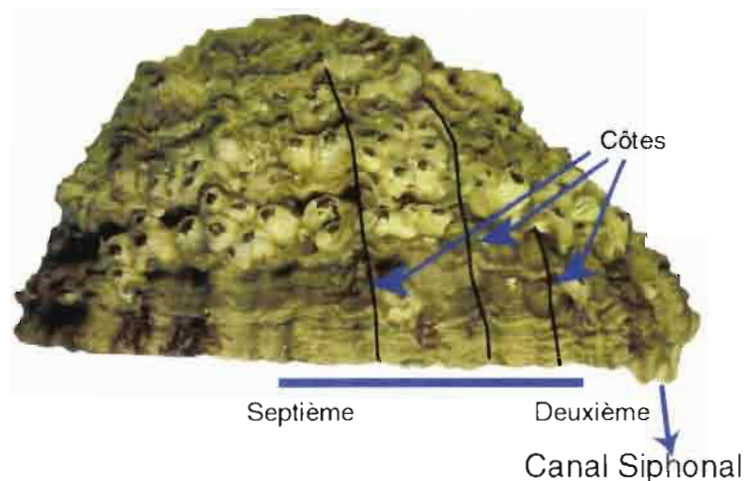


Figure 3.5. Structures externes de la coquille de *C. concholepas*. La ligne bleue correspond à la section limée durant la première expérience de marquage. Coquille ISM5-1.

Au total, près d'une centaine d'organismes ont été marqués et remis dans le milieu, lors de deux opérations successives. La deuxième opération a été justifiée par le fait que, deux

mois après le premier marquage, une seule coquille, vide de surcroît, avait été retrouvée. Suite à la deuxième opération, aucune coquille n'a pu être retrouvée, ni de la première ni de la seconde opération. Cet échec s'explique par une ou plusieurs causes : malgré les déclarations rassurantes des pêcheurs, les organismes ont été repêchés pour être consommés ou vendus, et/ou les organismes se sont déplacés en masse vers une autre zone ; et/ou ils ont également pu être victimes de prédation par des étoiles de mer (*Heliaster heliantus*, notamment).

III.2.2. Observations microscopiques sur la coquille récupérée

L'unique coquille retrouvée (ISM5-1, Fig. 3.5) a été identifiée par une petite tache de couleur phosphorescente. Le fait que les parties molles aient disparu avant la recapture ne permet pas de déterminer combien de temps l'individu a survécu après le marquage : tout au plus sait-on que ce temps n'a pu excéder deux mois. Malgré ces incertitudes, et de façon inattendue, cette coquille a tout de même fourni des résultats extrêmement intéressants, sur le thème des rythmes de croissance chez *C. concholepas*.

Une section polie du bord palléal de cette coquille montre l'incrément de croissance qui a été sécrété dans un laps inférieur à deux mois (Fig. 3.6).

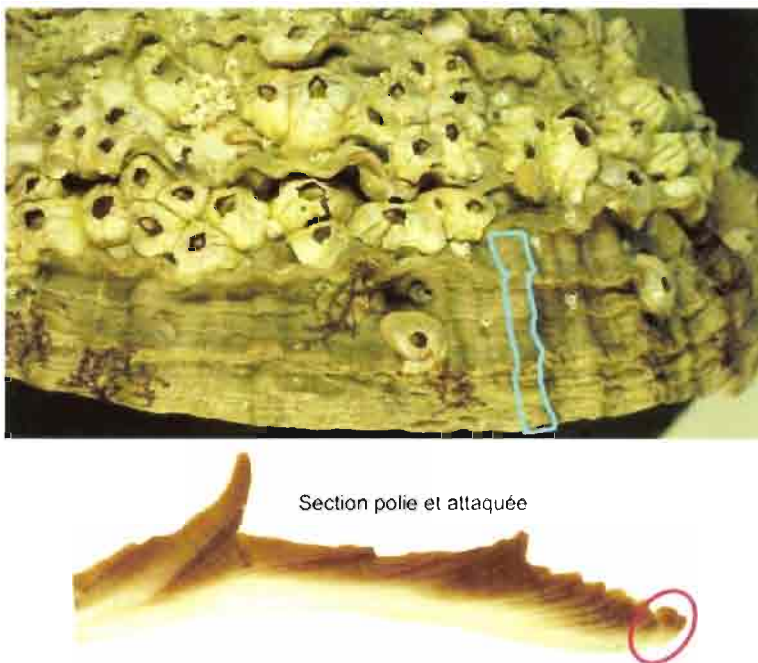


Figure 3.6. ISM5-1, seule coquille retrouvée après l'opération de marquage à l'Ile Santa Maria. Le cercle rouge montre la portion construite par l'organisme en deux mois maximum.

Au MEB, le processus de réparation (reconstruction) de la partie limée, qui a été suivi d'une phase de croissance « normale », est plus précisément documenté (Fig. 3.7). On note en particulier, au MEB, qu'il n'y a pas de différence structurelle entre les incréments de

croissance, avant et après l'opération de limage. Cela suggère que le coup de lime n'a pas altéré profondément le rythme de biominéralisation.

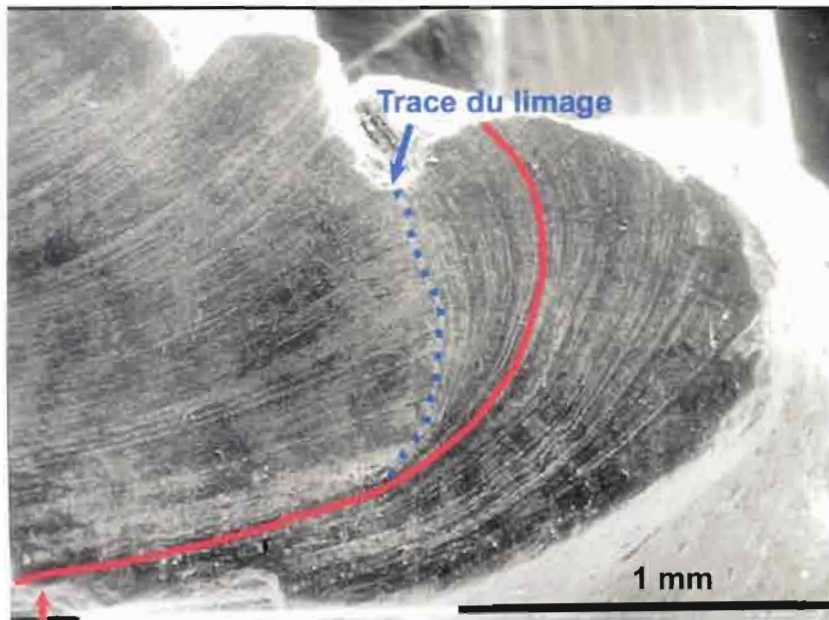


Figure 3.7. Observation au MEB du bord palléal de la coquille ISM5-1, avec indication de la forme initiale de la coquille avant limage (en rouge), et de la trace du limage (en bleu). La zone comprise entre les lignes bleue et rouge correspond à la « réparation » de la coquille.

Une image de « peel » d'acétate réalisée à une faible distance de la photo au MEB montre les mêmes effets de réparation et de reprise de la croissance de la coquille (Fig. 3.8)

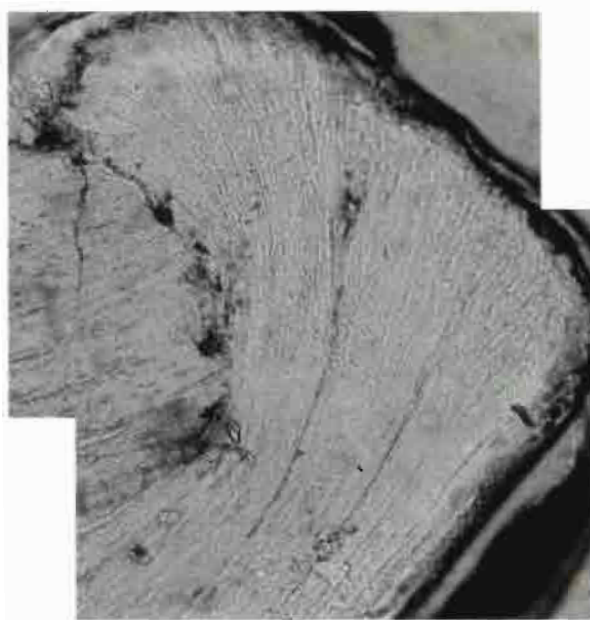


Figure 3.8. « Peel » d'acétate du bord palléal de ISM5-1, montrant les mêmes phénomènes de réparation, puis de reprise de la croissance, que la Fig. 3.7, en un point voisin du bord de la même coquille.

La combinaison des informations obtenues par ces images au microscope, au MEB et par « peel » d'acétate conduit à reconnaître des incréments de croissance (ou " unités " de minéralisation) dont l'épaisseur est de l'ordre de 2 μm . La croissance d'environ 1 mm de coquille durant la période maximale de 2 mois correspond donc à environ 500 incréments unitaires, soit 8 incréments par jour, ce qui représente en moyenne un incrément tous les trois heures. Cette estimation est grossière, mais s'appuie sur des mesures effectives d'incrément dans une série de forts agrandissements de photos au MEB (Fig. 3.9).

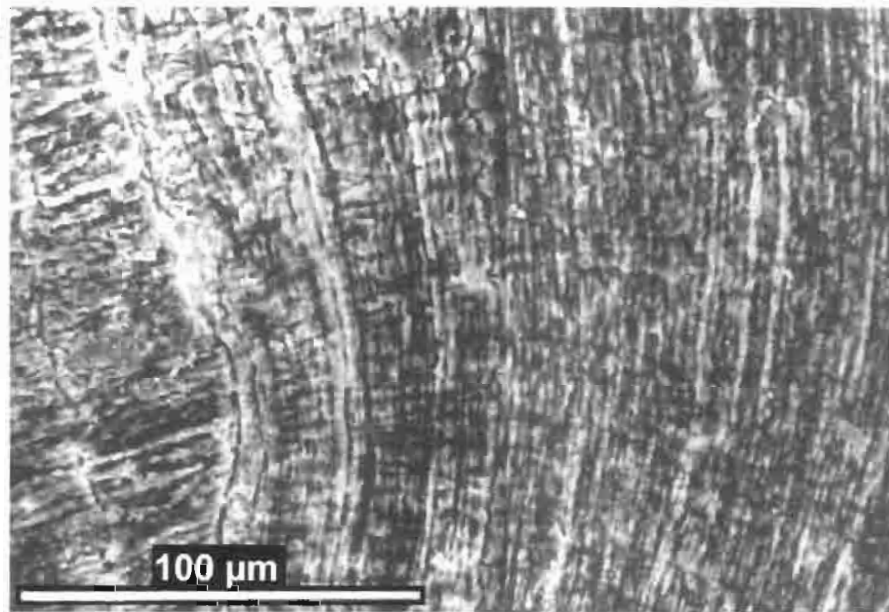


Figure 3.9. Agrandissement photographique de photo MEB (cf. Fig. 3.7) permettant l'identification et le comptage d'incrément de croissance « unitaires », d'épaisseur à peu près constante (entre 1 et 2 μm). A gauche de la « discordance », fragment de la coquille ISM5-1 avant limage.

Le calcul considère une période maximale de deux mois, qui pourrait en fait être inférieure, auquel cas la fréquence de formation de chaque « unité » de biominéralisation pourrait être augmentée à une par heure, voire moins.

Il doit être noté que les observations, et l'estimation de la fréquence de formation des incréments, portent sur des « unités » de biominéralisation, et non sur des jours. Au niveau d'observation où nous avons travaillé, ce sont les unités de biominéralisation qui sont identifiables, pas les jours de croissance.

Le « peel » d'acétate (Fig. 3.8), et dans une moindre mesure la photo MEB (Fig. 3.7), montrent 3 groupements de figures de croissance, dont les épaisseurs sont comparables. A

titre d'hypothèse, cohérente avec les estimations faites ci-dessus, on peut suggérer que chacun de ces faisceaux correspond à un demi-mois lunaire (« fortnight »). Selon cette hypothèse, la durée de croissance entre le marquage et la mort de l'animal aurait été de 3 fois deux semaines, soit un mois et demi. Ainsi l'organisme aurait péri environ une semaine avant que l'on retrouve sa coquille.

III.2.3. Autres expériences en cours au Pérou

Dans le cadre du projet CONCHAS du PNEDC, auquel nous participons, ont été lancées deux expériences de suivi de croissance, après marquage, de coquilles de *C. concholepas*, dans deux localités péruviennes. Ces expériences sont menées en collaboration avec des personnels de l'IMARPE (Institut de la Mer du Pérou), notamment F. Velazco, J. Argüelles, E. Barriga et S. Zevallos. La première localité est située à une vingtaine de km au nord de Ilo, à Pocoma (17° 35' S) (Fig. 3.10). La seconde localité est l'îlot de Cabinzas (12°07' S), situé au sud-ouest de l'île San Lorenzo au large de Callao et Lima (Fig. 3.10). Ces localités ont été sélectionnées parce qu'elles étaient susceptibles d'être à l'abri des pêcheurs (zones théoriquement protégées).



Figure 3.10. Localisation des deux sites péruviens où se poursuivent actuellement des expériences de suivi de croissance de coquilles après marquage, en milieu naturel.

Les expériences de marquage des coquilles ont été faites avec des fluorochromes (voir plus loin) et visent à fournir des éléments de comparaison, par rapport aux études menées en laboratoire (voir plus loin), sur les conditions de croissance de coquilles en milieu naturel. L'expérience de Pocoma, lancée en mai 2003, concerne 107 individus qu'il était prévu de recapter tous les mois, pour les marquer et les replacer dans leur milieu (Fig. 3.11). Malheureusement les conditions de la mer ont rendu difficiles les opérations de recapture (par plongeur) et finalement aucun des individus marqués en mai 2004 n'a pu être récupéré. Il reste prévu de tenter de recapter (plus d'un an après le marquage) quelques individus.



Figure 3.11. Identification et numération de spécimens pour une opération de marquage et suivi de croissance en milieu naturel à Pocoma, sud Pérou.

La seconde opération de marquage et suivi de croissance à Cabinzas n'a été initiée que le 5 décembre 2003. Une centaine de coquilles ont été numérotées, mesurées, marquées et remises à l'eau. Deux coquilles ont jusqu'à présent été récupérées, fin décembre et en avril 2004, mais n'ont pas encore été analysées.

Ces opérations comme la première, à l'île Santa Maria, montrent combien est difficile le suivi de croissance d'organismes laissés dans le milieu naturel. Une partie des difficultés tient à la mobilité des spécimens. Mais on peut soupçonner que la principale cause de ces échecs est due à la surexploitation de *C. concholepas* par son prédateur principal. En dépit de ces conditions adverses, nous espérons pouvoir récupérer dans le futur quelques exemplaires de l'une et l'autre localités du Pérou.

III.3. Marquage chimique et suivi de croissance d'organismes en laboratoire

La difficulté de retrouver des organismes marqués après qu'ils ont été replacés dans leur milieu naturel nous a conduit à poursuivre les recherches en laboratoire. Nous avons donc programmé une expérience d'élevage d'individus de *C. concholepas* dans les installations de la Faculté des Ressources Marines de l'Université d'Antofagasta, au Chili. Dans cette phase, le marquage des coquilles par limage a été remplacé par un marquage chimique, à l'aide de fluorochromes. L'inconvénient de réaliser l'expérience *in vitro* devrait être compensé par l'avantage de pouvoir disposer d'un suivi de température précis du milieu de vie artificiel des organismes, nécessaire pour les opérations de calibration des mesures géochimiques (cf. chap. IV).

III.3.1. Conditions expérimentales

III.3.1.1. Le dispositif utilisé

Un bac d'aquaculture a été installé avec un système de circulation d'eau de mer en continu et des distributeurs d'air (Fig. 3.12). Le système d'alimentation en eau de mer implique un réservoir de circulation fermée qui est susceptible de modifier la température de l'eau. Pour le suivi des conditions de croissance et la calibration des variations de composition géochimique des coquilles, nous avons disposé un enregistreur autonome de la température de la marque ONSET, modèle StowAway tidbit, précision $\pm 0,2$ °C (voir spécifications techniques sur le site http://www.onsetcomp.com/Products/Product_Pages/temperature_pages/stowaway_tidbit_logger.html). Pendant les trois premiers mois le capteur a été programmé pour enregistrer la température toutes les 10 minutes. Par la suite il a été programmé toutes les demi-heures.



Figure 3.12. Bac expérimental utilisé à l'Université d'Antofagasta

Le nettoyage, au moins une fois par semaine, et la maintenance du bac expérimental ainsi que l'alimentation des organismes et les opérations périodiques de mesure morphométriques et de marquage ont été assurées par trois étudiantes de l'Université d'Antofagasta (K. Barahona, C. Bahamondes et N. Navarro), que nous remercions ici.

III.3.1.2. Les spécimens étudiés

La première expérience de suivi de croissance en laboratoire a été réalisée entre les mois d'août et décembre 2002 (fin de l'hiver et printemps dans l'hémisphère sud). Les spécimens de *C. concholepas* utilisés initialement provenaient de la zone intertidale et subtidale supérieure des environs de Coloso, à environ 12 km au sud de la ville d'Antofagasta. La taille des 85 organismes prélevés variait entre 32 et 77,5 cm (longueur péristomale). Les organismes résistèrent bien aux conditions du bac expérimental, et seulement quelques pertes furent à déplorer.

Suite à un incident dans le système d'alimentation d'eau, l'ensemble des spécimens restants (après sacrifices successifs) sont morts le 27 décembre 2002. Une nouvelle expérience a été mise en place en mai 2003, et se poursuit actuellement (mai 2004). Les 101 individus de cette seconde expérience proviennent, non de Coloso, mais de la région de l'île Santa Maria (Fig. 3.4). La taille des organismes prélevés pour cette seconde phase variait entre 27,2 et 110 cm (Lp). Entre mai 2003 et janvier 2004, une vingtaine d'individus ont été sacrifiés, ou sont morts. En été austral (janvier-mars) 2004, suite à un réchauffement inopiné de l'eau du système d'alimentation, une trentaine d'organismes ont péri. Néanmoins, une cinquantaine d'individus de la deuxième phase ont survécu plus d'un an. L'étude des modalités de la croissance de leur coquille, après sacrifice des organismes, fera l'objet de travaux ultérieurs.

III.3.1.3. Alimentation des organismes

Pendant la première expérience (2002), les organismes ont été nourris *ad libitum* avec des mytilidés intertidaux de l'espèce *Perumytilus purpuratus*. Suite à une estimation des besoins des organismes, on a ensuite limité, dans le cadre de la seconde phase (2003-04), la quantité de nourriture qui leur était fournie chaque semaine : 7 kg de proies par centaine d'organismes. Cette quantité s'est avérée suffisante pour satisfaire les organismes.

Du point de vue des habitudes alimentaires de la population, il a été clairement établi que les organismes ne se nourrissaient (dans les conditions expérimentales) que durant la nuit. Durant la journée, les individus restent immobiles, généralement groupés, souvent à proximité du niveau d'eau, adhérant aux parois du bac (Fig. 3.13). Les traces observées

dans le fond du bac (Fig. 3.14) témoignent de l'activité essentiellement nocturne des spécimens, notamment pour assurer leur alimentation.



Figure 3.13. Regroupement habituel (durant la journée) des organismes dans le bac expérimental.



Figure 3.14. Traces de déplacements et de quête d'aliments (petites moules, ici en noir) durant la nuit précédant la prise de photo : dans le bac expérimental, les individus ne se nourrissent que la nuit.

La diète imposée aux organismes, constituée exclusivement de *Perumytilus purpuratus* a été choisie pour des raisons pratiques, du fait de la grande abondance de ces mytilidés sur

le littoral proche des laboratoires de l'Université d'Antofagasta. Dans le milieu naturel, *C. concholepas* se nourrit des deux espèces les plus communes de mytilidés (*Semimytilus algosus*, en plus de *Perumytilus purpuratus*), de cirripèdes (*Notochthamalus scabrosus*, *Jehlius cirratus*, *Balanus laevis*), de gastéropodes (*Calyptrea trochiformis*) et d'ascidies (*Pyura chilensis* et *P. praeputialis*, cette dernière espèce, strictement intertidale, étant endémique dans la baie d'Antofagasta) (Castilla *et al.*, 1979; Mendez et Cancino, 1992; Olivares *et al.*, 1994; Castilla, 1999; Stotz *et al.*, 2003). La couleur de la coquille de *C. concholepas* reflète généralement la composition de sa diète. Ainsi les coquilles de juvéniles qui se nourrissent exclusivement de petits cirripèdes sont-elles normalement de couleur gris-moucheté avec des tâches brunâtres.

Les organismes utilisés dans l'expérience qui, avant leur capture, s'étaient surtout nourris d'ascidies et de cirripèdes, et qui de ce fait avaient une teinte rosée à beige, ont subi des changements de coloration directement liés au régime alimentaire imposé. La fig. 3.15 montre clairement ce changement de couleur d'une coquille qui a crue durant huit mois (26 mai 2003 au 5 février 2004) en bac expérimental, en étant alimentée uniquement de *Perumytilus purpuratus*.



Figura 3.15. Coquille d'un organisme (S41) sacrifié après 8 mois de croissance en bac expérimental, période durant laquelle la diète était composée exclusivement de *Perumytilus purpuratus*. La partie de coquille formée durant cette période est de couleur violacée (comme le sont les mytilidés).

III.3.2. Les marquages aux fluorochromes

Dans la recherche d'une méthode de marquage qui affecte le moins possible la croissance des organismes, nous nous sommes naturellement intéressée à l'utilisation des fluorochromes. Plusieurs auteurs ont testé divers marqueurs chimiques sur différents groupes d'organismes. Ainsi, il a été montré que l'alizarine rouge est incorporée au squelette corallien lors du phénomène de biominéralisation (Guillaume, 1988). D'autres marqueurs, comme le chlorure de manganèse, la calcéine et la tétracycline, ont été utilisés sur des huîtres (Langlet, 2002), des poissons (otolithes) (Monaghan, 1993; Vigliola, 1997) et des mollusques (Day *et al.*, 1995; Kaehler et McQuaid, 1999; Moran, 2000). avec des résultats variables.

III.3.2.1. Sélection du fluorochrome et détermination des temps et concentrations

En fonction des travaux cités et de l'estimation du taux de croissance résultant de la première expérience de marquage de *C. concholepas* en milieu naturel, nous avons décidé de tester quatre fluorochromes, avec deux périodes d'exposition différentes. Dans ce but nous avons suivi la procédure suivante.

- Identification de chaque organisme avec un numéro (code) collé avec une résine époxy résistante à l'eau (résine sous-marine *Sherwin Williams*©) ;
- Séparation des organismes en quatre groupes différents, en incluant des coquilles des tailles variables dans chaque groupe ;
- Préparation des solutions de fluorochromes, à l'aide d'eau de mer, aux diverses concentrations choisies : Calcéine, Alizarine, Chlorure de Manganèse et Tétracycline, dans des seaux de 5 et 10 litres (Fig. 3.16) ;
- Immersion des organismes dans les seaux avec les différents traitements durant trois heures, ou six heures, selon les cas (Tableau 3.1) (Fig. 3.17);
- Rinçage à l'eau de mer, et remise dans le bac expérimental.



Figure 3.16. Seaux avec deux des quatre marqueurs testés : (de gauche à droite) calcéine (50 ppm), alizarine concentrée (50 ppm) et alizarine diluée (10 ppm).

Solutions:	Concentration (ppm)	Temps d'exposition (heures)
Chlorure Manganèse	200	3 et 6
Calcéine	100	3 et 6
	50	3 et 6
Alizarine rouge	50	3 et 6
	10	3 et 6
Tétracycline	100	3 et 6

Tableau 3.1. Concentrations et temps d'exposition des quatre marqueurs utilisés pour la phase de test des marquages de coquilles.



Figure 3.17. Expérience de marquage de *C. concholepas* avec une solution de calcéine (50 ppm). Ce fluorochrome, bien accepté par les organismes, s'est révélé le plus approprié pour les observations microscopiques en fluorescence des coquilles.

Après sacrifice de quelques individus ayant subi les divers traitements, préparation de lames minces des coquilles, et examen en microscopie fluorescente (voir plus loin), il a pu être établi que la tétracycline, l'alizarine et le chlorure de manganèse, aux concentrations et temps d'exposition testés, ne produisent pas des marques visibles dans les coquilles de *C. concholepas*. En revanche, les traitements avec la calcéine, aux deux concentrations testées et pour les deux périodes considérées, permirent d'observer des marques fluorescentes suffisamment bien définies (Fig. 3.18).

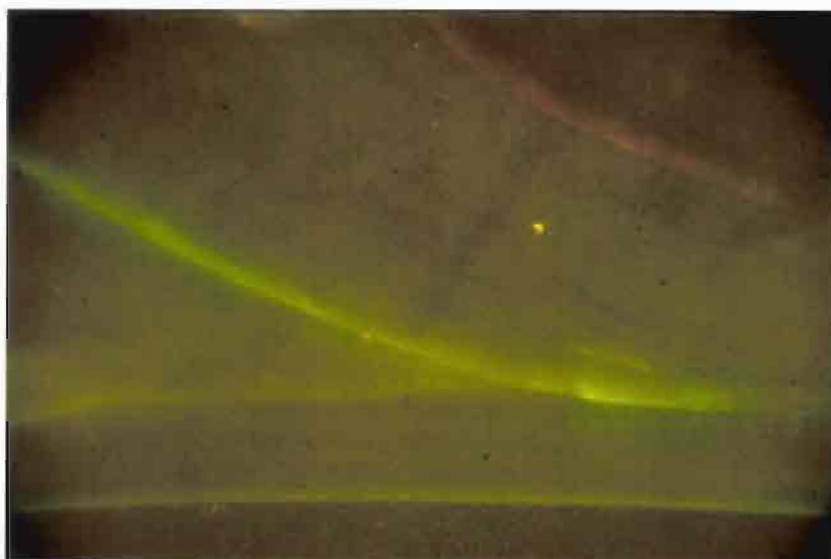


Figure 3.18. Marque fluorescente dans une coquille immergée durant 3 heures dans une solution de calcéine (50 ppm), lors de la phase de test des opérations de marquage. La ligne verte suit une ligne de croissance et longe l'interface aragonite (en bas)-calcite.

Compte tenu des observations faites au microscope fluorescent sur les divers échantillons testés, et avec un souci de réduire au maximum le stress des organismes soumis au fluorochrome, nous avons décidé d'utiliser par la suite des solutions de calcéine à 50 ppm durant des laps de 4 heures seulement.

III.3.2.2. Observation des marques fluorescentes dans les coquilles marquées.

Après sacrifice des organismes qui avaient été plongés dans les diverses solutions-test, les coquilles ont été coupées, et des lames minces ont été préparées, selon les modalités indiquées § II.1. Les lames ont été observées au microscope Olympus (BX60) équipé avec une lampe de mercure comme source de lumière et avec des filtres qui contiennent une combinaison de miroirs qui envoient de la lumière fluorescence vers l'objet d'étude. Les caractéristiques des filtres utilisés sont indiquées dans le Tableau 3.2 (voir détails supplémentaires sur le site d'Olympus <http://cf.olympus-europa.com/micro/products/optics/>).

Les coquilles marquées à la calcéine et à la tétracycline ont été observées en lumière bleue et celles marquées à l'alizarine rouge, à la lumière ultraviolette et en lumière naturelle. Les coquilles marquées avec le chlorure de manganèse ont été observées en cathodoluminescence (Université Paris XI, Orsay).

Excitation Li	Name	Description	Transmission Range (nm) of Excitation Filter	Wavelength of Beamsplitter	sion Range (nm) of Barrier Filter
UV- Transmission	U-WU	Wide-band	330 - 385	400	>420
Blue Excitation	U-WIB	Wide-band with interference barrier filter	460 - 490	505	510IF

Tableau 3.2. Caractéristiques techniques des filtres du microscope à fluorescence.

III.3.3. Les suivis de croissance après marquage

Une fois établies les conditions expérimentales de suivi de croissance de coquilles de *C. concholepas* en milieu artificiel, et après avoir déterminé les meilleures conditions de marquage par fluorochrome pour l'espèce considérée, nous avons réalisé des expériences de suivi de croissance avec marquage périodique des individus. Ces expériences, relativement lourdes, ont bénéficié de l'appui du projet CONCHAS et, sur place, de la participation de personnels et d'étudiants de l'Université d'Antofagasta.

Fin août 2002 a été initiée la première expérience de marquage de coquilles de *C. concholepas* dans les locaux de l'Université d'Antofagasta. Durant cette première phase ont été effectués les tests avec les divers fluorochromes mentionnés ci-dessus. Grâce à un nouveau marquage effectué le 24 septembre 2002, et après observation en microscopie fluorescente, il a été possible d'estimer la vitesse de croissance de quelques coquilles dans les conditions artificielles. Ainsi, à partir de début novembre, disposant de ces informations, nous avons programmé une série d'opérations de marquages hebdomadaires. Le but recherché était d'obtenir un suivi de croissance durant près d'un mois, sur une ou plusieurs coquilles, avec un contrôle temporel hebdomadaire.

Les opérations de marquages, accompagnées de mesure des individus, ont été effectuées les 5, 8, 15, 22 et 29 novembre 2002.

Les organismes sacrifiés dont les coquilles ont fait l'objet d'études sclérochronologiques détaillées sont les spécimens M27, M35, M62 et M67. Les accroissements observés dans ces 4 coquilles entre le 27 août (début de l'expérience et premier marquage) et le 30 novembre 2002 (date de leur sacrifice) sont illustrés Fig. 3.19.

Le résultat du marquage périodique à la calcéine (50 ppm), durant le mois de novembre 2002, tel qu'il apparaît au microscope à fluorescence, est illustré Fig. 3.20

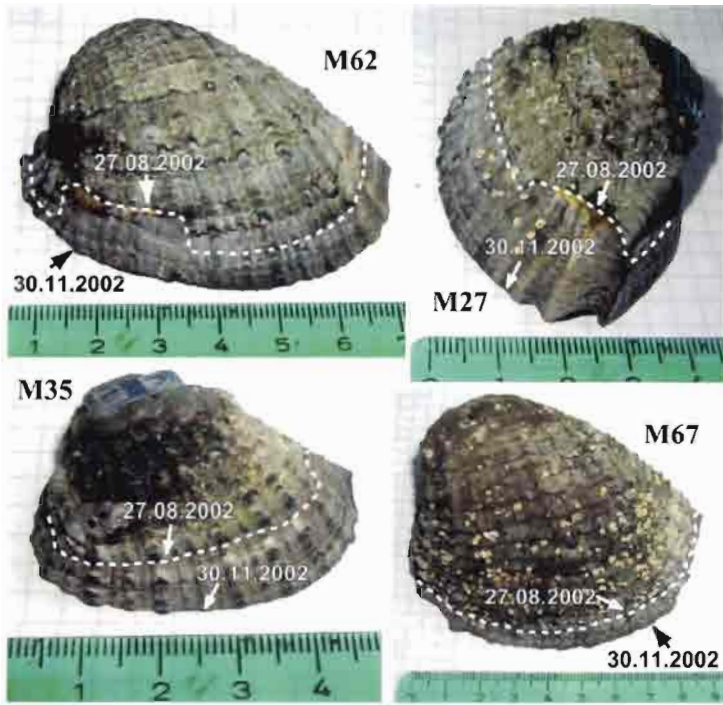


Figure 3.19. Croissance observée entre fin août et fin novembre 2002, dans quatre coquilles (M27, M35, M62 et M67), lors des premières opérations de marquage et de suivi de croissance dans les installations de l'Université d'Antofagasta.



Figure 3.20. Lame mince de la coquille M62 observée au microscope fluorescent, montrant les traces des 5 opérations de marquage effectuées entre le 5 et le 29 novembre 2002.

Malgré une certaine diffusion de la fluorescence dans la moitié la plus interne de la couche calcitique, on constate que les lignes fluorescentes formées durant (ou immédiatement après ?) les bains dans la calcéine sont relativement fines. On note aussi, à ce sujet, que le marquage de la matinée du 29 novembre se manifeste par une ligne fluorescente qui ne se confond pas avec le bord de la coquille, alors que l'organisme a été sacrifié à peine 24 heures après (le 30 novembre).

Après l'obtention des premiers résultats encourageants en microscopie à fluorescence, furent préparées des sections à surfaces polies et attaquées pour poursuivre l'étude au MEB.

III.4. Etablissement des bases d'une sclérochronologie de *C. concholepas*

III.4.1. Variation des taux de croissance en novembre 2002 de la coquille M62

Grâce à un calage géométrique entre les lames minces observées en microscopie à fluorescence et les sections polies examinées au MEB, il a été possible de procéder à des estimations d'épaisseur d'incrément hebdomadaires entre chaque marquage, dans la coquille M62. La Fig. 3. 21 représente la face opposée (en miroir) de la même section de coquille qui fut utilisée pour la confection de la lame mince de la Fig. 3.20. On observe que les trois incréments hebdomadaires, entre le 8 et le 29 novembre sont de largeur à peu près constante. Cela suggère une certaine régularité dans le rythme de croissance de l'individu. Néanmoins, il apparaît que l'écart entre les lignes de marquage des 5 et 8 novembre sont proportionnellement plus rapprochées entre elles, suggérant que la vitesse de croissance de l'organisme fut moindre durant ces trois jours que durant les 3 semaines qui ont suivi. L'explication du ralentissement apparent de croissance entre le 5 et le 8 novembre implique probablement un effet stressant du marquage du 5 novembre (après une longue période sans immersion dans un bain de calcéine), soit via le processus de biominéralisation, soit via une restriction de l'alimentation de l'organisme.

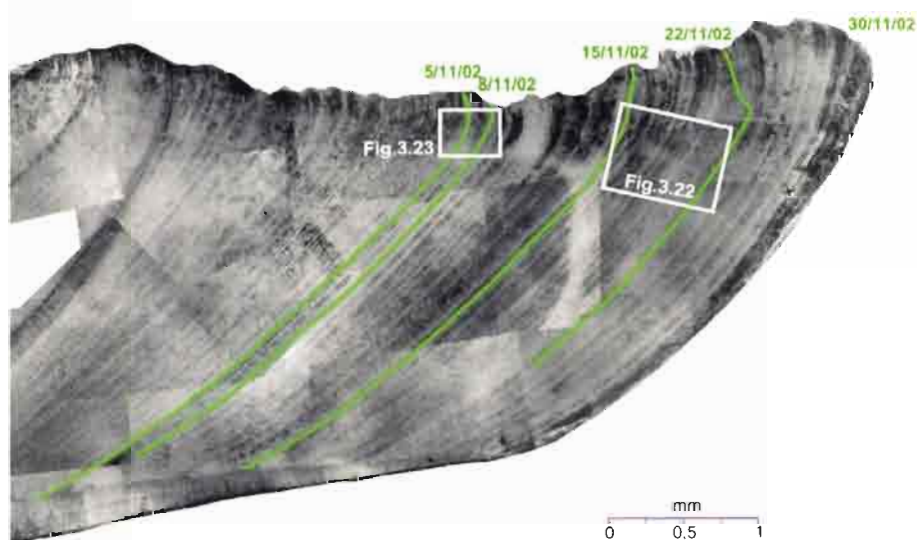


Figure 3.21. Montage de photographies MEB prises sur l'autre face de la section correspondant à la fig. 3.20. Les marques fluorescentes ont été redessinées. Voir le texte pour l'explication des vitesses de croissance durant la deuxième (en rouge) et la quatrième semaine (en bleu) de novembre 2002.

Pour illustrer les mesures des incréments de croissance, examinons deux secteurs, indiqués dans la Fig. 3.21, et représentant les périodes du 15 au 22 novembre (Fig. 3.22) et du 5 au 8 novembre (Fig. 3.23).

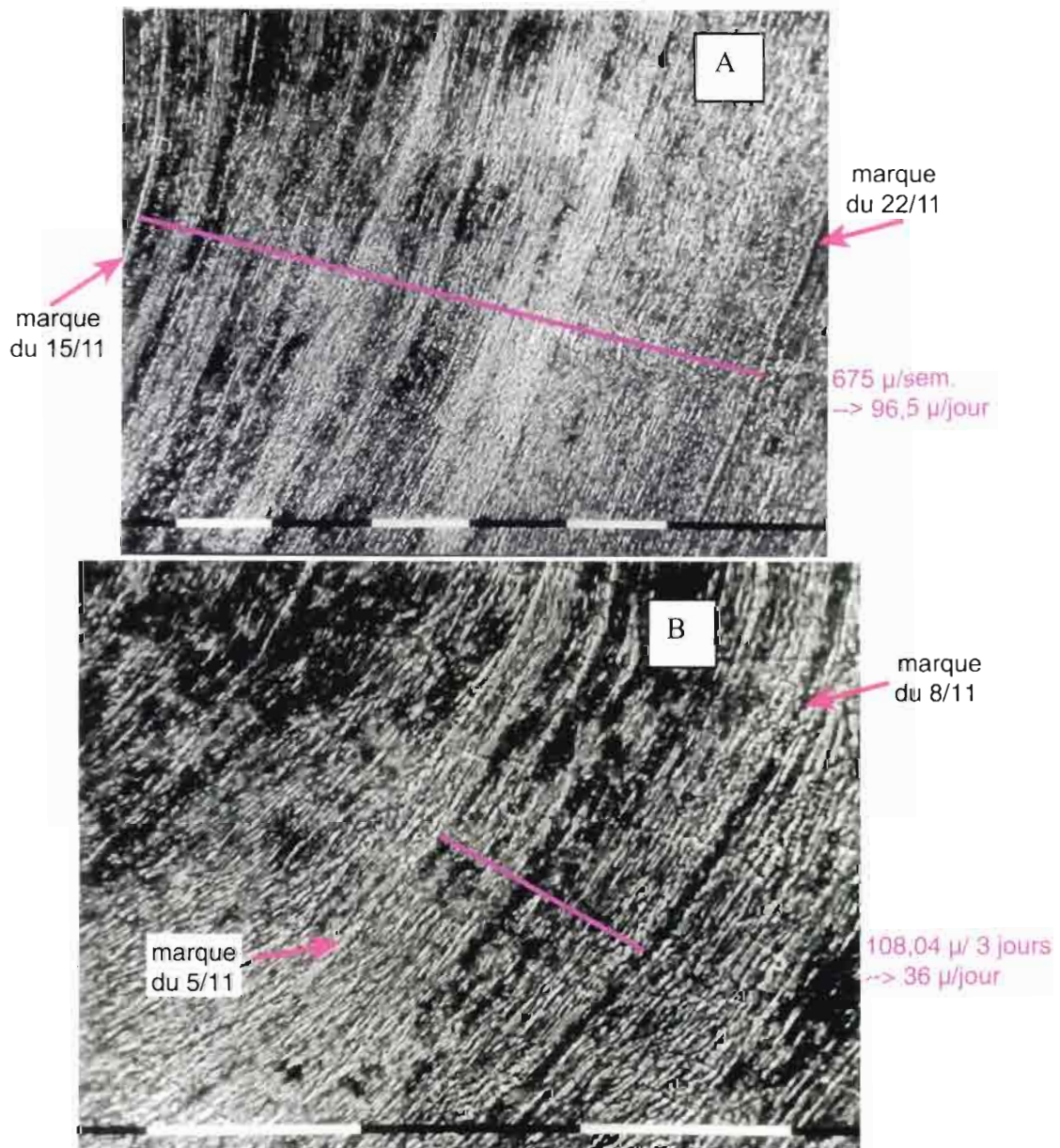


Figure 3.22. Photographie MEB montrant les incréments formés : A, entre le 15 et le 22 novembre; B, entre le 5 et le 8 novembre, dans la coquille M62. Une division de l'échelle mesure 100 µm.

Entre le 15 et le 22 novembre, l'épaisseur de coquille accrétée mesure environ 675 µm, ce qui correspond à une croissance quotidienne moyenne d'un peu moins de 100 µm. La distance mesurée sur la photo MEB entre les lignes des 5 et 8 novembre, ne s'élève qu'à une centaine de µm, ce qui suggère un taux de croissance trois fois moindre (36 µm par jour) que lors des semaines suivantes. Les raisons possibles de cette différence ont été évoquées ci-dessus. On considèrera donc que la valeur de 100 µm par jour est une valeur plus proche du taux de croissance moyen de cette coquille, à l'âge qui est le sien (environ 2 ans). On peut aussi noter que dans le laps qui s'est écoulé entre le 5 et le 8 novembre, on a compté une quarantaine d'« unités » de croissance (36 à 42, selon les transects). En

première approximation cela correspondrait à une douzaine d'incréments « unitaires » par jour, soit un toutes les deux heures en moyenne.

III.4.2. Comparaison des taux de croissance de quatre coquilles en novembre 2002

Les mesures effectuées sur photos MEB, entre les lignes de marquage des 8, 15, 22 et 29 novembre, dans les quatre coquilles M35, M27, M62 et M67, sont rapportées dans le Tableau 3.3. Une comparaison des croissances enregistrées dans chaque coquille, pendant chacune des trois semaines en question appelle plusieurs remarques (Fig. 3.23).

Echant.	Date du marquage	Croissance cumulative depuis le 08/11/02 (mm)	Epaisseur de l'incrément hebdomadaire (mm)	Taux de croissance quotidienne moyenne (μm)
M35	08/11/2002	0		
	15/11/2002	0,23	0,23	32,9
	22/11/2002	0,67	0,44	62,9
	29/11/2002	1,41	0,74	105,0
M27	08/11/2002	0		
	15/11/2002	0,61	0,61	87,1
	22/11/2002	1,11	0,50	71,4
	29/11/2002	1,68	0,57	81,3
M62	08/11/2002	0		
	15/11/2002	0,63	0,63	90,0
	22/11/2002	1,30	0,67	96,5
	29/11/2002	2,00	0,70	100,0
M67	08/11/2002	0		
	15/11/2002	0,20	0,20	28,6
	22/11/2002	0,61	0,41	58,6
	29/11/2002	1,09	0,48	68,7

Tableau 3.3. Mesures des incréments de quatre coquilles marquées en novembre 2002, et calcul de incréments hebdomadaires et quotidiens (moyennes durant chacune des semaines).

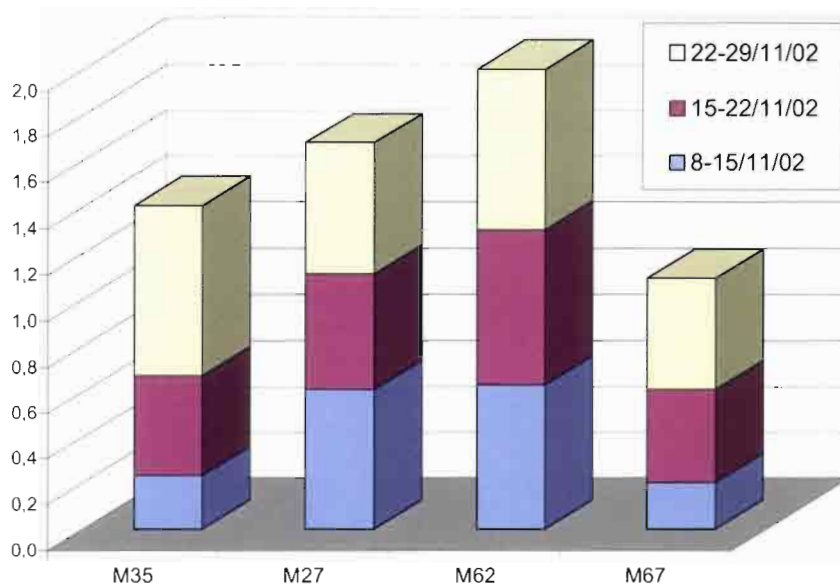


Figure 3.23. Représentation graphique des accroissements hebdomadaires durant les 3 dernières semaines de novembre 2002, pour les quatre spécimens M35, M27, M62 et M67 (cf. Tableau 3.3). Ordonnées en microns.

Tout d'abord on observe une certaine cohérence des accroissements hebdomadaires entre les individus, bien que les spécimens M35 et M67 aient eu une croissance moindre durant la première semaine de marquage (8-15 novembre). La croissance moindre enregistrée, durant les trois semaines, par la coquille M67 s'explique par le fait que ce soit la plus grande, et la plus âgée des quatre. Durant les trois semaines considérées, la variation des incréments observés varie du simple au double, entre 1 mm et 2mm, pour les coquilles M67 et M62, respectivement. Cette différence de taux de croissance s'est produite, rappelons-le, entre individus qui ont partagé le même environnement (artificiel) et les mêmes ressources alimentaires, durant la période considérée. Les données de température de l'eau du bac, enregistrées par senseur Tidbit avec une fréquence de 10 minutes, ne semblent pas constituer une source de variabilité particulière de l'environnement (Figure 3.24). Une comparaison entre températures du bac expérimental et SST du milieu naturel (zone exposée au nord de l'Ile Santa Maria), mesurée avec un autre senseur Tidbit, montre que les écarts thermiques quotidiens sont généralement moindres dans le bac que sur la côte, et surtout que l'eau du bac est plus chaude de 3 à 4°C par rapport au milieu naturel. Il ne semble pas, pourtant, que cet écart ou que les pics thermiques aient eu un effet sur les vitesses de croissance des organismes.

