



HAL
open science

Utilisation de la coquille Saint-Jacques comme traceur environnemental : approches biologique et biogéochimique

Anne Lorrain

► **To cite this version:**

Anne Lorrain. Utilisation de la coquille Saint-Jacques comme traceur environnemental : approches biologique et biogéochimique. Planète et Univers [physics]. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2002. Français. NNT : . tel-00452437

HAL Id: tel-00452437

<https://theses.hal.science/tel-00452437>

Submitted on 2 Feb 2010

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

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

**THESE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE**

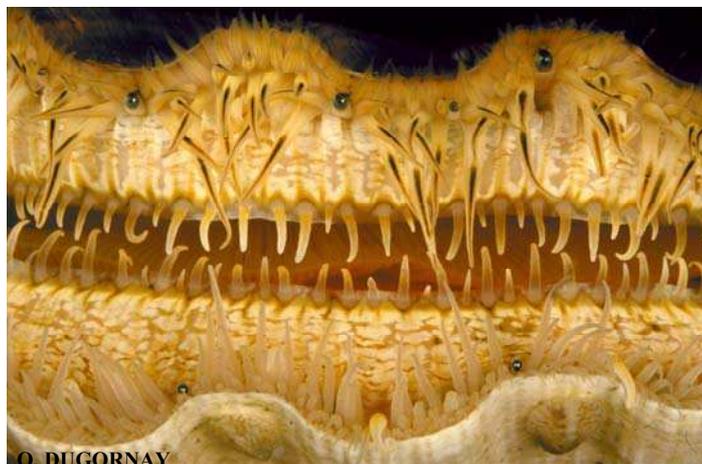
Spécialité Océanologie Biologique

Présentée par

Anne Lorrain

en vue de l'obtention du titre de Docteur
de l'Université de Bretagne Occidentale

**Utilisation de la coquille Saint-Jacques
comme traceur environnemental :
approches biologique et biogéochimique**



Soutenue le 20 décembre 2002 devant la commission d'examen composée de Messieurs:

James E. Cloern, Directeur de recherche, USGS, Menlo Park, Californie

Frank Dehairs, Professeur, VUB, Belgique

Jacques Clavier, Professeur, UBO

Gérard Blanchard, Professeur, Université de La Rochelle

David Amouroux, Chargé de recherche CNRS, LCABIE, Pau

Yves-Marie Paulet, Maître de Conférences, UBO

Rapporteur

Rapporteur

Directeur de thèse

Examineur

Examineur

Responsable
scientifique

Remerciements

Mes remerciements vont en premier lieu aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail :

Messieurs James. E. Cloern et Franck Dehairs, pour avoir accepté le lourd travail de rapporteurs,
Gérard Blanchard pour avoir accepté d'être président du jury et d'affronter l'aller retour en voiture La Rochelle-Brest en une journée !

Monsieur le chimiste David Amouroux, pour ne pas avoir eu peur de lire une thèse de biologiste aussi copieuse,
Jacques Clavier, pour avoir accepté la direction de cette thèse,
et Yves-Marie Paulet, responsable scientifique qui m'a supporté vaillamment pendant toutes ces années..

Yves-Marie, m e r c i. Merci d'avoir enduré ces trois ans, jusqu'au bout, jusqu'au mot fin. Merci d'y avoir cru, et surtout merci d'aimer la science et la vie comme tu le fais..Vivement qu'on recommence !

Ce travail doit beaucoup à Laurent Chauvaud, également responsable scientifique de ce travail. Son acharnement et ses talents de persuasion ont permis de monter toutes ces précieuses collaborations, qui ont été plus que vitales pour le déroulement de cette thèse. Sa créativité, son bouillonnement intellectuel (mais où va t'il chercher tout ça ?) ont bien souvent servi de catalyseur à cette thèse. Un grand merci.

Ce travail de thèse n'aurait bien entendu pu être réalisé sans de nombreuses collaborations et sans l'aide précieuse de grand nombre de personnes. La pluridisciplinarité de ce manuscrit doit beaucoup à la patience des chimistes et des géochimistes qui n'ont pas reculé devant les lacunes d'une biologiste. Merci d'abord à Nicolas Savoye, qui m'a tout (enfin presque ! !) appris sur les joies de la filtration, les techniques, les méthodes...la propreté avec un grand P, m'accordant beaucoup de son temps précieux. Et surtout acceptant de me prêter du matériel malgré les cris des autres chimistes : attention vla un biologiste qui va encore tout « ruiner » dans le labo chimie ! Merci Nico. Merci également à Anick Masson, Sandrine Porhel qui mont également donné de précieux conseils. Merci à Anne Donval pour m'avoir appris à disséquer ma première coquille Saint-Jacques ! et pour toujours avoir trouvé l'astuce et l'outil qui va bien pour prélever, purger les estomacs...Merci ! Merci également à Alain Mahric et à sa caverne d'Ali Baba.

Un grand merci à Damien Cardinal, qui s'est occupé de moi tout au long de mon petit séjour à Bruxelles pour m'apprendre à analyser les éléments traces de la matière particulaire. J'aurais bien le temps de te remercier maintenant que nous allons partager le même bureau à Tervuren...Merci également à Luc André et Franck Dehairs de m'avoir permis de faire ces analyses dans leur laboratoire.

Merci également à toute l'équipe de Pau et particulièrement à Christophe Pécheyran, qui a bien voulu répondre à toutes mes questions et qui a réussi à me familiariser (enfin presque !) avec la spectrométrie. Merci d'avoir tenu, en plein mois d'août alors que la fatigue était grande, parfois jusqu'à minuit pour analyser ces satanées coquilles. Merci Christophe. A bientôt pour voir ta nouvelle maison ?! Merci à David (s), Mathilde, Hervé de m'avoir sorti de mon hôtel sordide pour découvrir les bars de Pau, ô combien chaleureux...

Une grande partie de ce travail a été effectué sur le terrain... ces nombreuses sorties zodiac ont été possibles grâce à Robert Marc et je l'en remercie vivement. Son dos se rappellera longtemps de ces sorties...et de cette fameuse Niskin. Merci également à Yves-Marie et Laurent qui ont passé leur permis bateau pour relayer Robert dans cette épreuve ; et aussi à tous les courageux volontaires qui ont bien voulu m'accompagner : Pierrot, Ben, Fred, Marco, Didier, Babeth (et ses aquarelles magiques) et Emilie qui se rappellera longtemps j'espère de la baignade forcée dans le goulet (le fameux coup de la panne !).

Merci également à toute l'équipe GIPSI : Robert, Gérard, Laurent, Maryvonne, Coralie, Laurent Guérin, Fred Jean avec qui j'ai passé de bons moments sous l'eau à ramasser des coquilles, à installer les enceintes benthiques, à perdre le matos, à le chercher ... mais aussi à le retrouver !!! Et pour toutes ces campagnes, merci aux équipages du "Côte de la Manche", du "Côte d'Aquitaine" et aux pêcheurs du Tinduff.

Merci à l'équipe Norvégienne de m'avoir accueillie pour une mission de Tromsø à Trondheim en passant par les Lofoten à la recherche des coquilles... Magique ! Et merci d'avoir choisi le mois de septembre en m'épargnant le glacial des plongées en fjords. Merci Oivind et Arne pour les champignons, la pêche, l'hospitalité...

Merci à Claudie Quéré et Jeanne Moal, pour leur aide et leur broyeur !.. à Stéphane Pouvreau pour nous avoir permis de lancer ces magnifiques expériences ISOTOP à Argenton...et si tout cela n'est pas dans la thèse, c'est que nous allons encore travailler un moment ensemble... !

Merci à Spiros Fifas pour le don des coquilles du large (qui a contribué à une grande partie de la thèse), merci énormément ! Merci à Suzanne Ford qui a toujours accepté de corriger l'anglais de mes publications.

Merci Fred, pour essayer à chaque fois, sans te fâcher ! de me faire comprendre les stats...

Merci à Olivier et Aude pour leur précieuse aide siliceuse et surtout pour la patience qu'ils m'ont accordée pour relire et améliorer le manuscrit. Merci mille fois !

Merci à tous ceux qui m'ont toujours aidé dans la panique : François Le Loc'h en premier, un énorme merci pour ton soutien au cours de ces 4 années (DEA + thèse), tu as toujours été là pour m'aider, tout le temps, quel talent ! Merci Monsieur. Merci aussi à Joëlle, qui m'a sauvée de la panique en cette fin de thèse en reprenant toutes mes manip, cadeau empoisonné que je t'ai fait là...sans rancune ? ! Merci Jacques Grall, pour m'avoir initiée à la recherche (et oui !) et pour m'avoir aidée ensuite à chaque fois que je suis venue gratter à ta porte. Et merci à Charlotte, Géraldine, Morgane (s), Agathe, Philippe, Rudolph et tous les autres...pour leur présence.

Merci à Nicolas Dittert, le roi de PROTOOL (comprenez qui pourra !) toujours prêt à m'aider aussi. Un spécial merci à Alain Lemercier, l'indispensable Alain, merci pour tout, tes magnifiques photos, ta voie mélodieuse (hein, Anne ? !), tes talents d'informaticien.. les sauvetages de fichiers perdus...m'évitant bien des déprimés de fin de rédaction.

Et merci Maryvonne de m'avoir acceptée (supportée ?) dans ton bureau malgré mes remuages incessants !

Merci à Servane Fixot, qui nous a abandonnés en chemin (malheureusement) mais dont je n'oublie pas l'aide précieuse, et merci à Mathias Rouan qui a repris le flambeau et nous a livré un beau programme de recalage !

Merci à tous les stagiaires qui ont contribué à ce travail de thèse : Jérôme Joliff, Caroline Bouvier, Nicolas Lemarchand, Emilie Farcy et Tiscar Mellado.

Merci à tous ceux qui ont réalisé les analyses isotopiques présentées dans la thèse, me permettant de compenser le manque brestois ! Norbert Nault à l'Université de Nantes pour les filtres de MOP, Charlie Scrimgeour à Dundee pour les analyses de tissus de *Pecten*, David Mucciarone et Rob Dunbar, à Standford pour les analyses isotopiques de la calcite des coquilles Saint-Jacques, et Michel Fontugne à Gyf sur Yvette pour le carbone inorganique dissous. Et merci encore à Christophe Pécheyran, cette fois pour avoir analysé les éléments traces dans l'eau de mer, en maudissant certainement celui qui avait eu l'idée de faire un pas d'échantillonnage aussi soutenu ! !

Merci à tous les proches qui ont été là, tout près, les scientifiques et les autres, qui comprenaient moins ce qui pouvait bien m'empêcher de faire la fête ! Merci Doudou pour tes Tofifees, ton backgamon, ton poisson cru, tes pt'its dejs

et bien d'autres choses encore...Merci Emilie, pour nos plongées, nos délires, notre cohabitation...Merci Thierry, Babeth, Armelle et Sylvain bien loin maintenant...(pourvu que j'arrive à vous rejoindre !), Mathias, mon binôme de maîtrise maintenant bien encre à l'IUEM. Merci les plongeurs...et spéciale dédicace à Marco mon moniteur préféré. Merci à ceux qui sont loin mais bien présents : Hélène, Marion, Gilles (mon belge préféré), Raph, mon premier colloc ...qui a réussi à soutenir sa thèse en même temps que moi ! !
Merci à tous ceux que j'ai rencontré à l'IUEM et qui ont partagé bien des pauses...Pierrot le premier, Rémi, Morgane, Rafael, Hughes et merci à tous ceux que j'oublie dans la panique du départ à Bruxelles...

Merci à toute ma famille qui ne m'a pas vue beaucoup ces dernières années...

Et enfin merci à celui qui a le plus souffert au quotidien, et qui a tenu le coup à mon grand bonheur...

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
-----------------------------	---

Partie I – Suivi environnemental en rade de Brest.....7

1. Introduction.....	7
2. Matériel et méthodes	8
2.1 Présentation du site.....	8
2.2 Stratégie d'échantillonnage.....	10
2.3 Prélèvements, traitements des échantillons et méthodes analytiques.....	11
2.3.1 Paramètres physiques.....	11
2.3.2 Analyse de la matière particulaire	12
2.3.3 Analyse des sels nutritifs.....	13
3. Etat des connaissances sur le fonctionnement de la rade.....	14
4. Résultats et Discussion	15
4.1 Paramètres physiques.....	15
4.1.1 Apports des bassins versants	15
4.1.2 Température.....	18
4.1.3 Salinité.....	21
4.2 Matériel biogénique particulaire.....	24
4.2.1 Pigments chlorophylliens et floraisons phytoplanctoniques	24
4.2.2 Silice biogénique.....	31
4.3 Effet du cycle de marée sur la température, la salinité et la fluorescence	32
4.4 Sels nutritifs.....	34
5. Conclusion	42

Partie II – Réponse biologique de *Pecten Maximus* aux fluctuations environnementales43

Introduction générale.....	43
----------------------------	----

Chapitre 1. Anomalies de croissance coquillière : mise en évidence de variations qualitatives du phytoplancton □□ □□□□□□□□..□.□□.. 44

1.1 Introduction.....	44
1.2 Matériel et méthodes	47

1.2.1 Paramètres environnementaux.....	47
1.2.2 Echantillonnage des coquilles Saint-Jacques	47
1.2.3 Lecture des stries de croissance.....	48
1.3 Résultats.....	52
1.3.1 Accès à la première reproduction chez <i>P. maximus</i> en rade de Brest	52
1.3.2 Variabilité saisonnière de la croissance coquillière.....	54
1.3.3 Relation avec les efflorescences phytoplanctoniques	56
1.3.4 Dynamique des sels nutritifs en rade de Brest (rappel)	59
1.4 Discussion.....	64
1.4.1 Accession à la première reproduction.....	64
1.4.2 Croissance coquillière.....	64
1.4.2.1 Anomalies de croissance des années 1998 et 1999.....	66
1.4.2.2 Anomalies de croissance des années 2000 et 2001.....	69
1.4.3 Complexité des relations diatomées - acide orthosilicique	74

Chapitre 2. Régime alimentaire et physiologie : application du traçage isotopique naturel □□□□□□□□□□□□□□□□...□□□□...□...□□.

81

2.1 Introduction.....	81
2.2 Usage de l'outil isotopique.....	82
2.2.1 Généralités sur les isotopes	82
2.2.1.1 Qu'est ce qu'un isotope ?.....	83
2.2.1.2 Notation.....	84
2.2.1.3 Processus de fractionnement isotopique	85
2.2.1.4 Spectrométrie de masse de rapports isotopiques (IRMS)	88
2.2.2 Application à l'étude des réseaux trophiques.....	89
2.2.2.1 Relations entre la composition isotopique d'un animal et son régime trophique.....	90
2.2.2.2 Applications et limites du traçage isotopique naturel	92
2.3 Matériel et méthodes	94
2.3.1 Suivi des paramètres environnementaux.....	94
2.3.1.1 Collecte et traitement des échantillons.....	94
2.3.1.2 Analyse isotopique et élémentaire	96
2.3.2 Collecte de <i>Pecten maximus</i>	97
2.3.2.1 En rade de Brest.....	97
2.3.2.2 En Norvège	97
2.3.3 Traitement des échantillons de <i>Pecten maximus</i>	99
2.3.3.1 Analyse isotopique et élémentaire	99
2.3.3.2 Analyse lipidique	99

2.3.3.3 Analyse pondérale.....	100
2.3.4 Estimation de la composition isotopique de l'ensemble du corps.....	100
2.4 Résultats.....	101
2.4.1 Composition isotopique et élémentaire de la MOP.....	101
2.4.2 Composition isotopique et élémentaire des tissus.....	105
2.4.2.1 Reproductibilité des mesures.....	105
2.4.2.2 Variations en fonction de l'âge.....	107
2.4.2.3 Valeurs moyennes et relations avec les sources potentielles de nourriture.....	108
2.4.2.4 Variations saisonnières.....	109
2.4.2.5 Variations en fonction du site.....	112
2.4.3 Valeurs estimées et observées de l'ensemble du corps.....	113
2.4.4 Données biochimiques et pondérales de la glande digestive.....	115
2.4.4.1 Indice pondéral.....	115
2.4.4.2 Contenu lipidique.....	115
2.4.4.3 Relation à ¹³ C et contenu lipidique des différents organes.....	116
2.5 Discussion.....	117
2.5.1 Variabilité interindividuelle et effet de l'âge.....	117
2.5.2 Relation avec les sources de nourriture.....	119
2.5.3 Différences entre organes.....	122
2.5.4 Variations saisonnières et transferts entre organes.....	124
2.5.5 Variations inter-sites.....	131
2.6 Conclusions et Perspectives.....	131
Conclusion générale.....	134

Partie III – Information isotopique et élémentaire contenue dans la calcite de *Pecten maximus*.....135

Introduction générale.....	135
Chapitre 1. Analyse isotopique.....	137
1.1 Introduction.....	137
1.2 Matériel et méthodes.....	139
1.2.1 Données environnementales.....	139
1.2.2 Echantillons de <i>P. maximus</i>	139
1.2.2.1 En rade de Brest.....	139
1.2.2.2 Sur le plateau continental armoricain.....	141
1.2.3 Analyses isotopiques.....	142

1.2.3.1 $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$	142
1.2.3.2 $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$	143
1.2.3.3 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$	143
1.2.4 Relation température - $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$	144
1.2.4.1 Calibration	144
1.2.4.2 Estimation de la température en rade de Brest	144
1.3 Résultats.....	145
1.3.1 Analyses de l'eau.....	145
1.3.1.1 $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$	145
1.3.1.1 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$	145
1.3.2 Variations des isotopes stables de la calcite.....	147
1.3.2.1 $\delta^{18}\text{O}$	147
1.3.2.2 $\delta^{13}\text{C}$	147
1.3.2.3 Comparaison $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$	147
1.3.3 Croissance coquillière.....	152
1.3.3.1 Variations interindividuelles.....	152
1.3.3.2 Relation avec les isotopes stables	152
1.3.4 Relation $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{eau}} - \text{Température}$	156
1.3.5 Estimation de la température en 2000	156
1.3.6 Relation $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$	160
1.3.7 Coquilles du plateau continental	162
1.3.7.1 Croissance coquillière	162
1.3.7.2 Composition isotopique.....	165
1.3.7.3 Estimation de la température	171
1.4 Discussion.....	173
1.4.1 Relation $\delta^{18}\text{O}$ -température en rade de Brest	173
1.4.1.1 Estimation de la température	173
1.4.1.2 Variations interindividuelles.....	174
1.4.1.3 Comparaison avec l'équation de précipitation inorganique	176
1.4.2 Relation $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$	179
1.4.2.1 Evolution saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$	179
1.4.2.2 Evolution saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$	181
1.4.3 Les coquilles du plateau continental.....	187
1.4.3.1 Croissance.....	187
1.4.3.2 Evolution du signal isotopique avec l'âge.....	187
1.4.3.3 $\delta^{18}\text{O}$ - température.....	195
1.5 Conclusion et perspectives.....	198

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'objectif général de cette étude est de comprendre les relations liant un invertébré benthique, la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (L.), à son environnement. Plus précisément, nous chercherons à approfondir nos connaissances sur la biologie de cet organisme, et en particulier à décrire les réponses de cet animal aux fluctuations d'un environnement côtier perturbé, la rade de Brest. Puis, nous nous attacherons à extraire les informations structurales (croissance) et chimiques (isotopes stables et éléments traces) de son squelette calcifié, afin de pouvoir retracer, *a posteriori*, les conditions environnementales vécues par cet animal. Pour cela, une approche associant à la fois la biologie, l'écologie et la biogéochimie a été retenue.

Cette étude s'inscrit tout d'abord dans un contexte de surveillance des écosystèmes marins côtiers. Ces écosystèmes sont en effet la cible de nombreuses agressions incluant, entre autres, les augmentations des flux de nutriments et de contaminants, les introductions d'espèces, la surpêche et les variations climatiques. Comprendre le fonctionnement, et prédire l'évolution de ces écosystèmes, dépend de notre capacité à discriminer les différents impacts anthropiques, et demeure un vrai challenge pour la communauté scientifique (voir Cloern, 2001).

Par ailleurs, ce travail s'insère dans un contexte de changement climatique global puisque nous chercherons à développer un nouvel outil enregistrant les paléotempératures des eaux côtières. L'un des buts de la paléoclimatologie est de comprendre si les changements modernes sont induits par l'homme ou s'ils ne sont que la manifestation mesurable de cycles climatiques naturels. L'utilisation d'outils enregistrant les variations environnementales est nécessaire afin de décrire les conditions climatiques passées. Outre les données issues des enregistrements historiques et instrumentés (dates des vendanges, recul des glaciers, images satellites, relevés thermométriques et anémométriques, etc...), des enregistreurs naturels de l'environnement, ou "proxy" existent et permettent de disposer d'informations d'ordre climatique avant la période instrumentée. Un proxy est un descripteur, dont les valeurs sont fonction de variables environnementales telles que la température, la salinité, la vitesse des vents ou la productivité. Ces enregistrements, naturels, sont des indices du climat passé, enterrés dans les sédiments du fond des océans, piégés dans les récifs coralliens, contenus dans les pollens, congelés dans les glaciers ou encore préservés dans les cernes des arbres tout au long de leur vie. La plupart du temps, ils ont été trouvés sur la base d'études portant sur la période actuelle et montrant une corrélation entre le traceur et un paramètre environnemental.

Ces enregistreurs ou paléotraceurs offrent, de par leur stabilité, la possibilité de remonter valablement les temps géologiques.

Dans ce contexte, les squelettes carbonatés de nombreux organismes aquatiques fonctionnent comme de véritables enregistreurs des changements environnementaux. En effet, ces organismes précipitent un squelette de carbonate de calcium sous la forme de structures périodiques (stries) qui peuvent être utilisées comme des références chronologiques, procurant ainsi un enregistrement précis des variations environnementales, analogues aux enregistrements dendrochronologiques (cernes des arbres) des environnements terrestres.

L'étude des carbonates biogéniques marins a porté majoritairement sur les coraux. Cependant, les mollusques, et en particulier les bivalves, suscitent l'intérêt des scientifiques, désireux, notamment, d'obtenir une couverture géographique la plus large possible dans l'archivage climatique. En effet la répartition des coraux est limitée aux zones tropicales et sub-tropicales, où les températures moyennes ne descendent pas au-dessous de 18°C (Dodge & Vaisnys, 1980). De plus, la lumière nécessaire aux zooxanthelles symbiotiques des coraux, restreint leur répartition aux eaux peu turbides et à la zone photique, où la lumière est suffisante pour la photosynthèse. Les bivalves ne sont pas sujets aux mêmes restrictions ; ils offrent une large répartition géographique et bathymétrique, et vivent dans une grande variété de milieux (côtiers, estuariens, eau douce) permettant l'enregistrement de variations environnementales complémentaires à celles des coraux.

Au cours de leur croissance, les bivalves sont susceptibles d'enregistrer les changements environnementaux par des modifications de forme, de microstructure, de taux de croissance, de minéralogie ou de composition chimique de leur exosquelette calcifié : leurs coquilles deviennent alors de véritables enregistreurs biologiques de l'environnement et des conditions climatiques rencontrées au cours de leur vie (Rhoads & Lutz, 1980). Si leur durée de vie est plus limitée que celle des coraux, bien qu'exceptionnellement certains bivalves comme *Artica islandica* puissent vivre jusqu'à plus de 200 ans, ils offrent cependant une possibilité d'étude plus détaillée à l'échelle saisonnière. En effet, le faible taux de croissance des coraux (quelques centaines de microns par an) limite les possibilités de prélèvement de matière carbonatée, alors que le fort taux de croissance des bivalves (jusqu'à quelques centimètres par an) offre des possibilités d'étude beaucoup plus étendues à l'échelle saisonnière. De plus, la croissance des bivalves est un processus d'accrétion à haute fréquence de dépôts calcitiques, dont la rythmicité est généralement imprimée dans la structure de la coquille (Rhoads & Lutz, 1980).

La sclérochronologie est l'étude des fluctuations d'espacement entre les marques de croissance, appelées communément "stries". Les variations du taux de croissance coquillière peuvent être mises en relation avec les paramètres environnementaux comme la température, la nourriture, la salinité, l'oxygène, les marées (Panella & MacClintock, 1968 ; Jones *et al.*, 1983, 1996 ; Rhoads & Lutz, 1980), et font de la coquille une source non négligeable d'informations sur l'environnement dans lequel vit le bivalve (Richardson, 2001). Son étude procure surtout une base de temps primordiale dans l'étude des profils géochimiques extraits de la coquille.

En complément de la sclérochronologie, la découverte de marqueurs géochimiques environnementaux et le développement de la spectrométrie de masse de rapports isotopiques, ont fortement contribué à enrichir le potentiel informatif des archives carbonatées. Les rapports isotopiques, majoritairement ceux du carbone et de l'oxygène, sont mesurés dans les squelettes calcifiés, et peuvent procurer des données de température, de salinité, de mouvements de masse d'eau et de conditions climatiques générales, ainsi que des informations biologiques comme la détermination des migrations ou des régimes trophiques. Le rapport $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ($\delta^{18}\text{O}$) des carbonates biogéniques marins varie en fonction de la température et du $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer (Epstein *et al.*, 1953), et permet de calculer, *a posteriori*, la température du milieu ambiant au moment de la précipitation calcitique. De façon similaire, le rapport $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$) des coquilles peut être mis en relation avec le $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous de l'eau de mer (DIC), reflétant la composition atmosphérique en CO_2 et les variations de productivité primaire du milieu (Dettman *et al.*, 1999).

Le développement de l'ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma induit (LA-ICP-MS) a ensuite permis l'analyse directe des échantillons solides et surtout la caractérisation à haute résolution spatiale (<50 μm), et donc temporelle, de la composition en éléments mineurs et traces des coquilles. Cette résolution, jusqu'alors impossible avec les techniques de prélèvement classiques à la micro-perceuse, permet un enregistrement détaillé des changements élémentaires selon l'axe de croissance de la coquille. Cette technique autorise une détection multi-élémentaire à de faibles limites de détection. Les rapports qui en résultent (Ba/Ca, Mn/Ca, Mg/Ca, Cd/Ca, Sr/Ca, B/Ca) s'avèrent être des traceurs des variations environnementales comme la température, la salinité et la productivité (Beck *et al.*, 1992 ; Klein *et al.*, 1996a, b, Stecher *et al.*, 1996 ; Vander Putten *et al.*, 2000).

L'ensemble de ces techniques, appliquées aux bivalves, a prouvé que la composition isotopique et élémentaire des coquilles pouvait révéler d'importantes informations sur les paléoenvironnements (Wefer & Berger, 1991 ; Richardson, 2001). Cependant, la majorité de ces études se heurtent encore à des difficultés liées à la méconnaissance de la biologie de ces organismes. La base de l'utilisation de ces traceurs biologiques ou géochimiques, pour retracer les conditions environnementales, repose sur l'étape primordiale de calibration. En effet, les relations entre les différents "proxy" et les paramètres environnementaux doivent être parfaitement établies avant d'être utilisées en routine. Or, un défaut majeur des études paléoclimatiques utilisant les mollusques, et visant la calibration, réside dans la méconnaissance de la croissance coquillière de l'espèce considérée. Si de nombreuses études tentent de comprendre le rythme saisonnier des incréments de croissance coquillière, très peu décryptent ce signal chez les bivalves (Jones & Quitmyer, 1996). Le problème vient non seulement de la méconnaissance des rythmes de déposition des stries, mais de l'incapacité à dater de façon absolue ces incréments de croissance. Or une base de temps très fine est nécessaire pour calibrer ces traceurs géochimiques, en particulier dans l'étude des fluctuations à haute fréquence. Une incertitude liée au calage chronologique demeure donc généralement lors de la confrontation des paramètres environnementaux aux variations du proxy utilisé (Klein *et al.*, 1996a,b ; Hickson *et al.*, 1999 ; Vander Putten *et al.*, 2000). La possibilité d'une interférence entre le métabolisme des individus et les signaux environnementaux doit également être prise en compte (Tanaka *et al.*, 1986 ; Klein *et al.*, 1996b). La connaissance de la biologie de l'espèce (reproduction, nutrition, bioénergétique) est donc une seconde condition nécessaire pour une calibration fiable.

Dans ce contexte, les connaissances acquises au cours des dix dernières années sur la biologie et l'écologie de la coquille Saint-Jacques, *Pecten maximus*, en rade de Brest, mettent en évidence le potentiel de cette espèce comme archive des fluctuations de l'environnement côtier. Si la motivation première des scientifiques concernait en priorité l'aménagement de sa pêcherie (gestion du stock, aquaculture), ces études ont produit une base de connaissances biologiques extrêmement riche (Paulet *et al.*, 1988, 1997 ; Grall *et al.*, 1996 ; Chauvaud *et al.*, 1996, 1998 ; Saout *et al.*, 1999). En particulier, l'étude de la croissance a révélé que la coquille Saint-Jacques déposait chaque jour, une strie visible à l'œil nu sur la face externe de sa coquille (Chauvaud *et al.*, 1998). L'analyse de ces stries permet une mesure précise des variations de la croissance journalière ainsi qu'une datation, au jour près, des dépôts calcitiques. Les paramètres environnementaux peuvent être comparés aux variations

structurelles et chimiques coquillières à une échelle journalière. Cet enregistrement procure ainsi une base solide pour la calibration des traceurs géochimiques environnementaux et la surveillance des écosystèmes à une échelle de temps très fine.

De plus, la large répartition spatiale (du Maroc à la Norvège) et bathymétrique (1 à 500 mètres de profondeur) de la coquille Saint-Jacques (Tebble, 1966), offre la possibilité de récolter des archives environnementales à des latitudes complémentaires à celles des coraux, ainsi que le long de gradients de perturbations. Enfin, lors de fouilles archéologiques, cette espèce est retrouvée au sein de sépultures et parmi des restes culinaires allant du paléolithique à l'époque contemporaine.

Faire de *Pecten maximus* un outil opérationnel de reconstruction paléoclimatique est un objectif poursuivi depuis plusieurs années par les chercheurs du LEMAR. Ce travail de thèse s'inscrit dans cette dynamique et s'articule autour de deux questions majeures, centrées sur la coquille Saint-Jacques et son environnement:

- **La première s'intéresse aux relations liant la coquille Saint-Jacques et ses ressources trophiques potentielles**
- Dans un premier temps, à partir des dysfonctionnements de la croissance coquillière, déjà clairement identifiés pour les coquilles Saint-Jacques de la rade de Brest (Chauvaud *et al.*, 1998), il s'agira de déterminer les conditions environnementales dans lesquelles la production primaire perturbe ce bivalve. Ainsi, un suivi du milieu a été mené en rade de Brest de 1998 à 2001, il sera présenté dans la première partie de ce manuscrit (Partie I). Après avoir déterminé les caractéristiques de la croissance journalière de 1998 à 2001, ce travail s'appuiera essentiellement sur l'étude comparative de la dynamique des sels nutritifs et de ses conséquences sur les efflorescences phytoplanctoniques en rade de Brest (Partie II.1) ;
- Dans un second temps, le phytoplancton étant reconnu comme facteur de stress potentiel de ce bivalve suspensivore, l'objectif sera de déterminer l'origine de la matière incorporée dans les tissus mous de la coquille Saint-Jacques, par l'utilisation du traçage isotopique naturel ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$). Cette technique, appliquée aux différents organes de

cette espèce (muscle, gonade, glande digestive), permettra d'envisager le traçage des flux de métabolites au sein même de l'organisme (Partie II.2) ;

- **La seconde concerne la faisabilité de l'extraction, et l'interprétation de l'information chimique contenue dans la calcite des coquilles Saint-Jacques**

- Tout d'abord, les variations des rapports isotopiques ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$) de la calcite des coquilles Saint-Jacques seront étudiées, et mises en relation avec les variations des paramètres environnementaux (Partie III.1), la motivation initiale étant de produire des proxy de la température de l'eau et de la productivité des milieux.
- Puis, les concentrations des éléments traces contenus dans la calcite de *P. maximus* seront mesurées par spectrométrie de masse à plasma induit couplée à un système d'ablation laser (LA-ICP-MS ; Partie III.2). L'application de cette méthode récente aux matrices carbonatées a nécessité une approche méthodologique, afin d'optimiser l'échantillonnage par ablation laser dans le cas précis des coquilles Saint-Jacques. Les résultats préliminaires seront confrontés aux variations des paramètres environnementaux en 1998, 1999 et 2000.

Enfin, il convient de noter que ce travail s'appuie essentiellement sur l'étude de coquilles Saint-Jacques issues du banc de Roscanvel en rade de Brest (site atelier depuis 1978). Cependant, dans le cadre des études isotopiques de la calcite, les analyses ont été étendues à des coquilles du plateau continental armoricain (100-170 mètres), et pour celles des tissus mous, à des coquilles de Norvège.

PARTIE I. SUIVI ENVIRONNEMENTAL
EN RADE DE BREST

1. Introduction

La rade de Brest est un écosystème dont la physique (Salomon & Breton, 1991 ; Le Pape, 1996), la chimie (Delmas, 1981 ; Quéguiner, 1982 ; Hafsaoui, 1984 ; Ragueneau, 1994 ; Del Amo, 1996, Savoye, 2001) et la biologie (Hily, 1984 ; Jean, 1994 ; Chauvaud, 1998 ; Chauvaud *et al.*, 2000, Grall, 2002) sont étudiées depuis de nombreuses années. Tous ces travaux ont contribué à l'accumulation de données environnementales depuis 1977, particulièrement pour le site de Roscanvel qui a servi de référence à de nombreuses études (Fig. I.2).

La présente étude s'inscrit dans une logique de poursuite du suivi environnemental, elle contribue donc à l'enrichissement des séries temporelles de mesure des paramètres hydrologiques classiques (température, salinité, pigments chlorophylliens, sels nutritifs). Plus spécifiquement, dans le cadre d'une étude haute fréquence de l'environnement autorisée par les capacités d'enregistrement des fluctuations environnementales par la coquille Saint-Jacques à une échelle journalière, nous avons développé pour l'année 2000 (18 février - 30 juin), une stratégie de suivi du milieu fondée sur des prélèvements réalisés au rythme de 3 par semaines (46 sorties). Dans le même ordre d'idée, afin de mieux décrypter les informations contenues dans les valves de *P. maximus*, le nombre et la nature des paramètres environnementaux suivis ont été étendus à la couche de fond, près du biotope des coquilles Saint-Jacques.

La méthodologie employée lors de chaque sortie pour l'année 2000 et le début 2001 comprenait: (1) des profils verticaux de température, salinité et fluorescence ; (2) des prélèvements d'eau de mer en surface pour les mesures de concentrations en pigments chlorophylliens, silice biogénique, sels nutritifs et éléments traces sous forme particulaire; (3) des prélèvements d'eau de mer de fond (1 mètre au-dessus du fond) pour la mesure des pigments chlorophylliens, de la silice biogénique, des éléments traces à la fois sous forme dissoute (Sr, Ba) et particulaire (Sr, Ba, Ti, Mg, Mn, Na), des rapports $\delta^{13}\text{C}$, le $\delta^{15}\text{N}$ et du rapport C/N de la matière organique particulaire en suspension, et du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (CID).

Cependant, dans ce chapitre, par souci de clarté, seuls les résultats concernant la température, la salinité, les débits des rivières, les sels nutritifs ainsi que les pigments chlorophylliens seront présentés. Les autres paramètres, énoncés ci-dessus, seront présentés en détail dans les chapitres correspondants afin d'éviter les redondances au sein de ce manuscrit. Ainsi, les variations de concentrations des éléments traces dans le milieu (formes

dissoute et particulaire) seront traitées dans la partie III.2. *Analyse élémentaire*, en relation avec leurs variations dans la calcite de *P. maximus*. Les rapports des isotopes stables de la matière organique particulaire (MOP) seront détaillés dans la partie II.2. *Régime alimentaire et physiologie : application du traçage isotopique*, la MOP étant considérée comme une source potentielle de nourriture pour la coquille Saint-Jacques. Quant au $\delta^{13}\text{C}$ du CID, ses variations seront présentées dans la partie III.1. *Analyse isotopique*, en relation avec les rapports des isotopes stables du carbone dans la calcite de *Pecten*.

En résumé, pour les besoins de ce travail et en particulier lors de l'étude de la croissance journalière de la coquille Saint-Jacques (Partie II-1), les données environnementales nécessaires englobent la période 1998-2001 sur le site de Roscanvel. Les données précédemment acquises au LEMAR (empruntées à Grall, Chauvaud et Guérin), combinées à celles de notre suivi (février 2000 - février 2001), seront utilisées et présentées dans ce chapitre en ce qui concerne les paramètres hydrologiques classiques (température, salinité, pigments chlorophylliens). Pour les sels nutritifs et autres paramètres, lorsque ces derniers ne sont pas disponibles pour le site de Roscanvel, les données de la station SOMLIT située à l'extrémité de l'appontement de l'IFREMER dans l'anse de Sainte-Anne du Portzic (Fig. I.2, Service d'Observation en Milieu Littoral, IUEM), seront utilisées après calibration sur l'année 2000 pour laquelle les paramètres environnementaux ont été mesurés parallèlement sur les deux sites d'étude.

Le but de ce chapitre est de caractériser et de positionner, du point de vue environnemental, les années d'études vis à vis d'un suivi débuté dans les années soixante-dix. Ainsi, une comparaison sera effectuée, pour chaque année d'étude, avec les valeurs moyennes décennales disponibles pour la rade de Brest et empruntées aux différents travaux de thèse cités précédemment. Néanmoins, des différences de fréquence d'échantillonnage, de site et d'heure de prélèvement, inhérentes aux différents sujets d'étude et au but recherché, entraînent certaines limitations qui seront exposées dans ce chapitre.

2. Matériel et méthodes

2.1 Présentation du site

Située à l'extrême pointe de la Bretagne ($48^{\circ}10'$ - $48^{\circ}25'$ N, $4^{\circ}10'$ - $4^{\circ}35'$ W), la rade de Brest est une vaste baie peu profonde de 180 Km², dont plus de 50% de l'étendue a une profondeur inférieure à 5 mètres (Fig.I.1 et I.2) et dont seulement 15% dépasse les 20 mètres.

Cet écosystème côtier macrotidal (marnage moyen de 4.2 m) communique avec la mer d'Iroise par un goulet profond et étroit, assurant un fort brassage des eaux à chaque cycle de marée (Salomon & Breton, 1991).

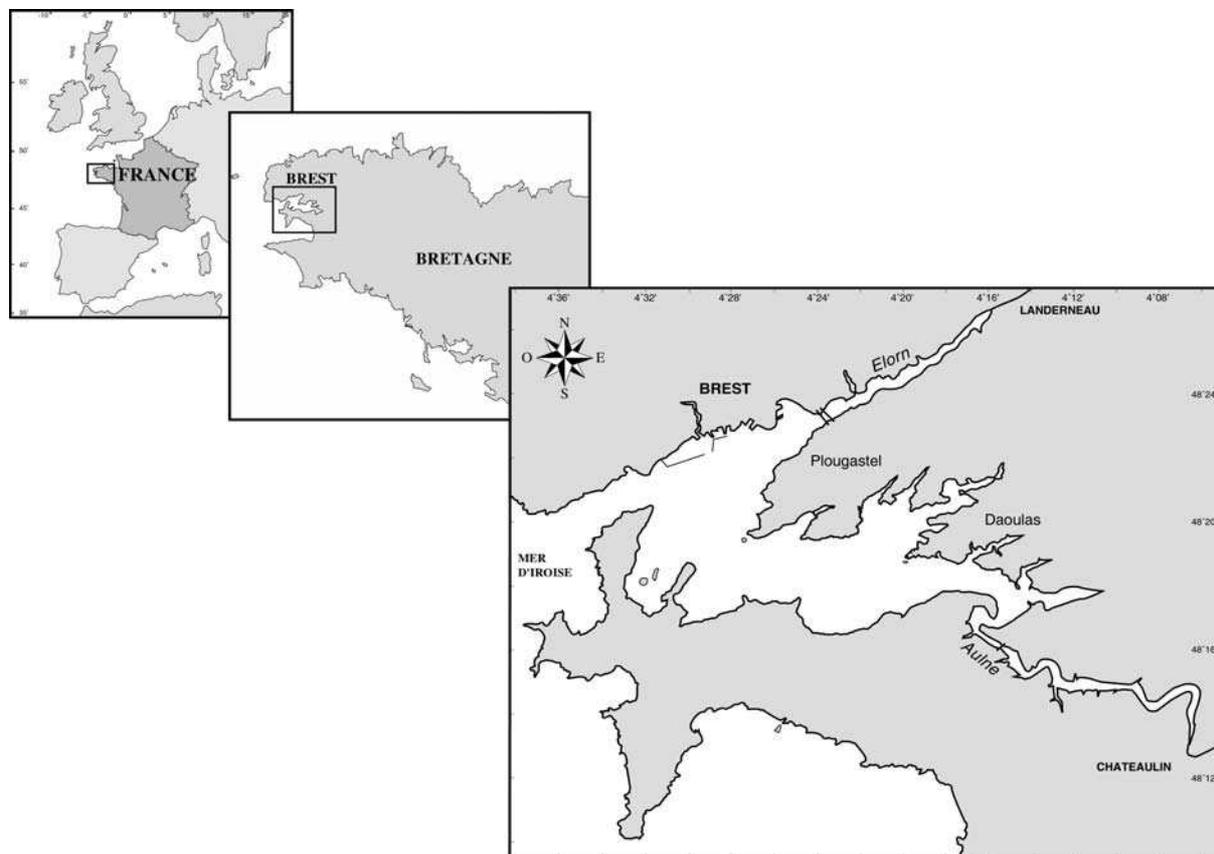


Figure I.1. Localisation du site d'étude, la rade de Brest.

La rade subit également l'influence continentale de deux rivières, l'Aulne et l'Elorn, (Fig. I.1) qui contribuent à plus de 80 % des apports d'eau douce et jouent donc un rôle essentiel dans les apports de sels nutritifs en rade. Cependant, malgré sa connexion apparemment limitée avec les eaux du large et l'influence de ses rivières, la rade de Brest présente un caractère fortement marin tant au niveau physique que chimique et biologique (Delmas, 1981 ; Quéguiner, 1982 ; Le Pape, 1996, Grall, 2002). En effet, à chaque cycle de marée, le volume qui oscille dans le goulet est équivalent aux apports annuels d'eau douce par les deux fleuves. Selon Salomon & Breton (1991), les échanges existant entre la rade et la mer d'Iroise restent cependant limités car une forte proportion des eaux évacuées au jusant est réintroduite en rade dès le flot suivant. Globalement, les courants et la topographie de la rade créent un schéma complexe de la circulation des masses d'eaux entraînant une grande diversité de strates biosédimentaires (17 strates dénombrées par Hily, 1989). Les fonds de la

rade constituent donc une mosaïque de faciès sédimentaires abritant une grande diversité d'espèces (950 espèces de macrofaune et de mégafaune ont été recensées à ce jour pour l'ensemble de la baie : Chauvaud, 1998 ; Grall, 2002).

2.2 Stratégie d'échantillonnage

Tous les prélèvements ont été réalisés sur le site de Roscanvel qui occupe une position centrale dans la rade de Brest (Fig.I.2) et qui est considéré typique de l'évolution générale de la baie (Le Pape *et al.*, 1996). Suivi depuis 1977 comme station de référence pour la mesure de plusieurs paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne, cette station est également le point de prélèvement des coquilles Saint-Jacques servant au monitoring de la croissance journalière de l'espèce depuis 1986 (Chauvaud *et al.*, 1998).

Le choix de l'heure de prélèvement en rade de Brest n'est pas sans conséquence sur l'interprétation de la mesure, étant donné la présence de fortes marées induisant une variabilité non négligeable des paramètres environnementaux au cours du cycle tidal de 12 heures. Chauvaud (1998) montre, par exemple, que la température de l'eau de fond à Roscanvel, peut varier de près de 1°C sur un cycle de marée (0,6°C en moyenne) et jusqu'à 1,7°C à Sainte-Anne du Portzic. Les conditions matérielles à notre disposition ne nous permettant pas de faire un suivi en continu de la masse d'eau, un échantillonnage à heure de marée fixe a été mis en place afin de minimiser au maximum les erreurs liées à la variabilité des paramètres environnementaux sur un cycle de marée. Ainsi, le caractère ponctuel de ces prélèvements, qu'ils soient effectués à basse mer ou à pleine mer, ne représentera jamais qu'une mesure discrète des conditions environnementales rencontrées par la coquille Saint-Jacques au cours d'une journée. Dans le cadre de cette étude (année 2000), le choix de l'heure (PM \pm 2 heures) provient de la nécessité de réaliser une comparaison avec les données de la station SOMLIT (48°21' N - 4°33' W), toujours échantillonnée à pleine mer. Les sels nutritifs de la rade sont disponibles uniquement à SOMLIT pour les années 1998, 1999 et 2001. Ainsi, une comparaison des mesures de sels nutritifs sur les deux sites (Roscanvel-SOMLIT) en 2000, permettra de valider leur utilisation.

Afin d'appréhender une nouvelle fois la variabilité liée au cycle de marée, le 17-18 et 19 mai 2000, un suivi sur 12 heures et un suivi de 36 heures de plusieurs paramètres environnementaux ont été menés dans le cadre d'une mission INSU-CREPIRAD (température, fluorescence, salinité, $\delta^{13}\text{C}$ CID, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et rapports C/N de la MOP).

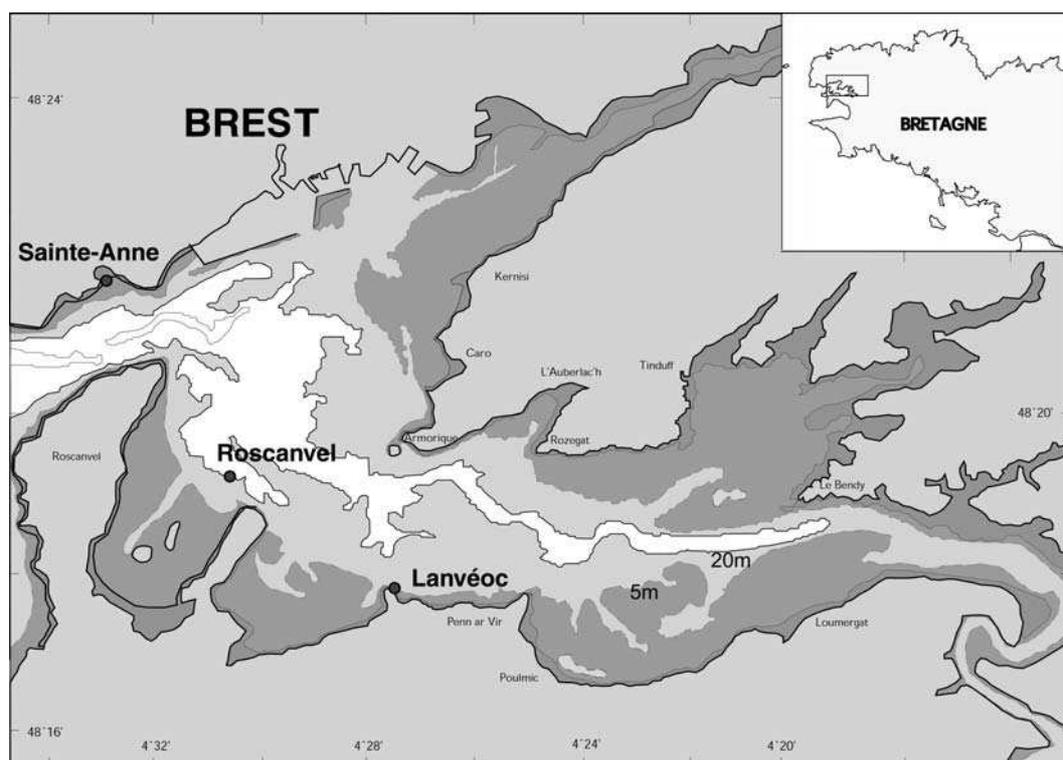


Figure I.2. Bathymétrie et localisation des stations d'échantillonnage en rade de Brest (Roscanvel, Sainte-Anne du Portzic (station SOMLIT) et Lanvéoc).

Enfin, un suivi au rythme de 3 prélèvements par semaine a pu être mis en place pendant cinq mois pour l'année 2000 (février-juin 2000 correspondant à 46 sorties). Durant l'été et la fin de l'année, 12 sorties ont été effectuées afin de terminer le cycle annuel (juillet 2000-février 2001).

2.3 Prélèvements, traitements des échantillons et méthodes analytiques

2.3.1 Paramètres physiques

Les profils de température, salinité et fluorescence ont été enregistrés à l'aide d'une sonde CTD Seabird SBE 19 couplée à un fluorimètre Seatech. Les mesures de fluorescence prennent en considération de nombreux autres pigments que la chlorophylle *a* et sont biaisées par la présence en quantité variable de particules détritiques ou, également, par les effets d'une luminosité variable. Aussi, une mesure complémentaire plus fiable de la biomasse chlorophyllienne a été effectuée au laboratoire après filtration d'eaux de surface et de fond (voir § 2.4.2 ; chlorophylle *a* et phéopigments). Les débits moyens journaliers et mensuels des

deux fleuves (Aulne et Elorn) sont quant à eux mesurés par l'Agence de Bassin de Loire-Bretagne.

2.3.2 Analyse de la matière particulaire

- Chlorophylle *a* et phéopigments :

Après filtration d'un litre d'eau de mer prélevé en surface et au fond (1 m au-dessus du sédiment) sur un filtre GF/F (porosité 0,7 μm , diamètre 47mm), les échantillons sont stockés à -20° . La chlorophylle *a* est ensuite extraite avec de l'acétone (90%) et l'absorbance mesurée au fluorimètre Turner (modèle 111) à 630 nm selon la méthode de Yentsch et Mentzel (1963). Pour la phéophytine, l'absorbance est mesurée après acidification de l'extrait avec 100 μl d'HCl 1N. Les concentrations en chlorophylle *a* et phéophytine *a* sont ensuite estimées à l'aide des équations de Lorenzen (1967).

- Détermination taxonomique et comptage des espèces phytoplanctoniques :

La composition et le comptage des espèces phytoplanctoniques majeures est fournie par la station IFREMER-Concarneau (collaboration E. Nézan) sur le site de Lanvéoc (Fig. I.2) pour les années 1998, 1999 et 2001. En ce qui concerne l'année 2000, des prélèvements ont pu être effectués sur la station de référence (Roscanvel), à un mètre du sédiment. L'ajout de Lugol permet la conservation de ces échantillons et leur exploitation ultérieure (E.Nézan).

- Silice biogénique (BSi) :

La silice particulaire totale est composée d'une fraction lithogénique (minéraux silicatés) et d'une fraction biogénique, précipitée sous forme amorphe par les diatomées pour constituer une sorte de carapace appelée frustule.

Selon la charge en particules, de 500 à 1000 mL d'eau de mer prélevée à l'aide d'une bouteille Niskin (surface et fond) ont été filtrés sur des filtres Nucléopore en polycarbonate de 47mm de diamètre et 0,6 μm de porosité. Les filtres pliés sont ensuite stockés dans des boîtes de pétri en plastique, séchés à l'étuve (60°C) pendant 48 heures et conservés à température ambiante jusqu'à l'analyse.

L'analyse est effectuée selon une version simplifiée de la méthode proposée par Ragueneau & Tréguer (1994). Le filtre subit une digestion alcaline (ajout de 4 mL de NaOH à 0,2M) pendant 12 minutes à 100°C. Après refroidissement, la réaction est stoppée par ajout de 1 ml d'HCl 1M. Lors de cette réaction, la silice biogénique se dissout en acide

orthosilicique, qui peut alors être dosé à l'aide du Technicon Auto Analyseur II selon Tréguer & Le Corre (méthode semi-automatique, 1975). La précision de l'analyse est voisine de 5 % (Ragueneau, 1994). Les blancs, obtenus par la même méthode analytique appliquée à des filtres vierges, présentaient des valeurs voisines de 0,06 μM de BSi.

Le temps de digestion, 12 minutes, est très court par rapport à celui employé par Ragueneau & Tréguer (1994) ou par d'autres auteurs employant une extraction unique (Nelson & Brzezinski, 1989) ou des extractions différentielles (DeMaster, 1981). Tous ces auteurs ont employé un temps minimum de 40 minutes de façon à s'assurer que toute la silice biogénique soit bien dissoute. Mais un tel temps de digestion entraîne la dissolution d'une partie non négligeable des minéraux silicatés présents dans l'échantillon. Plusieurs méthodes ont été proposées pour corriger cette interférence. Elles sont cependant longues et fastidieuses. Il a de plus été remarqué que dans la plupart des cas, la valeur corrigée, par exemple à l'aide des rapports Si:Al (Ragueneau *et al.*, en révision), correspondait à celle mesurée, sans correction, après un temps voisin de 12 minutes. Ce temps semble ainsi suffisant pour dissoudre la totalité de la silice biogénique présente sur le filtre, comme suggéré par Krausse *et al.* (1983), ou plus récemment par Conley qui utilise un temps de 15 minutes (Comm. Pers.) ; il permet en outre de minimiser la dissolution des minéraux silicatés, de sorte qu'une correction n'est plus nécessaire. C'est l'approche que nous avons choisie pour notre suivi.