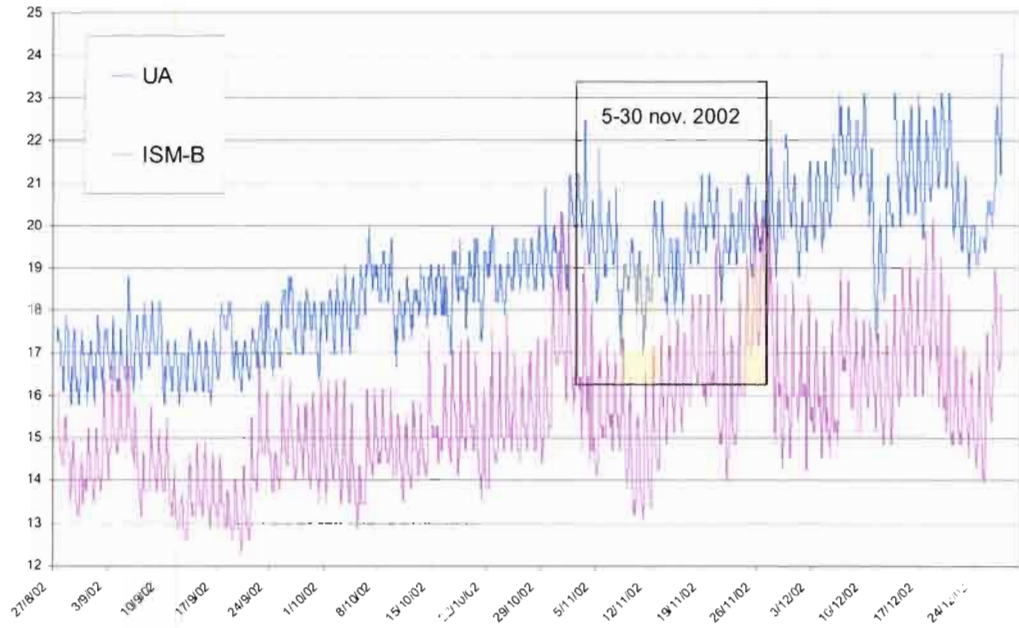


Figure 3.24. Variations de température de l'eau du bac expérimental (UA), situé à l'Université d'Antofagasta, comparées à celles mesurées dans le milieu naturel au nord de l'île Santa Maria (ISM-B). Durant le mois de novembre 2002, n'a pas été enregistrée d'anomalie thermique susceptible d'influencer la croissance des coquilles.

Dans le cas des forts taux de croissance, lorsque les coquilles présentent de increments quotidiens de l'ordre de 90 à 100 μm , on peut penser qu'elles forment une quarantaine d'« unités » de biominéralisation par jour, soit une toutes les demi-heures en moyenne. Lorsque les taux sont deux fois moindres (de l'ordre de 50 μm par jour), la fréquence des cycles biologiques unitaires serait plus proche de 1 heure. Dans le cas de l'accroissement mesuré entre les 5 et 8 novembre, par la coquille M62, dans une situation attribuée au stress des premiers marquages, rappelons (§ précédent) que les cycles unitaires semblaient être, en moyenne, d'environ 1 toutes les 2 heures.

III.4.3. La croissance quotidienne des coquilles marquées

Les observations effectuées sur les coquilles des 4 spécimens marqués en novembre 2002 ont permis de commencer à mieux appréhender les modalités et les caractéristiques des increments de croissance aux échelles hebdomadaires puis, par interpolation, à l'échelle d'une journée de 24 heures (= nycthémère). Les variations de taux de croissance, par jour, ou autre unité de temps, sont probablement dues à une série de facteurs qui tiennent à des déterminismes biologiques et métaboliques, à des conditions du milieu, aux conditions d'alimentation, ou à des stress d'origine variée.

Selon les premières observations effectuées, les différences de taux de croissance se manifestent par des accélérations ou des ralentissements dans les rythmes de production des cycles de biominéralisation. En d'autres termes, il semblerait que les « unités » primaires de biominéralisation soient d'une épaisseur à peu près constante, ce qui différencieraient les vitesses de croissance étant la fréquence de formation de ces incréments de base. Cela reste néanmoins à documenter plus solidement.

Comme cela a été souligné plus haut, dans le chapitre II, et au sujet de la thèse de Adlerstein (§ III. 1. 2), les moyens d'observation microscopique, ou le MEB, ne permettent généralement pas d'identifier les journées de croissance. Il n'y a pas de structure, observable en microscopie en lumière transmise, ou en microscopie électronique, qui puisse être identifiée comme une limite entre deux journées (soit période diurne, soit nycthémère). Cela pourrait être dû au fait que les coquilles croissent en permanence, jour et nuit, et que le processus de biominéralisation n'est pas particulièrement dépendant de la lumière.

Lors de l'examen de sections polies en lumière fluorescente effectué pour identifier les marques de calcéine (Fig. 3.19), nous avons cru pouvoir distinguer des bandes plus sombres séparant des zones d'incrément de tonalité moins soutenue (Fig. 3.25).



Figure 3.25. Détail de la Fig. 3.19, montrant des alternances de zones claires et sombres, qui pourraient correspondre aux incréments quotidiens.

Ces bandes étaient au nombre de 6 ou 7 entre chaque ligne hebdomadaire de marquage. Il est donc naturel d'avoir envisagé que les couples bande claire/bande sombre représentent des cycles quotidiens.

Cette observation a été faite au microscope en lumière réfléchie, ce qui n'est pas une approche traditionnelle dans l'étude des lames minces et sections polies. Nous avons donc cherché à mieux utiliser ce mode d'observation, en combinant de diverses façons lumière incidente oblique et lumière bleue (filtre de ~460 nm), sur plusieurs sections polies de coquilles élevées dans le bac d'aquaculture. Les coquilles utilisées font partie du même lot d'organismes que les spécimens M27, M35, M62 et M67, marqués depuis la fin août 2002, puis avec une fréquence hebdomadaire en novembre, et, pour quelques autres spécimens, également en décembre 2002.

Après une série d'essais effectués à Orsay, nous avons obtenu une série de documents qui mettent en évidence, de manière qui nous paraît particulièrement convaincante, ces alternances de couches sombres et claires, dans diverses coquilles (Fig. 3. 26, 3.27 et 3. 28). Les spécimens M77 (Fig. 3.26) et M60 (Fig. 3.27), qui ont été marqués les 6 et 13 décembre, c'est à dire en suivant la fréquence hebdomadaire des marquages de novembre, sont morts lors d'un incident dans le circuit de distribution d'eau.

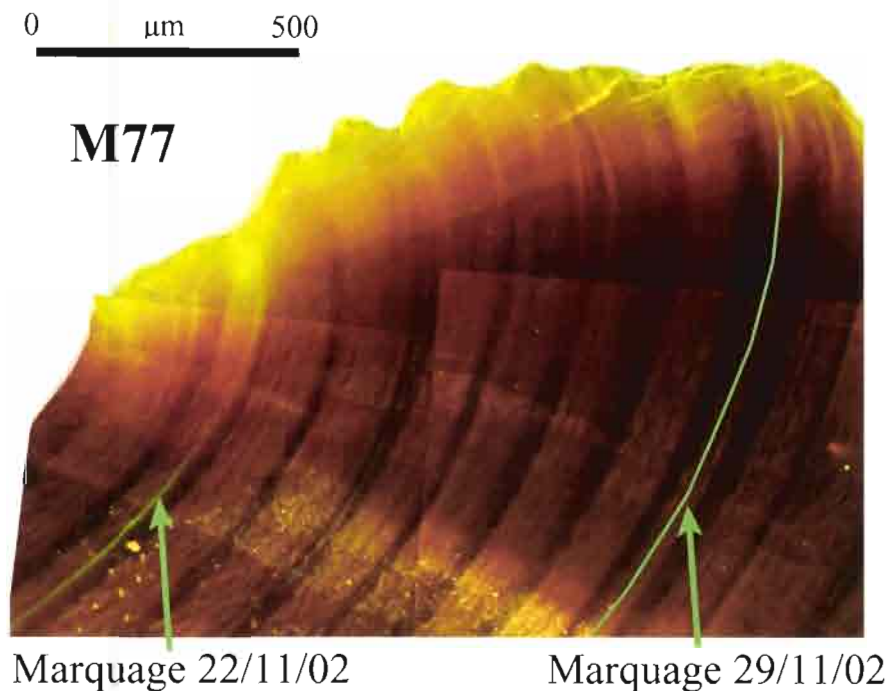


Figure 3.26. Rythmes quotidiens dans la coquille M77 entre les marquages du 22 et du 29 novembre 2002 (souligné par un trait vert additionnels). Section polie observée en lumière incidente et lumière bleue (fluorescente).

La coquille M77 (Fig. 3.26) montre clairement une alternance d'incréments de couleur sombre, et d'épaisseur réduite, et d'incréments de couleur plus claire, souvent subdivisés par de fins liserés sombres. Ces dernières subdivisions correspondent aux incréments visibles au MEB et en microscopie optique dont il a été largement question dans le chapitre précédent (Chap. II) et plus haut (§ III.1.3).

Dans la Fig. 3.27, la coquille M60 présente, à proximité du bord extérieur, une alternance semblable à celle du spécimen M77, mais dans laquelle les couches claires et sombres ont des largeurs similaires.



Figure 3.27. Rythmes quotidiens dans la coquille M60 entre les marquages du 22 novembre et du 13 décembre 2002. Section polie observée en lumière incidente et lumière bleue (fluorescente).

Grâce aux lignes de temps matérialisées par les marques à la calcéine, un calage chronologique précis peut être proposé. Ce calage chronologique est d'ailleurs si précis qu'il permet d'observer que les lignes fluorescentes formées durant les 4 heures de traitement au fluorochrome sont toujours incluses dans les couches claires. Comme tous les marquages ont été faits de jour (généralement le matin), il est logique d'en déduire que les couches claires sont diurnes, et que les couches sombres sont formées de nuit.

Dans la Fig. 3.28, ont été identifiés chaque nyctémère entre le 8 et le 22 novembre 2002. On peut noter la régularité des incréments quotidiens durant ces 15 jours. On remarquera également que, dans cette coquille M6, les incréments quotidiens ont une largeur qui dépasse les 100µm évoqués plus haut pour la coquille M62 (Fig. 3.22, Tableau 3.3).

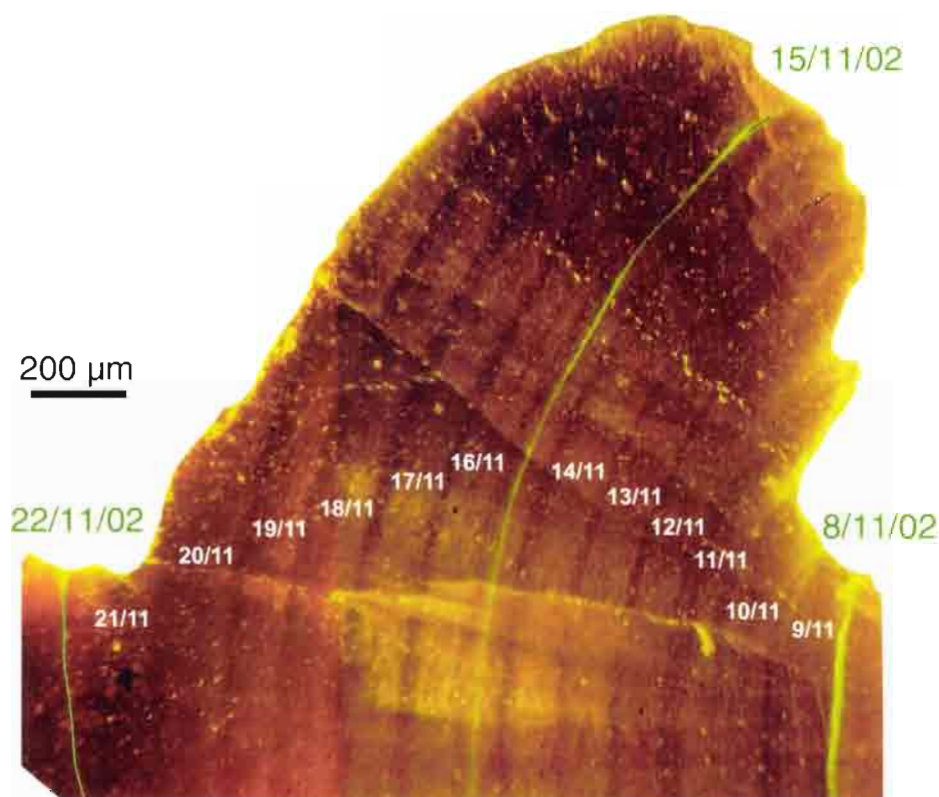


Figure 3.28. Mise en évidence des rythmes quotidiens dans la coquille M6, entre les marquages du 8 et du 22 novembre 2002. Section polie observée en lumière incidente et lumière bleue (fluorescente).

III.4.4. Autres résultats de l'expérience de marquages périodiques de 2002

Les expériences de marquage hebdomadaire ont fourni un cadre chronologique adéquat pour la mise en évidence et l'étude des accroissements quotidiens. Elles servent également pour préciser certains aspects de la croissance des coquilles à d'autres échelles temporelles.

La coupe de la coquille M60 (Fig. 3.27) montre également qu'avant la mort du spécimen, le 27 décembre (suite à l'incident dans le système d'alimentation), la croissance de l'organisme a été fortement réduite. Durant ses deux dernières semaines de vie, la coquille n'a pas plus cru que durant l'équivalent de deux jours quelconques des semaines précédentes. Cette forte diminution de la vitesse de croissance à partir du 13 décembre nous semble devoir être liée pour partie, au moins, à un premier incident dans les conditions expérimentales. La Fig. 3.24 montre que, vers les 12 et 13 décembre, la température a brusquement chuté de 4°C, avant de remonter à des valeurs normales pour la saison, dans les bacs expérimentaux. Cette baisse soudaine de température était probablement artificielle, puisqu'elle n'est pas enregistrée dans la courbe thermique de Santa Maria (Fig. 3.24) aux mêmes dates.

Par ailleurs on observe que la coquille M6 a formé une protubérance de plus d'un mm de large dans un laps de temps de, à peine, deux semaines. Ce type de structure ornementale se forme beaucoup plus rapidement que ne le supposait Adlerstein (§ III.1.2.), et, de surcroît, ne semble pas être lié (comme le préconisait la même auteur) à des conditions hivernales (« winter-checks »).

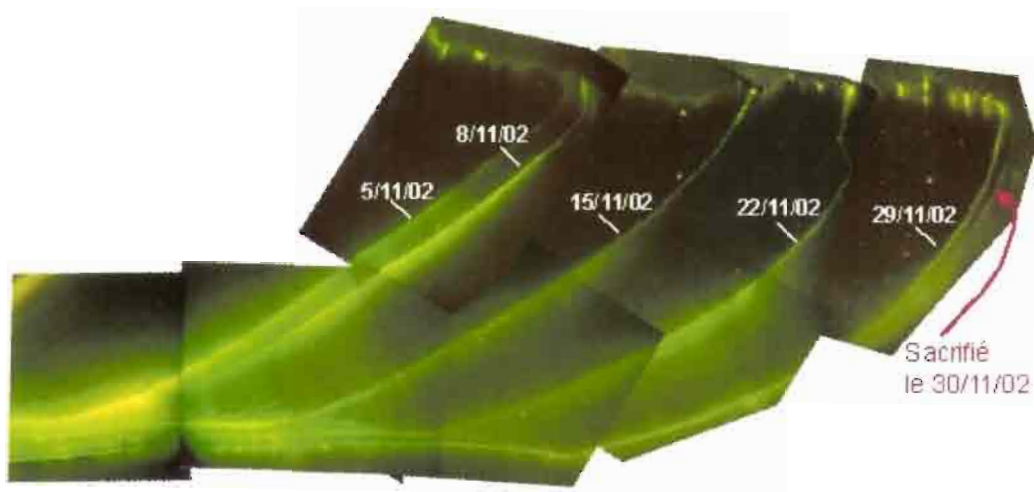
III.5 Conclusion

Les opérations de marquage de coquilles qui ont été menées, avec des résultats décevants dans le milieu naturel et avec beaucoup plus de succès en laboratoire, ont été déterminantes pour interpréter les modalités de croissance de la coquille de *C. concholepas*. Elles ont évidemment permis de fixer des lignes temporelles dans les coupes de coquille, rendant possible la reconnaissance des rythmes de biominéralisation et l'identification des cycles quotidiens de croissance. D'une façon indirecte, grâce à l'utilisation de lumière réfléchie bleue, requise pour la lecture des marques de fluorochromes, elles nous ont mis sur la piste d'une technique d'observation qui a débouché sur la mise en évidence des zones accrétées de nuit et de jour.

Ces recherches nous ont donc amené à poser les bases d'une interprétation sclérochronologique de *C. concholepas*. Le développement de ces connaissances était indispensable pour la poursuite des travaux sur les relations entre paramètres environnementaux et variations géochimiques de la coquille de ce gastropode. En particulier, les études de calibration entre paramètres de l'environnement et variations de composition chimique (élémentaire ou isotopique) devraient tirer grand profit de ces nouvelles connaissances. La Fig. 3.29, qui met en parallèle les informations chronologiques précises et les enregistrements thermiques (périodicité de 10 minutes) du milieu illustre le type d'information maintenant disponible pour effectuer les opérations de calibration.

Dans le chapitre suivant, consacré aux études géochimiques, nous utiliserons donc cette possibilité de connaître, avec une précision de l'ordre de quelques heures, le moment exact de la formation des incréments dont on essaiera d'analyser les variations de composition chimique. La température du milieu étant l'un des principaux paramètres que l'on souhaiterait reconstituer à partir de l'étude de coquilles fossiles, l'accent sera mis sur les variations de température *versus* composition chimique élémentaire ou isotopique. Du point de vue des études de calibration, si il est possible de faire des mesures couvrant une journée de croissance, il apparaît clairement dans la Fig. 3.29, qu'il n'est pas indifférent de

choisir, au sein du mois de novembre 2002, le 27 (température variant de 19 à 22,5 °C) ou le 11 (variation de température mesurée de 17 à 19 °C).



**Température (°C) enregistrée toutes les 10 minutes
dans le bac de l'Université d'Antofagasta**

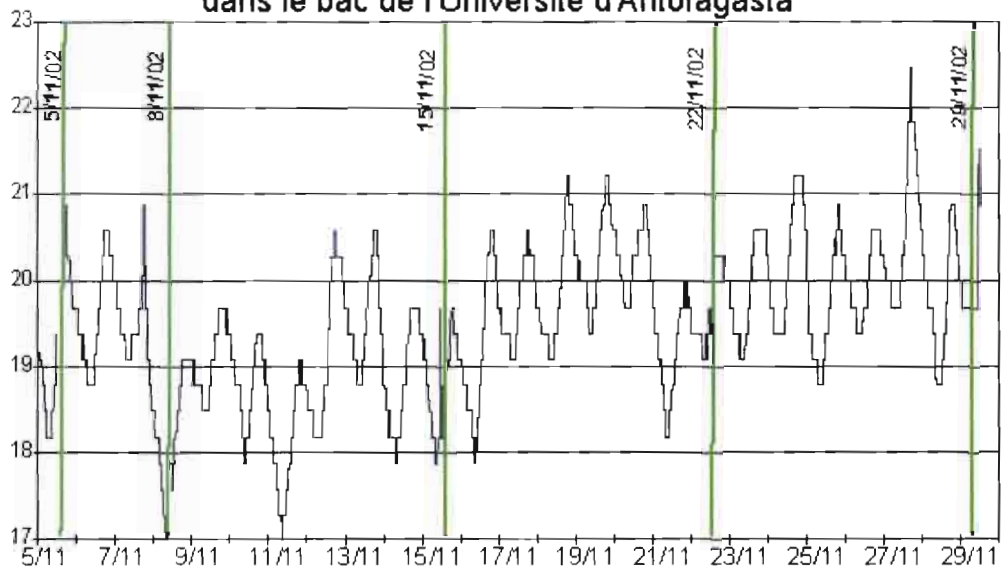


Figure 3.29. Correspondance entre les variations thermiques du milieu de vie (artificiel) et une cartographie du fragment de la coquille M62 qui a été formé durant le mois de novembre 2002.

Les informations recueillies grâce aux opérations de marquage par fluorochrome concernent essentiellement, jusqu'à présent, des coquilles élevées en conditions artificielles. Il sera nécessaire de valider les vitesses de croissance et les largeurs d'incréments, et leur variabilité respective, sur des mesures faites dans des organismes vivant dans le milieu naturel. On a vu que cela n'était pas chose facile, mais des expériences sont en cours et nous continuons d'espérer que nous pourrions prochainement

exploiter ces résultats. Pour l'instant, nous considérons que les expériences de suivi de croissance en bac d'aquaculture sont susceptibles d'avoir fourni des estimations de vitesse de croissance qui sont supérieures à celles observables *in situ*. En effet, les organismes ont eu des dépenses d'énergie bien inférieures à celles qu'ils ont dans le milieu naturel (disponibilité d'aliment *ad libitum*, faibles déplacements). Par ailleurs, il doit être noté que les conditions thermiques du système utilisé en laboratoire, étaient supérieures, d'environ 3°C, à celles du milieu de vie habituel (Fig. 3.24) : cet écart de température pourrait avoir eu une incidence, positive ou négative, sur la croissance. Il n'est pas impossible que la luminosité dans les bacs, supérieure à celle que les organismes connaissent lorsqu'ils sont dans le domaine subtidal, soit également intervenue dans les conditions de croissance.

CHAPITRE IV

ÉTUDES GÉOCHIMIQUES PRÉLIMINAIRES DE COQUILLES DE *C. CONCHOLEPAS*

CHAPITRE IV: ETUDES GEOCHIMIQUES PRELIMINAIRES DE COQUILLES

DE C. CONCHOLEPAS

Les connaissances acquises sur la microstructure et les modalités de croissance des coquilles de *C. concholepas* commencent à être suffisantes pour procéder à des mesures de calibration des proxies géochimiques potentiels. Dans ce chapitre seront présentés les premiers résultats obtenus dans ce domaine.

Différents types d'analyses géochimiques ont été effectués. On s'est intéressé dans un premier temps à des mesures de composition géochimique moyenne, de l'aragonite et de la calcite. Dans un deuxième temps nous avons utilisé des instruments classiques d'analyse chimique, tels que les spectromètres de masse pour faire des analyses "ponctuelles". La taille des échantillons requis pour ces équipements classiques s'est révélée encore trop grande pour effectuer des calibrations fondées sur des mesures instrumentales de température. Nous avons donc fait appel à des appareils plus sophistiqués permettant une plus grande résolution spatiale, et donc temporelle. Cette approche concernant les techniques d'ICP-MS à ablation laser, la microsonde électronique et la microsonde ionique du CRPG (Nancy) a posé de nombreux problèmes pour l'établissement des protocoles opératoires et l'adaptation des méthodes analytiques. Ces difficultés expliquent que l'ensemble du programme analytique envisagé initialement n'a pu être mené à bien.

IV.1. Mesures géochimiques globales des composants de la coquille

Les premières mesures géochimiques effectuées sur les coquilles de mollusques étaient destinées à obtenir des valeurs moyennes de teneurs des divers éléments qui puissent servir de référence pour les analyses ultérieures. Dans cette phase tout à fait préliminaire, nous avons également le souci de vérifier si les effets de la diagenèse étaient décelables au niveau de la composition géochimique des coquilles. Cette préoccupation nous a conduit à faire des analyses sur des coquilles d'âges différents. Les coquilles actuelles (ISM1-7) proviennent de l'île Santa Maria (Fig. 3.4), certaines coquilles fossiles (AJL1) viennent d'un site archéologique à Juan Lopez, dans la même région d'Antofagasta (daté de 5000 à 3000 ans BP, Llagostera, 1979), et les autres coquilles (FM1), datant du dernier interglaciaire (~120 ka) ont été récoltées dans les dépôts d'une terrasse marine de la localité de Michilla (100 km au nord de Antofagasta).

Les mesures géochimiques globales ont concerné les trois principaux constituants de la coquille : la composante organique des biominéraux, l'aragonite et la calcite. L'étude de la

composante organique a mis en œuvre des techniques biogéochimiques particulières développées dans le laboratoire de biominéralisation de l'Université de Paris-sud, Orsay (collaboration de P. Gautret).

IV.1.1. Analyse de la partie organique des coquilles

IV.1.1.1. Importance de la fraction organique des biominéraux

La présence d'une composante organique associée aux biominéraux est connue depuis longtemps (Cuif et Dauphin, 2003). Le processus de biominéralisation est, en fait, contrôlé par des phases organiques dites "minéralisantes". Aujourd'hui, il est communément admis que la phase organique est localisée d'une part autour des unités microstructurales, et d'autre part à l'intérieur même de la partie minéralisée. Ainsi, la caractérisation biochimique des phases organiques associés à chaque type de composant microstructural est essentiel pour la compréhension du processus de biominéralisation.

Ces complexes organo-minéraux sont souvent peu stables, de sorte qu'ils sont soumis aux effets de la diagenèse précoce, c'est-à-dire celle qui peut agir du vivant même de l'organisme (Cuif et Dauphin, 2003). Avant la mort de l'organisme, les parties de la coquille formées dans ses premières années subissent des modifications diagénétiques qui sont susceptibles d'être mises en évidence. La dégradation des phases organiques des parties les plus anciennes d'une coquille peut être étudiée par chromatographie de gel-filtration des phases organiques solubles extraites des différentes parties d'une même coquille.

IV.1.1.2. Dégradation précoce de la matière organique

Les échantillons sélectionnés pour l'analyse de la matière organique associée à la phase minérale dans des coquilles de *C. concholepas* correspondent aux fragments soulignés en rose dans la Fig. 2.1.

Une fois la coquille coupée, chaque morceau a été nettoyé par polissage avec une micro-fraise mécanique (type Dremel®) dans le but d'éliminer tous les organismes incrustants qui normalement se fixent sur la coquille de *C. concholepas*. On a séparé également la couche aragonitique interne de la couche calcitique externe. Les morceaux de calcite et d'aragonite ont été mis séparément dans de l'eau de javel pendant une heure et demie, puis rincés avec de l'eau MQ avant de les sécher pendant la nuit à l'étuve. Avec chaque morceau de calcite, de la poudre a été préparée avec l'aide d'un broyeur électrique. Un seul échantillon de poudre d'aragonite, beaucoup plus difficilement extraite que la

calcite, a été préparé avec un mélange de différents petits morceaux des différentes coquilles.

La méthodologie suivie pour l'extraction et la séparation de la matière organique, à partir de 3g de carbonate de calcium (calcite et aragonite), est indiquée schématiquement dans la Fig. 4.1.A.

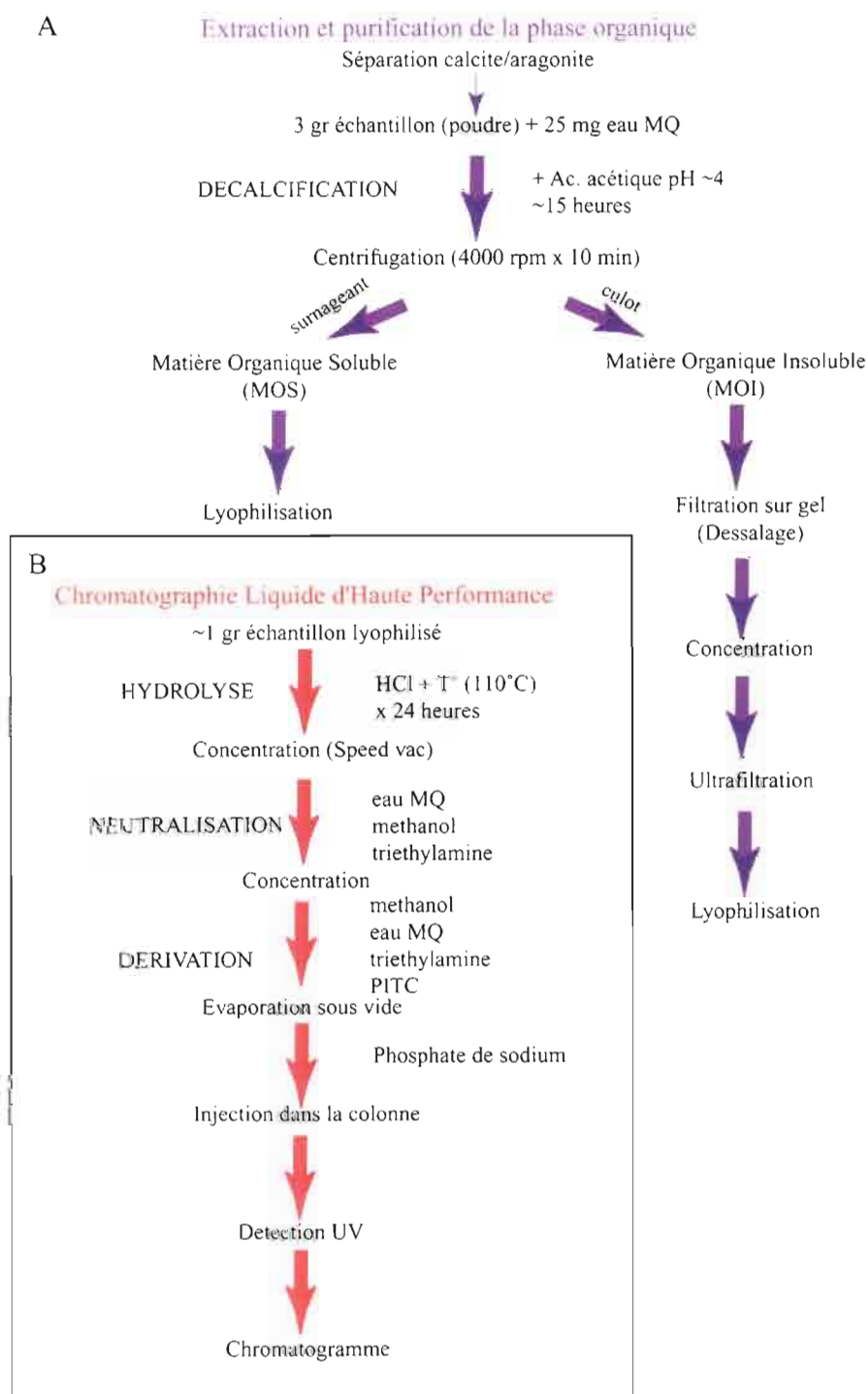


Figure 4.1. Représentation schématique de la méthodologie suivie pour la caractérisation de la fraction organique des coquilles.

Une première indication de la taille et la quantité des molécules organiques est fournie par les résultats des courbes de filtration sur gel (ou courbes de dessalage) des échantillons décalcifiés. La comparaison des courbes obtenues dans la portion soluble incluse dans ~ 3 gr de poudre de calcite provenant de deux zones de la même coquille actuelle de *C. concholepas* (ISM1-7-1 et ISM1-7-7), ainsi que d'une coquille fossile (FM1-1) est montrée dans la Fig. 4.2.

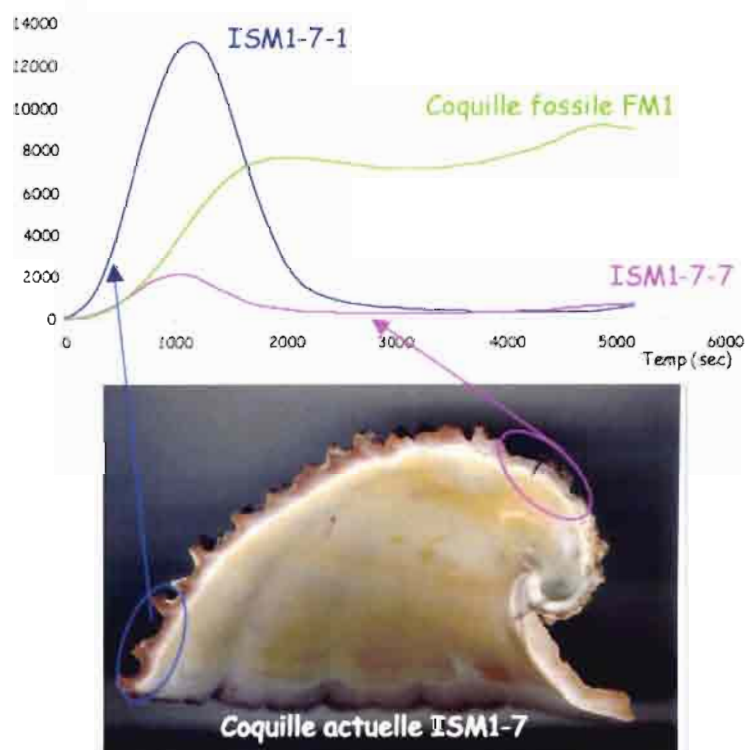


Figure 4.2. Localisation des échantillons et courbes de dessalage (filtration sur gel) de la matière organique soluble incluse dans la calcite de *C. concholepas*.

Le profil montre que pour les échantillons actuels, les grosses molécules (filtrées plus rapidement) sont les composants essentiels de la matière organique intimement associée aux carbonates. L'échantillon fossile, en revanche, est composé de molécules plus petites qui restent plus longtemps dans la colonne de filtration. Les petites molécules pourraient être le résultat de la dégradation des molécules plus grandes de la même coquille, ou pourraient correspondre à des molécules externes absorbées du milieu pendant le processus de diagenèse.

IV.1.1.3. Etude des acides aminés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La technique la plus couramment utilisée pour l'identification et la quantification des acides aminés fait appel à la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) en phase inverse (RPC), qui consiste à séparer les composants de faible poids moléculaire en fonction de la polarité.

La procédure de préparation de l'échantillon est schématisée dans la Fig. 4.1.B. L'échantillon lyophilisé est hydrolysé avec HCl 6 N dans un tube d'essai fermé dont l'air a été remué, pendant 24 heures, à 110°C. Pour extraire l'acide, l'échantillon est évaporé sous vide dans un concentrateur, pendant environ 2 à 3 heures. L'échantillon sec est neutralisé avec un mélange de 50 µl de méthanol + 50 µl d'eau purifiée (*MilliQ*®) + 50 µl de triéthylamine et est, ensuite, remis au concentrateur pour séchage. Après environ 2 heures, quand l'échantillon est complètement sec, on ajuste 20 µl d'une solution préparée avec 140 µl méthanol + 20 µl eau MilliQ + 20 µl triéthylamine + 20 µl PITC (Phenylisothiocyanate). Après 20 minutes à température ambiante, on retire l'excès de liquide en mettant l'échantillon à sécher par lyophilisation pendant toute la nuit. Le lendemain, l'échantillon est repris dans une solution de phosphate de sodium et placé dans l'échantillonneur automatique pour l'injection à la colonne chromatographique.

La méthode utilisée consiste à faire passer l'échantillon sur une colonne analytique type Hypersil (ODS, 5µm, C18, $t=38^{\circ}\text{C}$). Deux éluents sont introduits dans la colonne avec une pompe à piston à deux têtes, à flux constant, tandis que les proportions de l'éluent A et B sont automatiquement modifiées par un contrôleur programmé à cet effet. La concentration de l'éluent B augmente tandis que celle de l'éluent A diminue proportionnellement. Le détecteur UV (254 nm) enregistre la sortie de différentes composantes et un graphique (chromatogramme) est produit.

La composition des acides aminés de la matière organique soluble dans 3 coquilles différentes de *C. concholepas* est indiquée dans la Fig. 4.3. Un total de 17 acides aminés ont été reconnus. Les quantités moyennes des acides aminés mesurées dans diverses coquilles actuelles sont généralement voisines (Fig. 4.3).

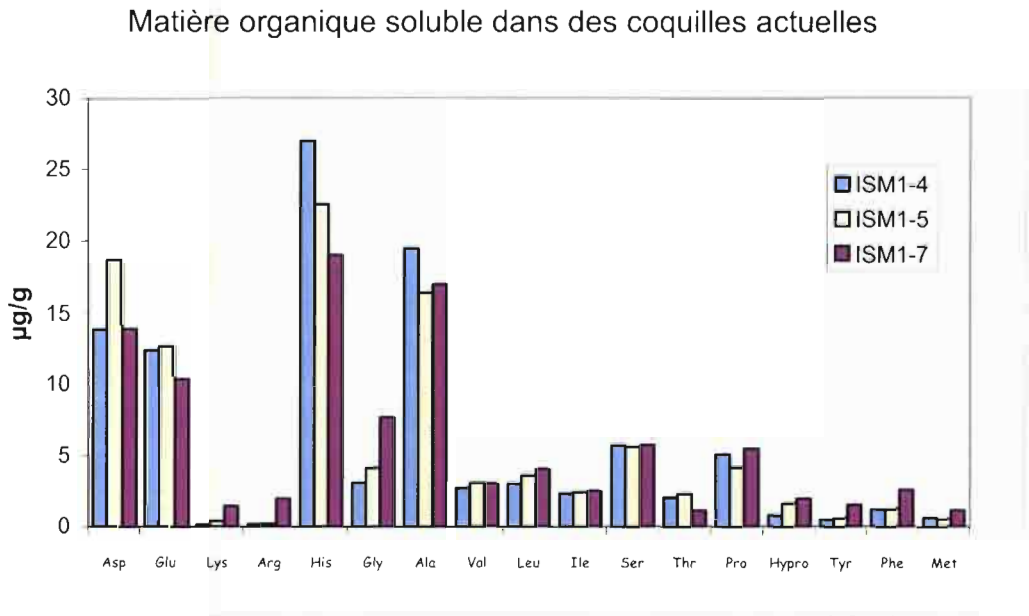


Figure 4.3. Composition des acides aminés de la matière organique provenant de la fraction calcitique de trois coquilles actuelles de l’île Santa Maria.

Dans le cas de l’échantillon archéologique analysé, la composition change : Histidine, Acide Aspartique et Acide Glutamique diminuent alors que la Glycine augmente (Fig. 4.4).

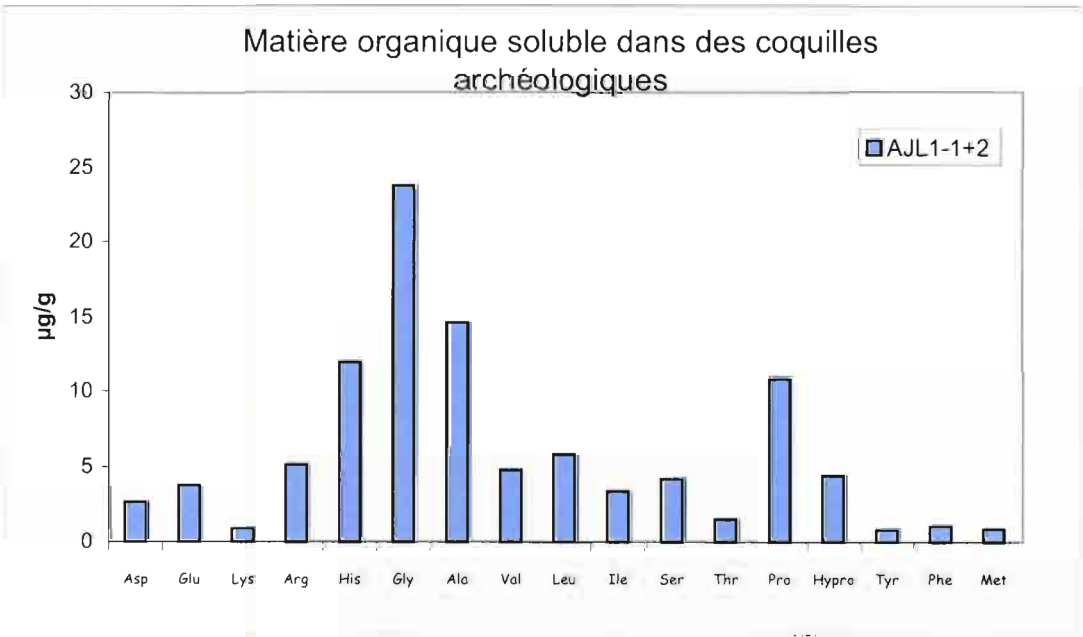


Figure 4.4. Composition des acides aminés de la matière organique provenant de la fraction calcitique d’une coquille de ~ 3000 ans BP (AJL1).

L'étude de caractérisation des composants de la matière organique ne visait qu'à jeter les bases d'une étude qui pourrait être développée ultérieurement. Elle a confirmé que la diagenèse précoce est un phénomène dont il faut tenir compte même dans des coquilles actuelles. La comparaison des résultats obtenus sur coquilles actuelles et fossiles indique clairement que des changements notables se produisent dans les abondances de certains acides aminés.

IV.1.2. Analyses globales de la partie minérale (calcite et aragonite) par microsonde

La composition chimique localisée des couches calcitique et aragonitique de la coquille de *C. concholepas* a été analysée par microsonde électronique à énergie dispersive (EDS). Les analyses ont été effectuées au laboratoire de minéralogie de l'IRD-Bondy, sur des échantillons polis et attaqués (cf. § II.1). Un analyseur couplé au MEB (Cambridge Stereoscan 200) permet d'étudier la composition chimique des éléments majeurs en analysant le spectre d'énergie des rayons X réémis lors de la focalisation d'un faisceau d'électrons sur les échantillons polis et attaqués (spectroscopie d'énergie dispersive, EDS). L'avantage de travailler avec des surfaces polies et attaquées tient au fait que les différentes couches microstructurales (et minéralogiques) sont visibles, de même que d'éventuelles anomalies structurales.

Les éléments analysés ont été Ca, Na, Mg, Sr, Al, Si, P, Si, K, Fe, Ba et Mn, utilisant le système d'analyse Link AN10000, avec le programme ZAF/PB. Au moins 10 analyses ont été faites dans chaque couche minéralogique de chaque morceau analysé et une moyenne a été calculée pour chaque coquille. Un standard de Cobalt a servi pour la calibration instrumentale.

Les coquilles de mollusques ont de faibles concentrations d'éléments minéraux, en dehors du calcium et du sodium (Milliman, 1974). Bien que, pour l'ensemble des mollusques, la calcite soit normalement plus riche en Mg qu'en Sr, on observe que ceci n'est pas vérifié dans le cas de *C. concholepas*. Mg, ainsi que Mn et Ba, ont des teneurs très faibles (Fig. 4.5). La composition élémentaire de l'aragonite ne présente pas de différences significatives avec celle de la calcite. La concentration de Sr est, par exemple, à peine supérieure à celle de la calcite. Les teneurs en éléments de la couche calcitique de la coquille de *C. concholepas* sont comparables à celles de deux espèces d'*Haliotis* (*H. rufescens* et *H. kamtschatkana*), dont la couche externe est aussi entièrement calcitique (Dauphin *et al.*, 1989).

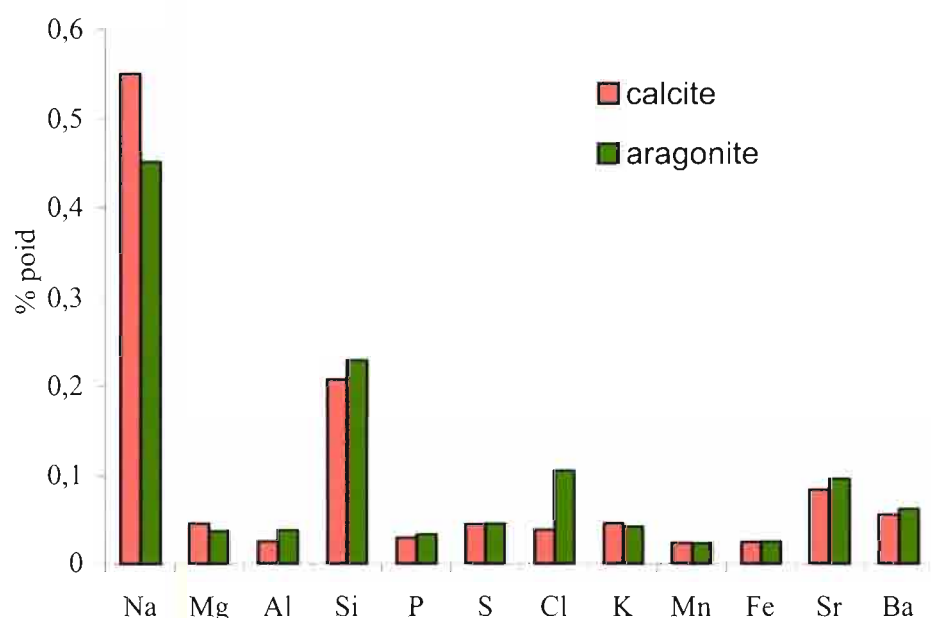


Figure 4.5. Composition élémentaire de la calcite et de l'aragonite d'une coquille actuelle de Santa Maria (ISM1-7-1), mesures EDS.

Même si les concentrations de la plupart des éléments ne dépassent pas les 1000 ppm, et si les limites de détection de la microsonde sont de peu inférieures à ces concentrations, la reproductibilité des mesures que l'on peut obtenir par cette méthode analytique est assez bonne (Dauphin comm. pers., 2003). La composition élémentaire des coquilles actuelles établie par EDS fournit les éléments de référence nécessaires pour des études comparatives sur matériel fossile, et en particulier pour déceler d'éventuelles modifications de composition des coquilles fossiles.

Nous nous intéresserons plus particulièrement aux résultats fournis par la couche calcitique, qui a montré dans les deux chapitres précédents qu'elle se prêtait mieux à un calage chronologique et qu'elle offrait de meilleures possibilités d'échantillonnage compte tenu de son épaisseur. La calcite est ainsi plus susceptible d'enregistrer des impacts de variations de l'environnement que l'aragonite de la couche interne.