2.3.3 Analyse des sels nutritifs

Pour l'ammonium, 105 ml d'eau de mer prélevés à un mètre de la surface sont directement versés dans un flacon en verre préalablement lavé à l'acide, rincé à l'eau distillée et à l'eau du prélèvement. Les réactifs R1 et R2 (Aminot & Chaussepied, 1983) sont ensuite ajoutés et les échantillons rapidement placés à l'obscurité. De retour au laboratoire, les échantillons sont stockés à l'obscurité et à température ambiante puis analysés selon la méthode de Koroleff (1969) dans les deux jours suivant le prélèvement. La mesure de densité optique est effectuée à 630 nm sur un photomètre Milton Roy Spectronic 401.

Pour les autres sels nutritifs, l'eau est récupérée après filtration à travers un filtre en polycarbonate de 0,6 μm de porosité et 47 mm de diamètre. Les échantillons de phosphates sont stockés dans un flacon en verre à -20°C ; ceux de nitrates + nitrites dans une bouteille en plastique type nalgène à -20°C ; et ceux d'acide orthosilicique dans une bouteille nalgène au réfrigérateur (4°C). Tout le flaconnage a été préalablement lavé une nuit à l'acide

chlorhydrique (1,2 N) puis rincé trois fois à l'eau milliQ, et enfin avec de l'eau de mer prélevée sur le site.

Les phosphates sont mesurés à l'aide d'un photomètre Milton Roy Spectronic 401 (à 885 nm) selon la méthode manuelle de Murphy et Riley (1962). L'acide orthosilicique ainsi que l'ensemble nitrates + nitrites sont analysés à l'aide du Technicon Auto Analyseur II selon Tréguer & Le Corre (méthode semi-automatique, 1975).

3. Etat des connaissances sur le fonctionnement de la rade

Comme de nombreux écosystèmes côtiers, la rade de Brest, sous l'effet de la pression anthropique, reçoit des apports des nitrates croissants. Son bassin versant, dans lequel a été développée, depuis une trentaine d'année, une agriculture de type industriel, est la source de quantités croissantes de matières azotées, entraînant des concentrations hivernales en azote inorganique dissous dans les rivières supérieures de 70 à 87 fois à la moyenne mondiale des fleuves non perturbés (Del Amo, 1996). Durant les vingt dernières années, les concentrations en nitrates des eaux fluviales ont doublé, entraînant une décroissance des rapports Si/N d'un facteur 10 dans les eaux de la rade (Le Pape *et al.*, 1996) (Nous verrons par la suite que ces valeurs sont quelque peu surestimées, § 3.4). Paradoxalement, en rade de Brest, de tels apports d'azote n'ont pas entraîné l'apparition des signes classiques de l'eutrophisation, à savoir une forte augmentation de la biomasse chlorophyllienne et des conditions de forte sous-saturation en oxygène (Le Pape *et al.*, 1996). De plus, la production primaire phytoplanctonique demeure dominée majoritairement par des diatomées (algues à frustule siliceux), alors que dans des systèmes limités par la silice (faible rapports Si/N), des efflorescences non-siliceuses (les dinoflagellés), souvent toxiques, ont tendance à se développer (Queguiner & Treguer, 1984 ; Smayda, 1990 ; Del Amo *et al.*, 1997a,b ; Ragueneau *et al.*, 1994). Cependant, la saisonnalité des efflorescences phytoplanctoniques s'est significativement modifiée, avec une diminution de l'intensité des premiers blooms printaniers compensée par une plus longue période productive (Chauvaud *et al.*, 2000).

L'apparente résistance de la rade de Brest, qui présente cependant des signes d'eutrophisation benthique (Grall, 2002), serait due à la combinaison de plusieurs facteurs : (i) les propriétés hydrodynamiques de la rade de Brest évacuant le surplus de sels nutritifs, (ii) le déphasage temporel entre les apports de nutriments (hiver) et la période productive (printemps-été) limitant les proliférations algales, (iii) l'augmentation, parallèle à celle des apports azotés, des populations de suspensivores benthiques et en particulier d'une espèce

invasive : la crépidule (*Crepidula fornicata*). En effet, cette espèce, par son activité de filtration et la production de biodépôts contribuerait au maintien d'une production primaire siliceuse non toxique pendant toute la période productive (Chauvaud *et al.*, 2000 ; Ragueneau *et al.*, 2002). Les frustules siliceux de diatomées seraient piégés au sein des faeces et pseudo-faeces à l'interface eau-sédiment et limiteraient l'exportation de la silice biogénique vers la mer d'Iroise. Ces frustules, une fois dissous, soutiendraient alors une production primaire régénérée et permettraient le maintien des populations de diatomées pendant toute la période estivale.

Ainsi l'activité des suspensivores benthiques et majoritairement de la crépidule, en modifiant les flux biogéochimiques à l'interface eau-sédiment, contrôlerait la nature et l'intensité de la production primaire, alors que l'augmentation des teneurs en nitrates de la rade de Brest, en provoquant la chute du rapport Si/N, aurait pu être à l'origine du basculement de l'écosystème vers des efflorescences toxiques. Ces modifications démontrent l'importance du couplage entre le pelagos et le benthos sur le fonctionnement de l'écosystème rade de Brest et plus généralement, le rôle structurant de ces organismes dans les écosystèmes côtiers peu profonds.

4. Résultats et Discussion

4.1 Paramètres physiques

4.1.1 Apports des bassins versants

Les débits des rivières présentent de fortes variations saisonnières avec des périodes de crues hivernales (octobre à mars) et des périodes d'étiages estivales (Fig.I.3). En période de crues, les débits atteignent des valeurs élevées aussi bien pour l'Aulne ($419 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ le 13/12/00) que pour l'Elorn ($50 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ le 24/10/99) par rapport aux valeurs moyennes calculées pour la période 1970-1999. Les débits moyens pour ces quatre années sont de 30 et $8 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ pour l'Aulne et l'Elorn respectivement, ce qui est conforme aux données de la littérature (24 et $6 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ pour l'Aulne et l'Elorn respectivement d'après Daniel, 1995). Les débits et les amplitudes sont donc plus faibles pour l'Elorn que pour l'Aulne. Cette dernière assurant plus de 65% des apports d'eau douce en rade de Brest.

L'Aulne présente des débits oscillants entre $2 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ le 14 septembre 2000 et $419 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ le 13 décembre 2000 (record des trente dernières années avec l'année 1995 où un débit de $416 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ avait été enregistré le 26 janvier).

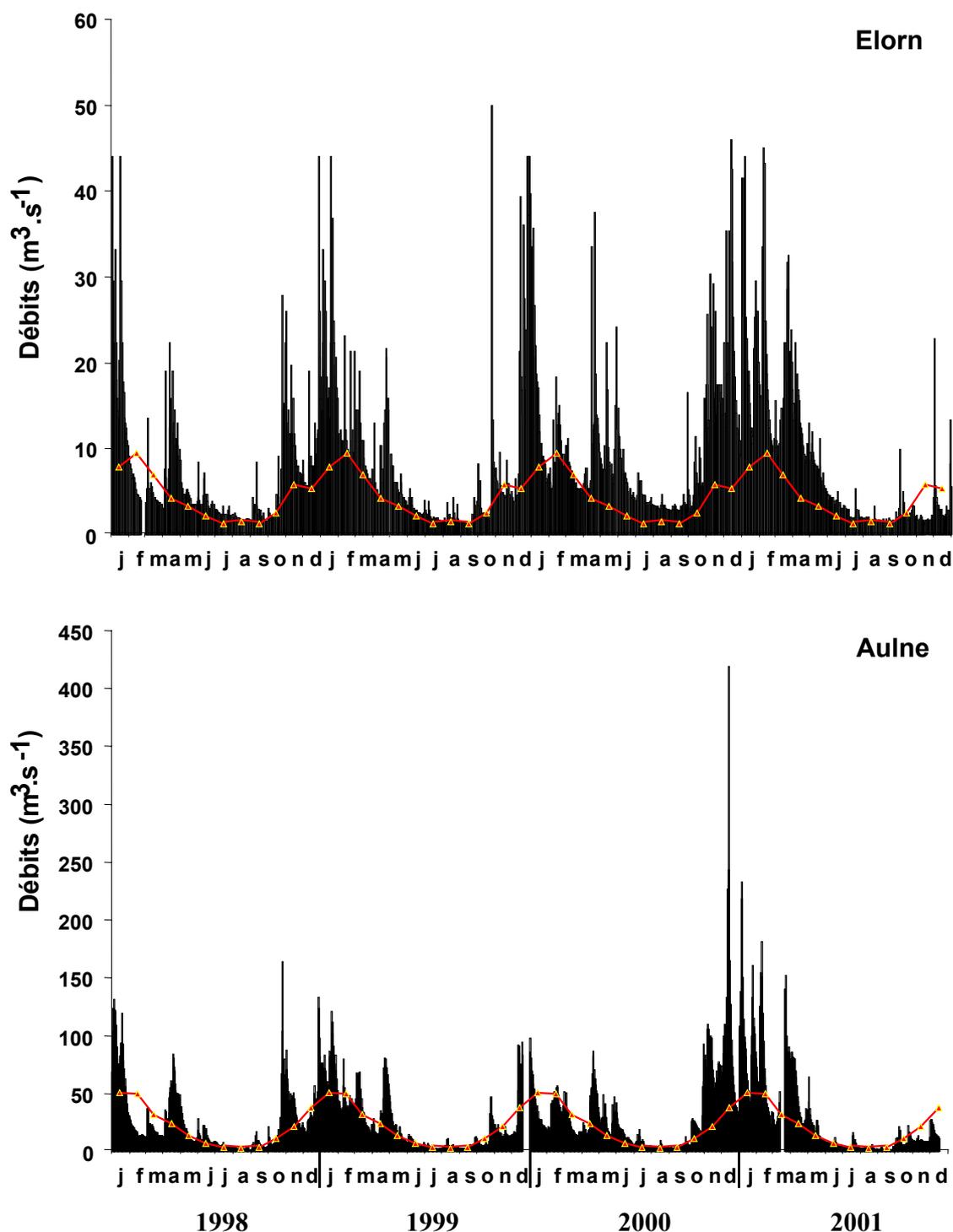


Figure I.3. Evolution du débit des deux principaux fleuves de la rade de Brest durant les années 1998, 1999, 2000 et 2001. A la moyenne journalière (en $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$, barres noires verticales) est ajoutée la moyenne mensuelle sur les trente dernières années (de 1970 à 1999, trait rouge et triangles jaunes, en $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$).

Mais cette amplitude est beaucoup plus faible pour les autres années d'étude, les débits restant plus généralement entre 2 et $173 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$. L'hiver 2000-2001 a été beaucoup plus pluvieux que les hivers précédents (Fig. I.4), avec des débits moyens au mois de décembre et

janvier ($100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) fortement supérieurs à la moyenne des trente dernières années (38 et $51 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, en décembre 2000 et janvier 2001, respectivement).

Pour l'Elorn, les débits varient en moyenne sur les quatre années entre 2 et $45 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Cette amplitude est beaucoup plus élevée sur la période d'étude (1998-2001) que sur la moyenne des trente dernières années, et de manière générale, les débits sont plus élevés dans l'Elorn que la moyenne depuis 1998 (Fig. I.3). Cependant, les précipitations observées durant l'hiver 2000-2001, entraînant des débits particulièrement élevés en valeur absolue dans l'Aulne ($419 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), ne provoquent pas de telles crues dans l'Elorn (valeurs maximales de $46 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$). Une augmentation des débits journaliers cumulés pendant la période hivernale (octobre-mars) est cependant notable pendant l'hiver 2000-2001 par rapport aux hivers précédents ($3097 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ vs. 2095 et $1888 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ pour les hivers 1998-1999 et 1999-2000 respectivement).

La figure I.4 représente les débits moyens mensuels de l'Aulne pour les années 1998 à 2001, ainsi que la moyenne de ces débits sur les trente dernières années, afin de mettre en évidence les spécificités de chaque année.

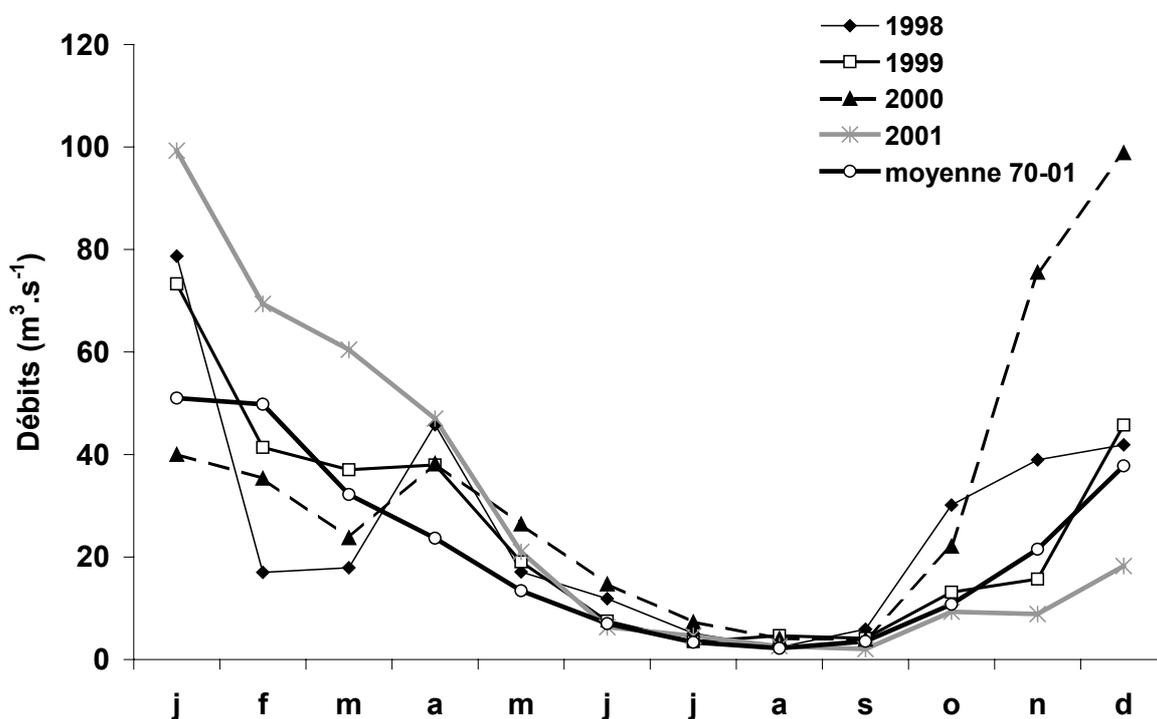


Figure I.4. Evolution des débits mensuels moyens ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) de l'Aulne durant les années 1998, 1999, 2000 et 2001, et la moyenne mensuelle calculée sur les trente dernières années.

Durant les mois hivernaux, une grande variabilité inter-annuelle est décelable, illustrant à nouveau les forts débits du mois de décembre 2000 et janvier 2001. Pendant la

période printanière et estivale, les débits sont plus homogènes. Les quatre années du suivi présentent, pour le mois d'avril, des débits largement supérieurs à la moyenne des trente dernières années. Du début du mois de mai au milieu du mois d'août, l'année 2000, seule, se distingue, avec des débits supérieurs aux trois autres années ainsi qu'à la moyenne des trente dernières années, particulièrement de mi-mai à mi-juin.

4.1.2 Température

- *Variations inter-annuelles :*

La température en rade de Brest présente un cycle saisonnier classique avec des maximums estivaux (17°C en moyenne autour de la mi-août), et des minimums hivernaux début février (9°C en moyenne) (Fig.I.5). Le seuil de 10°C correspondant à la température minimale pour le développement du phytoplancton (Ragueneau, 1994) est atteint au plus tard à la mi-mars. L'année 1999 apparaît particulièrement chaude, avec 0,5°C de plus que la moyenne des 10 dernières années (Fig.I.5). Les années 1998 et 2000 sont en moyenne conformes aux moyennes calculées sur la période 1991-2000, excepté l'hiver 2000 plus chaud que la moyenne, et les étés 1998 et 2000 plus frais de 0,4°C.

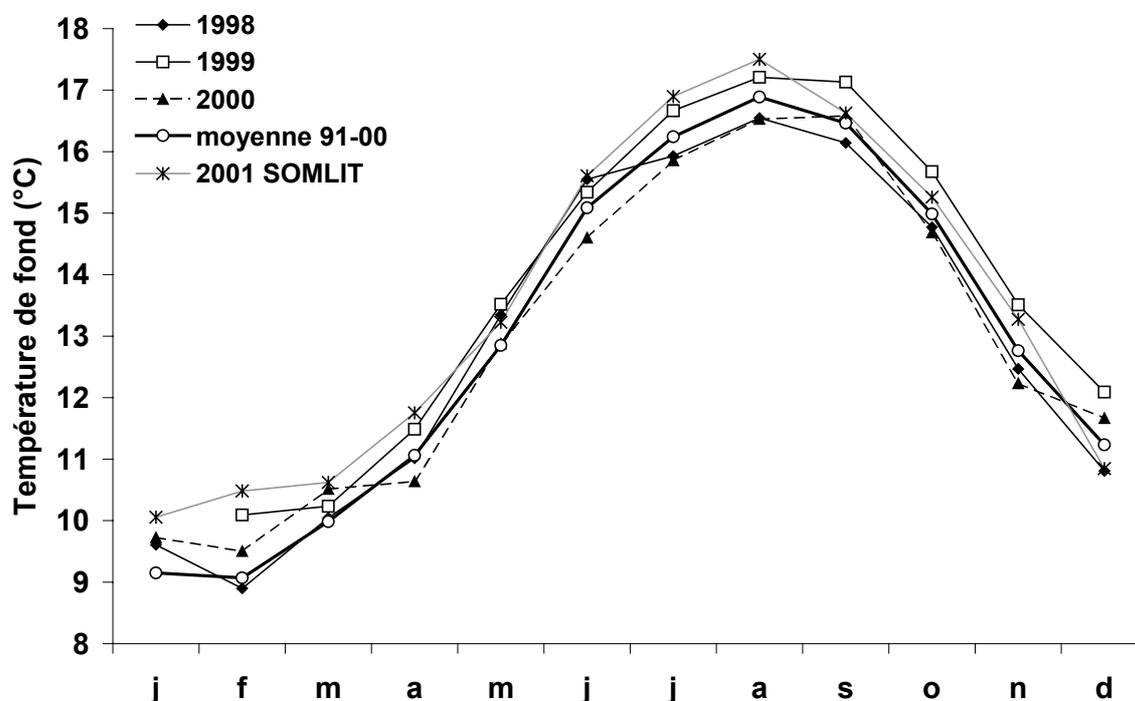


Figure I.5. Variations temporelles des températures de fond (°C) à Roscanvel au cours des années 1998, 1999 et 2000, et des températures en surface à Sainte-Anne du Portzic (données SOMLIT) en 2001. La moyenne des températures de fond à Roscanvel est également représentée pour la période 1991-2000.

En ce qui concerne l'année 2001, nous disposons uniquement des données de température en surface à la station SOMLIT. La comparaison de ces données avec les températures de fond à Roscanvel pour les années 1999 et 2000, indique que la température est en moyenne supérieure de $0,2^{\circ}\text{C}$ à Sainte-Anne, avec un écart maximal de $0,9^{\circ}\text{C}$ le 28 juillet 1999. L'évolution temporelle des températures sur les deux sites (Fig.I.6) montre cependant que les données de température de la station SOMLIT sont une bonne approximation de la tendance générale à Roscanvel. Ainsi, si les valeurs absolues ne sont pas représentatives des conditions rencontrées sur la couche de fond à Roscanvel, ces données peuvent être utilisées afin d'appréhender l'évolution saisonnière des températures : aucun accident thermique n'est survenu en 2001.

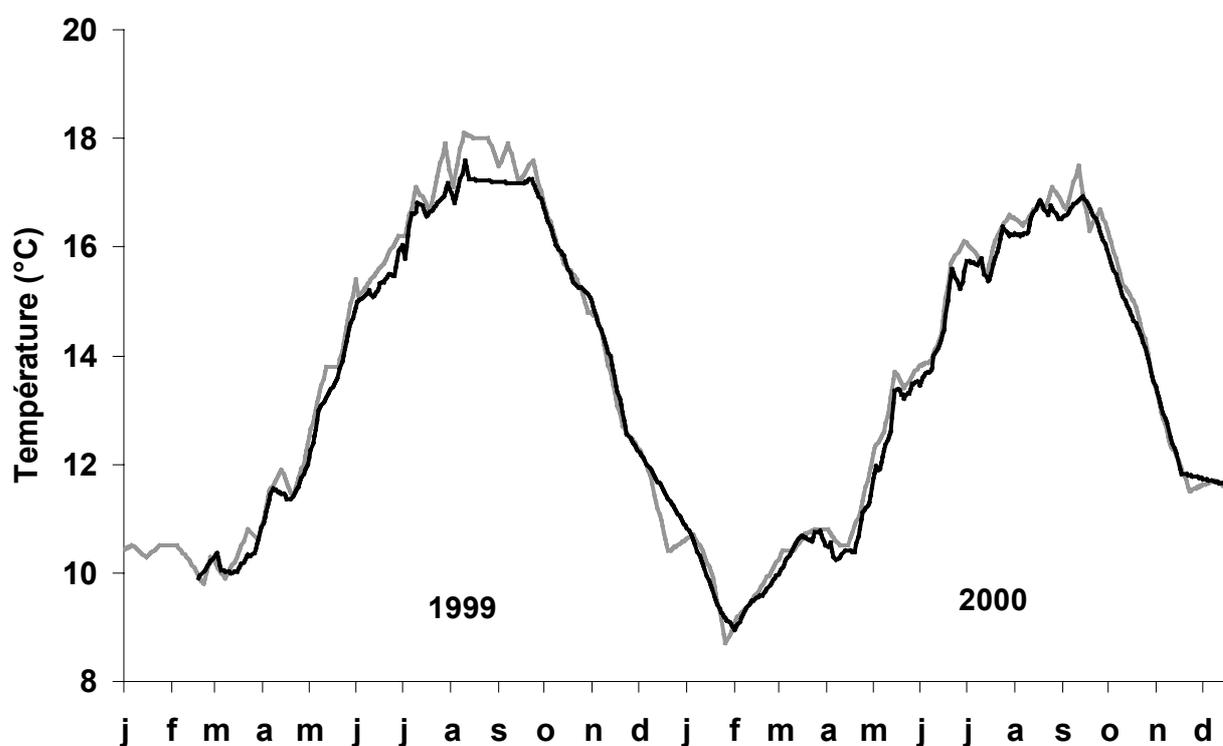


Figure I.6. Variations temporelles des températures à Sainte-Anne du Portzic en surface (station SOMLIT, courbe grise) et à Roscanvel sur la couche de fond (courbe noire) en 1999 et 2000 (en $^{\circ}\text{C}$).

- Différences surface-fond :

Les variations de température au fond et en surface à Roscanvel ne peuvent être étudiées en détail que pour les années 1999 et 2000 où l'échantillonnage a été effectué à une heure de marée constante. En 1998, l'heure d'échantillonnage étant variable et les différences surface/fond dépendantes du cycle de marée (Chauvaud, 1998), la variabilité résultante ne permet pas une interprétation fiable des données.

Les températures de fond et de surface présentent des variations saisonnières identiques (Fig. I.7) à pleine mer. Les températures de surface sont plus élevées en moyenne en périodes printanière et estivale (Fig.I.8). Ces écarts thermiques sont cependant assez faibles (0,3°C en moyenne) bien qu'ils atteignent de façon ponctuelle plus de 1°C en été (1,09°C le 25 juin 1999 et 1,30°C le 9 août 2000). De mi-octobre à début avril, la tendance est inversée et ce sont les températures de fond qui sont supérieures ou égales aux températures de surface. Ces écarts thermiques demeurent toutefois relativement faibles par rapport à la situation estivale (0,1°C en moyenne et un maximum de 0,6°C le 2 mars 1999 et 0,4°C le 29 mars et le 20 décembre 2000).

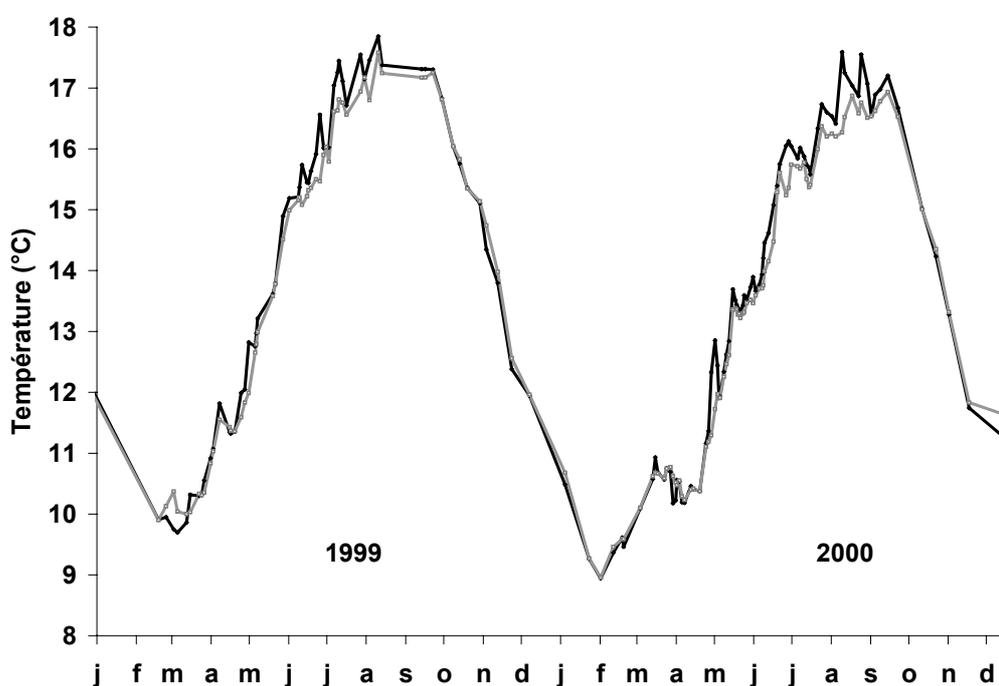


Figure I.7. Variations temporelles des températures de surface (courbe noire) et de fond (courbe grise) sur le site de Roscanvel pour les années 1999 et 2000.

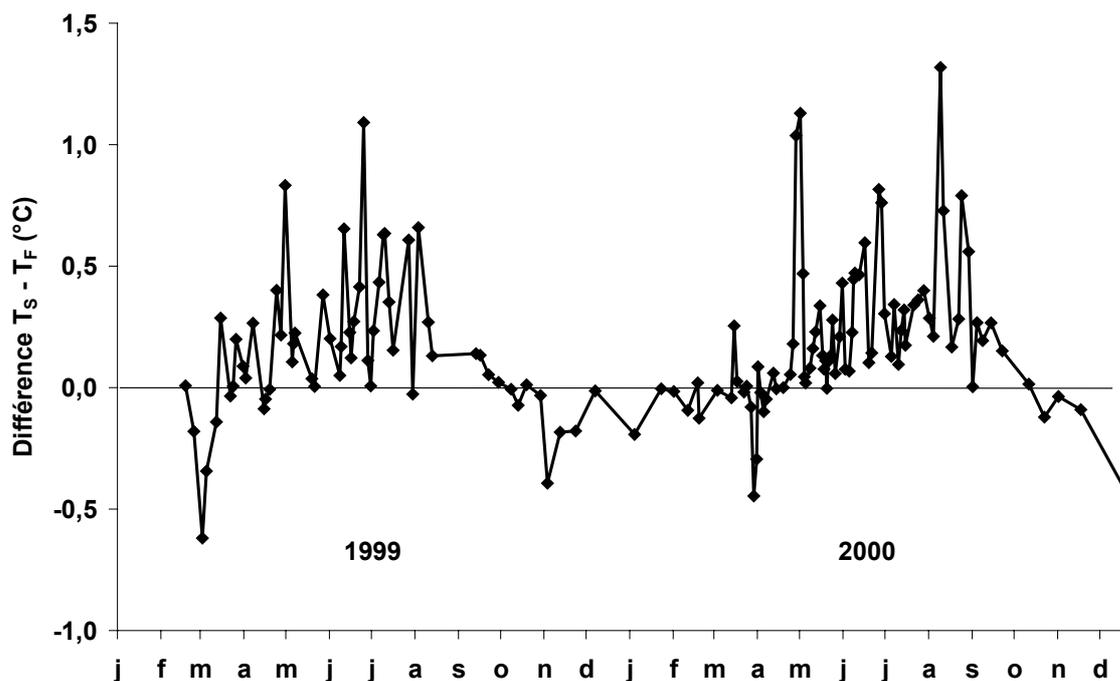


Figure I.8. Variations des écarts de température entre la surface (T_S) et le fond (T_F) de la colonne d'eau au cours des années 1999 et 2000 sur le site de Roscanvel.

4.1.3 Salinité

La salinité est exprimée dans l'échelle de salinité pratique (Practical Salinity Scale), comme un pur rapport et n'a donc pas de dimensions ou d'unités. Ainsi, la salinité doit être reportée comme un nombre sans symbole ou indicateur de proportion, et en particulier le terme PSU, correspondant à "Practical Salinity Units" ne doit plus être employé (voir instructions aux auteurs du journal *Estuarine, Coastal and Shelf Science* : <http://www.academicpress.com/www/journal/ec/ecifa.htm>).

Les principales dessalures sont généralement observées en période automnal et hivernale (Fig.I.9) correspondant aux périodes de crues (octobre-mars) de l'Aulne et de l'Elorn (§ 3.1.1). Cependant, la salinité peut aussi descendre à des niveaux similaires au printemps (avril-mai) suite à des évènements ponctuels de fortes précipitations, même si durant cette période, la tendance générale est à l'augmentation de la salinité. Les faibles valeurs du mois d'avril 1998 (30,14) ne sont pourtant pas explicables par une augmentation significative des débits de l'Aulne et de l'Elorn.

Les mesures effectuées oscillent en moyenne entre 32 et 35,6 en surface et entre 33,5 et 35,5 dans la couche d'eau de fond. Suite aux crues exceptionnelles de l'hiver 2000-2001 (débits de l'Aulne de $319 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), une dessalure particulièrement importante est observée avec

des salinités atteignant 29,6 en surface et 32,4 dans la couche de fond (janvier 2001). L'écart maximal entre le fond et la surface est de 3,6 le 22 avril 1998, montrant qu'une faible stratification haline peut être observée à Roscanvel. Ainsi, la forte variabilité des précipitations sur les bassins versants engendre des fluctuations interannuelles de salinité relativement importantes dans la couche de surface, et de façon plus modérée dans la couche de fond qui conserve un caractère marin prononcé.

La comparaison des variations de salinité à Sainte-Anne et à Roscanvel (Fig. I.10) montre que les données de la station SOMLIT sont une bonne approximation des variations de salinité sur la couche d'eau de fond à Roscanvel. En effet, cette station, par son fort caractère marin et l'impact de l'hydrodynamisme, subit peu l'influence des deux rivières et ne présente pas de grandes variations de salinité. Ainsi, en 2001, la salinité à Sainte-Anne oscille entre 32,3 et 35,4 et ne témoigne pas de dessalure notable (Fig. I.11). La couche d'eau de fond à Roscanvel suit donc vraisemblablement la même évolution sans dessalure significative au cours de l'année.

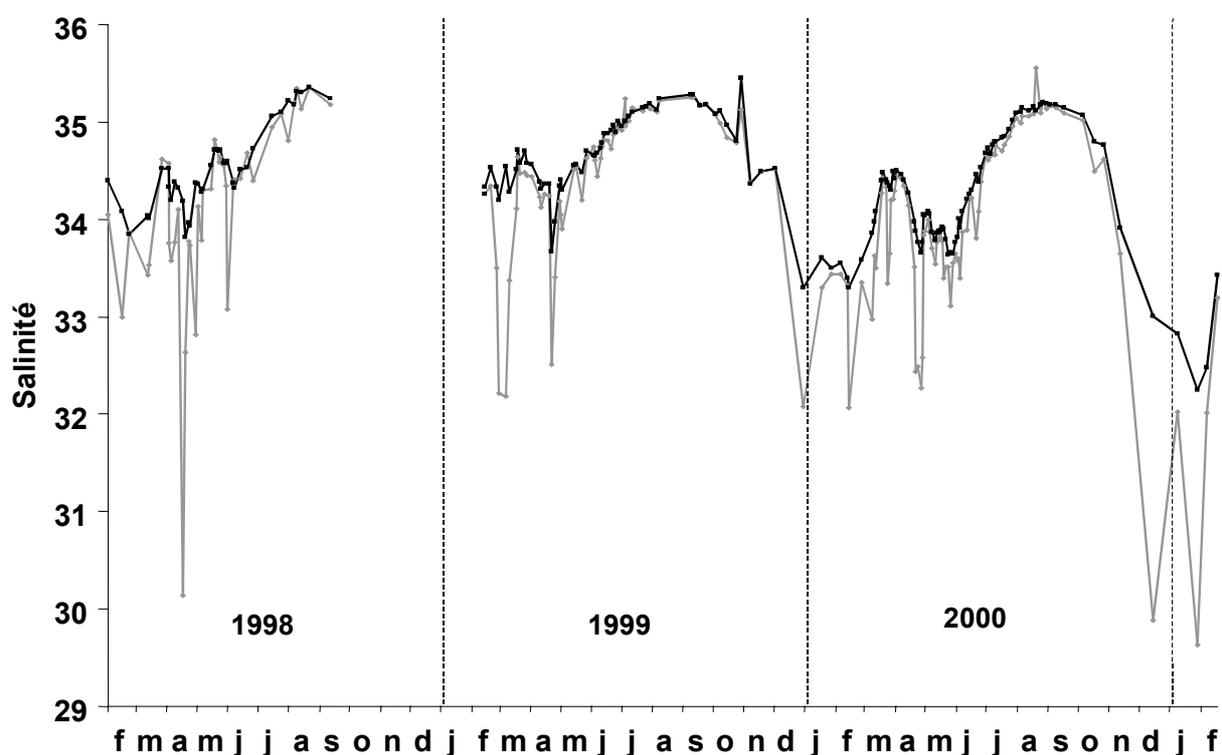


Figure I.9. Variations temporelles de la salinité en surface (courbe grise) et au fond (courbe noire) à Roscanvel en 1998, 1999 et 2000.

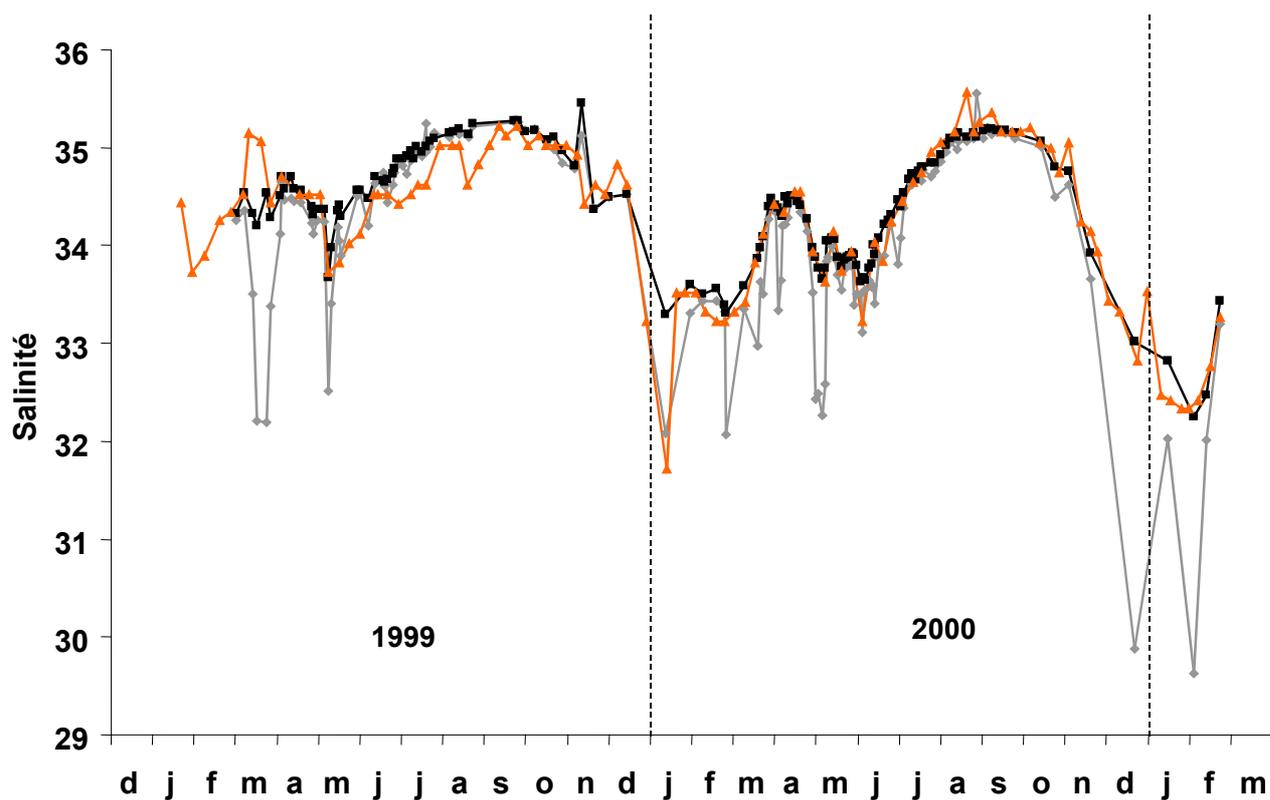


Figure I.10. Variations de la salinité à Sainte-Anne (SOMLIT, surface, courbe orange) et à Roscanvel en surface (courbe grise) et au fond (courbe noire) en 1999 et 2000.

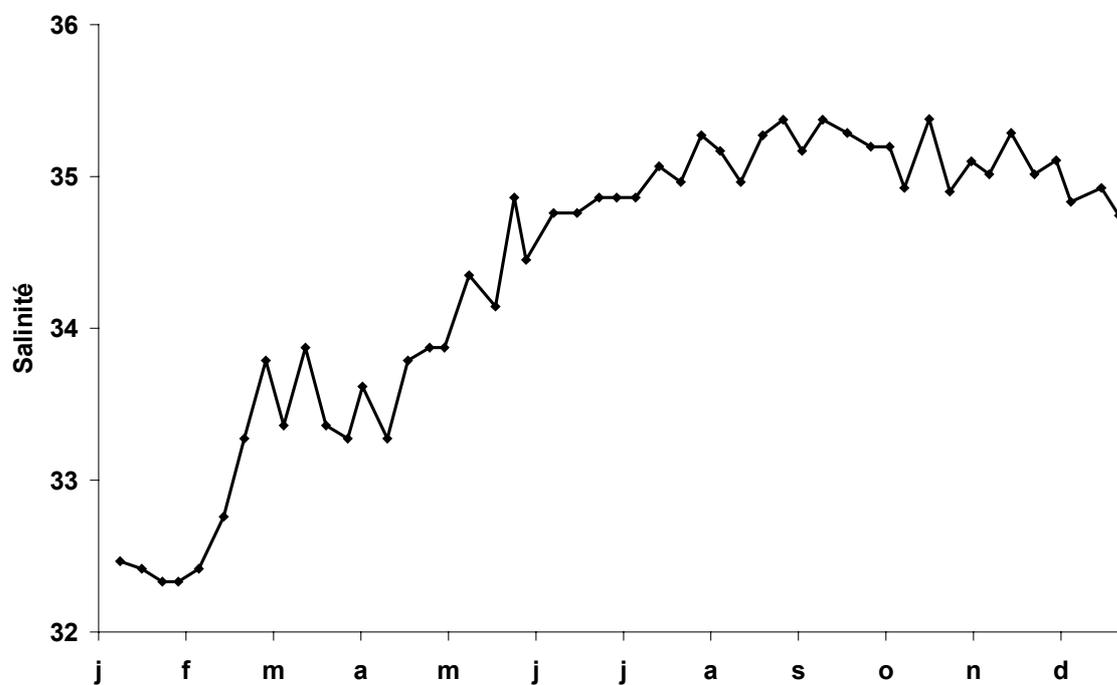


Figure I.11. Variations de salinité à Sainte-Anne en surface et à pleine mer (station SOMLIT) au cours de l'année 2001.

4.2 Matériel biogénique particulaire

4.2.1 Pigments chlorophylliens et floraisons phytoplanctoniques

- Calibration du fluorimètre :

Les mesures fluorimétriques effectuées par sondes autonomes, sont aisément obtenues, autorisant ainsi une multiplication des observations. L'utilisation de ce capteur couplé à une sonde CTD nécessite cependant une calibration systématique avec des données issues des filtres de matière particulaire en suspension.

Les valeurs de concentrations en Chlorophylle *a* estimées par mesure fluorimétrique au laboratoire (non biaisées) sont correctement estimées par les mesures fluorimétriques *in situ* en 1999 (Fig. I.12), et cela pour les mesures de surface et de fond ($R^2 = 0,62$ et $0,86$, respectivement). Des déviations sont cependant visibles en surface ; elles sont probablement dues à l'influence de la lumière. En ce qui concerne l'année 2000, ces déviations sont encore plus marquées illustrant une dérive non négligeable du fluorimètre.

Chauvaud (1998) a mis en évidence, pour les années 1994 et 1995, l'absence de dérive de ce capteur et la fiabilité des mesures fluorimétriques et des concentrations en chlorophylle *a* qui en découlent. D'après ces données, il semble que la déviation du fluorimètre ait été initiée en 1999. Les concentrations de chlorophylle *a* issues des filtres n'étant pas disponibles pour l'année 1998, les valeurs du fluorimètre seront utilisées pour la couche d'eau de fond afin d'appréhender la dynamique phytoplanctonique, tout en sachant que les valeurs absolues de concentrations en chlorophylle *a* sont généralement surestimées.

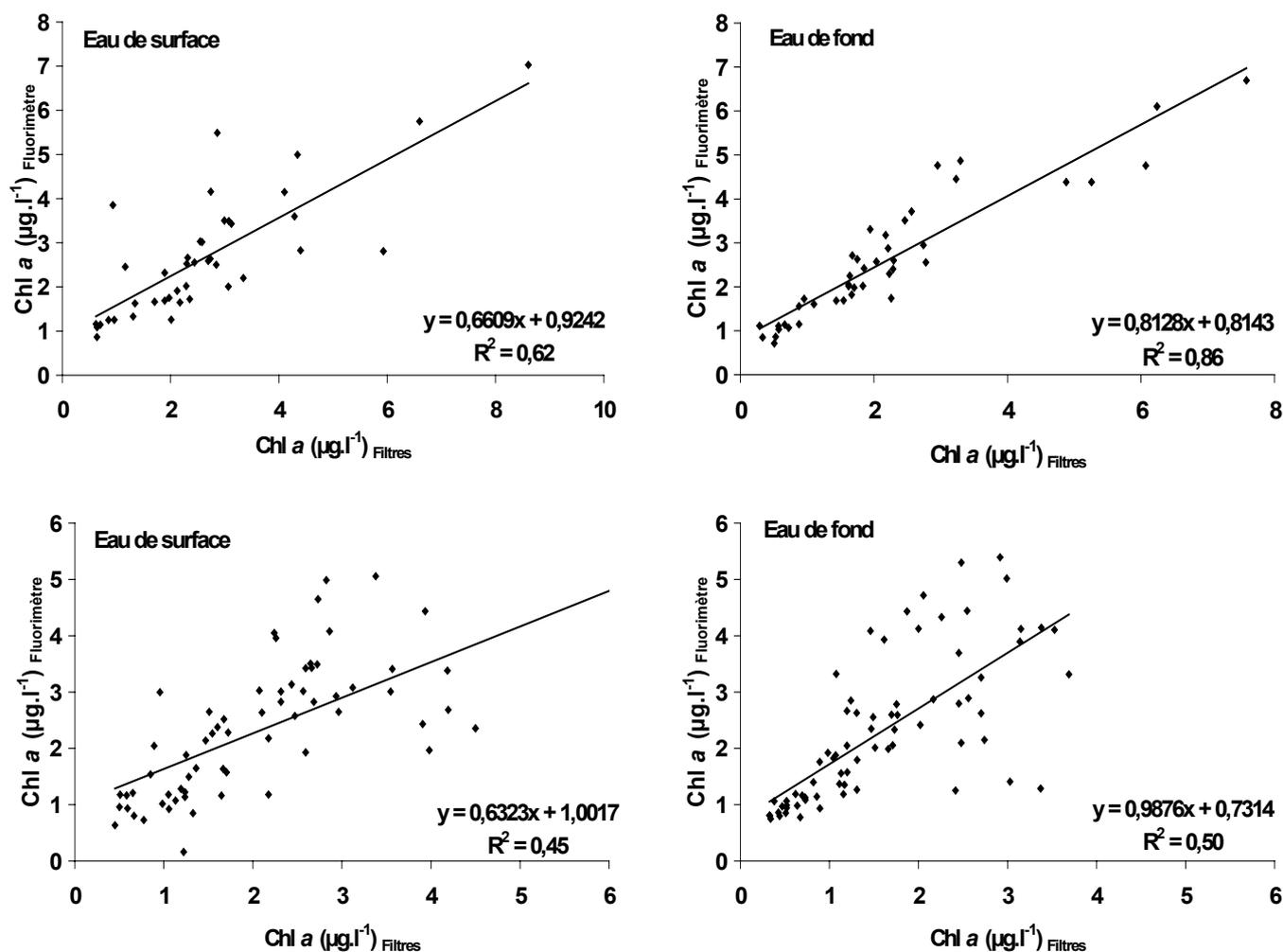


Figure I.12. Relations entre les valeurs de concentration en chlorophylle a ($\mu\text{g.l}^{-1}$) issues des filtrations et celles issues du fluorimètre couplé à la sonde CTD pour la couche d'eau de surface et de fond en 1999 (en haut) et 2000 (schémas du bas).

- Chlorophylle a :

En rade de Brest, la concentration en chlorophylle a présente de très faibles valeurs hivernales ($< 1 \mu\text{g.l}^{-1}$), suivies d'une succession d'efflorescences planctoniques depuis le début du printemps (mi-mars) jusqu'à fin octobre avec des valeurs pouvant atteindre $8,61 \mu\text{g.l}^{-1}$ (le 27 avril 1999, Fig. I.13). (Rq : La valeur de $8,88 \mu\text{g.l}^{-1}$ le 26 mai 1998 ne peut être considérée comme un maximum, les données du fluorimètre ayant tendance à surestimer les concentrations). De manière générale, les concentrations en chlorophylle a sont plus importantes en surface que dans la couche de fond à l'exception le 26 mai 1998 et du 25 avril 2001; les différentes efflorescences sont observées à la fois dans la couche de surface et dans la couche de fond.

Au printemps, la période productive en rade de Brest est généralement constituée de 2 ou 3 principales efflorescences, suivi de floraisons estivales, voire automnales. Les années 1998 et 1999 sont conformes à la moyenne avec un pic d'intensité maximale de chlorophylle *a* courant mai. L'année 2000 se distingue par un nombre particulièrement important d'efflorescences au printemps (5) suivi par trois autres floraisons en été et à l'automne, et l'année 2001 par ses deux blooms d'intensité très élevée au mois d'avril et de mai (Fig. I.13).

- Phéophytine :

La concentration en phéopigments montre une succession de pics simultanés à ceux de la chlorophylle *a* lors des périodes productives (Fig. I.14) avec des intensités très variables et non proportionnelles à la quantité de chlorophylle *a*. Leur évolution est relativement similaire en surface et au fond (Fig. I.15), avec en alternance de plus grandes concentrations soit en surface, soit au fond.

- Composition spécifique :

Les différents blooms sont dominés principalement par des diatomées au printemps (*Chaetoceros sp.*, *Thalassiosira sp.*, *Cerataulina pelagica*, *Rhizosolenia sp.*, *Skeletonema costatum* et *Pseudo-Nitzschia sp.*) et occasionnellement par des cryptophycées (7 mai 1998). Fin mars 2000, une diatomée de grande taille, *Coscinodiscus sp.*, visible à l'œil nu (300µm) dominait l'efflorescence phytoplanctonique. Durant les étés et/ou automnes 1998, 1999 et 2001, un dinoflagellé, *Gymnodinium chlorophorum*, est présent dans les eaux de la rade (Fig. I.16). Les différents comptages, lorsqu'ils sont disponibles, sont représentés dans le tableau I.1.

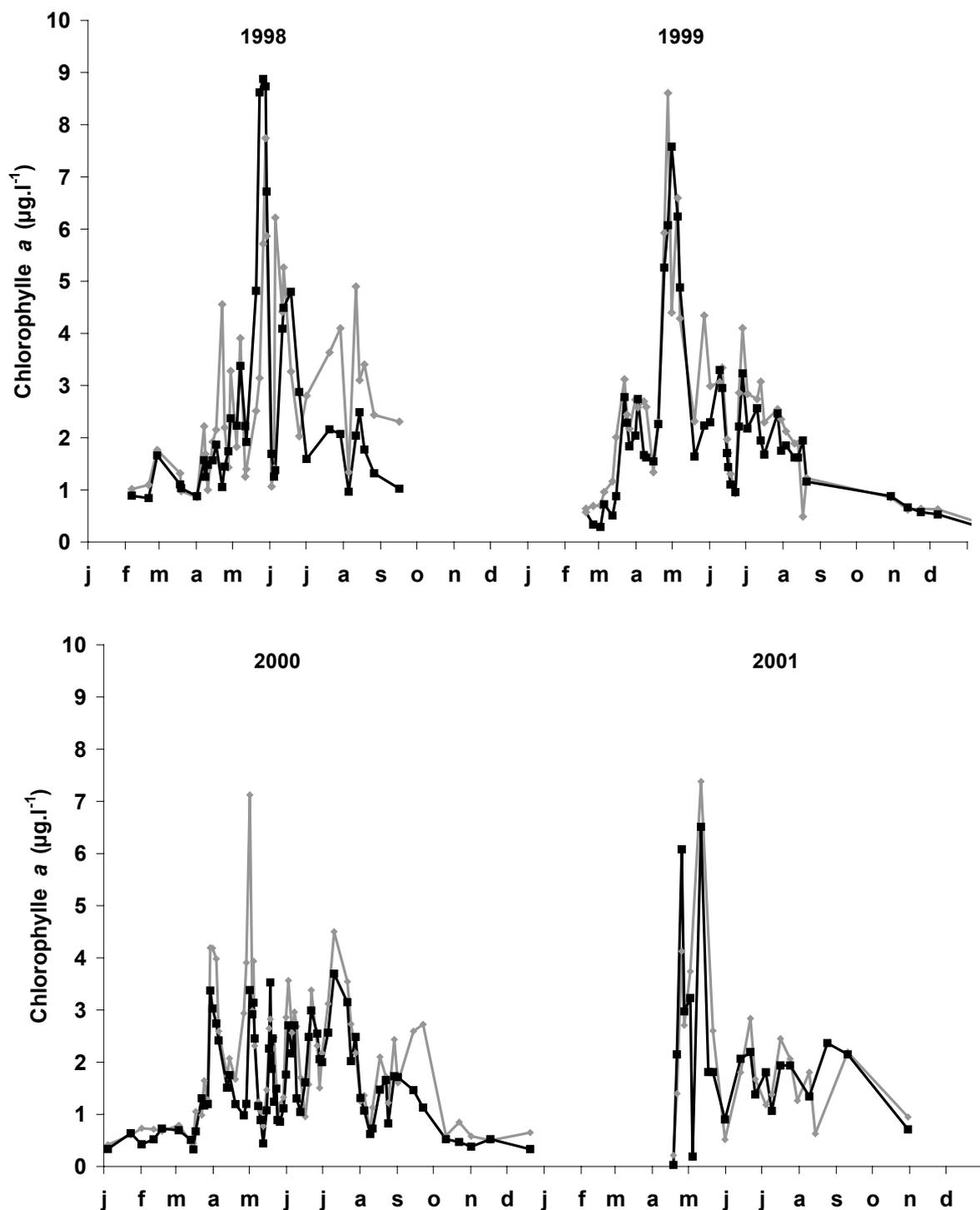


Figure I.13. Evolution des concentrations en chlorophylle *a* ($\mu\text{g.l}^{-1}$) en surface (courbe grise) et au fond (courbe noire) issues des filtrations pour les années 1999, 2000 et 2001, et du fluorimètre couplé à la sonde CTD en 1998.