Trois coquilles actuelles et fossiles ont été analysées. Au moins 11 analyses ont été faites dans quatre morceaux différents de chacune de trois coquilles étudiées (cf § 2.1). On ne présentera ici que les moyennes obtenues dans chaque coquille (Fig. 4.6).

La coquille de ~3 ka ne présente pas de différences notables dans sa composition en éléments mineurs par rapport à la coquille actuelle. Tout au plus note-t-on une légère augmentation des teneurs en Fe, P et S (Fig. 4.6) et une diminution des teneurs en Na.

La coquille plus ancienne (~120 ka) montre également une diminution de la teneur en Na dans la calcite. En revanche, cette coquille apparaît enrichie en Mg, S et Cl, ainsi qu'en Sr (Fig. 4.6).

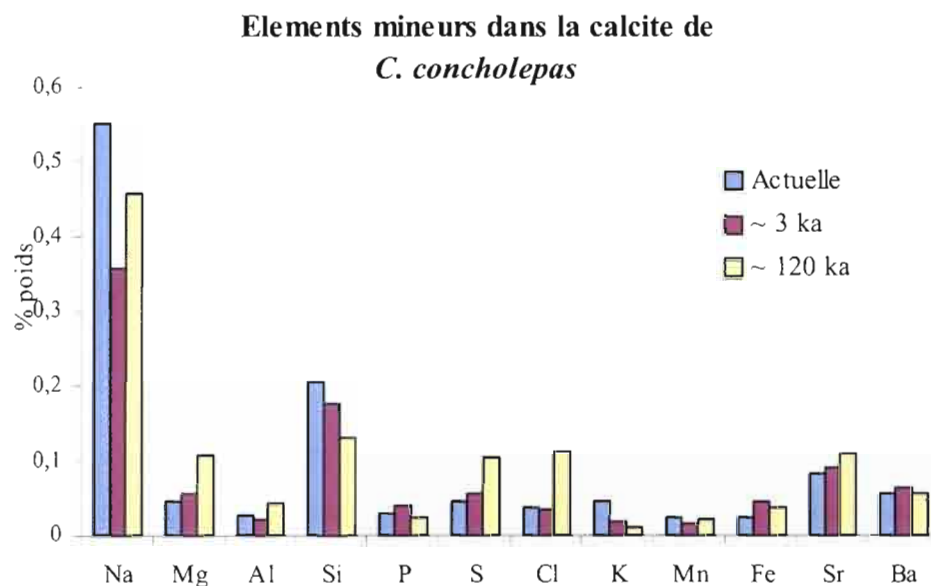


Figure 4.6. Composition élémentaire moyenne de la couche prismatique externe de calcite des coquilles actuelle (ISM1-7) et fossiles (AJL1~3ka ; FM1 ~120 ka).

Nous estimons que les différences entre les teneurs observées dans les coquilles actuelles et fossiles ne sont pas significatives. Nous n'avons pas observé d'anomalies chimiques qui puissent être considérés comme diagénétiques. Ces résultats préliminaires sur des fragments de grande taille de coquilles nous ont conforté dans l'idée que les effets diagénétiques n'affectaient pas la calcite sur laquelle nous souhaitons travailler à une plus petite échelle.

IV.1.3. Composition géochimique de la calcite d'une coquille actuelle par ICP-MS

Afin de confirmer et préciser les teneurs moyennes en éléments mineurs et traces présents dans la couche de calcite de *C. concholepas*, des analyses ont été effectuées sur un spectromètre de masse à ionisation par plasma induit par haute fréquence, ICP-MS, (UltraMass VARIAN) et son logiciel de contrôle WinMass, au laboratoire de géochimie de l'US 094 « Géosciences des Environnements Intertropicaux » de l'IRD, à Bondy. Le matériel utilisé pour cette étude provient exclusivement de la calcite d'une demi-coquille actuelle de l'Ile Santa Maria (ISM1-7).

L'ICP-MS est une technique d'analyse quantitative multi-élémentaire et isotopique. Les ions produits dans un plasma d'argon sont séparés en fonction de leur rapport masse

sur charge (m/z) grâce à un filtre de masse (quadripôle) et détectés par un multiplicateur d'électrons. Les échantillons sont mis en solution, transformés en un aérosol fin par un nébuliseur et transportés jusqu'au plasma où se fera l'ionisation.

Cette technique présente plusieurs avantages. Elle permet l'analyse d'un grand nombre d'éléments avec une excellente sensibilité (limites de détection de l'ordre du ng/l). Elle demande peu de préparation, notamment pour l'analyse des coquilles, et les temps de mesure sont courts comparés au TIMS (« Thermal Ionization Mass Spectrometer ») par exemple.

Des essais préliminaires ont été réalisés sur de la poudre homogénéisée de la couche calcitique de la moitié d'une coquille actuelle (ISM1-7). Ainsi, pour avoir un premier aperçu des concentrations des éléments, deux échantillons (plus et moins concentrés) ont été préparés et analysés avec une méthode "semi-quantitative". Cette méthode permet de doser tous les éléments avec une précision de 10 à 20% et de déterminer ensuite ceux qui seront analysés quantitativement. Les échantillons de poudre de calcite (ISM1-7_1 (plus concentré)= 0,0297g et ISM1-7_2 (moins concentré)= 0,0028g) ont été dissous dans 10 ml d'acide nitrique dilué à 2 % (acide nitrique Suprapur à 65 %, Merck®)

Les premiers résultats obtenus ont permis de choisir les éléments à analyser, d'établir les quantités de poudre à dissoudre pour avoir un bon signal et de déterminer les concentrations des standards à utiliser. La méthode d'analyse (éléments et isotopes à analyser, conditions d'analyse) est programmée sous le nom de « méthode coquille » pour la différencier de celle des « coraux » qui est faite en routine sur l'ICP-MS de l'US 094, Bondy.

Tous les échantillons et étalons ont été préparés en salle blanche afin d'éviter tout risque de contamination. Les étalons ont été préparés à partir de solutions certifiées 1000 mg/l (Spex, Longjumeau, France) dans l'acide nitrique dilué à 2 % avec de l'eau ultrapure (Millipore système Milli-Q185 Plus). Pour corriger les dérives du signal à court et long terme ainsi que les effets de matrice (liées par exemple à la forte teneur en Calcium des échantillons) des standards internes sont utilisés. Ces éléments ne doivent pas être présents dans les échantillons mais doivent avoir des masses proches et un comportement similaire dans le plasma au cours du temps par rapport aux éléments à analyser (Tableau 4.1).

Elément	Std interne
⁴³ Ca	⁴⁵ Sc
⁸⁶ Sr	⁸⁹ Y
⁵⁵ Mn	⁵¹ V
¹¹² Cd	¹¹⁴ In

Tableau 4.1. Standards internes choisis pour chaque élément à analyser par ICP-MS.

Des étalons contenant Ca, Sr, Mn et Cd ont été préparés avec différentes concentrations (Tableau 4.2). Les standards internes (Sc, Y, V, In) ont été ajoutés à la même concentration pour tous les étalons (0,1 ppm pour Sc et Y, 10 ppb pour V et 100 ppt pour In). La méthode de mesure a été décrite par Le Cornec et Correge (1997).

	Ca (ppm)	Sr (ppb)	Mn (ppt)	Cd (ppt)
Std1	20	80	100	10
Std2	40	160	300	20
Std3	60	240	600	30
Std4	80	320	900	40
Std5	100	400	1200	80

Tableau 4.2. Concentration des standards externes préparés pour l'analyse par ICP-MS. Ces standards sont utilisés pour faire les courbes d'étalonnage que permettront de calculer les concentrations des différents éléments dans la solution échantillon.

Les éléments Mg et Ba ont été analysés par dilution isotopique. C'est une méthode basée sur la variation du rapport du signal de deux isotopes de l'élément à doser après ajout à chaque échantillon d'une quantité connue d'un traceur enrichi avec l'un des isotopes de cet élément (Jarvis, 1992). Cette méthode ne peut donc s'appliquer qu'aux éléments ayant au moins deux isotopes et ne nécessite pas d'étalonnage.

Les échantillons de calcite (1 à 2 mg) sont dissous dans 8 ml d'une solution d'acide nitrique à 2% qui contient les standards internes et les traceurs enrichis en ¹³⁷Ba et ²⁶Mg. Les concentrations des éléments et traceurs dans la solution d'acide nitrique pour dissoudre les échantillons sont indiquées dans le tableau 4.3.

Il existe deux types de nébuliseurs qui sont utilisés pour les divers éléments à analyser. Ainsi, les éléments majeurs (Ca, Mg, Sr) ont été analysés avec le nébuliseur "V-groove" (VG) et les éléments mineurs (Ba, Cd, Mn) avec le nébuliseur ultrasonique (USN), dix fois plus sensible mais moins stable que le V-Groove.

Elément	Concentration (ppb)
Sc	100
Y	100
²⁶ Mg	60
¹³⁷ Ba	0,6
V	10
In	0,1

Tableau 4.3. Concentrations des éléments (standards internes et « spikes » des isotopes de Ba et Mg) contenus dans la solution pour dissoudre les échantillons de poudre de calcite.

Les paramètres de fonctionnement de l'appareil et d'acquisition des signaux sont gérés par ordinateur. Une fois optimisés, ces paramètres sont enregistrés et utilisés pour chaque série d'analyse (Tableau 4.4).

Paramètres d'acquisition du signal

Mode :	Peak hopping
Nombre de points par pic:	1
Nombre de scans/réplikat:	100
Nombre de réplicats:	3
« Dwell Time »:	500 µs pour Mg, Ca, Sc, Sr, Y 20000µs pour Mn, V 10000µs pour Cd, Ba

Tableau 4.4. Paramètres d'acquisition de la méthode "coquille" pour l'analyse élémentaire par ICP-MS.

Un test de reproductibilité a été effectué en passant le même échantillon (coquille ISM1-7) 11 fois consécutivement. Les résultats donnent des écarts-types relatifs de 0.1% pour Ca, 0.3% pour Mg, ~0.6% pour Sr, 0.9% pour Ba et 3% pour Cd et Mn. Les limites de détection de l'appareil ont été aussi calculées pour Mn (=15 ppt) et Cd (=4,9 ppt) selon:

$$\text{Limite de détection} = 3 \cdot \sigma(\text{blank}) / S$$

$$\text{où } S \text{ (c/s/ppb)} = (\text{std (c/s)} - \text{blank (c/s)}) / [\text{Elément}]$$

La limite de quantification de l'équipement est fixée à 10 fois la valeur du seuil de détection.

La dérive de l'appareil est régulièrement contrôlée en passant, tous les cinq échantillons, un ou plusieurs étalons. La justesse de l'étalonnage a été vérifiée en analysant un échantillon de corail témoin « maison » nommé NC20 (Le Cornec et Correge, 1997).

La composition chimique moyenne de 11 échantillons du même stock de calcite d'une coquille de *C. concholepas* mis en solution et mesurés par la méthode de l'ICP-MS est

cohérente avec celle obtenue par EDS. Les concentrations moyennes sont indiquées dans le Tableau 4.5. Les teneurs de Sr sont légèrement supérieures à celles du Mg. Les teneurs des autres éléments sont très faibles. Plusieurs problèmes se sont présentés pour l'analyse de Mn, notamment au niveau des courbes d'étalonnage, de sorte que cet élément n'a pas pu être analysé.

	Ca (%)	Sr (ppm)	Mg	Ba (ppm)	Cd (ppb)
Moyenne	38,88	1292	988	1,6	94,
SD	2,04	22	53	0,2	13,
RSD %	5,25%	1,7%	5,4%	14,2%	13,8%

Tableau 4.5. Concentrations moyennes des principaux éléments dans la calcite de *C. concholepas*.

Pour vérifier ces résultats et la reproductibilité de la méthode, nous avons fait un test en passant la même solution (préparée avec une même poudre « moyenne » de la calcite d'une coquille actuelle) plusieurs fois. Ces résultats sont montrés dans le Tableau 4.6. Dans ce test, nous avons obtenu des courbes d'étalonnage pour le Mn, qui nous ont donc permis de déterminer les teneurs moyennes de cet élément. Il se confirme que les teneurs de Ba, Cd et Mn sont très faibles.

	Ca (%)	Sr (ppm)	Mg (ppm)	Ba (ppm)	Cd (ppb)	Mn (ppt)
Moyenne	35,98	1195,83	993,26	1,41	81,81	765,37
SD	0,04	6,94	3,07	0,01	2,21	18,09
SD%	0,10%	0,58%	0,31%	0,81%	2,71%	2,36%

Tableau 4.6. Concentrations moyennes des principaux éléments dans la calcite de *C. concholepas* : test de reproductibilité.

Ces analyses sont plus précises que celles obtenues par EDS (microsonde) et confirment que les teneurs en Sr sont supérieures à celles de Mg dans la calcite.

IV.2. Etudes ponctuelles de la composition chimique élémentaire

Après les mesures sur des échantillons « moyennés », par microsonde EDS et par ICP-MS, nous avons effectué des analyses plus ponctuelles avec divers équipements : ICP-MS, ICP-MS à ablation laser, microsonde électronique et sonde ionique. Ces approches ont, chaque fois, nécessité de développer des protocoles particuliers sur les différents équipements utilisés.

La nécessité de développer de nouveaux proxys de la variation des conditions environnementales a augmenté l'intérêt pour la détermination de la composition

élémentaire des coquilles de mollusques. Les variations saisonnières observées dans la distribution des éléments dans les coquilles confirment en outre l'importance d'établir de telles variations à haute résolution spatiale. Les nouvelles techniques de microanalyses de plus en plus sensibles permettent d'atteindre ces objectifs et offrent la possibilité d'étudier la composition chimique localisée des coquilles, à très haute résolution temporelle (Longerich *et al.*, 1996; Sinclair *et al.*, 1998; Vander Putten *et al.*, 1999; Craig *et al.*, 2000; Russo *et al.*, 2000; Toland *et al.*, 2000), surtout dans le cas d'organismes dont la croissance est rapide.

IV.2.1. Analyses sériées par IPC-MS

Les analyses ICP-MS réalisées sur des échantillons "moyennés" de la couche calcitique de la moitié d'une coquille actuelle de *C. concholepas* (ISM1-7) nous ont permis de sélectionner les éléments dont les teneurs sont suffisamment élevées pour être mesurées de façon fiable. L'objectif suivant est d'évaluer la variation des teneurs en éléments au cours de la vie d'un organisme. Pour cela nous avons fait des analyses sur des échantillons prélevés le long d'une coquille (analyses "sériées"), depuis l'apex jusqu'au bord externe. Les échantillons de poudre de la couche calcitique ont été prélevés environ tous les 2 mm avec une fraise Dremel® de 0,4 mm de diamètre (Fig. 4.7). Les poudres collectées ont été analysées par ICP-MS avec la méthode "coquille" décrite dans le § 4.2.1.



Figure 4.7. Coquille actuelle de *C. concholepas* (ISM1-7) échantillonnée le long de son axe de croissance maximale pour analyses à l'ICP-MS.

Les résultats des analyses des éléments mineurs (Fig. 4.8) montrent des variations importantes du Mg et Sr le long d'une coquille d'environ 3 ans d'âge, mais dont le fragment échantillonné correspondait à seulement deux ans de croissance. Ba et Cd (Fig. 4.9) semblent covarier, mais présentent des pics difficile à interpréter.

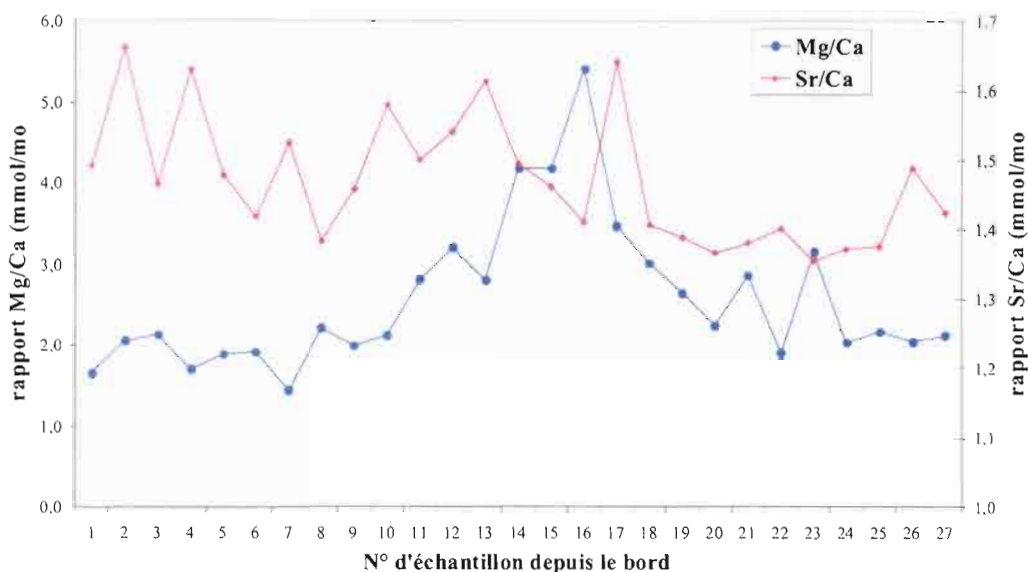


Figure 4.8. Variations des rapports Mg/Ca et Sr/Ca le long de la coquille actuelle de *C. concholepas* (ISM1-7) de l'île Santa Maria (Antofagasta, Chili).

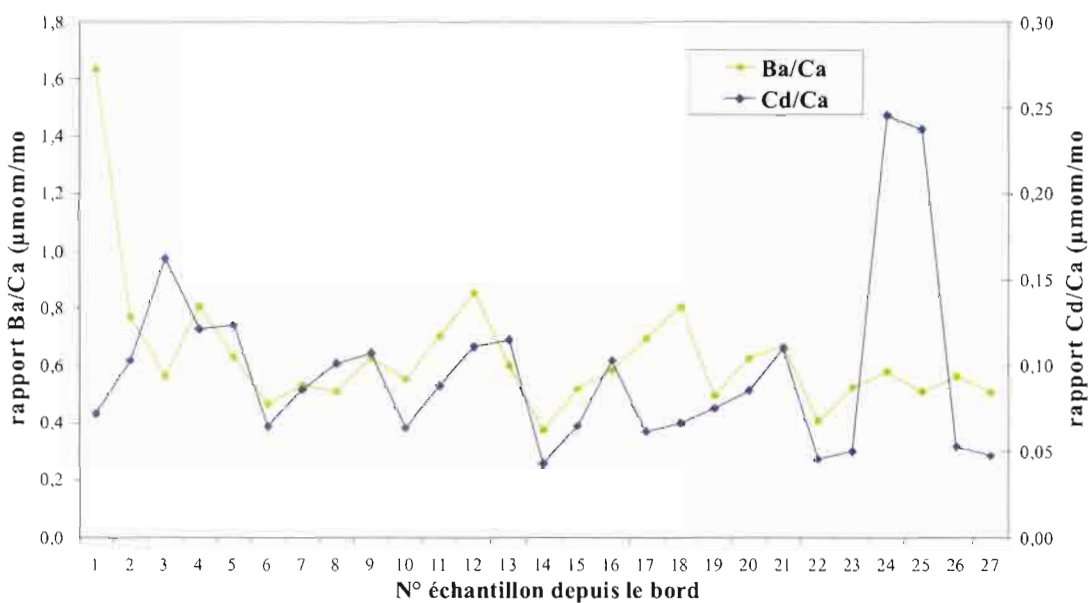


Figure 4.9. Variations des rapports Ba/Ca et Cd/Ca le long d'une coquille actuelle de *C. concholepas* (ISM1-7) de l'île Santa Maria (Antofagasta, Chili).

Ces résultats pourraient ne pas être significatifs du fait de la géométrie des échantillonnages. En effet, les prélèvements, d'une taille d'environ 1 mm de diamètre, correspondent à des échantillons intégrant au moins une semaine de formation de la coquille (Fig. 4.10). De plus, les distances entre les points d'échantillonnage correspondent à des périodes de l'ordre de une à trois semaines de croissance sont aussi grands ce qui signifie que des périodes de temps du même ordre de grandeur ne sont pas analysés.



Figure 4.10. Zoom des points d'échantillonnage d'une coquille actuelle de *C. concholepas* (ISM 7) pour les analyses sériées par ICP-MS.

Cette méthode (prélèvement à la fraise et analyses par IPC-MS), qui donne des analyses quantitatives de qualité, ne permet évidemment pas d'atteindre une haute résolution temporelle. Pour effectuer des calibrations des traceurs géochimiques/paramètre environnemental, nous avons orienté notre étude vers des techniques de type "microsonde" qui devraient permettre d'augmenter la résolution spatiale, et donc temporelle, des analyses géochimiques de la coquille de *C. concholepas*.

IV.2.2. Analyses par ICP-MS à ablation laser

Les analyses ont été faites en compagnie de C. Lazareth (IRD) au Laboratoire des Mécanismes de Transfert en Géologie (LMTG), Université Paul Sabatier, Toulouse, France en collaboration avec F. Poitrasson, F. Candaudap et R. Freydier.

L'ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma inductif (LA-ICP-MS) permet une détection rapide et multi-élémentaire sans préparation (mise en solution) des échantillons. La limite de détection moyenne, qui varie selon la méthodologie choisie et les éléments analysés, est de l'ordre du ppm. Néanmoins, cette technique est encore relativement nouvelle et la détermination quantitative des éléments traces est encore difficile étant donné la complexité des matrices carbonatées et le manque de standards adéquats.

L'échantillon inclus et poli (cf. § III.1) est placé dans une cellule d'ablation. Un système optique couplé d'une caméra permet de focaliser le faisceau laser sur la surface à analyser. Selon l'objectif et l'obturateur choisi, la taille du faisceau laser varie. La matière ablatée, sous forme d'aérosol sec, est transportée jusqu'au spectromètre de masse (ICP-MS) par un flux continu d'Argon. La taille du faisceau laser peut varier de 10 à 200 μm environ, permettant ainsi une très haute résolution spatiale d'échantillonnage.

Dans cette étude, les échantillons de *C. concholepas* ont été analysés par couplage d'un ICP-MS ELAN 6000 (Perkin Elmer-SCIEX) avec un système d'ablation laser CETAC LSX 200 (UV) de 266 nm.

Afin de déterminer la concentration chimique de l'échantillon inconnu, il est nécessaire d'analyser en parallèle des standards, dit standards externes, dont la composition est connue. Le nombre de coups obtenus dans le standard pour un élément donné est comparé alors au nombre de coups obtenus dans l'échantillon. Pour la calibration de l'analyse par ablation laser d'éléments traces dans des carbonates naturels, l'utilisation de standards de carbonatés pressés sous forme de pastilles a montré son efficacité (Craig *et al.*, 2000). Pour l'analyse de la calcite de *C. concholepas*, nous avons utilisé comme standard:

- 1) une pastille de verre NIST-610 (National Institute of Standards and Technology, USA),
- 2) trois pastilles fabriquées avec des poudres des standards carbonatés:
 - GSR-6 (Institute of Geophysical and Geochemical Prospecting, Chine) et CAL-S (Centre de Recherches Pétrologiques et Géochimiques, France): calcaires,
 - CRM-22 (Certified Reference Material, National Institute for Environmental Studies-NIES, Japon): otolithes de poisson.

Les pastilles de 13 mm de diamètre ont été fabriquées par pressage sous vide (pression de 8 tonnes/cm²) de 350 mg (CAL-S) et de 10 tonnes/cm² de 500 mg (CRM-22) de poudre. La pastille de GSR-6 a été préparée au LMTG, Toulouse. Les concentrations des éléments dans ces standards carbonatés sont indiquées dans le Tableau 4.7.

	Mg	Ca	Mn	Sr	Ba	Pb
CAL-S (calcite)	2240	398100	23	207,8	1,1	0,852
GSR-6 (limestone)	31300	254900	405	913	120	18,3
CRM-22 (otolithe)	21	388000	-	2360	2,89	-
NIST 610 (verre)	465.3	81761	433.3	479.4	424.1	413.3

Tableau 4.7. Concentration (en ppm) des éléments dans les matériels de référence, pour les analyses ICP-MS à ablation laser.

Les réglages et optimisation de l'ICP-MS se font au début de la journée avant la connexion au système d'ablation, avec une solution standard contenant des éléments légers et lourds. Une fois couplée l'ablation laser, l'optimisation se fait en balayant (traits) sur le standard NIST 610. L'optimisation consiste en changer la position de la torche et/ou le flux d'argon dans la cellule d'ablation laser, mais ni les lentilles ni le gaz de l'ICP-MS sont modifiés.

Une fois tout le système optimisé, nous avons fait plusieurs tests sur une coquille pour trouver le meilleur signal (plus stable), en essayant de garder une taille de cratère la plus petite possible (meilleure résolution temporelle). Différentes énergies et profondeurs d'ablation ont été testées. D'autres tests ont été faits aussi pour évaluer la possibilité de faire des traits à la place de cratères, ce qui aurait permis d'améliorer la résolution spatiale, mais les lignes de croissance courbes de *C. concholepas* et les résultats préliminaires obtenus n'étant pas meilleurs que les cratères, nous avons adopté cette dernière méthode pour les analyses sur coquilles. Les conditions retenues pour ce travail sont indiquées dans le Tableau 4.8.

Conditions ICP-MS et LA-ICP-MS			
Argon dans cellule laser:	1 l/min	Dwell time:	10 ms
Lentille:	5 volts	Sweep per reading:	1
Auto-lens:	de 5 à 6 V	Mesures per replicate:	350
RF Power:	1350 W	Taille du faiseau (S3)	Spot ~65 µm
Analogue stage voltage:	1856 V	Energie d'ablation (F15)	~5 mJ
Pulse stage voltage:	1100 V	Deep profiling (F1)	1 µm/s

Tableau 4.8. Conditions analytiques et d'acquisition pour l'analyse par ICP-MS à ablation laser.

Une fois que nous avons établi que les signaux de certains isotopes n'étaient pas suffisamment importants pour obtenir des analyses assez précises des teneurs en éléments dans la coquille de l'espèce étudiée, nous avons décidé de focaliser le travail sur les isotopes suivants:

Mg^{24} Mg^{25} Mg^{26} Ca^{42} Ca^{43} Ca^{44} Mn^{55} Sr^{88} Ba^{137} Ba^{138} Pb^{208}

Un test de reproductibilité et de justesse est fait en analysant 5 fois chaque standard (5 NIST 610, 5 GSR-6, 5 CAL-S et 5 CRM-22) et 5 fois un échantillon de coquille. Ensuite, les standards sont analysés une fois tous les 10 échantillons.

Des photos des coquilles ont été prises préalablement au microscope optique afin de pouvoir se localiser précisément. Le but était d'essayer de faire au moins une analyse par

de mi-journée de formation de la coquille, c'est-à-dire un prélèvement dans la couche claire et un prélèvement dans la couche foncée qui forment un nyctémère (cf. Fig. 3. 26). Le signal a été vérifié régulièrement.

Le signal d'ablation laser se caractérise par un blanc (laser non lancé) suivi par un pic puis une stabilisation du signal 10 secondes environ après le début de l'ablation (Fig. 4.11). L'acquisition se fait pendant 60 secondes. Le blanc a été calculé avec la moyenne des 5 premières secondes d'acquisition. Pour le traitement des données, c'est-à-dire la détermination des teneurs en éléments à partir du signal brut, en coups par secondes, nous avons testé deux intégrations différentes, la première en prenant en compte une partie du pic et la deuxième juste après le pic, une fois que le signal était stabilisé. Un exemple de l'acquisition des données de Mg^{24} (en coups par seconde, cps) d'un échantillon de *C. concholepas* et les intégrations que nous avons testées est montré dans la Fig. 4.11.

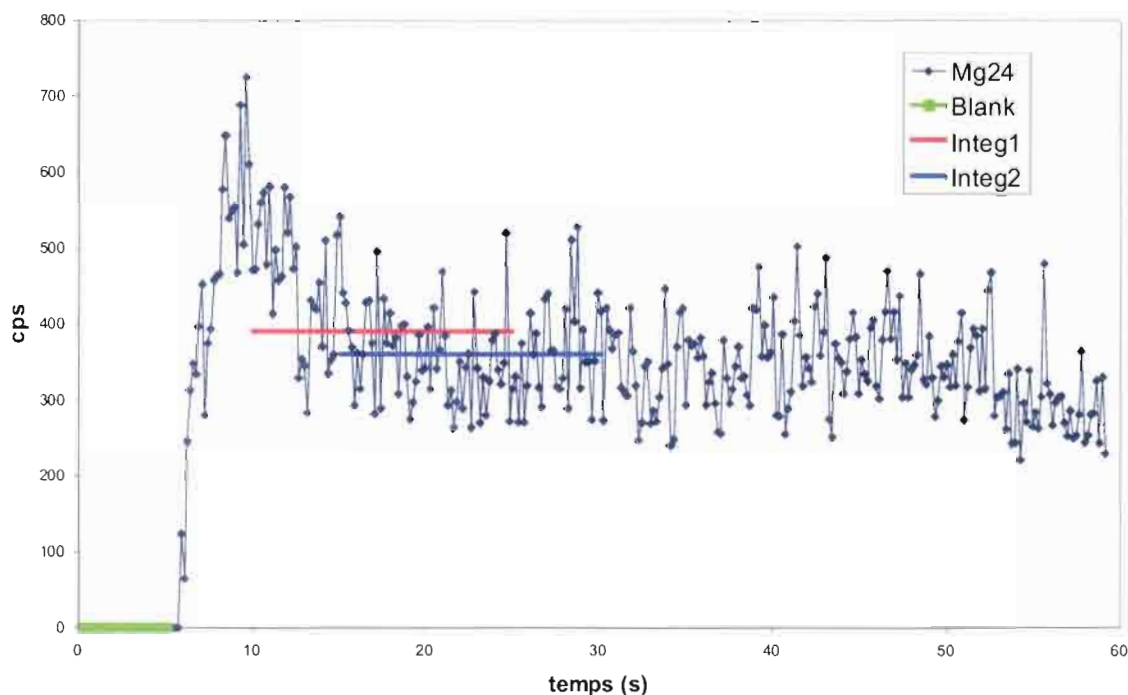


Figure 4.11. Exemple de signal obtenu sur une coquille de *C. concholepas* par LA-ICP-MS et zones d'intégrations choisies pour le traitement de ce signal.

Les valeurs en coups pour chaque isotope ont été ensuite normalisées (divisées) par le nombre de coups obtenus pour l'isotope 43 du Ca (0,135 % d'abondance naturelle) sauf parfois le ^{88}Sr dont le signal est plus proche de celui du ^{42}Ca (0,647 % d'abondance) et qui a donc été normalisé avec le ^{42}Ca . Cette normalisation permet essentiellement de corriger les variations de quantité de matériel ablaté. Par la suite, pour calculer les concentrations des éléments, la concentration du standard interne doit être connue soit par stoechiométrie

soit par une autre technique. Nous avons utilisé la moyenne générale de la concentration obtenue par microsonde (Ca= 38,2%).

Les résultats obtenus montrent que l'intégration 2 donne à la fois les valeurs les plus stables et les plus justes. Pour choisir le standard externe nous avons considéré les écarts-types relatifs calculés avec les analyses du test de reproductibilité. Dans le Tableau 4.9 sont résumés les résultats obtenus. Les pastilles de GRS-6 ne sont pas tout à fait homogènes (GRS-6 est trois fois moins homogène que CAL-S ou NIST-610, Fig. 4.12A), ce qui complique son utilisation comme standard externe. Les meilleurs résultats de calibration s'obtiennent avec la pastille NIST610 (Fig. 4.12B). Toutes les analyses de coquilles ont donc été calibrées avec le NIST610.

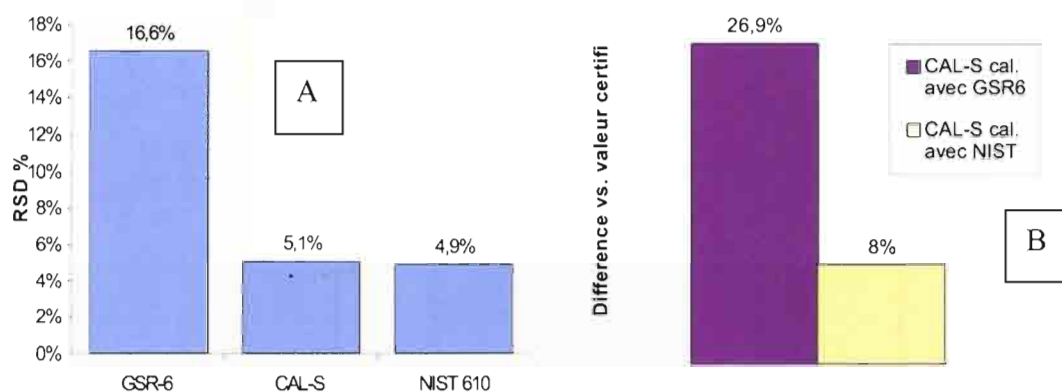


Figure 4.12. Les standards externes. A: Résultats du test de reproductibilité; B: CAL-S calibré avec GRS-6 et NIST-610.

Intégration 2	Mg ²⁴	Mg ²⁵	Mg ²⁶	Ca ⁴²	Ca ⁴⁴	Mn ⁵⁵	Sr ⁸⁸	Ba ¹³⁷	Ba ¹³⁸	Pb ²⁰⁸
CAL-S calibré avec GSR6	0,01	0,0	0,0	1,0	0,95	2,5 E-5	6,0E-4	2,5E-6	4,2E-06	2,7E-6
RSD%	17,3	21,5	17,8	3,9	4,3	13,4	7,0	92,0	44,8	32,8
Diff. avec valeur certifiée	26,9%	14,1%	15,5%	-1,8%	-4,9%	-57,4%	15,3%	-10,5%	51,7%	25,5%
GSR-6 calibré avec CAL-s	0,1	0,1	0,1	1,0	1,05	0,0037	0,0031	5,3E-04	3,1E-04	5,7E-05
RSD%	17,3	21,5	17,8	3,9	4,3	13,4	7,0	92	44,8	32,8
Diff. avec valeur certifiée	-21%	-12%	-13%	2%	5%	135%	-13%	12%	-34%	-20%
CAL-S calibré avec NIST	0,01	0,01	0,00	1,00	0,94	2,58E-5	5,42E-4	4,20E-6	3,96E-6	2,04E-6
RSD% propagée	7,1	8,6	7,1	3,0	4,8	13,4	4,0	38,2	42,5	12,2
Diff. avec valeur certifiée	-8%	-10%	-12%	0%	-6%	-55%	4%	52%	43%	-5%
GSR-6 calibré avec NIST	0,09	0,10	0,09	1,02	0,99	1,67E-3	3,23E-3	8,00E-4	4,44E-4	5,45E-5
RSD% propagée	17	23	17	4	4	7	7	84	22	31
Diff. avec valeur certifiée	-28%	-21%	-24%	2%	-1%	5%	-10%	70%	-6%	-24%
CAL-S calibré avec OTO	0,00			1,01	0,84		5,8E-4		4,3E-6	
RSD%	101			3	8		4		41	
Diff. avec valeur certifiée	-62%			1%	-16%		11%		55%	
GSR-6 calibré avec OTO	0,04			1,03	0,88		3,5E-3		4,8E-4	
RSD% propagée	102			4	7		7		19	
Diff. avec valeur certifiée	-70%			3%	-12%		-3%		2%	

Tableau 4.9. Récapitulatif de la calibration des standards externes pour l'analyse élémentaire par ICP-MS à ablation laser.

Pour vérifier si les variations de la composition élémentaire des coquilles sont significatives, des analyses ont été faites en suivant un même incrément de croissance (Fig. 4.13).

A l'exception des quatre échantillons les plus externes (Fig. 4.14), les rapports Mg/Ca et Sr/Ca montrent des écarts-types relatifs de l'ordre de 5%. Pour faire des analyses perpendiculaires aux incréments de croissance, nous avons donc travaillé le plus possible dans la zone médiane de la section de la coquille. En particulier pour le Mg, il est clair que nous ne devons pas faire des analyses dans la zone proche de la surface externe de la coquille.

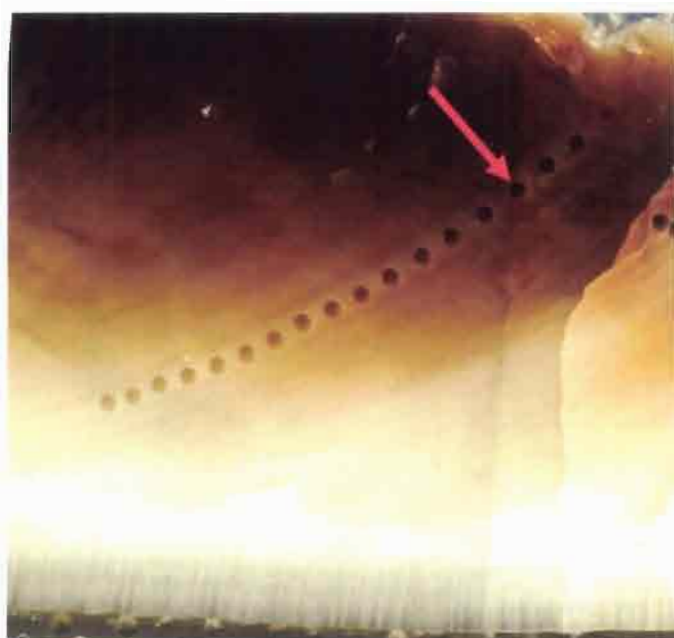


Figure 4.13. Série de cratères faits par ablation laser le long d'une même ligne de croissance. La flèche rouge montre la position de l'échantillon à partir duquel les rapports élément/Ca commencent à changer (cf. Fig. 4.14).

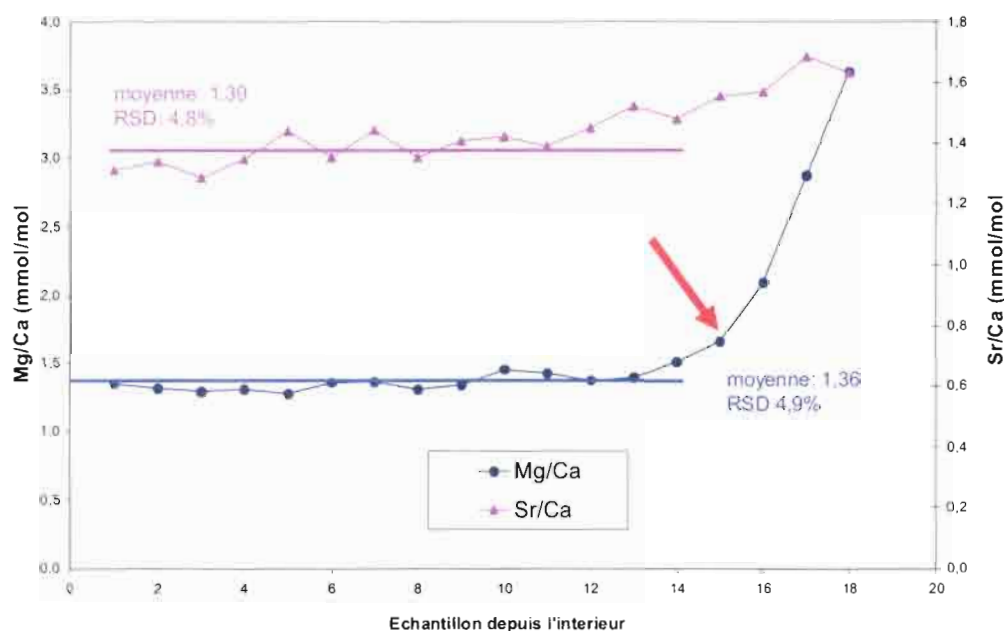


Figure 4.14. Rapports Mg/Ca et Sr/Ca le long d'un incrément de croissance de *C. concholepas* (M77) (cf. Fig. 4.13).

Une fois les conditions analytiques, ainsi que les méthode de normalisation et de calcul des concentrations, définies, et que la zone d'étude dans la coquille a été précisée, des analyses ont été faites dans deux sections d'une coquille qui avait été marquée à la calcéine et dont nous avons pu établir la chronologie. La première série d'analyses (Série 1 260803, M77, Fig. 4.15) a été faite, comme nous l'avons expliqué, en essayant d'obtenir au moins un analyse par couche (une demi-journée de croissance), ce qui explique le positionnement en zigzag des cratères. Une quinzaine de jours de formation de la coquille a été ainsi analysée (Fig. 4.15).

Grâce aux marquages, nous avons pu attribuer à chaque point d'échantillonnage, une date et une gamme d'heures pendant lesquelles la coquille est supposée s'être formée (cf. Fig. 4.16). Les mêmes gammes de temps ont été utilisées pour faire des moyennes de température que nous allons comparer avec les profils géochimiques.

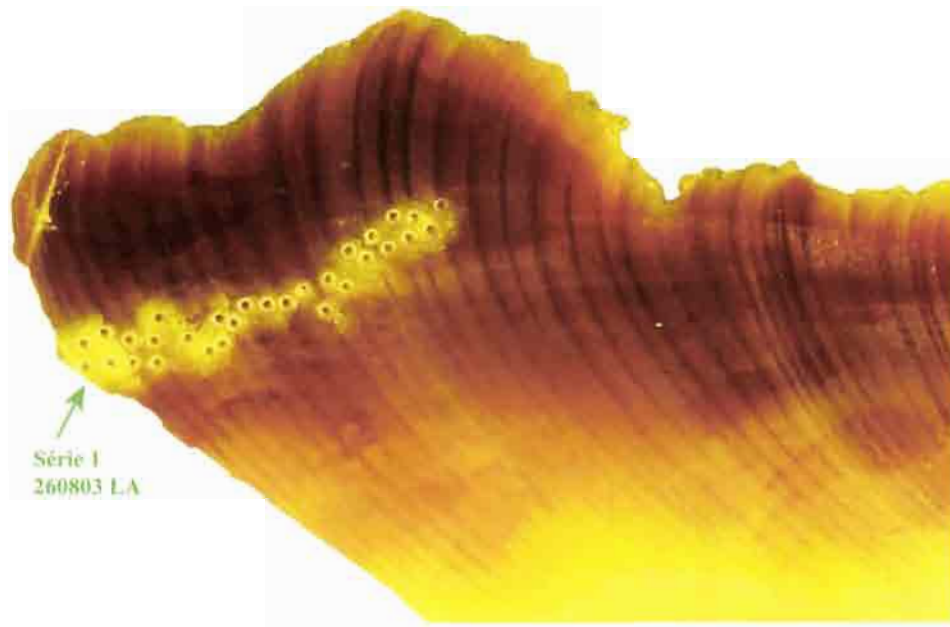


Figure 4.15. Cratères faits par ablation laser sur la coquille M77 (Série 1 du 26/08/03).

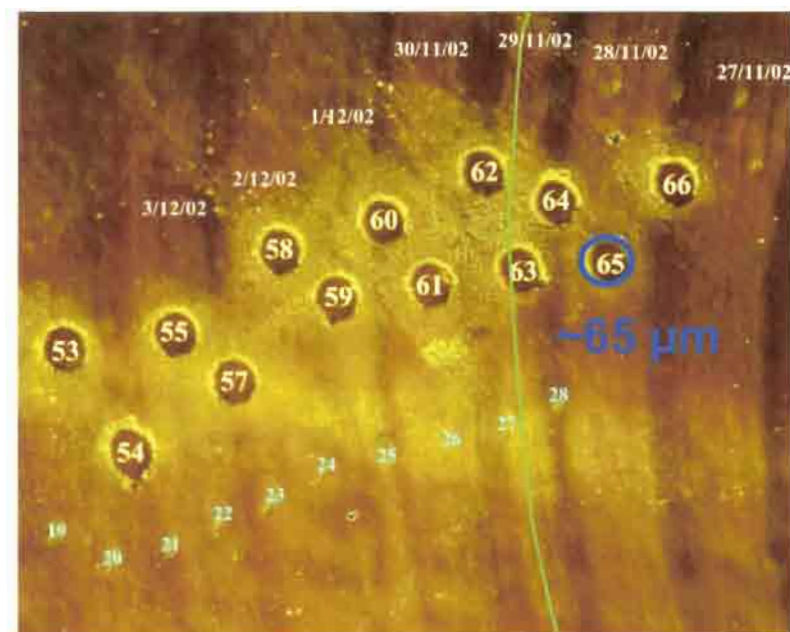


Figure 4.16. Points d'échantillonnage avec l'ablation laser (points 53 à 66) dans la coquille M77. On observe aussi quelques points de l'analyse SIMS (points 19 à 28, cf. § 4. 3.2). La ligne verte correspond au marquage à la calcéine du 29/11/02

Lors de l'attribution d'une période de temps pour chaque cratère d'ablation laser, il est apparu qu'à l'erreur d'appréciation de l'ordre de quelques heures s'ajoute le biais lié au fait que les analyses n'étaient pas exactement le long du même axe. En conséquence, pour la deuxième série d'analyses, les analyses ont été réalisées sur un même axe, perpendiculaire aux lignes de croissance, et de façon équidistante (séries 1 et 2 01/04/04-LA de la section M77-3, Fig. 4.17).