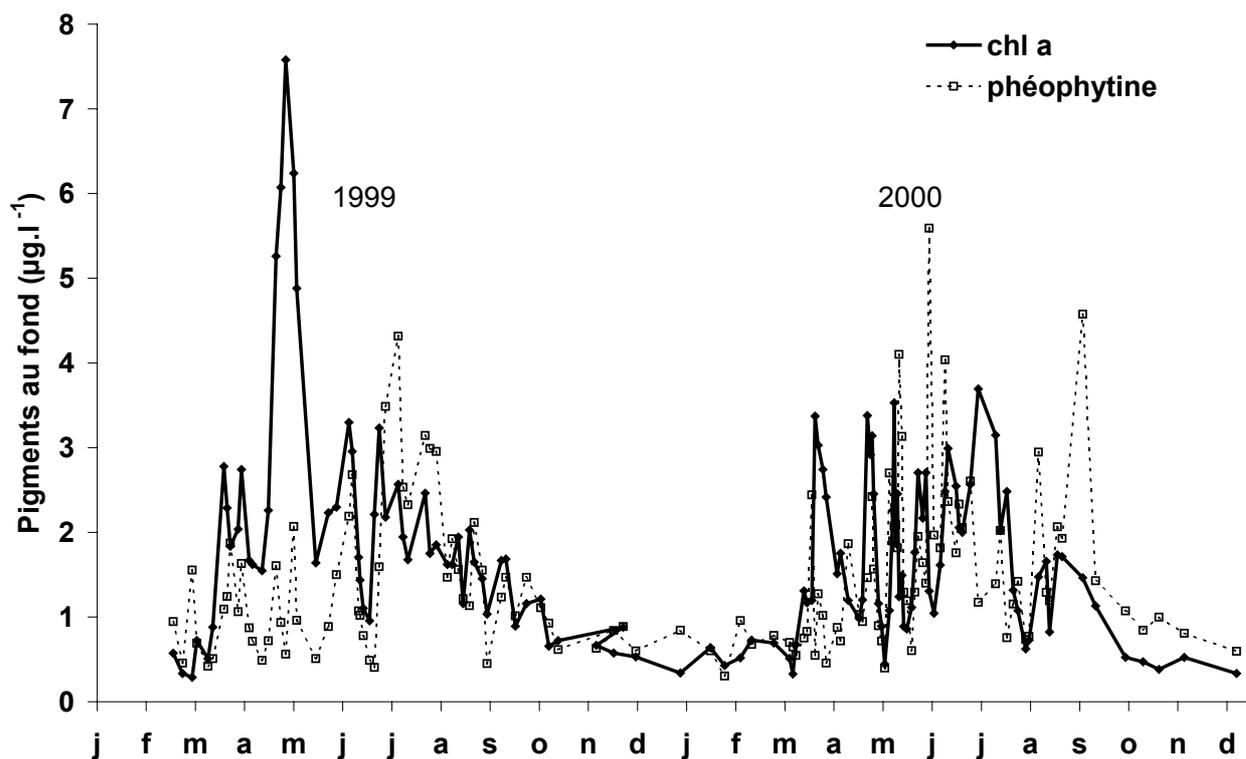


Figure I.14. Evolution des concentrations en chlorophylle *a* (trait plein) et en phéophytine en $\mu\text{g.l}^{-1}$ (pointillés) sur la couche d'eau de fond pour les années 1999 et 2000 à Roscanvel.

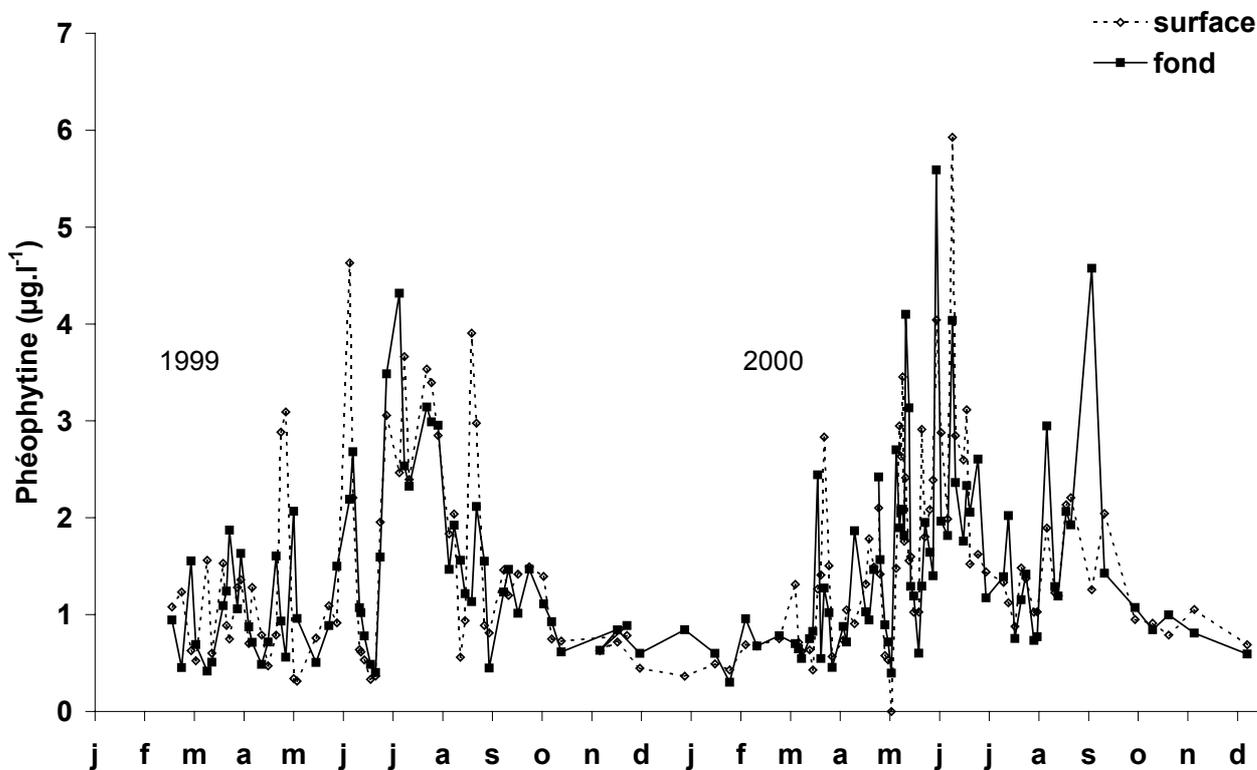


Figure I.15. Evolution des concentrations en phéophytine (en $\mu\text{g.l}^{-1}$) sur la couche d'eau de surface (pointillés) et de fond (trait plein) pour les années 1999 et 2000 à Roscanvel.

Tableau I.1. Nature et abondance des espèces phytoplanctoniques dominant les floraisons successives observées à Roscanvel de 1998 à 2001 (Nézan, com.pers.).

Années	Dates	Lieu	Espèces
1998	26 mai	Lanvéoc	<i>Cerataulina pelagica</i> (730 000 cell.l ⁻¹)
	20 juillet		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> (20 000 cell.l ⁻¹)
	Août		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> 90 400 cell.l ⁻¹ le 17/08 et 136 700 cell.l ⁻¹ le 31/08
	Septembre		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> 506 000 cellules. l ⁻¹ le 14/09 et 216 400 cell.l ⁻¹ le 28/09
1999	2 avril	Roscanvel	<i>Thalassiosira sp.</i> (56% de la microflore totale)
	30 avril		<i>Rhizolenia delicatula</i> (91% de la microflore totale)
	9 juin		<i>Chaetoceros curvistetus</i> et <i>C. debilis</i> (1,5 million cell.l ⁻¹ , 86% de la microflore totale)
	10 Juillet		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> (212 000cell.l ⁻¹) et <i>Karenia mikimotoi</i> (72 7000 cell.l ⁻¹)
	27 Juillet		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> (590 000cell.l ⁻¹)
	20 août		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> (86 400 cell.l ⁻¹)
2000	1 ^{er} mai	Roscanvel	<i>Skeletonema costatum</i> (7,3 million cell.l ⁻¹)
	17 mai		<i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> (577 000 cell.l ⁻¹) et <i>Rhizolenia fragilissima</i> (211 400 cellules.l ⁻¹)
	31 mai		<i>Rhizolenia delicatula</i> (125 000 cell.l ⁻¹)
	19 juin		<i>Chaetoceros curvistetus</i> et <i>C. debilis</i> (1,9 million cell.l ⁻¹)
	10 juillet		<i>Chaetoceros spp.</i> (1,6 million cell.l ⁻¹) avec dominance <i>C. curvistetus+debilis</i>
	29 août		<i>Chaetoceros radians</i> (121 800 cell.l ⁻¹)
	14 septembre		<i>Chaetoceros radians</i> (1,4 million cell.l ⁻¹)
2001	23 avril	Lanvéoc	<i>Skeletonema costatum</i> (1,9 million cell.l ⁻¹)
	15 mai		<i>Rhizolenia delicatula</i> (190 000 cell.l ⁻¹)
	21 mai		<i>Rhizolenia delicatula</i> (514 000 cell.l ⁻¹) et <i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> (334 600 cell.l ⁻¹)
	Juillet		<i>Chaetoceros socialis</i> 864 000 cell.l ⁻¹ le 16/07 960 000 cell.l ⁻¹ le 23/07 1,3 million cell.l ⁻¹ le 30/07
	Août		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> 118 000 cellules.l ⁻¹ le 13/08 251 400 cellules.l ⁻¹ le 20/08 et 970 000 cell.l ⁻¹ le 27/08
	Septembre		<i>Gymnodinium chlorophorum</i> 1,2 million cell.l ⁻¹ le 3/09 700 800 cell.l ⁻¹ le 11/09 244 800 cell.l ⁻¹ le 17/09

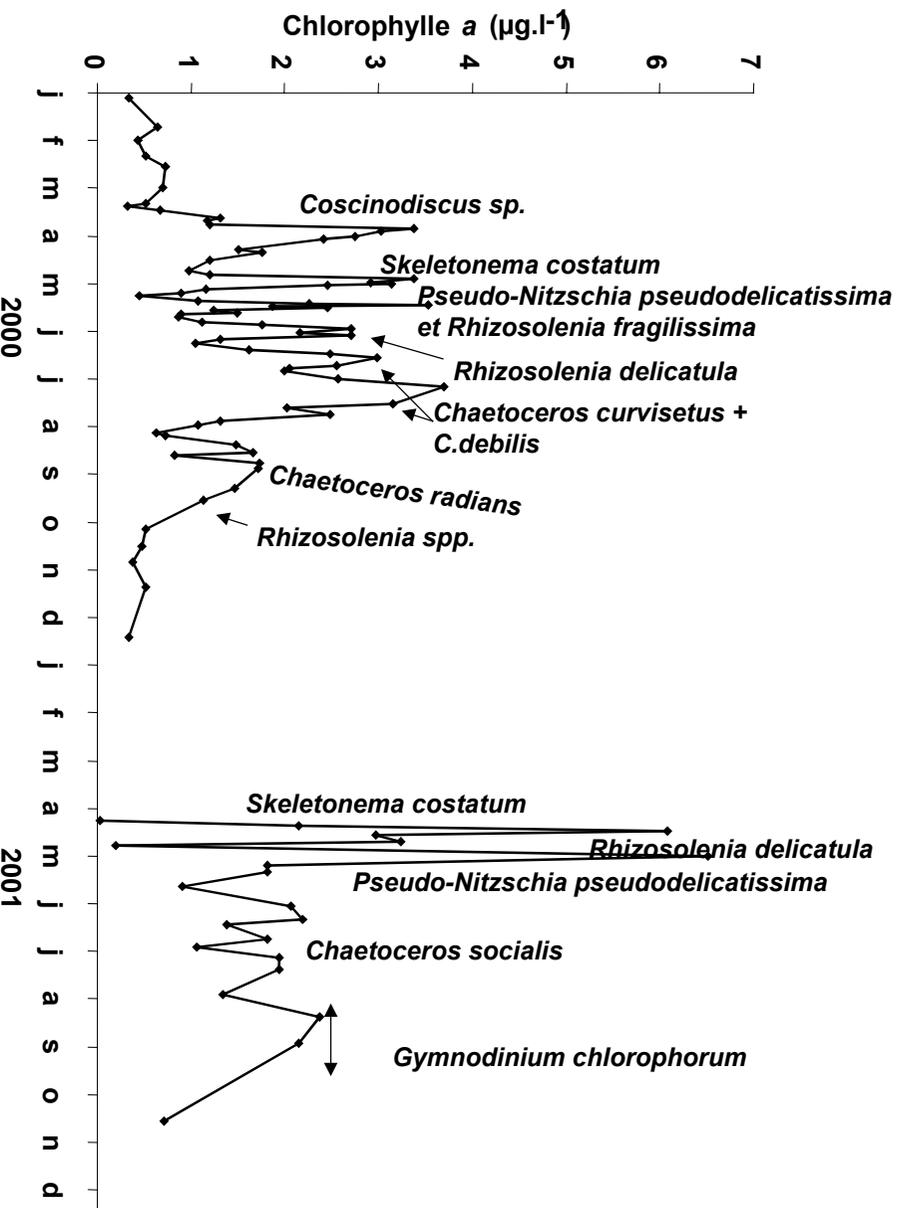
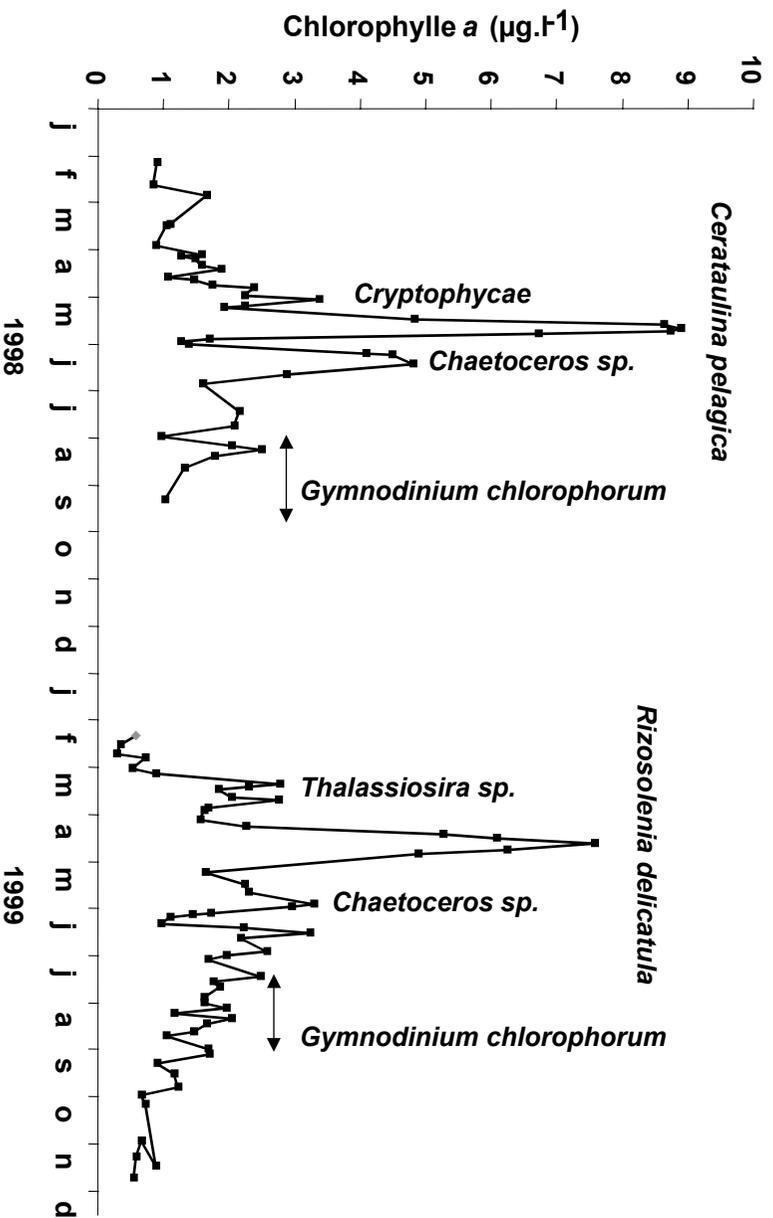


Figure I.16. Composition spécifique des efflorescences d'après E. Nézan et concentration en chlorophylle *a* (en $\mu\text{g.l}^{-1}$) sur la couche d'eau de fond en 1998, 1999, 2000 et 2001 à Roscanvel.

4.2.2 Silice biogénique

L'évolution saisonnière des concentrations en silice biogénique (BSi) en 2000 (Fig. I.17) montre une succession de pics correspondant aux efflorescences majoritaires de l'année 2000 : le 27 mars et le 7 avril (0,6 et 0,9 μM), le 3 mai 2000 (3 μM), le 20 mai (2 μM), toute la deuxième quinzaine de juin (2,7 μM) et à la mi-juillet (1,8 μM). La correspondance des pics de chlorophylle *a* et de BSi confirme la dominance des diatomées (phytoplancton siliceux) sur les communautés phytoplanctoniques durant ces blooms. Les valeurs de BSi sont du même ordre de grandeur en surface et au fond. Toutefois, la silicification des frustules de diatomées étant différente selon les espèces rencontrées et selon leur état physiologique, une corrélation directe ne peut être établie entre les concentrations de BSi et les concentrations en chlorophylle *a*.

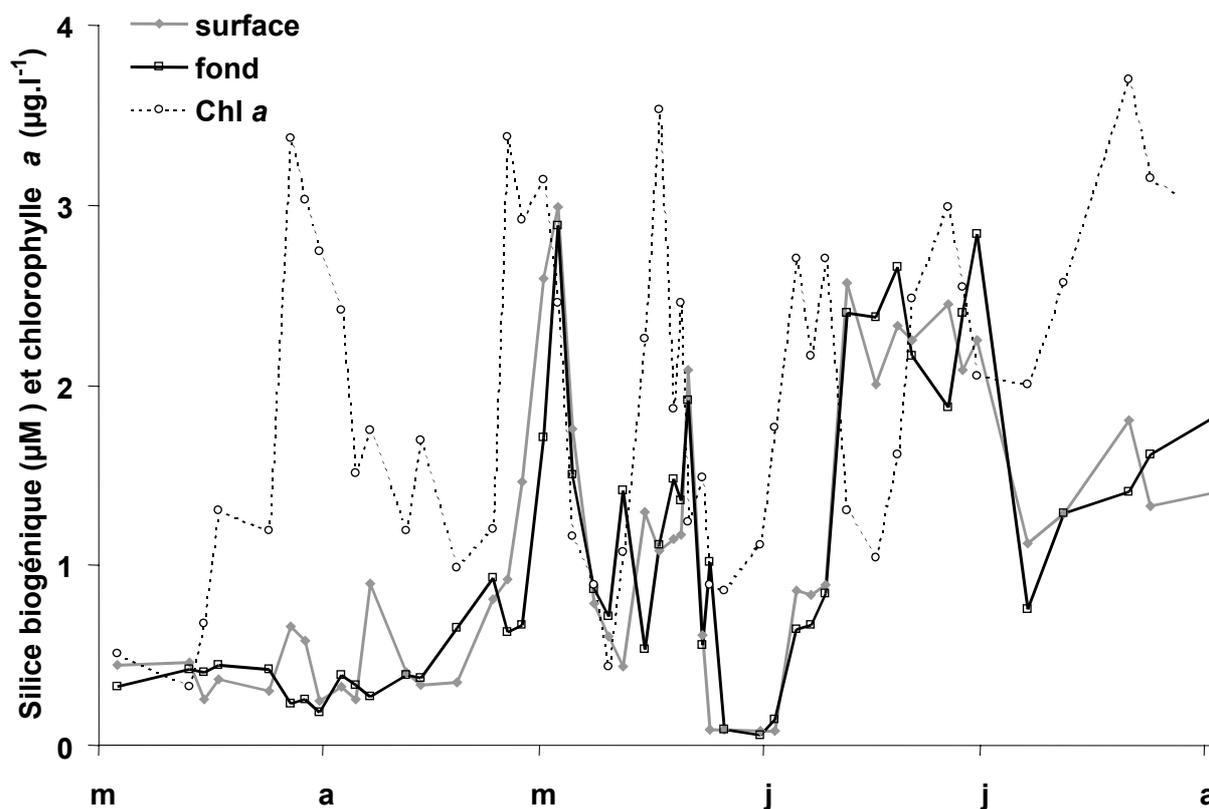


Figure I.17. Evolution saisonnière des concentrations en silice biogénique (μM) dans la couche d'eau de fond et de surface et chlorophylle *a* (fond, $\mu\text{g.l}^{-1}$) à Roscanvel de mars à août 2000.

Le pic de *Coscinodiscus sp.* (31 mars 2000) n'entraîne pas de pic de BSi important, parce que les mesures de BSi sont effectuées sur de l'eau de mer préfiltrée à 200 μm alors que cette espèce peut atteindre 300 μm de diamètre. La majorité de ces algues a été retenue lors de la préfiltration et n'a donc pas contribué aux mesures de silice biogénique.

Au cours de l'année 2001 (Fig. I.18), les pics de chlorophylle sont également synchrones avec les pics de Bsi. Dès le milieu du mois d'août, les concentrations de silice biogénique sont extrêmement faibles ($< 0,7\mu\text{M}$), attestant de la dominance des dinoflagellés à cette période de l'année (Fig. I.16 et tableau I.1).

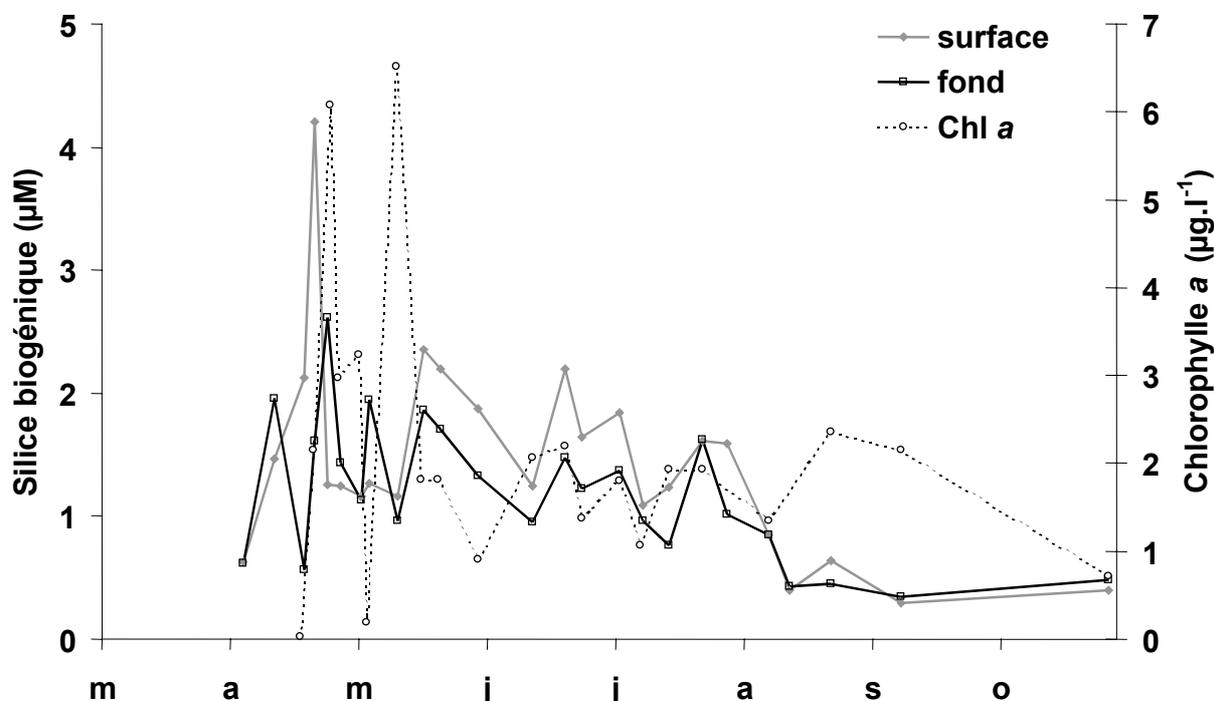


Figure I.18. Evolution saisonnière des concentrations en silice biogénique (μM) dans la couche d'eau de fond et de surface et concentrations en chlorophylle *a* (fond, $\mu\text{g.l}^{-1}$) à Roscanvel d'avril à novembre 2001.

4.3 Effet du cycle de marée sur la température, la salinité et la fluorescence

Les profils de salinité, de température et de fluorescence, réalisés à Roscanvel sur toute la colonne d'eau (coefficient de marée = 86) toutes les heures du 17 mai au 19 mai (sans la nuit du 18 au 19 mai), mettent en évidence une structuration des masses d'eau en relation avec le cycle de marée (Fig. I.19).

Les variations de température et de salinité restent relativement faibles durant un cycle de marée ($0,4^\circ\text{C}$ pour la température et 0,4 pour la salinité). Néanmoins, des maxima de salinité sont nettement visibles à chaque pleine mer et sont synchrones aux minima de température. Ces minima et maxima sont plutôt localisés dans la couche d'eau de fond. Ainsi, ces résultats mettent en évidence une influence des eaux de l'Iroise plus froides et plus salées à cette période de l'année (plus denses), lors du flot, par le fond.

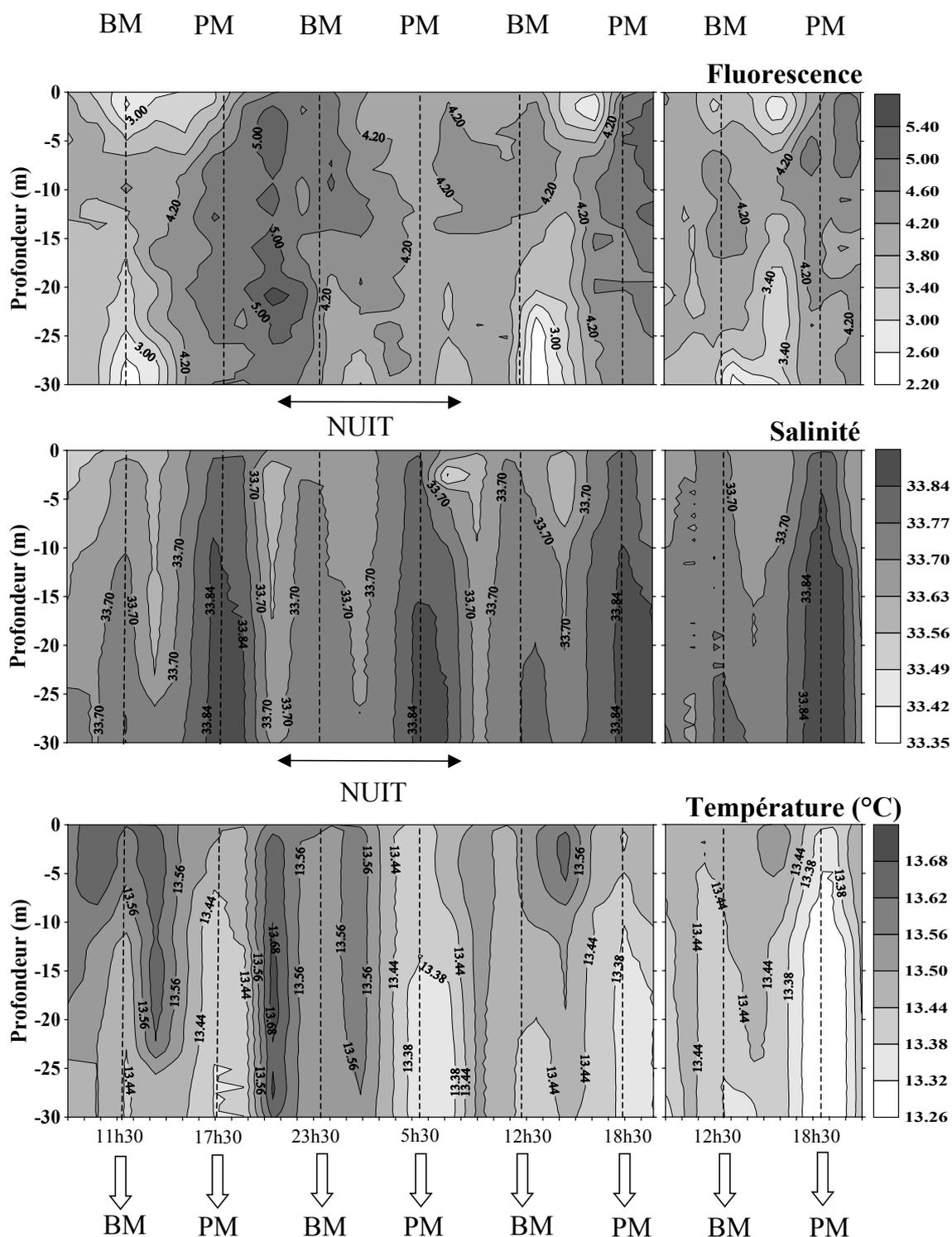


Figure I.19. Evolution au sein de la colonne d'eau (Roscanvel) de la fluorescence, de la salinité et de la température (°C) au cours de plusieurs cycles de marée du 17 mai au 19 mai 2000. PM=Pleine Mer, BM = Basse Mer Les mesures (CTD-Seabird) ont été effectuées par un fort coefficient de marée (86), lors de la troisième efflorescence phytoplanctonique (*Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* et *Rhizosolenia fragilissima*).

A mi-marée, ces tendances sont inversées, laissant place aux minima de salinité et aux maxima de température. A basse mer, on retrouve les mêmes tendances qu'à pleine mer, lors du flot, mais beaucoup moins marquées (plus faibles maxima de salinité et plus faibles minima de température).

Nous n'observons donc pas de système alternatif simple de remplacement des masses d'eau avec l'alternance flot/jusant, puisqu'aux maxima de salinité et aux minima thermiques de la pleine mer correspondent des maxima thermiques et des minima de salinité aux mi-marées (et non pas aux basses mers). Ce décalage pourrait être dû à la complexité de la courantologie en rade de Brest, et à la présence de nombreux vortex dans cette zone (Salomon & Breton, 1991), qui perturberaient le déplacement classique des masses d'eau avec le flot et le jusant.

Ce suivi met également en évidence la représentativité et la validité des mesures à $PM \pm 2$ heures, puisque l'on note une relative constance des caractères de la masse d'eau de $PM-2$ à $PM+2$: ce n'est donc pas un événement ponctuel qui est mesuré lors d'un suivi à $PM \pm 2$. Les caractéristiques de cette masse d'eau dénotent une influence de la mer d'Iroise, mais aussi des eaux côtières (salinité non strictement marine : 33,84).

Les mesures de fluorescence doivent être interprétées avec précaution étant donnée la dérive du capteur, constatée depuis 1999 (§ 3.2.1). Cependant, un cycle apparaît durant le suivi, avec des maxima associés aux masses d'eau les plus dessalées et les plus chaudes, suggérant que ces maxima correspondent à une biomasse produite en rade de Brest.

4.4 Sels nutritifs

Les sels nutritifs n'ont été étudiés sur le site de Roscanvel que pour l'année 2000, ce suivi étant plus généralement effectué à la station SOMLIT (Sainte-Anne du Portzic, Fig.I.2). La comparaison des concentrations en azote total (ammonium, nitrates + nitrites), acide orthosilicique et phosphates peut donc avoir lieu en 2000. Les résultats de la figure I.20 ainsi que les différentes régressions linéaires reliant les concentrations de Roscanvel à celles mesurées à la station SOMLIT ($Si_{Ros} = 1,1758 Si_S - 0,0219$, $R^2 = 0,97$; $P_{Ros} = 1,0793 P_S - 0,0043$, $R^2 = 0,96$ et $N_{Ros} = 1,1051 N_S - 0,4664$, $R^2 = 0,85$; $p < 0,0001$) mettent en évidence une évolution saisonnière parallèle pour les différents sels nutritifs. Cependant les valeurs absolues, et en particulier les rapports Si/N, doivent aussi être comparables pour permettre une interprétation fiable des conditions nutritives à Roscanvel.

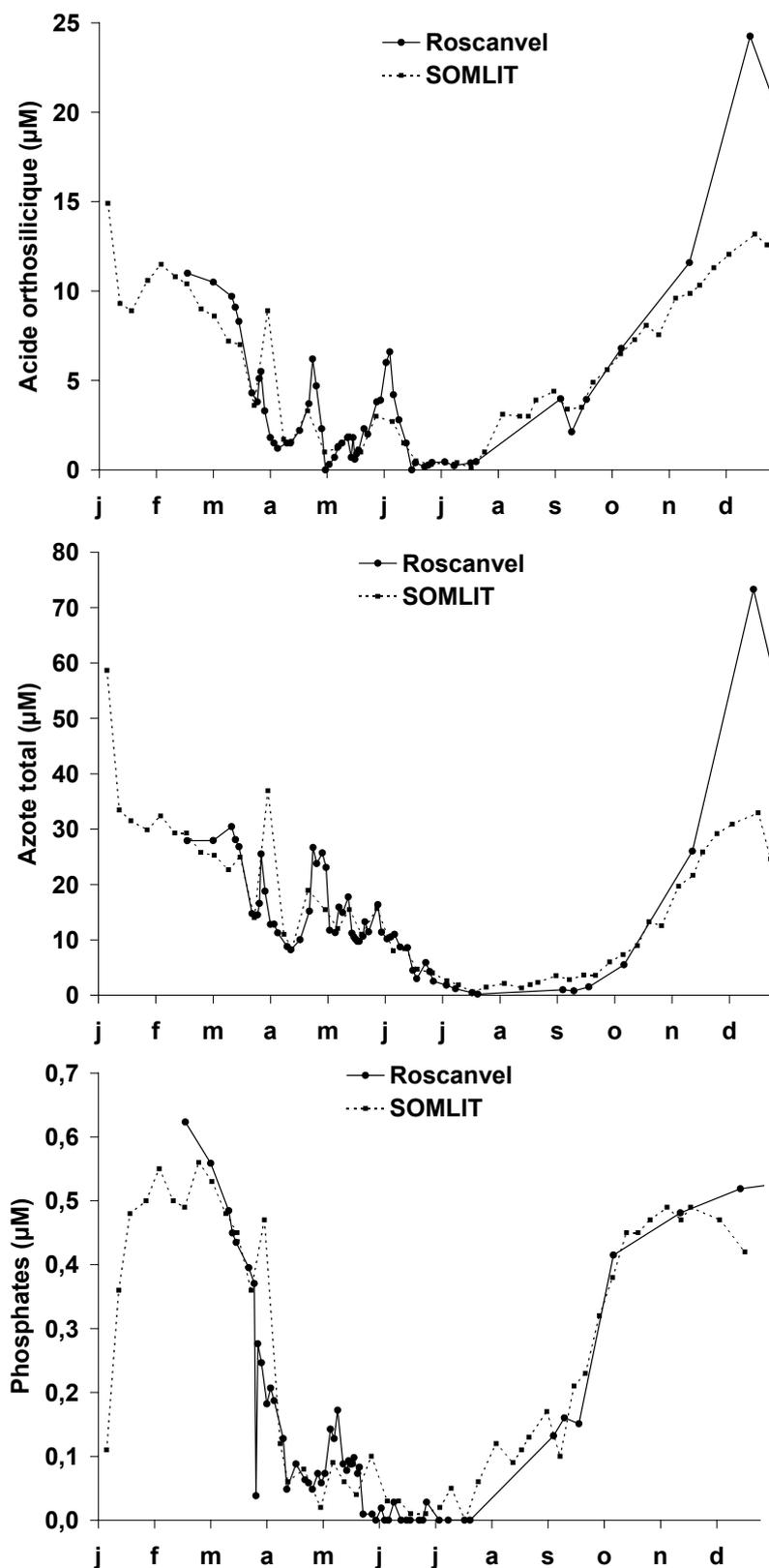


Figure I.20. Evolution saisonnière des concentrations en acide orthosilicique (μM), phosphates (μM) et azote total (μM) en surface à Roscanvel (trait plein) et à la station SOMLIT (pointillé) en 2000.

La régression linéaire entre les rapports Si/N du 18 février au 30 juin (Fig. I.21) où la fréquence d'échantillonnage est comparable, montre qu'il existe une corrélation linéaire forte entre les deux sites ($p < 0,001$), nous autorisant à utiliser les données de la station SOMLIT pour les années 1998, 1999 et 2001.

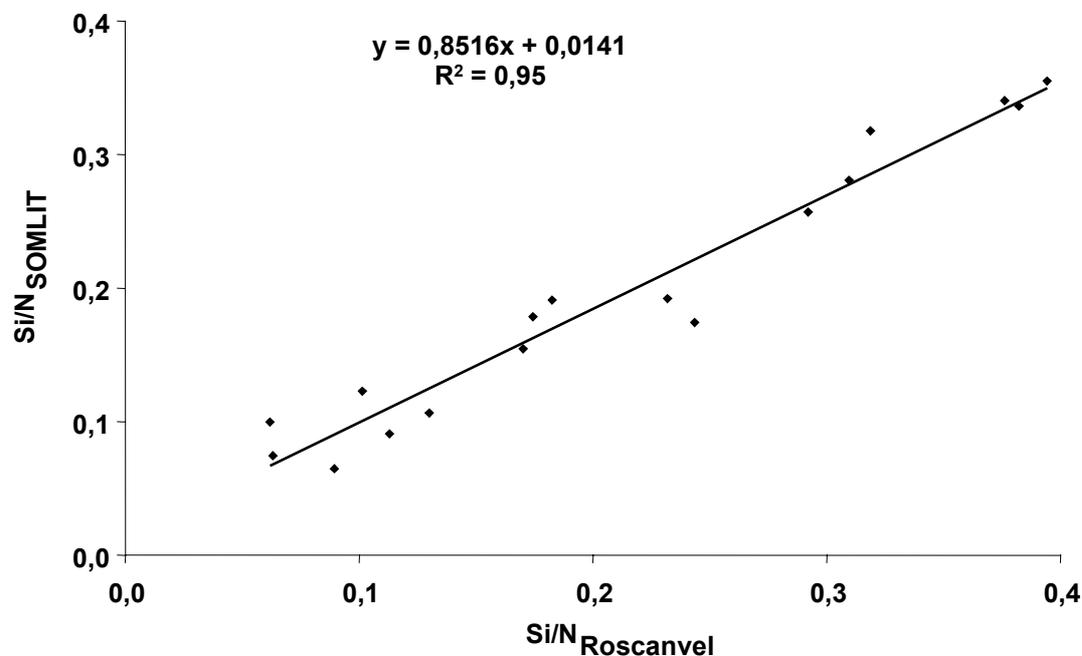


Figure I.21. Relation entre les rapports Si/N à SOMLIT et à Roscanvel de février à juin 2000 (μM), $p < 0,0001$.

Les variations des teneurs en nutriments sont liées à la fois aux processus physiques (bilan des apports d'eau douce et d'eau océanique) et biologiques (consommation par les autotrophes, reminéralisation). Les figures I.22 et I.23 mettent en évidence des variations saisonnières très marquées, avec des concentrations maximales en hiver, pendant la période des forts débits (octobre-mars, § 3.1.1) et des valeurs minimales en été allant jusqu'à début octobre pour l'azote. Les valeurs minimales sont dues à l'action conjuguée des faibles apports par les rivières (faibles débits) et de la croissance phytoplanctonique consommant les nutriments. Des différences notables apparaissent en premier lieu pour les concentrations hivernales en Si(OH)_4 et en azote total. Ces différences sont dues aux variations des débits entre ces différentes années (Fig. I.4), avec une augmentation de l'hiver 1998-1999 à l'hiver 2000-2001, expliquant l'augmentation des teneurs en Si(OH)_4 hivernales. Par contre, en décembre 2001, les débits sont particulièrement faibles, expliquant les faibles concentrations en azote total et Si(OH)_4 . Les forts débits de l'hiver 2000-2001 n'entraînent cependant pas de fortes concentrations en azote total et globalement les concentrations hivernales de phosphates

sont stables en 2000 et 2001 (seules les données de 2000 et 2001 sont disponibles à la Station SOMLIT).

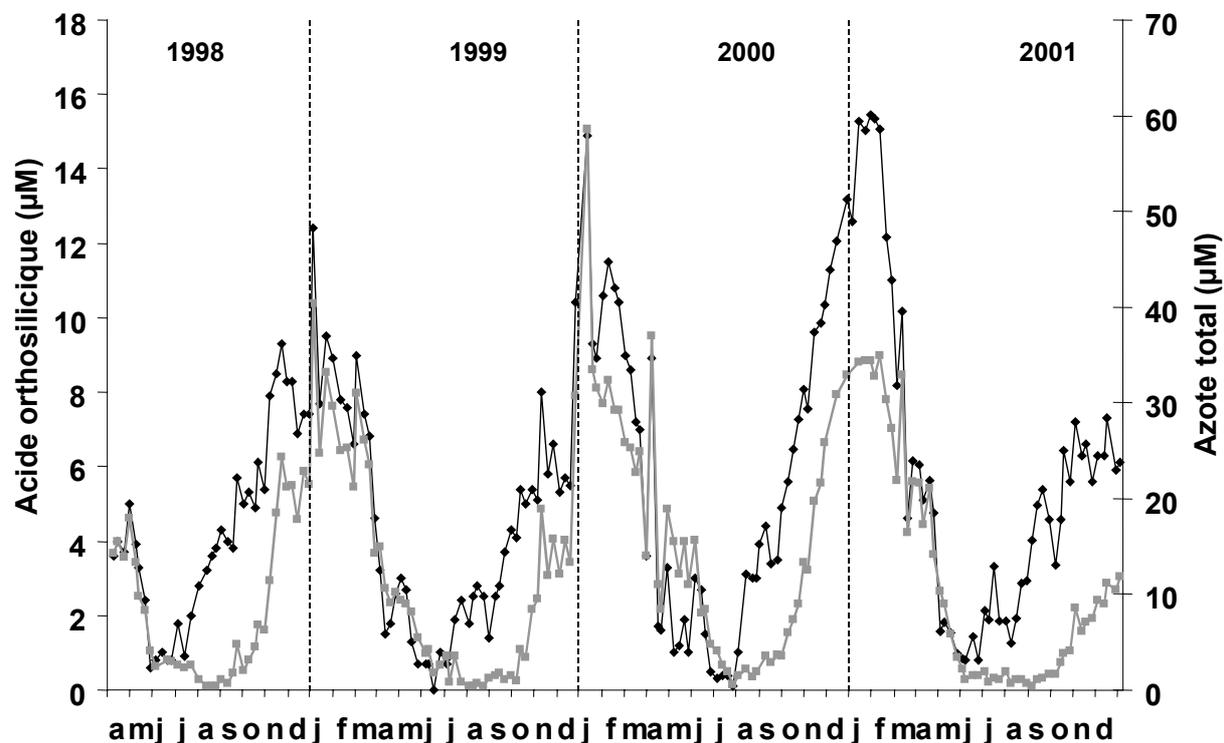


Figure I.22. Evolution saisonnière des concentrations en acide orthosilicique (μM , courbe noire), azote total (μM , courbe grise) de 1998 à 2001 à la station SOMLIT.

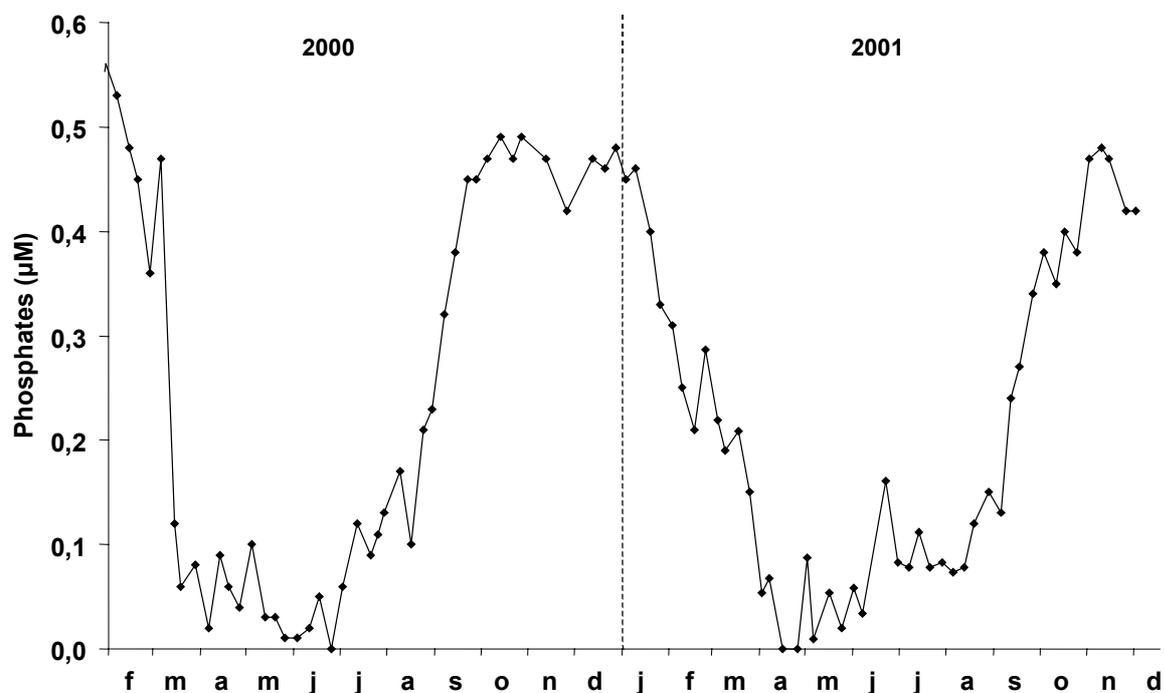


Figure I.23. Evolution saisonnière des concentrations en phosphates (μM) en 2000 et 2001 à la station SOMLIT.

Durant le printemps et l'été, les concentrations en sels nutritifs sont également influencées par les débits, mais aussi par la production primaire et la régénération *in situ* (Del Amo, 1997b). Au mois d'avril et au mois de mai, les débits entraînent encore des apports de sels nutritifs (Fig. I.24 et I.25), mais du mois de juin au mois d'octobre, les apports des fleuves sont minimales. En 2000, des apports en azote et acide orthosilicique sont cependant observés au mois de juillet en réponse à des débits supérieurs aux autres années à cette période (voir §3.1.1, Fig. I.25). Cette année se distingue ainsi par des taux d'azote toujours supérieurs à $10\mu\text{M}$ début juin alors qu'ils sont inférieurs à $4\mu\text{M}$ les autres années, par trois pics successifs de $\text{Si}(\text{OH})_4$ et par des concentrations en phosphates au mois de mai supérieures en 2000 (Fig. I.24).

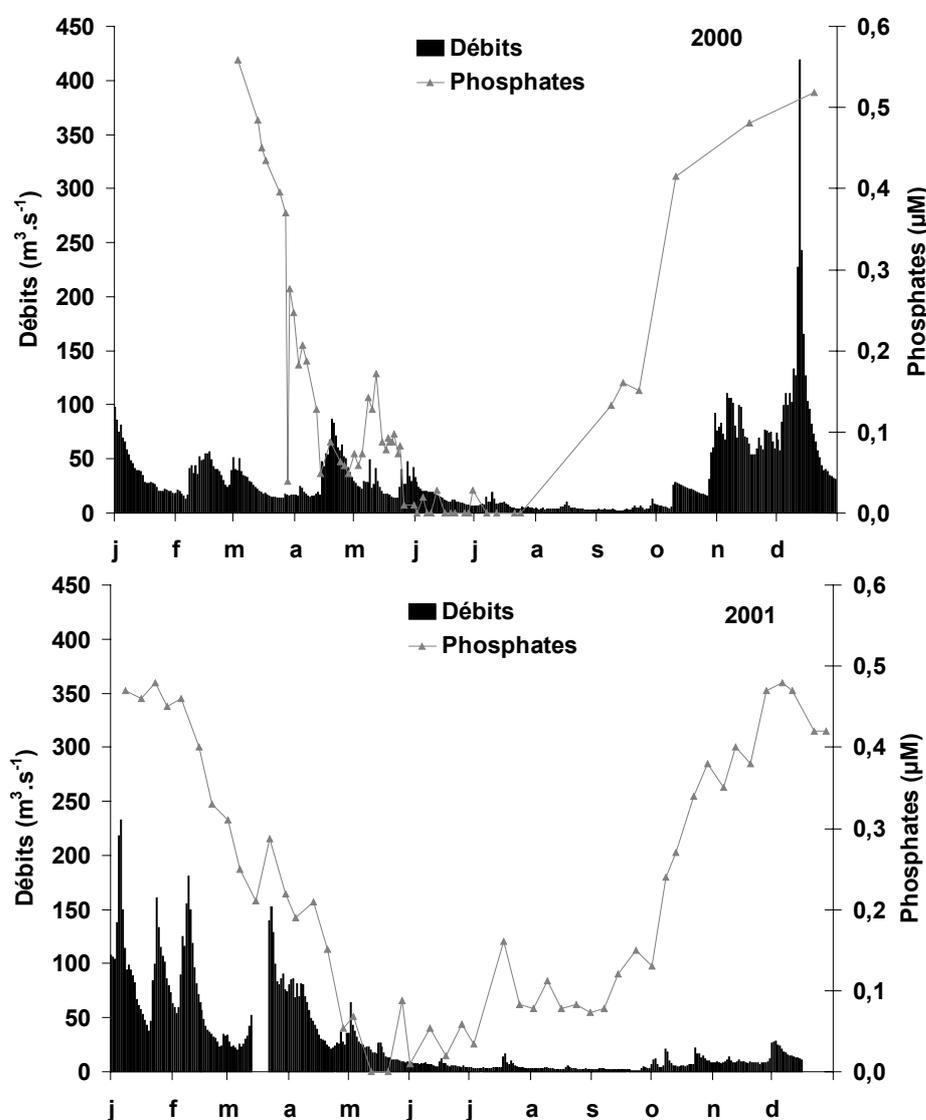


Figure I.24. Evolution saisonnière des concentrations en phosphates (μM) à la station SOMLIT et débits de l'Aulne en $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en 2000 et 2001.

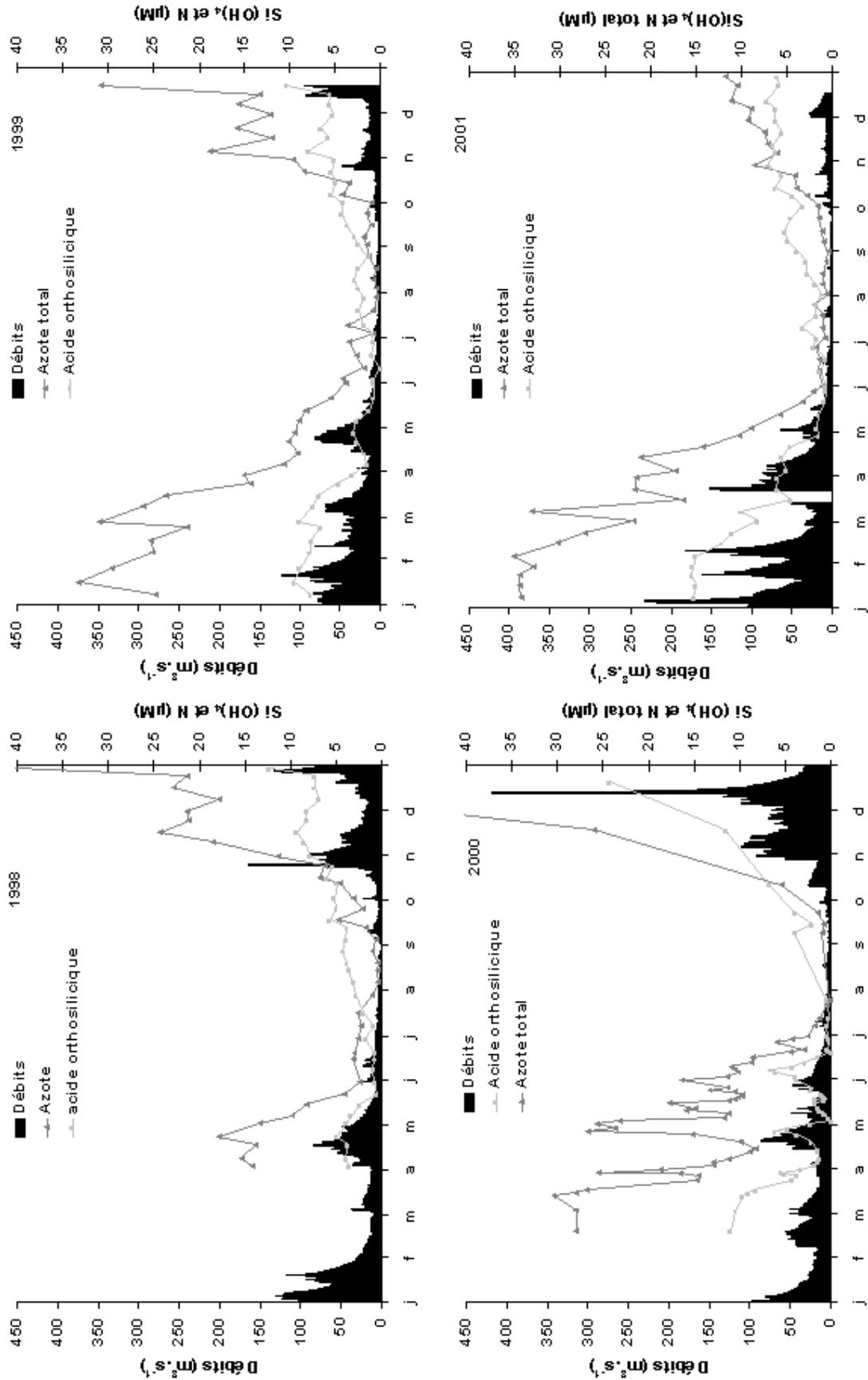


Figure I.25. Variations saisonnières des débits ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) de l'Aubne, et des concentrations en acide orthosilicique et azote total à la station SOMLIT de 1998 à 2001 (μM).

Les valeurs des rapports Si/N sont inférieures à 1, de novembre à janvier pour les quatre années d'étude, et atteignent des valeurs maximales au mois d'août et au mois de septembre (Fig. I.26). Selon Redfield *et al.* (1963), ces faibles rapports (<1) sont potentiellement limitants pour la production d'espèces phytoplanctoniques siliceuse. Ces différentes relations seront étudiées en détail, pour chaque année, au chapitre II-1 en liaison avec les anomalies de croissance coquillière de *Pecten maximus*.

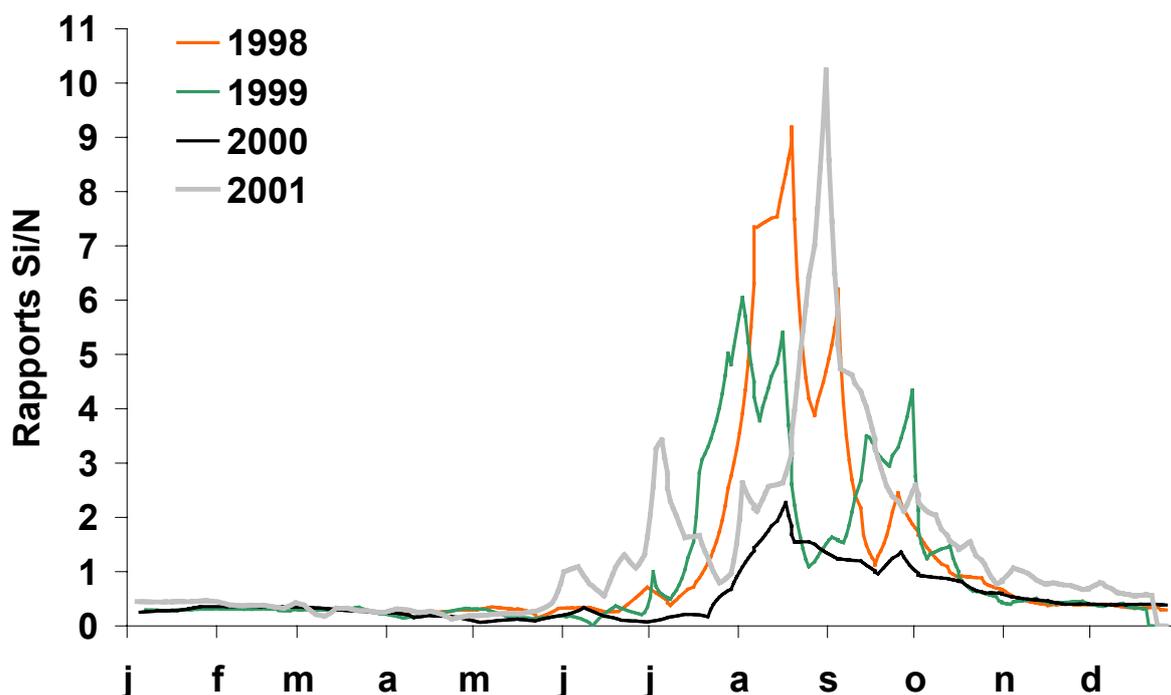


Figure I.26. Evolution saisonnière des rapports Si/N de 1998 à 2001 à la station SOMLIT.

D'après Le Pape *et al.* (1996), les concentrations en azote ont doublé dans l'Aulne depuis 20 ans entraînant une chute des rapports Si/N de 2 à 0,33. Ces rapports Si/N sont une moyenne de la période estivale (période débutant après le premier pic printanier de phytoplancton, quand les concentrations en sels nutritifs chutent, et s'achevant dès les premières crues automnales) et permet d'estimer si les conditions nutritives au cours de la période productive ont changé depuis 1970. Cependant, cette période, fortement influencée par l'activité biologique du phytoplancton, présente des variations des rapports Si/N très importantes (Fig. I.26). Ainsi, afin de définir l'évolution de ce rapport du fait de l'augmentation des apports des bassins versants, un rapport Si/N différent a été calculé (d'après les données de Le Pape, 1996). Il prend en compte la période hivernale (janvier à mars-début avril, avant les premières efflorescences phytoplanctoniques), non dépendante de

l'activité biologique, et où les valeurs sont relativement stables (écart-type inférieur à 0,1). De 1979 à 1983, moins de 8 données sont disponibles pour établir cette moyenne, et sont donc moins fiables, même si ces valeurs correspondent à la période de stabilité recherchée. Pour l'azote inorganique, une mesure des nitrates et des nitrites a été utilisée, les données d'ammonium n'étant pas disponibles sur toute la période d'étude.

Ces résultats (Fig. I.27) montrent que les rapports Si/N en rade de Brest ont diminué d'un facteur 2 de 1975 à 1993, de 0,5 à 0,24. Cette diminution, si on considère les données de 1998 à 2001, semble se stabiliser depuis 1983, avec des valeurs autour de 0,3 et même 0,39 en 2001.

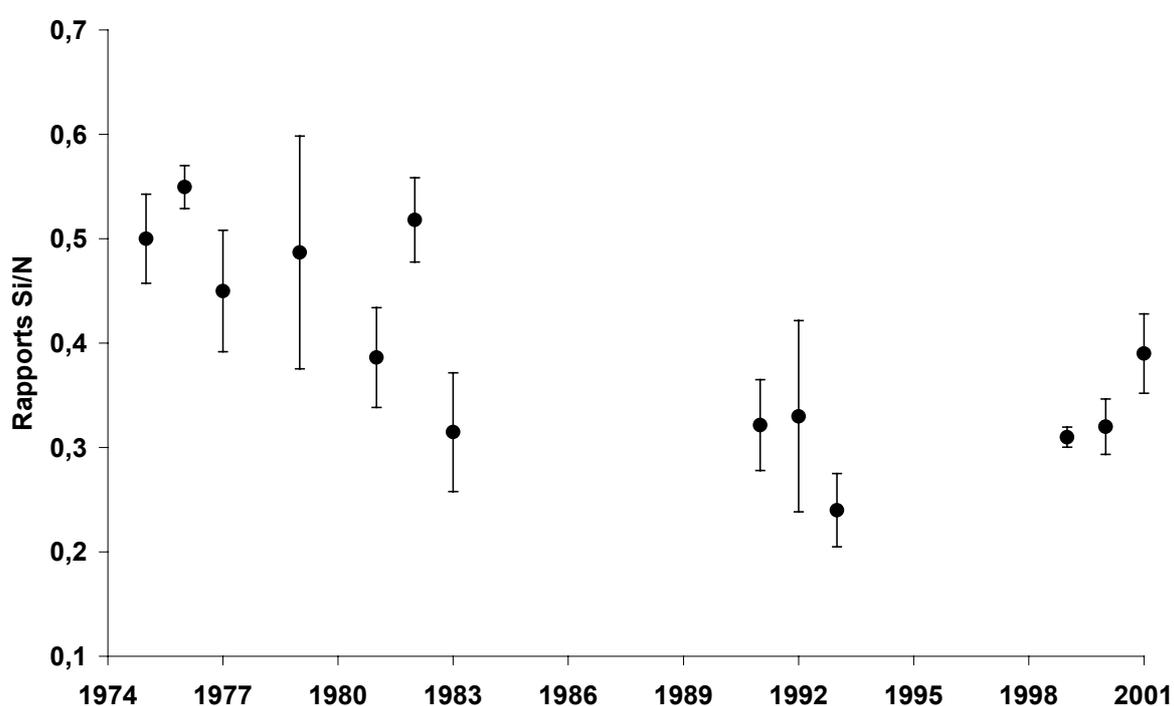


Figure I.27. Evolution temporelle des rapports Si/N (N = nitrates + nitrites) en rade de Brest (moyenne hivernale) de 1975 à 2001.

5. Conclusion

La quasi-totalité des paramètres environnementaux mesurés de 1998 à 2001 oscille dans la gamme de variation classiquement rencontrée en rade de Brest. Néanmoins, les fortes précipitations de l'hiver 2000-2001 ont entraîné des débits particulièrement élevés dans l'Aulne, avec des valeurs records depuis vingt ans ($419 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en décembre 2000) ainsi que de fortes dessalures aussi bien en surface (29,4) qu'au fond de la colonne d'eau (32,6) à Roscanvel. La température est restée, pendant toute la période d'étude, dans la gamme de variation classiquement rencontrée en rade de Brest ($6^\circ\text{C} - 18^\circ\text{C}$, Quéguiner, 1982 ; Daniel, 1995 ; Del Amo, 1996 ; Chauvaud, 1998). Les années 1999 et 2001 présentent globalement des températures plus élevées que la moyenne des trente dernières années. L'année 2000 présente des températures plus basses que les normales saisonnières, du mois d'avril au mois d'août.

En 1998, 1999 et 2001, tout comme en 1995, des proliférations de dinoflagellés, du genre *Gymnodinium* sont apparues en période estivale et ont dominé la production primaire de début août à octobre. L'année 2000 se caractérise par la dominance des diatomées pendant toute la période productive. La dominance des dinoflagellés en période estivale présente un caractère fortement atypique selon les résultats de Del Amo *et al.* (1997b), les diatomées restant normalement dominantes durant l'ensemble des floraisons.

De plus, cette année 2000 se distingue par le nombre élevé de ces efflorescences (8), en particulier au printemps (5). Le maximum annuel rencontré était de 6 efflorescences (Del Amo, 1996 ; Chauvaud, 1998). De plus, contrairement aux années 1993, 1998, 1999 et 2001 où un pic de chlorophylle se détachait au mois de mai, aucune floraison principale ne se distingue au printemps dans la couche de fond (un pic à $7 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ est cependant visible le 1^{er} mai en surface). Toutes les efflorescences printanières et estivales de l'année 2000 présentent donc des intensités similaires et relativement faibles (autour de $3 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$).

Enfin, concernant les variations en sels nutritifs, l'année 2000 se distingue une nouvelle fois, avec des concentrations particulièrement élevées aux mois de mai et de juin et liées aux débits des fleuves supérieurs aux moyennes mensuelles des autres années du suivi.

PARTIE II. REPONSES BIOLOGIQUES DE
***PECTEN MAXIMUS* AUX FLUCTUATIONS**
ENVIRONNEMENTALES

INTRODUCTION GENERALE

Les écosystèmes côtiers sont sujets à une grande variabilité temporelle environnementale. En conséquence, la biologie des organismes marins qui les habitent, présente de fortes fluctuations saisonnières se répercutant sur leur croissance et leur reproduction. Les suspensivores benthiques, espèces poïkilothermes et majoritairement sessiles, sont particulièrement sensibles aux variations locales des facteurs physiques et chimiques de la masse d'eau environnante. De par leur mode alimentaire et leur sédentarité, la nature et l'abondance des sources trophiques revêt un caractère crucial pour ces espèces. La dépendance de ces organismes vis à vis de la variabilité spatio-temporelle des ressources de la colonne d'eau en font, entre autres, d'excellents témoins du couplage pelagos-benthos dans les écosystèmes côtiers (Cloern, 1982 ; Chauvaud *et al.*, 2000 ; Coma *et al.*, 2000). Ainsi l'étude des réponses biologiques de ces organismes, appréhendées à une échelle saisonnière, permet de mettre en évidence des adaptations physiologiques face à ces fluctuations relativement imprévisibles et en conséquence de retracer les conditions environnementales rencontrées par l'animal.

Dans ce chapitre, deux volets des réponses d'un organisme aux fluctuations de l'environnement côtier seront traités. En premier lieu, les variations de croissance coquillière journalière des juvéniles de *P. maximus* seront étudiées en relation avec les variables environnementales, en particulier la qualité des efflorescences phytoplanctoniques (II-1). Ensuite, les sources potentielles de nourriture et les réponses en terme d'acquisition et d'allocation d'énergie de la coquille Saint-Jacques, qui sont en rapport direct avec la saisonnalité des paramètres environnementaux, seront abordées (II.2) par l'étude des rapports des isotopes stables dans les différents tissus de *P. maximus* ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$).

Chapitre 1. Anomalies de croissance coquillière : mise en évidence de variations qualitatives du phytoplancton

1.1 Introduction

Les squelettes carbonatés de nombreux organismes aquatiques, et en particulier ceux des mollusques bivalves, de par le caractère rythmique de leur dépôt coquillier, procurent i) un enregistrement plus ou moins continu des conditions environnementales, ii) la possibilité de placer, sur une base calendaire, un événement ponctuel de croissance. A ce titre, la coquille et l'ensemble des structures périodiques qui la compose (les stries), livrent simultanément la base chronologique indispensable et la matière calcitique permettant de retracer les conditions rencontrées par ces organismes au cours de leur vie.

La formation de ces stries est déterminée par l'interaction de mécanismes physiologiques et biochimiques qui ont pour sièges principaux le manteau et le fluide extrapalléal (Wilbur & Saleuddin, 1983 ; Wheeler, 1992), et sont sous l'influence des facteurs environnementaux. Ainsi, diverses périodicités sont susceptibles d'agir sur les processus d'accrétion : annuelles avec les saisons, mensuelles avec le cycle lunaire, journalières avec le cycle jour/nuit ou subjournalières avec l'alternance émergence/immersion due aux marées pour les espèces intertidales (Schein *et al.*, 1991). Les anneaux macroscopiques visibles à la surface externe des coquilles matérialisent généralement des périodes annuelles de ralentissement ou de cessation de croissance, associés aux mois les plus froids (hiver) ou les plus chauds (été) de l'année selon la latitude (Jones & Quitmyer, 1996 ; Richardson, 2001). Traditionnellement, le dénombrement de ces anneaux majeurs, visibles à l'œil nu chez de nombreuses espèces, permet d'estimer l'âge des bivalves. La généralisation de cette technique est cependant limitée par la présence de marques de croissance surnuméraires souvent difficiles à différencier des marques annuelles (Jones, 1983) et dues à des perturbations ponctuelles, telles que les tempêtes, les pollutions anthropiques ou selon certains auteurs aux phases de ponte (Richardson, 2001).

La mise en évidence de rythmes sub-annuels, plus délicate, se fait par l'analyse des microstructures sur des sections de coquilles ou directement sur la surface externe des valves chez les Pectinidés. L'étude quantitative de ces microstructures, appelées communément

stries ou lamelles, est réalisable sous la loupe binoculaire, par la mesure des distances inter-stries ou simplement par leur dénombrement. Des méthodes de capture-recapture couplées ou non à des expériences de marquage, permettent de mettre en relation le nombre de stries formées avec le temps écoulé entre deux captures. Diverses études ont ainsi permis d'identifier des rythmes lunaires chez *P. maximus* (Chiési *et al.*, 1995) et des rythmes de croissance journaliers chez de nombreux Pectinidés aux stades de post-larves chez *Placopecten magellanicus* (Parsons *et al.*, 1993), de juvéniles chez *Amusium balloti* (Joll, 1988), *Pecten maximus* (Antoine, 1979 ; Chauvaud, 1998) et *Argopecten irradians* (Helm & Malouf, 1983) et adultes chez *Chlamys opercularis* (Broom & Mason, 1978) et *Pecten diegensis* (Clark, 1968, 1974a, b).

Toute modification du métabolisme, par des facteurs externes ou internes, est susceptible d'entraîner des irrégularités de croissance. L'analyse des distances inter-stries permet de mettre en évidence ces irrégularités, et la connaissance de la périodicité de formation de ces stries fournit de précieux renseignements sur la date d'occurrence des perturbations ayant affecté le bivalve. C'est pourquoi les structures calcifiées constituent des indicateurs biologiques sensibles, pouvant refléter les perturbations physiologiques de l'individu dans un environnement fluctuant.

Chez la coquille Saint-Jacques, *Pecten maximus*, le caractère journalier du dépôt des stries de croissance a été démontré chez les juvéniles mais aussi chez les adultes en rade de Brest (Chauvaud *et al.*, 1998) et au sein de deux fjords Norvégiens (Chauvaud & Strand, 1999). Certains auteurs affirment cependant que la périodicité de formation des stries n'est pas journalière pour cette espèce (Gruffydd, 1981) ou qu'elle n'est effective que pendant les mois d'été (Gruffydd, 1981 ; Owen *et al.*, 2002). Cependant, ces derniers auteurs se basent sur des expériences en milieu contrôlé ou semi-naturel, dans des conditions de stress non négligeables pour les coquilles Saint-Jacques. Gruffydd (1981) travaille avec des juvéniles produits et maintenus au laboratoire en conditions artificielles, et Owen (2002) maintient des juvéniles de moins d'un an dans des cages suspendues sous des pontons à un mètre sous la surface. Or, nos propres expériences sur des juvéniles montrent que la périodicité journalière n'est pas conservée en conditions expérimentales, les coquilles Saint-Jacques étant particulièrement sensibles au stress des manipulations (Lorrain, 1999).

De plus, Owen (2002) se base sur une détermination de la croissance et du nombre de stries déposées après un mois d'expérience. Ainsi, en période hivernale, cet auteur met en

évidence un faible taux de croissance associé à un faible nombre de stries. Il conclut que le rythme de dépôt n'est journalier qu'au-dessus d'un certain seuil de croissance, non atteint en période hivernale. Or, Chauvaud *et al.* (1998) démontrent qu'un arrêt de croissance a lieu pendant les mois d'hiver en rade de Brest. Cet arrêt hivernal, semble expliquer le fait que pendant les expériences hivernales d'Owen (2002), très peu de stries soient formées. Leurs résultats, selon nous, illustrent cette cessation de croissance et ne permettent pas de réfuter l'hypothèse d'une croissance journalière.

Selon le raisonnement de Clark (1968), si un rythme de croissance existe, toutes les coquilles subissant les mêmes conditions environnementales doivent produire le même nombre de stries. En rade Brest, l'analyse détaillée de la croissance de *P. maximus*, malgré une variabilité interindividuelle évidente (variabilité du taux et du nombre de jours de croissance), permet de décrire un cycle annuel de croissance journalière, similaire chez tous les juvéniles de cette population (Classe I, coquilles présentant un seul anneau de croissance visible sur la face externe). La croissance débute fin mars - début avril, avec un maximum estival ($250 \mu\text{m.j}^{-1}$), une décroissance automnale et un arrêt de croissance de novembre - décembre à fin mars. De même, malgré une variabilité de la réponse face aux diverses perturbations environnementales (ralentissements plus ou moins importants), les ralentissements de croissance sont synchrones entre les différents individus de *P. maximus*.

Les principaux facteurs contrôlant la croissance des bivalves sont la température et la disponibilité en nourriture (Broom & Mason, 1978). Cependant, contrairement aux idées générales, la disponibilité en nourriture n'est pas le facteur primordial pour expliquer les variations de croissance des coquilles Saint-Jacques en rade de Brest (Chauvaud *et al.*, 1998). Au contraire, ces auteurs montrent qu'en 1995, de fortes teneurs en chlorophylle *a* dans l'eau de fond, associées à des efflorescences de diatomées ou de dinoflagellés, se traduisent par des ralentissements de croissance au printemps et en été. Si l'impact des efflorescences de dinoflagellés toxiques, comme *Gymnodinium cf. nagasakiense* (nouveau nom = *Karenia mikimotoi*), sur la croissance des coquilles Saint-Jacques en 1995, est facilement explicable, celui d'une espèce de diatomées telle que *Rhizosolenia delicatula* l'est beaucoup moins. L'hypothèse d'une sédimentation massive de ces diatomées, consécutive à la formation d'agrégats, lors d'une limitation par la silice, est avancée (observation récurrente de ces agrégats en plongée, Chauvaud *et al.*, 1998). Ces agrégats, entourés d'une matrice gélatineuse, entraîneraient alors le colmatage des branchies de la coquille Saint-Jacques, et provoqueraient des arrêts ou des ralentissements de l'activité alimentaire et/ou de la

respiration, se répercutant ensuite sur la croissance. Les mesures d'acide orthosilicique n'étaient pas disponibles en 1995, empêchant la vérification de cette hypothèse.

Ainsi, l'objectif de cette étude est de vérifier dans un premier temps que le phytoplancton, ressource trophique potentielle de *P. maximus*, est bien susceptible d'affecter, de façon négative, la biologie d'un suspensivore benthique en milieu côtier, et dans un deuxième temps, de mettre en relation la dynamique phytoplanctonique et son contrôle par les sels nutritifs (azote, phosphate et acide orthosilicique), avec la croissance journalière de *P. maximus*.

La croissance coquillière journalière des juvéniles de *P. maximus* de 1998 à 2001 sera étudiée en relation étroite avec les divers paramètres environnementaux. L'analyse des années 1998 et 1999 sera exposée en premier lieu (Lorrain *et al.*, 2000), et les hypothèses formulées seront ensuite confrontées aux résultats acquis en 2000 et 2001.

1.2 Matériel et méthodes

1.2.1 Paramètres environnementaux

Les différentes méthodes de prélèvement d'échantillons et de dosage des paramètres physico-chimiques pour les années 1998 à 2001 ont été décrites au chapitre I.

Ces paramètres environnementaux seront confrontés aux variations de la croissance coquillière de la coquille Saint-Jacques pour ces mêmes années ; une attention particulière sera portée aux facteurs contrôlant la dynamique phytoplanctonique en rade de Brest.

1.2.2 Echantillonnage des coquilles Saint-Jacques

Des individus de classes I et II (ayant vécu 1 et 2 hivers, respectivement ; la fin de l'hiver est arbitrairement fixée au 1^{er} janvier de chaque année) sont prélevés par dragage (maillage 50 mm) ou en plongée avec un pas d'échantillonnage moyen de 1 mois, sur le site de Roscanvel (Fig.I.2, Partie I).

Les prélèvements en plongée sont nécessaires car, contrairement au dragage, ils permettent d'échantillonner en préservant le bord marginal des coquilles, évitant une sous-estimation du nombre de jours de croissance.

Les juvéniles (classe I) ont, comme lors des études préalables (Chauvaud *et al.*, 1998), été privilégiés en raison de leur taux de croissance élevé et pour s'affranchir des éventuelles incidences de la reproduction sur la croissance. Afin de vérifier le caractère juvénile des

individus de classe I, et d'une manière plus générale, de préciser le lien entre taille, âge et état reproducteur, des dissections et pesées (méthodes au chapitre II, § 2.3.3.3) des différents organes ont été réalisées sur des individus de classe I et II prélevés le 19 octobre 2002.

1.2.3 Lecture des stries de croissance

La lecture des stries est effectuée sur la face externe de la valve gauche (plate) des coquilles Saint-Jacques. Les coquilles sont préalablement nettoyées de tous les épibiontes qui pourraient gêner la lecture, puis transférées dans un bain d'acide acétique (90%) qui permet de réduire les crêtes calcifiées correspondant aux stries, facilitant ainsi leur identification. Ces coquilles sont ensuite rincées abondamment à l'eau et séchées à l'air libre.

La méthode de détermination des distances inter-stries est empruntée à Chauvaud (1998). La coquille est placée sous un système macrophotographique (objectif Canon, 50 mm monté sur un soufflet) relié à une caméra vidéo qui permet la visualisation de l'image d'une dizaine de stries consécutives. Ce champ est numérisé et le traitement de l'image est effectué sous le logiciel Visilog 5.3. Un pointage de toutes les crêtes des stries permet la délimitation et la détermination des distances inter-stries après conversion des pixels en micromètres. Plusieurs étapes sont ensuite nécessaires afin de convertir ces courbes en profils de croissance journalière (Fig.II.1).

Tout d'abord, la comparaison du nombre de stries entre deux dates de prélèvements connues, permet de vérifier l'hypothèse d'un rythme de déposition journalier. Par exemple, les coquilles prélevées le 30 août ont 151 stries, et celles pêchées le 2 octobre ont exactement 32 stries supplémentaires correspondant au nombre de jours écoulés entre ces deux dates. Cette validation a été effectuée à différentes périodes de l'année (Chauvaud, 1998) permettant de statuer du caractère journalier de dépôt des stries tout au long de la période de croissance.

Ainsi, la connaissance de la date de pêche nous permet d'attribuer une date calendaire de dépôt à chacune des stries. La dernière strie sur le bord externe de la valve gauche des coquilles Saint-Jacques correspondant à la date de pêche, la strie antérieure correspond à la date de pêche moins un jour et l'on peut ainsi remonter chronologiquement jusqu'à la dernière strie identifiée. Les distances inter-stries mesurées correspondent alors à des mesures de croissance journalière en $\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$. Un pré-requis important est de prélever des coquilles pendant la période de croissance (avril - novembre) de l'année étudiée afin de pouvoir dater les profils. En effet, les coquilles arrêtant de grandir pendant l'hiver, la dernière strie d'une coquille pêchée le 2 février 2001, par exemple, aura été déposée en novembre de l'année précédente, à

une date exacte inconnue, et ne permettra pas de positionner le profil de croissance de l'année 2000.

Ainsi, les coquilles servant à reconstituer les courbes de croissance journalière moyennes sont généralement prélevées à différents moments de l'année pendant la période de croissance. Les coquilles peuvent présenter un nombre de stries différent de celui attendu : i) du fait de la perte potentielle de stries induite par la méthode de prélèvement ii) de la variabilité naturelle interindividuelle de croissance (en nombre de jours et en intensité) iii) des erreurs lors de la lecture des stries (inhérentes à la méthode visuelle et manuelle). Un recalage des différents profils individuels s'avère nécessaire avant de pouvoir constituer une courbe moyenne de croissance journalière pour une année donnée (Fig. II.2).

Les différents profils de croissance journalière sont donc recalés à l'aide d'un traitement mis au point sous Excel en collaboration avec S. Fixot (UMR CNRS 6539, IUEM) et M. Rouan (UMR CNRS 6554, IUEM). Ce programme compare les coefficients de corrélations entre les différentes courbes, tout en les décalant progressivement les unes par rapport aux autres, jusqu'à l'obtention d'une position optimale pour chacune des courbes (coefficient de corrélation maximal).

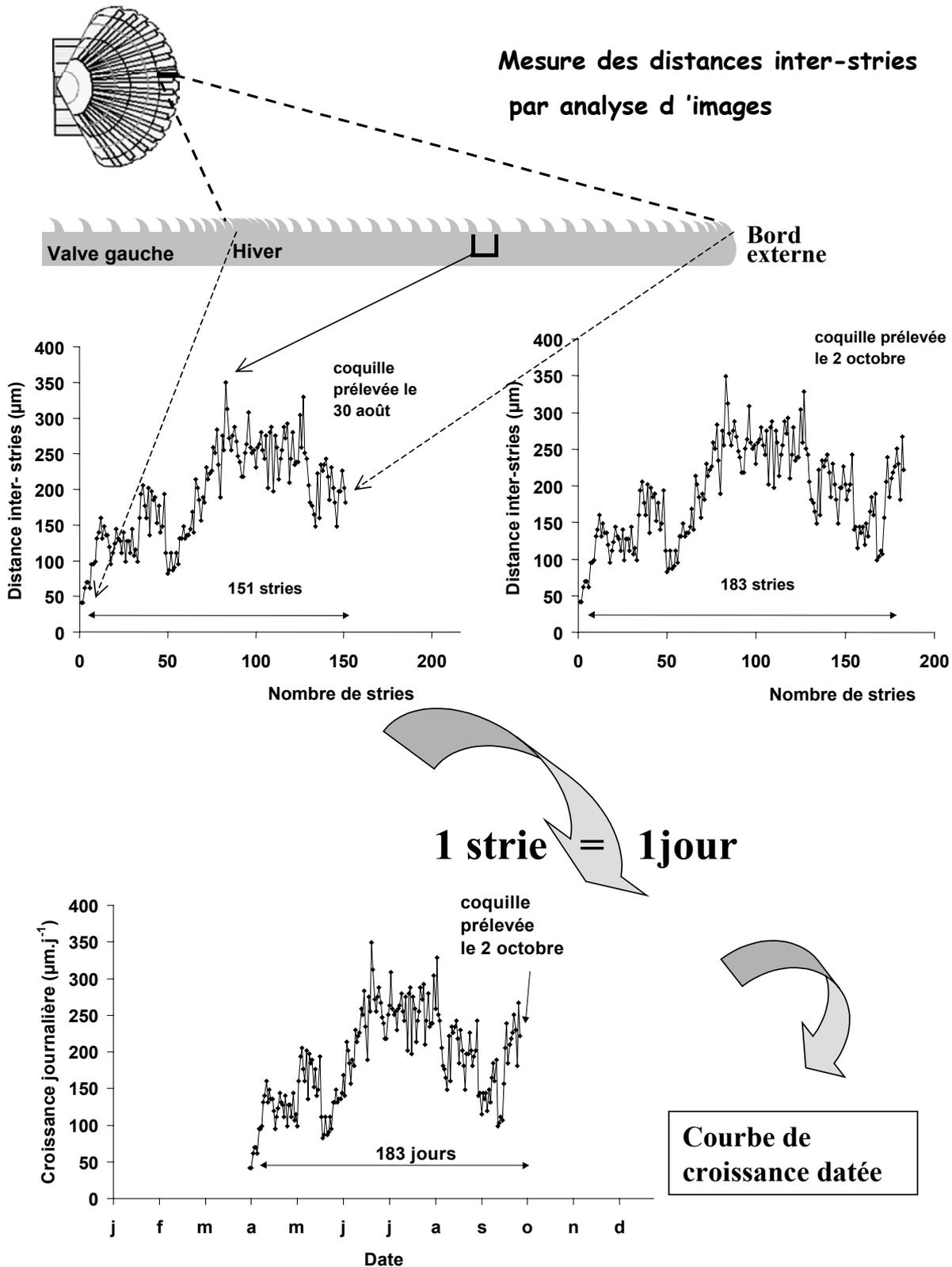


Figure II.1. Schéma illustrant la méthode d'obtention des courbes de croissance journalière individuelles datées à partir du calcul de la mesure par analyse d'image des distances inter-stries.

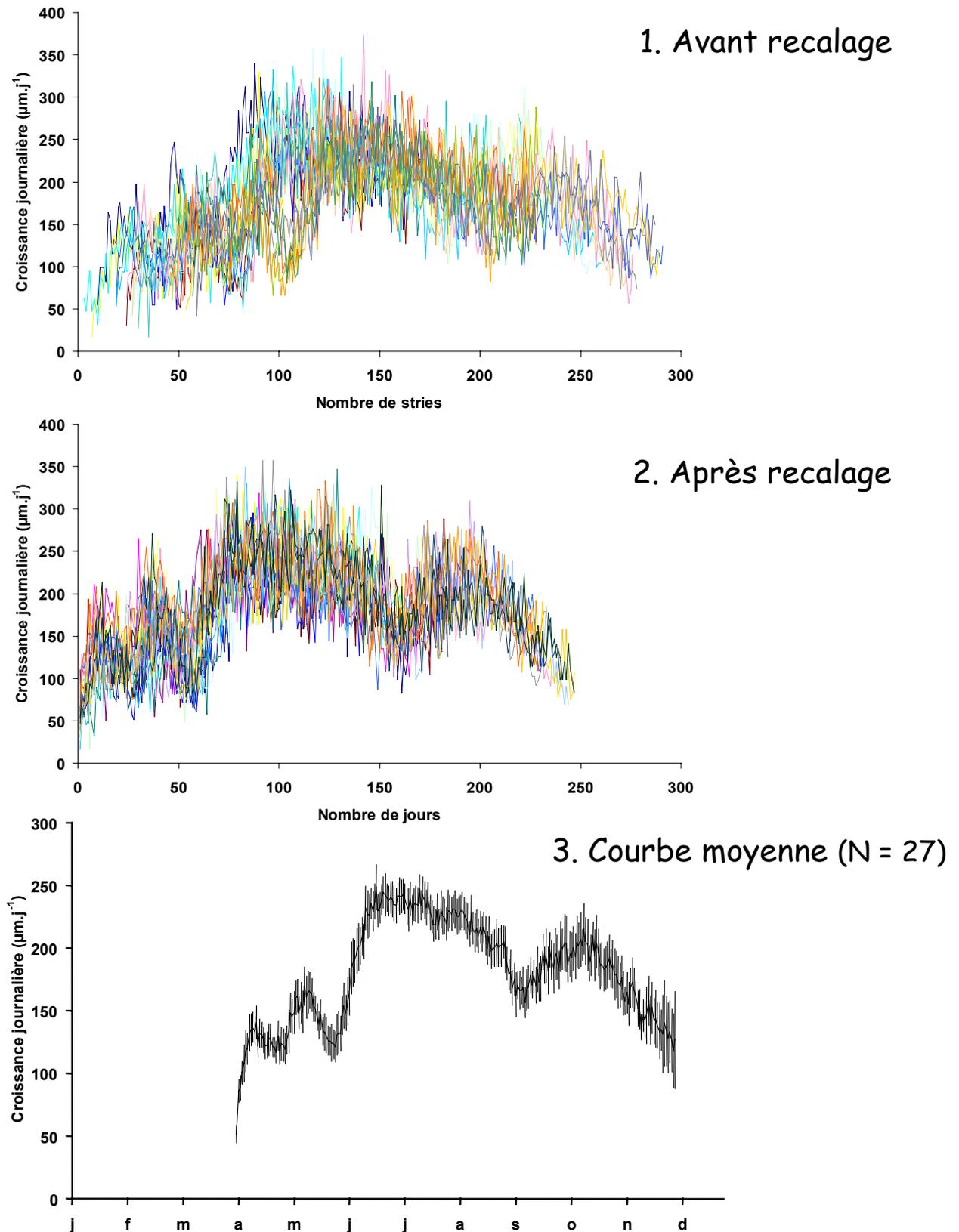


Figure II.2. Schéma illustrant les différentes étapes pour accéder à la courbe moyenne de croissance journalière des coquilles Saint-Jacques à partir des courbes individuelles pour une année donnée. 1. Courbes non recalées, 2. Courbes après recalage avec la Macro Excel, 3. Moyenne et intervalle de confiance ($\alpha = 5\%$) à partir des courbes individuelles recalées.

1.3 Résultats

1.3.1 Accès à la première reproduction chez *P. maximus* en rade de Brest

L'étude du développement gonadique réalisé en octobre 2002 a montré que certains individus de la classe I (ayant vécu un hiver) présentaient une gonade colorée, où la partie mâle et la partie femelle étaient aisément identifiables, témoignant d'une gamétogenèse active (Annexe I). La détermination des stades de développement de ces gonades a été effectuée d'après l'échelle de maturité de Mason (1958), développée pour cette espèce, définissant 7 stades en fonction de critères macroscopiques (Annexe II). Nous considérerons qu'à partir du stade 2 (gonade différenciée en partie mâle et femelle), la gamétogenèse est initiée. Ainsi, la figure II.3 met en évidence que près de 40 % des individus de classe I échantillonnés en octobre 2002 ont une activité gamétogénétique significative (N = 36).

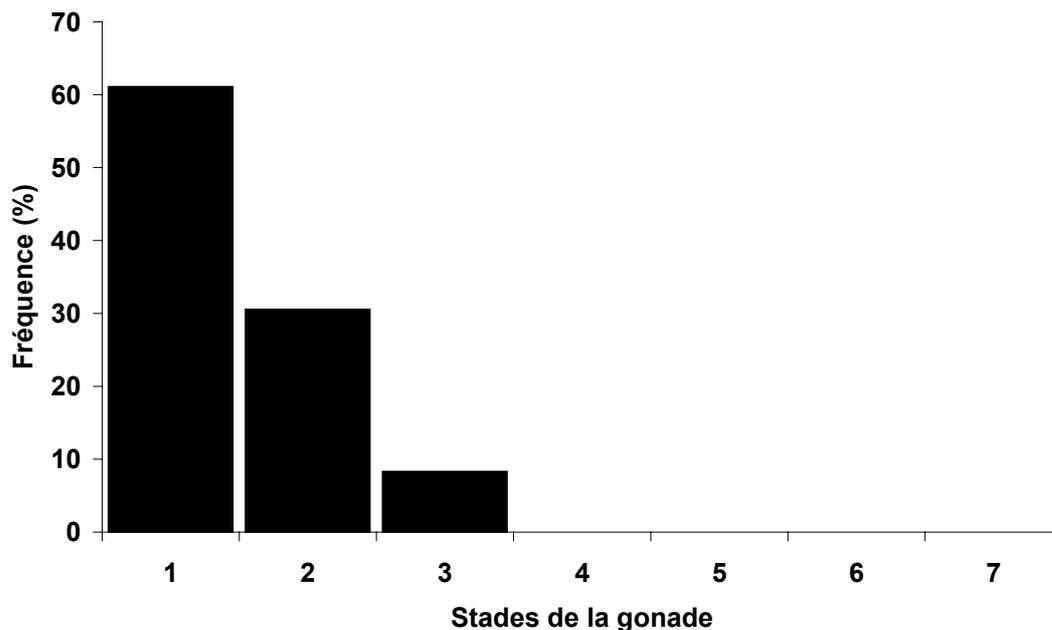


Figure II.3. Fréquence (%) des différents stades de développement des gonades des individus de classe I échantillonnés le 19 octobre 2002 (N = 36) selon l'échelle de Mason (1958).

La confrontation des différents stades de développement de la gonade et des poids secs des tissus correspondants (Fig. II.4) nous a conduit à définir un poids sec minimal de 0,150 g correspondant au stade II. Etant donné que l'âge ne semble pas être un critère pertinent pour statuer du caractère juvénile ou non des individus de classe I, un lien entre le niveau de

développement de l'organe reproducteur, traduit par son poids sec, et d'autres caractères biométriques des individus a été recherché.

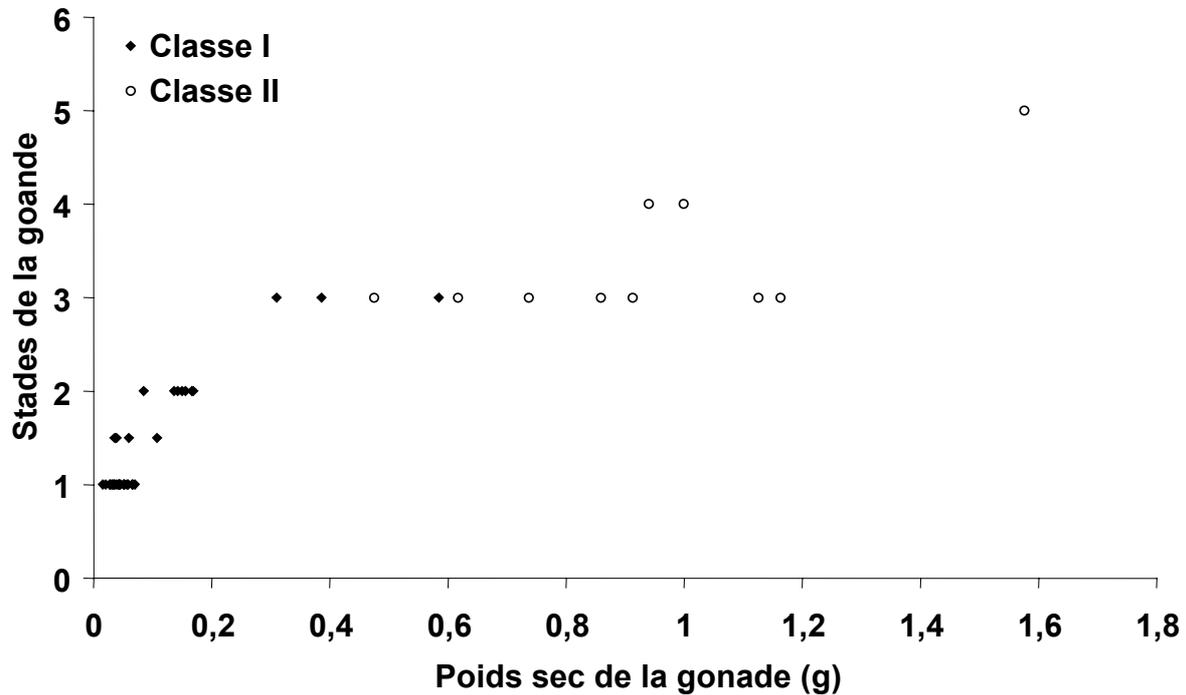


Figure II.4. Stades de développement de la gonade, selon Mason (1958), et poids secs correspondants de l'organe reproducteur (g), pour des individus de classe I (N = 36) et de classe II (N = 10).

Si la gamétogenèse ne dépend pas de l'âge, elle ne semble pas dépendre non plus de la taille des individus, puisqu'une grande variabilité de hauteurs et de poids de coquilles est associée aux individus présentant une gonade bien différenciée (poids secs de gonade supérieurs à 0,150 g ; Fig. II.5).

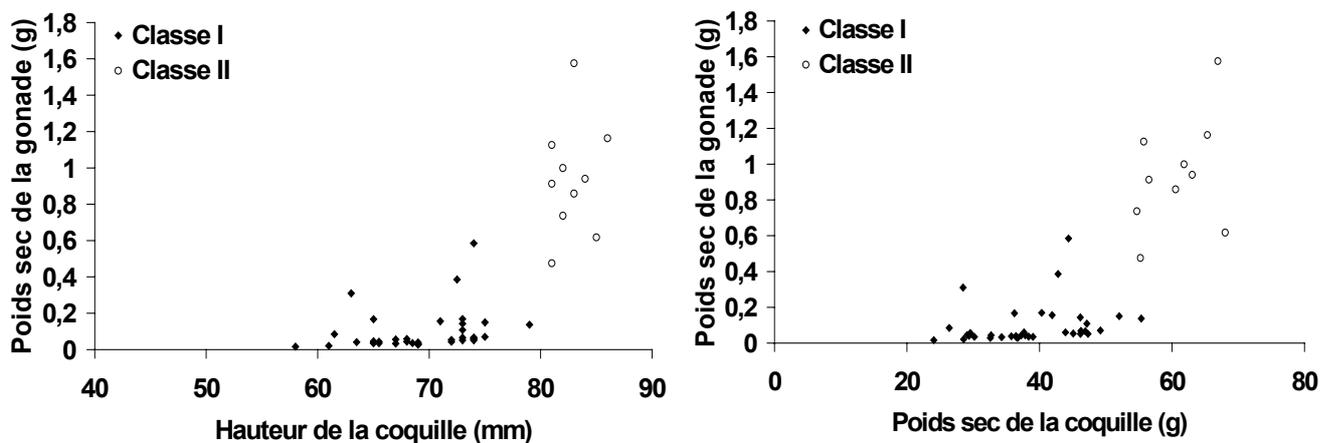


Figure II.5. Variabilité des poids secs de la gonade (g) en fonction de la hauteur (à gauche, mm) et du poids sec de la coquille (à droite, g), pour des coquilles Saint-Jacques de classe I et II prélevées le 19 octobre 2002.

Le développement des gonades étant sous la dépendance de contraintes énergétiques, il est vraisemblable qu'un niveau de biomasse individuel minimum doit être atteint avant l'initiation de la production germinale. La condition de l'animal, exprimée par le calcul de l'indice musculaire ($IM = \text{Poids sec du muscle} / \text{Poids sec de la coquille} \times 100$, Paulet *et al.*, 1992), doit en effet atteindre une valeur minimale proche de 6 pour qu'une production gamétique significative soit enregistrée (Fig. II.6).

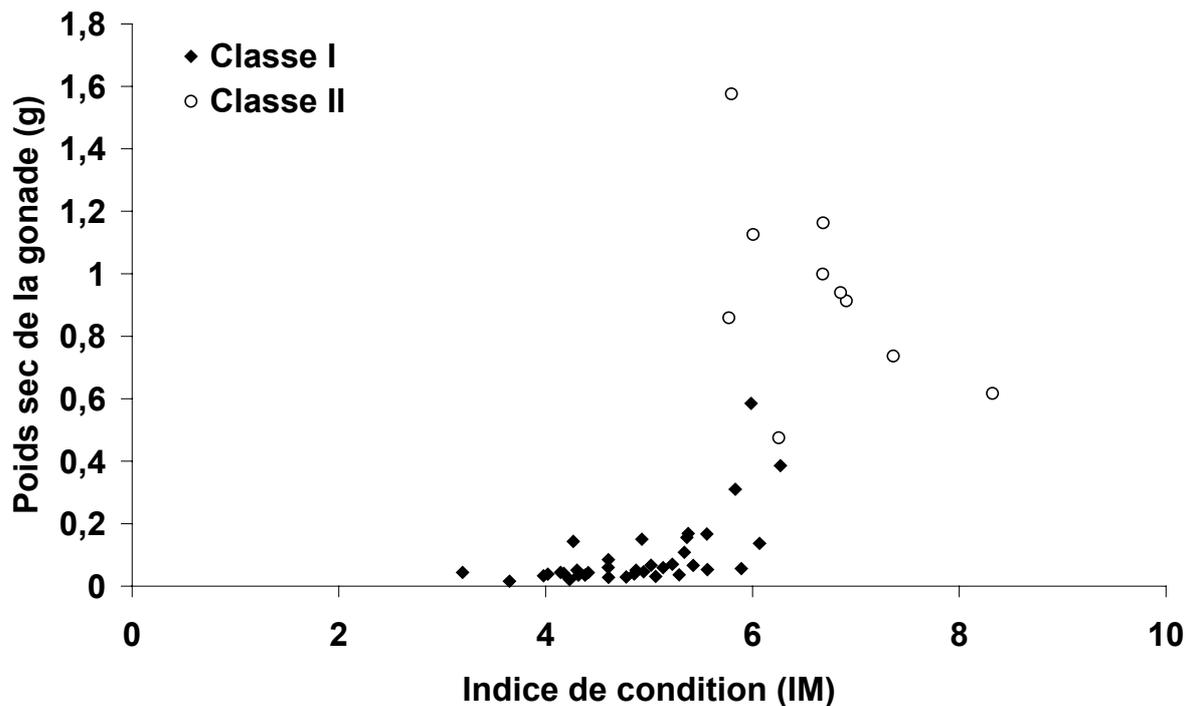


Figure II.6. Variabilité des poids secs de la gonade (g) en fonction de l'indice de condition des coquilles Saint-Jacques de classe I et II prélevées le 19 octobre 2002.

1.3.2 Variabilité saisonnière de la croissance coquillière

La figure II.7 représente la croissance des individus de classe I correspondant à la croissance entre leur premier et leur second hiver. Le cycle saisonnier est identique pour toutes les années d'étude et caractérisé par une reprise de croissance aux alentours du 1^{er} avril, un maximum de croissance estival voisin de $250 \mu\text{m.j}^{-1}$ à la fin du mois de juin, et une décroissance automnale débutant généralement à la mi-juillet.

Cependant, nos résultats (Fig. II.7), en accord avec les études antérieures (Chauvaud *et al.*, 1998), mettent en évidence, au sein de l'oscillation annuelle précédemment décrite, l'existence de ralentissements, plus ou moins intenses, de la croissance journalière pour toutes les années étudiées.

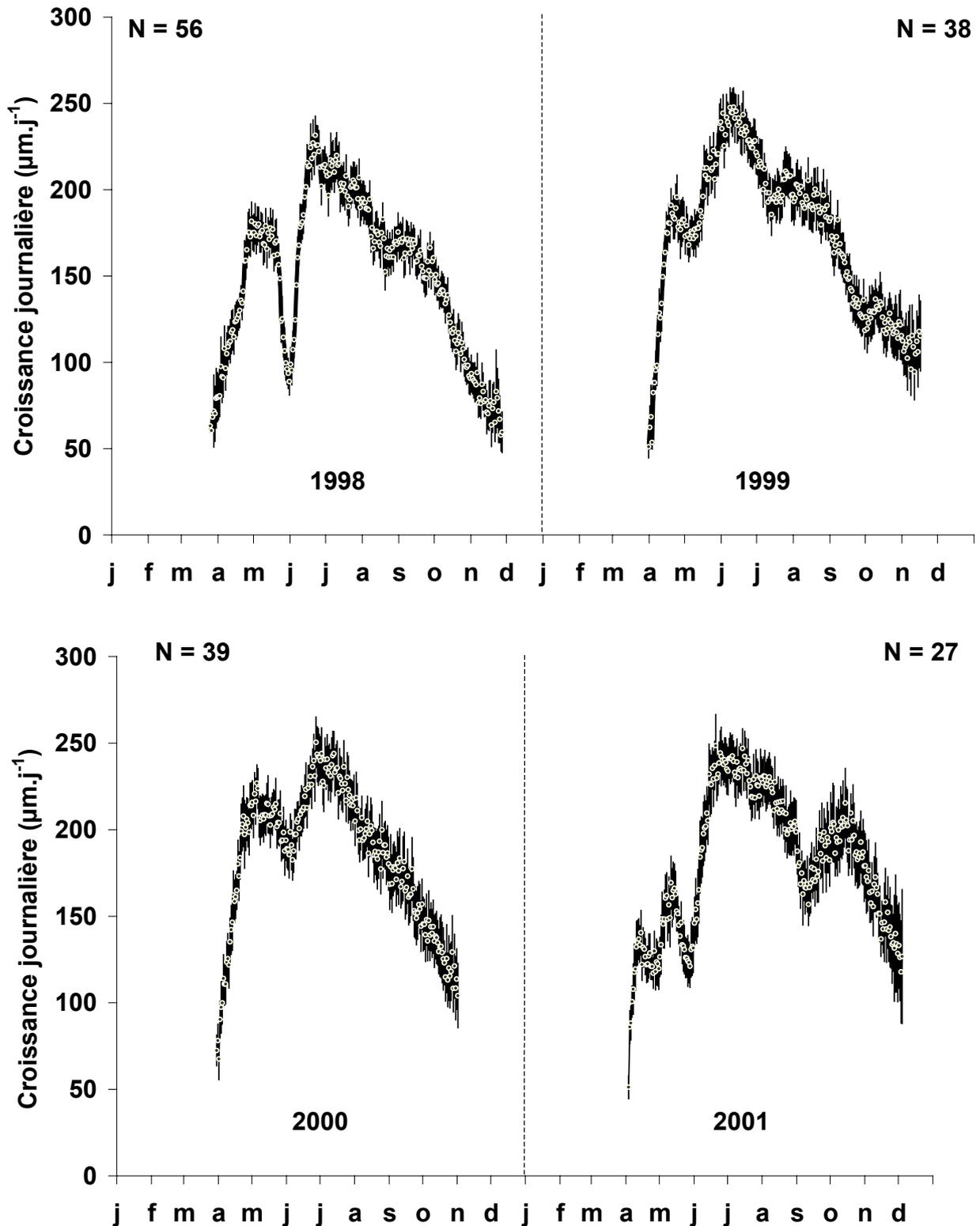


Figure II.7. Variabilité saisonnière de la croissance journalière moyenne des coquilles Saint-Jacques de classes I (en $\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$) de 1998 à 2001. Les barres verticales correspondent à l'intervalle de confiance.

Malgré une variabilité interindividuelle marquée, ces ralentissements sont synchrones pour tous les individus de la population et apparaissent aussi bien au printemps (avril-mai de

1998 à 2001) qu'en été (juillet 1999 et septembre 1998 et 2001) ou qu'en automne en 1999 (début octobre).

La figure II.8 résume l'occurrence des différents ralentissements de croissance au cours des années 1998, 1999, 2000 et 2001. L'accident le plus important a lieu en 1998, avec une diminution du taux de croissance de près de $100 \mu\text{m.j}^{-1}$ du 17 mai au 2 juin. Tous les autres ralentissements de croissance ont une amplitude inférieure à $50 \mu\text{m.j}^{-1}$.

L'année 2001 se distingue des autres années par le caractère particulièrement accidenté de son cycle de croissance. En effet, trois accidents de croissance surviennent comme en 1999, mais avec des amplitudes beaucoup plus marquées, entraînant une perte notable du bilan de croissance annuelle.

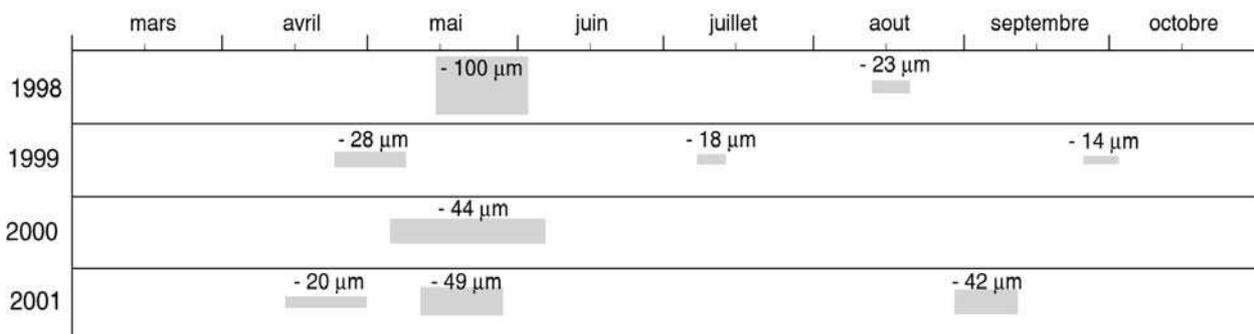


Figure II.8. Occurrence, durée et intensité des ralentissements de croissance observés durant les quatre années du suivi en rade de Brest. L'épaisseur des rectangles gris est proportionnelle à l'intensité du ralentissement.

1.3.3 Relation avec les efflorescences phytoplanctoniques

Durant les accidents de croissance identifiés, aucune anomalie thermique n'est observée (voir Partie I, §4.1.2). Cependant, certains accidents sont synchrones à des dessalures dans la couche d'eau de fond à Roscanvel. En effet, en 1999, le 27 avril, la salinité descend à 33,67 et en 2000 une dessalure se prolonge du 14 avril au 26 juin avec des minima à 33,66 le 1^{er} et le 31 mai. Cependant, de telles dessalures se produisent aussi en 1998 (33,8 le 24 avril) sans que soient observés des accidents de croissance. De plus, aucune dessalure n'est observable lors des autres ralentissements de croissance de 1998, 1999 et 2001 (Partie I, § 4.1.3).

Le seul paramètre montrant de fortes variations durant ces périodes est la concentration en chlorophylle *a* (Fig.II.9). D'après cette figure, des blooms de diatomées

aussi bien que des blooms de dinoflagellés sont susceptibles d'engendrer des ralentissements de croissance. Cependant, si les efflorescences de dinoflagellés sont caractérisées par la dominance d'une seule espèce commune aux trois années (1998-1999 et 2001), *Gymnodinium chlorophorum*, la composition spécifique des efflorescences de diatomées apparaissant lors des ralentissements de croissance est variable. Ainsi les espèces dominantes sont, *Cerataulina pelagica* en 1998, *Rhizosolenia delicatula* en 1999 et 2001, *Skeletonema costatum* et *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* en 2000 et 2001 (voir tableau I.1 et Fig. I.16, Partie I).