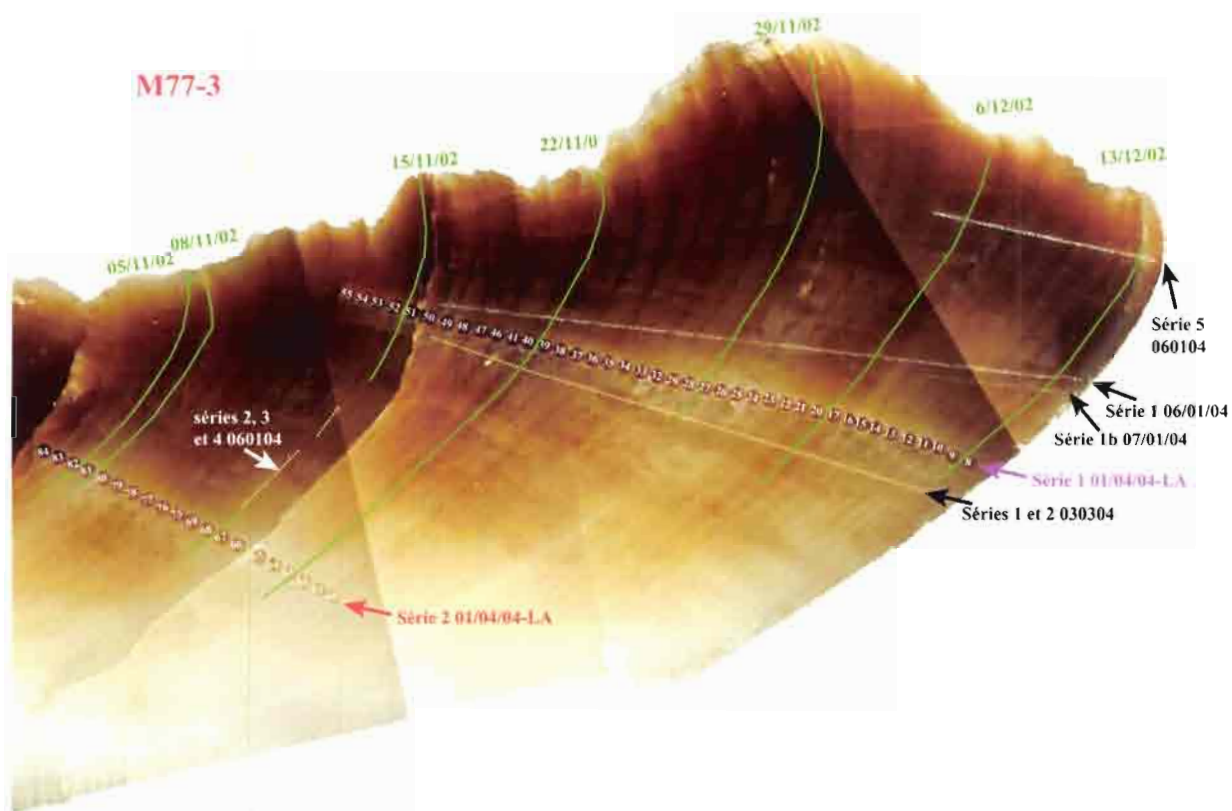


Figure 4.17. Deuxième série d'analyses par ablation laser sur la section M77-3. Les séries 1 et 2 du 01/04/04 sont montrées en rose et rouge, respectivement. Les séries d'analyse indiquées en noir ont été faites par microsonde électronique (voir plus loin)

Les résultats de ces trois profils de la même coquille, mais de deux différentes sections [vert, série 1 du 26/08/03, section M77 (cf. Fig.4.15), rose, série 1 et rouge, série 2 du 01/04/04, section M77-3 (cf. Fig. 4.17)], montrent la reproductibilité de l'analyse par LA-ICP-MS (Fig.4.18). Bien que les profils vert et rose montrent une petite différence en amplitude, les résultats montrent des variations similaires. Le rapport Mg/Ca est toujours beaucoup plus élevé dans la zone du bord de la coquille. Les profils rose et rouge, faites dans deux zones de la même section de la coquille et dont quelques points d'échantillonnage ont été superposés, sont aussi comparables. Le petit décalage observé sur la position d'un des pics est probablement dû à l'assignation des dates aux échantillons et à

une légère différence géométrique dans la disposition angulaire des incréments de croissance dans les deux zones en question (cf. Fig. 4.17).

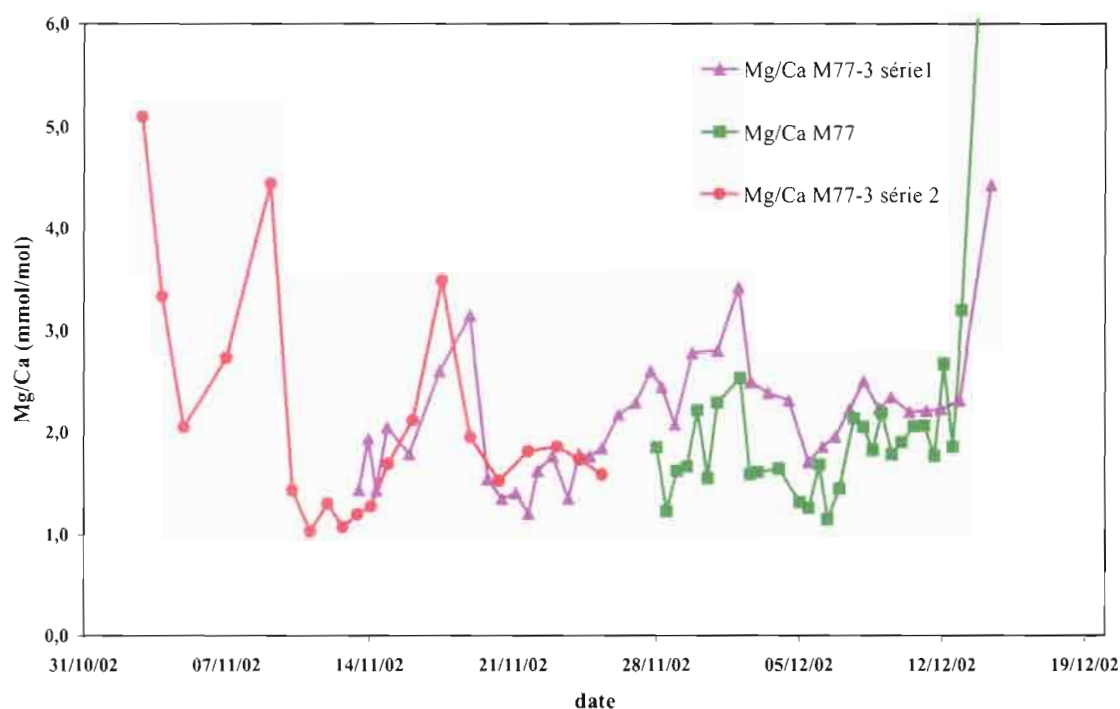


Figure 4.18. Rapport Mg/Ca dans la coquille M77.

Etant donné que tout au long de la même ligne de croissance (cf. Fig 4.13), normalement formée au même moment, les variations de Mg et Sr sont de l'ordre de 5% (cf. Fig 4.14) et que les variations observées sur les profils effectués perpendiculairement aux incréments de croissance sont beaucoup plus importantes pour Mg (RSD moyenne de 43,5 %), mais restent les mêmes pour Sr (RSD moyenne de 4,7 %, tableau 4.10), nous avons considéré que par la technique de l'ICP-MS couplé à l'ablation laser, seul le Mg montre des variations significatives probablement liées à des variations de conditions du milieu environnant.

C. concholepas M77

Date analyse	Série; Nombre de points; taille point	Période de croissance analysée	Mg (ppm) / RSD	Sr (ppm) / RSD
26/08/2003	série 1; 30; 65 µm	28/11 au 13/12/02	466 / 48,7%	1139 / 5,7%

C. concholepas M77-3

Date analyse	Série; Nombre de points; taille point	Période de croissance analysée	Mg (ppm) / RSD	Sr (ppm) / RSD
04/04/2004	série 1; 40; 60 µm	13/11 au 14/12/02	497 / 29%	1041 / 4,5%
	série 2; 20; 60 µm	02/11 au 20/11/02	494 / 53%	946 / 3,9%

Tableau 4.10. Description des profils réalisés avec l'ablation laser sur la coquille de *C. concholepas* M77 et valeurs moyennes de Mg et Sr.

La comparaison des profils de Mg/Ca de la coquille M77 avec la température (Fig. 4.19) enregistrée pendant la formation de la coquille, montre une assez bonne corrélation, au moins dans une partie de la coquille. Pendant la période du 10 au 30 novembre, les profils présentent un certain parallélisme, mais quand la température de l'eau dépasse les 21°C, pendant plusieurs jours, le rapport Mg/Ca de la coquille diminue et ne montre plus de corrélation avec la température. Vers la fin de la période analysée, la température a baissé de plusieurs degrés, mais les organismes étaient probablement stressés et ne croissaient pratiquement plus à partir du 13 décembre (cf. Fig. 3.27). Fin décembre, la température de l'eau dans le bac expérimental a atteint des valeurs telles qu'un seuil a apparemment été franchi au-delà duquel le rapport Mg/Ca de la calcite de la coquille ne reflète plus fidèlement les variations environnementales. Nous suggérons que le rapport Mg/Ca dans la calcite de *C. concholepas* ne peut être considéré comme un traceur de la température, seulement à des températures inférieures à 21°C (températures rarement observées dans le milieu naturel).

Néanmoins, une analyse de corrélation entre température et l'ensemble des valeurs Mg/Ca mesurées dans divers profils de la même coquille M77 de *C. concholepas* n'est pas satisfaisante. Cela est dû notamment au fait que n'ont pas été écartées les mesures d'échantillons correspondant à des températures supérieures à 21°C. Il sera nécessaire d'effectuer, ultérieurement, des analyses sur des portions plus longues des coquilles qui auront cru dans des conditions thermiques connues. Il est également prévu, par la suite, de faire des mesures sur des coquilles (disponibles depuis mai 2004) ayant cru pendant une année complète en bac d'aquaculture. Les résultats obtenus jusqu'à présent sont préliminaires et ne sauraient prétendre établir la relation entre température et rapport Mg/Ca dans la coquille de *C. concholepas*.

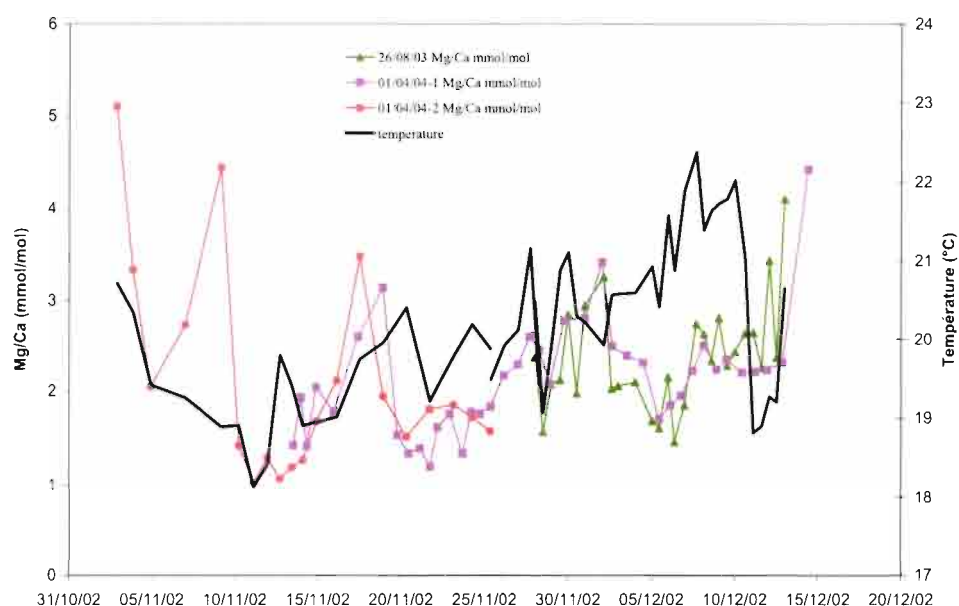


Figure 4.19. Rapport Mg/Ca (Série 1, M77-3) et série de température re-échantillonnée à partir des données du senseur du bac expérimental en novembre-décembre 2002.

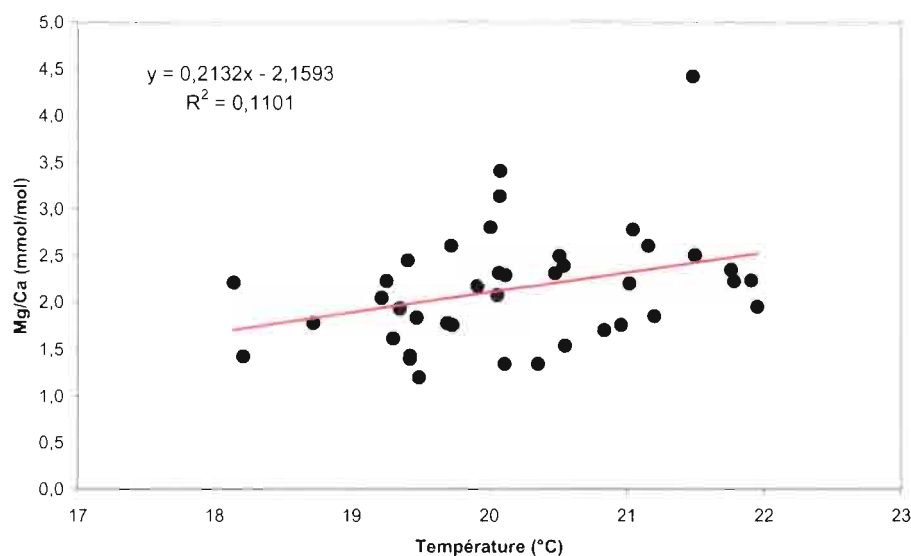


Figure 4.20. Corrélation entre le rapport Mg/Ca et température de tous les échantillons étudiés par ICP-MS à ablation laser.

Même si nous avons considéré que les variations de Sr obtenues par LA-ICP-MS à divers moments de l'histoire de la coquille n'étaient pas significativement plus importantes que les variations observés tout au long d'une même ligne de croissance, une première analyse à l'aide du logiciel SAS de la relation entre le rapport Sr/Ca et la température montre une corrélation significative entre les deux paramètres, avec $\alpha < 0,05$. Cela nous

encourage à continuer à développer la technique d'analyse du Sr par LA-ICP-MS, pour essayer d'obtenir des meilleurs signaux et en conséquence, des valeurs plus justes qui nous permettront éventuellement, par la suite, de valider de petites variations du rapport Sr/Ca en tant que marqueurs de variations de température du milieu.

IV.2.3. Analyses par microsonde électronique

La microsonde électronique (Electronic MicroProbe, EMP) est une technique analytique qui permet de déterminer les teneurs en éléments mineurs et traces d'un volume de l'ordre de quelques micromètres carrés à la surface de l'échantillon. Un faisceau d'électrons (5 à 30 keV) est focalisé sur l'échantillon qui émet alors des rayons-X dont les longueurs d'ondes sont caractéristiques des espèces élémentaires qui le compose. Les spectres de longueurs d'ondes obtenus (WDS - Wavelength Dispersive Spectroscopy) permettent alors de déterminer la composition chimique de l'échantillon par comparaison avec ceux obtenus sur des standards connus. Les limites de détection varient selon les éléments et la matrice et sont comprises entre quelques dizaines à quelques centaines de ppm. Cependant, pour des analyses en routine, la limite de détection quantitative est de l'ordre de 1%.

Afin de valider les analyses effectuées avec l'ablation laser, mais aussi pour évaluer la possibilité d'obtenir des enregistrements à plus haute résolution temporelle, nous avons réalisé des profils à la microsonde électronique dans la coquille M77.

IV.2.3.1. Conditions analytiques

Ces analyses ont été effectuées au Centre de Microanalyse Camparis de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI) en collaboration avec M. Fialin sur une microsonde CAMECA SX100 équipée de quatre spectromètres à dispersion de longueur d'onde (WDS). Les conditions analytiques sont présentées dans le Tableau 4.11.

Microsonde électronique	CAMECA SX 100
Potentiel d'accélération	15 keV
Courant du faisceau	40 nA: Ca 400 nA: Mg, Mn, Fe, Sr, Ba
Diamètre du faisceau	défocalisé (10µm)
Temps de comptages	10 s: Ca 20 s: Fe, Ba 40 s: Mg, Mn, Sr
Cristaux et raies utilisés	PET: Ca K α ; Mn K α ; Sr L α TAP: Mg K α LIF: Fe K α ; Ba L α

Tableau 4.11. Conditions analytiques utilisées à la microsonde électronique (Centre Camparis, IPG, Paris VI).

Deux sections de la coquille M77 ont été analysées, perpendiculairement aux incréments de croissance mais aussi le long d'un même incrément (Fig. 4.15 et 4.17; Tabl. 4.12). Les variations de composition chimique au cours du temps (perpendiculairement aux stries) seront considérées comme significatives lorsqu'elles seront supérieures aux variations le long d'un incrément formé à un instant "t" donné. Dans le cas de quelques profils, les valeurs du Ca étaient aberrantes (> 41%) et ne sont pas considérées. La teneur globale moyenne en Ca de la coquille M77 est de 38,2%. Les teneurs en Mg dans la coquille M77 varient de 709 à 1124 ppm avec un écart type relatif (RSD) toujours supérieur à 80%. Pour le Sr, les valeurs sont comprises entre 1097 et 1347 ppm avec des RSD beaucoup plus faibles, inférieures à 20 % (Tabl. 4.12).

IV.2.3.2. Le magnésium

Les profils du Mg sont comparables d'une façon globale, attestant de la reproductibilité de la technique (Fig. 4.21). Cette reproductibilité s'affirme lorsque l'on regarde 2 profils (i) d'une même section et pour une même période de temps (Fig. 4.22-A) et (ii) de 2 sections conjointes (Fig. 4.22-B). Cependant, si cela est vrai pour l'allure générale du profil, il n'en est pas de même pour les nombreux pics de Mg observés. Cela peut s'expliquer en partie par des décalages liés à l'attribution des dates pour chaque point mais serait plus probablement dû au fait que les teneurs en Mg sont inférieures à la limite quantitative de détection et que l'on se trouve donc en deçà des capacités de la microsonde.

<i>C. concholepas</i> M77					
Date analyse	Série; Nombre de points; espacement	Période de croissance analysée	Ca (%) / RSD	Mg (ppm) / RSD	Sr (ppm) / RSD
09/12/03	50; 20 µm	27/11 au 13/12/02	38,0 / 1%	709 / 93%	/
03/03/03	167; 20 µm	31/10 au 13/12/02	38,3 / 1%	724 / 177%	1347 / 16%

<i>C. concholepas</i> M77-3					
Date analyse	Série; Nombre de points; espacement	Période de croissance analysée	Ca (%)	Mg (ppm)	Sr (ppm)
06/01/04	série 1; 150; 20 µm	17/11 au 14/12/02	/	919 / 152%	/
	série 5; 50; 10 µm	05/12 au 14/12/02	/	1107 / 119%	/
07/01/04	série 1b; 34; 20 µm	08/12 au 14/12/02	/	1124 / 169%	1097 / 12%
03/03/04	115; 20 µm	18/11 au 13/12/02	38,3 / 0,4%	475 / 79%	1214 / 13%
06/01/04	série 2, 3, 4; 3 x 10	le long d'une strie	/	360 / 30%	/

Tableau 4.12. Description des profils réalisés à la microsonde sur la coquille de *C. concholepas* M77 et valeurs moyennes de Ca, Mg et Sr. Les valeurs manquantes sont liées à des problèmes analytiques (valeurs trop élevées pour Ca et limites de détection trop faibles pour le Sr).

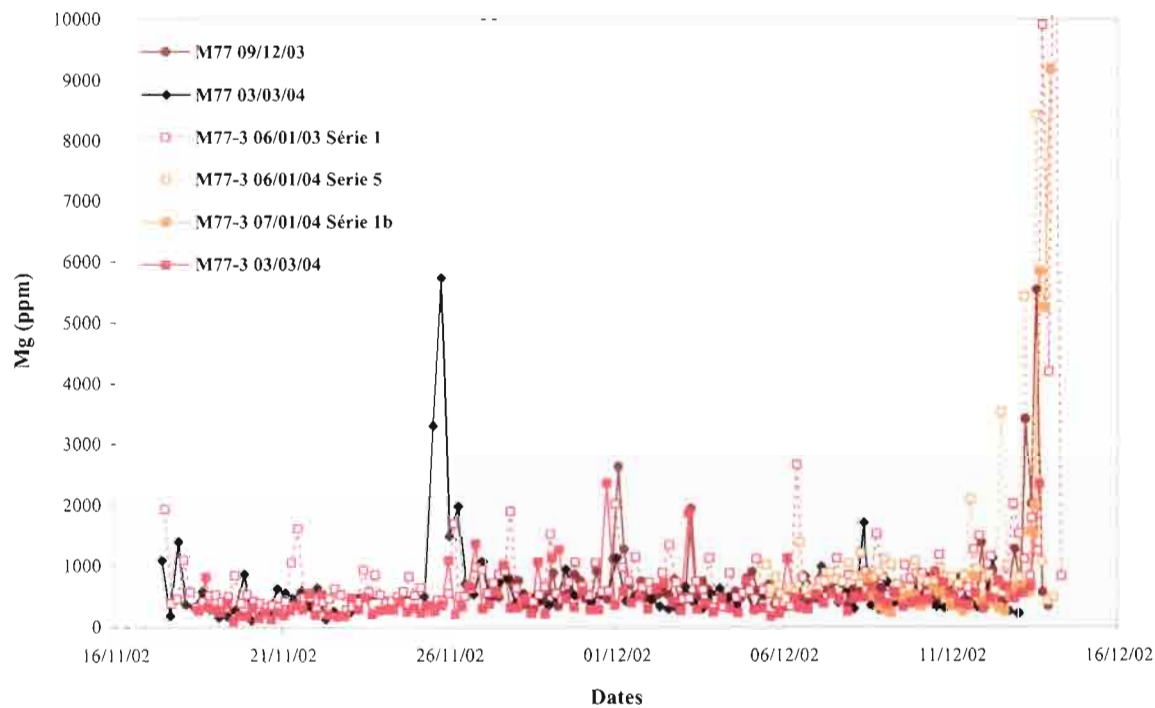


Figure 4.21. Profils de magnésium réalisés dans la coquille de *C. concholepas* M77.

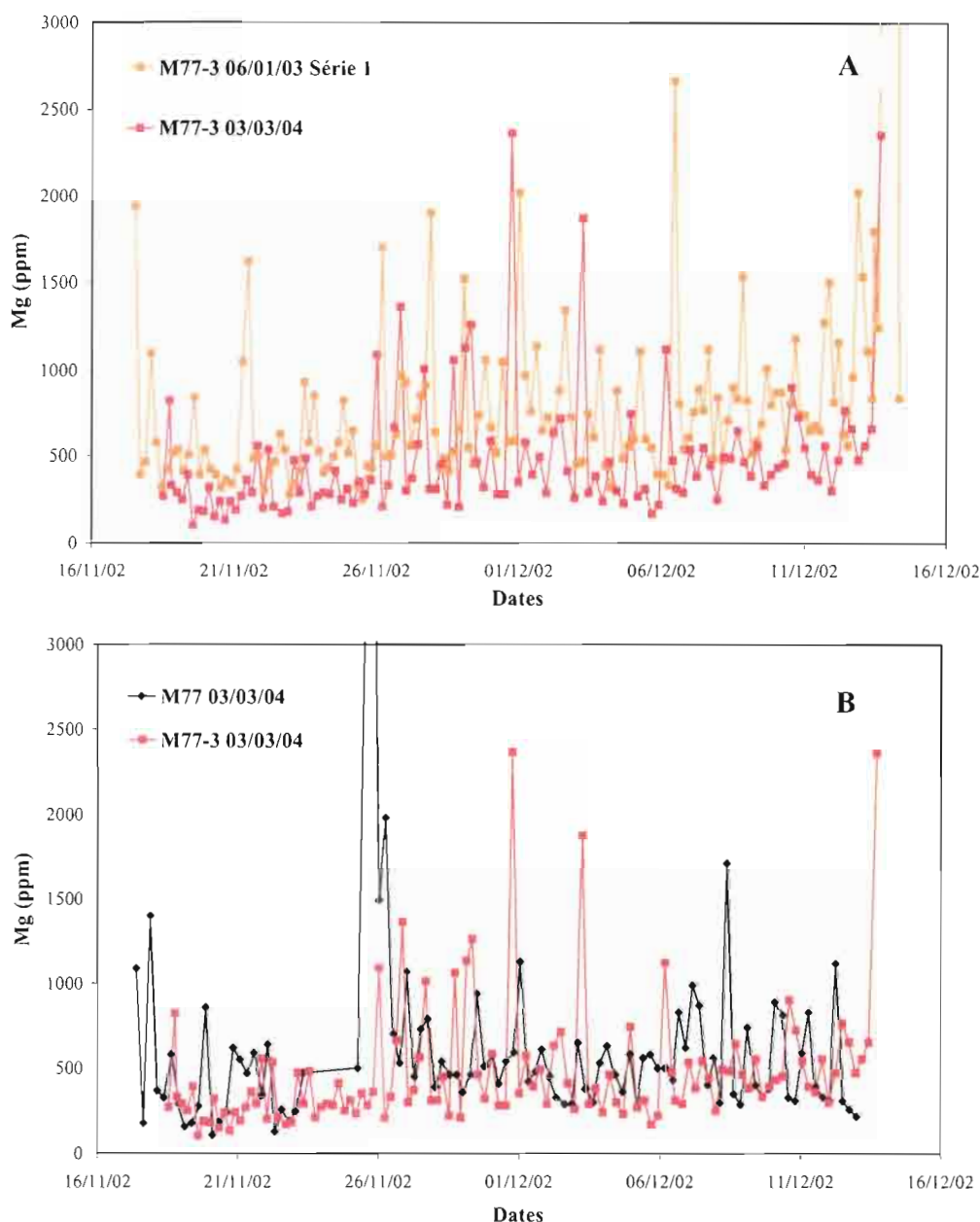


Figure 4.22. Reproductibilité des analyses du magnésium dans la coquille M77. A/ Profils réalisés dans la même section de coquille (M77). B/ Profils réalisés dans deux sections conjointes, M77 et M77-3 (cf. Fig. 1 et 2).

Concernant les teneurs en Mg de la coquille M77, on observe des valeurs élevées (> 2500 ppm) à chaque début de profil; soit dans les parties récentes de la coquille, soit en milieu pour le cas du profil M77 03/03/04 réalisé en 2 fois (Fig. 4.18 et 4.22-B). Ceci pourrait être lié à un problème de couplage entre la microsonde et l'échantillon en début d'analyse. Les moyennes de Mg peuvent alors être re-calculées en faisant abstraction de ces points aberrants ce qui nous donne une valeur de 630 ppm, tous profils confondus.

IV.2.3.3. Le strontium

De la même façon que pour le Mg, les profils de Sr obtenus sont comparables globalement mais pas point par point (Fig. 4.23). La variabilité le long des profils est inférieure à 20% par rapport à la moyenne (Tableau 4.12) mais elle pourrait être significative considérant que les teneurs en Sr dans la coquille sont supérieures aux limites de la microsonde. Cependant, il est nécessaire de vérifier que la variabilité le long d'une même ligne de croissance est bien inférieure à ces 20% observés perpendiculairement à la croissance.

Une première comparaison d'un profil de Sr/Ca avec la température (Fig. 4.24) enregistré pendant la formation de la coquille, semble montrer une assez bonne corrélation (Fig. 4.25). Cela laisse supposer que le Sr/Ca pourrait être un traceur de la température chez *C. concholepas*.

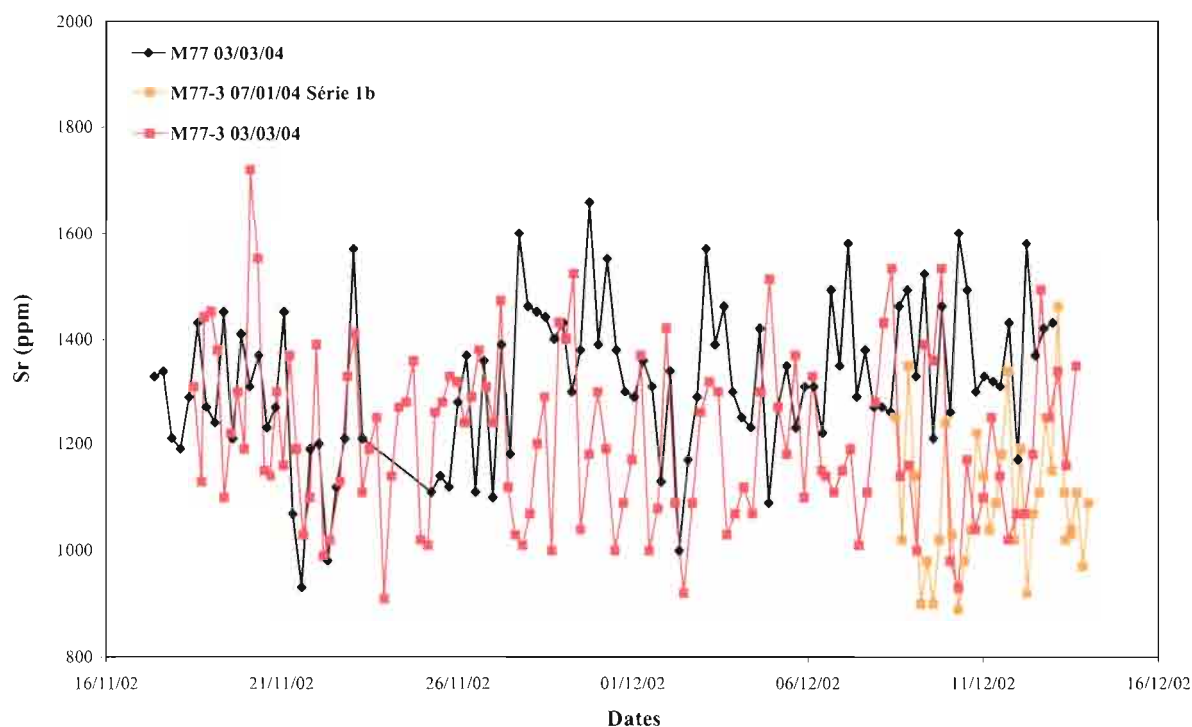


Figure 4. 23. Reproductibilité des analyses du Sr dans la coquille M77, au sein d'une même section (M77-3 07/01/04 et 03/03/04) et dans deux sections conjointes (M77 et M77-3).

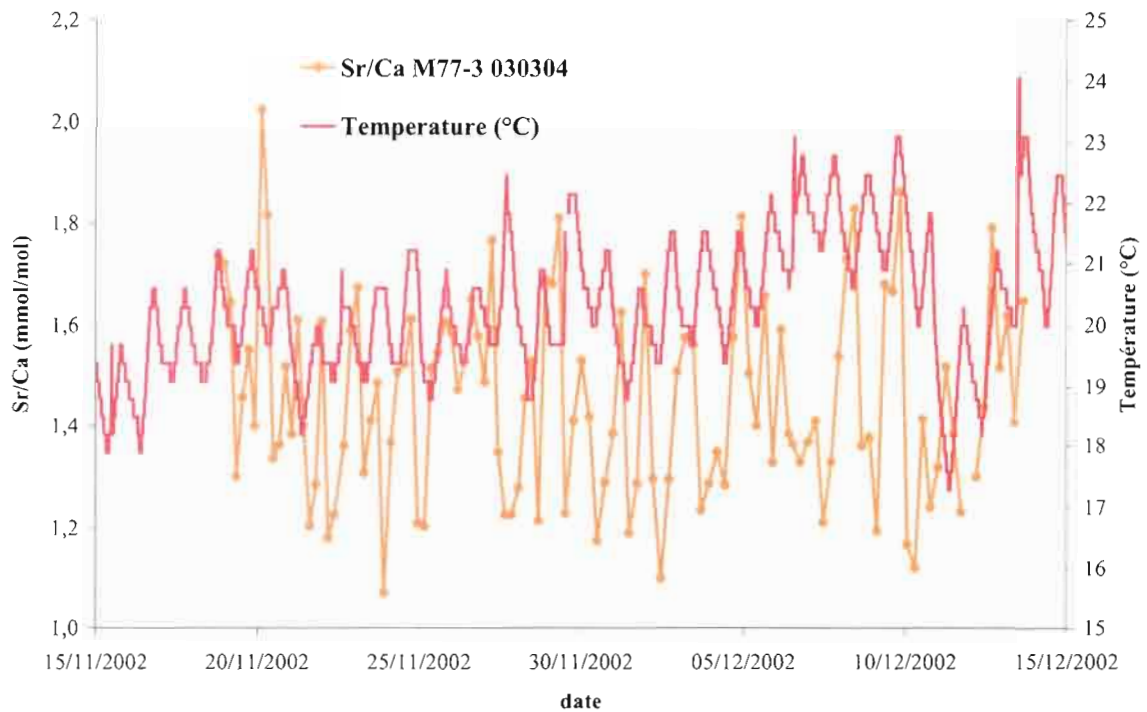


Figure 4.24. Rapport Sr/Ca dans la coquille M77 (section M77-3 du 03/03/04) et température

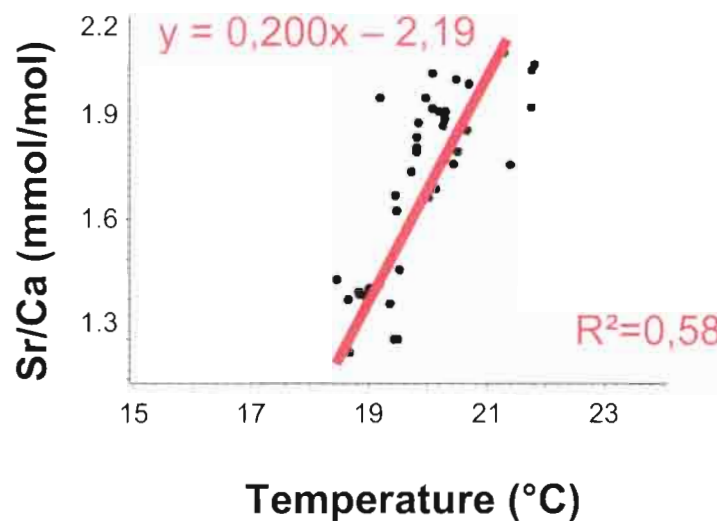


Figure 4.25. Corrélation du rapport Sr/Ca des séries analysées à la microsonde (EMP) et données de température moyennées par jour (analyse par SAS).

A la différence de la technique par laser qui offre un meilleur contrôle visuel sur la position des échantillons, cette technique ne permet pas de définir précisément la zone d'échantillonnage, et donc la période de croissance couverte. L'espacement des points et les données de température enregistrée (tidbit) n'étant pas en phase, nous avons dû faire une analyse de corrélation statistique avec le logiciel SAS, en faisant d'abord les moyennes

par jour pour les deux paramètres, puis une moyenne mobile de 3 jours afin d'éliminer le bruit résultant des analyses à haute résolution, avant de comparer les données. Cette analyse donne une corrélation significative entre les deux paramètres avec un coefficient $\alpha < 0,05$.

IV.2.3.4. Comparaison microsonde/ablation laser

Les teneurs en Mg obtenues avec l'ablation laser (procédure de calibration, cf. § IV.2.3.1) dans la coquille M77 sont tout à fait comparables avec celles obtenues à la microsonde électronique (Fig. 4.26). La différence observée pour les moyennes générales, autour de 500 ppm pour le laser et 630 ppm pour la microsonde, est attribuable au "bruitage" des profils qui est très important avec la microsonde électronique. Cette différence reste malgré tout faible et montre que la calibration choisie pour les données LA-ICP-MS donne de très bons résultats quantitatifs, ce qui tend à valider cette méthode.

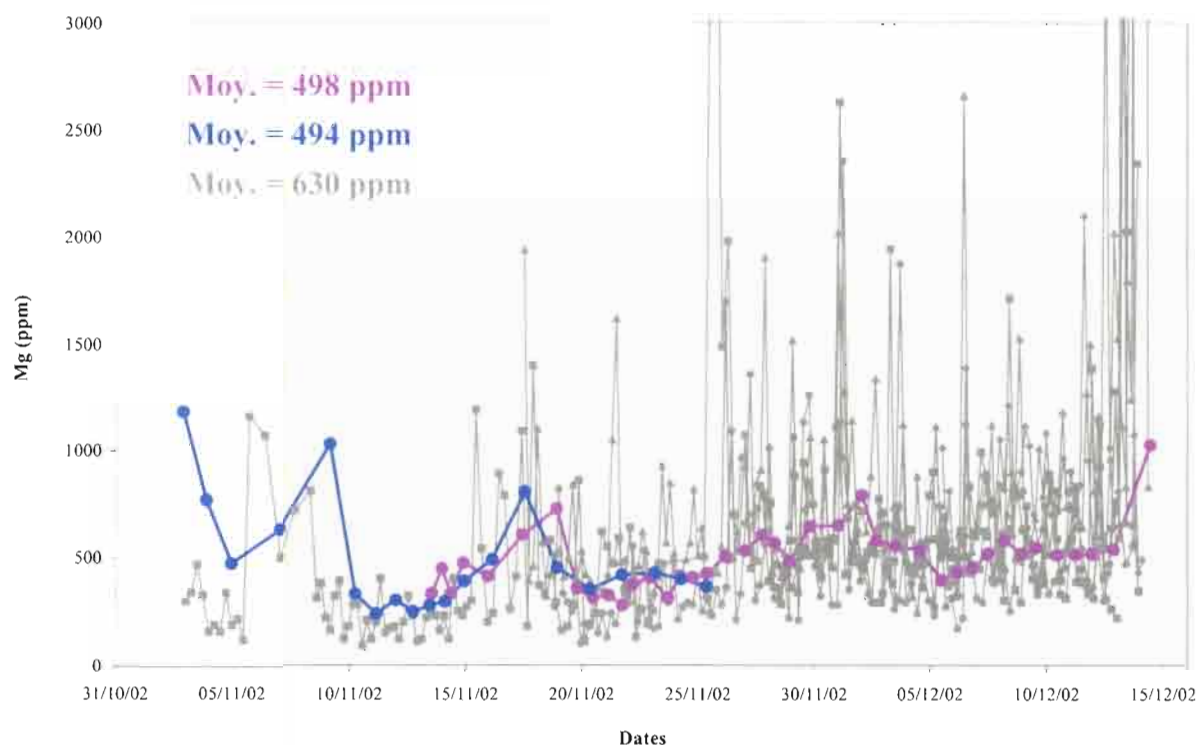


Figure 4.26. Profils du Mg dans la coquille M77 obtenus à l'ICP-MS à ablation laser (couleur) et par microsonde électronique (grisé).

IV.3. Etude géochimique par spectrométrie de masse (isotopes de l'oxygène)

IV.3.1. Quelques rappels théoriques

Depuis les travaux d'Urey et collaborateurs (Epstein *et al.*, 1951; Urey *et al.*, 1951; Epstein *et al.*, 1953), l'analyse des isotopes stables de l'oxygène et du carbone de coquilles

carbonatées joue un rôle essentiel dans les reconstitutions paléoenvironnementales. Ces travaux ont mis en évidence que la composition isotopique de l'oxygène des carbonates de coquilles est une fonction de la température et de la composition isotopique de l'eau du milieu où se produisent les processus de biominéralisation. Cette relation permet théoriquement, si l'on connaît la composition de l'eau de mer, de déterminer la température au moment de la précipitation, en analysant le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles.

Des nombreuses études suggèrent que le $\delta^{18}\text{O}$ est contrôlé uniquement par la température et le $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer (Hickson *et al.*, 1999; Richardson, 2001). En revanche, la détermination des facteurs contrôlant la composition isotopique du carbone des squelettes carbonatés est plus délicate, étant donné que en plus des facteurs environnementaux comme la composition du carbone inorganique dissous de l'eau de mer, des facteurs biologiques tels que la respiration peuvent influencer la composition isotopique du carbone incorporé lors de la biominéralisation de la coquille (Vander Putten *et al.*, 2000)

Dans les biocarbonates, des effets cinétiques et/ou métaboliques peuvent induire des écarts par rapport à une précipitation de calcite inorganique (Mitchell *et al.*, 1994). Ces effets cinétiques, sont particulièrement importants lors de taux de précipitation élevés, probablement en raison de temps de calcification trop courts pour que l'équilibre isotopique soit atteint (McConnaughey, 1989; McConnaughey, 2003).

Les isotopes sont des atomes dont le noyau contient le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent. La plupart des éléments possèdent plus d'un isotope. Les isotopes d'un élément ont un même nombre de protons (numéro atomique), mais leur masse atomique est différente ($M = \text{neutrons} + \text{protons}$). Par exemple, tous les isotopes du carbone ont 6 protons, mais le ^{13}C a 1 neutron de plus que le ^{12}C et a donc une masse atomique supérieure. Ces différences de masse sont à la base de la théorie isotopique.

Les isotopes se distinguent également par des variations dans leur pourcentage d'abondance naturelle, l'isotope le plus léger étant généralement le plus abondant :

Carbone:	^{12}C	^{13}C	^{14}C
	98,89%	1,1%	0,1%
Oxygène:	^{16}O	^{17}O	^{18}O
	99,76%	0,037%	0,204%

Dans le système solaire, tous les isotopes sont en mélange mais la répartition des isotopes d'un élément est constante en tout point du système obéissant à la loi

d'homogénéisation isotopique initiale (brassage à l'origine de la formation du système solaire). Les isotopes les plus légers, stables, sont toujours les plus abondants.

Bien que, par définition, les isotopes d'un élément puissent entrer dans les mêmes réactions *chimiques*, ils ne se comportent pas *physiquement* de la même façon, du fait de leur différence de masse. Par conséquent, lors d'une réaction ou d'un changement de phase (condensation, évaporation, cristallisation), les deux isotopes sont "en compétition", et leurs proportions dans le composé qui se forme seront différentes de celles du composé de départ. La transformation aura introduit un fractionnement.

Ce phénomène peut avoir une origine cinétique, c'est-à-dire que l'un des isotopes est plus vite utilisé par la réaction que l'autre.

On définit un facteur de fractionnement $\alpha = K^{1/n}$

où **n** = nombre d'atomes échangés (ici, 1 donc $\alpha = K$)

K = constante d'équilibre = rapport [produits] / [substrats]

A 25°C, $K = 1,0286$ (taux de transfert à l'équilibre de 28,6‰)

K est fonction de la température : pour des températures inférieures aux conditions ambiantes, K est proche de $1/T$. Ce qui signifie que plus la température baisse, plus la séparation augmente (à la limite, au zéro absolu, la séparation est totale).

Pour les températures supérieures aux températures ambiantes,

$\log K \approx \frac{1}{T^2}$ et le fractionnement tend vers zéro.

Tout processus métabolique met en jeu ce type de fractionnement où les isotopes les plus légers sont plus facilement mobilisés. Ainsi, la photosynthèse fixe préférentiellement le ^{12}C que le ^{13}C . Le transfert de matière organique dans le réseau trophique fait que la respiration produit préférentiellement du ^{12}C .

Les rapports isotopiques d'un même élément peuvent être mesurés par spectrométrie de masse. Le principe du spectrographe de masse consiste à ioniser par des électrons une molécule A. Celle-ci va donc donner une entité A^+ ayant perdu un électron. A^+ va pouvoir se scinder en plusieurs groupements (chargé + ou non) plus petits, ou bien se réarranger.

On accélère alors ces particules par un champ électrique, puis elles sont déviées par un champ magnétique. Le nombre de molécules aura une incidence sur la plaque sensible du détecteur.

Les organismes à tests calcaires tel que les mollusques marins élaborent leur test (CaCO_3) à partir des molécules en solution dans l'eau de mer (HCO_3^-). L'analyse par

spectrométrie de masse des carbonates de ces tests permet donc de calculer un $\delta^{18}\text{O}$ défini ainsi :

$$\delta^{18}\text{O}(\text{‰}) = \left[\frac{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{échantillon}}}{\left(\frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}}\right)_{\text{PDB}}} - 1 \right] \times 1000$$

Quelques géochimistes expriment leurs résultats par rapport au référentiel SMOW (Standard Mean Ocean Water). La relation entre ces valeurs est:

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{PDB}} = 1.03086 \delta^{18}\text{O}_{\text{SMOW}} + 30.86$$

Comme nous l'avons déjà mentionné, la composition isotopique des carbonates dépend à la fois de la température de l'eau et de la composition isotopique de l'eau de mer au moment de leur précipitation. Cette dépendance a été calibrée expérimentalement par Epstein et collaborateurs (1953) sur des coquilles de gastropodes élevés en laboratoire. La relation est la suivante:

$$\text{Température}(\text{°C}) = 16.9 - 4.2 \times (\delta\text{c} - \delta\text{e})^2$$

où δc représente le $\delta^{18}\text{O}$ des carbonates et δe le $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer au moment de la précipitation.

IV.3.2. Analyses spectrométriques classiques avec échantillonnage au Micromill

Les mesures isotopiques ont été effectuées au laboratoire du LODYC, Paris VI avec la collaboration de C. Pierre, JF Saliège et M. Mandeng-Yogo.

L'échantillonnage a été fait à l'aide d'un système Micromill (*Merchantek®*), qui dispose d'une perceuse équipée d'un micro-foret de 0,3 mm et d'un logiciel de commande qui permet faire des prélèvements précis en suivant, par exemple une même ligne de croissance. Avec ce système on arrive à obtenir des échantillons de poudre de calcite en quantité suffisante pour l'analyse au spectromètre de masse (entre 100 et 120 μg), tout en gardant une résolution temporelle de 1 à 3 jours de formation de la coquille (Fig. 4.27 et 4.28).