Lorsque ces événements de croissance sont synchrones aux efflorescences de dinoflagellés, l'importance du ralentissement semble lié à la concentration en nombre de cell.l⁻¹ de *G. chlorophorum*. En effet, en 1998, 90 000 cell.l⁻¹ étaient reportées lors de l'accident, pour 212 000 cell.l⁻¹ en 1999 et près de 1 million de cell.l⁻¹ fin août-début septembre 2001, correspondant respectivement à des ralentissements de 11, 13 et 24% de la croissance coquillière journalière.

On notera que le 7 juillet 1999, pendant le ralentissement de croissance, *Gymnodinium cf. nagasakiense* (nouvelle appellation : *Karenia mikimotoi*) était présent avec des concentrations de 72 700 cell.l⁻¹ contre 212 000 cell.l⁻¹ de *G. chlorophorum*.

En 1998, 1999 et 2001, les ralentissements de croissance printaniers correspondent aux maxima annuels de concentration en chlorophylle *a*, alors qu'en 2000, le ralentissement printanier n'est pas associé à une concentration maximale de chlorophylle *a*.

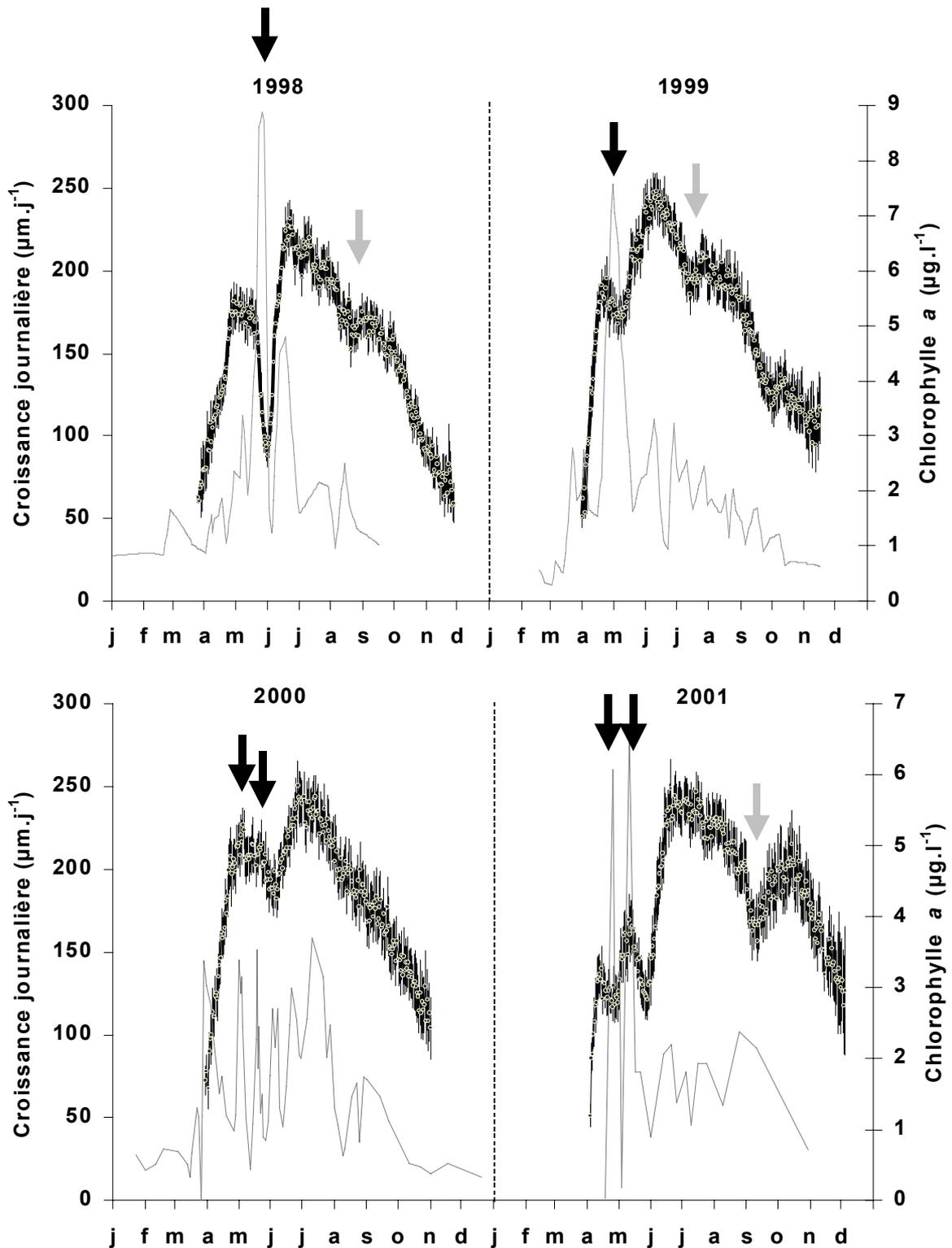


Figure II.9. Variabilité saisonnière de la croissance coquillière journalière des coquilles Saint-Jacques de classes I (en $\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$) de 1998 à 2001 confrontée aux variations de la chlorophylle a sur la couche de fond ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, courbes grises) à Roscanvel. Les flèches grises représentent des efflorescences de dinoflagellés et les noires des efflorescences de diatomées.

1.3.4 Dynamique des sels nutritifs en rade de Brest

L'évolution générale des sels nutritifs de 1998 à 2001 a été présentée dans la partie I de ce manuscrit. Toutefois, dans ce paragraphe, la dynamique des sels nutritifs, en relation avec chaque efflorescence, sera traitée en détail afin de valider l'hypothèse soulevée par Chauvaud *et al.* (1998) sur l'effondrement des blooms suite à des carences en sels nutritifs.

➤ 1998

Pour l'année 1998, seules les concentrations en azote total et acide orthosilicique sont disponibles (cf. Partie I). Dès le début de la période productive, les concentrations en acide orthosilicique chutent fortement, et atteignent des concentrations minimales le 22 mai (0,7 μM), juste avant l'effondrement du bloom de *Cerataulina pelagica* (Fig. II.10). L'azote total (nitrates + nitrite + ammonium) chute aussi brutalement pendant cette période. Les rapports Si/N sont inférieurs à 1 jusqu'à la fin du mois de juin.

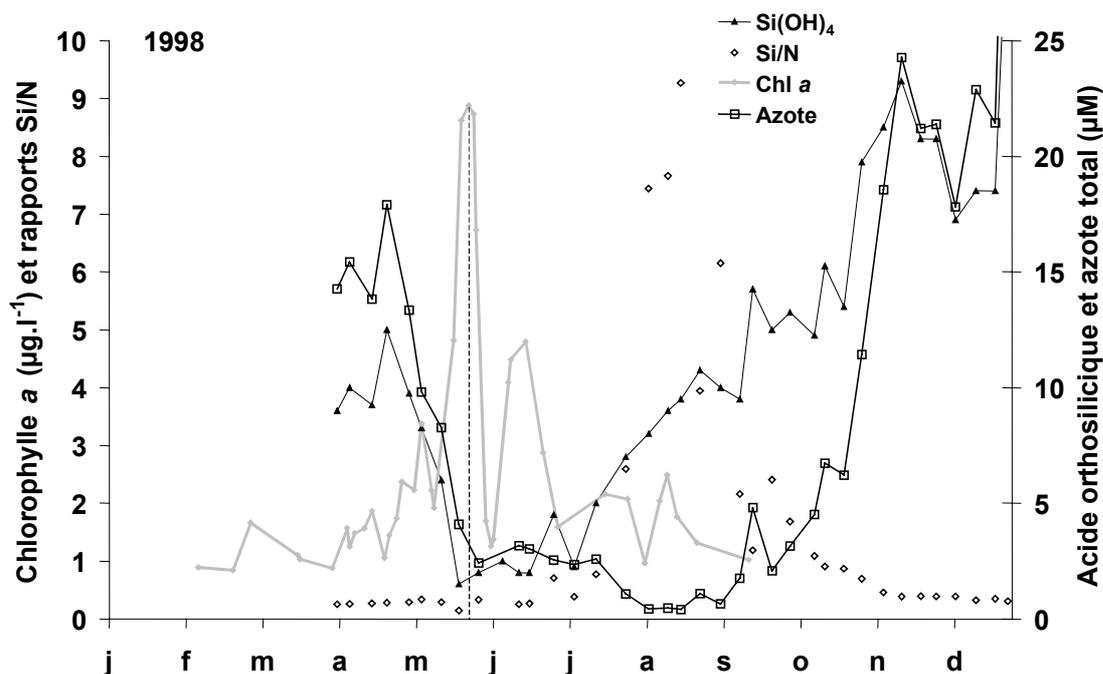


Figure II.10. Evolution des concentrations de chlorophylle *a* sur la couche de fond à Roscanvel ($\mu\text{g.l}^{-1}$, courbe grise), des rapports Si/N (losanges) et des concentrations en acide orthosilicique (μM , triangles noirs) et azote total (carrés noirs) en surface au cours de l'année 1998 à la station SOMLIT.

➤ 1999

Le premier bloom phytoplanctonique entraîne une forte diminution des concentrations hivernales pour l'acide orthosilicique et les phosphates, celles de l'azote total restant élevées (9 μM , fig. II.11). Durant l'efflorescence de *Rhizosolenia delicatula* (fin avril-début mai), les

concentrations d'acide orthosilicique et d'azote total sont relativement élevées (3 μM et 9 μM pour $\text{Si}(\text{OH})_4$ et N, respectivement) et celles de phosphates extrêmement faibles (0,08 μM). Si les rapports Si/N restent inférieurs à 1 pendant toute la période de production des diatomées, les rapports Si/P, quant à eux, sont largement supérieurs à 16 pendant le bloom de *R. delicatula*.

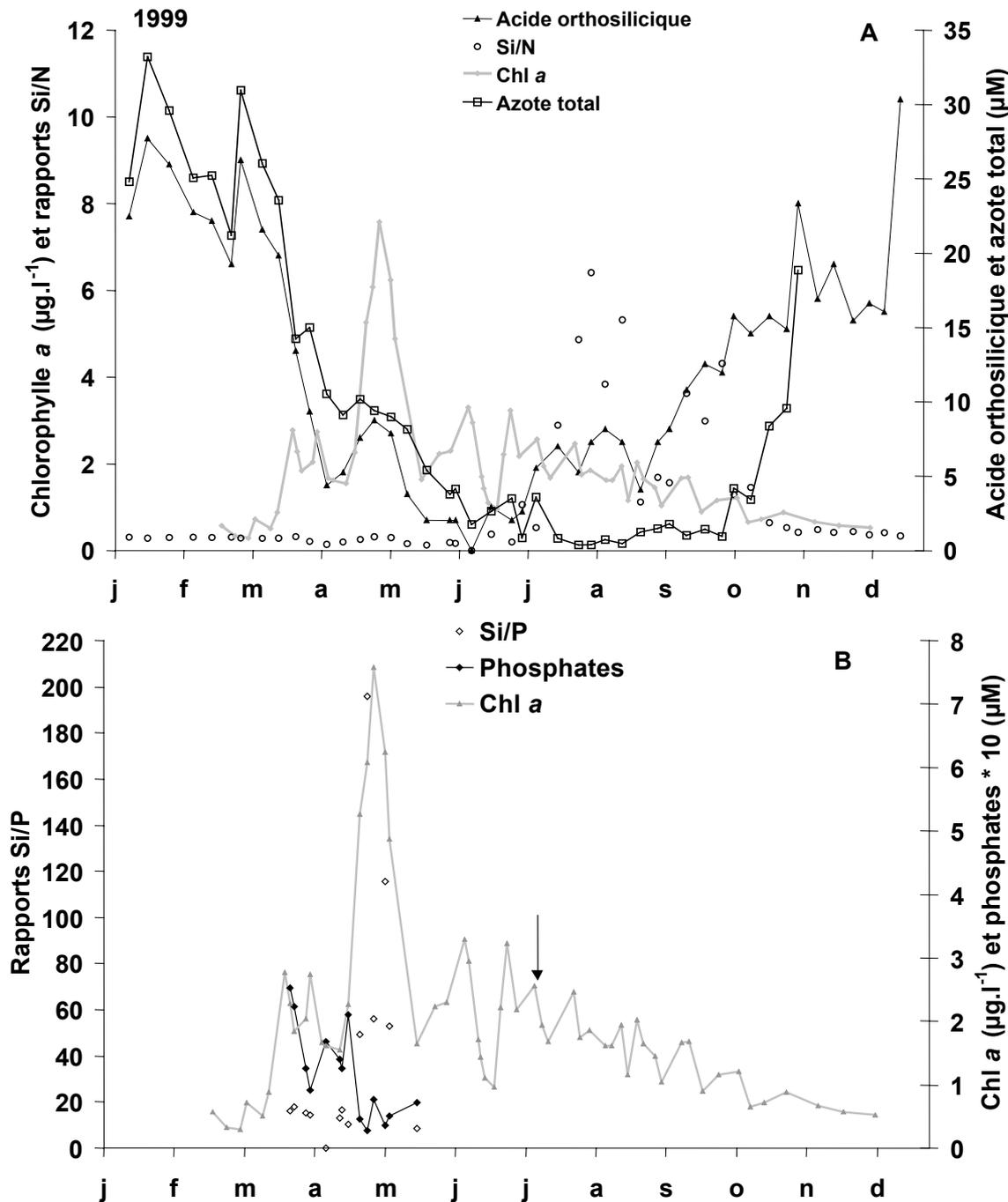


Figure II.11. Evolution des concentrations de chlorophylle *a* sur la couche de fond à Roscanvel ($\mu\text{g.l}^{-1}$, courbe grise), des rapports Si/N et Si/P (losanges) et des concentrations en acide orthosilicique et azote total à SOMLIT (A) et phosphates*10 (B) (μM , courbe noire) en surface au cours de l'année 1999 à Roscanvel (données empruntées à Savoye, 2001).

➤ 2000

L'année 2000 se caractérise par de forts débits des rivières à la fin du mois d'avril et au début du mois de juin (cf. Partie I) et, en conséquence, par des apports importants de sels nutritifs pendant la période avril-juin.

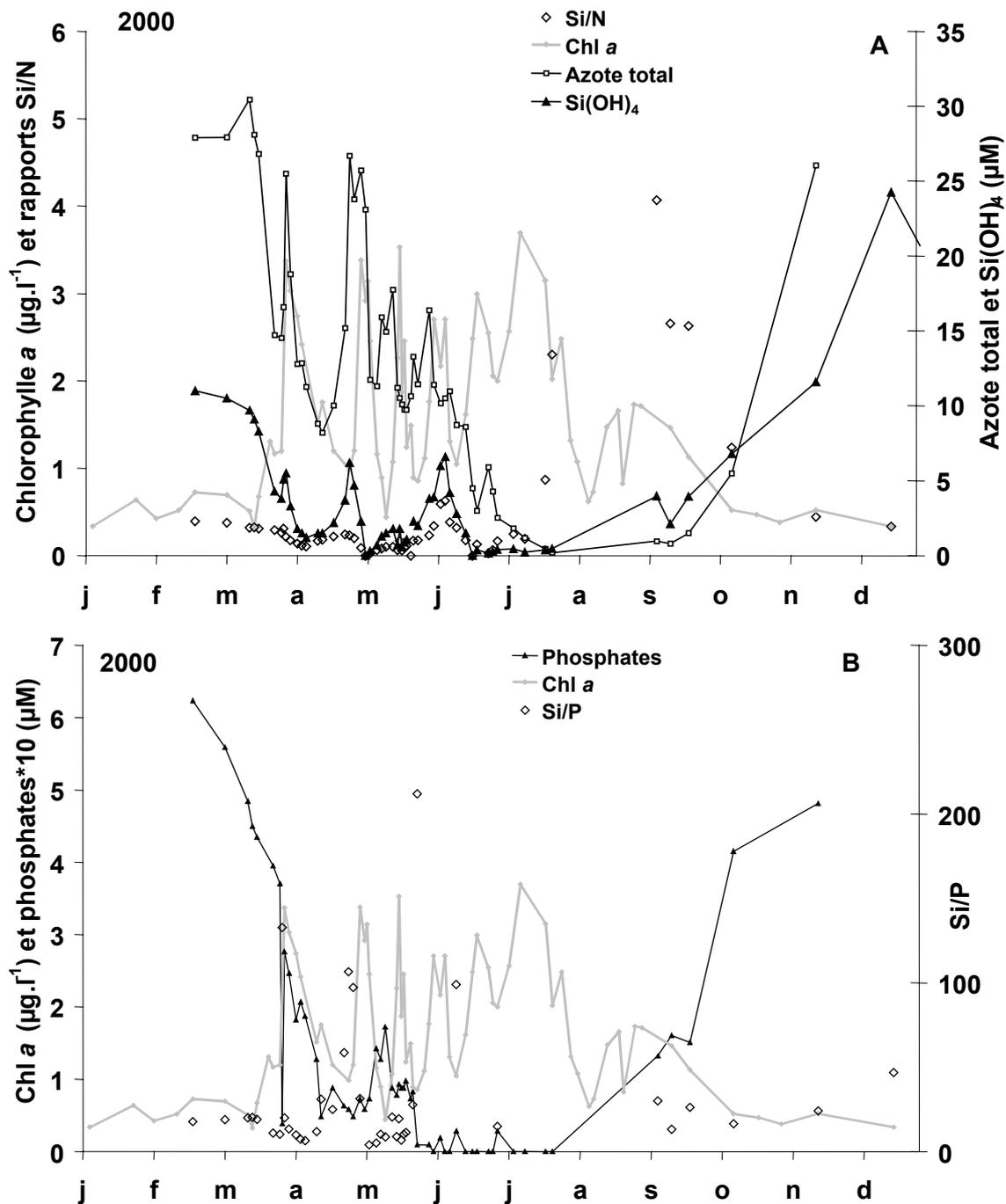


Figure II.12. Evolution des concentrations de chlorophylle *a* sur la couche de fond ($\mu\text{g.l}^{-1}$, courbe grise), des rapports Si/Net Si/P (losanges), des concentrations (μM) en acide orthosilicique (triangles pleins noirs) et azote total (carrés noirs) (A) et phosphates *10 (B) en surface à Roscanvel au cours de l'année 2000.

Les concentrations sont particulièrement importantes pour l'azote ($> 12 \mu\text{M}$) et l'acide orthosilicique, avec trois pics successifs le 26 avril, 15 mai et 7 juin (Fig. II.12A).

Les concentrations en azote demeurent élevées jusqu'au début du mois de juin pour atteindre des valeurs minimales à la mi-juillet (Fig. II.12A). Les apports d'acide orthosilicique sont synchrones aux différentes efflorescences phytoplanctoniques de la fin du mois de mars à la mi-juin (Fig. II.12A). Durant cette même période, les rapports Si/N sont inférieurs à 1, puis augmentent de la mi-juillet au début du mois d'octobre. La décroissance des trois premiers blooms printaniers (*Coscinodiscus sp.*, *Skeletonema costatum* et *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima/Rhizosolenia delicatula*) coïncide avec des minima de concentration en acide orthosilicique (inférieurs à $1,2 \mu\text{M}$).

Les concentrations en phosphates diminuent rapidement pendant le mois de mars et restent inférieures à $0,2 \mu\text{M}$ jusqu'à la mi-août (Fig. II.12B). Les valeurs minimales sont atteintes à la fin du mois de mai et demeurent extrêmement faibles (proches de 0) jusqu'au 24 juillet. Les rapports Si/P sont très variables, bien qu'ils soient généralement au-dessus du rapport de Redfield 16:1 pendant les blooms phytoplanctoniques.

➤ 2001

Les concentrations en acide orthosilicique chutent progressivement de janvier à fin avril (Fig. II.13A, de $15,3$ à $1,6 \mu\text{M}$), et atteignent des valeurs minimales dès la fin du deuxième bloom phytoplanctonique de *Rhizosolenia delicatula* ($0,8 \mu\text{M}$ le 28 mai). Une augmentation progressive est ensuite visible de la mi-juin au mois de décembre, avec une accélération de l'accumulation de Si(OH)_4 au début du mois d'août. La décroissance des concentrations en azote total est très importante de janvier à mai, avec des concentrations diminuant de 34 à $0,8 \mu\text{M}$. Ces concentrations demeurent inférieures à $2 \mu\text{M}$ de la fin du mois de mai au début du mois d'octobre. Les rapports Si/N sont inférieurs à 1 du mois de janvier à la fin du mois de mai.

Les concentrations en phosphates (Fig. II.13B) passent sous $0,2 \mu\text{M}$ dès le début du premier bloom phytoplanctonique et demeurent inférieures à cette valeur tout au long de la période productive (avril-septembre). Les rapports Si/P sont supérieurs à 16 pendant toute la période de production phytoplanctonique excepté le 28 mai et le 18 juillet.

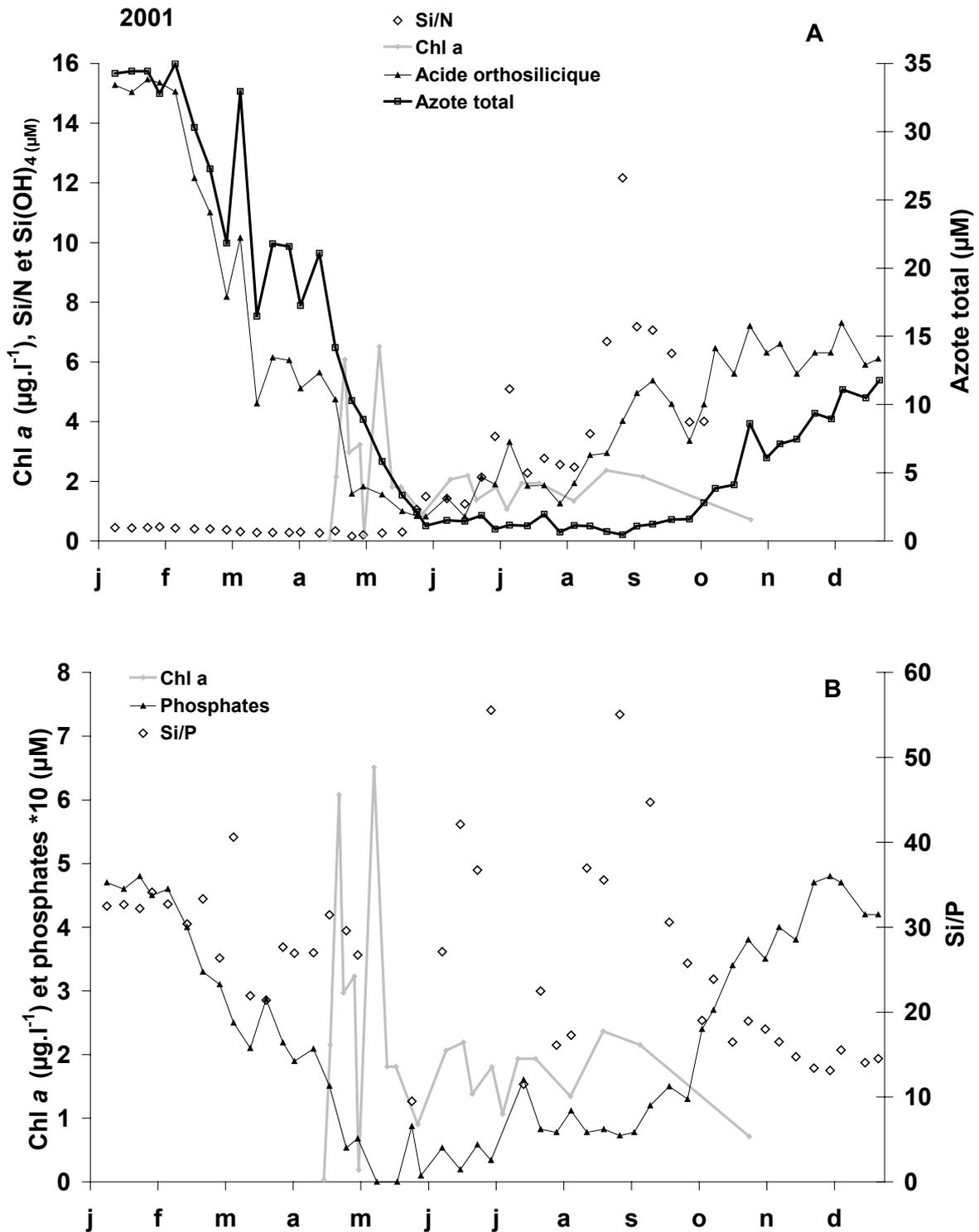


Figure II.13. Evolution des concentrations de chlorophylle *a* sur la couche de fond à Roscanvel ($\mu\text{g.l}^{-1}$, courbe grise), des rapports Si/N (A) et Si/P (B, losanges), des concentrations en acide orthosilicique (triangles noirs) et azote total (carrés noirs) à SOMLIT (A) et phosphates*20 (B) (μM , courbe noire) en surface au cours de l'année 2001.

1.4 Discussion

1.4.1 Accession à la première reproduction

L'examen de différents aspects macroscopiques et biométriques des individus de classe I au mois d'octobre 2002 met en évidence une grande variabilité dans les stades de maturation de la gonade. En effet 40% des individus de classe I échantillonnés présentaient une gonade bien différenciée. L'accès à la première reproduction de *Pecten maximus* en rade de Brest, n'est pas dépendante de l'âge, ni de la taille des individus mais bien d'une condition énergétique minimale, traduite par un indice musculaire de 6.

Ces résultats démontrent que les individus de classe I sont susceptibles de présenter un large éventail de comportements vis à vis de la reproduction et donc des priorités d'allocation d'énergie. Ainsi, la variabilité inter-individuelle de croissance journalière, pourrait être expliquée par des différences dans l'énergie allouée ou non à la reproduction. En effet, si une perturbation environnementale intervient en période de production gonadique, les individus matures seront potentiellement plus sensibles, cette sensibilité pouvant se répercuter par une diminution plus ou moins importante de la croissance.

Ainsi, au vu de ces résultats, il serait judicieux d'étudier la croissance journalière d'individus appartenant à une même gamme de condition (IM), plutôt qu'à ceux d'une classe d'âge donnée. Cependant, malgré les variations potentielles induites par des allocations différentielles de l'énergie, l'étude d'un grand nombre de coquilles (> 30), nous permet d'obtenir une courbe de croissance moyenne très homogène (Fig II.7) et de s'affranchir de ces variations inter-individuelles.

1.4.2 Croissance coquillière

L'ensemble des paramètres environnementaux mesurés de 1998 à 2001 ne présente pas d'évolutions saisonnières exceptionnelles par rapport à celles généralement observées en rade de Brest (Partie I). Cependant, les courbes de croissance coquillière journalière présentent toutes des anomalies (par rapport à la courbe dite normale, en cloche, Chauvaud *et al.*, 1998) plus ou moins prononcées. Chauvaud *et al.* (1998) observent que ces anomalies de croissance sont en relation avec les efflorescences phytoplanctoniques.

La confrontation des courbes de croissance journalière de la coquille Saint-Jacques aux variations environnementales confirme que des blooms phytoplanctoniques sont bien

synchrones aux ralentissements de croissance coquillière chez les juvéniles de *P. maximus* au cours des quatre années du suivi (1998-2001). Des diatomées aussi bien que des dinoflagellés caractérisent ces efflorescences. Cependant si une seule espèce, *Gymnodinium chlorophorum*, est associée aux ralentissements de croissance synchrones aux blooms de dinoflagellés, de nombreuses espèces de diatomées sont, par contre, impliquées dans les autres cas. En 1995, un dinoflagellé de nature toxique, *Gymnodinium cf. nagasakiense*, était responsable d'un fort ralentissement de croissance (Chauvaud, 1998). *Gymnodinium chlorophorum*, espèce récemment décrite (Elbrachter & Schnepf, 1996), ne serait pas une espèce potentiellement toxique (Belin & Raffin, 1998). En effet, si des mortalités massives ont été observées pendant des blooms de *G. chlorophorum*, les effets nocifs sur la faune benthique sont indirects (anoxie suite aux fortes proliférations, Belin & Raffin, 1998). Cependant, l'impact de cette espèce sur les invertébrés benthiques n'a jamais été étudié, et les anomalies de croissance de *P. maximus*, observées à trois reprises lors de ces efflorescences, pourraient révéler la toxicité de cette espèce pour les invertébrés. De plus, l'amplitude de ces ralentissements de croissance augmente avec les concentrations cellulaires de *G. chlorophorum*, suggérant une sensibilité de la coquille Saint-Jacques à ce type de dinoflagellé. La présence simultanée, en 1999, de *Gymnodinium cf. nagasakiense* a pu entraîner un effet supplémentaire néfaste sur la croissance coquillière, bien que cet accident soit de faible ampleur comparée à ceux des autres années.

Plusieurs espèces de diatomées sont impliquées dans les ralentissements de croissance, *Cerataulina pelagica* (1998), *Rhizosolenia delicatula* (1999 et 2001), et *Skeletonema costatum* (2000 et 2001), elles ne sont pas connues pour être toxiques pour les invertébrés (Belin & Raffin, 1998). Cependant, leur toxicité est recherchée davantage à un niveau sanitaire qu'à l'échelle du consommateur primaire. *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (impliquée dans l'accident de croissance en 2000) est une espèce productrice d'acide domoïque, un neurotoxique provoquant des pertes de mémoire (ASP) chez les humains et des mortalités massives chez les oiseaux et les mammifères marins (Pan *et al.*, 2001). L'espèce *Rhizosolenia delicatula* était déjà associée à un ralentissement de croissance en 1995 (Chauvaud *et al.*, 1998) mais *Cerataulina pelagica*, présente également en avril 1995, ne provoquait pas de ralentissement de croissance coquillière des juvéniles de *P. maximus*.

Ainsi, plus que la nature spécifique des efflorescences, l'état de ces cellules à leur arrivée sur le fond peut être invoqué afin d'expliquer la perturbation de la croissance coquillière des individus de *Pecten maximus*. L'hypothèse évoquée par Chauvaud *et al.*

(1998) est que ces cellules sédimenteraient massivement, à la suite d'une limitation en acide orthosilicique, sous la forme d'agrégats entourés d'une matrice gélatineuse et entraîneraient alors le colmatage des branchies de la coquille Saint-Jacques. Des arrêts ou des ralentissements de l'activité alimentaire et/ou de la respiration se répercuteraient ensuite sur la croissance.

1.4.2.1 Anomalies de croissance des années 1998 et 1999

En 1998 et 1999, les ralentissements de croissance printaniers sont associés aux maxima de concentration algale sur la couche de fond. En particulier, ces décroissances semblent initiées lorsque les concentrations de chlorophylle *a* dépassent un seuil de $5 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Fig. II.8). Cependant, l'impact sur la croissance n'est pas le même selon l'année d'étude, indiquant que la concentration algale seule ne peut expliquer l'intensité de ces ralentissements de croissance. Bien que ces deux espèces (*Cerataulina pelagica* en 1998 et *Rhizosolenia delicatula* en 1999) présentent apparemment des caractéristiques similaires (diamètre de 20 à 50 μm ; espèces pennées sans spicules ; en chaîne ou séparées ; non toxiques pour la faune benthique), nous ne pouvons réfuter l'hypothèse d'un effet de la composition spécifique du phytoplancton sur ces ralentissements de croissance.

Théoriquement, le dépôt coquillier a lieu quand les valves sont ouvertes et le manteau en extension (Pannela & MacClintock, 1968). Un ralentissement de croissance pourrait avoir lieu suite à l'incapacité du bivalve à garder ses valves ouvertes, en raison de fortes quantités de seston ou de fortes biomasses algales. Certains auteurs ont en effet montré des altérations des taux de filtration et de la nutrition, consécutifs à une forte densité de chlorophylle *a* ou de matière en suspension (Malouf & Bricelj, 1989 ; Wildish *et al.*, 1992 ; Dame, 1996 ; Wildish & Kristmanson, 1997). De plus, Chauvaud *et al.* (2001) mettent en évidence une diminution de la prise de nourriture pendant les ralentissements de croissance, lors de l'efflorescence de *Rhizosolenia delicatula* en 1998. La croissance pourrait donc être limitée par la capacité d'ingestion des coquilles Saint-Jacques. Cependant, Lewis & Cerrato (1997) démontrent chez *Mya arenaria*, que la croissance coquillière est davantage liée à la consommation d'oxygène qu'à l'activité de nutrition. Selon les résultats de ces auteurs, les anomalies de croissance de *P. maximus* seraient plus liées à une perturbation de la respiration que de la prise de nourriture. Ces résultats ne sont pas contradictoires avec les données de Chauvaud *et al.* (2001). En effet, le colmatage des branchies peut entraîner simultanément une baisse de la prise de nourriture et de l'activité respiratoire. De plus, la respiration pourrait aussi être

perturbée par des phénomènes d'hypoxie à l'interface eau-sédiment, consécutifs à la dégradation bactérienne du matériel phytoplanctonique. Si des épisodes d'anoxie sont peu probables sur le site de Roscanvel étant donné le brassage lié au cycle de marée (Salomon & Breton, 1996), les phénomènes existant dans la couche limite au-dessus du sédiment, sont peu connus, et des épisodes de micro-hypoxie pourraient perturber la coquille Saint-Jacques.

Selon de nombreux auteurs, l'augmentation des apports azotés, que l'on exprime généralement par le déclin des rapports Si/N des eaux côtières, crée des situations de limitation en acide orthosilicique pour les populations de diatomées (Smayda, 1990, Conley & Malone, 1992, Conley *et al.*, 1993, Del Amo *et al.*, 1997). D'après les travaux de Ragueneau *et al.* (1994) en rade de Brest, l'acide orthosilicique limiterait la croissance des diatomées au début du printemps en 1992, entraînant la sédimentation des cellules phytoplanctoniques. Une limitation en sels nutritifs est avancée car il est peu probable que le broutage par le zooplancton joue un rôle majeur dans le contrôle de la biomasse phytoplanctonique lors du début de la période productive (Quéguiner, 1982, Ragueneau *et al.*, 1994). De nombreuses études ont mis en évidence la capacité des diatomées à s'agréger et à sédimenter (Smetacek, 1985 ; Logan & Alldredge, 1989 ; Alldredge & Gotschalk ; 1989, Riebesell, 1991). Riebesell (1991) observe que la majorité des cellules collectées après le déclin du bloom sont entourées d'une matrice de mucus. Alldredge *et al.* (1993) montrent que les Particules d'Exopolymères Transparentes (TEP, Transparent Exopolymer Particules) sont les agents majeurs de la coagulation des diatomées. Ces TEP seraient sécrétées par le phytoplancton, lors de carences en éléments nutritifs (Williams, 1990 ; Anderson & Williams, 1998 ; Penna *et al.*, 1999, Prieto *et al.*, 2002). Cependant, la part des facteurs physiques et biologiques dans la formation des agrégats et de la sédimentation est encore discutée, et les mécanismes de formation des agrégats encore peu connus (Jackson, 1995 ; Alldredge & Jackson, 1995). Si de nombreux auteurs affirment qu'elle est due à des limitations en nutriments (N, P, Si, Fe ; Smayda, 1970 ; Bienfang *et al.*, 1982 ; Bienfang & Harrison, 1984 ; Smetacek, 1985 ; Harrison *et al.*, 1986 ; Logan & Alldredge, 1989), d'autres invoquent un contrôle purement physique (Jackson, 1990).

L'étude du rôle des limitations en sels nutritifs sur l'intensité, la nature et l'aptitude du phytoplancton à sédimenter peut être abordée, en première approximation, par les rapports de Redfield (Si:N:P = 16:16:1), qui donnent une estimation des besoins relatifs des diatomées pour leur croissance (Redfield *et al.*, 1963 ; Brzezinski, 1990 ; Del Amo *et al.*, 1997a). En 1998, seules les mesures d'acide orthosilicique et azote total (nitrates + nitrites + ammonium)

sont disponibles. Les faibles rapports Si/N (< 1) observés de fin mars à fin juillet (Fig. II.) suggèrent que l'acide orthosilicique est potentiellement limitant durant cette période. Cependant, l'examen de ces rapports ne nous permet pas de conclure sur la limitation de la croissance des diatomées, celle-ci étant fortement dépendante de la composition spécifique du phytoplancton. Ainsi, afin d'accéder de manière plus sûre à la limitation d'un élément nutritif, les concentrations *in-situ* de l'élément peuvent être comparées aux constantes de demi-saturation de l'espèce pour la consommation de nutriments (Ks). Si les concentrations de sels nutritifs dans le milieu sont inférieures au Ks, leur consommation par les diatomées est limitée. De fortes variations dans les Ks sont observées selon les espèces et les conditions environnementales (Martin-Jézéquel *et al.*, 2000). Cependant, nous considérerons ici qu'il existe une limitation quand les concentrations du milieu naturel sont inférieures aux Ks moyens proposés par Del Amo *et al.* (1997a) pour les espèces de la rade de Brest : 0,2 - 2,0 et 2,0 μM pour les phosphates, l'acide orthosilicique et l'azote, respectivement. Ces Ks représentent des valeurs moyennes pour les populations de diatomées qui se succèdent au cours de l'année.

Il faut préciser que ces Ks ne permettent d'accéder qu'à une limitation de l'absorption de l'acide orthosilicique et non de la croissance des diatomées. Seuls les Km (constante de demi-saturation de la croissance), dont les valeurs ne sont pas connues pour les diatomées de la rade de Brest, permettent d'accéder à la limitation de la croissance. Ils sont généralement beaucoup plus faibles que les Ks, les diatomées pouvant maintenir des divisions cellulaires alors que la consommation de nutriments est limitée (Brzezinski, 1990).

Ainsi, en 1998, dès le début du bloom de *Cerataulina pelagica* (22 mai), les concentrations en acide orthosilicique sont inférieures au Ks et demeurent faibles jusqu'au mois de juillet (0,6-0,8 μM). Même si les phosphates n'ont pas été mesurés en 1998, la limitation par l'acide orthosilicique semble avoir été effective, et comme en 1992 et 1993, elle aurait entraîné l'effondrement du bloom de diatomées (Ragueneau *et al.*, 1994 ; Del Amo *et al.*, 1997).

En 1999, les valeurs du rapport Si/N, durant les trois premiers blooms printaniers (*Thalassiosira* sp. le 25 mars, *Rhizosolenia delicatula* le 30 avril et *Chaetoceros* sp. le 2 juin), sont inférieurs à 1, tout comme en 1998. Cependant, les concentrations ambiantes en acide orthosilicique demeurent au-dessus du seuil de 2 μM pendant le maximum (30 avril) et lors de la fin de l'efflorescence de *Rhizosolenia delicatula*. Les fortes teneurs en azote total mesurées durant cette période (de l'ordre de 10 μM) suggèrent que cet élément n'est pas limitant. Les

concentrations de phosphates diminuent fortement dès le début du bloom (de 0,21 à 0,05 μM) et demeurent inférieures à 0,08 ($K_s = 0,2 \mu\text{M}$) du 24 avril au 19 mai. De plus, les rapports Si/P sont largement supérieurs à 16 durant cette période. Il est ainsi fort probable qu'une limitation en phosphates empêche le développement prolongé de cette efflorescence. Ainsi, si l'efflorescence de *Cerataulina pelagica* (1998) semble être limitée par l'acide orthosilicique, celle de *Rhizosolenia delicatula* (1999) semble limitée par les phosphates.

Selon Bienfang *et al.* (1982), la vitesse de sédimentation des diatomées est dépendante de la nature de l'élément limitant. Ces auteurs démontrent de façon expérimentale que les vitesses de sédimentation des diatomées sont plus élevées lors d'une carence en acide orthosilicique que lors d'une carence en phosphate. Ces vitesses de sédimentation différentielles pourraient provenir de différences qualitatives des agrégats et expliquer les variations d'amplitude dans les accidents de croissance de la coquille Saint-Jacques entre les années 1998 ($100 \mu\text{m.j}^{-1}$) et 1999 ($28 \mu\text{m.j}^{-1}$), par une perturbation plus ou moins intense des activités de nutrition et de filtration de *P. maximus* par colmatage des branchies.

La dynamique des sels nutritifs semble être un facteur déterminant pour le devenir des blooms de phytoplancton en rade de Brest. En modifiant la vitesse et/ou les propriétés des cellules qui sédimentent, leur dynamique contrôle indirectement les anomalies de croissance coquillières de cette espèce.

1.4.2.2 Anomalies de croissance des années 2000 et 2001

L'analyse des années 1998 et 1999 nous a conduit à énoncer l'hypothèse que le seuil de $5 \mu\text{g.l}^{-1}$ de chlorophylle *a* dans la couche de fond était déterminant dans l'initiation des perturbations de la croissance de *P. maximus*. Cependant, durant l'année 2000, l'accumulation de chlorophylle *a* ne dépasse pas $3,7 \mu\text{g.l}^{-1}$ dans la couche de fond et un ralentissement de croissance est cependant observé du 5 mai au 6 juin. En 2001, les deux accidents de croissance correspondent cependant à des efflorescences de forte intensité (6 et $6,5 \mu\text{g.l}^{-1}$). Les concentrations de chlorophylle *a* observées sont le bilan de la production et de la consommation par les filtreurs pélagiques ou benthiques. Les différences de seuil observées pourraient être le résultat d'un broutage différentiel. Ainsi, un seuil de biomasse chlorophyllienne n'est pas, seul, un critère pertinent pour expliquer les anomalies de croissance chez *Pecten maximus*. Des mesures de flux de sédimentation seraient plus adaptées.

En 2000 et 2001, des expériences de cinétiques d'incorporation d'acide orthosilicique, par l'ajout d'un traceur radioactif (^{32}Si) ont permis d'accéder directement aux limitations par $\text{Si}(\text{OH})_4$ et de déterminer le K_s et le V_{\max} (vitesse maximale d'incorporation de $\text{Si}(\text{OH})_4$ des populations naturelles de diatomées de la rade de Brest (Leynaert, UMR 6539, IUEM).

D'autre part, des indices de limitation ont été systématiquement déterminés par le rapport entre les vitesses d'incorporation de $\text{Si}(\text{OH})_4$ mesurées sur les populations naturelles à la concentration ambiante (V) et après enrichissement (V_{\max}) de ces échantillons avec des concentrations saturantes de $\text{Si}(\text{OH})_4$ (20 μM ; Glibert & McCarthy, 1984; Leynaert *et al.*, 2001). Le rapport entre les vitesses d'incorporation de $\text{Si}(\text{OH})_4$ des échantillons *in situ* et enrichis (V/V_{\max}) donne une indication du degré de limitation : plus l'indice de limitation (V/V_{\max}) est proche de zéro, plus l'incorporation d'acide orthosilicique par les diatomées est limitée par les concentrations ambiantes en $\text{Si}(\text{OH})_4$. Un indice de 0,2 signifie que l'ensemble de la communauté de diatomées, présente dans le milieu, n'incorporait du $\text{Si}(\text{OH})_4$ qu'à 20% de sa vitesse maximale.

Les différentes cinétiques au cours de l'année 2000 (Ragueneau *et al.*, 2002) et 2001 (Leynaert, com. pers.), malgré les différences de composition spécifique des espèces phytoplanctoniques mises en jeu, mettent en évidence des K_s très voisins de l'ordre de 1,3-1,4 μM , excepté le 17 mai 2001 où le K_s est particulièrement élevé (Tableau II.1). Étonnamment, ce K_s diffère fortement de la valeur mesurée quelques jours plus tard alors que la même espèce de diatomée était dominante (21 mai 2001). Cette valeur de 4,64 pourrait résulter d'une co-limitation avec autre élément nutritif ou un facteur physique. Néanmoins, l'utilisation d'un K_s moyen de 1,5 μM pour l'ensemble de la période printanière semble approprié en rade de Brest. Les K_s utilisés pour l'interprétation des données en 1998 et 1999 (2 μM), sont légèrement surestimés, mais leur utilisation ne remet pas en question l'interprétation générale.

Tableau II.1. Paramètres physiologiques d'absorption (K_s) de l'acide orthosilicique en rade de Brest.

Dates	17/05/00	21/06/00	24/04/01	17/05/01	21/05/01	21/06/01
Espèces dominantes	<i>Pseudo-nitzschia</i> sp. et <i>Rhizosolenia fragilissima</i>	<i>Chaetoceros</i> sp.	<i>Skeletonema costatum</i>	<i>R. delicatula</i>	<i>R. delicatula</i>	<i>Chaetoceros</i> sp.

Ks (µM)	1,34	1,38	1,41	4,64	1,85	1,36
----------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------

L'augmentation du taux d'incorporation de Si(OH)_4 par les communautés de diatomées naturelles de la rade de Brest après les enrichissements en acide orthosilicique, montre de façon évidente une limitation de la production de silice biogénique lors de toutes les cinétiques évoquées ci-dessus et confirme le rôle majeur joué par cet élément durant la phase printanière en rade de Brest.

L'examen des indices de limitation lors des différentes efflorescences (Fig. II. 14) de l'année 2000 met en évidence de fortes limitations le 12 avril, le 5 mai, le 17 mai, le 21 et 26 juin et le 27 juillet 2000. Lors des efflorescences de *S. costatum* (1-4 mai) et de *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (17-18 mai), synchrones au ralentissement de croissance des coquilles Saint-Jacques, les cellules de diatomées sont limitées à 20% et à 10% de l'absorption maximale de Si(OH)_4 . En 2001, les indices de limitation sont inférieurs à 0,35 jusqu'à la fin du mois de juin. Lors des accidents de croissance de la coquille Saint-Jacques, les diatomées étaient limitées à 35% (24 avril, *Skeletonema costatum*) et 15% (17 mai, *Rhizosolenia delicatula*) de leur consommation maximale. Ces résultats confirment l'hypothèse que les concentrations ambiantes en acide orthosilicique limitent la production de silice biogénique des diatomées et jouent certainement un rôle primordial dans l'effondrement des blooms de diatomées, synchrones aux ralentissements de croissance, en 2000 et en 2001.

L'approche utilisée pour les années 1998 et 1999, conduit aux mêmes conclusions en 2000, avec des rapports Si/N inférieurs à 1 jusqu'au mois de juillet, et des concentrations particulièrement faibles en acide orthosilicique le 3 mai (non détectable) et le 18-19 mai (1,6 et 0,6 µM). Cependant, une possible co-limitation avec les phosphates est envisagée, étant donné que les rapports Si/P sont supérieurs à 16 pendant ces deux efflorescences avec des concentrations ambiantes inférieures à 0,1 µM.

En 2001, les rapports Si/N sont également inférieurs à 1 lors des deux efflorescences synchrones aux ralentissements de la croissance journalière de la coquille Saint-Jacques. Les concentrations ambiantes en Si(OH)_4 sont égales à 1,6 µM le 28 avril et le 12 mai, suggérant une limitation par l'acide orthosilicique, mais de moindre ampleur qu'en 2000. Comme en 2000, une co-limitation avec les phosphates pourrait exister, puisque les rapports Si/P sont supérieurs à 16 durant ces deux efflorescences et que les concentrations ambiantes en phosphates sont inférieures à 0,1 µM.

L'étude effectuée en 2000 et 2001 a permis de montrer directement et de confirmer la limitation de la production de silice biogénique par les concentrations ambiantes en acide

orthosilicique. Néanmoins, l'étude comparée des cinétiques d'incorporation, des rapports de Redfield et des concentrations ambiantes en sels nutritifs montre qu'une co-limitation par les phosphates n'est pas à exclure lors de ces efflorescences.

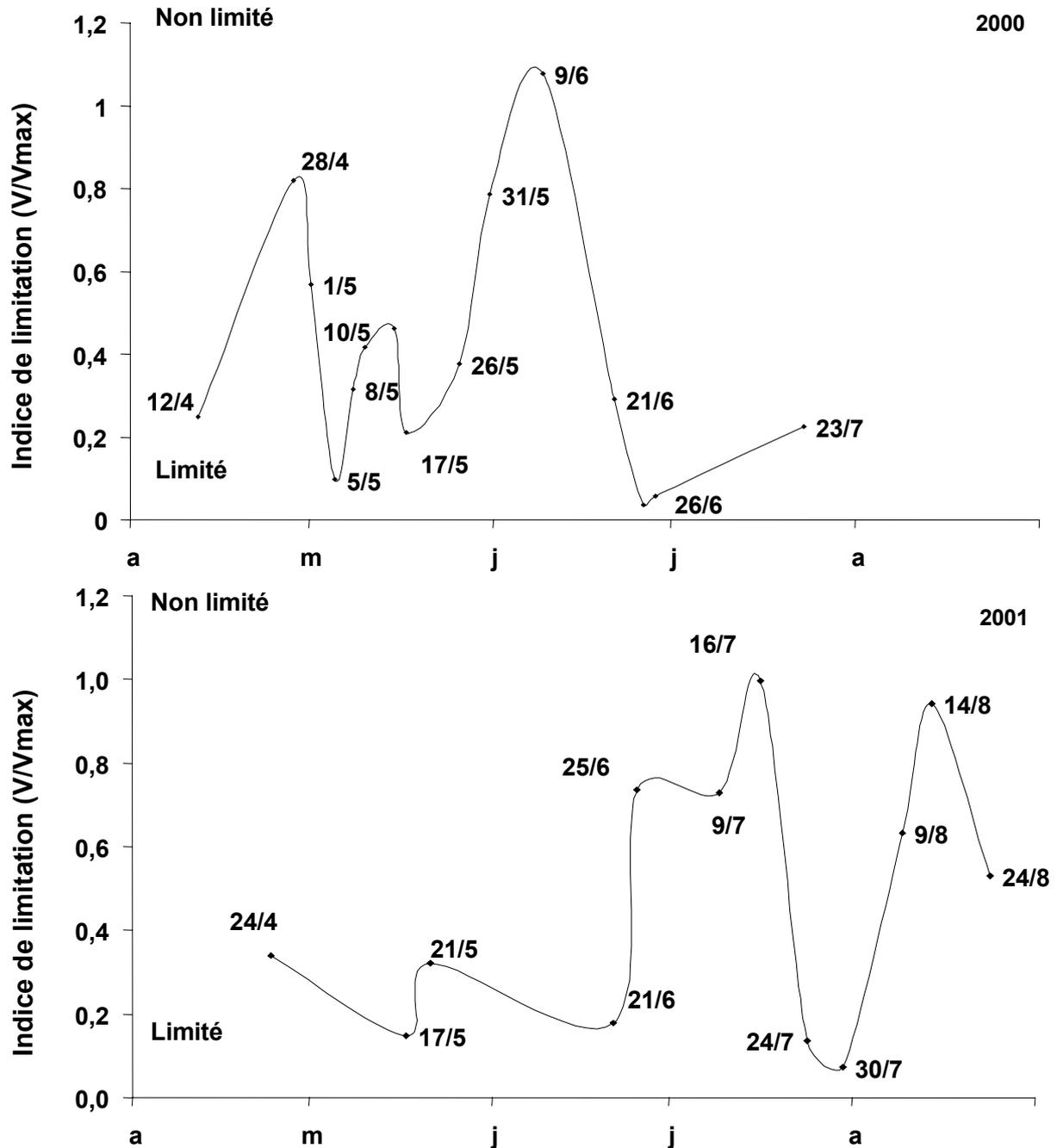


Figure II.14. Indices de limitation (V/V_{max}) en acide orthosilicique des communautés de diatomées en rade Brest au cours des années 2000 et 2001 (Leynaert, com. pers.).

Ainsi l'ensemble de nos résultats sur les quatre années du suivi démontre clairement que des blooms de phytoplancton (diatomées et dinoflagellés) sont responsables de

ralentissements de croissance chez les juvéniles de *P. maximus* en rade de Brest, et ce pour chacune des années étudiées, confirmant les observations de Chauvaud *et al.* (1998). Contrairement aux idées généralement admises, des blooms de diatomées peuvent avoir des effets néfastes sur un invertébré benthique. Ces ralentissements de croissance sont observés lors des efflorescences printanières de diatomées, lors du bloom prédominant de l'année (excepté en 2000), lorsque la croissance des coquilles Saint-Jacques présente une courbe ascendante. Des ralentissements de croissance sont aussi observés lors de chaque efflorescence de dinoflagellés (*Gymnodinium chlorophorum*) en 1998, 1999 et 2001.

Le mécanisme de perturbation de la croissance chez les coquilles Saint-Jacques demeure cependant toujours obscur. Les différents niveaux de perturbation de la croissance, par les blooms de diatomées, selon les années, restent à élucider. En 1998, 2000 et 2001, l'hypothèse d'une sédimentation due à une carence en acide orthosilicique et d'une possible co-limitation par les phosphates est avancée. Cependant, les anomalies de croissance ont des amplitudes différentes, et ne sont pas en relation avec l'ampleur des limitations. Des vitesses de sédimentation différentielles résultant de limitations par différents éléments nutritifs (Lorrain *et al.*, 2000) et vraisemblablement des différences qualitatives des cellules agrégées ont été invoquées. Des niveaux d'agrégation différentiels des cellules de diatomées pourraient dépendre à la fois de l'élément nutritif mis en jeu et de la composition spécifique du phytoplancton. En effet, plusieurs espèces de diatomées sont impliquées dans ces ralentissements de croissance. Les particules transparentes d'exopolymères (TEP), récemment mis en évidence dans les processus d'agrégation (Alldredge *et al.*, 1993 ; Passow & Alldredge, 1995, Logan *et al.*, 1995 ; Engel & Schartau, 1999) ne sont pas produites par toutes les espèces de diatomées (Logan *et al.*, 1995 ; Crocker & Passow, 1995), et des quantités différentielles de ces particules lors des différentes efflorescences, pourraient expliquer que les diatomées plus ou moins recouvertes de mucus perturbent différemment les fonctions vitales de la coquille Saint-Jacques. Par exemple, le ralentissement de croissance le plus important ($-100 \mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$) est observé en 1998, suite à une efflorescence de l'espèce *Cerataulina pelagica*, qui pourrait sécréter plus de TEP. Les prélèvements d'agrégats sont extrêmement difficiles à réaliser, car si ces structures sont stables dans l'eau, elles sont très fragiles lors des manipulations et leur taille ne peut être adéquatement mesurée que par des méthodes non-intrusives (Eisma *et al.*, 1996). Des photographies *in situ*, à l'aide d'une caméra numérique pourraient permettre de caractériser ces agrégats (taille, aspect) et de mettre en évidence des différences selon l'espèce considérée.