Figure 4.27. Echantillonnage d'une coquille de *C. concholepas* avec le micromill. L'échelle représente 0,5 mm

Sachant que la calcite et l'aragonite possèdent des facteurs de fractionnement (eau-minéral précipité) différents (Romanek *et al.*, 1992), il est nécessaire de ne pas mélanger les deux espèces minéralogiques. Dans cette étude nous ne nous sommes intéressé qu'à la calcite, les prélèvements ayant été réalisés uniquement dans la couche externe prismatique.

Des essais de préparation d'échantillons de poudre de calcite de *C. concholepas* dans un four à plasma (avec un flux d'oxygène et sans augmentation de la température) dans le but d'éliminer une partie de la matière organique, n'ont pas été concluants. Nos tests démontrent que le four à plasma ne modifie pas les résultats isotopiques et entraîne en revanche une augmentation de la marge d'erreur. Nous avons donc décidé d'analyser les échantillons de calcite sans passage préalable au four.

Les échantillons de carbonate ont été analysés à l'aide d'un spectromètre de masse OPTIMA (dual inlet, triple collection), couplé à un système automatique d'attaque des carbonates (bain thermostaté à 90°C d'acide orthophosphorique à 100%). Le CO₂ produit par chacun des échantillons est purifié et sa composition isotopique est comparée à celle d'un échantillon de CO₂ de référence. Les résultats sont exprimés en ‰ par rapport au PDB selon la notation :

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{CaCO}_3} = [(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{éch}} / (^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{PDB}} - 1] * 1000$$

La précision des mesures de $\delta^{18}\text{O}_{\text{CaCO}_3}$ sur l'appareil du LODYC est estimée à 0,05‰.

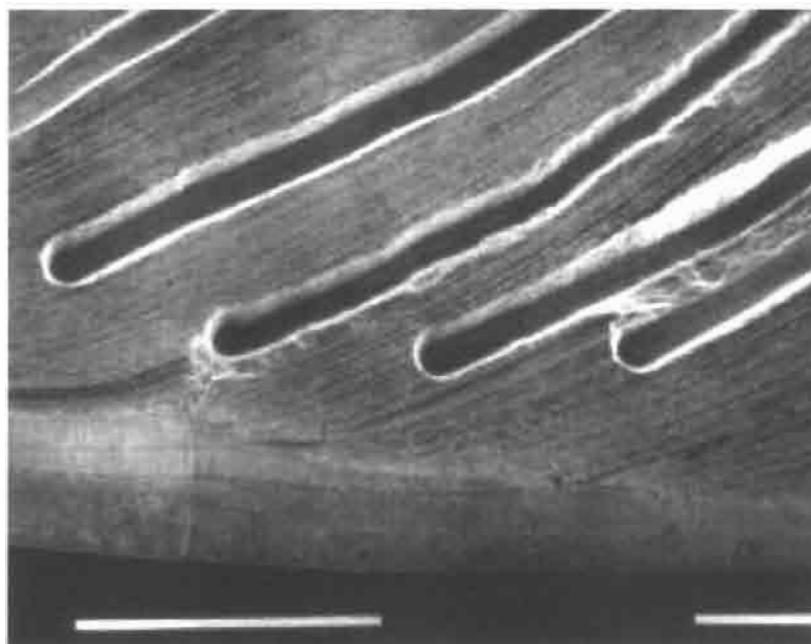


Figure 4.28. Sillons d'environ 200 μm de large, formés par le micromill lors de l'échantillonnage de la coquille M62. Les divisions de l'échelle mesurent 1 mm

Notre objectif principal étant la calibration des relations conditions de température et composition en isotopes stables dans la calcite de *C. concholepas*, nous n'avons travaillé que sur des portions des coquilles marquées avec la calcéine et formées dans un environnement dans lequel on a mesuré la température (tidbit). Ainsi, comme pour l'étude de la composition élémentaire, nous avons pu déterminer pour chaque échantillon, l'échelle temporelle correspondante. De la même façon, nous avons pu recalculer (re-échantillonner) les valeurs de température correspondant à la période de formation de la coquille qui avait été prélevée pour l'analyse isotopique. Un récapitulatif des valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$ obtenus dans la partie terminale (4 mois de croissance) de 6 coquilles de *C. concholepas* est présenté dans le Tableau 4.13.

Coquilles M74, M77, M70, M16, M20, M76

	Micromill (~18 pts/coquille)	
	$\delta^{13}\text{CCaCO}_3$ PDB (‰)	$\delta^{18}\text{OCaCO}_3$ PDB (‰)
MOYENNE	-0,72	0,93
MINIMUM	-1,60	0,20
MAXIMUM	-0,03	1,55

Tableau 4.13. Valeurs moyennes, minimales et maximales de $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ des fragments de 6 coquilles actuelles provenant du bac expérimental. La période de croissance étudiée couvre les mois de septembre à décembre 2002.

Malheureusement nous avons rencontré beaucoup de problèmes techniques avec le spectromètre de masse sur lequel nous avons travaillé, ce qui a réduit considérablement les résultats exploitables.

Les résultats des analyses effectuées dans deux coquilles actuelles sont indiqués dans la Fig. 4.29. Aussi bien dans le cas de la coquille M16 comme pour la coquille M77-2, les variations de $\delta^{18}\text{O}$ (échelle inversée) reflètent assez bien les variations de température mesurées. Comme les échantillons de poudre de calcite correspondent à des moyennes temporelles couvrant des périodes entre 1 et 3 jours, les valeurs de température sont « moyennées ». Un des échantillons de la coquille M77-2 (sans couleur, Fig 4.29B) n'a pas été considéré parce qu'au moment de l'analyse la quantité de gaz produit par la dissolution de l'échantillon carbonaté était significativement supérieure à celles des standards et d'autres échantillons, indiquant que il y a eu probablement contamination extérieure.

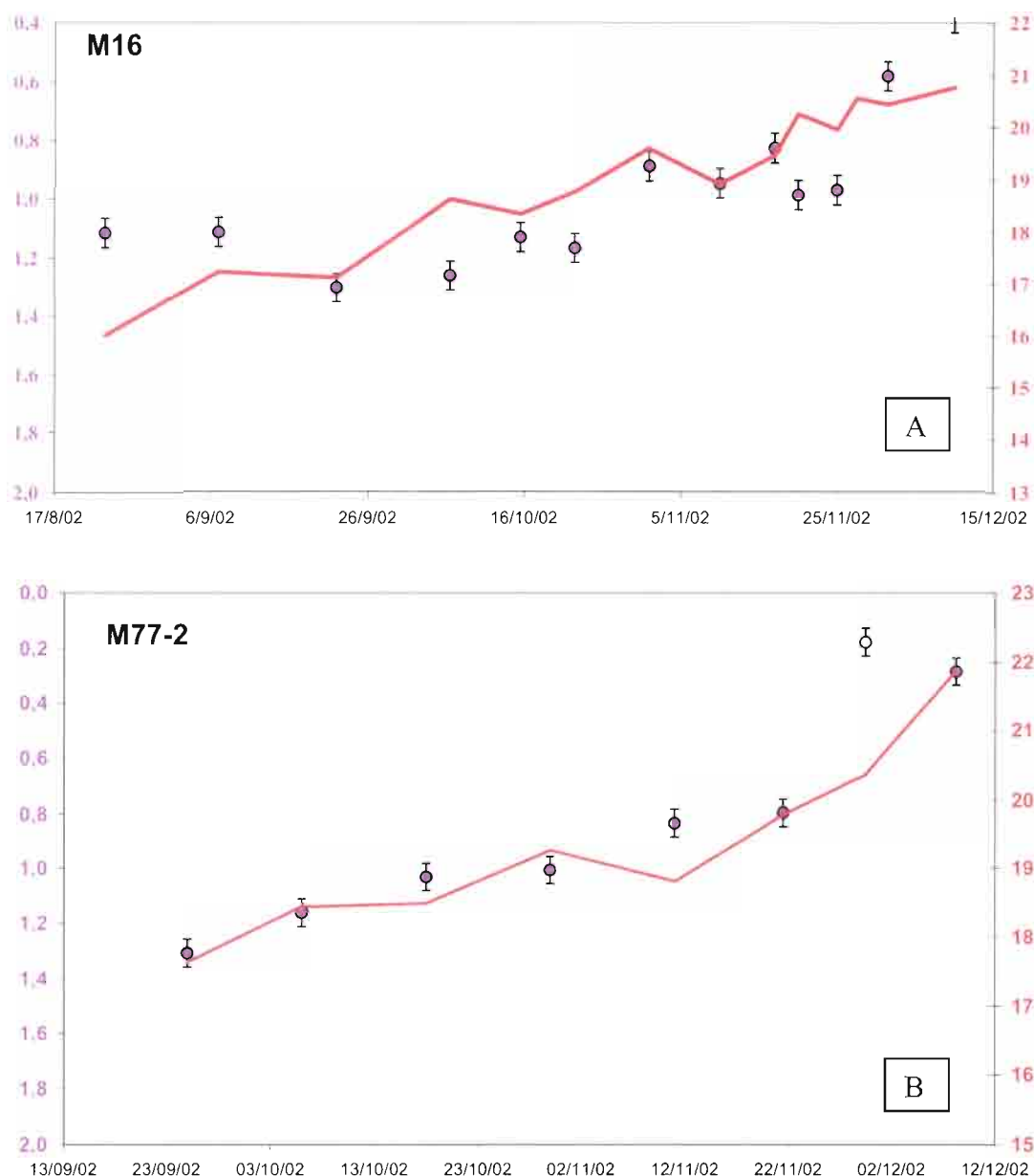


Figure 4.29: Profils de $\delta^{18}O_{PDB}$ (‰, en rose) des coquille actuelles (A, M16; B, M77-2) comparés avec la température re-échantillonnée du bac expérimental (°C, rouge).

Les résultats de l'analyse de corrélation de la température et le $\delta^{18}O$ des fragments de coquilles qui ont cru dans les bacs sont montrés dans la Fig. 4.30. Pendant les quatre mois d'expérience, les températures du bac expérimental ont varié entre 16 et 22°C. Les rapports isotopiques correspondants ont varié entre 1,6 et 0,2 ‰, montrant une claire corrélation inverse avec les valeurs de température.

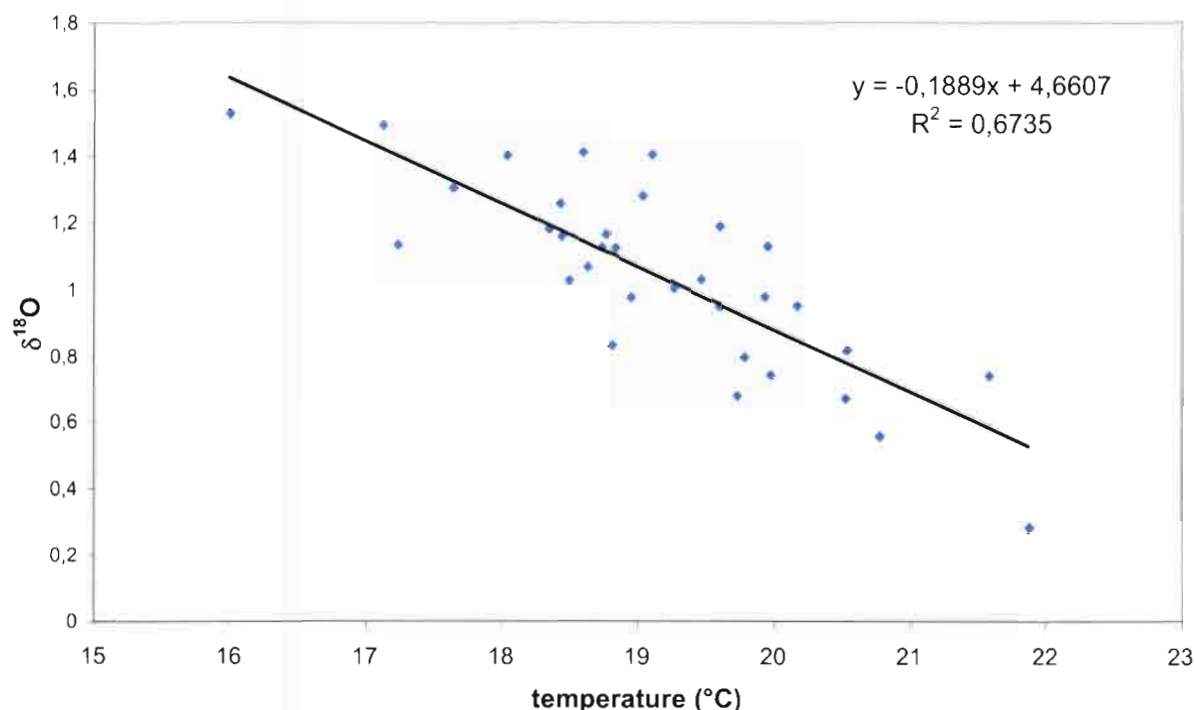


Figure 4.30. Corrélation entre le $\delta^{18}\text{O}$ de plusieurs coquilles marquées à la calcéine et la température du bac expérimental.

Ces premiers résultats sur des coquilles actuelles, démontrent que la corrélation entre les deux paramètres est hautement significative ($\alpha < 0,05$).

Des analyses effectuées sur des coquilles actuelles provenant de l'Ile Santa Maria (ISM1-7 et ISM1-6, Fig. 4.31), couvrant plus d'une année de croissance en milieu naturel dans une zone où les températures peuvent être refroidies par les effets d'un centre d'upwelling (cf. §1.5.2), montrent des valeurs en $\delta^{18}\text{O}$ plus positives que les échantillons de coquille des bacs (Fig. 4.31).

Des résultats préliminaires sur des coquilles fossiles (cf. annexe A.1) formées durant divers épisodes interglaciaires du Pléistocène, dont on peut considérer a priori qu'ils représentent des conditions climatiques comparables à l'actuel, sont relativement semblables (Fig. 4.31).

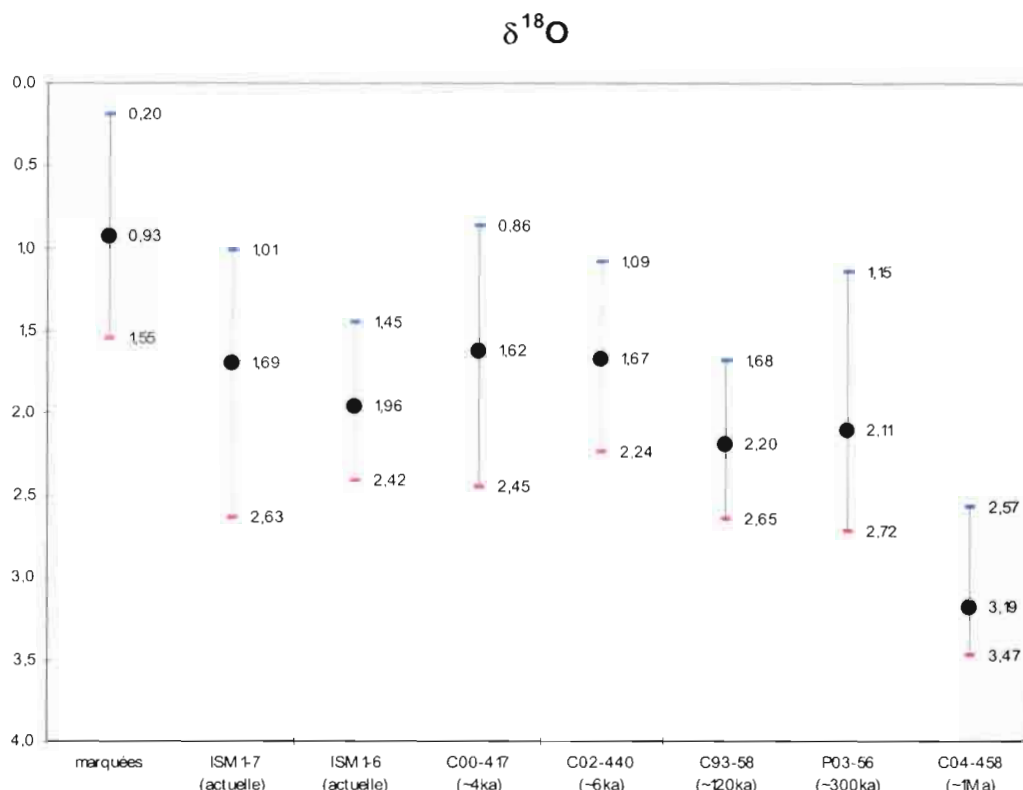


Figure 4. 31. Gamme de variation de la composition isotopique en ^{18}O de la calcite de coquilles actuelles et fossiles de *C. concholepas*. Détails de provenance et âge estimé des coquilles fossiles dans l'Annexe A1.

Seul l'échantillon le plus ancien donne des valeurs plus positives (de l'ordre de +2,5). En l'absence de toute analyse microstructurale détaillée sur ce dernier échantillon fossile, on se gardera d'interpréter la valeur de l'information recueillie. Cette valeur peut aussi bien refléter des problèmes d'altération diagénétique ou être une indication d'eau plus froide (ou encore marquer un épisode de $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau du milieu plus positif qu'actuellement).

IV.3.3. Analyse localisée à très haute résolution, sur SIMS (CRPG, Nancy)

La microsonde ionique est un instrument qui permet des microanalyses in situ de minéraux dans des échantillons préparés comme des sections polies standard.

La microsonde ionique, en général, utilise un faisceau d'ions primaires de grande énergie qui bombardent la surface d'un échantillon pour en extraire des ions secondaires. Ces ions sont ensuite accélérés et triés par masse atomique.

Sur chaque standard, on mesure un $\delta^{18}\text{O}$ "mesuré" et on le compare au $\delta^{18}\text{O}$ vrai, mesuré par une autre technique (dilution isotopique). La différence entre ces 2 valeurs est le fractionnement instrumental. Ce fractionnement change chaque jour. Il faut vérifier que

la différence de $\delta^{18}\text{O}$ mesurée entre les deux standards est la même que la différence vraie.

Standards utilisés: $\text{MEX} = \delta^{18}\text{O}_{\text{mex}} : 23.64$

Nous avons travaillé sur la même coquille qui a servi pour la première séance du LA-ICP-MS, ce qui a été très utile pour le positionnement des échantillons. En effet, le SIMS réalise des analyses sur des surfaces bien polies qui rendent impossible le repérage des incréments de croissance. L'analyse se fait à "l'aveugle", donc nous avons essayé de faire les mesures à proximité immédiate des cratères formés par le "laser". La taille d'échantillons obtenus a été de l'ordre de 60 μm (Fig.4.32).

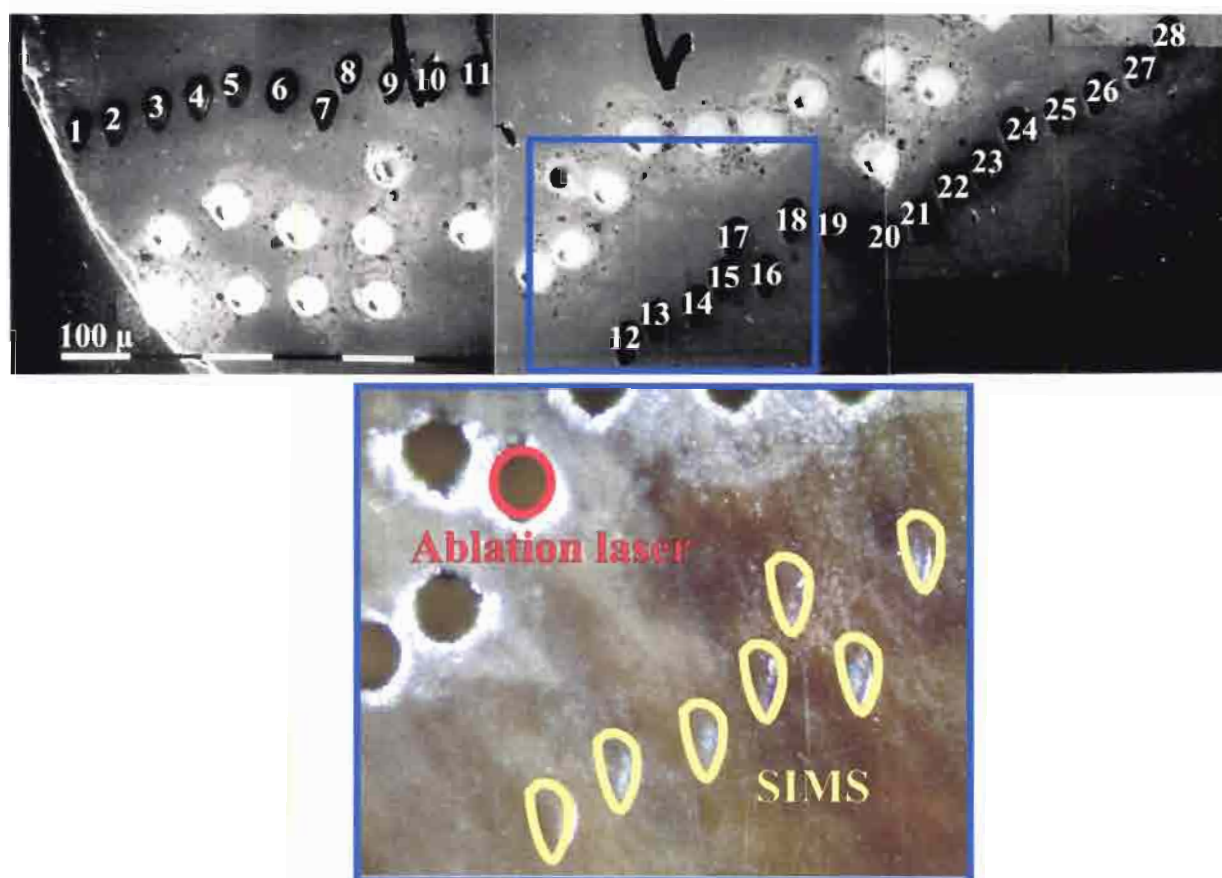


Figure 4.32. Echantillons SIMS dans la coquille M77. Le diamètre de chaque point est d'environ 60 μm .

Une fois terminée la série d'analyses, nous avons re-poli l'échantillon pour enlever la métallisation et accéder à l'observation des incréments de croissance. Des dates ont été assignées à chaque point d'échantillonnage et les températures ont été re-échantillonnées pour la période couvrant chaque échantillon, de la même façon que pour les analyses LA-ICP-MS et EMP. La comparaison entre le profil obtenu et la température est indiquée Fig. 4.33.

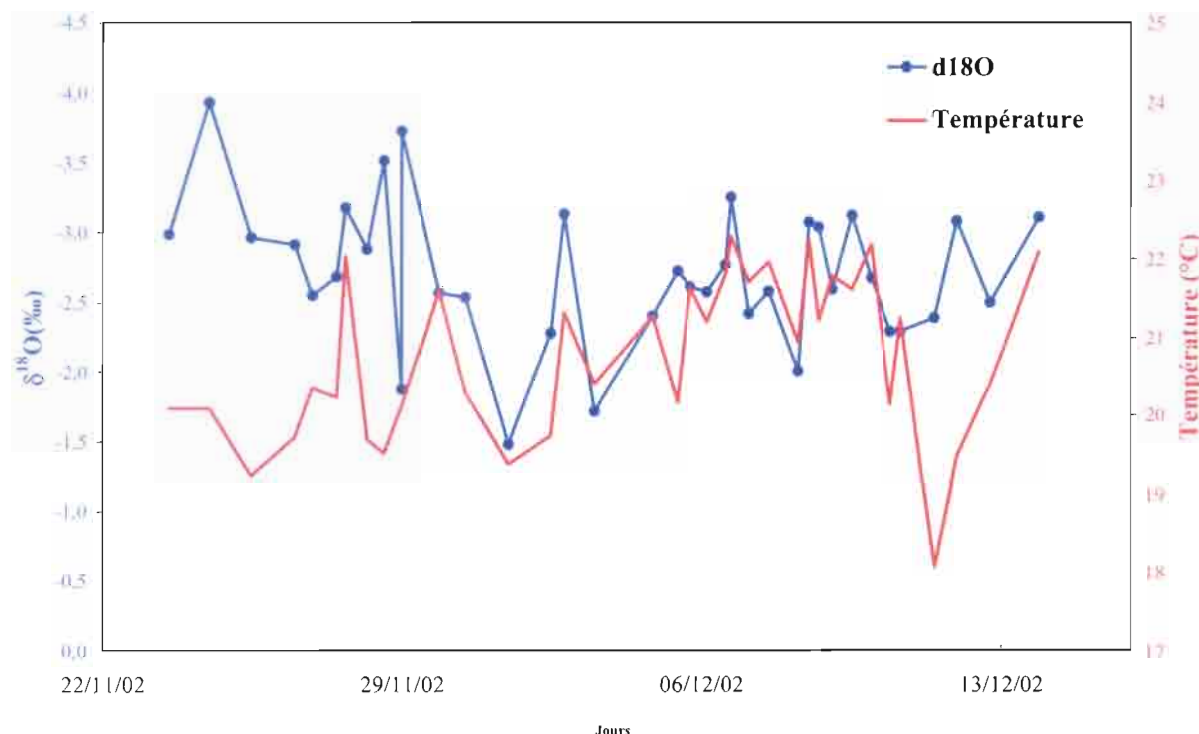


Figure 4.33: Profil du $\delta^{18}\text{O}$ de la coquille M77, analysée avec la microsonde ionique Cameca IMS 1270

La corrélation entre $\delta^{18}\text{O}$ et la température du milieu est assez bonne, tout au moins dans certains fragments du profil. Malheureusement une seule séance d'analyses a pu être effectuée dans le laboratoire du CRPG à Nancy (longue file d'attente pour cet instrument national). Il est regrettable aussi que la méthodologie n'ait pas pu être testée de manière adéquate, préalablement à la seule séance où nous avons eu accès à l'instrument. Ainsi, les valeurs obtenues, corrigées seulement par rapport au fractionnement instrumental, ne sont pas comparables aux valeurs obtenues par la méthode classique (cf. § 4.3.2). Une nouvelle séance de mesure sur le SIMS est prévue mi-juin 2004, et nous espérons pouvoir vérifier, à ce moment, les premières données, et obtenir des séries plus longues pour vérifier la linéarité de la relation entre température et $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite de coquilles de *C. concholepas*. Ce n'est qu'ensuite que l'on envisagera de proposer une équation de calibration $\delta^{18}\text{O}$ -température du milieu.

IV.4. Interprétation des variations de la composition chimique des coquilles

Le carbonate de calcium des tests de mollusques contient des éléments mineurs et traces, dont les plus importants sont Na, Sr et Mg. Les concentrations de ces éléments sont

variables pour chaque taxon et, au sein du test d'un même individu, pour chaque couche minéralogique et/ou microstructurale.

Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes intéressé particulièrement à deux éléments: Mg et Sr. Le paramètre primordial réglant la concentration du Mg et du Sr dans les coquilles de mollusques est la minéralogie. Cette relation s'explique par la différence de rayons ioniques du Sr, du Mg et du Ca, et par les structures des réseaux cristallins de l'aragonite et de la calcite. Dans la calcite, le Mg dont le rayon ionique est inférieur à celui du Ca, remplace facilement ce dernier, d'autant que calcite (CaCO_3) et magnésite (MgCO_3) ont le même type de réseau cristallin rhomboédrique. D'un autre côté, l'incorporation d'ions Sr^{++} ou le remplacement d'ions Ca^{++} par des ions Sr^{++} ne se font aisément que dans le réseau orthorhombique de l'aragonite. Ainsi, les tests calcitiques de mollusques contiennent systématiquement plus de Mg et moins de Sr que les tests aragonitiques.

Un autre facteur qui influence la concentration en Mg de la calcite biogénique, reconnu depuis longtemps (Chave, 1954), est la température. Le rôle de la température dans la régulation de la concentration en Sr dans des tests de calcite n'a été abordé que par quelques auteurs (Dodd, 1965). D'autres facteurs, tels la salinité du milieu, l'âge des organismes, leur vitesse de croissance et l'activité métabolique ont été considérés comme des paramètres qui pourraient également jouer un rôle sur les teneurs en éléments mineurs et traces.

Les résultats obtenus sur les tests de *C. concholepas*, tant par les mesures "globales" (par couche minéralogique) que par les mesures ponctuelles, utilisant différentes techniques, indiquent sans ambiguïté que la couche calcitique de cette espèce présente des teneurs en Sr comparables à celles en Mg. Ceci est donc une particularité remarquable de ce taxon.

L'objectif initialement fixé de préciser la relation entre variations de concentration en Mg dans la couche calcitique et variations de la température du milieu de formation des coquilles n'a pas été atteint. Les mesures effectuées tendent à montrer que des paramètres (encore non identifiés) perturbent la corrélation entre température et concentration en Mg. On sait par exemple que les concentrations en Mg sont étroitement dépendantes des activités métaboliques, au point que certains auteurs ont proposé d'utiliser ces variations de teneurs comme proxy de la physiologie des mollusques (Rosenberg *et al.*, 2001). De nouvelles analyses sur des coquilles provenant du milieu naturel (dans des conditions non artificielles, contrairement à notre cas d'étude où de fortes températures ont probablement

altéré l'état physiologique des organismes), accompagnées d'un suivi des conditions physico-chimique du milieu (salinité) devraient permettre de résoudre ce problème.

Pour ce qui concerne le Sr, des problèmes de seuil de détection et de représentativité des résultats ont été rencontrés, de sorte que la situation n'est pas meilleure. Les variations de teneurs mesurées ne sont pas très importantes, tout au moins pendant les périodes courtes couvertes par les analyses. Comme pour le Mg, des nouvelles analyses s'imposent avant de pouvoir définir la valeur de ce proxy géochimique.

Bien que une bonne corrélation entre la température et les analyses d'isotopes stables de l'oxygène par la méthode traditionnelle ait été trouvée, il serait encore prématuré de proposer une équation de calibration pour cette espèce. Rappelons enfin que l'accès au SIMS ne nous a été permis qu'une fois, et que nous ne pouvons pas non plus tirer des premières mesures des conclusions définitives.

CHAPITRE V
CONCLUSIONS

CHAPITRE V: CONCLUSIONS

V.1. Les atouts de l'espèce étudiée

L'espèce étudiée, *Concholepas concholepas*, est un gastropode dont l'aire de répartition géographique est limitée aux côtes du Pérou et du Chili. Sa chair, plus précisément son large pied, a toujours été fortement appréciée par les populations côtières de la région, comme en témoignent les abondantes accumulations de coquilles de cette espèce trouvées dans de très nombreux sites archéologiques côtiers. Les quantités de coquilles fossiles, et leur distribution tout au long des côtes rocheuses du Chili et du Pérou, font de cette espèce l'un des taxons les plus appropriés pour des études comparatives au cours des temps préhistoriques et sur un large transect latitudinal (6°-54°S). Cette vaste distribution spatiale implique que l'organisme présente une grande adaptabilité aux conditions de milieu et aux variations des paramètres océanographiques.

Dans le cadre des études qui, telles le projet CONCHAS (PNEDC), visent à déterminer quels genres et espèces de mollusques sont susceptibles d'être utilisés comme marqueurs à haute résolution des variations de conditions littorales, et notamment des variations de température des eaux côtières, *C. concholepas* présente plusieurs avantages, en plus de sa large distribution spatiale. L'un des premiers atouts de ce gastropode est sa grande taille qui rend possible des analyses géochimiques à haute résolution sur des incréments de coquille. Un autre atout est sa vitesse de croissance, qui permet d'atteindre une analyse des accroissements sub-quotidiens. Ce dernier caractère fournit les conditions d'une calibration de proxies géochimiques dans la mesure où les variations de température au cours d'un nycthémère sont susceptibles d'être enregistré dans la géochimie de la coquille.

Un autre atout propre à ce gastéropode tient à sa structure minéralogique et aux caractéristiques microstructurales de son "cortex", la couche de calcite prismatique externe. Malgré les difficultés rencontrées dans une première approche de l'analyse structurale de la coquille, qui ne révélait pas de structure de micro-incréments de croissance au MEB, il a finalement été possible de mettre en évidence les couches de croissance diurnes et nocturnes de cette espèce. Grâce à la méthodologie utilisée, sur laquelle nous revenons plus loin, il a été montré que *C. concholepas* forme des incréments unitaires de façon continue à un rythme d'ordre horaire. Ce mécanisme de biominéralisation, évidemment déterminé génétiquement, est favorable aux études de calibration géochimique puis qu'il suppose que l'organisme ne cesse pas de former d'incréments de coquilles durant de longues périodes de temps. Il se différencie des organismes, tels certains bivalves, qui sont

photosensibles et ne forment leurs incréments qu'à certains moments d'un nycthémère. Cette continuité dans le processus de biominéralisation est en fait un atout de première importance pour pouvoir aborder le problème des relations entre variations de composition chimique du test et variabilité des conditions environnementales.

V.2. La structure de la coquille

La coquille de *C. concholepas* a une structure relativement simple : une couche interne aragonitique relativement mince et une épaisse couche externe calcitique. Dans ce travail nous avons eu l'occasion de détailler, à différentes échelles spatiales, les principaux traits de la structure et de la microstructure de ces deux couches à minéralogie distincte (Fig. 5.1).

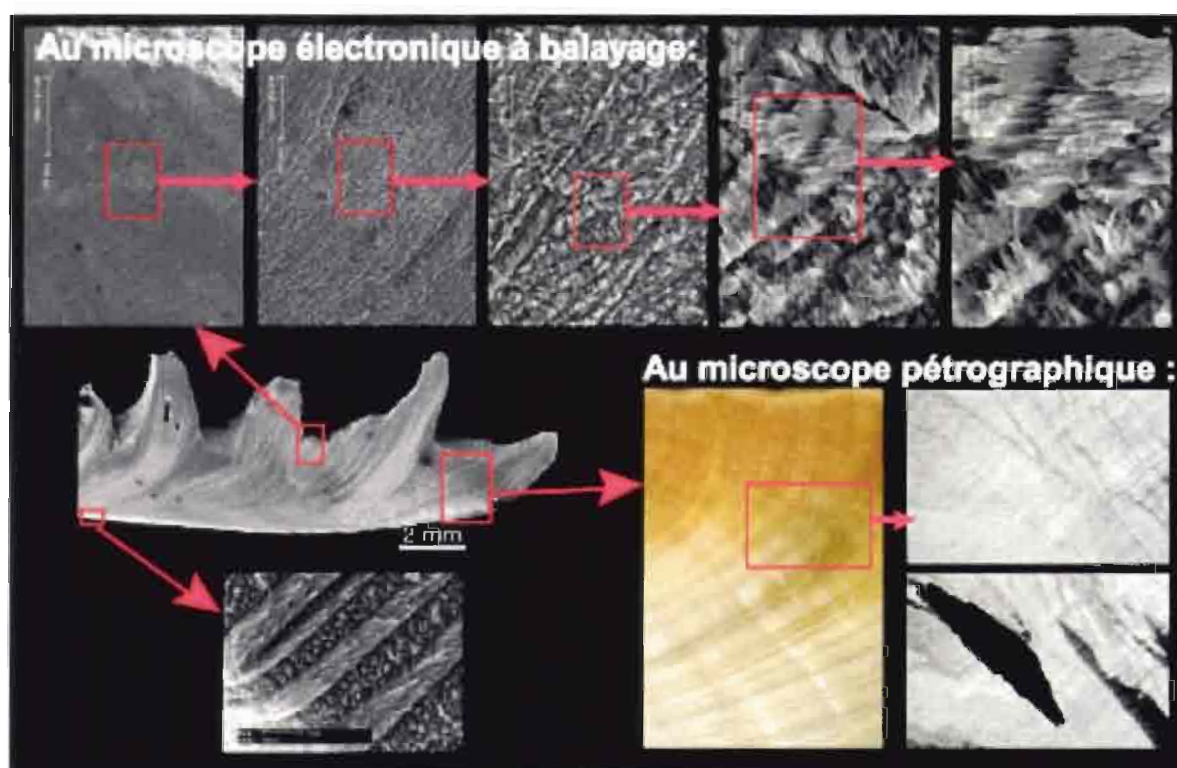


Figure 5.1. Principales caractéristiques de la coquille de *C. concholepas*, en section, au microscope optique et au MEB.

Nous avons notamment insisté sur le fait que les stries d'accroissement ou incréments n'étaient bien visibles qu'en lames minces avec lumière transmise, tandis que le MEB ne permettait d'apercevoir que difficilement et localement ces lignes de croissance. Dans la couche prismatique de calcite, il a été souligné que les cristaux étaient orientés perpendiculairement à ces lignes de croissance (Fig.5.1). Grâce à des mesures en spectrométrie infrarouge réalisées à l'aide d'un microscope, il a été montré que les deux

couches de minéralogie distinctes ne présentaient pas de zone de mélange, et étaient généralement séparées par une couche riche en matière organique. De subtiles différences dans la composition minéralogique de l'aragonite et de la calcite ont été mise en évidence par la technique FTIR (spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier), sans que l'on ait pu identifier encore clairement quelles en étaient les responsables. Il ne semble pas qu'il d'agisse d'effets diagénétiques.

Des études sur la composition de la matière organique et notamment sur l'identification des acides aminés, ont été entreprises à un niveau préliminaire. Elles ont confirmé par exemple que, du vivant même de l'organisme, se produisent certaines transformations diagénétiques précoces, au moins dans la matière organique étroitement associée aux biominéraux.

V.3. Compréhension des modalités de croissance

V.3.1. Justification des études microstructurales

Si l'un des objectifs initiaux de l'étude engagée était de déterminer des proxies géochimiques de variations de conditions environnementales dans les coquilles *C. concholepas*, il est vite apparu qu'il fallait dans un premier temps essayer de comprendre comment se forme la coquille de cette espèce. Contrairement aux nombreuses études publiées sur les mesures de variations de composition isotopique, ou de teneur en Mg ou Sr, faites en série le long de coquilles de mollusques, qui sont généralement faites « en aveugle », il nous a semblé justifié de commencer par essayer d'établir un cadre chronologique des couches carbonatées, une sclérochronologie des fragments de coquilles que l'on souhaitait analyser géochimiquement. Cette tâche s'est ensuite révélée absolument indispensable lorsque ont été entrepris les efforts de calibration sur des coquilles qui croissaient dans des environnements où l'on mesurait les variations de température (projet CONCHAS qui a démarré en 2002).

Le paradigme selon lequel les variations de conditions environnementales sont enregistrées dans la composition chimique des biocarbonates formés est fondé sur un certain nombre d'hypothèses. L'une d'entre elle est la non-interruption des phénomènes de biominéralisation. Si l'organisme cesse de croître durant certaines périodes de l'année (mois d'hiver par exemple), ou lorsque les conditions de l'environnement (disponibilité en nourriture, température) l'imposent, il est évident que l'absence de couche de biocarbonate se traduira par un déficit de signal géochimique.

Une autre hypothèse sur laquelle s'appuient les études géochimiques que l'on appellera

ici « classiques » suppose que la croissance des tests est relativement régulière. En d'autres termes, on considère souvent que la distance depuis l'apex, ou le bord externe, peut être traduite en chronologie de l'individu. Cette approximation ne devrait être envisagée que sur la base d'arguments microstructuraux qui établissent que les incréments sont de taille comparable tout au long des fragments de coquilles étudiés, et si l'on dispose de marqueurs temporels visibles (marques mensuelles ou annuelles, par exemple). Dans les cas, où la vitesse de croissance est influencée (ou même régulée) par les conditions environnementales, il devient indispensable d'identifier ces variations de vitesses de croissance pour pouvoir interpréter des mesures géochimiques qui seraient faites à des pas d'échantillonnage constant.

Des variations de vitesse de croissance dans des coquilles de mollusques peuvent également être induites par des facteurs indépendants du milieu, et qui tiennent à l'activité biologique des organismes. Les phénomènes de reproduction des organismes qui jouent sur leur métabolisme et se traduisent par une grande demande énergétique sont connus pour modifier les phénomènes de croissance, et altérer la valeur des signaux géochimiques des biocarbonates formés concomitamment. Il apparaît donc important d'essayer d'identifier dans la microstructure de la coquille les fragments qui sont susceptibles d'avoir été contemporains de tels phénomènes.

Dans le cas des études de calibration qui portent sur des périodes relativement courtes, de quelques semaines ou mois, la nécessité de s'appuyer sur des analyses microstructurales détaillées est évidente. Les mesures géochimiques que l'on développe avec des équipements sophistiqués, permettant des échantillonnages de taille réduite, doivent pouvoir être comparées à des mesures d'un paramètre tel que la température de l'eau, à des échelles de temps sub-journalières. Dans ces circonstances, on cherche à calibrer des variations de teneurs en éléments traces, ou en isotopes de l'oxygène, avec des fluctuations de température de l'ordre du degré C. Il faut donc être capable d'estimer la durée couverte par la formation de l'échantillon de biocarbonate prélevé.

Pour toutes ces raisons, l'étude s'est focalisée sur la compréhension des rythmes de croissance de l'espèce considérée et sur des recherches permettant d'établir les fondements d'une sclérochronologie de *C. concholepas*.

V.3.2. Croissance linéaire et paramètres de croissance traditionnels

Pratiquement tous les travaux antérieurs concernant la croissance de l'espèce *C. concholepas* ont été faits par des biologistes marins et des aquaculteurs qui se sont intéressés exclusivement aux paramètres morphométriques standard (longueur, largeur et

hauteur) des coquilles. Ces études visaient le plus souvent à préciser ou vérifier les variations de taille des individus en fonction de leur âge (courbes de von Bertalanffy). L'un des problèmes qui sous-tendaient ces travaux était de comparer d'une région à une autre, ou du milieu naturel à des conditions expérimentales données, les variations de vitesses de croissance de organismes. Deux travaux seulement, déjà anciens, et dont nous avons rappelé les résultats (Adlerstein, 1986; Bustos *et al.* 1986) ont tenté une approche plus spécifiquement tournée vers l'étude de la croissance de la coquille elle-même. La première étude (thèse non publiée) était orientée sur la microstructure de la coquille, avec des moyens moins performants que ceux dont on dispose actuellement, et n'a pas permis de définir clairement les particularité sclérochronologiques de l'espèce. La seconde étude (Bustos *et al.*, 1986) a également porté sur des contages d'"anneaux de croissance" de la coquille et de l'opercule, mais les résultats ont été exprimés en terme de longueur maximale ou longueur péristomale. Cette caractéristique morphométrique de la coquille, amplement utilisée par tous les auteurs, n'est pas représentative des variations de croissance chez *C. concholepas*. La relation entre la longueur péristomale (Lp) et la longueur selon l'axe de croissance maximale (Lu, distance entre l'apex et le bord de la coquille, cf. Fig. 1.17), qui en définitive donne une indication de la concavité de la coquille, peut différer considérablement d'une localité à une autre. Nous considérons que le paramètre Lu serait une caractéristique plus représentative de la croissance des organismes, et devrait donc être préféré à la longueur péristomale. Dans la Fig. 5.2, sont comparées les droites de corrélation entre les paramètres Lu et Lp, selon Bustos *et al.* (1986), et selon un calcul effectué à partir de mesures de coquilles de la série "M" (marquées et maintenues dans le bac expérimental à l'Université d'Antofagasta, cf. Annexe A.1).

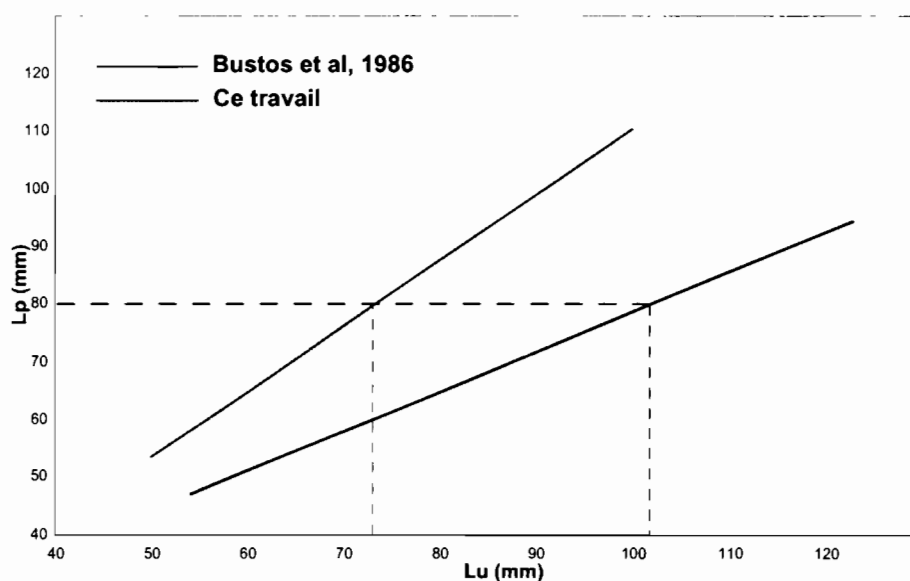


Figure 5.2. Relation entre longueur péristomale et longueur de croissance maximale dans des coquilles de *C. concholepas*, selon les données de Bustos *et al.* (1986) et les données obtenues dans ce travail.

Cette relation montre par exemple que les organismes de la zone d'Antofagasta sont plus concaves que leurs congénères de Ancud, sud du Chili. Ainsi, une coquille de 80 mm de longueur péristomale L_p a cru d'environ 72 mm (L_u) dans le sud du Chili et de plus de 100 mm dans la région d'Antofagasta. Nous considérons donc que le paramètre L_u est le seul qui permette des comparaisons interrégionales non biaisées, et préconisons que ce paramètre L_u soit systématiquement utilisé pour les études de croissance de *C. concholepas* à l'avenir.

V.3.3. Modalité de croissance à l'échelle journalière

Les premières études microstructurales effectuées dans le cadre de ce travail sur les incréments de croissance n'ont pas permis d'observer de marques temporelles significatives aux échelles mensuelle et annuelle. Malgré l'assertion de Adlerstein (1986) selon laquelle les « winter checks » seraient décelables dans la coquille de *C. concholepas* (Fig.3.3), nous n'avons pas observé de telles structures dans la plupart des coquilles analysées. La formation périodique, ou quasi périodique, des lamelles qui caractérisent la morphologie externe des coquilles de l'espèce (cf. Fig. 5.1) ne semble pas constituer des structures liées à des rythmes astronomiques (mois, années, par exemple). La régularité de leur espacement semble plutôt liée à des facteurs biologiques indépendants des conditions de milieu.

En l'absence de marqueurs saisonniers que l'on observe dans les tests de nombreux taxons de mollusques, tant gastéropodes que bivalves, il nous a fallu chercher des

marqueurs temporels à une plus petite échelle temporelle. C'est pourquoi nous avons entrepris des opérations de marquage qui fournissent un moyen de contrôle initial et qui comportaient une phase de croissance, dans le milieu naturel ou en environnement artificiel, suivi d'un sacrifice. L'examen de sections de coquilles nous a effectivement permis, dans un premier temps d'estimer des vitesses de croissance moyenne entre le premier marquage et la date de mort de l'organisme. Dans un deuxième temps, les opérations de marquage ont été perfectionnées en procédant à des marquages successifs, avant le sacrifice de l'individu. Cette technique nous a fourni le contrôle chronologique dont nous avons besoin pour aborder le problème des rythmes de croissance aux échelles journalière et horaire.

Par la combinaison de différents moyens d'observation, et en s'appuyant sur l'expérience (sans égale !) acquise par les chercheurs de l'unité de Biominéralisation de l'Université de Paris XI-Orsay, nous avons pu mettre en évidence les différences microstructurales jour-nuit, ainsi que la régularité des incréments formés à des pas de temps qui vont de la demi-heure à environ deux heures (tout au moins dans les cas expérimentaux étudiés). Cette échelle d'observation (doit on le souligner ?) est loin d'être habituelle dans ce genre d'étude (Fig. 5.3).

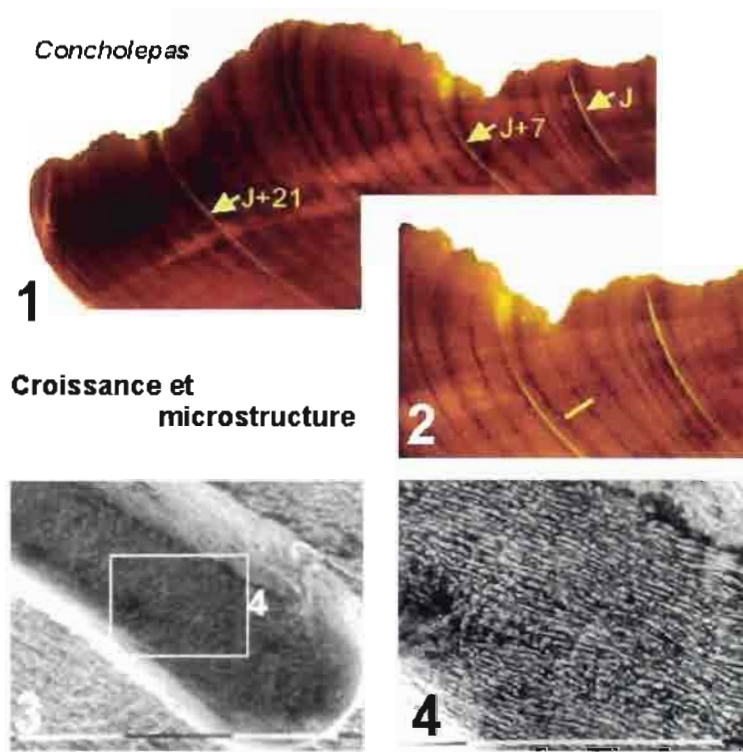


Figure 5.3. Croissance et microstructure de la coquille de *C. concholepas* aux échelles millimétriques (1 et 2) et micrométriques (3 et 4). L'encart 3 présente le sillon formé par l'échantillonneur Micromill.

Les accroissements journaliers des tests de *C. concholepas* apparaissent comme relativement réguliers en taille, tout au moins dans les fragments de coquilles qui ont été soumises à des marquages successifs, en bac d'aquaculture (« encarts 1 et 2, Fig. 5.3). On soulignera aussi que les zones sombres figurant les accroissements nocturnes (Fig. 5.3) semblent systématiquement plus étroites que les zones plus claires représentant les périodes diurnes. Cette configuration, combinée à l'observation que, dans les bacs de culture, les individus se nourrissaient exclusivement la nuit, suggère que les coquilles croissent plus vite lorsqu'elles sont au repos, sans se déplacer et sans se nourrir.

V.3.4. Variations de vitesses de croissance

La grande majorité des fragments de coquilles étudiés correspondent aux périodes couvertes par les opérations de marquage et de mesure de température des bacs de culture. A l'échelle des quelques semaines (ou mois) de croissance, la vitesse de croissance des divers individus semble avoir été généralement constante au cours du temps (pour un même individu). Par ailleurs des variations interindividuelles ont aussi été observées.

Dans quelques cas, il a pu être montré des variations assez brusques de vitesse de croissance, pour un individu donné. La Fig. 3.27 illustre le cas de la coquille M60 qui accusait une baisse rapide du taux de croissance à partir de la mi-décembre 2002, soit deux semaines avant de périr dans un bac où la température de l'eau était montée accidentellement au-dessus de 22°C. Un autre cas de variation de vitesse de croissance est présenté Fig. 5.4 : il s'agit également d'un ralentissement de la croissance d'une coquille durant son dernier mois de vie en novembre 2003. Le fragment de coquille formé en 5 semaines, entre le 3 septembre et le 9 octobre, est trois fois plus long que celui qui a été formé entre le 9 octobre et le 22 novembre 2003, soit durant 6 semaines.

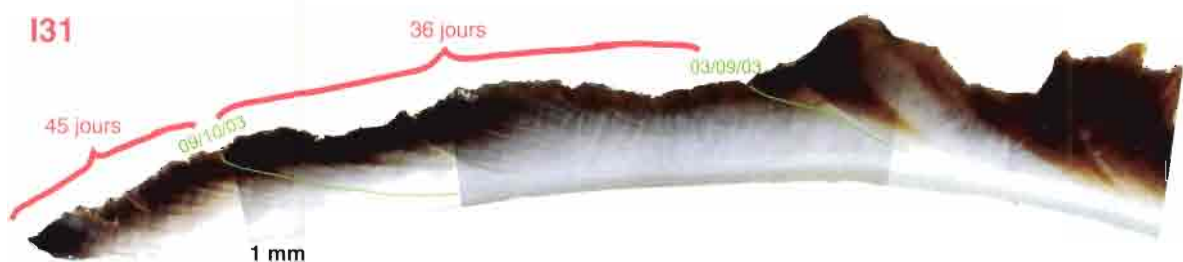


Figure 5.4. Variation de vitesse de croissance d'une coquille (I31) élevée dans un bac de l'Université A. Prat (Iquique, 450 km au N de Antofagasta), marquée successivement le 3 septembre et le 9 octobre 2003, et sacrifiée le 22 novembre 2003.

Bien qu'une élévation de la température ait également été mesurée dans les dernières semaines précédant le sacrifice de l'organisme (22 novembre 2003), il n'a pas pu être clairement établi que le ralentissement de croissance soit imputable à un effet thermique. Des analyses microstructurales et géochimiques (en cours) devraient permettre de vérifier si il existe un seuil thermique au-delà duquel la coquille cesse de croître. D'autres facteurs, liés ou non aux conditions de température, pourraient également être impliqués dans les variations de vitesse de croissance des tests.

Du fait des périodes de croissance relativement courtes sur lesquelles ont porté les observations et mesures, il n'a pas été possible de vérifier l'existence de « biochecks », ou « winter checks » (?), dans les coquilles étudiées. Si des anomalies saisonnières (d'été ou d'hiver) existent, elle n'ont pas encore été identifiées formellement dans la plupart des coquilles. Ce point devrait être éclairci dans le futur.

V.3.5. Croissance et biominéralisation

La taille relativement constante des incréments calcitiques unitaires (cf. encart 4, Fig. 5.3) suggère que le mécanisme de biominéralisation de chaque unité n'est pas influencé par les conditions du milieu. Ce qui peut varier, et qui est probablement sous la dépendance des paramètres environnementaux, est le rythme ou la fréquence de déclenchement du processus de formation de chaque unité. Les variations d'épaisseur des incréments quotidiens étant relativement minimales (cf. encarts 1 et 2, Fig. 5.3), on peut supposer que l'influence du milieu reste cependant limitée, par rapport à celle des facteurs biologiques.

Des résultats particulièrement significatifs ont été obtenus au cours de l'année 2003 par l'utilisation de la caractérisation par XANES (*X-ray Absorption Near Edge Structure*) du soufre sulfaté dans les polysaccharides formant la matrice minéralisante des coquilles de *C. concholepas* (J.P. Cuif, comm. personnelle, 2003). Cette technique encore peu utilisée ouvre de nouvelles perspectives pour l'étude de la phase organique dans le processus de biominéralisation.

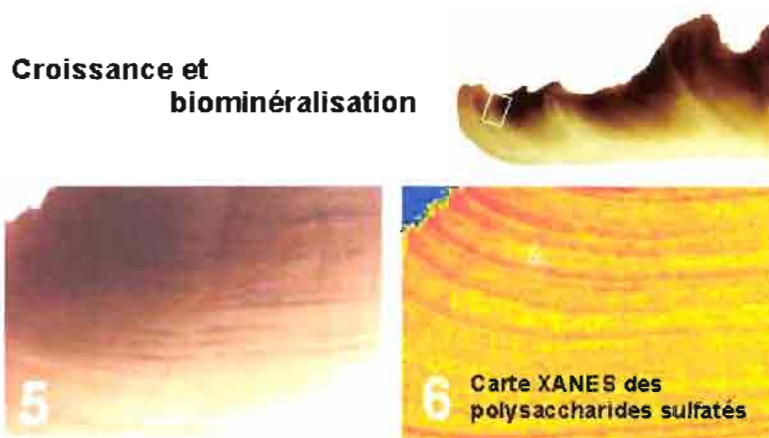


Figure 5.5. Mise en évidence de variations de la composition en composés soufrés liés à la matrice organique des biominéraux qui soulignent la structure de croissance journalière d'un test de *C. concholepas*.

V.3. Variations de composition géochimique dans les coquilles.

Dans leur ensemble, les mesures géochimiques effectuées dans les coquilles ont été restreintes aux fragments pour lesquels on disposait d'un cadre chronologique précis, au jour près, voire à une ou deux heures près. Cette approche qui se distingue de la grande majorité des études géochimiques sur coquilles marines effectuées dans de nombreux laboratoires, était notamment justifiée par le souci d'établir des correspondances entre des mesures élémentaires et isotopiques de micro-échantillons et des mesures de variations de température (prises toutes les 10 mn ou toutes les demi-heures).

Les prélèvements et mesures par spectrométrie de masse à ablation laser, microsonde électronique et SIMS, nous ont ainsi permis d'obtenir des profils élémentaires et isotopiques dans la calcite des coquilles de *C. concholepas* à l'échelle de quelques heures. Ces profils ont pu être « datés », grâce aux expériences de marquage et au contrôle chronologique fourni par les images des alternances jour-nuit.

Il n'est peut être pas superflu de préciser que les inconvénients de cette approche ont été multiples. D'une part, nous n'avons disposé du matériel d'étude que dans le courant de l'année 2003, après avoir effectué les opérations de marquage et de mesure de température. D'autre part, les accès aux équipements performants (aux échelles spatiales où nous voulions travailler) n'ont pas été faciles et immédiats (une seule séance de mesure au CRPG de Nancy par exemple). Pour les analyses isotopiques classiques, au LODYC, nous avons pâti de problèmes techniques sur le spectromètre de masse, puis d'une phase de déménagement de ce laboratoire (fin 2003), qui ont également limité le nombre de résultats obtenus par rapport aux prévisions initiales.

En résumé, les mesures géochimiques effectuées à haute résolution (spatiale et temporelle), sur divers équipements, indiquent que les teneurs en Mg et en $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite de *C. concholepas* montrent une relation avec les variations enregistrées de température. Cependant ces relations ne sont pas complètement linéaires.

Il se confirme, comme on pouvait s'y attendre, que des paramètres et facteurs vraisemblablement liés à l'activité métabolique des organismes interviennent à divers niveaux dans l'incorporation des éléments mineurs et traces et dans les phénomènes de fractionnement isotopique pendant les processus de biominéralisation.

Au terme de cette phase de l'étude, nous sommes convaincu que la compréhension de la relation entre la composition géochimique de coquilles et les paramètres environnementaux ne peut être atteinte qu'en travaillant à une échelle sub-journalière.

V.4. Perspectives d'études futures

En ce qui concerne le développement des études sclérochronologiques de *C. concholepas*, nous préconisons de multiplier les mesures d'incréments de croissance dans des coquilles d'une population provenant d'une même localité, et par ailleurs de comparer des résultats de ces mesures sur des coquilles provenant de différentes localités.

Dans le cadre d'un projet européen (« CENSOR : Climate shift and impacts of El Niño Southern Oscillation : implications for coastal Resources and management », 2004-2007), il est prévu de réaliser de nouvelles expériences de suivi de croissance de *C. concholepas*. Ce taxon, l'une des espèces-clés de l'écosystème côtier de la zone d'étude du projet (Nord Chili et Pérou) sera l'objet d'expériences de marquage et suivi de la croissance en conditions contrôlées et en milieu naturel (*in situ*). Ces études fourniront donc de nouveaux échantillons provenant de sites éloignés de plusieurs milliers de km, et vivant dans des environnements variés. Un tel matériel, marqué périodiquement, et accompagné de mesures physico-chimiques périodiques, sera sans nul doute adéquat pour compléter notre compréhension des mécanismes responsables des processus de biominéralisation et modalités de croissance de *C. concholepas*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAFICAS

- Acuña E. et Stuardo J., 1979. Una estimacion de clases anuales y crecimiento relativo en muestras de dos poblaciones de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789). *Biología Pesquera (Chile)*, 12: 131-142.
- Adlerstein S., 1986. Age and Growth of *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789). Master of Science (MS) Thesis, University of Washington, Seattle, 129 (+ appendix) pp.
- Andreasson F.P. et Schmitz B., 1998. Tropical Atlantic seasonal dynamics in the early middle Eocene from stable oxygen and carbon isotope profiles of mollusk shells. *Paleoceanography*, 13(2): 183-192.
- Aviles S. et Lozada E., 1975. Estudio histológico del ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) en Punta Saliente, Coquimbo. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 49: 207-218.
- Barry R.G. et Chorley R.J., 1998. *Atmosphere. Weather & Climate*. Routledge, 409 pp.
- Beck J.W., Edwards R.L., Ito E., Taylor F.W., Récy J., Rougerie F., Joannot P. et Henin C., 1992. Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratios. *Science*, 257(644-647).
- Bertaux J., Fröhlich F. et Ildefonse P., 1998. Multicomponent analysis of FTIR spectra: Quantification of amorphous and crystallized mineral phases in soils and sediments. *Journal of Sedimentary Research*, 68(3): 440-447.
- Bøggild O.B., 1930. The shell structure of the mollusks. *Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter, Copenhagen*, 9(2): 230-326.
- Bretos M., 1980. Age determination in the keyhole limpet *Fissurella crassa* Lamarck (Archaeogastropoda:Fissurellidae) based on shell growth rings. *Biological Bulletin (Woods Hole)*, 59(3): 606-612.
- Bustos E., Robotham H., Lara E. et Pacheco E., 1986. Edad y crecimiento de *Concholepas concholepas* y consideraciones a la aplicación de la ecuación de von Bertalanffy (Gastropoda-Muricidae). *Investigaciones Pequeras (Chile)*, 33: 33-45.
- Cardinal D., Hamelin B., Bard E. et Jürgen P., 2001. Sr/Ca, U/Ca and $\delta^{18}\text{O}$ records in recent massive corals from Bermuda: relationships with sea surface temperatures. *Chemical Geology*, 176: 213-233.
- Carter J.G., 1980. Environmental and biological controls of bivalve shell mineralogy and microstructure. In: R.A. Lutz (Editor), "Skeletal growth of aquatic organisms: biological records of environmental change". Plenum Press.
- Castilla J.C., 1974. Notes on mating behaviour of *C. concholepas* (Mollusca, Gastropoda, Muricidae) from Chile. *Veliger*, 16(3): 291-292.
- Castilla J.C., Guisado C. et Cancino J., 1979. Aspectos ecológicos y conductuales relacionados con la alimentación de *Concholepas concholepas* (Mollusca:Gastropoda:Muricidae). *Biología Pesquera (Chile)*, 12: 99-114.
- Castilla J.C. et Guisado C., 1979. Conducta de alimentación nocturna de *Concholepas concholepas* (Mollusca:Gastropoda:Muricidae). *Biología Pesquera (Chile)*, 12: 125-130.
- Castilla J.C. et Duran L.R., 1985. Human exclusion from the rocky intertidal zone of

- central Chile: the effects on *Concholepas concholepas* (Gastropoda). *Oikos*, 45: 391-399.
- Castilla J.C., 1988. A literature review (1980-1988) on *Concholepas concholepas* (Gastropoda, Muricidae): fishery problems and experiences on re-stocking. *Biología Pesquera (Chile)*, 17: 9-19.
- Castilla J.C., 1999. Coastal marine communities: trends and perspectives from human-exclusion experiments. *TREE*, 14(7): 280-283.
- Castilla J.C., Lagos N.A., Guíñez R. et Largier J.L., 2002. Embayments and nearshore retention of plankton: the Antofagasta Bay and other examples. In: J.L. Largier (Editor), "The oceanography and ecology of the nearshore and bays in Chile". Ediciones Universidad Católica de Chile, Proceedings of the International Symposium on linkages and dynamics of coastal systems: open coasts and embayments, pp. 179-203.
- Chave K.E., 1954. Aspects of the biochemistry of magnesium. I. Calcareous marine organisms. *Journal of Geology*, 62: 266-283.
- Chenorkian R., 1992. Saisonnalisation et malacofaune. *Préhistoire Antropologie Méditerranéennes*: 143-168.
- Cornu S., Patzold J., Bard E., Meco J. et Cuerda-Barcelo J., 1993. Paleotemperature of the last interglacial period based on $\delta^{18}O$ of *Strombus bubonius* from the western Mediterranean Sea. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 103(1-2): 1-20.
- Corrège T., Delcroix T., Récy J., Beck W., Cabioch G. et Le Cornec F., 2000. Evidence for stronger El Niño-Southern Oscillation (ENSO) events in a mid-Holocene massive coral. *Paleoceanography*, 15(4): 465-470.
- Coutts P.J.F., 1970. Bivalve-growth patterning as a method for seasonal dating in archaeology. *Nature*, 226: 874.
- Craig C.-A., Jarvis K.E. et Clarke L.J., 2000. An assessment of calibration strategies for the quantitative and semi-quantitative analysis of calcium carbonate matrices by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). *JAAS (Journal of Analytical Atomic Spectrometry)*, 15(8): 1001-1008.
- Cuif J.-P., 1998. Les biominéraux: architectures minérales biologiquement contrôlées. Documents biologiques, matériaux géologiques et archives pour l'histoire de la Terre, Sciences, pp. 11-19.
- Cuif J.-P. et Dauphin Y., 2003. *Les étapes de la découverte des rapports entre la Terre et la vie. Une introduction à la paléontologie*. Collection Géoscience. Contemporary Publishing International, Paris, 257 (+ 1 CD) pp.
- Dauphin Y., Cuif J.-P., Mutvei H. et Denis A., 1989. Mineralogy, chemistry and ultrastructure of the external shell-layer in ten species of *Haliotis* with reference to *Haliotis tuberculata* (Mollusca: Archaeogastropoda). *Bulletin of the Geological Institutions of the University of Uppsala*, 15: 7-38.
- Dauphin Y. et Denis A., 2000. Structure and composition of the aragonitic crossed lamellar layers in six species of Bivalvia and Gastropoda. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 126(3): 367-377.
- Dauphin Y., Guzman N., Denis A., Cuif J.-P. et Ortlieb L., 2003. Microstructure, nanostructure and composition of the shell of *Concholepas concholepas*

- (Gastropoda, Muricidae). *Aquatic Living Resources*, 16(2): 95-103.
- Day R.W., Williams M.C. et Hawkes G.P., 1995. A comparison of fluorochromes for marking abalone shells. *Marine & Freshwater Resources*, 46: 599-605.
- De Ioannes P., Moltedo B., Oliva H., Pacheco R., Faunes F., De Ioannes A.E. et Becker M.I., 2004. Hemocyanin of the molluscan *Concholepas concholepas* exhibits an unusual heterodecameric array of subunits. *J. Biol. Chem.*: M400903200.
- DeVries T.J., 1995. *Concholepas* Lamarck, 1801 (Neogastropoda:Muricoidea): a Neogene genus native to South America. *The Veliger*, 38(4): 284-297.
- DeVries T.J., 2000. Two new neogene species and the evolution of labral teeth in *Concholepas* Lamarck, 1801 (Neogastropoda : Muricoidea). *Veliger*, 43(1): 43-50.
- Dijkstra H.A. et Neelin J.D., 1995. Ocean-atmosphere interaction and the tropical climatology. Part II: Why the Pacific cold tongue is in the East. *Journal of Climatology*, 8: 1343-1359.
- Disalvo L., 1988. Reservation on the larval post-metamorphic life of *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) in laboratory culture. *The Veliger*, 30: 358-368.
- Dodd J.R., 1965. Environmental control of Sr and Mg in *Mytilus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 29: 385-398.
- DuBois R., Castilla J.C. et Cacciolatto R., 1980. Sublittoral observations of behaviour in the chilean "loco" *Concholepas concholepas* (Mollusca:Gastropoda:Muricidae). *The Veliger*, 23(1): 83-92.
- Dunbar R.B., Wellington G.M., Colgan M.W. et Glynn P.W., 1994. Eastern Pacific sea surface temperature since 1600 A.D.: the $\delta^{18}\text{O}$ record of climare variability in Galapagos corals. *Paleoceanography*, 9(2): 291-315.
- Dunca E. et Mutvei H., 2001. Comparison of microgrowth pattern in *Margaritifera margaritifera* shells from south and north Sweden. *American Malacological Bulletin*, 16(1-2): 239-250.
- Eggins S., De Deckker P. et Marshall J., 2003. Mg/Ca variation in planktonic foraminifera tests: implications for reconstructing palaeo-seawater temperature and habitat migration. *Earth and Planetary Science Letters*, 212(3-4): 291-306.
- Ekaratne K. et Crisp D.J., 1982. Tidal microgrowth bands in intertidal gastropods shells, with an evaluation of band-dating techniques. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 214: 305-323.
- Ekaratne K. et Crisp D.J., 1984. Seasonal growth studies of intertidal gastropods from shell micro-growth band measurements, including a comparison with alternative methods. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 64(183-210).
- Epstein S., Buchsbaum R., Lowenstam H.A. et Urey H.C., 1951. Carbonate-water isotopic temperature scale. *Bulletin of the Geological Society of America*, 62: 417-426.
- Epstein S., Buchsbaum R., Lowenstam H.A. et Urey H.C., 1953. Revised carbonate-water isotopic temperature scale. *Bulletin of the Geological Society of America*, 64: 1315-1326.
- Escribano R., Marin V., Hidalgo P. et Olivares G., 2002. Physical-Biological interactions in the pelagic ecosystem of the nearshore zone of the northern Humboldt Current System. In: J.L. Largier (Editor), "The oceanography and ecology of the nearshore

- and bays in Chile". Ediciones Universidad Catolica de Chile, Proceedings of the International Symposium on linkages and dynamics of coastal systems: open coasts and embayments, pp. 145-175.
- Fairbanks R.G. et Dodge R.E., 1979. Annual periodicity of the $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in the coral *Monastrea annularis*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43: 1009-1020.
- Falabella F., Planella M.T. et Pollastri A., 1991. Analisis de oxigeno 18 en material malacologico de Chile central. XI Congreso Nacional de Arqueologia Chilena, Tomo I: Introduccion, Homenaje y Simposios: 105-121.
- Falini G., Albeck S., Weiner S. et Addadi L., 1996. Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules. *Science*, 271: 67-69.
- FAO, 1981. *Yearbook of fisheries statistics. Catches and landings*. FAO, Fisheries series:statistics series, 50, 386 pp.
- Gallardo C., 1979. El ciclo vital del muricidae *Concholepas concholepas* y consideraciones sobre sus primeras fases de vida en el bentos. *Biologia Pesquera (Chile)*, 12: 79-89.
- Gallardo M.H. et Carrasco J.I., 1996. Genetic cohesiveness among populations of *Concholepas concholepas* (Gastropoda, Muricidae) in Southern Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 197: 237-249.
- Gibaja Oviedo S. et Salazar de Cavero L., 1977. Production of Tyrian purple from the *Concholepas* mollusk "Chanque". *Boletin de la Sociedad Quimica del Peru*, 43(3): 139-140.
- Goodwin D.H., Flessa K.W., Schöne B.R. et Dettman D.L., 2001. Cross-calibration of daily growth increments, stable isotope variation and temperature in the Gulf of California bivalve mollusk *Chione cortezi*: implications for paleoenvironmental analysis. *Palaaios*, 16: 387-398.
- Gotliv B.-A., Addadi L. et Weiner S., 2003. Mollusk shell acidic proteins: in search of individual functions. *Chem. Bio. Chem.*, 4: 522-529.
- Grégoire C., Duchateau G.H. et Florkin M., 1955. La trame protidique des nacres et des perles. *Annales de l'Institut Océanographique de Monaco*, 31: 1-36.
- Grottoli A.G., 2000. Stable carbon isotopes ($\delta^{13}\text{C}$) in coral skeletons. *Oceanography*, 13(2): 93-97.
- Guillaumin D., 1980. La pratique du microscope électronique à balayage en biologie. In: Masson (Editor), "Techniques de laboratoire", pp. 124.
- Guiñez R., Gomez M. et Castilla J.C., 1992. Diferenciacion genética poblacional en *Concholepas concholepas* (Gastropoda:Muricidae) en su area de distribucion centro norte. *Biologia Pesquera (Chile)*, 21: 31-41.
- Guisado C. et Castilla J.C., 1983. Aspects of the ecology and growth of an intertidal juvenile population of *Concholepas concholepas* (Mollusca:Gastropoda:Muricidae) at Las Cruces, Chile. *Marine Biology*, 78: 99-103.
- Hallam A. et Price N.B., 1968. Environmental and biochemical control of Sr in shells of *Cardium edule*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 32: 319-328.
- Hancock D.A., 1969. La pesqueria de mariscos en Chile. Publicacion N°45, Instituto de Fomento Pesquero, 93 pp.
- Hare P.E., 1963. Aminoacids in the proteins from aragonite and calcite in the shell of

- Mytilus californianus*. *Science*, 139: 216-217.
- Harrington R.J., 1989. Aspects of growth deceleration in Bivalves: Clues to understanding the seasonal ^{18}O and ^{13}C record -A comment on Krantz *et al.*, 1987. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 70: 399-407.
- Hickson J.A., Johnson A.L.A., Heaton T.H.E. et Balson P.S., 1999. The shell of the Queen Scallop *Aequipecten opercularis* (L.) as a promising tool for palaeoenvironmental reconstruction: evidence and reasons for equilibrium stable-isotope incorporation. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 154(4): 325-337.
- Huapaya B. et Alamo V., 1993. Estudio malacológico de yacimientos arqueológicos del Macizo de Illescas y Bajo Piura. In: B. Huapaya (Editor), "Materiales arqueológicos del Macizo de Illescas". Pontificia Universidad Católica del Perú, pp. 51-109.
- Jarvis K.E., 1992. "Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry". Blackie Academic & Professional.
- Jones D.S., Williams D.F. et Arthur M.A., 1983. Growth history and ecology of the Atlantic surf clam, *Spisula solidissima* (Dillwyn), as revealed by stable isotopes and annual shell increments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 73(3): 225-242.
- Kaehler S. et McQuaid C.D., 1999. Use of the fluorochrome calcein as an in situ growth marker in the brown mussel *Perna perna*. *Marine Biology*, 133(3): 455-460.
- Kaplan D.M., Largier J.L., Navarrete S., Guíñez R. et Castilla J.C., 2003. Large diurnal temperature fluctuations in the nearshore water column. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57: 385-398.
- Kennett D.J., 2003. Oxygen and Carbon Isotopic Analyses of *Concholepas concholepas* Shells from K4, a Late Archaic Period Archaeological Site on the Southern Coast of Peru. In: K. Wise (Editor), "Archaeological Investigation of K4, an Archaic Period Site on the South Coast of Peru". Institute of Archaeology, University of California, Los Angeles.
- Killingley J.S. et Berger W.H., 1979. Stable Isotopes in a mollusk shell: Detection of upwelling events. *Science*, 205: 186-188.
- Klein R.T., Lohmann K.C. et Thayer C.W., 1996. Bivalve skeletons record sea-surface temperature and $\delta^{18}\text{O}$ via Mg/Ca ratios. *Geology*, 24(5): 415-418.
- Klein R.T., Lohmann K.C. et Thayer C.W., 1996. Sr/Ca and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in skeletal calcite of *Mytilus trossulus*: Covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(21): 4207-4221.
- Kool S.P., 1993. Phylogenetic analysis of the Rapaninae (Neogastropoda: Muricidae). *Malacologia*, 35(2): 155-259.
- Krantz D.E., Williams D.F. et Jones D.S., 1987. Ecological and paleoenvironmental information using stable isotope profiles from living and fossil molluscs. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 58(3-4): 249-266.
- Le Cornec F. et Correge T., 1997. Determination of uranium to calcium and strontium to calcium ratios in corals by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12: 969-973.
- Lea D.W., Shen G.T. et Boyle E.A., 1989. Coralline barium records temporal variability in

- equatorial Pacific upwelling. *Nature*, 340: 373-376.
- Lea D.W., Martin P.A., Pak D.K. et Spero H.J., 2002. Reconstructing a 350 ky history of sea level using planktonic Mg/Ca and oxygen isotope records from a Cocos Ridge core. *Quaternary Science Reviews*, 21(1-3): 283-293.
- Leiva G.E. et Castilla J.C., 2001. A review of the world marine gastropod fishery: evolution of catches, management and the Chilean experience. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 11(4): 283-300.
- Lindsley B.K. et Ren L., 2000. El Niño Southern Oscillation (ENSO) and decadal-scale climate variability at 10°N in the eastern Pacific from 1893 to 1994: A coral-based reconstruction from Clipperton Atoll. *Paleoceanography*, 15: 322-335.
- Llagostera A., 1979. 9700 years of maritime subsistence on the Pacific: an analysis by means of bioindicators in the North of Chile. *American Antiquity*, 44(2): 309-323.
- Longerich H.P., Günther D. et Jackson S.E., 1996. Elemental fractionation in laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355: 538-542.
- Lorens R.B. et Bender M.L., 1980. The impact of solution chemistry on *Mytilus edulis* calcite. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44: 1265-1278.
- Lowenstam H.A., 1963. Biological problems relating to the composition and diagenesis of sediments. In: T.W. Donnelly (Editor), "The Earth sciences: problems and progress in current research". University of Chicago Press, pp. 137-195.
- Lowenstam H.A., 1981. Minerals formed by organisms. *Science*, 211: 1126-1131.
- Lowenstam H.A. et Weiner S., 1989. *On Biomineralization*. Oxford University Press, New York.
- Lozada E., Lopez M.T. et Desqueyroux R., 1976. Aspectos ecologicos de poblaciones chilenas de loco *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) (Mollusca, Gasteropoda, Muricidae). *Biologia Pesquera (Chile)*, 8: 5-29.
- Mac Govern P., 2003. *Ancient Wine: the search for the origins of viniculture*. Princeton University Press, 400 pp.
- Mann S., 1983. Mineralization in biological systems. *Struct. Bonding*, 54: 125-174.
- Mannino M.A., Spiro B.F. et Thomas K.D., 2003. Sampling shells for seasonality: oxygen isotope analysis onshell carbonates of the inter-tidal gastropod *Monodonta lineata*(da Costa) from populations across its modern range and from a Mesolithic site in southern Britain. *Journal of Archaeological Science*, In Press, Corrected Proof.
- Marshall J.F. et McCulloch M.T., 2002. An assessment of the Sr/Ca ratio in shallow water hermatypic corals as a proxy for sea surface temperature. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(18): 3263-3280.
- Martin P.A., Lea D.W., Rosenthal Y., Shackleton N.J., Sarnthein M. et Papenfuss T., 2002. Quaternary deep sea temperature histories derived from benthic foraminiferal Mg/Ca. *Earth and Planetary Science Letters*, 198(1-2): 193-209.
- Mashiotta T.A., Lea D.W. et Spero H.J., 1997. Experimental determination of cadmium uptake in shells of the planktonic foraminifera *Orbulina universa* and *Globigerina bulloides*: Implications for surface water paleoreconstructions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(19): 4053-4065.

- Mashiotta T.A., Lea D.W. et Spero H.J., 1999. Glacial-interglacial changes in Subantarctic sea surface temperature and $\delta^{18}\text{O}$ -water using foraminiferal Mg. *Earth and Planetary Science Letters*, 170(4): 417-432.
- McConnaughey T., 1989. ^{13}C and ^{18}O isotopic disequilibrium in biological carbonates: I. Patterns. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 53: 151-162.
- McConnaughey T.A., Burdett J., Whelan J.F. et Paull C.K., 1997. Carbon isotopes in biological carbonates: Respiration and photosynthesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63(3): 611-622.
- McConnaughey T.A., 2003. Sub-equilibrium oxygen-18 and carbon-13 levels in biological carbonates: carbonate and kinetic models. *Coral Reefs*, 22(4): 316-327.
- McCulloch M.T., Tudhope A.W., Esat T.M., Mortimer G.E., Chappell J., Pillans B., Chivas A.R. et Omura A., 1999. Coral record of equatorial sea-surface temperatures during the penultimate deglaciation at Huon Peninsula. *Science*, 283: 202-204.
- McCulloch M.T. et Esat T., 2000. The coral record of last interglacial sea levels and sea surface temperatures. *Chemical Geology*, 169: 107-129.
- McGregor G.R. et Nieuwolt S., 1998. *Tropical climatology*. John Wiley and Sons, 339 pp.
- Mendez M.A. et Cancino J.M., 1992. Crecimiento de ejemplares postmetamórficos y juveniles de *Concholepas concholepas* (Bruguère) en condiciones de laboratorio. Efecto de densidad, dieta y temperatura. *Biología Pesquera (Chile)*, 21: 21-30.
- Milliman J.D., 1974. *Marine carbonates*. Springer Verlag, 375 pp.
- Millstein J. et O'Clair C.E., 2001. Comparison of age-length and growth-increment general growth models of the Schnute type in the Pacific Blue Mussel, *Mytilus trossulus* Gould. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 262: 155-176.
- Min G.R., Edwards R.L., Taylor F.W., Recy J. et Gallup C.D., 1995. Annual cycles of U/Ca in coral skeletons and U/Ca thermometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(10): 2025-2042.
- Mitchell L., Fallick A.E. et Curry G.B., 1994. Stable carbon and oxygen isotope compositions of mollusc shells from Britain and New Zealand. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 111(3-4): 207-216.
- Mitsuguchi T., Matsumoto E., Abe O., Uchida T. et Isdale P.J., 1996. Mg/Ca thermometry in coral skeletons. *Science*, 274: 961-963.
- Monaghan J.P., 1993. Comparison of calcein and tetracycline as chemical markers in summer flounder. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 122: 298-301.
- Moran A.L., 2000. Calcein as a marker in experimental studies newly-hatched gastropods. *Marine Biology*, 137: 893-898.
- Mutvei H., Dauphin Y. et Cuif J.P., 1985. Observations sur l'organisation de la couche externe du test des *Haliotis* (Gastropoda): un cas exceptionnel de variabilité minéralogique et microstructurale. *Bulletin Musée Histoire Naturelle, Paris*, 4(7): 73-91.
- Nürnberg D., Müller A. et Schneider R.R., 2000. Paleo-sea surface temperature calculations in the equatorial east Atlantic from Mg/Ca ratios in planktic foraminifera: A comparison to sea surface temperatures estimates from U^{37} , oxygen isotopes and foraminiferal transfer function. *Paleoceanography*, 15(1):

- 124-134.
- Olivares O., Lepez I.M., Aracena O.L. et Pinto A., 1994. Alimentacion y crecimiento de *Concholepas concholepas* (Muricidae) en acuarios. *Bol. Soc. Biol. Concepcion, Chile*, 65: 89-94.
- Ortlieb L., Goy J.L., Zazo C., Hillaire-Marcel C. et Vargas G., 1995. *Late Quaternary coastal changes in northern Chile. Guidebook for a fieldtrip*. II annual meeting of the International Geological Correlation Program, Project 367, Antofagasta, Chile, 175 pp.
- Ortlieb L., Fuentes E., Guzman N. et Llagostera A., 1997. Paleotemperatura del mar en la Bahia de Antofagasta durante la transicion Pleistoceno-Holoceno: Resultados preliminares de analisis isotópicos seriados en conchas de *Concholepas concholepas*. VIII Congr. Geol. Chileno, Extended abstract vol.: 366-370.
- Ortlieb L., Guzman N. et Vargas G., 1997. A composite (Pliocene/Early Pleistocene) age for the "Antofagasta terrace " of northern Chile. VIII Congr. Geol. Chileno, Extended abstracts vol 1: 200-204.
- Ortlieb L., 2000. The documented historical record of El Niño events in Peru: an update of the Quinn record (sixteenth through nineteenth centuries). In: V. Markgraf (Editor), "El Niño and the Southern Oscillation: multiscale variability and global and regional impacts". Cambridge University Press, pp. 207-295.
- Ortlieb L., Vargas G., Guzmán N. et Saliège J.F., 2002. Changements rapides durant la transition Pléistocène-Holocène sur la côte du désert d'Atacama, Nord Chili. Colloque Intern. Evénements rapides, instabilités, changements culturels au Quaternaire, INQUA-AFEQ,
- Pannella G. et MacClintock C., 1968. Biological and environmental rhythms reflected in molluscan shell growth. *Journal of Paleontology*, 42(5): 64-80.
- Perrier C., Hillaire-Marcel C. et Ortlieb L., 1994. Paléogéographie littorale et enregistrement isotopique (^{13}C , ^{18}O) d'événements de type El Niño par les mollusques holocènes et récents du nord-ouest péruvien. *Géographie Physique et Quaternaire*, 48(1): 23-38.
- Petitjean M., 1965. Structures microscopiques, nature minéralogique et composition chimique des la coquille des Muricidés (Gastéropodes Prosobranches). Importance systématique de ces caractères. PhD Thesis, Université de Paris, 126 + annexes pp.
- Philippon J., 1974. Structure et composition minéralogique de la coquille de Gastropodes actuels et fossiles. Contribution n°7, Centre d'Etudes et de Recherches de Paléontologie Biostratigraphique (CERPAB), Orsay.
- Purton L., Shields G., Brasier M. et Grime G.W., 1999. Metabolism controls Sr/Ca ratios in fossil aragonitic mollusks. *Geology*, 27(12): 1083-1086.
- Quinn W.H., Neal V.T. et Antunez de Mayolo S., 1987. El Niño occurrences over the past four and a half centuries. *Journal of Geophysical Research*, 92(C13): 14449-14461.
- Quinn W.H. et Neal V.T., 1992. The historical record of El Niño events. In: P.D. Jones (Editor), "Climate since A.D. 1500". Routledge, pp. 623-648.
- Quitmyer I.R., Jones D.S. et Arnold W.S., 1997. The sclerochronology of hard clams *Mercenaria* spp from the South-Eastern U.S.A.: A method of elucidating the zooarchaeological records of seasonal resource procurement and seasonality in Prehistoric shell middens. *Journal of Archaeological Science*, 24(9): 825-840.

- Rabi M., Maravi C. et Valdivieso V., 1994. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789) (Mollusca:Gastropoda:Muricidae): Qué le ocurre frente a un fenómeno El Niño? Symposium,
- Rabi M., Yamashiro C. et Quiroz M., 1996. Revision de la biología y pesquería del recurso chanque *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789) (Mollusca:Gastropoda:Muricidae), Informe Progresivo del Instituto del Mar del Peru, 31, Callao, Peru, 3-23 pp.
- Rabi M. et Maravi C., 1997. Growth curves and specific growth rate of *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789) (Gastropoda:Muricidae) in culture experiments. *Scientia Marina*, 61(supl. 2): 49-53.
- Ramorino L., 1975. Ciclo reproductivo de *Concholepas concholepas* en la zona de Valparaíso. *Biología Marina*, 15: 149-177.
- Rhoads D.C. et Pannella G., 1970. The use of molluscan shell growth patterns in ecology and paleoecology. *Lethaia*, 3(2): 143-161.
- Rhoads D.C. et Lutz R.A. (Editors), 1980. Skeletal growth of aquatic organisms: biological records of environmental change. Topics in geobiology, 1. Plenum Press, New-York and London.
- Richardson C.A., 1987. Microgrowth patterns in the shell of the Malaysian cockle *Anadara granosa* (L.) and their use in age determination. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 111(1): 77-98.
- Richardson C.A., Collis S.A., Ekaratne K., Dare P. et Key D., 1993. The age determination and growth rate of the European flat oyster, *Ostrea edulis*, in British waters determined from acetate peels of umbo growth lines. *ICES Journal of Marine Science*, 50(4): 493-500.
- Richardson C.A., 2001. Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and Marine Biology*, 39: 103-164.
- Richardson C.A., Peharda M., Kennedy H., Kennedy P. et Onofri V., 2003. Age, growth rate and season of recruitment of *Pinna nobilis* (L) in the Croatian Adriatic determined from Mg:Ca and Sr:Ca shell profiles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*.
- Riquelme C. et Chavez P., 1991. Colonization of Vibrios on developmental stages of *Concholepas concholepas* (Brugière, 1789) (Mollusca:Muricidae). *Ecology of Marine Aquaculture*: 84-95.
- Robles F., Alarcon E. et Ulloa A., 1976. Las masas de agua en la región norte de Chile y sus variaciones estacionales en un periodo frío (1967) y en periodos calidos (1969, 1971-1973). Reunion de Trabajo sobre el fenómeno conocido como "El Niño", 185: 94-196.
- Rodriguez L., Daneri G., Torres C., Leon M. et Bravo L., 2001. Modeling the growth of the Chilean loco, *Concholepas concholepas* (Brugiere, 1789) using a modified Gompertz-type function. *Journal of Shellfish Research*, 20(1): 309-315.
- Romanek C.S., Grossman E.L. et Morse J.W., 1992. Carbon isotopic fractionation in synthetic aragonite and calcite: Effects of temperature and precipitation rate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 56(1): 419-430.
- Rosenberg G.D. et Runcorn S.K. (Editors), 1975. Growth rhythms and the history of the Earth's rotation. John Wiley & Sons, 559 pp.