Des mesures complémentaires d'oxygène à l'interface eau-sédiment semblent également indispensables, les ralentissements pouvant être le résultat d'hypoxies lors de la dégradation de ces efflorescences. Les caractéristiques physiques et chimiques complexes de la couche limite pourraient en effet induire des épisodes passagers d'hypoxie, qui étant donné la sensibilité des coquilles Saint-Jacques, suffiraient à perturber son métabolisme et seraient imprimés dans la croissance journalière.

1.4.3 Complexité des relations diatomées - acide orthosilicique

L'étude des ralentissements de croissance coquillière de la coquille Saint-Jacques et de leur lien avec la dynamique phytoplanctonique en rade Brest nous a conduit à observer en détail, la composition spécifique des efflorescences phytoplanctoniques et les variations des concentrations en sels nutritifs. En période printanière, de fortes carences en acide orthosilicique sont mises en évidence, et ce, dès les premières efflorescences (avril) lors des quatre années d'étude. Les populations de diatomées se maintiennent toutefois durant tout le printemps et le début de l'été alors que les apports par les rivières sont relativement faibles (Partie I, Fig. I.25). Ragueneau *et al.*, 2002 ont mis en évidence le rôle des crépidules dans la régénération de l'acide orthosilicique au cours de l'année 2000. Ces organismes, par leur activité de filtration et la formation de grandes quantités de biodépôts, favoriseraient la rétention puis le recyclage de la silice biogénique à l'interface eau-sédiment, permettant le maintien d'une production de diatomées. Cet acide orthosilicique régénéré, directement consommé par les diatomées, ne peut être mis en évidence que par une mesure de flux à l'interface eau-sédiment, les mesures ponctuelles des concentrations en acide orthosilicique ne représentant qu'un bilan net entre la production et la consommation.

Les flux de $\text{Si}(\text{OH})_4$ ont été mesurés sur des sites avec et sans crépidules, en 2000 (Ragueneau *et al.*, 2002) et en 2001 (Ragueneau *et al.*, en préparation). Ces résultats mettent en évidence des différences de fonctionnement entre ces deux années pour le site avec crépidules (Fig. II.15). Sur le site sans crépidules, aucune différence notable n'est notée entre les années 2000 et 2001 témoignant que les différences observées sur le site avec crépidules sont bien un effet direct de ce suspensivore. En 2000, les flux de $\text{Si}(\text{OH})_4$ augmentent progressivement du mois de mai au mois de septembre, alors qu'en 2001, le maximum est observé dès le mois de juin et les flux diminuent ensuite jusqu'au mois d'octobre.

Corrélativement, une forte production de diatomées est observée jusqu'à la fin du mois de juillet en 2000 alors qu'en 2001, les deux efflorescences majoritaires ont lieu au mois d'avril

et de mai (Fig. II.16). Les maxima de régénération en Si(OH)_4 ont donc lieu approximativement un mois après les maxima de chlorophylle *a*, suggérant que cette période correspond au temps requis pour la dissolution de la silice biogénique.

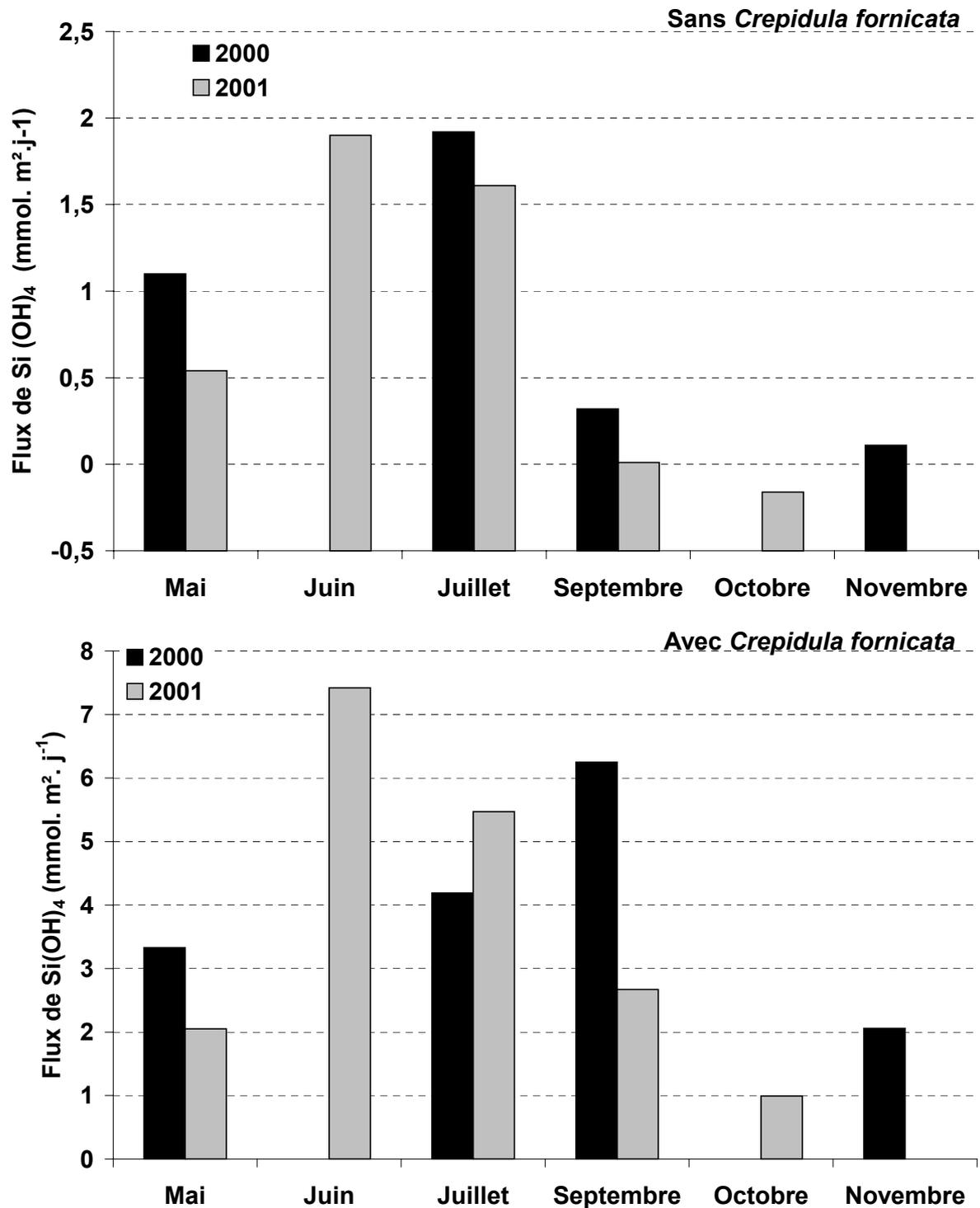


Figure II.15. Flux saisonniers benthiques de Si(OH)_4 mesurés à deux sites contrastés de la rade de Brest de par leurs différentes concentrations en crépidules (D'après Ragueneau *et al.*, 2002 et Ragueneau *et al.*, en prép.). Les barres noires représentent les flux en 2000, et les barres grises en 2001. En juin et octobre 2000, les flux n'ont pas été déterminés.

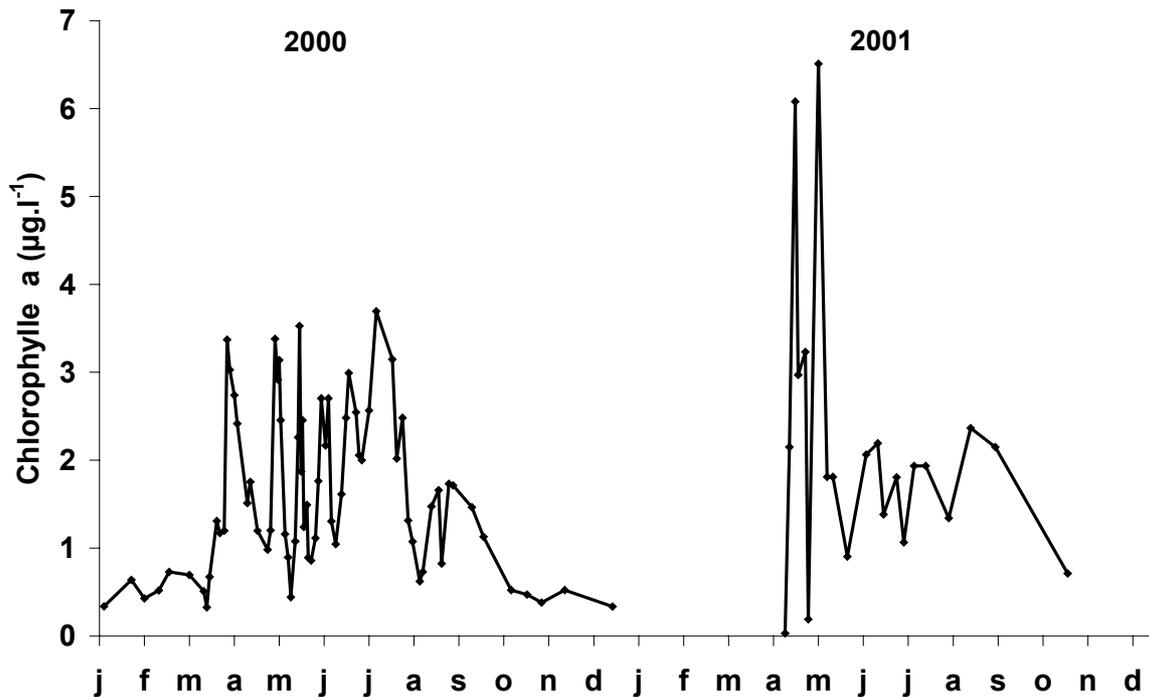


Figure II.16. Concentrations en chlorophylle *a* sur la couche de fond à Roscanvel en 2000 et 2001 (en $\mu\text{g.l}^{-1}$).

La comparaison des concentrations en acide orthosilicique de la rade de Brest au cours des quatre années d'étude confirme l'existence d'un décalage temporel de la régénération de ce sel nutritif entre l'année 2000 (fin du mois de juillet) et 2001 (mi-juin), mais également entre l'année 2000 et les deux autres années (1998-1999). Cette régénération des stocks d'acide orthosilicique, pour les quatre années, a lieu en période estivale lorsque les débits des fleuves sont extrêmement faibles, attestant d'une régénération *in situ* plutôt que d'apports par les rivières, appuyant fortement le rôle de la crépidule sur cette régénération. D'autre part, les concentrations en Si(OH)_4 augmentent avec une pente beaucoup plus importante en 2000 (approximativement $0,08 \mu\text{M.j}^{-1}$ contre $0,04 \mu\text{M.j}^{-1}$ les autres années). Ces flux apparents de Si(OH)_4 , deux fois plus importants en 2000, par rapport aux autres années, s'expliqueraient alors par une dissolution à partir de stocks plus importants de BSi. En effet, la période productive de diatomées a été plus longue en 2000, entraînant un stockage plus important de silice biogénique.

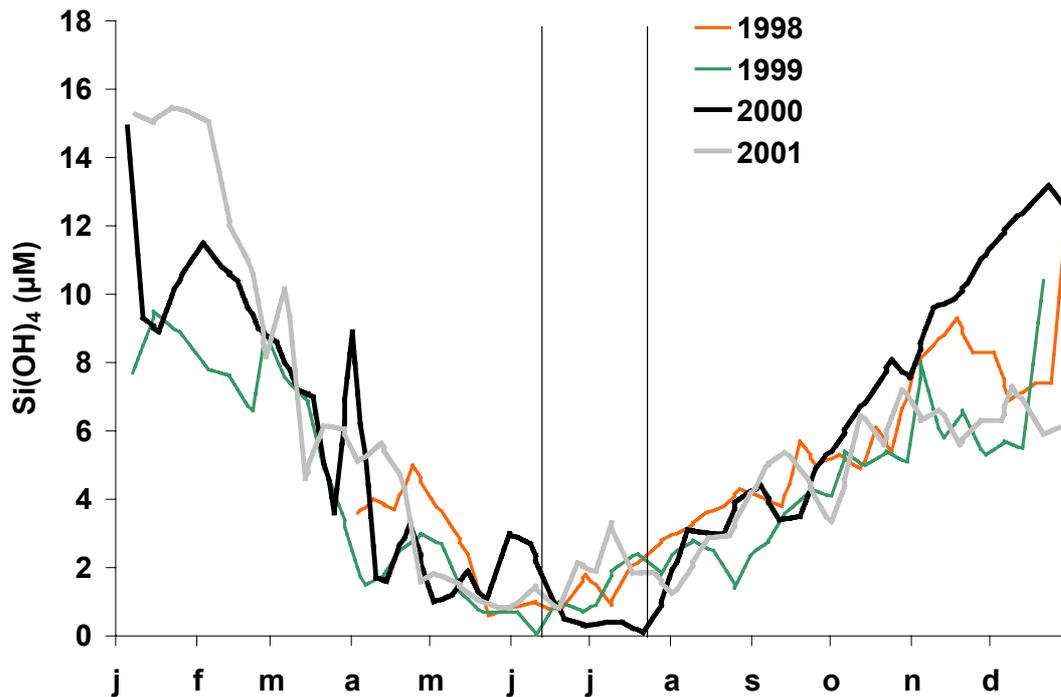


Figure II.17. Evolution saisonnière des concentrations en acide orthosilicique (μM), en surface, pour la période 1998-2001 à la station SOMLIT.

Ces résultats confirment le rôle de la crépidule dans la régénération de l'acide orthosilicique pour les quatre années d'étude, et illustrent le caractère atypique de l'année 2000. Les débits du mois de mai et de juin 2000, plus importants que la moyenne depuis 25 ans et que 1998, 1999 et 2001 (Partie I, § 4.1.1) ont donné lieu à des apports récurrents de silicates, permettant un nombre d'efflorescences, pendant la période productive, supérieur à celui observé les autres années du suivi. En conséquence, les maxima de flux d'acide orthosilicique dus à la régénération par les suspensivores benthiques sont décalés dans le temps et deux fois plus importants que les autres années. L'année 2000 est d'autre part caractérisée par la dominance des diatomées tout au long de la période productive, semblant illustrer et confirmer le rôle primordial de l'acide orthosilicique pour le maintien des espèces siliceuses.

Cependant, en 1998, 1999 et 2001, le basculement d'une production siliceuse à une production non-siliceuse a lieu en période estivale et/ou automnale alors que les concentrations en acide orthosilicique observées ne sont pas limitantes (Fig. II.18). Les mesures d'indices de limitations effectuées par Leynaert indiquent que les populations de diatomées ne sont effectivement pas limitées en août 2001 (Fig. II.14) alors que les dinoflagellés dominant la production primaire.

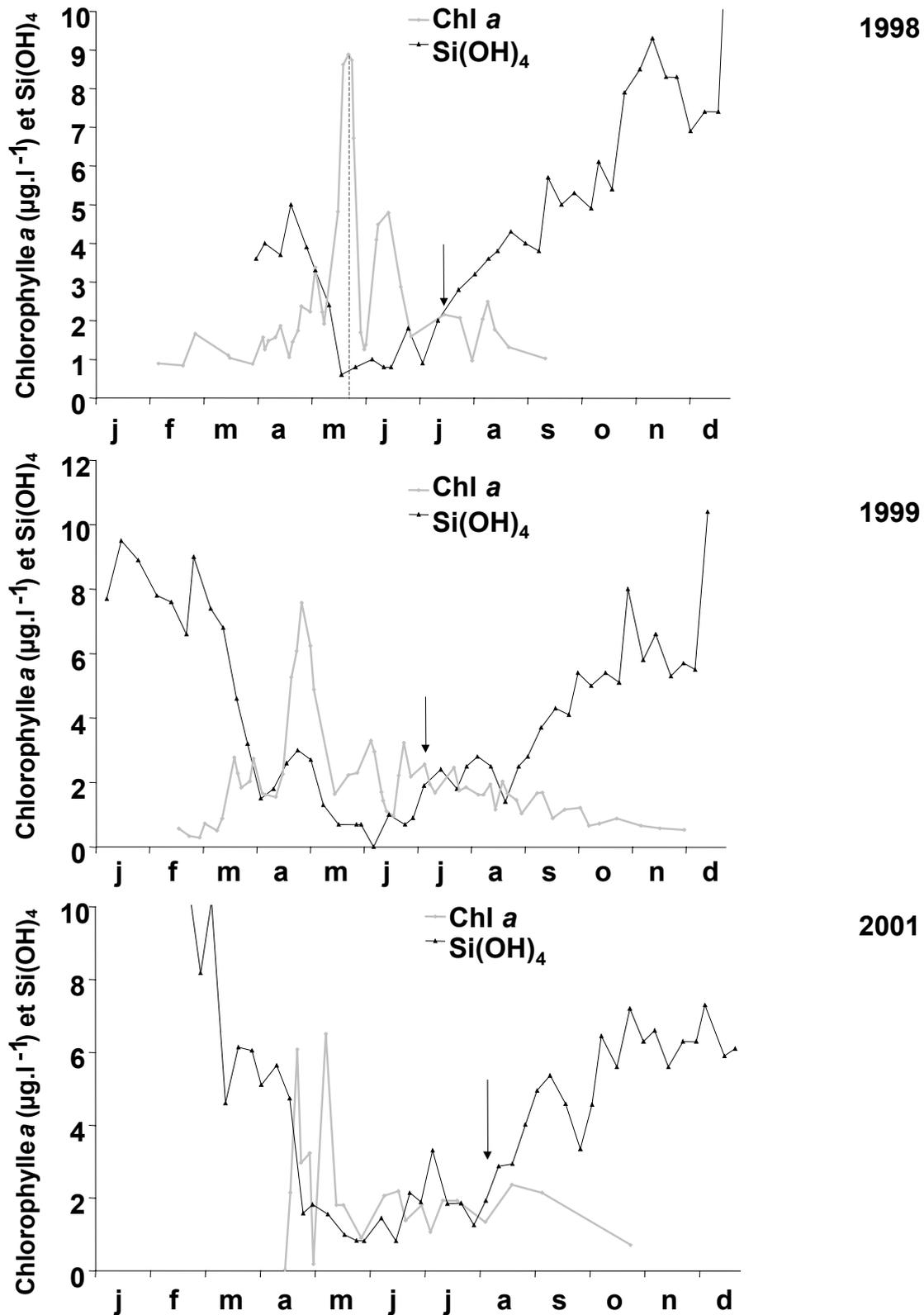


Figure II.18. Evolution des concentrations de chlorophylle *a* sur la couche de fond à Roscanvel ($\mu\text{g.l}^{-1}$, courbe grise), des concentrations en acide orthosilicique (μM , triangles noirs) en surface, au cours des années 1998, 1999 et 2001 à la station SOMLIT. Les flèches noires représentent la dominance des dinoflagellés.

Le consensus général invoque des carences en Si(OH)_4 pour expliquer le remplacement des diatomées par des espèces non-siliceuses (Officer & Ryther, 1980 ; Conley *et al.*, 1993). Cependant, il apparaît que si l'acide orthosilicique est un élément nécessaire pour le développement des diatomées, il n'est pas suffisant au maintien de ces populations en rade de Brest. En particulier, si la limitation par l'acide orthosilicique, pendant la phase printanière, explique la fin des efflorescences de diatomées, des phénomènes plus complexes semblent intervenir dans la seconde partie de l'année.

Des études en mésocosmes pourraient nous permettre de mieux comprendre le phénomène complexe de basculement des populations de diatomées vers des espèces non-siliceuses, et en particulier la compétition diatomées/dinoflagellés vis à vis des nombreux paramètres physico-chimiques (lumière, température, degré de stratification, limitation par d'autres sels nutritifs...). D'autre part, des effets amplificateurs, comme un broutage spécifique du zooplancton ou des suspensivores benthiques sur les diatomées, pourraient accentuer la dominance des dinoflagellés à partir de la période estivale. L'étude des variations saisonnières de la composition spécifique et de l'abondance du zooplancton serait donc intéressante. Un broutage spécifique des suspensivores benthiques pourrait être mis en évidence par l'étude des pigments contenus dans l'estomac et les faeces de ces organismes, comparés à ceux présent dans le milieu.

Chapitre 2. Régime alimentaire et physiologie :

Application du traçage isotopique naturel

2.1 Introduction

Dans les milieux côtiers, les sources de nourriture pour un invertébré marin sont multiples et variées rendant difficile leur identification, en particulier pour les suspensivores benthiques. Or, dans ce type d'écosystèmes, ces derniers sont susceptibles, par la capture et l'ingestion de matière organique particulaire en suspension, d'influer sur la biomasse phytoplanctonique (Cloern, 1982) mais aussi sur le cycle des nutriments (Chauvaud *et al.*, 2000 ; Ragueneau *et al.*, 2002). En effet, la filtration des bivalves s'accompagne d'un rejet de matériel non digéré à la surface du sédiment sous forme de fèces et de pseudo-fèces, transférant ainsi le carbone et les nutriments de la colonne d'eau vers les sédiments. Les biodépôts résultants, riches en carbone, en azote ou en silice, peuvent être retenus, utilisés ou recyclés stimulant l'activité du benthos environnant ou rendant disponibles ces éléments pour la colonne d'eau (Norkko *et al.*, 2001; Ragueneau *et al.*, 2002). Ce rôle potentiel de modification des flux benthiques induit un contrôle du couplage pelagos-benthos. Chez la coquille Saint-Jacques, l'étude des variations de croissance journalière (voir Partie II chapitre 1) a démontré l'existence d'un tel couplage, par l'interférence entre les blooms de phytoplancton et les fonctions biologiques de cette espèce. Cette étude (Lorrain *et al.*, 2000) a aussi montré que la modification des apports de sels nutritifs avait des conséquences sur la biologie de l'organisme. Une telle perturbation de l'activité de filtration, si elle concernait l'ensemble des suspensivores benthiques, pourrait avoir des répercussions sur le recyclage des nutriments.

Ainsi, pour mieux comprendre le rôle fonctionnel de ces organismes, nous essaierons, à travers l'exemple de la coquille Saint-Jacques, de qualifier précisément les sources de nourriture assimilées, et en particulier la relation avec le phytoplancton. L'étude du régime alimentaire des filtreurs benthiques se heurte cependant à de nombreuses difficultés. La nourriture ingérée par un organisme n'est pas assimilée en totalité et il est important de différencier ces processus sélectifs chez un bivalve. En effet, plusieurs niveaux de tri ont lieu, de la prise de nourriture à l'assimilation, par la production de pseudofèces, de fèces et d'excrétion azotée. La méthode classique de détermination des contenus stomacaux renseigne uniquement sur la nourriture ingérée à court terme. Les rapports isotopiques des tissus d'un

organisme sont une bonne alternative, puisqu'ils reflètent la nourriture assimilée à long terme (voir § 2.2.2.1). De plus, il est communément admis dans la littérature que la composition isotopique d'un organisme reflète celle de sa source trophique (De Niro & Epstein, 1978, 81 ; Michener & Schell, 1994). De nombreuses études utilisent les rapports isotopiques du carbone et de l'azote comme des traceurs naturels de transferts énergétiques dans les réseaux trophiques.

Dans ce chapitre, les rapports isotopiques du carbone et de l'azote seront utilisés pour tracer le régime trophique de *Pecten maximus* (flux à l'échelle d'un réseau trophique) mais aussi pour tenter de tracer les flux d'énergie à l'intérieur même de l'organisme afin d'approfondir nos connaissances de la biologie de la coquille Saint-Jacques (Lorrain *et al.*, 2002). En effet, le métabolisme d'un organisme varie en fonction des priorités d'allocation d'énergie au cours de l'année. Cette énergie peut donc être allouée alternativement à la reproduction (gonade) ou au stockage (muscle et glande digestive) et sera répartie différemment entre les organes correspondant. Il en résulte des transferts de métabolites entre organes, variables selon les priorités d'allocation d'énergie d'un organisme, c'est-à-dire selon les saisons. Notre hypothèse est que ces transferts pourraient être suivis par la détermination des variations isotopiques saisonnières entre les différents tissus de *Pecten maximus*.

2.2 Usage de l'outil isotopique

2.2.1 Généralités sur les isotopes

La géochimie des isotopes stables débute en 1913, grâce à J. Thomson qui découvre que le Néon a deux isotopes distincts. Mais les fondements de la géochimie actuelle datent essentiellement des travaux d'Urey (1947) sur les propriétés thermodynamiques des substances isotopiques, et du développement du spectromètre de masse de rapports isotopiques par Nier en 1947. Depuis lors, les spectromètres de masse n'ont cessé d'évoluer pour permettre l'analyse d'échantillons de plus en plus petits, sans pour autant compromettre de façon significative la justesse des analyses.

La dernière décennie a vu une rapide extension de l'utilisation de l'abondance naturelle des isotopes stables en écologie. Les géochimistes et les paléo-océanographes ont développé une base à la fois théorique et empirique pour les études de cycles globaux géochimiques, des conditions climatiques (voir Partie III), des sites hydrothermaux. De façon

similaire, les biologistes ont développé ces techniques pour étudier les plantes et les animaux. Le champ d'utilisation des isotopes est très large puisqu'il s'applique à la fois aux systèmes terrestre, aquatique et atmosphérique (et même extra-terrestre). L'analyse isotopique est donc devenue un outil standard pour tous les scientifiques travaillant sur les cycles des éléments et de la matière, à l'échelle des molécules, du tissu, de l'organisme, d'un réseau trophique, de l'écosystème ou même de la planète.

Les rapports isotopiques sont donc des outils particulièrement adaptés à l'étude des processus et des flux d'énergie dans les écosystèmes aquatiques (pour une synthèse, voir Owens, 1987 ; Lajtha & Michener, 1994 ; Hoefs, 1997)

2.2.1.1 Qu'est ce qu'un isotope ?

Les isotopes sont des atomes dont le noyau contient le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent. Le terme "isotope" est dérivé du grec (ισο τοπος signifiant place égale) et signifie donc que les isotopes occupent une place égale dans le tableau périodique. La plupart des éléments possèdent plus d'un isotope, c'est-à-dire qu'ils ont le même symbole (E), le même numéro atomique (Z = nombre de protons) mais une masse atomique différente (A = neutrons + protons). Par exemple, tous les isotopes du carbone ont 6 protons, mais le ^{13}C a 1 neutron de plus que le ^{12}C (Fig. II.19) et a donc une masse atomique supérieure. Ces différences de masse, comme nous allons le voir, sont à la base de la théorie isotopique.

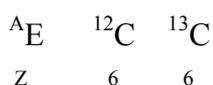


Figure II.19. Définition d'un isotope et exemple du carbone.

Les isotopes peuvent être stables ou instables (radioactifs). Il existe approximativement 300 isotopes stables pour près de 12000 radioactifs. Le carbone compte par exemple trois isotopes, le ^{12}C et le ^{13}C sont stables alors que le ^{14}C est radioactif. Un isotope est dit radioactif lorsqu'il se désintègre spontanément pour former un autre élément en émettant des particules (rayons α , β et parfois γ). Un isotope stable ne se désintègre pas au cours des temps géologiques, mais peut être produit par la désintégration d'isotopes radioactifs. Les isotopes stables sont généralement des noyaux de faible masse atomique,

ayant un nombre de neutrons et de protons équivalent ($N=Z$). Quand ce rapport augmente (ex : $N/Z=1.5$), des désintégrations radioactives peuvent apparaître.

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 98.892 %	^{13}C 1.108 %	^{14}C $< 10^{-10}$ %
Azote	^{14}N 99.6337 %	^{15}N 0.3663 %	
Oxygène	^{16}O 99.759 %	^{17}O 0.0374 %	^{18}O 0.2039 %

Si l'on fait abstraction de quelques anomalies isotopiques et des effets de la radioactivité, les rapports isotopiques d'un même élément sont constants en tout point du système solaire, en raison du fort brassage initial des éléments et des isotopes lors de sa formation. Cependant, lorsque la différence relative de masse entre les deux isotopes d'un même élément excède quelques pour cent, un fractionnement (voir § 2.2.1.3) peut se produire, c'est-à-dire que les différents isotopes ne se répartissent pas de la même manière au cours des processus physiques, chimiques ou biologiques. La détection et la connaissance de ces fractionnements isotopiques forment la base de la géochimie des isotopes stables.

2.2.1.2 Notation

Les rapports des isotopes stables sont mesurés à l'aide d'un spectromètre de masse de rapport isotopique (IRMS, Isotope Ratio Mass Spectrometer), qui mesure le rapport des isotopes lourds et légers dans un échantillon et les compare à un standard. En théorie, l'abondance absolue des isotopes dans un échantillon peut être mesurée, cependant ces différences sont très faibles et sujettes aux fluctuations quotidiennes du spectromètre. La mesure simultanée de l'échantillon et du standard de composition connue permet donc de corriger ces erreurs, puisque ces fluctuations seront reflétées de manière équivalente dans la mesure des deux rapports.

Les rapports isotopiques des échantillons sont ensuite exprimés en terme de déviation (δ) en ‰ par rapport au standard de valeur théorique 0‰.

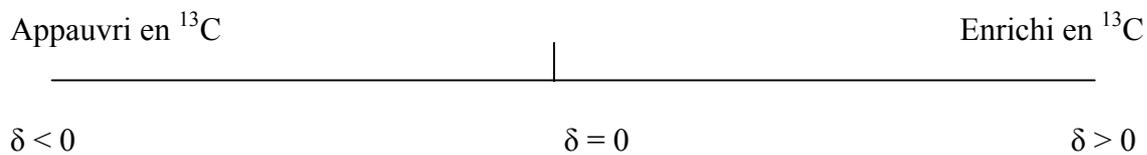
$$\delta (\text{‰}) = (R_{\text{éch}} / R_{\text{std}} - 1) \times 1000,$$

R étant le rapport de l'isotope lourd (rare) sur le léger (abondant).

Ces standards sont utilisés internationalement, et choisis pour être parfaitement stables et homogènes, permettant l'intercalibration des spectromètres. Pour le carbone, on se réfère

généralement à un calcaire fossile, le Pee Dee Belemnite (PDB), et pour l'azote, à l'azote atmosphérique:

Les valeurs de δ ne sont donc pas des abondances isotopiques absolues mais bien des différences de rapports isotopiques entre un échantillon et un standard. Une valeur de δ positive signifie donc que le rapport isotopique de l'échantillon est plus fort que celui du standard, et une valeur négative que le rapport isotopique de l'échantillon est plus faible que celui du standard. Les échantillons contenant davantage d'isotope lourd sont "enrichis" ou plus "lourds" par rapport aux autres échantillons, et inversement ils sont "appauvris" ou plus "légers" que les autres échantillons :



2.2.1.3 Processus de fractionnement isotopique

Le fractionnement est la répartition différentielle (discrimination) des isotopes du même élément entre différents composés au cours de processus physiques, chimiques ou biologiques. Il en découle des différences de propriétés physiques et chimiques entre les molécules isotopiques, **dues aux légères différences de masse** entre isotopes.

Deux principaux phénomènes sont à la base des différences de propriétés physico-chimiques des isotopes :

1) dans un gaz parfait, les molécules contenant davantage d'isotope lourd ont une plus faible mobilité et donc une plus faible vitesse de diffusion. En effet, à température constante, les molécules ont la même énergie cinétique au regard de leur contenu isotopique ($E = 1/2mv^2$, m = masse moléculaire, v = vitesse moléculaire moyenne). Ainsi, les molécules contenant plus d'isotopes légers auront une vitesse supérieure et vont donc avoir tendance à diffuser plus vite que les molécules "lourdes". Cette propriété joue aussi sur la vitesse de réactivité en favorisant la fréquence de collision avec les autres molécules.

2) Les molécules lourdes sont généralement plus stables que celles contenant l'isotope léger. L'énergie liant les différents atomes d'une molécule est fonction de la fréquence de vibration entre les atomes qui la composent et dépend de la masse de ses isotopes (théorie de la mécanique quantique). Plus la molécule est lourde, plus la fréquence de vibration sera faible et plus l'énergie requise pour rompre les liaisons sera importante, rendant les molécules

plus stables. Les liaisons établies avec l'isotope léger ($^{12}\text{C-H}$) sont plus aisément, et donc, plus rapidement brisées que celles faisant intervenir l'isotope lourd ($^{13}\text{C-H}$). Ainsi, durant une réaction chimique, les molécules contenant l'isotope léger (faibles énergies de dissociation) auront tendance à réagir plus vite que celles contenant l'isotope lourd, et de ce fait à s'accumuler dans les produits de la réaction.

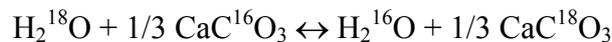
Les fractionnements isotopiques peuvent avoir lieu lors des :

- *réactions d'échange isotopique (a)*
- *processus cinétiques (b)*

- Dans le premier cas (a), il ne s'agit pas de réaction à proprement parler, mais de redistribution isotopique lors de processus d'équilibres entre différentes substances chimiques, différentes phases et différentes molécules. Cela signifie qu'il n'y a pas formation d'un nouveau composé (les réactifs et les produits sont identiques) :



Par exemple, dans le cas de l'équilibre $\text{H}_2\text{O}-\text{CaCO}_3$:



A l'équilibre, les atomes se distribuent entre les composés de façon à minimiser l'énergie libre du système, lorsque les plus fortes liaisons sont créées. Ainsi, les isotopes lourds auront tendance à s'accumuler dans les substances qui forment les liaisons les plus stables : par exemple, dans les composés qui ont un état d'oxydation élevé et dans les composés les plus denses (phase liquide).

- Les réactions cinétiques (b) quant à elles sont normalement associées à des processus rapides, incomplets ou unidirectionnels tels que l'évaporation, la diffusion, et les réactions de dissociation conduisant à la formation d'un nouveau composé ou d'une nouvelle phase. Les exemples de diffusion et d'évaporation sont expliqués par les différentes vitesses de translation des formes isotopiques d'une molécule (phénomène 1). Ainsi, la diffusion du $^{12}\text{CO}_2$ sera plus rapide que celle du $^{13}\text{CO}_2$. De telles différences de vitesse induisent donc la diffusion préférentielle des molécules légères hors du système laissant le réservoir enrichi en isotope lourd, et les isotopes légers auront tendance à s'accumuler dans les produits de la réaction. Dans le cas de l'évaporation, les molécules isotopiquement légères auront tendance à quitter la phase liquide, conduisant à un fractionnement entre la vapeur et le liquide s'ajoutant à celui du processus d'équilibre (évaporation-condensation).

Les effets isotopiques associés aux différences de stabilité de molécules expliquent les forts fractionnements lors des processus de dissociation (phénomène 2). Ils sont fonction, entre autres, de la différence de masse relative entre l'isotope rare et l'isotope abondant. Les processus biologiques, unidirectionnels, sont de bons exemples de réactions isotopiques cinétiques. Les organismes utilisent préférentiellement les espèces isotopiques légères à cause des moindres coûts énergétiques associés à la rupture des liaisons de ces molécules. Cela entraîne des fractionnements significatifs entre le substrat et le produit formé (plus léger). En général, les réactions les plus lentes conduisent à un plus grand fractionnement car l'organisme "a le temps" d'être plus sélectif.

Les fractionnements associés aux effets cinétiques sont généralement beaucoup plus importants que ceux des réactions d'échange isotopique. Il est aussi important de noter que le fractionnement est dépendant de la température puisque les vibrations des molécules sont dépendantes de la température. Plus la température est élevée, moins il y aura de différences entre les compositions isotopiques des différents composés. Ce phénomène est à la base de l'utilisation des isotopes et du fractionnement isotopique pour la reconstruction des paléo-températures, comme nous le verrons en détail au chapitre 1 de la Partie III.

Le fractionnement est mathématiquement décrit par la comparaison des rapports isotopiques de deux composés à l'équilibre chimique ($A \rightleftharpoons B$) ou des composés avant et après une réaction unidirectionnelle ($A \rightarrow B$). Le facteur de fractionnement entre A et B (α) défini ci-dessous sera d'autant plus proche de 1 que les effets isotopiques seront faibles :

$$\alpha_{A-B} = R_A / R_B$$

où R est le rapport de l'isotope lourd sur l'isotope léger dans les composés A et B ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$). L'équation suivante permet de mettre en relation le facteur de fractionnement α et les valeurs de δ :

$$\alpha_{A/B} = (1000 + \delta_A) / (1000 + \delta_B)$$

Les fractionnements étant généralement très faibles ($\alpha \cong 1$), la déviation de α par rapport à 1 est plus couramment utilisée que le facteur de fractionnement. Cette quantité, qui est appelée le fractionnement, est définie par ε qui représente l'enrichissement ($\varepsilon > 0$) ou l'appauvrissement ($\varepsilon < 0$) de l'isotope rare (B) par rapport au léger (A):

$$\varepsilon_{A-B} = (\alpha_{A-B} - 1) * 1000$$

Pour les faibles valeurs de ε (epsilon), $\varepsilon_{A-B} \cong \delta_A - \delta_B \cong 1000 \ln \alpha_{A-B}$. Par exemple, si $\delta_A = 10\text{‰}$ et si $\alpha = 1.020$ alors $\varepsilon = 20\text{‰}$ et $\delta_B = 30\text{‰}$.

2.2.1.4 Spectrométrie de masse de rapports isotopiques (IRMS)

La spectrométrie de masse permet de séparer les ions formés à partir de l'échantillon selon leur rapport masse/charge (m/z) sous l'action d'un champ magnétique, et de mesurer leur abondance relative.

Les abondances isotopiques des éléments légers (C, H, N, O, S) sont mesurées par des spectromètres de masse à source gazeuse. Tous les échantillons doivent donc être convertis en gaz pur avant l'introduction dans le spectromètre. De nombreuses méthodes sont utilisées pour cela, mais les étapes de base sont les mêmes. La préparation des échantillons implique la conversion quantitative, ou la production de gaz pur du composé cherché (CO_2 , N_2 , H_2 ou SO_2), la purification de ce gaz par piégeage cryogénique ou chromatographique (pour enlever toute trace d'eau ou de pollution) et l'introduction du gaz dans le spectromètre. Ce gaz est ensuite ionisé pour produire des espèces chargées positivement qui vont être accélérées et déviées selon leur masse dans un champ magnétique, puis détectées par des collecteurs. Ces espèces sont des isotopomères, c'est-à-dire des espèces qui ont la même constitution élémentaire mais différents isotopes. Des collecteurs multiples sont utilisés pour que les isotopomères de masse différente puissent être collectés simultanément. Par exemple, pour le CO_2 , le spectromètre analyse 4 principaux isotopomères de masse 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ et $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) et 46 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$). Le passage des trois masses 44, 45 et 46 au rapport isotopique $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ est réalisé à l'aide d'une série de corrections intégrées au logiciel du spectromètre de masse (Craig, 1957).

Deux principaux types de spectromètres de masse isotopique sont généralement utilisés, comprenant différentes méthodes d'analyse et de préparation des gaz purs. On ne traitera ici que des techniques appliquées à la détermination de la matière organique, les autres techniques seront développées dans les chapitres appropriés, en particulier lorsque la spectrométrie de masse est couplée à un laser ou à un plasma.

- Au début la technique conventionnelle est celle du " Off-line Dual-Inlet", inventée par Alfred O.C. Nier (1947). La préparation des échantillons gazeux s'effectue manuellement en laboratoire sur une ligne ou chaîne de purification, par piégeage différentiel des gaz produits lors de la combustion des échantillons solides. La combustion s'effectue dans des ampoules de quartz scellées sous vide, en présence de CuO . L'ampoule est ensuite introduite dans une ligne de purification (sous vide), et les gaz sont purifiés par une succession de condensations

par l'azote liquide et de réchauffements, permettant d'isoler le gaz à analyser des polluants, comme l'eau. Les gaz purs sont ensuite connectés au spectromètre à double introduction qui va conduire l'échantillon gazeux et le gaz de référence dans la source d'ions. L'analyse consiste en plusieurs mesures successives de l'échantillon, séparées par des mesures du standard, garantissant la stabilité des conditions de fonctionnement de l'appareil. Cette méthode est très précise mais beaucoup plus contraignante en temps de manipulation que les techniques plus récentes.

- Plus fréquemment, les isotopistes utilisent le couplage d'un analyseur élémentaire (EA) et d'un spectromètre de masse à flux-continu (EA-IRMS). En effet, des systèmes de combustion semi-automatisés sont désormais disponibles par le couplage d'un analyseur élémentaire (CN) et de systèmes de purifications cryogéniques qui réduisent les temps de préparation des échantillons, ainsi que le coût d'analyse (Fry *et al.*, 1992). L'analyseur CN est ensuite lié au spectromètre de masse à flux-continu ("continuous-flow") à travers un système de purification et de séparation des gaz (colonne chromatographique), ce qui permet l'analyse couplée des compositions isotopiques du carbone et de l'azote. Les échantillons sont introduits dans le passeur automatique du CHN, enfermés dans des nacelles en étain. Ces nacelles tombent les unes après les autres dans un four à combustion où l'ajout d'oxygène pur permet la combustion éclair des échantillons (1600-1800°C). Les gaz, entraînés par un flux d'hélium, sont ensuite purifiés par le passage à travers une série de pièges cryogéniques de température spécifique (piégeage de l'eau et des autres contaminants). Une colonne chromatographique réalise ensuite la séparation du CO₂ et du N₂ qui sont successivement analysés pour leur teneur en carbone et azote organique. Au-delà, les gaz résultants sont encore purifiés, concentrés et introduits successivement dans le spectromètre de masse pour être ionisés, déviés puis collectés. Cette technique permet une analyse en routine des échantillons (tissus ou filtres de matière organique particulaire) et un gain de temps considérable de par l'automatisation des étapes de combustion, séparation et purification des gaz.

2.2.2 Application à l'étude des réseaux trophiques

Les approches traditionnelles pour étudier les chaînes trophiques incluent les analyses de contenus stomacaux, l'observation directe *in situ* ou au laboratoire, ou l'utilisation de traceurs radioactifs (¹⁴C ou ³H). Ces méthodes ont permis de résoudre la structure des chaînes trophiques, malgré leurs limitations respectives (Michener & Schell, 1994). En particulier,

l'analyse des contenus stomacaux est une technique fastidieuse qui requiert une très bonne connaissance taxonomique des organismes. De plus, certains organismes digèrent rapidement leur proie perturbant ainsi leur identification. Enfin, l'analyse des contenus stomacaux prend en compte la nourriture ingérée à un instant donné et non celle réellement assimilée par l'organisme, pouvant aboutir à des erreurs d'interprétation du régime trophique. Les observations au laboratoire des relations proie/prédateur peuvent introduire des artefacts dus au système artificiel. Enfin, les techniques radioactives nécessitent une mise en œuvre particulièrement lourde (risques pour l'environnement et la santé, nécessité d'une licence) pour des analyses en routine.

L'analyse des isotopes stables s'avère être une bonne technique d'étude des réseaux trophiques, puisque contrairement aux méthodes visuelles, les mesures isotopiques reflètent une nourriture moyenne, à long terme, le tissu analysé étant construit à partir des différents composés de la nourriture au cours du temps. De plus, les techniques d'échantillonnage et de préparation sont simples, et les analyses rapides et relativement bon marché grâce aux nombreux développements des spectromètres de masse. Cette technique permet généralement de déterminer les contributions relatives des différentes sources de nourriture d'un animal, même si elle possède aussi de nombreuses limitations qui seront discutées au cours de ce chapitre.

2.2.2.1 Relations entre la composition isotopique d'un animal et son régime trophique

Les compositions isotopiques naturelles des animaux reflètent celles de leur nourriture à quelques ‰ près. C'est-à-dire qu'**il y a une relation étroite entre la composition isotopique des consommateurs et celle de leur nourriture**. Dans le langage isotopiste, il est coutume de dire : "You are what you eat, plus a few per mil".

Dans la majorité des cas, on note en effet un enrichissement du consommateur en isotope lourd par rapport à sa nourriture. Cet enrichissement moyen est de 1‰ pour le carbone et de 3,4‰ pour l'azote (DeNiro & Epstein, 1978 et 1981 ; Minagawa & Wada, 1984). Cependant, il existe une variation substantielle autour de ces moyennes (Figure II.20 d'après Peterson & Fry, 1987 dans Michener & Schell, 1994), appelant à des validations expérimentales supplémentaires (Gannes *et al.*, 1997 ; Adams & Sterner, 2000 ; Jennings *et al.*, 2002b).

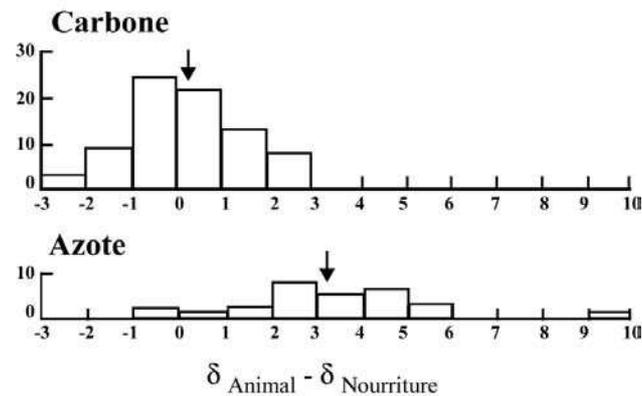


Figure II.20. Relations entre les organismes et leur nourriture pour les isotopes du carbone et de l'azote (D'après Peterson & Fry, 1987 dans Michener & Schell, 1994).

Cet enrichissement est dû au fractionnement associé au métabolisme respiratoire dans le cas du carbone et au métabolisme excrétoire pour l'azote. En effet, l'excrétion azotée favorise la perte du ^{14}N , conduisant à un enrichissement significatif de l'organisme par rapport à sa source trophique (Owens, 1987). De même, le CO_2 respiré est appauvri en ^{13}C bien que le degré de déplétion soit relativement faible dans la majorité des organismes (De Niro & Epstein, 1978). Ce phénomène d'enrichissement du consommateur par rapport à sa proie est en accord avec la théorie du fractionnement où l'isotope léger est plus facilement mobilisé et donc ici, évacué par l'organisme. Cet enrichissement est conservé au fil des transferts trophiques et permet donc d'être appliqué à tous les échelons d'une chaîne trophique.

Le traçage isotopique naturel repose sur un deuxième principe important : **les producteurs primaires ont des signatures isotopiques distinctes** résultant :

- (1) de la composition isotopique des matériaux inorganiques assimilés pour la synthèse de matière organique (pour le CO_2 atmosphérique, $\delta^{13}\text{C} = -7\text{‰}$ et pour les carbonates marins, $\delta^{13}\text{C} = 0\text{‰}$)
- (2) des fractionnements isotopiques associés aux différents types de cycles biochimiques utilisés lors de la fixation du carbone inorganique. Par exemple, les plantes avec différents modes de photosynthèse ont des rapports $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ contrastés (à partir du CO_2 atmosphérique, C3 = -27‰ et C4 = -14‰, O'Leary, 1981).

Ainsi, les nourritures dérivées de sources marines vont avoir des compositions isotopiques différentes de celles dérivées de matériel terrestre ou d'eau douce. Ces différences sont donc utilisées pour identifier les contributions relatives des différentes sources de nourriture (C3/C4, marines/terrestres).

Si la majorité des études actuelles utilisent principalement le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$, les isotopes du soufre et de l'hydrogène permettent également d'élucider de nombreuses chaînes trophiques (Michener & Schell, 1994).

2.2.2.2 Applications et limites du traçage isotopique naturel

En se basant sur cet enrichissement moyen observé (1‰ pour le carbone et 3-4‰ pour l'azote), la comparaison des signatures isotopiques des sources potentielles de nourriture et des organismes a permis de mettre en lumière la structure de nombreux réseaux trophiques en particulier pour des systèmes simples, c'est-à-dire lorsque les conditions environnementales sont stables et les différentes sources trophiques peu nombreuses avec des compositions isotopiques bien différenciées (pour une revue voir Lajtha & Michener, 1994). Ces prérequis sont cependant particulièrement difficiles à observer en milieu côtier où la grande diversité des sources de nourriture entraîne souvent la superposition des signatures isotopiques et la complexité d'interprétation des résultats. De manière générale, l'utilisation simultanée de plusieurs traceurs isotopiques permet d'atténuer la complexité de telles situations.

Dans la littérature, beaucoup d'études ont utilisé le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$, sous l'hypothèse que ces rapports étaient distribués de façon homogène dans tous les tissus d'un organisme et ne variaient ni dans le temps ni dans l'espace. Or, s'il a été prouvé expérimentalement que la nourriture était le premier déterminant de la composition isotopique globale d'un animal, il existe des facteurs de variabilité isotopique qui doivent être pris en compte (Peterson & Fry, 1987 ; Peterson, 1999). Tout d'abord au niveau des producteurs primaires, des variations saisonnières peuvent être observées pour une même espèce et une même aire géographique : par exemple, si la composition isotopique ou la disponibilité des nutriments varie, différents fractionnements vont avoir lieu, notamment lors de la fixation du carbone par le phytoplancton. C'est le cas du microphytobenthos qui a une signature enrichie par rapport aux diatomées pélagiques (-17 et -22‰, respectivement ; France, 1995) car le ^{12}C n'est plus disponible en surface du sédiment (demande plus importante par rapport à la disponibilité du ^{12}C) rendant impossible son incorporation normalement privilégiée. La présence d'épiphytes, la stratification d'un milieu peuvent aussi entraîner une restriction en nutriments et modifier le fractionnement. De la même manière, la dégradation de la matière provoque une augmentation des teneurs en carbone et azote lourds.

La composition biochimique est aussi en facteur important de variation isotopique et peut provoquer de fortes différences entre les différents tissus et métabolites d'un même

individu (Stephenson *et al.*, 1984 ; Peterson & Fry, 1987). Par exemple, les lipides sont généralement appauvris en ^{13}C de 2 à 8‰ (Parker, 1964 ; Tieszen *et al.*, 1983) alors que la pectine est enrichie en ^{13}C . Ce phénomène peut donc entraîner de fortes variations saisonnières de composition isotopique d'un animal, en particulier lorsque l'ensemble du corps est utilisé pour la mesure, reflétant l'état énergétique de l'animal. L'état nutritionnel de l'organisme est aussi un facteur de variabilité isotopique, une période de jeûne conduisant à une augmentation des rapports isotopiques de l'azote, ce qui permet de caractériser les périodes de jeûne et de migration chez les oiseaux (Hobson *et al.*, 1995).

Ainsi, la composition isotopique des organismes n'est pas ou peu constante dans le temps et dans l'espace, et cette variabilité doit être considérée dans l'étude des réseaux trophiques même si cette approche n'est pas encore généralisée. De même, il faut être prudent lorsque l'on compare des valeurs isotopiques provenant du muscle des organismes à celles de l'ensemble du corps. Le choix du tissu analysé donnera des informations différentes sur la nourriture assimilée à court ou à long terme selon son turnover et selon sa composition biochimique (Tieszen *et al.*, 1983 ; Stephenson *et al.*, 1984 ; Raikow & Hamilton, 2001). De plus, la composition isotopique de la source de nourriture peut différer de celle du tissu analysé si les différents composants sont répartis différemment entre les organes (c'est le phénomène d'"isotopic routing"). D'une manière générale, il faut être prudent dans l'interprétation des rapports isotopiques et, en particulier lorsque l'on compare de gros animaux qui ne peuvent être analysés dans leur intégralité et de petits animaux, qui eux, ne peuvent être disséqués (variations saisonnières, variations de composition biochimique etc...). D'autant plus que dans la littérature, les facteurs de fractionnement sont utilisés indifféremment du type de tissu analysé, à savoir le muscle ou l'ensemble du corps.

En résumé, il apparaît que cette méthode présente un fort potentiel, mais ses limites sont encore mal connues. Cependant, si certaines études mettent en avant les limitations de cette technique et appellent à davantage d'études expérimentales pour confirmer les hypothèses à la base de la théorie isotopique (Gannes *et al.*, 1997 ; Gannes *et al.*, 1998), des généralisations demeurent applicables (Michener & Schell, 1994):

- Les rapports isotopiques du carbone reflètent les sources de nourriture d'un organisme avec un enrichissement mineur en ^{13}C (environ 1‰). Ceci permet la détermination du régime trophique dans le cas où les apports sont limités à deux sources majeures et où ces sources ont des rapports isotopiques distincts ;

- Les organismes de tous les niveaux trophiques peuvent être étudiés par cette méthode ;

- Les producteurs primaires sont altérés par des changements à la fois saisonniers et environnementaux (lumière, métabolisme, croissance). Les variations saisonnières, géographiques et physiologiques d'un organisme et de ses sources trophiques doivent donc être prises en compte ;

- Les rapports isotopiques de l'azote reflètent surtout le niveau trophique d'un organisme, et dans une moindre mesure son état nutritionnel (un stress trophique augmente le $\delta^{15}\text{N}$). Le $\delta^{15}\text{N}$ d'un organisme reflète celui des producteurs primaires avec un gain de 3-4‰ par niveau trophique ;

- Les analyses multi-isotopes offrent généralement de meilleurs résultats dans l'étude des écosystèmes que les études basées sur un seul rapport isotopique. Par exemple, si plusieurs sources peuvent avoir le même $\delta^{15}\text{N}$, leur $\delta^{13}\text{C}$ sera vraisemblablement différent, permettant de réfuter l'une ou l'autre des deux sources trophiques, ce qui aurait été impossible avec l'utilisation du $\delta^{15}\text{N}$ seul. Les sources multiples peuvent ainsi être séparées par une approche combinée de plusieurs traceurs isotopiques.

2.3 Matériel et méthodes

2.3.1 Suivi des paramètres environnementaux

Pour l'année 2000, les variations des paramètres hydrobiologiques à Roscanvel ont été décrites au chapitre I. En complément de ces mesures, la matière organique particulaire en suspension (MOP), considérée comme une source potentielle de nourriture pour les coquilles Saint-Jacques a été échantillonnée sur le même site. Ce suivi comprend 55 prélèvements du 18 février 2000 au 12 février 2001 (PM \pm 2 heures, dates en annexes), avec un pas de temps particulièrement resserré (tri-hebdomadaire) pendant la période printanière des blooms phytoplanctoniques en rade de Brest (mars-juin). Un suivi sur un cycle de marée a été effectué en complément le 18 mai 2000, au rythme de un prélèvement par heure (N=13).

2.3.1.1 Collecte et traitement des échantillons

L'eau de mer est collectée à l'aide de bouteilles Niskin de 5L à 1 mètre du fond et conservée dans des bidons opaques propres (lavage à l'HCl 1,2N et rinçage à l'eau distillée). Avant chaque filtration au laboratoire, l'eau de mer est pré-filtrée à 200 μm pour éviter toute hétérogénéité due aux grosses particules, et en particulier pour ne pas échantillonner le zooplancton.

Tout le matériel en verre utilisé lors de la filtration est préalablement lavé une nuit à l'acide (HCl 10%), rincé à l'eau distillée, puis passé au four à 450°C pendant 4 heures. Les filtres sont également pré-calcinés à 450°C (4 heures), et décarbonatés juste avant la filtration, par ajout de quelques millilitres d'HCl 10% puis rinçage à l'eau distillée. Cette étape de préparation du matériel est particulièrement importante pour éviter toute pollution par du carbone organique et/ou inorganique. Chaque échantillon de 500 mL est ensuite filtré à travers un filtre en fibre de verre (Whatman GF/F, 25 mm de diamètre). Après la filtration, les filtres sont rincés avec quelques mL d'eau distillée pour éliminer les ions Cl⁻ susceptibles d'endommager le détecteur de l'analyseur élémentaire (Schubert & Nielsen, 2000), et placés dans des piluliers en verre propres (voir ci-dessus). Les échantillons sont ensuite conservés à -20°C jusqu'à l'analyse.

La matière particulaire ainsi échantillonnée est susceptible de contenir des quantités non négligeables de carbone inorganique (des minéraux carbonatés : calcite, aragonite et dolomite). Le carbone inorganique et organique ayant des signatures isotopiques très distinctes (Hoefs, 1997), toute trace de carbonates biaiserait les résultats. Une étape de décarbonatation de la matière particulaire est donc indispensable, et celle-ci doit endommager le moins possible la matière. Ainsi, les échantillons sont décongelés, séchés une nuit à l'étuve (60°C), et les piluliers contenant les filtres secs, placés dans un dessiccateur muni d'un cristalliseur rempli d'acide fumant (12N). Les filtres sont ainsi exposés aux vapeurs d'HCl pendant 4 heures, sous vide, libérant les carbonates sous forme de CO₂.

Afin de vérifier que quatre heures étaient suffisantes dans notre cas pour enlever tous les carbonates, plusieurs réplicats ont été analysés après 4, 8 et 12 heures d'exposition aux vapeurs d'HCl fumant (Filtres prélevés à la station SOMLIT - Rade de Brest, le 5 février 1999). Les résultats du tableau II.2 nous montrent qu'il n'y a pas de variations significatives du contenu en carbone organique particulaire (COP), ni dans les rapports isotopiques du carbone ($\delta^{13}\text{C}$), suggérant que quatre heures sont suffisantes pour enlever toute trace de carbone inorganique.

Tableau II.2. Moyennes et écart-types (N = 3) du carbone et de l'azote organique particulaire (COP et NOP en μg) et du $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de filtres décarbonatés durant plusieurs périodes de temps (4, 8 et 12 heures).

Heures de décarbonatation	COP ($\mu\text{g C}$)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	NOP ($\mu\text{g N}$)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
4	92,3 ± 5,7	-24,0 ± 0,1	8,5 ± 0,9	4,9 ± 0,5
8	89,3 ± 4,0	-23,9 ± 0,1	9,7 ± 0,6	5,9 ± 1,1
12	95,0 ± 3,5	-24,1 ± 0,2	10,3 ± 1,5	4,8 ± 1,4

Les échantillons, après un séjour d'une heure sous la hotte aspirante afin d'éliminer toute trace d'acide chlorhydrique, sont séchés une nuit à l'étuve, pliés et insérés dans des capsules en étain (5x9 mm) en vue de l'analyse. Des filtres vierges ayant subi le même traitement (décarbonatation, préservation) seront analysés en témoins.

Remarque : de nombreux protocoles de décarbonatation et de préservation des échantillons en vue de l'analyse isotopique sont utilisés. Cependant, il n'existe pas de protocole standard et très peu de ces méthodes ont été testées dans la littérature. Le protocole choisi ici est celui effectué en routine au laboratoire (Savoie, 2001). Suite à des communications personnelles nous mettant en garde contre les possibles altérations de la matière par décongélation et décarbonatation aux vapeurs d'acide chlorhydrique fumant (12N), le 5 juin 2001, un protocole pour tester ces différentes méthodes a été établi et les résultats sont présentés en annexes (Annexe III, Lorrain *et al.*, en révision). Les principales conclusions de cette étude concernant nos échantillons (faiblement carbonatés) conseillent de : (i) conserver les filtres après séchage à l'étuve et non congélation (ii) de décarbonater les échantillons sous vapeur d'acide fumant (12N, 4 heures) plutôt que par rinçage à l'HCl dilué (0,12 N). Ils montrent aussi que la décongélation n'affecte pas de façon préjudiciable les résultats isotopiques, mais plutôt les quantités d'azote. L'interprétation de nos résultats est donc toujours pertinente malgré leur préservation par congélation.

2.3.1.2 Analyse isotopique et élémentaire

Les filtres ont été analysés au Laboratoire d'Analyse Isotopique et Electrochimique de Métabolismes (LAIEM, UMR CNRS 6006) de la faculté de Sciences et Technologies de Nantes en collaboration avec Norbert Naulet.

Les capsules en étain contenant les filtres sont introduites dans l'analyseur élémentaire Carlo Ebra NA 2100 pour l'analyse des quantités de NOP et COP (voir § 2.2.1.4). La matière particulaire convertie en CO₂ et N₂, après purification et séparation sur colonne chromatographique, est introduite dans le spectromètre de masse Finnigan delta S, qui après ionisation et séparation des ions selon leur masse, calcule les rapports des isotopes stables du carbone et de l'azote. Les données isotopiques sont exprimées en terme de δ (‰) :

$\delta^{13}\text{C}_{\text{échantillon}}$ ou $\delta^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} = (\text{R}_{\text{échantillon}} / \text{R}_{\text{standard}} - 1) * 1000$, R étant le rapport de l'isotope lourd sur le léger (R = ¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N). La précision de l'EA-IRMS est de

l'ordre de 2% pour le carbone et l'azote particulaire (COP, NOP) et de 0,1‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$.

2.3.2 Collecte de *Pecten maximus*

2.3.2.1 En rade de Brest

L'ensemble du suivi en rade de Brest s'effectue sur des coquilles de classe 3 (présentant trois anneaux d'arrêt de croissance hivernale) pour s'affranchir des variations liées à l'âge. De plus, un suivi des indices pondéraux des coquilles de classe 3 est effectué en routine au laboratoire depuis 1989, et permet donc la comparaison de nos données isotopiques et biochimiques avec les variations pondérales des organes des coquilles.

Pour l'étude de la composition isotopique et élémentaire des différents tissus des coquilles Saint-Jacques, les prélèvements sont réalisés en plongée sur le site de Roscanvel (Fig. I.2, chapitre I) à 19 dates de prélèvement durant l'année 2000 et 2001 (24 février, 15 et 22 mars, 1, 10, 26 avril, 3,12,17,19 et 30 mai, 9, 26 juin, 14 septembre, 13 octobre, 15 novembre, 15 décembre 2000 et en 2001, 14 janvier et 12 février ; 4 prélèvements successifs ont également été effectués dans la journée du 17 mai 2000 lors d'une mission CREPIRAD). L'échantillonnage en plongée permet de récupérer des coquilles Saint-Jacques relativement propres, c'est-à-dire sans sédiment accumulé dans la coquille comme c'est le cas lors des dragages. Cette caractéristique est importante puisque toute trace de carbone inorganique (contamination par le sédiment) est susceptible de modifier les rapports isotopiques obtenus, le carbone inorganique ayant une signature isotopique très différente de celle du carbone organique (Hoefs, 1980).

Pour les analyses des indices pondéraux de chaque organe, les coquilles Saint-Jacques sont prélevées par dragage (maille de 55mm) sur la zone de Roscanvel. Le pas de temps d'échantillonnage variant en fonction de l'activité sexuelle des animaux entre un prélèvement mensuel en hiver, et deux à trois échantillonnages au printemps et en été (Saout, 2000).

Enfin, pour l'analyse biochimique, les coquilles sont prélevées alternativement par dragage ou en plongée de manière à maximiser le pas d'échantillonnage.

2.3.2.2 En Norvège

Dans le cadre d'une mission franco-norvégienne (1 au 17 septembre 2001), des coquilles ont été prélevées le long de la côte norvégienne en plongée (Fig.II.21). Afin de

tester l'influence de l'âge sur les rapports des isotopes stables du carbone et de l'azote, trois sites (Træna, Brønnøysund et Bessaker, tableau II.3) ont été sélectionnés et des coquilles de classes 1 à 11 ont été échantillonnées (N.B. L'effet de l'âge est plus facile à étudier sur la population norvégienne étant donné qu'il est impossible en rade de Brest de récolter un aussi vaste échantillon de classes d'âge). Sur le site de Træna, le 11 septembre 2001, les organes de 3 classes 3 (gonade, glande digestive et muscle) ont été disséqués pour une comparaison avec les coquilles de la rade de Brest.

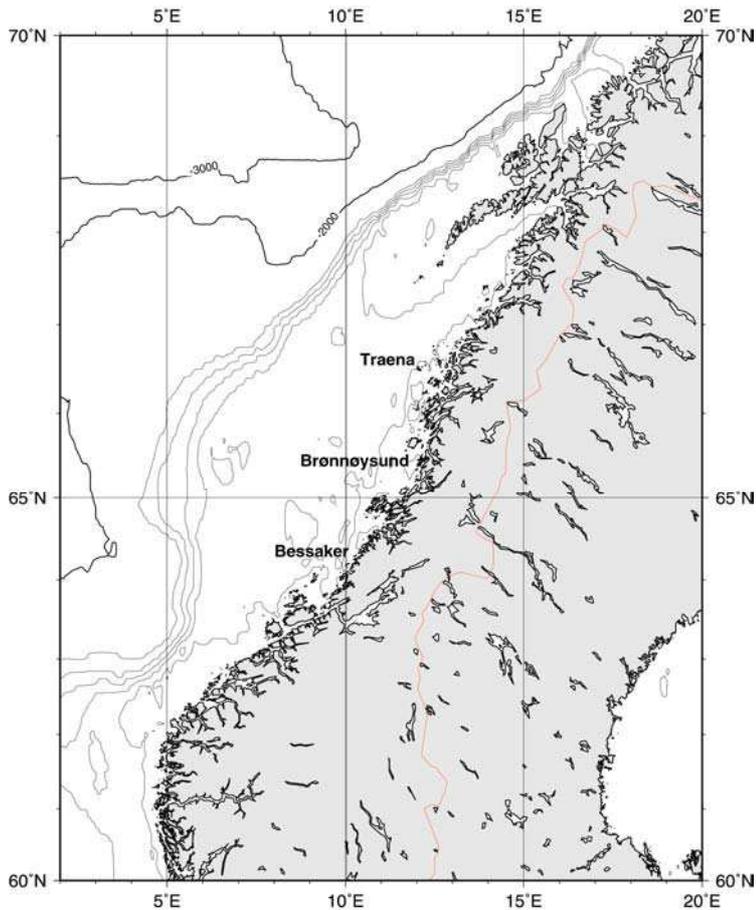


Figure II.21. Localisation des différents points de prélèvements en Norvège.

Tableau II.3. Principales caractéristiques des sites d'étude

Sites d'étude	Latitude	Profondeur (m)	Date de prélèvement
Træna	66°30' N	14-24	10, 11 et 13/09/01
Brønnøysund	65°20' N	22	15/09/01
Bessaker	64°15' N	18	16/09/01
Rade de Brest	48° 20' N	30	14/09/00

2.3.3 Traitement des échantillons de *Pecten maximus*

2.3.3.1 Analyse isotopique et élémentaire

Une fois collectées, les coquilles (N=5 par date de prélèvement) sont transférées au laboratoire (maximum 2 heures) et ouvertes avec un couteau en sectionnant le muscle adducteur le plus près possible de la valve plate. Les estomacs des coquilles sont soigneusement purgés par ingestion, via la bouche, de quelques millilitres d'eau de mer filtrée (0,22 µm). Ce rinçage est effectué jusqu'à un nettoyage complet de la glande digestive (jusqu'à l'obtention d'écoulements clairs). Cette technique a été adoptée car les méthodes classiques de jeûne (48 heures) ne permettaient pas de vider entièrement les contenus stomacaux de la coquille Saint-Jacques. La gonade, le muscle et la glande digestive sont ensuite disséqués soigneusement, à l'aide de pinces et de ciseaux nettoyés à l'acétone, et placés dans des piluliers préalablement lavés à l'acide et passés quatre heures à 450°C. Les échantillons sont ensuite congelés à -20°C puis lyophilisés.

Les échantillons sont ensuite broyés à l'aide d'un broyeur à bille et la poudre conservés dans les piluliers. Un milligramme ($\pm 0,1$) est introduit dans une nacelle en étain ultra-propre (6*4mm). Cette nacelle est ensuite soigneusement pliée pour éviter toute fuite de matériel. Ces capsules en étain peuvent être envoyées pour analyse dans des piluliers en verre lavés et calcinés ou dans une boîte en plastique propre généralement vendue avec les capsules en étain ultra propres.

Ces analyses isotopiques ont été effectuées au Scottish Crop Institute en Ecosse (Charlie Scrimgeour, Dundee) à l'aide d'un spectromètre de masse à flux continu (CF-IRMS) couplé à un analyseur élémentaire (voir § 2.2.1.4). La précision analytique (SD, N = 5) est de 0,2‰ pour le carbone et l'azote, estimée par l'analyse des standards. L'analyse de triplicats de quelques échantillons confirme que la reproductibilité analytique est très bonne (0,2‰ de variation maximale). Les données isotopiques sont exprimées en terme de δ (‰) :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{échantillon}} \text{ ou } \delta^{15}\text{N}_{\text{échantillon}} = (\text{R}_{\text{échantillon}} / \text{R}_{\text{standard}} - 1) * 1000, \text{ R étant le rapport de l'isotope lourd sur le léger (R} = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ ou } {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N})$$

2.3.3.2 Analyse lipidique

La composition lipidique d'un organe pouvant influencer les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ (Tieszen *et al.*, 1983 ; Michener & Schell, 1994), l'analyse des lipides a été centrée sur la glande digestive, organe particulièrement riche en lipides ($\approx 30\%$). Ainsi, le contenu lipidique a été

mesuré de manière saisonnière au cours de l'année 2000. Ces variations de composition lipidique, couplées aux variations pondérales, permettent d'appréhender le fonctionnement de cet organe (Saout, 2000).

Le contenu lipidique (lipides totaux) de la glande digestive des individus prélevés tout au long de l'année 2000 a été déterminé selon la méthode gravimétrique de Bligh & Dyer (1959), par extractions successives à l'aide d'un mélange d'éthanol et de dichlorométhane. A l'aide de la même méthode, les contenus lipidiques de tous les organes ont été mesurés en 1996 par Saout (2000) et seront utilisés dans cette étude.

2.3.3.3 Analyse pondérale

Le traitement des échantillons (N=20) s'effectue au laboratoire le jour même du prélèvement. Après dissection, les poids frais du muscle, de la gonade (mâle et femelle), de la glande digestive et du reste, ont été déterminés. Leur poids sec est ensuite mesuré après passage à l'étuve à 100°C pendant 48 heures. Le poids de la coquille est déterminé après un nettoyage soigneux, à l'eau douce, des surfaces internes et externes et un séchage à l'air libre pendant 48 heures. La hauteur de la coquille (mesure dorso-ventrale) de chaque individu est mesurée au millimètre près.

Les indices pondéraux de chaque organe sont ensuite calculés, à savoir un indice gonadique (IG), un indice de la glande digestive (IG) et un indice du muscle (IM) par la formule suivante (Paulet et Boucher, 1991):

$$\text{Indice} = (\text{Poids sec de l'organe} / \text{Poids sec de la coquille}) \times 100$$

2.3.4 Estimation de la composition isotopique de l'ensemble du corps

Afin de replacer nos résultats dans le contexte général des études de réseaux trophiques basées sur l'analyse de broyats de l'ensemble du corps, nous avons été conduits à réaliser une estimation de cette composition isotopique chez la coquille Saint-Jacques à partir de mesures réalisées sur les organes isolés.

Un delta moyen peut être estimé ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) à l'aide d'une moyenne pondérée, utilisant les poids secs de chaque organe au cours de l'année, définissant ainsi leur contribution à la composition isotopique de l'ensemble du corps, par la formule suivante:

$$\delta_{\text{ensemble du corps}} = [\sum(\delta_{\text{organe}} * \text{poids}_{\text{organe}})] / (\sum \text{poids}_{\text{organe}})$$

Les branchies et le manteau sont considérés comme ayant une influence mineure sur la signature isotopique de l'ensemble du corps, car ils représentent moins de 25% du poids total.

Afin de vérifier la validité de cette équation, le 4 mars 2002, six coquilles Saint-Jacques sont prélevées en plongée à Roscanvel. Sur trois d'entre elles, l'ensemble des tissus a été prélevé et analysé, et sur les trois autres, tous les tissus ont été disséqués et analysés séparément, à savoir le muscle, la gonade, la glande digestive, les branchies et le manteau. Ces résultats permettront de déterminer la part des branchies et du manteau dans la signature de l'ensemble du corps de *Pecten* et de regarder si la valeur calculée à l'aide des trois tissus principaux est proche de valeur mesurée.

2.4 Résultats

2.4.1 Composition isotopique et élémentaire de la MOP

Les valeurs de blancs en carbone sont particulièrement élevées pour l'ensemble des échantillons ($16 \pm 1,7 \mu\text{gC}$ en moyenne, $\delta^{13}\text{C} = -28,8\text{‰}$). Ces valeurs ont donc été soustraites à tous nos résultats pour les quantités et les rapports isotopiques du carbone. La contribution des blancs aux valeurs d'azote est négligeable.

La composition isotopique de la matière organique particulaire varie entre -26,4 et -19,9 ‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ (moyenne = -23,1‰) et -2,0 et 6,7 ‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$ (moyenne = 2,5‰) (Figure II.23). En ce qui concerne les rapports C/N, ils varient entre 5,6 et 10,1, avec une valeur moyenne de 7. Le rapport COP/Chl *a*, combiné au rapport C/N, nous renseigne sur les contributions relatives du phytoplancton ou du matériel terrigène sur la MOP. En effet, pour des rapports COP/Chl *a* < 70 et des rapports C/N < 10 (Geider, 1987 ; Montagnes *et al.*, 1994), la matière organique est dominée par du matériel phytoplanctonique ($\text{C/N}_{\text{moyen}} = 6,6$ pour le phytoplancton selon Redfield *et al.*, 1963). En revanche, pour des rapports COP/Chl *a* > 200, la MOP est dominée par du matériel détritique (Cifuentes *et al.*, 1988 ; Savoye, 2001).

Dans notre étude, les rapports C/N sont toujours inférieurs à 10 mais les rapports COP/Chl *a* ne sont pas toujours inférieurs à 70. Ainsi, les données de MOP ne peuvent pas être directement extrapolées au phytoplancton, puisque certains échantillons sont dominés par du matériel non phytoplanctonique. Afin d'appréhender les rapports isotopiques moyens ($\delta^{13}\text{C}$

et $\delta^{15}\text{N}$) du phytoplancton, les rapports isotopiques de la matière organique particulaire ayant des rapports COP/Chl *a* inférieurs à 70 (voir explication ci-dessus) sont utilisés (N=24 sur 57 échantillons). Ainsi, le phytoplancton en rade de Brest, aurait une valeur moyenne estimée de $-22,5 \pm 1,2\text{‰}$ et $2,7 \pm 1,9\text{‰}$ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$ respectivement et un C/N moyen de $6,4 \pm 0,6$ (N = 24), et ce au cours de l'année 2000 dominée exclusivement par des diatomées. Il faut cependant noter que ces valeurs ne représentent qu'une approximation de la composition isotopique du phytoplancton (diatomées majoritairement) puisque les filtres contiennent également d'autres éléments particuliers tels que les bactéries.

Nos données de $\delta^{13}\text{C}$ sont conformes à celles de Savoye (2001), utilisant un rapport COP/Chl *a* < 200, avec de la MOP prélevée à un mètre de la surface, sur le même site ($\delta^{13}\text{C} = -22,4 \pm 1,5\text{‰}$, N = 74). Par contre les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ sont particulièrement appauvries (Test t, $p < 0,05$) par rapport aux données de la littérature ($\delta^{15}\text{N} = 7$ pour le phytoplancton d'après Wada & Hattori, 1991) et celles de Savoye (2001, $\delta^{15}\text{N} = 4,7 \pm 1,7\text{‰}$, N = 74).

Si les quantités de carbone présentes sur le filtre sont suffisantes pour la mesure des rapports isotopiques du carbone ($76 \pm 25\mu\text{g}$), les quantités d'azote sont extrêmement faibles ($10 \pm 4\mu\text{g}$, figure II.22) pour une mesure précise des $\delta^{15}\text{N}$ (Naulet, *com. pers.*). En effet, certains auteurs (Weiss *et al.*, 2002 ; Naulet, *com. pers.*) ne prennent en compte les mesures isotopiques que pour des quantités d'azote supérieures à $20\mu\text{g}$ par filtre.

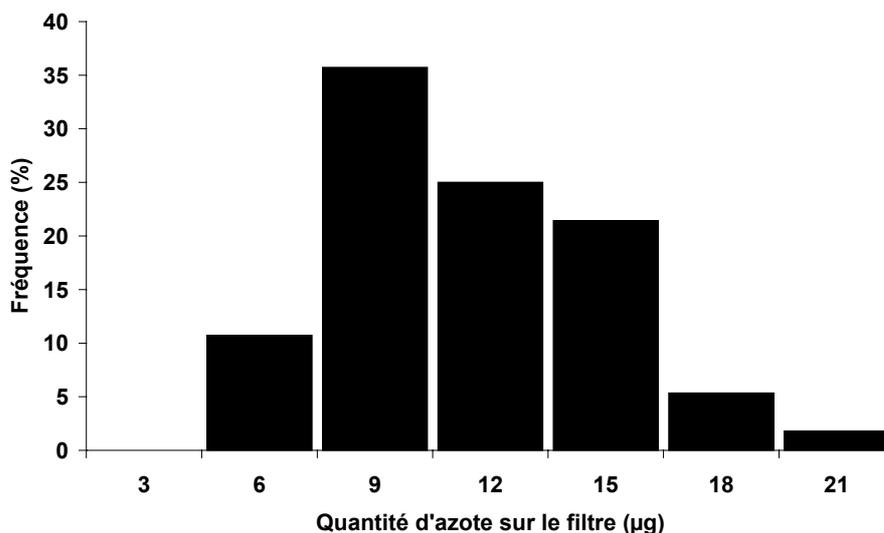


Figure II.22. Fréquence (%) des quantités d'azote retenues sur chaque filtre de matière organique particulaire.

Paul Brooks (ISOGEOCHEM LIST, 29 mai 2001) affirme que la précision sur de petits échantillons d'azote est détériorée par un effet non linéaire, probablement du blanc, entraînant une décroissance apparente de $\delta^{15}\text{N}$ avec la diminution de la quantité d'azote sur l'échantillon. Ainsi, les faibles quantités d'azote recueillies sur les filtres pourraient expliquer nos faibles valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ du phytoplancton par rapport aux données de la littérature.

Dans la rade de Brest, la filtration de 500 mL d'eau de mer d'eau de fond ne semble pas suffisante pour caractériser la MOP en terme de valeur absolue de $\delta^{15}\text{N}$, puisque 99% des filtres ont une quantité d'azote inférieure à 20 μg .

Néanmoins, les variations saisonnières mesurées des rapports des isotopes stables du carbone et de l'azote en rade de Brest sont particulièrement marquées, en relation avec les floraisons phytoplanctoniques (Fig. II.23). Lors de chaque efflorescence (augmentation des teneurs en Chl *a*), les rapports $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ et $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ augmentent dans la MOP.

Ces résultats indiquent que, malgré la faible intensité des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$, leurs variations saisonnières ne sont pas dues au hasard, mais bien à des processus biologiques. Ainsi, par la suite, les données de $\delta^{15}\text{N}$ seront données à titre indicatif. D'autre part, afin de déterminer la valeur moyenne du $\delta^{15}\text{N}$ phytoplancton, les données de Savoye (2001) seront préférées à celles de notre étude pour caractériser cette source potentielle de nourriture chez *P. maximus*.

Etant donné que les prélèvements de MOP sont effectués à pleine mer, les variations sur un cycle de marée ont été appréhendées le 18 mai 2000 (coefficient 86), lors d'un bloom à *PseudoNitzschia pseudodelicatissima* et *Rhizosolenia delicatula*.

Les valeurs obtenues pour le $\delta^{15}\text{N}$ présentent des variations entre les duplicats considérables (écart-type de l'ordre de 5‰). Les répliquats (n=3) obtenus pour des conditions méthodologiques comparables (4 heures de décarbonatation) et pour des quantités d'azote identiques (inférieures à 10 μg) donnent cependant des écart-types de 0,5‰ (Tableau II.2, p 95). Les fortes variations de ce suivi n'étant pas explicables, les résultats de $\delta^{15}\text{N}$ ne seront pas présentés.

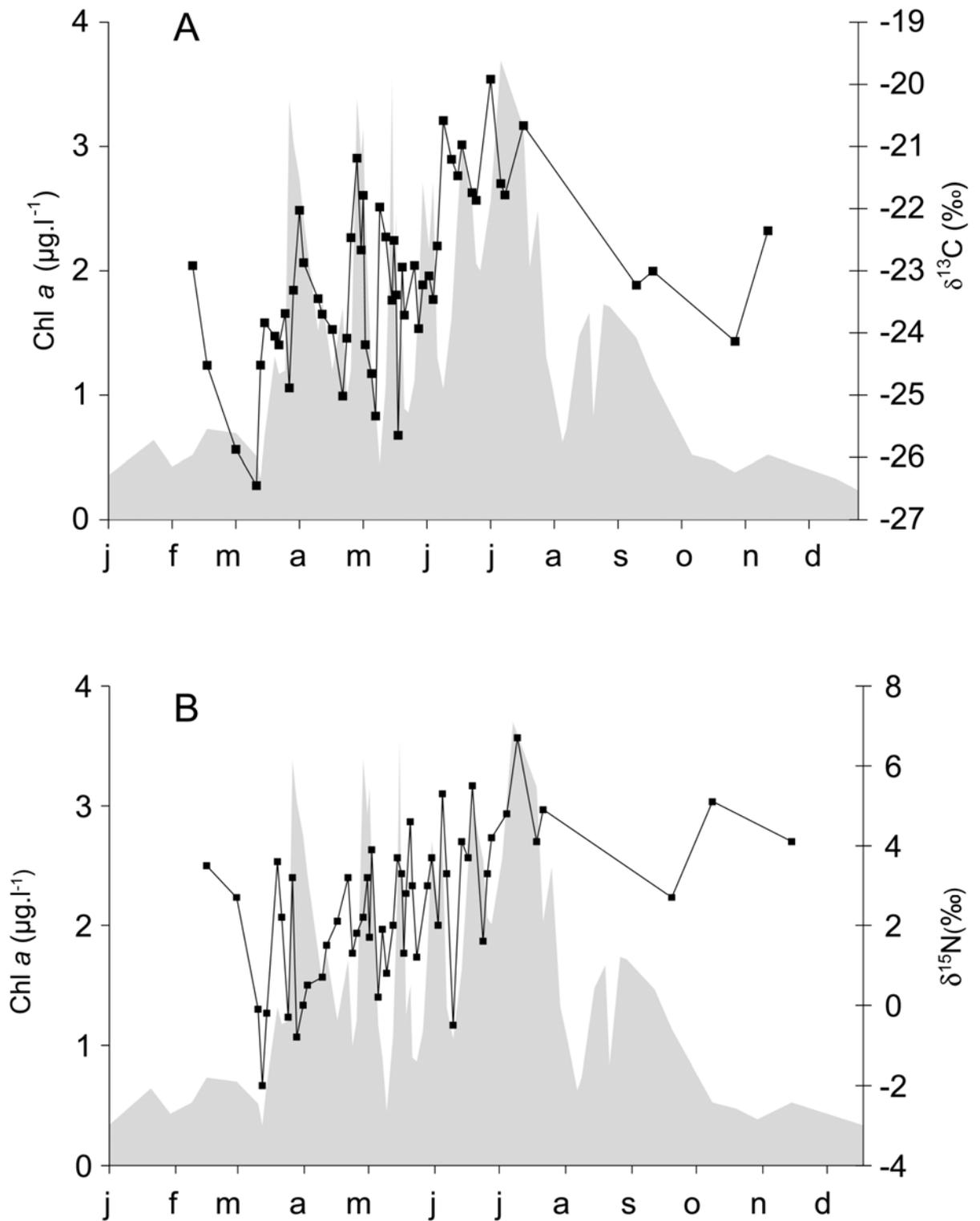


Figure II.23. Variations saisonnières des rapports des isotopes stables du carbone (A, $\delta^{13}\text{C}$ en ‰) et de l'azote (B, $\delta^{15}\text{N}$ en ‰) ainsi que des teneurs en chlorophylle *a* ($\mu\text{g.l}^{-1}$) pendant l'année 2000.

Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ obtenues sur un cycle de marée mettent en évidence des variations maximales de l'ordre de 1,3‰, avec des valeurs minimales observées autour de la basse mer (12H17, Figure II.24) et des valeurs maximales autour de la pleine mer (18H11). Ce suivi illustre que dans ces conditions environnementales (coefficient de marée 86), les mesures à pleine mer sont en accord avec la moyenne journalière (-24 vs. $-24,1 \pm 0,4\text{‰}$).

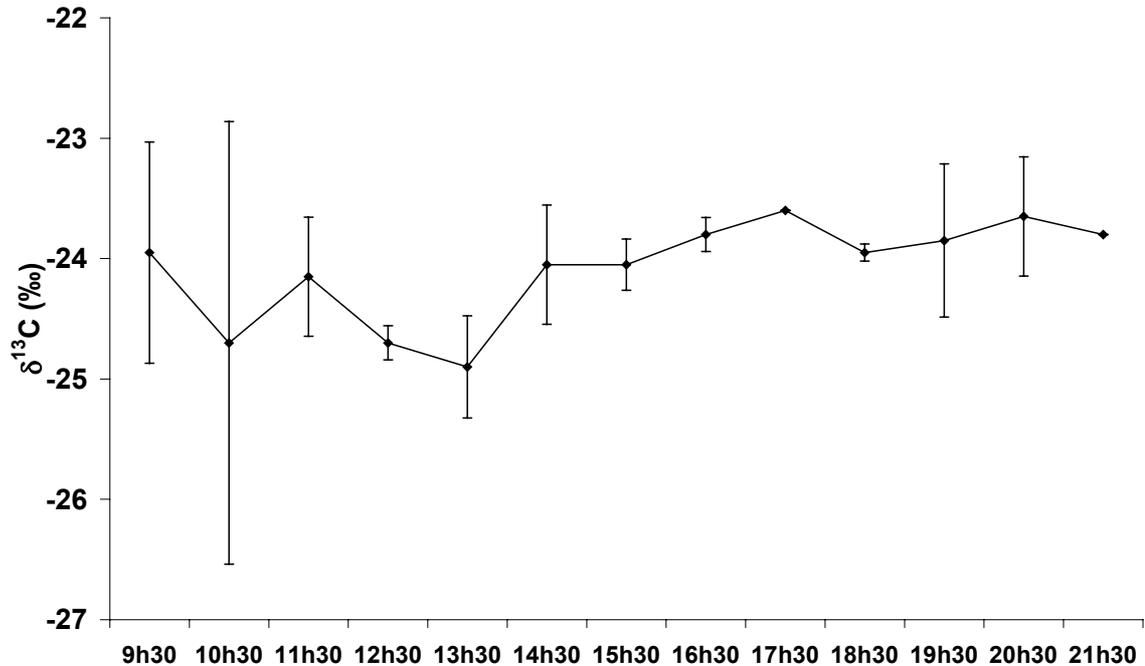


Figure II.24. Variations de $\delta^{13}\text{C}$ de la MOP en fonction du cycle de marée le 18 mai 2000 (coefficient de marée 86). Les barres d'erreur représentent l'écart-type sur 2 valeurs.

2.4.2 Composition isotopique et élémentaire des tissus

2.4.2.1 Reproductibilité des mesures

La mesure, au cours de la journée, des rapports isotopiques et des rapports C/N de chacun des organes (muscle, gonade et glande digestive) de la coquille Saint-Jacques, ne révèle aucune variation significative de ces paramètres à cette échelle temporelle (Fig. II.25). Ces résultats attestent de la bonne reproductibilité des mesures, de la faible variabilité inter-individuelle ($N=20$, écart-types $< 0,4 \text{‰}$ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$ et $< 1,1$ pour le C/N), et confirment l'idée attendue que l'heure de prélèvement n'a aucune influence sur les compositions isotopique et élémentaire.

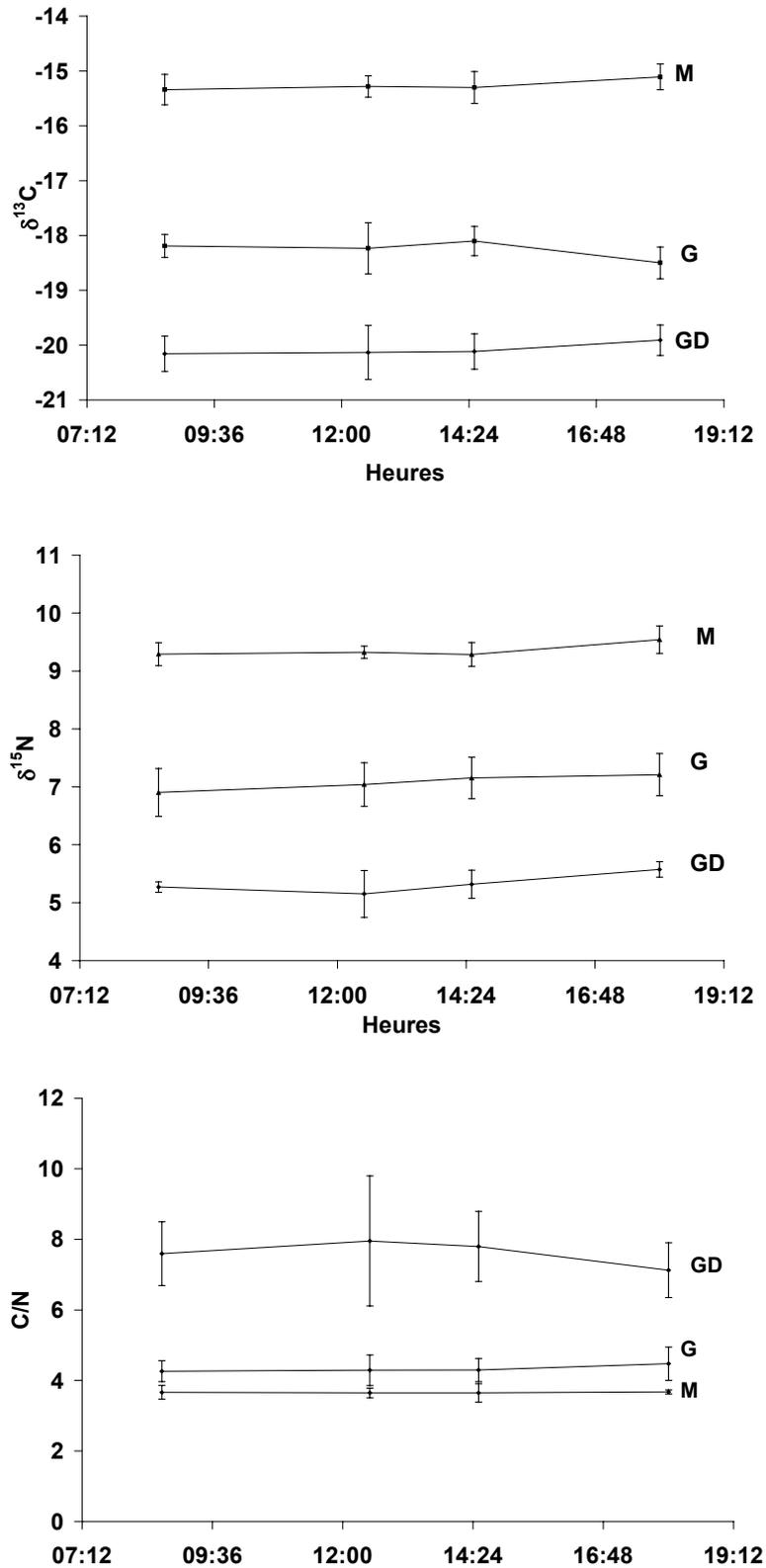


Figure II.25. Composition isotopique et élémentaire des différents organes de *Pecten maximus* (GD = Glande digestive, M = Muscle et G = Gonade) sur un cycle de marée le 17 mai 2000 (Pleine Mer à 17h37, Basse Mer à 11h41). A) $\delta^{13}\text{C}$ en ‰ ; B) $\delta^{15}\text{N}$ en ‰ ; C) C/N (unités de masse). Les barres d'erreur représentent les écart-types associés aux valeurs moyennes (N=5).

2.4.2.2 Variations en fonction de l'âge

Malgré quelques différences entre sites, de grandes tendances peuvent être dégagées (Fig. II.26 et II.27). Un modèle logarithmique a été ajusté afin de décrire la relation entre les rapports isotopiques et le rapport C/N du muscle des coquilles Saint-Jacques et leur âge (Statgraphics Plus, version 4.1). Le $\delta^{13}\text{C}$ du muscle des coquilles semble augmenter avec l'âge quel que soit le site, mais de façon plus prononcée à Bessaker et Brønnøysund ($R^2 = 0,87$ et $0,84$ vs. $0,43$). Dans les trois cas, la tendance est significative ($p < 0,001$). Pour le $\delta^{15}\text{N}$, si la même augmentation est visible avec l'âge pour Bessaker ($R^2 = 0,87$, $p < 0,0001$), la relation est faible à Brønnøysund ($R^2 = 0,26$, $p < 0,1$) et aucune tendance n'est apparente à Træna, si l'on considère l'ensemble des résultats.

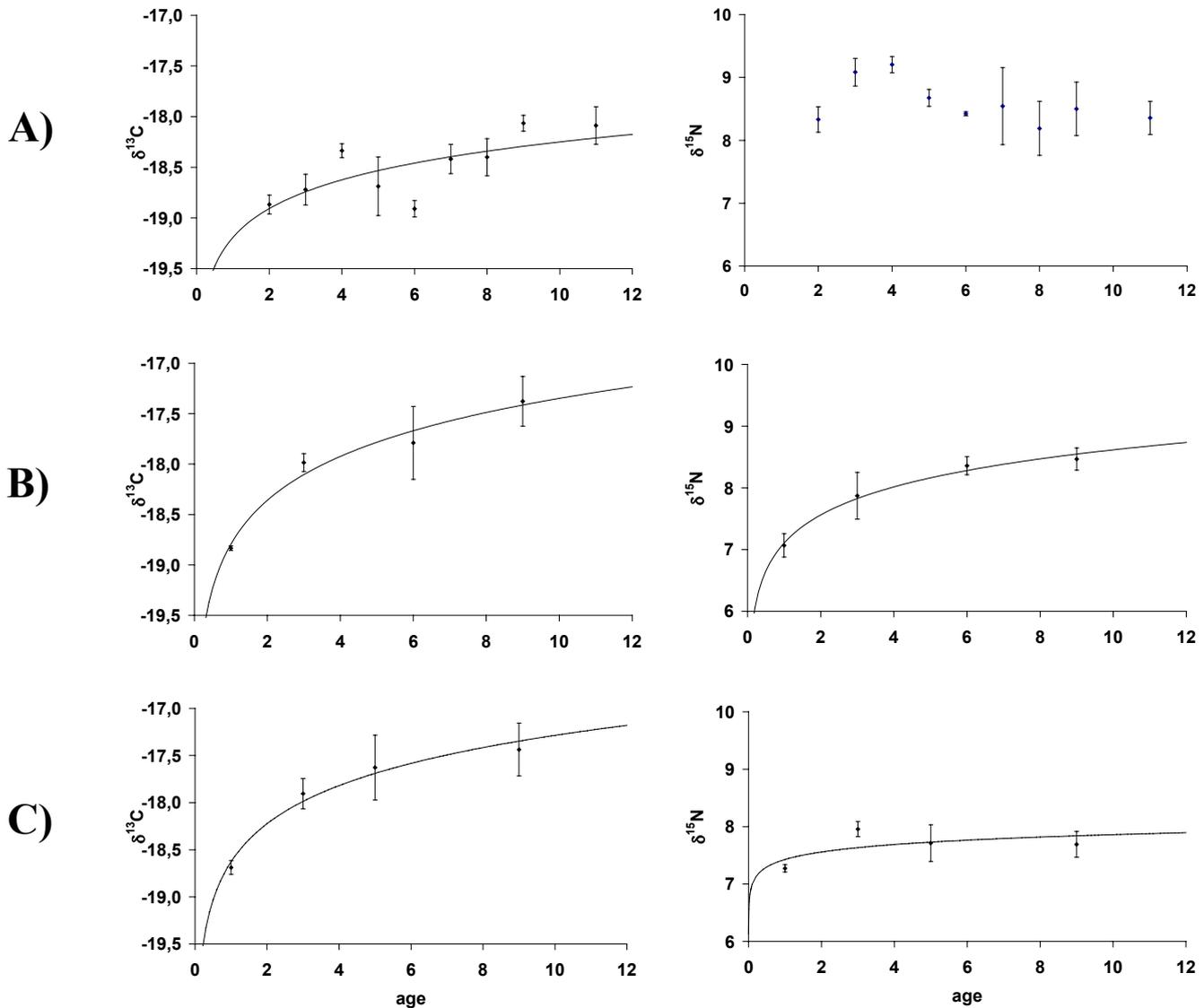


Figure II.26. Variations du $\delta^{13}\text{C}$ (à gauche) et du $\delta^{15}\text{N}$ (à droite) (moyenne \pm écart-type, $N=5$, ‰) du muscle des coquilles Saint-Jacques en fonction de l'âge (en années) d'individus provenant de Træna (A), Bessaker (B) et Brønnøysund (C).

Quant au rapport C/N (Fig. II.27), il présente une augmentation significative avec l'âge pour les trois populations étudiées ($R^2 = 0,70$, $p < 0,0001$ à Træna ; $R^2 = 0,75$, $p = 0,0002$ à Bessaker et $R^2=0,82$, $p < 0,0001$ à Brønnøysund).

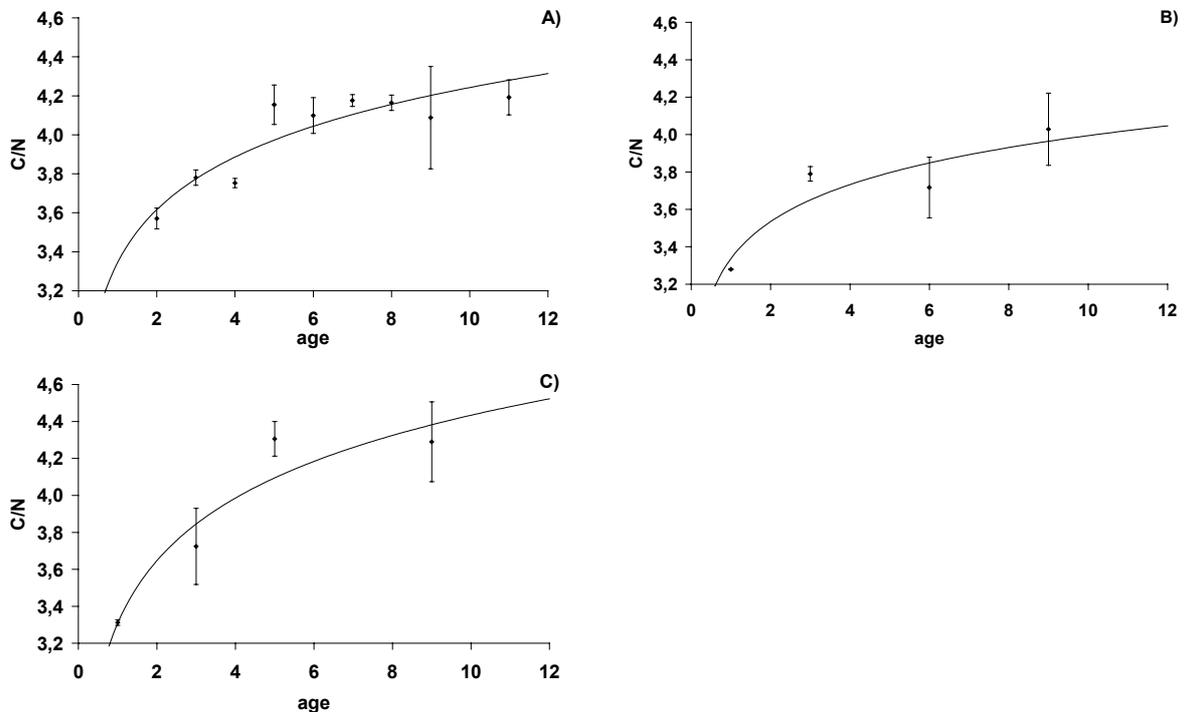


Figure II.27. Rapports C/N (moyenne \pm écart-type, N=5) du muscle des coquilles Saint-Jacques provenant de Træna (A), Bessaker (B) et Brønnøysund (C).

2.4.2.3 Valeurs moyennes et relations avec les sources potentielles de nourriture

De fortes différences de composition isotopique sont observées entre les différents organes (Fig. II.28) à la fois en carbone et en azote. Le $\delta^{13}\text{C}$ moyen est de $-15,3 \pm 0,2$ ‰, $-18 \pm 0,4$ ‰ et $-20,3 \pm 0,3$ ‰ pour le muscle, la gonade et la glande digestive respectivement ; pour le $\delta^{15}\text{N}$, cette composition est de $9,5 \pm 0,2$ ‰, $8,1 \pm 0,4$ ‰ et $6,4 \pm 0,2$ ‰. Ces différences de composition isotopique sont plus prononcées pour le carbone, la glande digestive et la gonade ayant un $\delta^{13}\text{C}$ plus léger de 5,0‰ et 2,7‰ respectivement, par rapport au muscle adducteur. Pour l'azote, l'écart entre les organes est moindre, mais on observe toujours un écart conséquent entre le muscle et la gonade (1,4‰), la glande digestive et la gonade (1,8‰) et la glande digestive et le muscle (3,2‰).

Les deux principales sources de nourriture analysées sont la matière organique particulaire en suspension et le phytoplancton (correspondant aux valeurs de la MOP composée majoritairement de phytoplancton frais, voir § 2.4.1). Les compositions isotopiques

moyennes de la MOP sont de $-23,1 \pm 1,4\text{‰}$ et $2,6 \pm 1,9\text{‰}$ (nos données) et $-22,4 \pm 1,5\text{‰}$ et $4,7 \pm 1,7\text{‰}$ (empruntées à Savoye, 2001, voir paragraphe précédent pour explication) pour le phytoplancton et pour le carbone et l'azote respectivement.

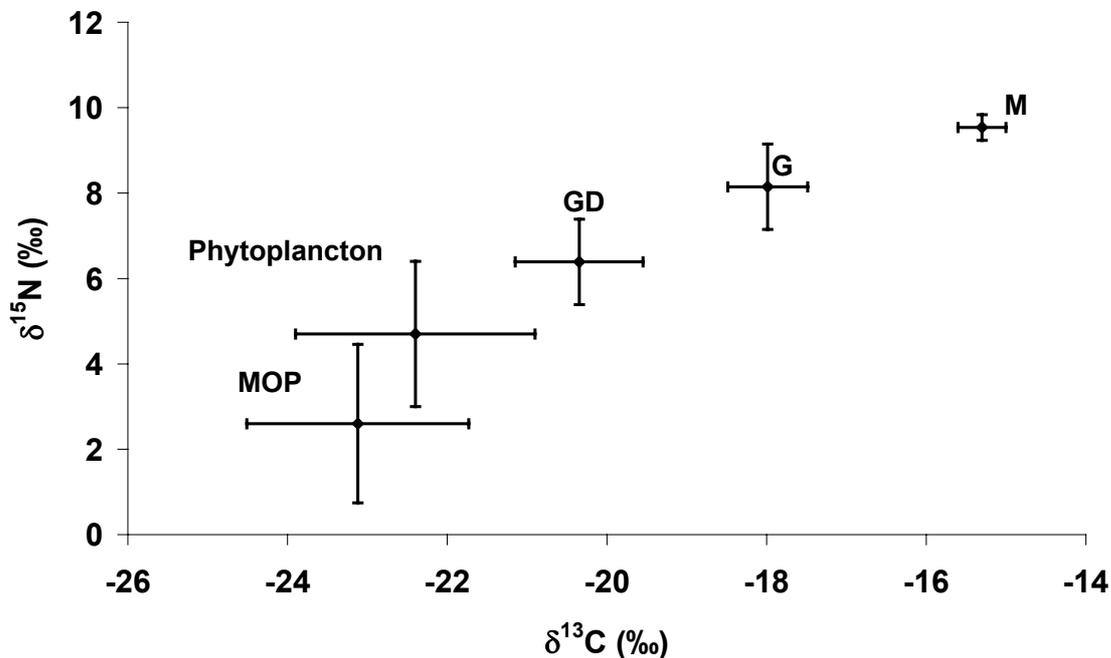


Figure II.28. Composition en isotopes stables ($\delta^{15}\text{N}$ vs. $\delta^{13}\text{C}$) des différents tissus de *Pecten maximus* (GD, Glande digestive, G, gonade et M, muscle adducteur) et de ses sources potentielles de nourriture (Phytoplancton ; N = 74 et matière organique particulaire, MOP ; N= 53). Les données tissulaires sont des valeurs moyennes de 5 individus pour chacune des 19 dates de prélèvements en 2000 et 2001. Les données de phytoplancton proviennent de Savoye (2001). Les barres d'erreurs correspondent à l'écart-type.

Ces valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{15}\text{N}$ pour le phytoplancton sont en accord avec les données de la littérature (Goering *et al.*, 1984 ; France, 1995).

Les compositions en isotopes stables de la coquille Saint-Jacques et des principaux producteurs primaires ont été superposées sur le diagramme du $\delta^{13}\text{C}$ en fonction du $\delta^{15}\text{N}$ (Fig. II.28). Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ du muscle de *Pecten maximus* sont enrichies en ^{15}N de 5‰ par rapport au phytoplancton et de 7‰ par rapport à la MOP. Ces différences sont encore plus marquées pour le $\delta^{13}\text{C}$, les différents tissus, étant fortement enrichis en ^{13}C par rapport aux sources potentielles de nourriture (en particulier le muscle avec 7‰ d'enrichissement).

2.4.2.4 Variations saisonnières

- La composition isotopique des organes des coquilles Saint-Jacques présente de très faibles variations interindividuelles (0,3‰ en moyenne à la fois pour le $\delta^{15}\text{N}$ et le $\delta^{13}\text{C}$ et au

maximum 0,8‰ de variation) pour chaque date de prélèvement, indiquant une forte homogénéité physiologique des individus de la population. Les trois organes étudiés présentent des variations saisonnières de composition isotopique très prononcées pour la glande digestive (3‰), atténuées pour le muscle (1‰), et intermédiaires pour la gonade (2‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et 3‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$; Fig. II. 29).