- Rosenberg G.D. et Hughes W.W., 1991. A metabolic model for the determination of shell composition in the bivalve mollusc, *Mytilus edulis*. *Lethaia*, 24: 83-96.
- Rosenberg G.D., Hughes W.W., Parker D.L. et Ray B.D., 2001. The geometry of bivalve shell chemistry and mantle metabolism. *American Malacological Bulletin*, 16(1/2): 251-261.
- Russo R.E., Mao X.L., Borisov O.V. et Liu H., 2000. Influence of wavelength on fractionation in laser ablation ICP-MS. *JAAS (Journal of Analytical Atomic Spectrometry)*, 15(9): 1115-1120.
- Schöne B.R., Goodwin D.H., Flessa K.W., Dettman D.L. et Roopnarine P.D., 2002. Sclerochronology and growth of the bivalve mollusks *Chione (Chionista) fluctifraga* and *C. (Chionista) cortezi* in the northern Gulf of California, Mexico. *Veliger*, 45(1): 45-54.
- Schöne B.R., Lega J., W. Flessa K., Goodwin D.H. et Dettman D.L., 2002. Reconstructing daily temperatures from growth rates of the intertidal bivalve mollusk *Chione cortezi* (northern Gulf of California, Mexico). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 184(1-2): 131-146.
- Schöne B.R., Tanabe K., Dettman D.L. et Sato S., 2003. Environmental controls on shell growth rates and $\delta^{18}\text{O}$ of the shallow-marine bivalve mollusk *Phacosoma japonicum* in Japan. *Marine Biology*, 142: 473-485.
- SeaWorld et BuschGardens, 2002. Habitat & distribution of corals and coral reefs, Animal Information Database.
- Shackleton J.J., 1973. Oxygen isotope analysis as a mean of determining season of occupation of prehistoric midden sites. *Archaeometry*, 15: 133-141.
- Shen G.T., E.A. B. et Lea D.W., 1987. Cadmium in corals as a tracer of historical upwelling and industrial fallout. *Nature*, 328: 794-796.
- Shen G.T., Cole J.E., Lea D.W., McConnaughey T.A. et Fairbanks R.G., 1992. Surface ocean variability at Galapagos from 1936-1982: Calibration of geochemical tracers in corals. *Paleoceanography*, 7(5): 563-588.
- Shen G.T. et Dunbar R.B., 1995. Environmental controls on uranium in reef corals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(10): 2009-2024.
- Shen C.-C., Lee T., Chen C.-Y., Wang C.-H., Dai C.-F. et Li L.-A., 1996. The calibration of D[Sr/Ca] versus sea surface temperature relationship for *Porites* corals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(20): 3849-3858.
- Silva S.N. et Sievers H.A., 1981. Masas de agua y circulación en la región de la rama costera de la Corriente de Humboldt: latitudes 18°S - 33°S (operación oceanográfica MARCHILE X-ERFEN I). *Ciencia y Tecnología del Mar, CONA*, 5: 5-50.
- Sinclair D.J., Kinsley L.P.J. et McCulloch M.T., 1998. High resolution analysis of trace elements in corals by laser ablation ICP-MS. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62(11): 1889-1901.
- Soto R., 1985. Efectos del fenómeno El Niño 1982-83 en ecosistemas de la I Región. *Investigación Pesquera*, 32: 199-206.
- Stecher H.A., Krantz D.E., Lord III C.J., Luther III G.W. et Bock K.W., 1996. Profiles of strontium and barium in *Mercenaria mercenaria* and *Spisula solidissima* shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 60(8): 3445-3456.

- Stotz W., Amesti P., Martinez D. et Pérez E., 1991. Lugares de asentamiento y desarrollo de juveniles tempranos de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) en ambientes intermareales y submareales de la IV Region, Coquimbo, Chile. *Biologia Marina*, 26(2): 339-350.
- Stotz W. et Pérez E., 1992. Crecimiento y productividad del loco *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) como estimador de la capacidad de carga en areas de manejo. *Investigaciones Pequeras (Chile)*, 37: 13-22.
- Stotz W., 1997. Las areas de manejo en la Ley de Pesca y Acuicultura: primeras experiencias y evaluacion de la utilidad de esta herramienta para el recurso loco. *Estudios Oceanologicos*, 16: 67-86.
- Stotz W., Gonzalez S.A., Caillaux L. et Aburto J., 2003. Quantitative evaluation of the diet and feeding behavior of the carnivorous gastropod *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) (Muricidae) in subtidal habitats in the Southeastern Pacific upwelling system. *Journal of Shellfish Research*, 22(1): 147-164.
- Strub T., Mesias J., Montecino V., Rutllant J. et Salinas S., 1998. Coastal ocean circulation off western South America. In: K.H. Brink (Editor), "The Sea", 11, pp. 273-313.
- Stuardo J., 1979. Sobre la clasificacion, distribucion y variacion de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789): un estudio de taxonomia beta. *Biologia Pesquera (Chile)*, 12: 5-38.
- Sturman A.P. et Tapper N.J., 1996. *The weather and climate of Australia and New Zeland*. Oxford University Press, 476 pp.
- Surge D., Lohmann K.C. et Dettman D.L., 2001. Controls on isotopic chemistry of the American oyster, *Crassostrea virginica*: implications for growth patterns. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 172(3-4): 283-296.
- Thompson L.G., Henderson K.A., Mosley-Thompson E. et Lin P.-N., 2000. The tropical ice core record of ENSO. In: V. Markgraf (Editor), "El Niño and the Southern Oscillation: multiscale variability and global and regional impacts". Cambridge University Press, pp. 325-356.
- Tobella G., 1975. Crecimiento de *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) (Moll. Gast. Muricidae). *Boletin Sociedad de Biologia de Concepcion*, 49: 185-189.
- Tojo B. et Ohno T., 1999. Continuous growth-line sequences in gastropod shells. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 145(1-3): 183-191.
- Toland H., Perkins B., Pearce N., Keenan F. et Leng M.J., 2000. A study of sclerochronology by laser ablation ICP-MS. *JAAS (Journal of Analytical Atomic Spectrometry)*, 15(9): 1143-1148.
- Tomicic J.J., 1983. Effects of "El Niño" phenomena on the marine flora and fauna in the north of Chile (1982-83). *Eos*, 64(52): 1046.
- Tomicic J.J., 1985. Efectos del fenómeno El Niño 1982-83 en las comunidades de la Península de Mejillones. *Investigación Pesquera*, 32: 209-213.
- Urey H.C., Lowenstam H.A., Epstein S. et McKinney C.R., 1951. Measurements of paleotemperatures and temperatures of the Upper Cretaceous of England, Denmark, and the southeastern United States. *Bulletin of the Geological Society of America*, 62: 399-416.
- Vander Putten E., Dehairs F., André L. et Baeyens W., 1999. Quantitative in situ microanalysis of minor and trace elements in biogenic calcite using infrared laser

- ablation - inductively coupled plasma mass spectrometry: a critical evaluation. *Analytica Chimica Acta*, 378(1-3): 261-272.
- Vander Putten E., Dehairs F., Keppens E. et Baeyens W., 2000. High resolution distribution of trace elements in the calcite shell layer of modern *Mytilus edulis*: Environmental and biological controls. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(6): 997-1011.
- Varela C.E. et Lopez D.A., 1989. Manejo de los reproductores de *Concholepas concholepas* en el diseño de una estrategia de repoblacion. *Medio Ambiente*, 10(1): 3-12.
- Vigliola L., 1997. Validation of daily increment formation in otoliths for three Diplodus species in the Mediterranean sea. *Journal of Fish Biology*, 51: 349-360.
- Wada K., 1966. Studies on the mineralization of the calcified tissue in mollusca. XI. Comparative biochemical study on the amino acid composition of conchiolin from calcitic and aragonitic layers. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 32: 295-303.
- Wada K., 1980. Initiation of mineralization in bivalve molluscs. The mechanisms of biomineralization in animals and plants, 79-92.
- Weiner S. et Traub W., 1980. X-ray diffraction study of the insoluble organic matrix of mollusk shells. *FEBS Letters*, 111(2): 311-316.
- Weiner S. et Traub W., 1984. Macromolecules in mollusk shells and their functions in biomineralization. *Phil. Trans. R. Soc. London Ser. B*, 304: 421-438.
- Weiner S. et Dove P.M., 2003. An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect. In: S. Weiner (Editor), "Biomineralization". Mineralogical Society of America, Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 54, pp. 1-29.
- Wellington G.M. et Dunbar R.B., 1995. Stable isotopic signature of El Niño-Southern Oscillation events in eastern tropical Pacific reef corals. *Coral Reefs*, 14: 5-25.
- Wells J.W., 1963. Coral growth and geochronometry. *Nature*, 197: 948.
- Wilbur K.M., 1976. Recent studies of invertebrate mineralization. In: K.M. Wilbur (Editor), "The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants". South Carolina Univ. Press, pp. 79-108.
- Williams D.F., Arthur M.A., Jones D.S. et Healy-Williams N., 1982. Seasonality and mean annual sea surface temperatures from isotopic and sclerochronological records. *Nature*, 296: 432-434.
- Wolff M., 1989. Estimates of growth, mortality and recruitment of the loco *Concholepas concholepas* (Bruguière, 1789) derived from a shell mound in Northern Chile. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 24(2): 87-96.

ANNEXES

ANNEXES

A.1. Echantillons de *C. concholepas* utilisés dans cette étude, avec indication de la localité de provenance et l'âge estimée.

Codes	Age	Localité	Figure
PS18	Actuel	côte alentours de Qda Los Burros, S Ilo, Pérou	Ilo, Fig. 1.11
I1 à I40		Iquique, bac expérimental	Fig. 1.11
AC1 à AC3		Caleta La Chimba, Antofagasta	Fig. 1.21
ISM1 à ISM4		Ile Sta Maria, Antofagasta, ~23°S	Fig. 3.4
ISM5-1		Ile Sta Maria (marquage avec limage), Antofagasta, ~23°S	Fig. 3.4
M1 à M85		Bac expérimental, Antofagasta, 1ère expérience	Fig. 1.21
S1 à S101		Bac expérimental, Antofagasta, 2ème expérience	Fig. 1.21
PS22	Holocène	Qda. Los Burros, S Ilo, ~3 ka	Ilo, Fig. 1.11
AG1		= C00-440, Guanillos, S Tocopilla, ~6 ka	Fig. 1.11
6B2		Qda. Las Conchas, Antofagasta, ~11 ka	Fig. 1.21
AJL1		= C00-417, Juan Lopez, ~4 ka	Fig. 1.21
P03-56	Pléistocène	Ite, S Ilo, Pérou, ~300 ka	Fig. 1.11
FM1-1 à FM1-3		= C93-58, Michilla, S Tocopilla, ~120 ka	Fig. 1.11
TA01		= C04-458 N Michilla, ~1 Ma	Fig. 1.11

A.2. Résultats analyses élémentaires par l'ICP-MS à l'ablation laser, série du 26/08/03

C. concholepas M 77/ LA-ICP-MS 26/08/03

Points	Dates	Température	ppm		mmol/mol	
			Mg	Sr	Mg/Ca	Sr/Ca
34-M77			1879	992	8,1	1,2
35-M77	13/12/02 21:00	22,1	1517	1100	6,6	1,3
36-M77	12/12/02 23:30	20,6	737	1133	3,2	1,3
37-M77	12/12/02 12:00	19,2	426	1129	1,8	1,3
38-M77	12/12/02 1:30	19,3	617	1120	2,7	1,3
39-M77	11/12/02 14:30	18,9	406	1119	1,8	1,3
40-M77	11/12/02 2:30	18,8	476	1137	2,1	1,4
41-M77	10/12/02 14:30	21,0	474	1134	2,1	1,4
42-M77	10/12/02 0:00	22,0	437	1215	1,9	1,4
43-M77	9/12/02 12:30	21,8	410	1094	1,8	1,3
46-M77	9/12/02 0:30	21,7	505	1180	2,2	1,4
47-M77	8/12/02 14:00	21,6	419	1295	1,8	1,5
49-M77	8/12/02 3:00	21,4	473	1085	2,0	1,3
48-M77	7/12/02 16:00	22,4	493	1235	2,1	1,5
50-M77	6/12/02 23:00	21,9	332	998	1,4	1,2
51-M77	6/12/02 9:00	20,9	264	1220	1,1	1,5
52-M77	5/12/02 23:30	21,6	387	1279	1,7	1,5
53-M77	5/12/02 11:00	20,4	290	1133	1,3	1,3
54-M77	5/12/02 0:30	20,9	303	1077	1,3	1,3
55-M77	4/12/02 0:00	20,6	377	1125	1,6	1,3
57-M77	2/12/02 23:30	20,6	370	1124	1,6	1,3
58-M77	2/12/02 14:00	20,6	365	1101	1,6	1,3
59-M77	2/12/02 2:30	19,9	585	1184	2,5	1,4
60-M77	30/11/02 23:30	20,2	529	1090	2,3	1,3
61-M77	30/11/02 12:00	20,3	356	1160	1,5	1,4
62-M77	30/11/02 0:00	21,1	511	1059	2,2	1,3
63-M77	29/11/02 12:00	20,9	382	1088	1,7	1,3
64-M77	29/11/02 0:00	19,9	373	1107	1,6	1,3
65-M77	28/11/02 12:00	19,1	283	1119	1,2	1,3
66-M77	28/11/02 0:00	20,5	426	1196	1,8	1,4

A.3. Résultats analyses élémentaires par l'ICP-MS à l'ablation laser, série du 01/04/04

C. concholepas M 77-3/ LA-ICP-MS 01/04/04

Points	Dates	Température	ppm		mmol/mol	
			Mg	Sr	Mg/Ca	Sr/Ca
8-M77-3	14/12/02 10:00	21,48	1025	1007	4,4	1,2
9-M77-3	12/12/02 20:30	20,1	536	1002	2,3	1,2
10-M77-3	11/12/02 22:00	19,3	516	1032	2,2	1,2
11-M77-3	11/12/02 05:30	18,1	512	1047	2,2	1,3
12-M77-3	10/12/02 10:00	21,0	510	1044	2,2	1,2
13-M77-3	09/12/02 12:00	21,8	544	1106	2,3	1,3
14-M77-3	08/12/02 21:30	21,9	517	1085	2,2	1,3
15-M77-3	08/12/02 03:30	21,5	580	1091	2,5	1,3
16-M77-3	07/12/02 11:00	21,8	515	980	2,2	1,2
17-M77-3	06/12/02 18:30	22,0	452	1009	1,9	1,2
20-M77-3	06/12/02 03:30	21,2	429	1005	1,8	1,2
21-M77-3	05/12/02 11:00	20,8	394	993	1,7	1,2
22-M77-3	04/12/02 12:00	20,5	536	1021	2,3	1,2
23-M77-3	03/12/02 12:00	20,5	554	1070	2,4	1,3
24-M77-3	02/12/02 15:30	20,5	579	955	2,5	1,1
25-M77-3	02/12/02 00:30	20,1	790	1003	3,4	1,2
26-M77-3	01/12/02 00:00	20,0	649	976	2,8	1,2
27-M77-3	29/11/02 18:30	21,0	644	1016	2,8	1,2
28-M77-3	28/11/02 22:00	20,1	481	1032	2,1	1,2
29-M77-3	28/11/02 06:30	19,4	567	1048	2,4	1,3
32-M77-3	27/11/02 17:30	21,2	604	1086	2,6	1,3
33-M77-3	27/11/02 00:00	20,1	531	1053	2,3	1,3
34-M77-3	26/11/02 03:30	19,9	503	1027	2,2	1,2
35-M77-3	25/11/02 08:30	19,5	425	1062	1,8	1,3
36-M77-3	24/11/02 17:30	21,0	407	1015	1,8	1,2
37-M77-3	24/11/02 05:00	19,7	412	1110	1,8	1,3
38-M77-3	23/11/02 16:30	20,4	312	994	1,3	1,2
39-M77-3	22/11/02 22:00	19,7	407	994	1,8	1,2
40-M77-3	22/11/02 04:30	19,3	374	1042	1,6	1,2
41-M77-3	21/11/02 18:00	19,5	278	1020	1,2	1,2
46-M77-3	21/11/02 03:00	19,4	324	1058	1,4	1,3
47-M77-3	20/11/02 11:00	20,1	312	1087	1,3	1,3
48-M77-3	19/11/02 18:30	20,5	356	1051	1,5	1,3
49-M77-3	18/11/02 21:30	20,1	728	974	3,1	1,2
50-M77-3	17/11/02 10:00	19,7	604	1011	2,6	1,2
51-M77-3	15/11/02 22:30	18,7	412	1054	1,8	1,3
52-M77-3	14/11/02 21:00	19,2	473	1105	2,0	1,3
53-M77-3	14/11/02 08:00	18,2	330	1107	1,4	1,3
54-M77-3	13/11/02 23:00	19,4	447	1159	1,9	1,4
55-M77-3	13/11/02 12:00	19,4	331	1121	1,4	1,3
60-M77-3	25/11/02 08:00	19,9	366	930	1,6	1,1
61-M77-3	24/11/02 05:36	20,2	400	925	1,7	1,1
62-M77-3	23/11/02 03:12	19,8	429	952	1,9	1,1
63-M77-3	21/11/02 17:12	19,2	418	966	1,8	1,2
64-M77-3	20/11/02 07:36	20,4	352	963	1,5	1,2
65-M77-3	18/11/02 22:00	20,0	451	1020	1,9	1,2
66-M77-3	17/11/02 12:24	19,7	806	1001	3,5	1,2
67-M77-3	16/11/02 02:48	19,0	490	1007	2,1	1,2
68-M77-3	14/11/02 22:00	19,0	390	905	1,7	1,1

69-M77-3	14/11/02 02:00	18,9	295	931	1,3	1,1
75-M77-3	13/11/02 10:00	19,4	277	927	1,2	1,1
76-M77-3	12/11/02 17:00	19,8	248	916	1,1	1,1
77-M77-3	11/11/02 23:00	18,4	301	943	1,3	1,1
78-M77-3	11/11/02 03:00	18,1	238	987	1,0	1,2
79-M77-3	10/11/02 05:30	18,9	331	881	1,4	1,1
80-M77-3	09/11/02 04:00	18,9	1029	925	4,4	1,1
81-M77-3	07/11/02 00:00	19,2	634	901	2,7	1,1
82-M77-3	04/11/02 22:00	19,4	474	937	2,0	1,1
83-M77-3	03/11/02 20:30	20,3	772	953	3,3	1,1
84-M77-3	02/11/02 21:00	20,7	1181	967	5,1	1,2

A.4. Résultats analyses élémentaires par EMP, série 1 du 09/12/03

C. concholepas M 77/ Microsonde 09/12/03

Points	Distance (μ)	Date	T°C	‰		ppm				mmol/mol	
				Ca	Mg	Mn	Fe	Sr	Ba	Mg/Ca	Sr/Ca
2 / 50.	1864	27/11/2002 12:00	20.34	38.0	482	0.00	0	1674	0	2.1	2.0
2 / 49.	1845	27/11/2002 15:32	21.87	38.1	832	0.00	16	1750	36	3.6	2.1
2 / 48.	1827	27/11/2002 19:04	21.41	37.8	796	0.00	0	2004	18	3.5	2.4
2 / 47.	1808	27/11/2002 22:36	20.33	38.1	706	0.00	78	1294	0	3.1	1.6
2 / 46.	1790	28/11/2002 02:09	19.80	37.9	754	0.00	16	2173	0	3.3	2.6
2 / 45.	1771	28/11/2002 05:41	19.16	37.9	362	0.00	16	2182	161	1.6	2.6
2 / 44.	1753	28/11/2002 09:13	18.92	38.0	356	0.00	171	1776	0	1.5	2.1
2 / 43.	1734	28/11/2002 12:46	20.06	37.8	283	0.00	0	1945	0	1.2	2.4
2 / 42.	1716	28/11/2002 16:18	20.81	37.9	404	38.72	39	1953	18	1.8	2.4
2 / 41.	1697	28/11/2002 19:50	20.12	37.5	428	0.00	23	1438	63	1.9	1.8
2 / 40.	1679	28/11/2002 23:23	19.68	37.7	579	0.00	132	1886	0	2.5	2.3
2 / 39.	1660	29/11/2002 02:55	19.68	38.0	880	15.49	8	1547	0	3.8	1.9
2 / 38.	1642	29/11/2002 06:27	19.88	38.1	338	0.00	47	2114	99	1.5	2.5
2 / 37.	1623	29/11/2002 10:00	22.04	38.2	507	0.00	39	1666	0	2.2	2.0
2 / 36.	1605	29/11/2002 14:00	22.03	38.1	543	0.00	124	1184	54	2.4	1.4
2 / 35.	1586	29/11/2002 18:00	21.19	38.4	850	0.00	0	2063	0	3.6	2.5
2 / 34.	1568	29/11/2002 22:00	20.64	37.8	748	0.00	101	1632	99	3.3	2.0
2 / 33.	1550	30/11/2002 02:00	20.20	37.9	458	0.00	0	2106	125	2.0	2.5
2 / 32.	1531	30/11/2002 06:00	20.10	37.7	404	0.00	132	1531	188	1.8	1.9
2 / 31.	1513	30/11/2002 10:00	20.64	38.2	911	0.00	47	2097	54	3.9	2.5
2 / 30.	1494	30/11/2002 14:00	21.12	38.2	519	0.00	78	1649	27	2.2	2.0
2 / 29.	1476	30/11/2002 18:00	20.53	38.0	452	0.00	78	1471	99	2.0	1.8
2 / 28.	1457	30/11/2002 22:00	19.73	38.0	1110	0.00	54	1564	0	4.8	1.9
2 / 27.	1439	01/12/2002 02:00	19.32	38.1	2629	0.00	54	1294	0	11.4	1.6
2 / 26.	1420	01/12/2002 06:00	18.97	38.4	1272	30.98	0	1581	0	5.5	1.9
2 / 25.	1402	01/12/2002 10:00	19.48	38.5	681	0.00	70	1251	45	2.9	1.5
2 / 24.	1383	01/12/2002 14:00	20.37	37.9	513	0.00	0	1624	54	2.2	2.0
2 / 23.	1365	01/12/2002 18:00	20.28	37.5	742	0.00	0	1175	0	3.3	1.4
2 / 22.	1346	01/12/2002 22:00	19.97	37.7	470	0.00	8	1607	0	2.1	2.0
2 / 21.	1328	02/12/2002 02:00	19.63	37.8	446	0.00	117	1471	9	1.9	1.8
2 / 20.	1309	02/12/2002 06:00	19.45	38.1	525	0.00	47	1649	36	2.3	2.0
2 / 19.	1291	02/12/2002 10:00	20.38	37.7	555	0.00	109	1598	54	2.4	1.9
2 / 18.	1272	02/12/2002 14:00	21.36	37.9	519	0.00	0	1497	90	2.3	1.8
2 / 17.	1254	02/12/2002 18:00	21.06	37.8	772	0.00	0	1776	0	3.4	2.1
2 / 16.	1236	02/12/2002 22:00	20.21	37.7	332	0.00	0	1936	0	1.5	2.3
2 / 15.	1217	03/12/2002 02:00	19.98	38.0	440	0.00	39	1074	0	1.9	1.3
2 / 14.	1199	03/12/2002 06:00	19.78	37.6	1942	0.00	0	1438	54	8.5	1.7
2 / 13.	1180	03/12/2002 10:00	20.47	37.9	482	0.00	117	1294	0	2.1	1.6
2 / 12.	1162	03/12/2002 14:00	21.33	38.2	736	0.00	124	1852	134	3.2	2.2
2 / 11.	1143	03/12/2002 18:00	21.33	37.7	609	0.00	23	1936	9	2.7	2.3
2 / 10.	1125	03/12/2002 22:00	20.77	37.9	476	0.00	78	1108	0	2.1	1.3
2 / 9.	1106	04/12/2002 02:00	20.28	37.2	458	0.00	47	2106	18	2.0	2.6
2 / 8.	1088	04/12/2002 06:00	19.63	37.7	422	0.00	0	2072	36	1.8	2.5
2 / 7.	1069	04/12/2002 10:00	19.86	37.4	488	0.00	8	2089	0	2.2	2.6
2 / 6.	1051	04/12/2002 14:00	20.71	37.5	567	0.00	86	2004	0	2.5	2.4
2 / 5.	1032	04/12/2002 18:00	21.43	37.9	476	0.00	8	1632	0	2.1	2.0
2 / 4.	1014	04/12/2002 22:00	20.95	37.6	790	0.00	0	1936	0	3.5	2.4
2 / 3.	995	05/12/2002 02:00	20.44	37.6	899	0.00	124	1404	90	3.9	1.7
2 / 2.	977	05/12/2002 06:00	20.14	37.7	585	0.00	16	1226	18	2.6	1.5
2 / 1.	958	05/12/2002 10:00	20.37	38.2	501	0.00	8	2199	99	2.2	2.6
1 / 51.	938	05/12/2002 14:00	21.31	38.1	687	0.00	62	1683	0	3.0	2.0

1 / 50 .	920	05/12/2002 18:00	21.90	38.1	368	0.00	31	1556	0	1.6	1.9
1 / 49 .	901	05/12/2002 22:00	21.59	38.0	446	0.00	0	1843	99	1.9	2.2
1 / 48 .	882	06/12/2002 02:00	21.13	38.2	320	0.00	0	1936	0	1.4	2.3
1 / 47 .	863	06/12/2002 06:00	20.85	38.0	597	0.00	179	2063	0	2.6	2.5
1 / 46 .	845	06/12/2002 10:00	20.95	37.9	501	0.00	23	2537	54	2.2	3.1
1 / 45 .	826	06/12/2002 14:00	22.01	38.2	507	0.00	0	1598	0	2.2	1.9
1 / 44 .	807	06/12/2002 18:00	22.59	38.4	428	0.00	23	1750	0	1.8	2.1
1 / 43 .	788	06/12/2002 22:00	21.98	38.2	464	15.49	117	1877	0	2.0	2.2
1 / 42 .	769	07/12/2002 02:00	21.68	38.5	446	0.00	0	1759	0	1.9	2.1
1 / 41 .	751	07/12/2002 06:00	21.40	38.3	621	0.00	16	1776	81	2.7	2.1
1 / 40 .	732	07/12/2002 10:00	21.50	38.8	597	0.00	16	1505	0	2.5	1.8
1 / 39 .	713	07/12/2002 14:00	22.27	37.4	742	0.00	62	2469	161	3.3	3.0
1 / 38 .	694	07/12/2002 18:00	22.64	38.9	706	0.00	47	1843	0	3.0	2.2
1 / 37 .	676	07/12/2002 22:00	21.98	38.1	392	0.00	0	2013	45	1.7	2.4
1 / 36 .	657	08/12/2002 02:00	21.33	38.1	609	0.00	70	1987	0	2.6	2.4
1 / 35 .	638	08/12/2002 06:00	20.86	38.3	585	54.21	54	2317	0	2.5	2.8
1 / 34 .	619	08/12/2002 10:00	20.93	38.4	633	0.00	23	1818	27	2.7	2.2
1 / 33 .	601	08/12/2002 14:00	21.74	38.2	820	0.00	16	2503	63	3.5	3.0
1 / 32 .	582	08/12/2002 18:00	22.36	38.5	790	0.00	0	1750	215	3.4	2.1
1 / 31 .	563	08/12/2002 22:00	22.17	38.2	627	0.00	8	2435	36	2.7	2.9
1 / 30 .	544	09/12/2002 02:00	21.64	38.2	519	0.00	70	1657	63	2.2	2.0
1 / 29 .	526	09/12/2002 06:00	21.08	38.2	513	0.00	16	1759	18	2.2	2.1
1 / 28 .	507	09/12/2002 10:00	21.13	38.9	464	0.00	0	1463	9	2.0	1.7
1 / 27 .	488	09/12/2002 14:00	22.13	38.4	368	0.00	0	1421	134	1.6	1.7
1 / 26 .	469	09/12/2002 18:00	23.02	38.5	422	0.00	62	1784	0	1.8	2.1
1 / 25 .	450	09/12/2002 22:00	22.49	38.0	742	0.00	16	1936	54	3.2	2.3
1 / 24 .	432	10/12/2002 02:00	21.64	38.1	513	0.00	70	1810	0	2.2	2.2
1 / 23 .	413	10/12/2002 06:00	20.86	38.2	700	0.00	0	1480	0	3.0	1.8
1 / 22 .	394	10/12/2002 10:00	20.16	38.4	585	0.00	23	1590	72	2.5	1.9
1 / 21 .	375	10/12/2002 14:00	20.77	38.0	392	0.00	0	1192	45	1.7	1.4
1 / 20 .	357	10/12/2002 18:00	21.64	38.0	525	0.00	93	1463	99	2.3	1.8
1 / 19 .	338	10/12/2002 22:00	20.31	37.7	555	0.00	78	1235	0	2.4	1.5
1 / 18 .	319	11/12/2002 02:00	18.89	38.3	742	0.00	8	2182	18	3.2	2.6
1 / 17 .	300	11/12/2002 06:00	18.02	38.3	386	15.49	0	1311	125	1.7	1.6
1 / 16 .	282	11/12/2002 10:00	17.50	38.7	446	0.00	16	1361	107	1.9	1.6
1 / 15 .	263	11/12/2002 14:00	18.44	37.6	380	0.00	70	1328	27	1.7	1.6
1 / 14 .	244	11/12/2002 18:00	19.69	38.4	338	38.72	0	1919	99	1.4	2.3
1 / 13 .	225	11/12/2002 22:00	19.92	38.0	1387	0.00	62	2114	9	6.0	2.5
1 / 12 .	206	12/12/2002 02:00	19.33	38.2	507	0.00	148	1488	0	2.2	1.8
1 / 11 .	188	12/12/2002 06:00	18.86	37.9	923	0.00	0	1936	0	4.0	2.3
1 / 10 .	169	12/12/2002 10:00	18.46	37.8	404	286.55	8	1818	99	1.8	2.2
1 / 9 .	150	12/12/2002 14:00	19.19	38.3	428	0.00	31	1353	63	1.8	1.6
1 / 8 .	131	12/12/2002 18:00	20.37	37.8	633	0.00	0	2317	125	2.8	2.8
1 / 7 .	113	12/12/2002 22:00	20.97	38.0	1278	0.00	8	1987	0	5.5	2.4
1 / 6 .	94	13/12/2002 02:00	20.63	38.5	591	0.00	62	1860	36	2.5	2.2
1 / 5 .	75	13/12/2002 06:00	20.33	38.2	3431	0.00	70	2106	36	14.8	2.5
1 / 4 .	56	13/12/2002 10:00	20.02	38.3	2026	0.00	0	2114	0	8.7	2.5
1 / 3 .	38	13/12/2002 14:00	21.83	37.4	5548	0.00	23	2452	107	24.4	3.0
1 / 2 .	19	13/12/2002 18:00	22.92	38.1	561	0.00	117	1302	0	2.4	1.6
1 / 1 .	0	13/12/2002 22:00	22.54	38.0	344	0.00	54	1674	0	1.5	2.0

A.5. Résultats analyses élémentaires par EMP, série 1 du 06/01/04

C. concholepas M 77-3 / Microsonde 06/01/04 série 1

Points	Distance (μ)	Date	‰		ppm				mmol/mol	
			Ca	Mg	Mn	Fe	Sr	Ba	Mg/Ca	Sr/Ca
1 / 150 .	2889	17/11/2002 12:00	40.8	1940	0	30	2150	10	7.8	2.4
1 / 149 .	2869	17/11/2002 16:32	43.3	390	0	70	1840	90	1.5	1.9
1 / 148 .	2850	17/11/2002 21:04	43.2	460	0	0	2210	0	1.8	2.3
1 / 147 .	2831	18/11/2002 01:36	43.2	1100	0	10	2120	60	4.2	2.2
1 / 146 .	2811	18/11/2002 06:09	43.4	570	0	20	2280	0	2.2	2.4
1 / 145 .	2792	18/11/2002 10:41	43.4	320	0	50	2220	0	1.2	2.3
1 / 144 .	2772	18/11/2002 15:13	43.0	420	0	50	2770	40	1.6	2.9
1 / 143 .	2753	18/11/2002 19:46	42.4	510	0	60	2250	110	2.0	2.4
1 / 142 .	2734	19/11/2002 00:18	42.8	530	0	0	2740	10	2.0	2.9
1 / 141 .	2714	19/11/2002 04:50	42.8	410	0	30	2670	40	1.6	2.9
1 / 140 .	2695	19/11/2002 09:23	41.1	500	0	20	2210	30	2.0	2.5
1 / 139 .	2676	19/11/2002 13:55	41.9	840	0	80	2580	0	3.3	2.8
1 / 138 .	2656	19/11/2002 18:27	43.9	390	0	0	2230	0	1.5	2.3
1 / 137 .	2637	19/11/2002 23:00	42.6	530	0	10	2540	0	2.1	2.7
1 / 136 .	2617	20/11/2002 03:32	43.1	420	0	40	2600	10	1.6	2.8
1 / 135 .	2598	20/11/2002 08:04	43.4	390	0	0	1970	30	1.5	2.1
1 / 134 .	2579	20/11/2002 12:36	43.0	320	0	10	2140	0	1.2	2.3
1 / 133 .	2559	20/11/2002 17:09	43.2	360	0	0	1900	0	1.4	2.0
1 / 132 .	2540	20/11/2002 21:41	43.7	340	0	40	2420	20	1.3	2.5
1 / 131 .	2520	21/11/2002 02:13	40.9	420	0	30	3060	0	1.7	3.4
1 / 130 .	2501	21/11/2002 06:46	43.1	1050	0	0	2510	0	4.0	2.7
1 / 129 .	2482	21/11/2002 11:18	42.1	1620	0	10	2300	0	6.3	2.5
1 / 128 .	2462	21/11/2002 15:50	43.1	480	0	90	1990	40	1.8	2.1
1 / 127 .	2443	21/11/2002 20:23	44.2	490	0	0	2000	0	1.8	2.1
1 / 126 .	2423	22/11/2002 00:55	41.1	300	0	10	2560	30	1.2	2.8
1 / 125 .	2404	22/11/2002 05:27	43.5	420	0	120	2570	0	1.6	2.7
1 / 124 .	2385	22/11/2002 10:00	42.9	460	0	30	1820	30	1.8	1.9
1 / 123 .	2365	22/11/2002 14:04	41.6	620	0	50	2170	50	2.5	2.4
1 / 122 .	2346	22/11/2002 18:08	42.4	530	0	0	1520	70	2.1	1.6
1 / 121 .	2327	22/11/2002 22:13	42.3	280	0	70	1960	0	1.1	2.1
1 / 120 .	2307	23/11/2002 02:17	40.8	340	0	80	2220	0	1.4	2.5
1 / 119 .	2288	23/11/2002 06:21	42.8	410	0	20	2270	110	1.6	2.4
1 / 118 .	2268	23/11/2002 10:26	42.0	930	0	0	2630	0	3.7	2.9
1 / 117 .	2249	23/11/2002 14:30	43.4	570	0	70	2710	110	2.2	2.9
1 / 116 .	2230	23/11/2002 18:35	42.9	850	0	80	1890	0	3.3	2.0
1 / 115 .	2210	23/11/2002 22:39	41.9	520	0	110	2700	90	2.0	2.9
1 / 114 .	2191	24/11/2002 02:43	42.9	400	0	0	2850	0	1.5	3.0
1 / 113 .	2171	24/11/2002 06:48	43.6	430	0	60	2470	50	1.6	2.6
1 / 112 .	2152	24/11/2002 10:52	43.6	490	0	10	2750	0	1.9	2.9
1 / 111 .	2133	24/11/2002 14:57	43.6	570	0	40	2390	10	2.2	2.5
1 / 110 .	2113	24/11/2002 19:01	41.9	820	0	0	2690	90	3.2	2.9
1 / 109 .	2094	24/11/2002 23:05	42.7	510	0	0	2140	30	2.0	2.3
1 / 108 .	2074	25/11/2002 03:10	43.1	640	0	10	2210	50	2.4	2.3
1 / 107 .	2055	25/11/2002 07:14	42.9	330	0	0	2590	0	1.3	2.8
1 / 106 .	2036	25/11/2002 11:19	42.9	250	0	0	1860	90	1.0	2.0
1 / 105 .	2016	25/11/2002 15:23	42.5	440	0	10	2970	0	1.7	3.2
1 / 104 .	1997	25/11/2002 19:27	41.8	430	0	30	2710	10	1.7	3.0
1 / 103 .	1978	25/11/2002 23:32	43.1	550	0	20	2160	0	2.1	2.3
1 / 102 .	1958	26/11/2002 03:36	41.0	1700	0	20	2300	30	6.8	2.6
1 / 101 .	1939	26/11/2002 07:40	44.0	490	0	30	1510	0	1.8	1.6
1 / 100 .	1919	26/11/2002 11:45	43.0	500	0	20	2580	20	1.9	2.7

1 / 99 .	1900	26/11/2002 15:49	43.9	620	0	80	2390	0	2.3	2.5
1 / 98 .	1881	26/11/2002 19:54	43.3	970	0	20	3310	50	3.7	3.5
1 / 97 .	1861	26/11/2002 23:58	42.4	930	0	60	2380	0	3.6	2.6
1 / 96 .	1842	27/11/2002 04:02	43.4	550	0	10	2230	40	2.1	2.4
1 / 95 .	1822	27/11/2002 08:07	42.3	710	0	30	2620	0	2.8	2.8
1 / 94 .	1803	27/11/2002 12:11	42.9	850	0	100	2030	0	3.3	2.2
1 / 93 .	1784	27/11/2002 16:16	41.3	910	0	0	2500	0	3.6	2.8
1 / 92 .	1764	27/11/2002 20:20	41.8	1900	0	0	1910	70	7.5	2.1
1 / 91 .	1745	28/11/2002 00:24	41.8	630	0	0	2240	0	2.5	2.5
1 / 90 .	1726	28/11/2002 04:29	43.8	430	0	0	2020	0	1.6	2.1
1 / 89 .	1706	28/11/2002 08:33	43.2	480	0	40	2760	0	1.8	2.9
1 / 88 .	1687	28/11/2002 12:38	40.9	410	0	30	1810	90	1.7	2.0
1 / 87 .	1667	28/11/2002 16:42	42.9	520	0	30	2610	0	2.0	2.8
1 / 86 .	1648	28/11/2002 20:46	43.2	650	180	100	2390	120	2.5	2.5
1 / 85 .	1629	29/11/2002 00:51	43.1	1520	0	70	1900	0	5.8	2.0
1 / 84 .	1609	29/11/2002 04:55	42.1	540	0	70	2450	10	2.1	2.7
1 / 83 .	1590	29/11/2002 09:00	41.4	450	0	60	1920	0	1.8	2.1
1 / 82 .	1570	29/11/2002 14:00	43.3	730	0	0	2530	20	2.8	2.7
1 / 81 .	1551	29/11/2002 18:49	41.9	1060	0	0	2320	50	4.2	2.5
1 / 80 .	1532	29/11/2002 23:38	43.8	660	0	40	1580	0	2.5	1.6
1 / 79 .	1512	30/11/2002 04:28	42.0	510	0	0	2080	90	2.0	2.3
1 / 78 .	1493	30/11/2002 09:17	43.7	1050	0	0	2530	190	4.0	2.6
1 / 77 .	1473	30/11/2002 14:07	42.3	570	0	90	2470	0	2.2	2.7
1 / 76 .	1454	30/11/2002 18:56	43.5	580	0	0	2210	100	2.2	2.3
1 / 75 .	1435	30/11/2002 23:46	42.8	2020	0	60	1850	0	7.8	2.0
1 / 74 .	1415	01/12/2002 04:35	42.1	970	0	0	1810	0	3.8	2.0
1 / 73 .	1396	01/12/2002 09:24	43.8	750	0	10	1350	0	2.8	1.4
1 / 72 .	1377	01/12/2002 14:14	43.8	1140	0	0	2060	120	4.3	2.2
1 / 71 .	1357	01/12/2002 19:03	43.0	640	0	20	1660	0	2.5	1.8
1 / 70 .	1338	01/12/2002 23:53	43.4	720	0	10	1660	60	2.7	1.7
1 / 69 .	1318	02/12/2002 04:42	43.8	620	0	30	2490	0	2.3	2.6
1 / 68 .	1299	02/12/2002 09:32	43.2	880	0	10	2280	0	3.4	2.4
1 / 67 .	1280	02/12/2002 14:21	43.4	1340	0	20	2920	0	5.1	3.1
1 / 66 .	1260	02/12/2002 19:11	44.0	720	10	0	2600	110	2.7	2.7
1 / 65 .	1241	03/12/2002 00:00	42.9	450	0	30	2130	0	1.7	2.3
1 / 64 .	1221	03/12/2002 04:49	43.2	460	0	0	1590	10	1.8	1.7
1 / 63 .	1202	03/12/2002 09:39	42.8	740	0	0	2030	0	2.9	2.2
1 / 62 .	1183	03/12/2002 14:28	43.0	600	0	60	1950	40	2.3	2.1
1 / 61 .	1163	03/12/2002 19:18	42.9	1120	0	50	2260	40	4.3	2.4
1 / 60 .	1144	04/12/2002 00:07	43.9	440	0	0	1930	0	1.7	2.0
1 / 59 .	1124	04/12/2002 04:57	42.7	320	0	50	2010	0	1.2	2.2
1 / 58 .	1105	04/12/2002 09:46	40.9	880	0	40	2260	0	3.6	2.5
1 / 57 .	1086	04/12/2002 14:36	41.7	480	0	0	2390	0	1.9	2.6
1 / 56 .	1066	04/12/2002 19:25	42.8	550	0	20	1960	0	2.1	2.1
1 / 55 .	1047	05/12/2002 00:14	42.7	590	0	50	2090	0	2.3	2.2
1 / 54 .	1028	05/12/2002 05:04	43.9	1110	0	40	3160	0	4.2	3.3
1 / 53 .	1008	05/12/2002 09:53	41.9	590	0	40	2530	70	2.3	2.8
1 / 52 .	989	05/12/2002 14:43	40.3	540	0	0	2590	70	2.2	2.9
1 / 51 .	969	05/12/2002 19:32	43.8	390	0	210	2620	40	1.5	2.7
1 / 50 .	950	06/12/2002 00:22	42.4	390	0	40	1960	0	1.5	2.1
1 / 49 .	931	06/12/2002 05:11	42.3	330	0	80	2340	0	1.3	2.5
1 / 48 .	911	06/12/2002 10:00	41.3	2660	0	30	2110	50	10.6	2.3
1 / 47 .	892	06/12/2002 14:05	42.3	800	20	10	2100	80	3.1	2.3
1 / 46 .	872	06/12/2002 18:09	41.9	530	0	10	2250	80	2.1	2.5
1 / 45 .	853	06/12/2002 22:14	41.8	600	0	50	1990	130	2.4	2.2
1 / 44 .	834	07/12/2002 02:18	42.8	750	0	30	2010	0	2.9	2.1
1 / 43 .	814	07/12/2002 06:22	41.4	890	0	0	2450	40	3.5	2.7
1 / 42 .	795	07/12/2002 10:27	43.2	760	0	50	2550	50	2.9	2.7

1 / 41.	776	07/12/2002 14:31	43.2	1120	0	0	2270	10	4.3	2.4
1 / 40.	756	07/12/2002 18:35	42.8	480	0	0	1750	10	1.9	1.9
1 / 39.	737	07/12/2002 22:40	43.0	840	0	10	2180	40	3.2	2.3
1 / 38.	717	08/12/2002 02:44	43.2	470	0	0	1330	100	1.8	1.4
1 / 37.	698	08/12/2002 06:49	41.8	700	0	10	2240	0	2.8	2.4
1 / 36.	679	08/12/2002 10:53	42.1	900	0	0	2300	0	3.5	2.5
1 / 35.	659	08/12/2002 14:57	41.4	830	0	0	2200	0	3.3	2.4
1 / 34.	640	08/12/2002 19:02	41.4	1530	0	80	2220	0	6.1	2.5
1 / 33.	620	08/12/2002 23:06	41.7	820	0	40	2270	0	3.2	2.5
1 / 32.	601	09/12/2002 03:10	43.3	510	0	110	1880	170	1.9	2.0
1 / 31.	582	09/12/2002 07:15	42.3	580	0	40	1890	120	2.3	2.0
1 / 30.	562	09/12/2002 11:19	43.8	680	0	50	2200	0	2.6	2.3
1 / 29.	543	09/12/2002 15:23	43.7	1010	0	0	1810	10	3.8	1.9
1 / 28.	523	09/12/2002 19:28	43.7	790	0	0	2380	0	3.0	2.5
1 / 27.	504	09/12/2002 23:32	43.5	870	0	40	1860	0	3.3	2.0
1 / 26.	485	10/12/2002 03:37	41.8	870	0	50	1470	0	3.4	1.6
1 / 25.	465	10/12/2002 07:41	40.8	530	0	0	1590	180	2.1	1.8
1 / 24.	446	10/12/2002 11:45	43.7	800	0	50	1920	60	3.0	2.0
1 / 23.	427	10/12/2002 15:50	42.5	1180	0	0	2130	170	4.6	2.3
1 / 22.	407	10/12/2002 19:54	40.8	740	0	10	2410	0	3.0	2.7
1 / 21.	388	10/12/2002 23:58	43.6	730	0	70	2220	0	2.8	2.3
1 / 20.	368	11/12/2002 04:03	42.5	640	0	40	2210	50	2.5	2.4
1 / 19.	349	11/12/2002 08:07	43.6	670	0	0	2520	0	2.5	2.6
1 / 18.	330	11/12/2002 12:11	43.3	640	0	0	2010	80	2.4	2.1
1 / 17.	310	11/12/2002 16:16	43.2	1270	0	30	2670	120	4.9	2.8
1 / 16.	291	11/12/2002 20:20	43.1	1500	0	40	2410	0	5.7	2.6
1 / 15.	271	12/12/2002 00:25	43.4	810	0	80	2820	0	3.1	3.0
1 / 14.	252	12/12/2002 04:29	43.6	1160	0	40	2070	0	4.4	2.2
1 / 13.	233	12/12/2002 08:33	41.6	620	0	70	2200	10	2.5	2.4
1 / 12.	213	12/12/2002 12:38	43.8	550	0	80	2150	0	2.1	2.2
1 / 11.	194	12/12/2002 16:42	43.0	960	0	20	2410	80	3.7	2.6
1 / 10.	174	12/12/2002 20:46	43.7	2020	0	70	2490	50	7.6	2.6
1 / 9.	155	13/12/2002 00:51	41.8	1530	40	40	1950	60	6.0	2.1
1 / 8.	136	13/12/2002 04:55	42.8	1110	0	50	2850	50	4.3	3.0
1 / 7.	116	13/12/2002 09:00	40.4	830	0	90	2520	0	3.4	2.9
1 / 6.	97	13/12/2002 10:04	42.5	1790	0	70	2220	0	6.9	2.4
1 / 5.	78	13/12/2002 14:24	40.7	1240	0	0	2020	0	5.0	2.3
1 / 4.	58	13/12/2002 18:43	42.4	9910	0	0	2020	70	38.5	2.2
1 / 3.	39	13/12/2002 23:02	42.1	4210	0	0	2170	20	16.5	2.4
1 / 2.	19	14/12/2002 03:21	42.6	14020	160	20	2280	140	54.3	2.4
1 / 1.	0	14/12/2002 07:40	43.0	830	0	40	1920	0	3.2	2.0

A.6. Résultats analyses élémentaires par EMP, séries 2, 3 et 4 du 06/01/04

C. concholepas M 77/ Microsonde 06/01/04 séries 2, 3 et 4

Points	Distance (μ)	%		ppm				mmol/mol	
		Ca	Mg	Mn	Fe	Sr	Ba	Mg/Ca	Sr/Ca
4 / 10 ,	542	41,6	390	0	90	2010	0	9,4	48,3
4 / 9 ,	530	44,0	430	0	60	1980	0	9,8	45,0
4 / 8 ,	518	41,6	360	0	10	2180	30	8,7	52,4
4 / 7 ,	506	42,2	430	0	0	2010	0	10,2	47,6
4 / 6 ,	494	42,7	660	0	0	1930	80	15,4	45,2
4 / 5 ,	482	42,1	620	0	90	2370	0	14,7	56,2
4 / 4 ,	470	42,5	260	0	10	1870	0	6,1	44,0
4 / 3 ,	458	43,5	320	0	30	2380	40	7,4	54,7
4 / 2 ,	446	43,0	310	0	10	1900	30	7,2	44,1
4 / 1 ,	434	43,6	360	0	30	1990	0	8,2	45,6
3 / 10 ,	344	40,2	240	0	120	1830	0	6,0	45,6
3 / 9 ,	328	42,0	310	0	100	2320	0	7,4	55,3
3 / 8 ,	312	40,9	450	0	60	2220	10	11,0	54,3
3 / 7 ,	296	43,9	330	0	30	2000	0	7,5	45,5
3 / 6 ,	280	44,1	420	0	70	2180	0	9,5	49,4
3 / 5 ,	264	41,6	310	0	0	1470	0	7,5	35,3
3 / 4 ,	248	43,8	260	0	20	2500	0	5,9	57,1
3 / 3 ,	232	43,9	230	0	0	1370	0	5,2	31,2
3 / 2 ,	216	44,1	180	0	70	2200	0	4,1	49,9
3 / 1 ,	200	42,5	350	0	50	1410	0	8,2	33,2
2 / 10 ,	162	41,5	400	0	50	1820	40	9,6	43,9
2 / 9 ,	144	42,7	380	0	0	2200	0	8,9	51,5
2 / 8 ,	126	42,0	440	0	60	2380	0	10,5	56,6
2 / 7 ,	108	42,3	190	0	0	1930	0	4,5	45,6
2 / 6 ,	90	42,2	280	0	0	2250	0	6,6	53,4
2 / 5 ,	72	41,0	320	0	30	2330	0	7,8	56,8
2 / 4 ,	54	43,4	390	10	0	2060	0	9,0	47,5
2 / 3 ,	36	41,4	480	0	20	2800	90	11,6	67,6
2 / 2 ,	18	43,2	370	0	40	2390	0	8,6	55,3
2 / 1 ,	0	41,2	320	0	0	1790	30	7,8	43,4

A.7. Résultats analyses élémentaires par EMP, série 5 du 06/01/04

C. concholepas M 77-3 / Microsonde 06/01/04 série 5

Points	Distance (μ)	Date	‰		ppm				mmol/mol	
			Ca	Mg	Mn	Fe	Sr	Ba	Mg/Ca	Sr/Ca
5 / 50.	490	05/12/2002 12:00	41.7	1010	0	60	2790	90	4.0	3.1
5 / 49.	480	05/12/2002 15:25	43.1	620	0	0	2360	0	2.4	2.5
5 / 48.	470	05/12/2002 18:51	43.1	810	0	110	2500	100	3.1	2.7
5 / 47.	460	05/12/2002 22:17	43.3	540	0	20	2360	60	2.1	2.5
5 / 46.	450	06/12/2002 01:42	41.3	460	0	70	1940	70	1.8	2.1
5 / 45.	440	06/12/2002 05:08	43.7	630	0	60	2410	0	2.4	2.5
5 / 44.	430	06/12/2002 08:34	43.5	560	0	70	2160	60	2.1	2.3
5 / 43.	420	06/12/2002 12:00	42.3	1390	0	0	3050	0	5.4	3.3
5 / 42.	410	06/12/2002 16:21	42.2	600	0	30	2050	90	2.3	2.2
5 / 41.	400	06/12/2002 20:43	43.2	620	0	20	2390	0	2.4	2.5
5 / 40.	390	07/12/2002 01:04	43.9	630	0	30	1810	20	2.4	1.9
5 / 39.	380	07/12/2002 05:26	43.8	740	0	50	1810	90	2.8	1.9
5 / 38.	370	07/12/2002 09:47	42.8	890	0	0	2530	0	3.4	2.7
5 / 37.	360	07/12/2002 14:09	43.8	770	0	100	2100	60	2.9	2.2
5 / 36.	350	07/12/2002 18:30	40.7	740	0	100	2880	30	3.0	3.2
5 / 35.	340	07/12/2002 22:52	39.7	1050	0	40	2340	0	4.4	2.7
5 / 34.	330	08/12/2002 03:13	43.5	820	0	0	2070	0	3.1	2.2
5 / 33.	320	08/12/2002 07:35	43.1	1210	0	0	2500	40	4.6	2.7
5 / 32.	310	08/12/2002 11:56	41.1	600	0	0	2470	90	2.4	2.7
5 / 31.	300	08/12/2002 16:18	42.8	810	0	60	2260	0	3.1	2.4
5 / 30.	290	08/12/2002 20:40	42.3	900	0	120	1980	0	3.5	2.1
5 / 29.	280	09/12/2002 01:01	41.0	1110	0	0	2480	60	4.5	2.8
5 / 28.	270	09/12/2002 05:23	41.4	1020	0	40	2710	60	4.1	3.0
5 / 27.	260	09/12/2002 09:44	41.6	700	0	40	2700	170	2.8	3.0
5 / 26.	250	09/12/2002 14:06	42.0	560	0	0	2420	0	2.2	2.6
5 / 25.	240	09/12/2002 18:27	41.6	630	0	0	2720	0	2.5	3.0
5 / 24.	230	09/12/2002 22:49	41.0	1080	0	60	2430	30	4.3	2.7
5 / 23.	220	10/12/2002 03:10	41.4	770	0	0	2190	30	3.1	2.4
5 / 22.	210	10/12/2002 07:32	42.3	740	0	90	2220	0	2.9	2.4
5 / 21.	200	10/12/2002 11:53	41.0	720	0	40	2150	0	2.9	2.4
5 / 20.	190	10/12/2002 16:15	40.9	960	0	10	2430	0	3.9	2.7
5 / 19.	180	10/12/2002 20:36	41.9	810	0	30	1930	0	3.2	2.1
5 / 18.	170	11/12/2002 00:58	42.1	810	0	120	2180	0	3.2	2.4
5 / 17.	160	11/12/2002 05:20	42.2	700	0	0	2410	0	2.7	2.6
5 / 16.	150	11/12/2002 09:41	41.6	840	0	0	2420	90	3.3	2.7
5 / 15.	140	11/12/2002 14:03	41.5	2100	0	80	2670	50	8.3	2.9
5 / 14.	130	11/12/2002 18:24	41.7	950	0	60	2950	0	3.8	3.2
5 / 13.	120	11/12/2002 22:46	42.9	510	0	70	2790	20	2.0	3.0
5 / 12.	110	12/12/2002 03:07	43.1	850	0	30	3050	0	3.3	3.2
5 / 11.	100	12/12/2002 07:29	42.9	590	0	20	2160	0	2.3	2.3
5 / 10.	90	12/12/2002 11:50	40.1	3540	0	150	2760	60	14.6	3.2
5 / 9.	80	12/12/2002 16:12	43.5	1010	0	0	2510	50	3.8	2.6
5 / 8.	70	12/12/2002 20:33	41.2	640	0	30	2700	30	2.6	3.0
5 / 7.	60	13/12/2002 00:55	43.2	810	0	40	2500	0	3.1	2.6
5 / 6.	50	13/12/2002 05:16	41.4	5440	0	90	2330	30	21.7	2.6
5 / 5.	40	13/12/2002 09:38	42.5	660	0	50	1940	150	2.6	2.1
5 / 4.	30	13/12/2002 14:00	42.8	8430	0	90	3140	0	32.5	3.4
5 / 3.	20	13/12/2002 17:24	42.2	1070	0	110	2290	50	4.2	2.5
5 / 2.	10	13/12/2002 21:36	43.1	430	120	50	2420	20	1.6	2.6
5 / 1.	0	14/12/2002 01:48	42.9	490	0	0	2460	40	1.9	2.6

A.8. Résultats analyses élémentaires par EMP, série 1 du 07/01/04

C. concholepas M 77/ Microsonde 07/01/04

Points	Distance (μ)	Date	%	ppm		mmol/mol	
			Ca	Mg	Sr	Mg/Ca	Sr/Ca
1 / 34 ,	626	08/12/2002 12:00	42,2	790	1250	3,1	1,4
1 / 33 ,	607	08/12/2002 16:17	43,1	500	1020	1,9	1,1
1 / 32 ,	588	08/12/2002 20:34	43,0	330	1350	1,3	1,4
1 / 31 ,	569	09/12/2002 00:51	43,4	280	1140	1,1	1,2
1 / 30 ,	550	09/12/2002 05:08	43,5	230	900	0,9	0,9
1 / 29 ,	531	09/12/2002 09:25	42,5	500	980	1,9	1,1
1 / 28 ,	512	09/12/2002 13:42	42,0	460	900	1,8	1,0
1 / 27 ,	493	09/12/2002 18:00	43,5	490	1020	1,9	1,1
1 / 26 ,	474	09/12/2002 22:17	43,0	530	1240	2,0	1,3
1 / 25 ,	455	10/12/2002 02:34	43,5	340	1030	1,3	1,1
1 / 24 ,	436	10/12/2002 06:51	43,7	400	890	1,5	0,9
1 / 23 ,	417	10/12/2002 11:08	43,5	630	980	2,4	1,0
1 / 22 ,	399	10/12/2002 15:25	43,2	590	1040	2,3	1,1
1 / 21 ,	380	10/12/2002 19:42	43,3	510	1220	1,9	1,3
1 / 20 ,	361	11/12/2002 00:00	43,8	350	1140	1,3	1,2
1 / 19 ,	342	11/12/2002 04:17	43,8	340	1040	1,3	1,1
1 / 18 ,	323	11/12/2002 08:34	43,0	250	1090	1,0	1,2
1 / 17 ,	304	11/12/2002 12:51	43,9	330	1180	1,2	1,2
1 / 16 ,	285	11/12/2002 17:08	42,9	820	1340	3,2	1,4
1 / 15 ,	266	11/12/2002 21:25	41,7	410	1020	1,6	1,1
1 / 14 ,	247	12/12/2002 01:42	43,4	450	1190	1,7	1,3
1 / 13 ,	228	12/12/2002 06:00	43,3	380	920	1,4	1,0
1 / 12 ,	209	12/12/2002 10:17	43,0	310	1070	1,2	1,1
1 / 11 ,	190	12/12/2002 14:34	43,8	250	1110	0,9	1,2
1 / 10 ,	171	12/12/2002 18:51	42,4	500	1250	1,9	1,3
1 / 9 ,	152	12/12/2002 23:08	43,6	640	1150	2,4	1,2
1 / 8 ,	133	13/12/2002 03:25	43,2	640	1460	2,4	1,5
1 / 7 ,	114	13/12/2002 07:42	42,9	560	1110	2,2	1,2
1 / 6 ,	95	13/12/2002 12:00	42,5	1530	1030	5,9	1,1
1 / 5 ,	76	13/12/2002 08:13	43,5	1570	1020	6,0	1,1
1 / 4 ,	57	13/12/2002 12:14	43,2	2000	1040	7,6	1,1
1 / 3 ,	38	13/12/2002 16:14	42,9	5850	1110	22,5	1,2
1 / 2 ,	19	13/12/2002 20:15	43,0	5260	970	20,2	1,0
1 / 1 ,	0	14/12/2002 00:15	42,3	9190	1090	35,8	1,2

A.9. Résultats analyses élémentaires par EMP, série 1 du 03/03/04

C. concholepas M 77-3/ Microsonde 03/03/04 / Ligne 1 (bord)

Points	Distance (μ)	Date	%		ppm				mmol/mol	
			Ca	Mg	Mn	Fe	Sr	Ba	Mg/Ca	Sr/Ca
3 / 1 .	29979	13/12/2002 16:00	37,5	2350	-130	50	1350	-30	10,3	1,6
3 / 2 .	29960	13/12/2002 09:00	37,7	650	-180	-20	1160	-20	2,8	1,4
3 / 3 .	29940	13/12/2002 03:18	37,9	550	-160	80	1340	100	2,4	1,6
3 / 4 .	29920	12/12/2002 21:37	37,7	470	-170	-10	1250	-70	2,1	1,5
3 / 5 .	29901	12/12/2002 15:55	38,1	650	-130	10	1490	80	2,8	1,8
3 / 6 .	29881	12/12/2002 10:14	37,5	760	-150	-20	1180	-100	3,3	1,4
3 / 7 .	29861	12/12/2002 04:33	37,7	470	-120	30	1070	30	2,1	1,3
3 / 8 .	29842	11/12/2002 22:51	/	300	-250	-50	1070	-90		
3 / 9 .	29822	11/12/2002 17:10	37,9	550	-90	40	1020	70	2,4	1,2
3 / 10 .	29803	11/12/2002 11:28	37,7	360	-140	40	1140	-110	1,6	1,4
3 / 11 .	29783	11/12/2002 05:47	37,6	390	-150	0	1250	-150	1,7	1,5
3 / 12 .	29763	11/12/2002 00:06	38,2	540	-110	-30	1100	-70	2,3	1,3
3 / 13 .	29744	10/12/2002 18:24	38,4	720	-190	-80	1040	60	3,1	1,2
3 / 14 .	29724	10/12/2002 12:43	37,9	900	-220	40	1170	-10	3,9	1,4
3 / 15 .	29704	10/12/2002 07:02	38,0	450	-190	30	930	90	2,0	1,1
3 / 16 .	29685	10/12/2002 01:20	38,4	430	-120	60	980	10	1,8	1,2
3 / 17 .	29665	09/12/2002 19:39	37,6	390	-110	10	1530	60	1,7	1,9
3 / 18 .	29645	09/12/2002 13:57	37,3	330	-200	0	1360	-130	1,5	1,7
3 / 19 .	29626	09/12/2002 08:16	37,9	550	-190	20	1390	-130	2,4	1,7
3 / 20 .	29606	09/12/2002 02:35	38,3	380	-90	-20	1000	-30	1,6	1,2
3 / 21 .	29587	08/12/2002 20:53	38,6	460	-160	20	1160	-40	2,0	1,4
3 / 22 .	29567	08/12/2002 15:12	38,4	640	-160	30	1140	-50	2,8	1,4
3 / 23 .	29547	08/12/2002 09:31	38,3	480	-160	40	1530	10	2,1	1,8
3 / 24 .	29528	08/12/2002 03:49	37,8	490	-110	60	1430	-10	2,1	1,7
3 / 25 .	29508	07/12/2002 22:08	38,1	250	-150	30	1280	-30	1,1	1,5
3 / 26 .	29488	07/12/2002 16:26	38,3	440	-170	0	1110	-40	1,9	1,3
3 / 27 .	29469	07/12/2002 10:45	38,2	540	-270	-110	1010	50	2,3	1,2
3 / 28 .	29449	07/12/2002 05:04	38,6	380	-130	50	1190	50	1,6	1,4
3 / 29 .	29430	06/12/2002 23:22	38,5	530	-120	-60	1150	-20	2,3	1,4
3 / 30 .	29410	06/12/2002 17:41	38,3	290	-160	80	1110	-60	1,2	1,3
3 / 31 .	29390	06/12/2002 12:00	38,2	310	-170	-20	1140	80	1,3	1,4
3 / 32 .	29371	06/12/2002 09:00	38,0	470	-130	-20	1150	-150	2,0	1,4
3 / 33 .	29351	06/12/2002 03:06	38,2	1120	-150	-40	1330	-30	4,8	1,6
3 / 34 .	29331	05/12/2002 21:12	38,0	220	-100	40	1100	-70	1,0	1,3
3 / 35 .	29312	05/12/2002 15:19	37,8	170	-160	40	1370	10	0,7	1,7
3 / 36 .	29292	05/12/2002 09:25	38,5	310	-80	60	1180	-130	1,3	1,4
3 / 37 .	29273	05/12/2002 03:32	38,6	270	-110	0	1270	-90	1,2	1,5
3 / 38 .	29253	04/12/2002 21:38	38,1	740	-120	60	1510	-100	3,2	1,8
3 / 39 .	29233	04/12/2002 15:45	37,7	230	-210	50	1300	90	1,0	1,6
3 / 40 .	29214	04/12/2002 09:51	38,1	300	-90	150	1070	-90	1,3	1,3
3 / 41 .	29194	04/12/2002 03:57	38,0	460	-90	40	1120	30	2,0	1,3
3 / 42 .	29175	03/12/2002 22:04	38,1	240	-120	70	1070	-40	1,0	1,3
3 / 43 .	29155	03/12/2002 16:10	38,2	380	-110	0	1030	10	1,6	1,2
3 / 44 .	29135	03/12/2002 10:17	38,1	290	-120	50	1300	-30	1,3	1,6
3 / 45 .	29116	03/12/2002 04:23	38,3	1870	-160	-20	1320	-70	8,0	1,6
3 / 46 .	29096	02/12/2002 22:30	38,2	260	-70	-30	1260	20	1,1	1,5
3 / 47 .	29077	02/12/2002 16:36	38,5	410	-60	-40	1090	-90	1,8	1,3
3 / 48 .	29057	02/12/2002 10:42	38,3	710	-70	10	920	20	3,1	1,1
3 / 49 .	29037	02/12/2002 04:49	38,5	630	-160	0	1090	-20	2,7	1,3

3 / 50 .	29018	01/12/2002 22:55	38,2	290	-160	20	1420	50	1,3	1,7
3 / 51 .	28998	01/12/2002 17:02	38,4	490	-130	40	1080	-30	2,1	1,3
3 / 52 .	28979	01/12/2002 11:08	38,5	390	-160	0	1000	-50	1,7	1,2
3 / 53 .	28959	01/12/2002 05:15	38,6	570	-160	10	1370	-10	2,4	1,6
3 / 54 .	28939	30/11/2002 23:21	38,7	350	-80	40	1170	0	1,5	1,4
3 / 55 .	28920	30/11/2002 17:27	38,7	2360	-130	-20	1090	-40	10,1	1,3
3 / 56 .	28900	30/11/2002 11:34	39,0	280	-110	20	1000	-60	1,2	1,2
3 / 57 .	28881	30/11/2002 05:40	38,4	280	-60	-10	1190	-100	1,2	1,4
3 / 58 .	28861	29/11/2002 23:47	38,8	580	-140	-10	1300	-40	2,5	1,5
3 / 59 .	28841	29/11/2002 17:53	38,3	320	-150	40	1180	-50	1,4	1,4
3 / 60 .	28822	29/11/2002 12:00	38,7	460	-80	50	1040	0	2,0	1,2
3 / 61 .	28802	29/11/2002 07:01	38,4	1260	-110	20	1520	-70	5,4	1,8
3 / 62 .	28783	29/11/2002 02:03	38,1	1130	-150	60	1400	20	4,9	1,7
3 / 63 .	28763	28/11/2002 21:05	38,8	210	-100	20	1430	-60	0,9	1,7
3 / 64 .	28744	28/11/2002 16:07	37,7	1060	-280	40	1000	0	4,6	1,2
3 / 65 .	28724	28/11/2002 11:09	38,6	220	-210	50	1290	-20	0,9	1,5
3 / 66 .	28704	28/11/2002 06:10	37,7	450	-130	30	1200	0	2,0	1,5
3 / 67 .	28685	28/11/2002 01:12	38,3	310	-160	0	1070	120	1,3	1,3
3 / 68 .	28665	27/11/2002 20:14	37,7	310	-220	30	1010	-120	1,4	1,2
3 / 69 .	28646	27/11/2002 15:16	38,4	1010	-160	80	1030	-100	4,3	1,2
3 / 70 .	28626	27/11/2002 10:18	38,0	560	-190	60	1120	-100	2,4	1,3
3 / 71 .	28607	27/11/2002 05:20	38,1	370	-200	-30	1470	-110	1,6	1,8
3 / 72 .	28587	27/11/2002 00:21	38,1	300	-130	20	1240	-80	1,3	1,5
3 / 73 .	28567	26/11/2002 19:23	38,0	1360	-190	20	1310	100	5,9	1,6
3 / 74 .	28548	26/11/2002 14:25	38,2	660	-180	30	1380	-90	2,8	1,7
3 / 75 .	28528	26/11/2002 09:27	38,5	330	-180	-30	1290	-40	1,4	1,5
3 / 76 .	28509	26/11/2002 04:29	38,5	210	-100	60	1240	-60	0,9	1,5
3 / 77 .	28489	25/11/2002 23:30	38,1	1090	-120	-20	1320	0	4,7	1,6
3 / 78 .	28470	25/11/2002 18:32	37,9	360	-190	20	1330	30	1,6	1,6
3 / 79 .	28450	25/11/2002 13:34	37,9	280	-150	-10	1280	-10	1,2	1,5
3 / 80 .	28430	25/11/2002 08:36	38,0	350	-230	60	1260	-50	1,5	1,5
3 / 81 .	28411	25/11/2002 03:38	38,4	230	-130	-30	1010	70	1,0	1,2
3 / 82 .	28391	24/11/2002 22:40	38,6	310	-160	60	1020	-100	1,3	1,2
3 / 83 .	28372	24/11/2002 17:41	38,6	250	-90	-30	1360	90	1,1	1,6
3 / 84 .	28352	24/11/2002 12:43	38,4	410	-180	20	1280	-100	1,8	1,5
3 / 85 .	28333	24/11/2002 07:45	38,5	280	-230	-40	1270	-90	1,2	1,5
3 / 86 .	28313	24/11/2002 02:47	38,2	290	-160	60	1140	-100	1,3	1,4
3 / 87 .	28294	23/11/2002 21:49	38,9	270	-180	0	910	-80	1,1	1,1
3 / 88 .	28274	23/11/2002 16:50	38,5	210	-190	50	1250	-60	0,9	1,5
3 / 89 .	28254	23/11/2002 11:52	38,6	480	-180	-70	1190	20	2,1	1,4
3 / 90 .	28235	23/11/2002 06:54	38,9	290	-190	-30	1110	80	1,2	1,3
3 / 91 .	28215	23/11/2002 01:56	38,5	470	-180	-50	1410	70	2,0	1,7
3 / 92 .	28196	22/11/2002 20:58	38,3	180	-180	10	1330	-20	0,8	1,6
3 / 93 .	28176	22/11/2002 16:00	38,0	170	-140	-20	1130	-20	0,7	1,4
3 / 94 .	28157	22/11/2002 09:00	38,1	210	-200	-10	1020	-50	0,9	1,2
3 / 95 .	28137	22/11/2002 04:28	38,4	530	-200	-30	990	30	2,3	1,2
3 / 96 .	28118	21/11/2002 23:56	39,6	200	-70	10	1390	-60	0,8	1,6
3 / 97 .	28098	21/11/2002 19:25	39,2	550	-120	0	1100	-70	2,3	1,3
3 / 98 .	28079	21/11/2002 14:53	39,2	290	-190	-10	1030	-20	1,2	1,2
3 / 99 .	28059	21/11/2002 10:22	38,9	360	-70	-20	1190	-60	1,5	1,4
3 / 100 .	28039	21/11/2002 05:50	38,9	270	-100	0	1370	-130	1,1	1,6
3 / 101 .	28020	21/11/2002 01:18	38,4	190	-130	-20	1160	-90	0,8	1,4
3 / 102 .	28000	20/11/2002 20:47	39,1	240	-110	10	1300	-130	1,0	1,5
3 / 103 .	27981	20/11/2002 16:15	38,3	130	-90	20	1140	20	0,6	1,4

3 / 104 .	27961	20/11/2002 11:44	39,4	240	-100	30	1150	-30	1,0	1,3
3 / 105 .	27942	20/11/2002 07:12	39,1	150	-160	20	1550	140	0,6	1,8
3 / 106 .	27922	20/11/2002 02:41	38,8	320	-100	40	1720	-20	1,4	2,0
3 / 107 .	27903	19/11/2002 22:09	38,9	180	-150	20	1190	20	0,8	1,4
3 / 108 .	27883	19/11/2002 17:37	38,3	190	-140	10	1300	90	0,8	1,6
3 / 109 .	27864	19/11/2002 13:06	38,3	100	-150	-20	1220	-20	0,4	1,5
3 / 110 .	27844	19/11/2002 08:34	38,7	390	-260	60	1100	-40	1,7	1,3
3 / 111 .	27825	19/11/2002 04:03	38,4	250	-170	20	1380	60	1,1	1,6
3 / 112 .	27805	18/11/2002 23:31	38,6	290	-190	40	1450	-90	1,2	1,7
3 / 113 .	27786	18/11/2002 19:00	38,0	330	-140	-70	1440	20	1,4	1,7
3 / 114 .	27766	18/11/2002 17:20	38,3	820	-160	60	1130	-220	3,5	1,3
3 / 115 .	27747	18/11/2002 12:00	38,5	270	-140	0	1310	-30	1,2	1,6

A.10. Résultats analyses élémentaires par EMP, série 2 du 03/03/04

C. concholepas M 77/ Microsonde 03/03/04 / Ligne 1 (bord, grisé), ligne 2

Points	Distance (μm)	Date	‰		ppm				mmol/mol	
			Ca	Mg	Mn	Fe	Sr	Ba	Mg/Ca	Sr/Ca
167	2712	31/10/2002 06:37	38.1	5490	-360	30	2060	-250	23.8	2.5
166	2693	31/10/2002 12:29	38.3	9220	-210	-80	2300	-50	39.6	2.7
165	2674	31/10/2002 18:22	37.6	1650	-250	60	1720	-40	7.2	2.1
164	2654	01/11/2002 00:14	37.6	2750	-180	-40	1610	160	12.1	2.0
163	2635	01/11/2002 06:07	38.1	2730	-220	10	1600	-10	11.8	1.9
162	2616	01/11/2002 11:59	37.8	10550	-200	0	2080	60	46.1	2.5
161	2597	01/11/2002 17:52	37.9	3370	-190	30	1860	70	14.7	2.2
160	2577	01/11/2002 23:44	38.0	600	-30	30	2500	-30	2.6	3.0
159	2558	02/11/2002 05:37	38.2	910	-160	60	1350	-140	3.9	1.6
158	2539	02/11/2002 11:29	37.9	3120	-170	30	1370	-20	13.6	1.7
157	2520	02/11/2002 17:22	38.1	460	-150	20	1660	-90	2.0	2.0
156	2500	02/11/2002 23:14	38.3	300	-130	-10	1650	30	1.3	2.0
155	2481	03/11/2002 05:07	38.3	340	-140	-10	1430	-70	1.5	1.7
154	2462	03/11/2002 10:59	38.2	470	-150	-40	1550	30	2.0	1.9
153	2443	03/11/2002 16:52	38.3	330	-90	-10	1490	0	1.4	1.8
152	2424	03/11/2002 22:44	38.6	160	-150	-40	1530	70	0.7	1.8
151	2405	04/11/2002 04:37	38.3	190	-90	60	1610	-40	0.8	1.9
150	2386	04/11/2002 10:29	38.5	160	-120	-30	1260	-60	0.7	1.5
149	2367	04/11/2002 16:22	38.3	340	-120	10	1520	-90	1.5	1.8
148	2347	04/11/2002 22:14	38.6	190	-210	130	1300	-40	0.8	1.5
147	2328	05/11/2002 04:07	38.9	220	-120	0	1340	40	0.9	1.6
146	2309	05/11/2002 10:00	38.1	120	-160	20	1330	20	0.5	1.6
145	2290	05/11/2002 16:00	38.3	1160	-270	0	1170	-150	5.0	1.4
144	2271	06/11/2002 08:00	38.4	1070	-270	20	1170	0	4.6	1.4
143	2252	07/11/2002 00:00	38.7	500	-90	100	1440	-120	2.1	1.7
142	2233	07/11/2002 16:00	37.7	720	-140	20	1470	-50	3.2	1.8
141	2214	08/11/2002 08:00	39.0	810	-250	10	1010	-60	3.4	1.2
140	2196	08/11/2002 14:00	39.6	310	0	-40	950	-50	1.3	1.1
139	2177	08/11/2002 18:41	38.9	380	-370	80	1320	50	1.6	1.6
138	2158	08/11/2002 23:22	39.6	220	-220	-130	1080	-160	0.9	1.2
137	2139	09/11/2002 04:03	38.5	160	-280	-60	1060	-10	0.7	1.3
136	2120	09/11/2002 08:44	38.5	320	-100	70	1320	30	1.4	1.6
135	2101	09/11/2002 13:25	38.6	390	-140	60	1200	-50	1.7	1.4
134	2083	09/11/2002 18:06	38.3	120	-180	-30	1270	70	0.5	1.5
133	2064	09/11/2002 22:48	38.3	180	-180	30	1240	-50	0.8	1.5
132	2045	10/11/2002 03:29	38.4	280	-110	10	1280	-10	1.2	1.5
131	2026	10/11/2002 08:10	38.3	280	-100	10	1300	-100	1.2	1.6
130	2008	10/11/2002 12:51	38.7	90	-210	-20	1470	20	0.4	1.7
129	1989	10/11/2002 17:32	38.6	210	-170	-80	1190	160	0.9	1.4
128	1970	10/11/2002 22:13	38.3	120	-250	-20	1380	50	0.5	1.6
127	1952	11/11/2002 02:54	38.6	200	-120	60	1370	50	0.9	1.6
126	1933	11/11/2002 07:36	38.1	400	-170	20	1420	-50	1.7	1.7
125	1915	11/11/2002 12:17	37.9	150	-140	60	1080	-230	0.7	1.3
124	1896	11/11/2002 16:58	38.5	170	-130	70	1070	-50	0.7	1.3
123	1878	11/11/2002 21:39	38.1	180	-110	-60	1500	-100	0.8	1.8
122	1859	12/11/2002 02:20	38.3	120	-150	20	1020	60	0.5	1.2
121	1841	12/11/2002 07:01	38.2	200	10	30	1660	-20	0.9	2.0
120	1822	12/11/2002 11:42	38.2	320	-310	-70	1160	40	1.4	1.4
119	1804	12/11/2002 16:24	38.5	230	-30	-20	1010	-40	1.0	1.2
118	1786	12/11/2002 21:05	38.3	110	-110	-30	1290	30	0.5	1.5
117	1767	13/11/2002 01:46	38.4	120	-190	10	1090	-20	0.5	1.3

116	1749	13/11/2002 06:27	38.1	220	-150	-50	1340	-80	1.0	1.6
115	1731	13/11/2002 11:08	38.2	240	-170	-20	1400	-50	1.0	1.7
114	1713	13/11/2002 15:49	38.6	230	-130	0	1370	20	1.0	1.6
113	1695	13/11/2002 20:30	38.3	160	-170	-70	1140	-80	0.7	1.4
112	1677	14/11/2002 01:12	38.5	230	-150	-30	1220	70	1.0	1.4
111	1659	14/11/2002 05:53	38.1	120	-160	-20	1460	-120	0.5	1.8
110	1641	14/11/2002 10:34	38.3	400	-120	-20	1060	-120	1.7	1.3
109	1623	14/11/2002 15:15	38.3	250	-110	70	1700	-20	1.1	2.0
108	1605	14/11/2002 19:56	38.5	230	-260	10	1130	-40	1.0	1.3
107	1587	15/11/2002 00:37	38.5	270	-110	60	1180	-120	1.2	1.4
106	1570	15/11/2002 05:18	38.3	300	-190	-30	1300	-30	1.3	1.6
105	1552	15/11/2002 10:00	38.4	1190	-330	-30	1230	0	5.1	1.5
104	1534	15/11/2002 15:54	38.6	540	-200	0	1220	-70	2.3	1.4
103	1517	15/11/2002 21:48	38.5	200	-150	80	1270	60	0.9	1.5
102	1499	16/11/2002 03:43	38.0	240	-110	-30	1180	-20	1.0	1.4
101	1482	16/11/2002 09:37	38.4	890	-110	20	1390	-10	3.8	1.7
100	1464	16/11/2002 15:31	38.3	790	-150	20	1110	0	3.4	1.3
99	1447	16/11/2002 21:26	38.3	260	-140	10	1560	-140	1.1	1.9
98	1430	17/11/2002 03:20	38.4	410	-180	60	1510	70	1.8	1.8
97	1413	17/11/2002 09:15	38.2	1090	-80	10	1330	30	4.7	1.6
96	1395	17/11/2002 15:09	38.1	180	-110	-40	1340	-40	0.8	1.6
95	1378	17/11/2002 21:03	38.2	1400	-190	100	1210	-10	6.0	1.4
94	1362	18/11/2002 02:58	37.9	370	-200	-40	1190	-80	1.6	1.4
93	1345	18/11/2002 08:52	38.1	330	-140	20	1290	-70	1.4	1.5
92	1328	18/11/2002 14:46	38.3	580	-130	-70	1430	60	2.5	1.7
91	1311	18/11/2002 20:41	38.3	290	-190	80	1270	-80	1.2	1.5
90	1295	19/11/2002 02:35	38.5	160	-180	10	1240	50	0.7	1.5
89	1278	19/11/2002 08:30	38.4	180	-200	30	1450	-60	0.8	1.7
88	1262	19/11/2002 14:24	38.5	280	-120	-20	1210	100	1.2	1.4
87	1246	19/11/2002 20:18	38.5	860	-120	40	1410	-60	3.7	1.7
86	1230	20/11/2002 02:13	38.4	110	-190	0	1310	20	0.5	1.6
85	1214	20/11/2002 08:07	38.3	190	-130	0	1370	-120	0.8	1.6
84	1198	20/11/2002 14:01	38.1	240	-170	70	1230	10	1.0	1.5
83	1182	20/11/2002 19:56	38.0	620	-190	50	1270	-80	2.7	1.5
82	1166	21/11/2002 01:50	38.3	550	-140	0	1450	150	2.4	1.7
81	1151	21/11/2002 07:45	38.5	470	-170	30	1070	-20	2.0	1.3
80	1136	21/11/2002 13:39	38.4	590	-170	10	930	120	2.5	1.1
79	1120	21/11/2002 19:33	38.2	340	-150	20	1190	0	1.5	1.4
78	1105	22/11/2002 01:28	38.2	640	-130	10	1200	70	2.8	1.4
77	1090	22/11/2002 07:22	38.4	130	-170	40	980	-150	0.6	1.2
76	1076	22/11/2002 13:16	38.4	260	-110	0	1120	-120	1.1	1.3
75	1061	22/11/2002 19:11	38.1	190	-140	-70	1210	60	0.8	1.5
74	1047	23/11/2002 01:05	38.2	250	-90	30	1570	-70	1.1	1.9
73	1033	23/11/2002 07:00	38.6	470	-80	40	1210	40	2.0	1.4
72	1439	25/11/2002 06:00	38.0	500	-90	90	1110	40	2.2	1.3
71	1419	25/11/2002 12:00	38.1	3300	-370	10	1140	-100	14.3	1.4
70	1399	25/11/2002 18:00	38.3	5730	-340	40	1120	-110	24.7	1.3
69	1379	26/11/2002 00:00	38.2	1490	-140	40	1280	70	6.4	1.5
68	1358	26/11/2002 06:00	38.2	1980	-110	-10	1370	10	8.6	1.6
67	1338	26/11/2002 12:00	37.2	700	-290	60	1110	-90	3.1	1.4
66	1318	26/11/2002 18:00	37.4	530	-300	-30	1360	10	2.3	1.7
65	1298	27/11/2002 00:00	38.0	1070	-120	50	1100	-110	4.6	1.3
64	1277	27/11/2002 06:00	38.1	450	-180	-50	1390	-20	1.9	1.7
63	1257	27/11/2002 12:00	38.3	730	-140	50	1180	0	3.1	1.4
62	1237	27/11/2002 18:00	38.2	790	-160	40	1600	-130	3.4	1.9
61	1216	28/11/2002 00:00	38.0	390	-170	50	1460	-10	1.7	1.8
60	1196	28/11/2002 06:00	37.9	540	-120	50	1450	-60	2.3	1.7
59	1176	28/11/2002 12:00	38.2	460	-210	30	1440	-70	2.0	1.7

58	1156	28/11/2002 18:00	38.3	460	-230	-50	1400	20	2.0	1.7
57	1135	29/11/2002 00:00	38.5	360	-120	40	1430	-140	1.5	1.7
56	1115	29/11/2002 06:00	38.6	460	-340	-20	1300	-160	2.0	1.5
55	1095	29/11/2002 12:08	38.5	940	-260	40	1380	-100	4.0	1.6
54	1075	29/11/2002 18:17	38.6	510	-140	10	1660	50	2.2	2.0
53	1054	30/11/2002 00:25	38.6	570	20	50	1390	-30	2.4	1.6
52	1034	30/11/2002 06:34	38.5	410	110	60	1550	190	1.8	1.8
51	1014	30/11/2002 12:42	38.1	540	-100	80	1380	-20	2.3	1.7
50	993	30/11/2002 18:51	38.4	590	-110	20	1300	-60	2.5	1.6
49	973	01/12/2002 01:00	38.3	1130	-100	-20	1290	-170	4.9	1.5
48	953	01/12/2002 07:08	37.9	420	-150	-60	1360	140	1.8	1.6
47	933	01/12/2002 13:17	38.1	480	-120	110	1310	-140	2.1	1.6
46	912	01/12/2002 19:25	38.0	610	-150	-20	1130	-160	2.6	1.4
45	892	02/12/2002 01:34	38.0	450	-140	110	1340	40	2.0	1.6
44	872	02/12/2002 07:42	38.4	330	-180	20	1000	-130	1.4	1.2
43	852	02/12/2002 13:51	38.6	290	-330	10	1170	-70	1.2	1.4
42	831	02/12/2002 20:00	38.5	290	-260	70	1290	-10	1.2	1.5
41	811	03/12/2002 02:08	38.2	650	-180	0	1570	-40	2.8	1.9
40	791	03/12/2002 08:17	38.3	380	-60	0	1390	-10	1.6	1.7
39	770	03/12/2002 14:25	38.1	300	-100	30	1460	70	1.3	1.8
38	750	03/12/2002 20:34	38.3	530	-120	-40	1300	-60	2.3	1.6
37	730	04/12/2002 02:42	38.9	630	-120	80	1250	40	2.7	1.5
36	710	04/12/2002 08:51	38.7	460	-130	20	1230	-140	2.0	1.5
35	689	04/12/2002 15:00	38.1	360	-120	60	1420	-160	1.6	1.7
34	669	04/12/2002 21:08	38.4	580	-160	10	1090	0	2.5	1.3
33	649	05/12/2002 03:17	38.8	270	-90	120	1270	10	1.1	1.5
32	628	05/12/2002 09:25	38.6	560	-220	-40	1350	-110	2.4	1.6
31	608	05/12/2002 15:34	38.5	580	-160	70	1230	80	2.5	1.5
30	588	05/12/2002 21:42	38.3	500	-210	0	1310	-60	2.2	1.6
29	568	06/12/2002 03:51	38.4	500	-80	30	1310	-100	2.1	1.6
28	547	06/12/2002 10:00	38.7	430	-150	60	1220	-20	1.8	1.4
27	527	06/12/2002 15:51	38.4	830	-150	50	1490	-40	3.6	1.8
26	507	06/12/2002 21:42	38.6	620	20	90	1350	-20	2.6	1.6
25	487	07/12/2002 03:33	38.5	990	-160	80	1580	-150	4.2	1.9
24	466	07/12/2002 09:24	38.5	870	-100	40	1290	100	3.7	1.5
23	446	07/12/2002 15:15	38.6	400	-140	30	1380	-40	1.7	1.6
22	426	07/12/2002 21:06	37.8	560	-150	20	1270	80	2.4	1.5
21	405	08/12/2002 02:57	38.2	300	-120	70	1270	150	1.3	1.5
20	385	08/12/2002 08:48	38.3	1710	-160	50	1260	-200	7.4	1.5
19	365	08/12/2002 14:39	38.1	350	-180	30	1460	-110	1.5	1.8
18	345	08/12/2002 20:30	38.2	290	-120	30	1490	20	1.3	1.8
17	324	09/12/2002 02:21	38.0	740	-90	50	1330	-20	3.2	1.6
16	304	09/12/2002 08:12	38.2	400	-140	0	1520	90	1.7	1.8
15	284	09/12/2002 14:03	38.2	330	-110	0	1210	-100	1.4	1.4
14	264	09/12/2002 19:54	38.1	380	-110	-20	1460	0	1.6	1.8
13	243	10/12/2002 01:45	38.4	890	-20	50	1260	100	3.8	1.5
12	223	10/12/2002 07:36	38.3	810	-130	0	1600	-50	3.5	1.9
11	203	10/12/2002 13:27	38.3	330	-140	20	1490	100	1.4	1.8
10	182	10/12/2002 19:18	38.2	310	-130	-50	1300	-100	1.3	1.6
9	162	11/12/2002 01:09	38.8	590	-140	60	1330	-30	2.5	1.6
8	142	11/12/2002 07:00	38.5	830	-80	180	1320	40	3.6	1.6
7	122	11/12/2002 12:00	38.3	390	-170	20	1310	-100	1.7	1.6
6	101	11/12/2002 18:00	38.6	330	-80	50	1430	-30	1.4	1.7
5	81	12/12/2002 00:00	38.8	310	-100	-100	1170	-100	1.3	1.4
4	61	12/12/2002 06:00	39.2	1120	-60	20	1580	70	4.7	1.8
3	41	12/12/2002 12:00	38.9	310	-210	220	1370	40	1.3	1.6
2	20	12/12/2002 18:00	38.2	260	-170	100	1420	10	1.1	1.7
1	0	13/12/2002 00:00	38.2	220	-170	60	1430	-170	1.0	1.7

Résumé

Les structures carbonatées élaborées par les organismes vivants reflètent, dans leur composition et leur structure, certaines variations des conditions du milieu. L'étude microstructurale et géochimique de coquilles de *Concholepas concholepas* (gastéropode des côtes du Chili et du Pérou) a été entreprise dans une perspective de reconstruction des conditions paléocéanographiques et paléo-climatiques au cours de l'Holocène. Ceci requiert, au préalable, la calibration entre un marqueur géochimique ("proxy") et un paramètre physico-chimique de l'environnement.

La compréhension des modalités de croissance de *C. concholepas* et l'établissement des bases d'une sclérochronologie de cette espèce, ont largement reposé sur des expériences de marquage des organismes à l'aide de fluorochromes. Ces expériences de marquage hebdomadaire ont aussi fourni un cadre chronologique adéquat pour la mise en oeuvre de l'étude géochimique des coquilles. Les mesures par spectrométrie de masse à ablation laser, microsonde électronique et SIMS nous ont ainsi permis d'obtenir des profils élémentaires et isotopiques dans la calcite des coquilles de *C. concholepas* à l'échelle de quelques heures.

Les mesures géochimiques indiquent que les teneurs en Mg et en $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite de *C. concholepas* montrent une relation avec les variations enregistrées de température. Cependant ces relations ne sont pas complètement linéaires. Des facteurs vraisemblablement liés à l'activité métabolique des organismes interviennent à divers niveaux dans l'incorporation des éléments mineurs et traces et dans les phénomènes de fractionnement isotopique pendant les processus de biominéralisation.

Mots Clés:

Microstructure, Croissance, Gastéropode, *Concholepas*, Géochimie, Mg/Ca, isotopes stables, coquilles.

Validation of a scleroclimatic approach on the Peruvian and Chilean coasts through microstructural and biogeochemical studies of shells of the gastropod *Concholepas concholepas* [Brugière, 1789]

Abstract

The structure and composition of carbonate tests built by marine organisms may reflect environmental variations. The microstructural and geochemical study of *Concholepas concholepas* shells (gastropod living on the coasts of Chile and Peru) was undertaken with the aim to document the reconstruction of paleoceanographic and paleoenvironmental conditions during the Holocene. This requires, primarily, the calibration of a geochemical marker ("proxy") with a given physicochemical parameter of the environment.

The understanding of the growth modalities of *C. concholepas* and the establishment of the basis of a sclerochronology for this species were based upon marking experiments with fluorochromes. These experiments of weekly markings further provided an adequate chronological framework for the geochemical study of shells. Measurements by laser ablation ICP-MS, electronic microprobe and SIMS thus allowed us to obtain elementary and isotopic profiles in the calcite of *C. concholepas* shells at a very high resolution (few hours) time-scale.

The geochemical measurements within the calcite of *C. concholepas* indicate that Mg abundance and $\delta^{18}\text{O}$ contents grossly covary with the recorded temperature. However, these relations are not completely linear. Factors probably related to metabolic activity of the organisms interfere at several levels in the incorporation of minor and trace elements and in the isotopic fractionation phenomena during the biomineralisation processes.

Keywords:

Microstructure, Growth, Gastropod, *Concholepas*, Geochemistry, Mg/Ca, stable isotopes, shells.