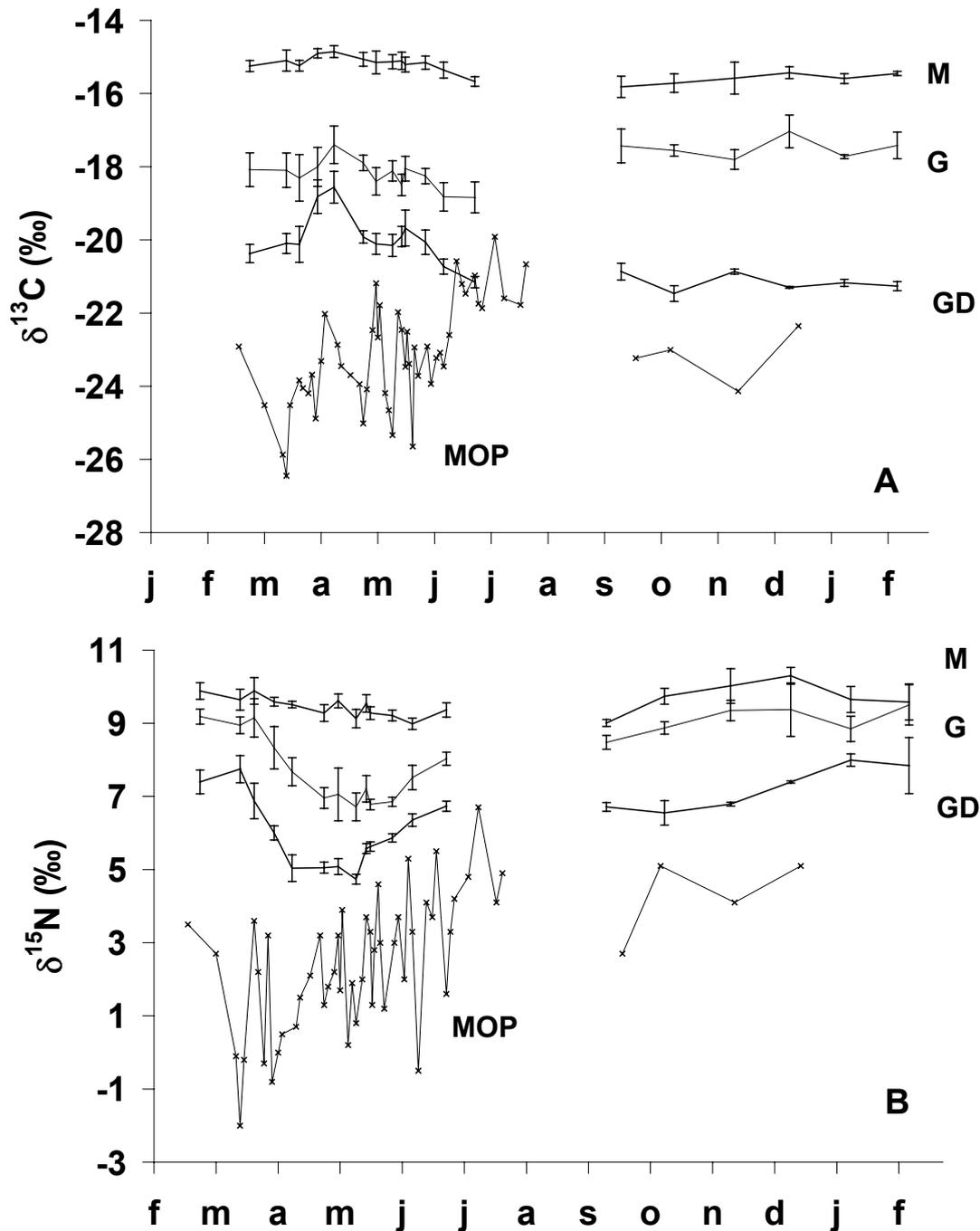


Figure II.29. Variations saisonnières des compositions isotopiques moyennes (N = 5) dans le muscle (M), la gonade (G), la glande digestive (GD) de *Pecten maximus*, et pour la matière organique particulaire en suspension (MOP). A) $\delta^{13}\text{C}$; B) $\delta^{15}\text{N}$

Les plus fortes variations de $\delta^{15}\text{N}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ dans la glande digestive sont printanières et débutent de manière synchrone avec l'augmentation du rapport isotopique de la MOP, correspondant au premier bloom phytoplanctonique. Les rapports isotopiques de l'azote, de la glande digestive, diminuent jusqu'au 12 mai et augmentent ensuite progressivement jusqu'à la fin de l'hiver suivant pour atteindre leur valeur hivernale initiale. Pour le $\delta^{13}\text{C}$, après la brusque augmentation des teneurs en ^{13}C du 1^{er} avril au 10 avril, on assiste à une diminution progressive des valeurs jusqu'au 26 juin et ensuite une stabilisation autour de $-21,2\text{‰}$, valeur qui se maintient jusqu'à l'hiver. Toutes ces tendances se retrouvent dans la gonade et le muscle, mais de manière beaucoup plus atténuée.

- Si l'on représente les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ vs. celles de $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. II.30), on peut noter que les valeurs sont positivement corrélées quand l'ensemble des données est pris en compte ($p < 0,0001$), alors que leurs variations sont souvent opposées dans la glande digestive et la gonade au cours de l'année (Fig. II.29).

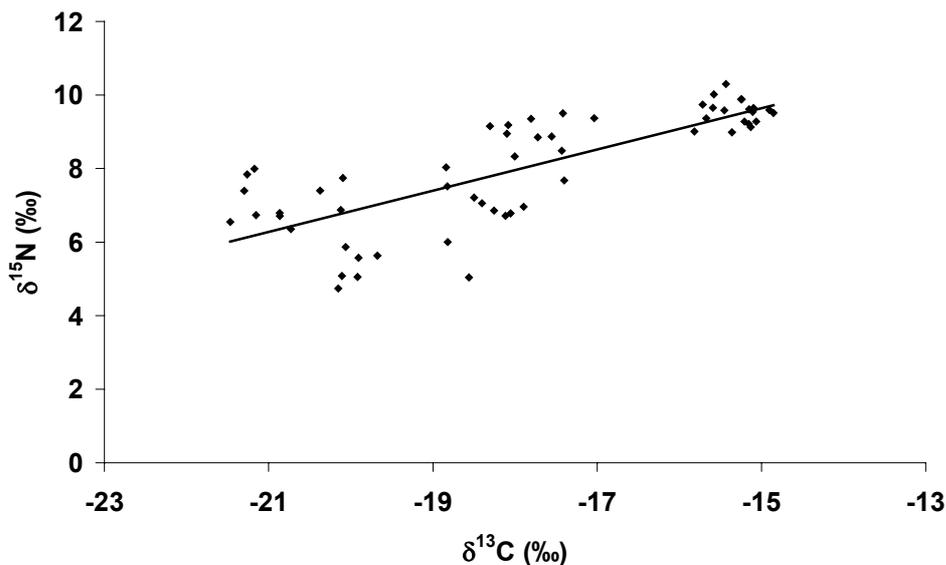


Figure II.30. Régression linéaire entre les rapports des isotopes stables de l'azote et ceux du carbone ($R^2 = 0,61$, $p < 0,0001$).

- La glande digestive a le rapport C/N le plus élevé de tous les organes (Fig. II.31) en accord avec son pourcentage de lipides, 25% en moyenne contre 15% dans la gonade et 4% dans le muscle (Saout, 2000). Les variations saisonnières sont plus prononcées dans la glande digestive avec une forte augmentation de fin mai à octobre, puis une stabilisation jusqu'au

mois de février. Le muscle et la gonade ne présentent pas de variation significative du rapport C/N.

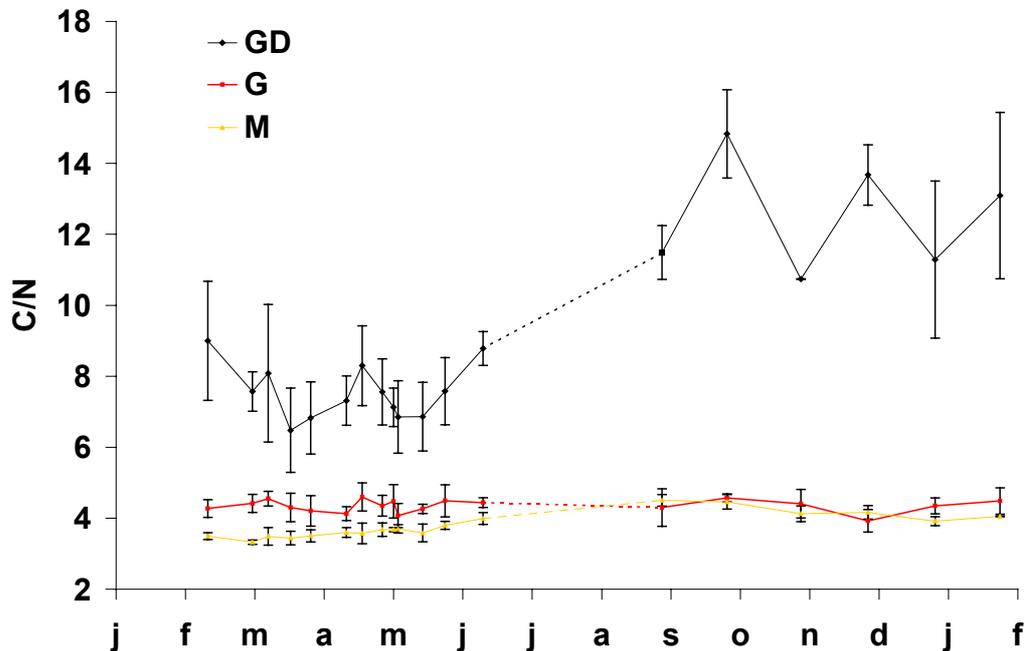


Figure II.31. Variations du rapport C/N dans trois organes de la coquille Saint-Jacques aux différentes dates de prélèvements en 2000-2001 (GD = glande digestive, G = gonade et M = muscle). Les barres d'erreur représentent les écart-types associés aux valeurs moyennes (N = 5). Les pointillés représentent une zone où le pas d'échantillonnage est particulièrement élevé.

2.4.2.5 Variations en fonction du site

Les valeurs des coquilles prélevées à Træna (situé au niveau du cercle polaire arctique 66°30', 11/09/01) sont comparées à celles de la rade de Brest pour une saison équivalente (14/09/00). Une forte différence de composition isotopique est notée (Tableau II.4), et ce pour tous les organes. Les coquilles norvégiennes ont en moyenne des rapports isotopiques plus faibles de l'ordre de 3‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et de 2‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$ de la gonade et de la glande digestive. Le $\delta^{15}\text{N}$ du muscle est cependant équivalent pour les deux populations. Les rapports C/N sont comparables pour les coquilles norvégiennes et bretonnes.

Comme en rade de Brest, les différents organes ont des compositions isotopiques bien différenciées, avec un muscle fortement enrichi en isotope lourd. Le $\delta^{13}\text{C}$ du muscle et de la glande digestive diffèrent de 5,6‰, et leur $\delta^{15}\text{N}$ de 4,8‰. On peut noter que ces différences sont plus contrastées en Norvège qu'en rade de Brest, en particulier pour le $\delta^{15}\text{N}$. Les rapports C/N de la glande digestive sont dans les deux populations beaucoup plus élevées confirmant leur contenu lipidique élevé.

Tableau II.4. Composition isotopique et élémentaire des différents tissus de *P. maximus* à Træna (Norvège, 11/09/01, N = 3) et à Brest (14/09/00, N = 5).

Paramètre	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		C/N	
	Træna	Brest	Træna	Brest	Træna	Brest
Muscle	-18,7 ± 0,2	-15,8 ± 0,3	9,1 ± 0,2	9,0 ± 0,1	3,8 ± 0,04	4,5 ± 0,2
Gonade	-20,9 ± 0,1	-17,4 ± 0,5	6,7 ± 0,1	8,5 ± 0,2	4,3 ± 0,1	4,3 ± 0,5
Glande digestive	-24,3 ± 0,2	-20,9 ± 0,2	4,3 ± 0,5	6,7 ± 0,1	11,8 ± 1,3	11,5 ± 0,8

2.4.3 Valeurs estimées et observées de l'ensemble du corps

Notre équation utilisant les valeurs saisonnières pondérales des organes au cours de l'année (Tableau II.5) et les données isotopiques des trois organes, nous donne une valeur moyenne de $-16,6 \pm 0,3\text{‰}$ et de $8,8 \pm 0,6\text{‰}$ pour le carbone et l'azote respectivement. En particulier, les valeurs isotopiques estimées le 15 mars sont de $-16,4\text{‰}$ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et $9,3\text{‰}$ pour le $\delta^{15}\text{N}$ (Tableau II.6).

Or les valeurs mesurées sur trois coquilles prélevées le 4 mars 2002 donnent des compositions isotopiques moyennes pour l'ensemble du corps de $-16,6 \pm 0,1\text{‰}$ et $9,6 \pm 0,3\text{‰}$ pour le carbone et l'azote, respectivement (Tableau II.6), soit similaires à celles calculées d'après le modèle à une période équivalente (15 mars). Les valeurs isotopiques pondérées des trois principaux organes sont donc représentatives de celles de l'ensemble du corps pour le carbone et l'azote et les valeurs moyennes calculées qui en découlent peuvent être utilisées pour l'estimation des sources de nourriture.

Tableau II.5. Détail des valeurs moyennes par date de prélèvement en terme de poids sec (N=20), de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{15}\text{N}$ (en ‰, N=5) pour le muscle (m), la gonade (g), la glande digestive (GD) et valeurs des rapports isotopiques de l'ensemble du corps (Ec) estimées d'après notre modèle ($\delta_{\text{ensemble du corps}} = [\Sigma(\delta_{\text{organe}} * \text{poids}_{\text{organe}})] / (\Sigma \text{poids}_{\text{organe}})$), § 2.1.3).

Date	Poids sec (g)			date	$\delta^{13}\text{C}$				$\delta^{15}\text{N}$			
	m	g	GD		GD	g	m	Ec	GD	g	m	Ec
18/02/00	3,8	1,2	0,7	24/02/00	-20,4	-18,1	-15,2	-16,4	7,4	9,2	9,9	9,4
17/03/00	3,0	1,0	0,5	15/03/00	-20,1	-18,1	-15,1	-16,4	7,7	8,9	9,6	9,3
17/03/00	3,0	1,0	0,5	22/03/00	-20,1	-18,3	-15,2	-16,5	6,9	9,2	9,9	9,4
01/04/00	3,5	1,1	0,8	01/04/00	-18,8	-18,0	-14,9	-16,1	6,0	8,3	9,6	8,8
19/04/00	3,6	1,5	1,0	10/04/00	-18,6	-17,4	-14,9	-16,1	5,0	7,7	9,5	8,4
19/04/00	3,6	1,5	1,0	26/04/00	-19,9	-17,9	-15,1	-16,5	5,1	7,0	9,3	8,0
04/05/00	3,3	1,1	0,9	03/05/00	-20,1	-18,4	-15,1	-16,7	5,1	7,1	9,6	8,3
17/05/00	3,5	1,0	0,9	12/05/00	-20,2	-18,1	-15,1	-16,5	4,7	6,7	9,1	8,0
17/05/00	3,5	1,0	0,9	17/05/00	-19,9	-18,5	-15,1	-16,5	5,6	7,2	9,5	8,5
17/05/00	3,5	1,0	0,9	19/05/00	-19,7	-18,1	-15,2	-16,5	5,6	6,8	9,3	8,2
24/05/00	3,8	1,5	1,0	30/05/00	-20,1	-18,3	-15,2	-16,6	5,9	6,9	9,2	8,1
08/06/00	3,3	1,0	0,7	09/06/00	-20,7	-18,8	-15,4	-16,8	6,4	7,5	9,0	8,3
26/06/00	4,7	1,2	1,3	26/06/00	-21,2	-18,8	-15,7	-17,2	6,7	8,0	9,4	8,7
14/09/00	6,4	1,0	1,5	14/09/00	-20,9	-17,4	-15,8	-16,8	6,7	8,5	9,0	8,6
14/10/00	6,8	1,6	1,5	13/10/00	-21,5	-17,6	-15,7	-16,9	6,5	8,9	9,7	9,1
01/11/00	5,7	1,4	1,1	15/11/00	-20,9	-17,8	-15,6	-16,7	6,8	9,4	10,0	9,5
14/12/00	6,3	1,7	1,2	15/12/00	-21,3	-17,0	-15,4	-16,5	7,4	9,4	10,3	9,8
14/01/01	4,5	1,2	0,9	14/01/01	-21,2	-17,7	-15,6	-16,7	8,0	8,8	9,7	9,3
12/02/01	4,1	1,2	0,8	12/02/01	-21,3	-17,4	-15,5	-16,6	7,8	9,5	9,6	9,3
moyenne								-16,6				8,8
ecartype								0,3				0,6

Tableau II.6. Composition isotopique des différents organes de *Pecten maximus* prélevés le 4 mars 2002 (N = 3).

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Ensemble du corps	-16,5 ± 0,1	9,6 ± 0,3
Muscle	-15,4 ± 0,2	9,6 ± 0,2
Gonade	-18,3 ± 0,4	8,6 ± 0,5
Glande digestive	-20,4 ± 0,2	7,2 ± 0,3
Branchies	-18,0 ± 0,3	9,4 ± 0,6
Manteau	-16,5 ± 0,1	9,2 ± 0,5

On peut noter, pour la date du 4 mars 2002, que si le muscle et l'ensemble du corps ont des compositions isotopiques similaires en $\delta^{15}\text{N}$ (9,6‰), elles diffèrent de l'ordre de 1‰ pour ce qui est du $\delta^{13}\text{C}$ (-15,4 vs -16,5‰). D'après notre modèle, cette différence de 1‰ est observée à la fois sur le carbone et sur l'azote si l'on considère les valeurs moyennes calculées sur l'ensemble de l'année.

2.4.4 Données biochimiques et pondérales de la glande digestive

2.4.4.1 Indice pondéral

Les variations de l'indice de la glande digestive sont présentées sur la figure II.32. pour l'année 2000. Cet organe présente un minimum hivernal avec des indices inférieurs à 1 en début de printemps. Cette période marque le début de la croissance de la glande digestive qui atteint une valeur maximale de 1,6 fin août début septembre. Cette croissance connaît cependant des irrégularités le 24 mai, 24 juillet et 14 septembre, avec des chutes significatives de l'indice.

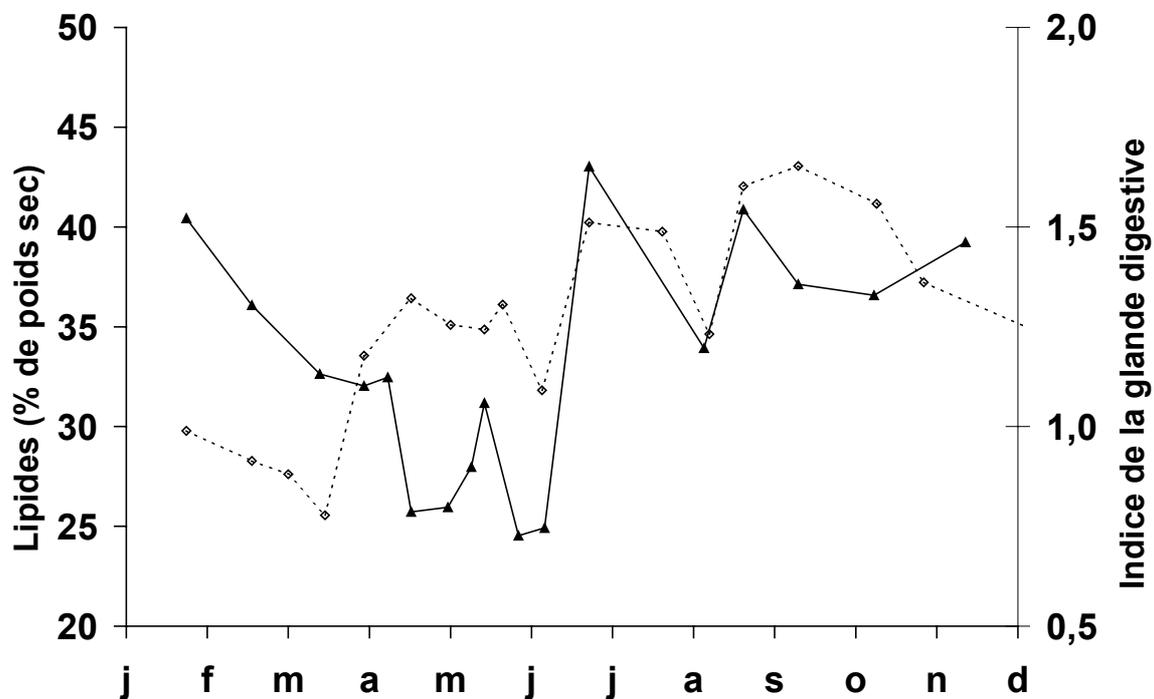


Figure II.32. Contenu lipidique (—, exprimé en pourcentage de poids sec) et indice pondéral de la glande digestive (-----) pour l'année 2000.

2.4.4.2 Contenu lipidique

Les variations du contenu lipidique, exprimées en pourcentage du poids sec total de tissu, sont représentées sur le même graphique (Fig. II.32). Les lipides sont très fortement utilisés pendant l'hiver, et passent de 40% en janvier à 25% mi-avril. Pendant la période printanière, une augmentation du contenu lipidique au mois de mai est immédiatement suivie par une décroissance jusqu'à des contenus lipidiques inférieurs à 25% du poids sec total de

l'organe. La période estivale, quant à elle, est caractérisée par une forte accumulation de lipides qui atteignent des niveaux équivalents à ceux du début de l'hiver. Une chute du contenu lipidique est cependant notable fin juillet-début août, synchrone à une chute de l'indice pondéral.

D'une manière générale, le contenu lipidique et l'indice pondéral de la glande digestive évoluent en phase, excepté pendant la période printanière (15 mars-15 mai) où leurs variations sont particulièrement découplées, et où l'augmentation en poids de l'organe ne correspond pas à une accumulation de lipides.

2.4.4.3 Relation $\delta^{13}\text{C}$ et contenu lipidique des différents organes

Les différentes valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des organes (moyennes des 5 individus analysés) ont été comparées aux contenus lipidiques moyens de ces mêmes organes, pour des dates comparables, sur la base de dosages réalisés en 1996. Le suivi biochimique de Saout (2000) offre, en effet, un ensemble cohérent de données concernant tous les organes, pour une année représentative du cycle annuel moyen de la coquille Saint-Jacques.

Une relation linéaire négative existe entre le $\delta^{13}\text{C}$ et le pourcentage de lipides : le contenu lipidique des organes explique 82% de la variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. II.33, $R^2 = 0,82$, $p < 0,0001$). Les valeurs des différents tissus apparaissent relativement groupées, la glande digestive ayant le plus faible $\delta^{13}\text{C}$ et le plus fort contenu lipidique et, à l'inverse, le muscle ayant le plus faible contenu lipidique et le plus fort $\delta^{13}\text{C}$.

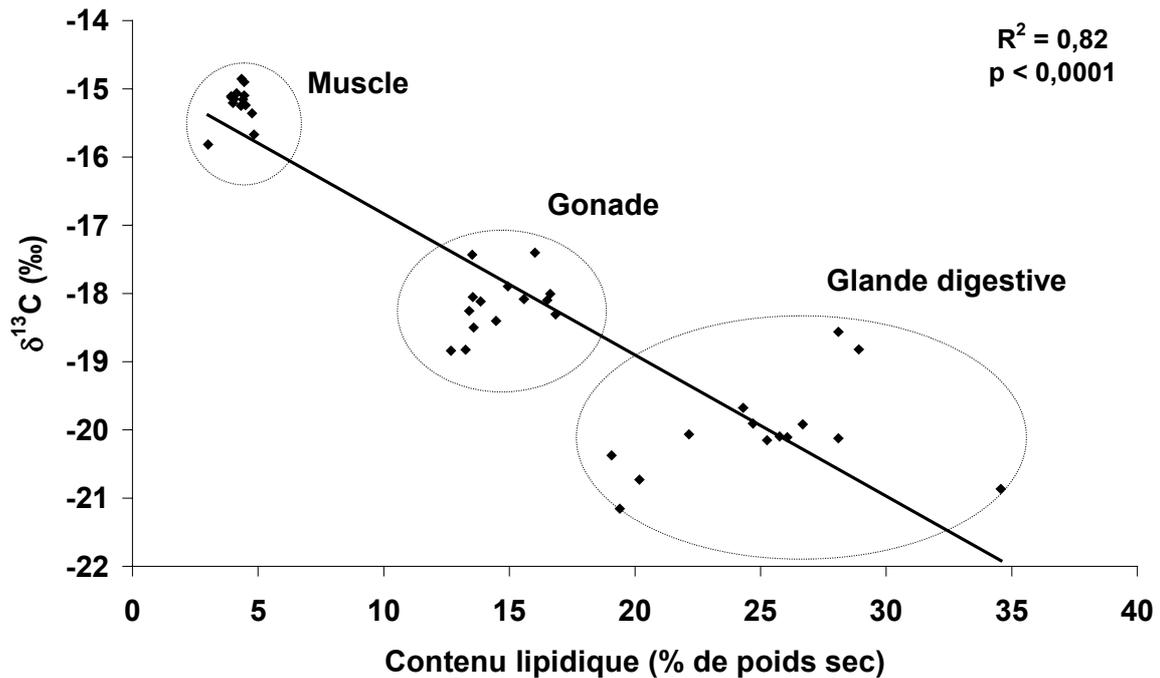


Figure II.33. Relation linéaire entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des différents organes (année 2000) en fonction de leur contenu lipidique à la même période de l'année (résultats pour l'année 1996 d'après Saout, 2000).

2.5 Discussion

2.5.1 Variabilité interindividuelle et effet de l'âge

Les résultats obtenus relatifs aux variations de $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ et C/N au cours des prélèvements successifs du 17 mai 2000, confirment la représentativité de nos mesures à l'échelle journalière et à l'échelle de la population. En effet, les 20 individus échantillonnés au cours de la journée (N=5 pour chacun des quatre prélèvements), présentent une composition isotopique homogène (écart-types inférieurs à 0,4‰ pour la composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) et de l'ordre de 1,1 pour le C/N).

Les variations en fonction de l'âge montrent une nette augmentation à la fois du $\delta^{13}\text{C}$, du $\delta^{15}\text{N}$ et du rapport C/N dans les premières années de vie des coquilles Saint-Jacques norvégiennes, et l'obtention d'un plateau, en moyenne, aux alentours de la classe d'âge 8. Peu d'études sont disponibles dans la littérature concernant l'effet de l'âge sur les rapports des isotopes stables et du C/N et leurs résultats sont contradictoires. Minagawa et Wada (1984) étudiant le $\delta^{15}\text{N}$ dans le muscle de deux espèces de moules marines (*Mytilus edulis* et *Septifer*

virgatus) concluent que ce rapport isotopique est indépendant de l'âge. Chez les poissons, le $\delta^{15}\text{N}$ augmenterait avec la taille, et donc avec l'âge (Rau *et al.*, 1981 in Minagawa & Wada, 1984), en relation avec un changement de régime trophique et même de niveau trophique au cours de la vie de ces organismes (Jennings *et al.*, 2002a). Le Loc'h & Hily (*com.pers.*) montrent une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$ en fonction de la taille chez un poisson, le merlu (*Merluccius merluccius*), et du $\delta^{13}\text{C}$ avec la taille chez un crustacé, la langoustine (*Nephrops norvegicus*), associé là aussi à un changement de régime trophique.

Kang *et al.* (1999) travaillant non plus sur le muscle, mais sur l'ensemble du corps de juvéniles et d'adultes de *Cerastoderma edule*, mesurent des $\delta^{15}\text{N}$ similaires entre le naissain, les juvéniles et les adultes. A l'opposé, ces auteurs décrivent une diminution du $\delta^{13}\text{C}$ chez cette espèce avec l'âge ; ils l'expliquent par une modification du régime alimentaire lié à l'évolution des mécanismes de capture avec la taille des individus. Ainsi, les juvéniles, strictement inféodés à la couche de fond, consommeraient majoritairement du microphytobenthos, tandis que les adultes, filtreraient une proportion plus importante d'algues phytoplanctoniques

Chez la coquille Saint-Jacques, un système de filtration identique à celui de l'adulte est mis en place dès l'état juvénile (Le Penec, *com.pers.*). Une modification du régime alimentaire ne pourrait alors s'expliquer, comme chez la coque, que par un simple facteur de puissance de pompage (intensité du courant inhalant) amenant les juvéniles à s'alimenter relativement plus dans la couche benthique, que les adultes. Toutefois, les variations du $\delta^{13}\text{C}$ chez la coquille Saint-Jacques (augmentation avec l'âge) sont opposées à celles observées chez la coque et la méconnaissance des caractéristiques des sites de prélèvement (Norvège) ne nous permet pas de valider ou non cette hypothèse.

Ces variations avec l'âge pourraient également trouver une explication dans une évolution du métabolisme. En effet, l'évolution des rapports isotopiques et celles du C/N avec l'âge, présentent de fortes similitudes avec la courbe de croissance asymptotique des coquilles Saint-Jacques (Antoine, 79). Durant la croissance juvénile, la production rapide de nouveaux tissus réduirait les processus de fractionnement et maintiendrait des rapports isotopiques relativement faibles. Progressivement, chez les adultes, la production de nouveaux tissus tend vers zéro, et le métabolisme de maintenance des tissus existants, induirait, à travers les mécanismes de respiration et d'excrétion, l'élimination des isotopes légers (^{12}C et ^{15}N).

Nos résultats, reproductibles pour trois sites de latitude et de caractéristiques différentes, laissent penser que l'hypothèse d'une influence du métabolisme est plus

vraisemblable chez cette espèce qu'un changement de régime trophique, pour expliquer l'augmentation des rapports isotopiques au cours de la vie.

Ainsi, au vu de ces résultats, il semble judicieux de travailler sur une même classe d'âge pour ne pas risquer de confondre des variations saisonnières, inter-annuelles ou spatiales avec l'effet de l'âge. Cependant, si ces variations de composition isotopique sont dues au métabolisme, ces résultats remettent en question l'utilisation d'un facteur de fractionnement unique pour une espèce donnée. Une variation de 1‰ est observée, en moyenne, entre les juvéniles et les adultes de coquilles Saint-Jacques, pouvant biaiser l'interprétation des sources de nourriture. Une expérimentation en milieu contrôlé, avec une source de nourriture de composition isotopique connue et concernant plusieurs classes d'âge, permettrait de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse d'une influence du métabolisme, et d'associer un facteur de fractionnement à chaque classe d'âge.

2.5.2 Relation avec les sources de nourriture

Les résultats isotopiques montrent à la fois des variations saisonnières au sein des différents organes, et des différences de composition isotopique très marquées entre ces mêmes organes. En particulier, nos résultats montrent que l'évaluation du régime trophique sera différente selon le type de tissu analysé si on utilise le même facteur de fractionnement. En effet, l'étude des réseaux trophiques se base sur le principe général que les valeurs moyennes de $\delta^{15}\text{N}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ des tissus d'un organisme sont plus positives que celles de leur nourriture de 3-4‰ et 1‰, respectivement (§ 2.2.2.1). Cependant ces facteurs d'enrichissement sont utilisés indifféremment du tissu analysé, à savoir le muscle ou l'ensemble du corps. Or, nos résultats montrent que pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$, le muscle diffère de l'ensemble du corps, en moyenne, de 1‰. Ainsi, en appliquant les facteurs d'enrichissement classiques aux valeurs isotopiques moyennes observées du muscle ou à celles estimées de l'ensemble du corps, les interprétations pourront être différentes, surtout pour le carbone car le facteur de fractionnement est du même ordre de grandeur que la différence entre les deux organes.

Les relations isotopiques entre les sources de nourriture potentielles de *P. maximus* et ses différents tissus sont illustrées sur la figure II.28 (p109). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ du muscle et de l'ensemble du corps sont particulièrement enrichies par rapport aux sources trophiques potentielles, à savoir le phytoplancton et la matière organique particulaire en suspension. L'écart en $\delta^{15}\text{N}$ est moins important, mais en milieu côtier les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ ne permettent

généralement pas de différencier les sources trophiques, car elles sont très similaires (Michener & Schell, 1994). D'après la littérature, et avec nos valeurs moyennes, pour le muscle (-15,2‰) et l'ensemble du corps (-16,6‰), les valeurs attendues pour la nourriture de la coquille Saint-Jacques devraient être de -16,2 ou -17,6‰ selon le tissu considéré. Dans les deux cas, l'écart avec les valeurs du phytoplancton est important. On pourrait prédire que *P. maximus* consomme une nourriture mixte, composée soit d'une minorité de phytoplancton, soit à l'inverse d'une majorité de phytoplancton et d'une très petite quantité d'une nourriture très enrichie en ^{13}C .

Chez les bivalves, de nombreuses sources non phytoplanctoniques de nourriture ont été reportées, incluant le carbone organique dissous (Roditi *et al.*, 2000), le matériel détritique (Raikow & Hamilton, 2001), les algues benthiques (le microphytobenthos, Kang *et al.*, 1999 ; Kreeger & Newell, 2001) et les microhétérotrophes (des bactéries, Nichols & Garling, 2000). Comme nous ne disposons pas des signatures isotopiques de ces différentes sources de nourriture en rade de Brest, mais seulement de la matière organique particulaire globale, nous ne pouvons pas déterminer la nourriture de *Pecten maximus* en détail. La coquille Saint-Jacques pourrait consommer une source de nourriture non échantillonnée, comme en particulier le microphytobenthos qui a une signature isotopique proche de la valeur attendue d'après le $\delta^{13}\text{C}$ du muscle et de l'ensemble du corps ($\delta^{13}\text{C}_{\text{microphytobenthos}} = -17\text{‰}$ d'après France, 1995 ou -16‰ d'après Kang *et al.*, 1999). Cette hypothèse ne semble cependant pas très convaincante étant donné les fortes profondeurs auxquelles vivent ces coquilles Saint-Jacques (30m), et les forts coefficients d'extinction de la lumière dans les eaux de la rade de Brest (proches de $0,2\text{m}^{-1}$, Le Pape, 1996), qui semblent y interdire toute production conséquente de diatomées benthiques (Sagan & Thouzeau, 1998). Cependant, plus de la moitié de la rade a une profondeur inférieure à 5 mètres et pourrait être le siège d'une forte production microphytobenthique qui serait ensuite advectée en profondeur. Comme nous ne disposons d'aucune donnée sur la production de microphytobenthos en rade de Brest, l'hypothèse d'une contribution importante de microphytobenthos, d'origine autochtone ou allochtone, au régime trophique de *P. maximus* ne peut être rejetée.

D'après nos résultats, nous pouvons juste conclure que le phytoplancton ne semble pas être la seule source de nourriture utilisée par la coquille Saint-Jacques, tout du moins si l'on considère que l'acquisition de nourriture et l'assimilation sont non sélectives, et que les facteurs de fractionnement classiques sont applicables à la coquille Saint-Jacques.

En effet, ces deux postulats ne sont pas forcément valables dans tous les cas et plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'écart des valeurs isotopiques entre la nourriture et les tissus d'un organisme :

- une sélection de la matière organique en suspension peut se produire, c'est-à-dire que la coquille serait en mesure d'incorporer une fraction de la MOP dominée par des espèces ayant, par exemple, une signature isotopique particulièrement enrichie en ^{13}C (microphytobenthos, bactéries...). Raikow & Hamilton (2001) ont mis en évidence une incidence de la sélection sur la signature isotopique de bivalves d'eau douce.

A un second niveau, une assimilation sélective de composés spécifiques (nutriments) peut avoir lieu. Par exemple, les protéines de la nourriture peuvent avoir une signature isotopique enrichie en ^{13}C par rapport à l'ensemble de la MOP ; si ces protéines sont préférentiellement assimilées, la composition isotopique des tissus sera plus proche de celle des protéines que de celle de la nourriture globale. Ce phénomène d'assimilation sélective s'ajoutant au fractionnement métabolique est susceptible d'affecter majoritairement les herbivores (par opposition aux carnivores). En effet, la composition biochimique de leur nourriture est moins homogène que celle des carnivores et pourrait conduire, par exemple, à une discrimination des pools d'azote (Vander Zanden & Rasmussen, 2001).

- Le phénomène de "routage isotopique" (isotopic routing) peut aussi expliquer les différences de composition isotopique entre les tissus analysés d'un organisme et ses sources potentielles de nourriture (Gannes *et al.*, 97,98 ; Vander Zanden & Rasmussen, 2001). C'est-à-dire que les animaux peuvent réaliser une allocation différentielle des différents métabolites de la nourriture selon les besoins spécifiques des différents organes. La composition isotopique d'un tissu reflétera celle de la fraction biochimique utilisée pour construire le tissu spécifique et sera différente de celle de la nourriture globale. Ce phénomène peut aussi expliquer des différences de composition isotopique entre organes.

- les facteurs de fractionnement classiquement utilisés (1‰ et 3-4‰ pour le carbone et l'azote, respectivement) dans la littérature sont des valeurs moyennes calculées essentiellement à partir d'espèces terrestres, ils sont de plus entachés d'une forte variabilité (DeNiro & Epstein, 1978, 81 ; Minagawa & Wada, 1984 ; Focken & Becker, 1998 ; Pinnegar & Polunin, 1999 ; Raikow & Hamilton, 2001 ; Focken, 2001). Le métabolisme de certains organismes pourrait donc conduire à un fractionnement différent de la moyenne. Dans une

récente étude regroupant les différents facteurs de fractionnement de la littérature et les données de leurs propres expériences, Vander Zanden & Rasmussen (2001), ont calculé l'erreur effectuée en prenant les facteurs d'enrichissement classiques. Ces auteurs concluent que même si les valeurs classiques sont une bonne approximation du fractionnement moyen, la variabilité associée doit être considérée. De plus, si ces approximations sont justes pour les carnivores, la variabilité associée aux valeurs moyennes est très importante pour les herbivores pouvant conduire à des erreurs considérables, en partie dues à la surimposition de fractionnements lors de l'assimilation.

Dans tous les cas, il semble indispensable de valider par des expériences en milieu contrôlé les facteurs de fractionnement propres à l'espèce considérée, et diverses études incitent en effet à de telles expérimentations (Gannes *et al.*, 1997, 98 ; Pinnegar & Polunin, 1999).

L'utilisation des rapports des isotopes stables dans cette étude ne nous permet donc pas de trancher sur le régime alimentaire de cette espèce. Une attention particulière dans les études futures s'attachera à isoler les différentes fractions de la matière organique particulaire, potentielles sources de nourriture pour *Pecten maximus* (bactéries, microphytobenthos etc...). Une étude de la composition isotopique des différentes fractions biochimiques de la nourriture et des tissus des organismes, ainsi que des composés spécifiques caractéristiques de tel ou tel producteur primaire (acides aminés ou acides gras), pourrait également contribuer à l'identification des sources de nourriture (Middelburg *et al.*, 2000 ; Kharlamenko *et al.*, 2001).

2.5.3 Différences entre organes

De fortes différences existent entre les signatures isotopiques des différents organes aussi bien pour l'azote que pour le carbone. Une des premières hypothèses qui peut être avancée est une différence de composition biochimique entre les organes, et en particulier du contenu lipidique. En effet, les lipides sont appauvris en ^{13}C par rapport aux autres composés biochimiques (Tieszen *et al.*, 1983 ; Focken & Becker, 1998 ; Thomson *et al.*, 2000). Dans le cas de la coquille Saint-Jacques, nos données semblent confirmer l'hypothèse que les forts contenus lipidiques de la glande digestive (25% contre 4% dans le muscle) peuvent expliquer le signal particulièrement faible de cet organe (Fig. II.33). Cependant, des expériences supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer le rôle prépondérant des lipides dans la

variation du $\delta^{13}\text{C}$ entre organes. Par exemple, la détermination de la composition isotopique de la fraction lipidique extraite et des organes "délipidés" pourrait être réalisée, ainsi qu'une analyse complète de toutes les fractions biochimique des tissus (protéines et glucides), d'autant plus que Pinnegar & Polunin (1999), chez des poissons, observent que l'extraction lipidique ne supprime pas totalement les différences de $\delta^{13}\text{C}$ entre les différents organes. Ainsi, d'autres facteurs seraient susceptibles d'expliquer ces variations entre organes.

D'une manière générale, le phénomène de "routage isotopique" (allocation différentielle : Gannes *et al.*, 1997, voir § 2.2.2.2) entraînant une répartition différentielle des éléments de la nourriture dans les tissus, pourrait expliquer les différences de composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) entre organes. Enfin, plus un composé subit de réactions biochimiques, plus une discrimination envers l'isotope lourd peut se produire, c'est-à-dire que le facteur de fractionnement d'un organisme peut être associé avec le niveau d'activité métabolique d'un tissu (Focken, 2001). Cette hypothèse semble être confirmée par les résultats de Tieszen *et al.* (1983) qui montrent par des expériences sur les gerbilles que plus l'activité métabolique d'un tissu est importante, plus le $\delta^{13}\text{C}$ est faible. Ainsi, la glande digestive ayant *a priori* un turn-over plus rapide que le muscle, donc une activité métabolique plus importante discriminerait le ^{13}C lors des réactions et aurait un $\delta^{13}\text{C}$ plus faible que le muscle.

Les différences de $\delta^{15}\text{N}$ entre organes pourraient, de la même manière résulter *i)* de variations dans le contenu en protéines, dans la composition en acides-aminés (Gannes *et al.*, 1998 ; Vander Zanden & Rasmussen, 2001), *ii)* du phénomène de routage isotopique ou *iii)* de fractionnements secondaires durant des réactions biochimiques.

En conséquence, si les lipides ont une telle influence sur la signature isotopique des organes, l'utilisation du rapport isotopique du carbone devrait être considérée avec précaution. Par exemple, la détermination des régimes trophiques de différents individus sera plus juste si l'on considère le muscle (pauvre en lipides) et non l'ensemble du corps. En effet, des différences dans l'état physiologique d'un animal sont susceptibles d'entraîner des variations de contenu lipidique, surtout en période de maturation des organes reproducteurs ou d'accumulation de réserves ne correspondant pas à un changement de régime trophique. De même, la comparaison des rapports isotopiques de plusieurs organismes ou d'études différentes ne prenant pas en compte les mêmes organes pourra entraîner des erreurs d'interprétation.

2.5.4 Variations saisonnières et transferts entre organes

L'étude de la variabilité temporelle des compositions isotopiques entre organes révèle une saisonnalité très marquée. Ces variations saisonnières au sein des organes sont plus prononcées dans la glande digestive, avec des variations de l'ordre de 3‰ en $\delta^{13}\text{C}$ et 3,3‰ pour le $\delta^{15}\text{N}$ pour seulement 1‰ de variation dans le muscle ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$). Etant donné que les lipides n'ont pas été enlevés dans cette étude et qu'ils sont supposés expliquer les différences de $\delta^{13}\text{C}$ entre organes (voir paragraphe précédent), ils pourraient aussi être responsables des variations saisonnières au sein d'un même organe, en particulier de la glande digestive, riche en lipides. Cependant, si on superpose le $\delta^{13}\text{C}$, le contenu lipidique et l'indice pondéral de la glande digestive (Fig. II.34), l'augmentation printanière du $\delta^{13}\text{C}$ (fin mars-début avril, de -20,1 à -18,6‰) n'est pas corrélée significativement au contenu lipidique (variation de 32,6 à 32,3). Au contraire, cette variation de $\delta^{13}\text{C}$ suit la forte augmentation de l'indice pondéral (33% d'augmentation entre le 22 mars et le 1^{er} avril) indiquant la formation de matériel nouveau, correspondant vraisemblablement à la reprise de la nutrition de *P. maximus* en rade de Brest suite au premier bloom phytoplanctonique (Fig. II.35)

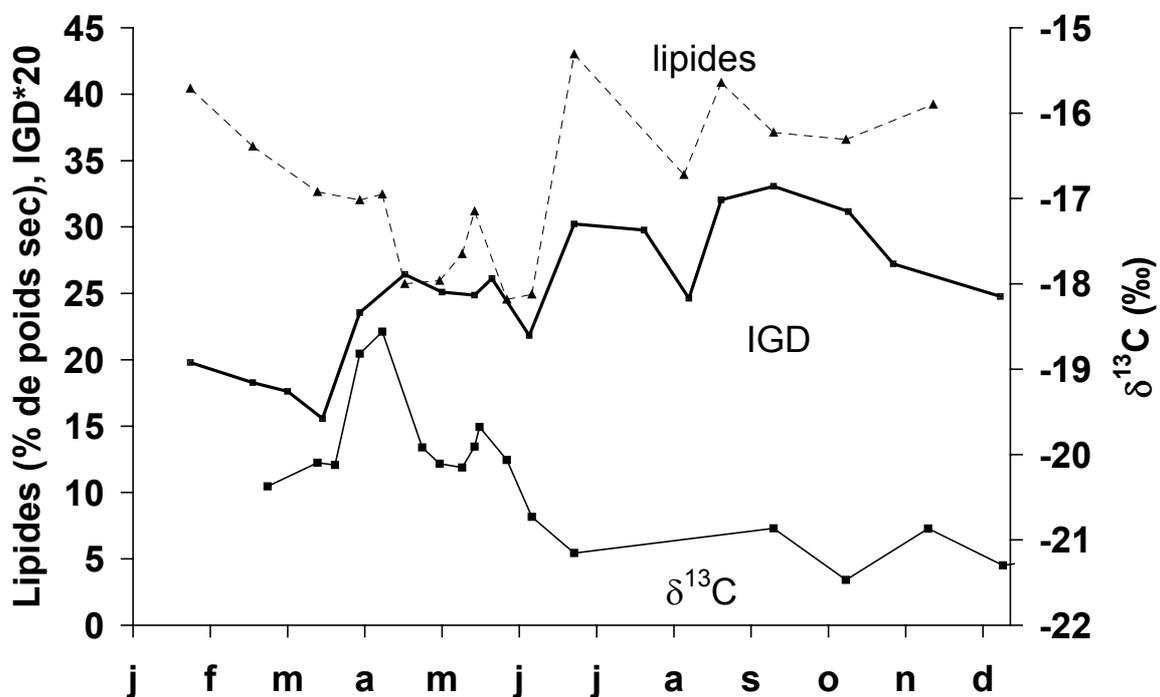


Figure II.34. Variations saisonnières du contenu lipidique (---▲--, % de poids sec), du $\delta^{13}\text{C}$ (‰, ■), de l'indice pondéral (IGD, —) de la glande digestive de *Pecten maximus*.

Du 10 avril au 30 mai, le $\delta^{13}\text{C}$ et le pourcentage de lipides évoluent de manière parallèle. Cette tendance s'inverse ensuite pour le reste de la période d'étude, avec une augmentation continue du taux de lipides dans la glande digestive, parallèle à une diminution du $\delta^{13}\text{C}$, suivie d'une stabilisation des valeurs de ces deux paramètres. Ainsi si le taux de lipides peut expliquer les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ pendant une partie de l'année, toute la période printanière semble gouvernée par d'autres facteurs.

Dans la littérature, les pics de $\delta^{13}\text{C}$ de MOP sont souvent corrélés aux blooms de phytoplancton (Canuel *et al.*, 1995 ; Rolff, 2000). L'augmentation des rapports isotopiques de la MOP lors des blooms phytoplanctoniques est due à l'augmentation de la contribution du phytoplancton, qui a une signature isotopique plus légère que le reste de la MOP (Cloern, 1996).

Ici, la forte variabilité de la production primaire (exprimée en terme de Chl *a*, Fig II.35 et de MOP, fig. II.23) n'est pas associée avec des variations similaires des deux isotopes dans la glande digestive. En effet, si la première variation du rapport isotopique du carbone et de l'azote est synchrone avec le premier bloom phytoplanctonique et l'augmentation de l'indice, attestant d'une profonde modification de la physiologie liée à la reprise printanière de l'alimentation, le reste des variations semble relativement découplé de la source trophique. Notre hypothèse est que les processus physiologiques, combinés au contenu lipidique des organes pour le $\delta^{13}\text{C}$ et d'une manière générale au régime alimentaire, pourraient avoir de profonds effets sur les variations saisonnières de la composition isotopique des différents organes.

En effet, dans notre étude, les différents organes ne réagissent pas de la même manière aussi bien au niveau de l'amplitude que de la synchronisation des variations. La glande digestive présente les plus larges variations de composition isotopique (3‰) en accord avec l'alternance de périodes d'accumulation lipidique et de digestion, caractéristiques de cet organe (Saout, 2000), montrant que le métabolisme d'un organisme peut avoir un impact sur les variations de composition isotopique. De plus, les variations sont d'abord visibles dans cet organe, puis, semblent se répercuter dans la gonade (2 à 3‰ de variation pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$ respectivement) et de façon beaucoup plus atténuée dans le muscle. Les organes ne varient donc pas indépendamment les uns des autres. Nous suggérons que de telles variations reflètent les transferts métaboliques entre organes et non des changements de régime alimentaire ou de contenu lipidique.

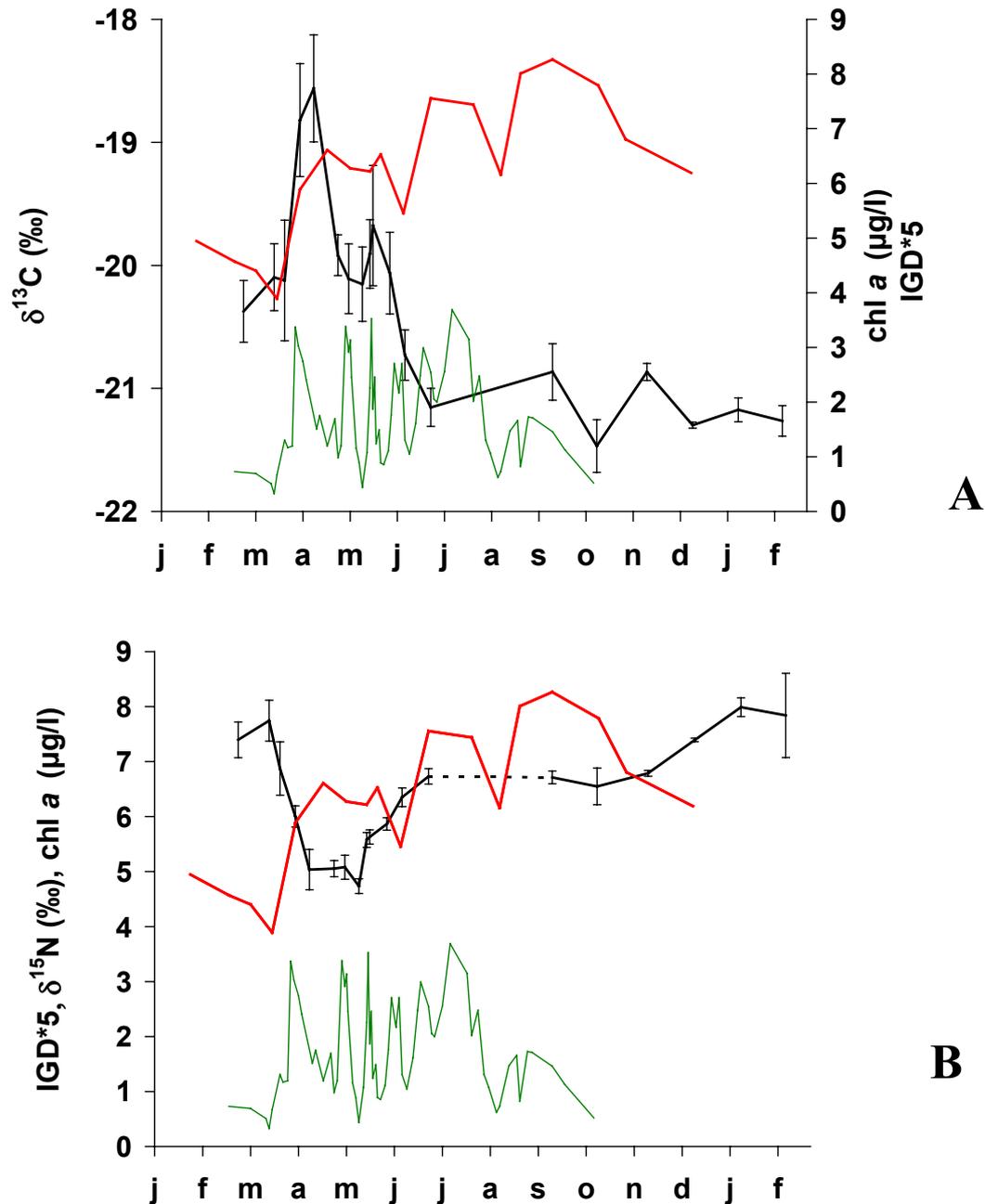


Figure II.35. Variations saisonnières de l'indice pondéral de la glande digestive (IGD, courbe rouge), de la chlorophylle a sur la couche de fond (chl a en $\mu\text{g/l}$, courbe verte) et des rapports isotopiques du carbone (A) et de l'azote (B) en 2000 et 2001 dans la glande digestive (courbe noire).

Des résultats antérieurs sur le déterminisme de l'allocation d'énergie chez *P. maximus* en rade de Brest (Saout, 2000), ont montré que l'allocation d'énergie entre les compartiments somatique (glande digestive et muscle adducteur) et germinal (gonade) présentait effectivement des variations saisonnières bien marquées pouvant se schématiser en trois fenêtres temporelles (Fig. II.36) :

- (1) De novembre à mars, la priorité à la reproduction avec une utilisation majeure de l'énergie du muscle adducteur, et dans une moindre mesure de la glande digestive.
- (2) De Mars à fin Juin, priorité à la reproduction à l'aide de la ressource trophique présente dans le milieu : transfert direct de la nourriture assimilée de la glande digestive à la gonade. L'énergie en excès peut être stockée dans la glande digestive.
- (3) De fin Juin à Octobre, priorité au stockage d'énergie dans le muscle et la glande digestive. Si de l'énergie est en excès, on peut assister à une production de gamètes et à une ponte automnale.

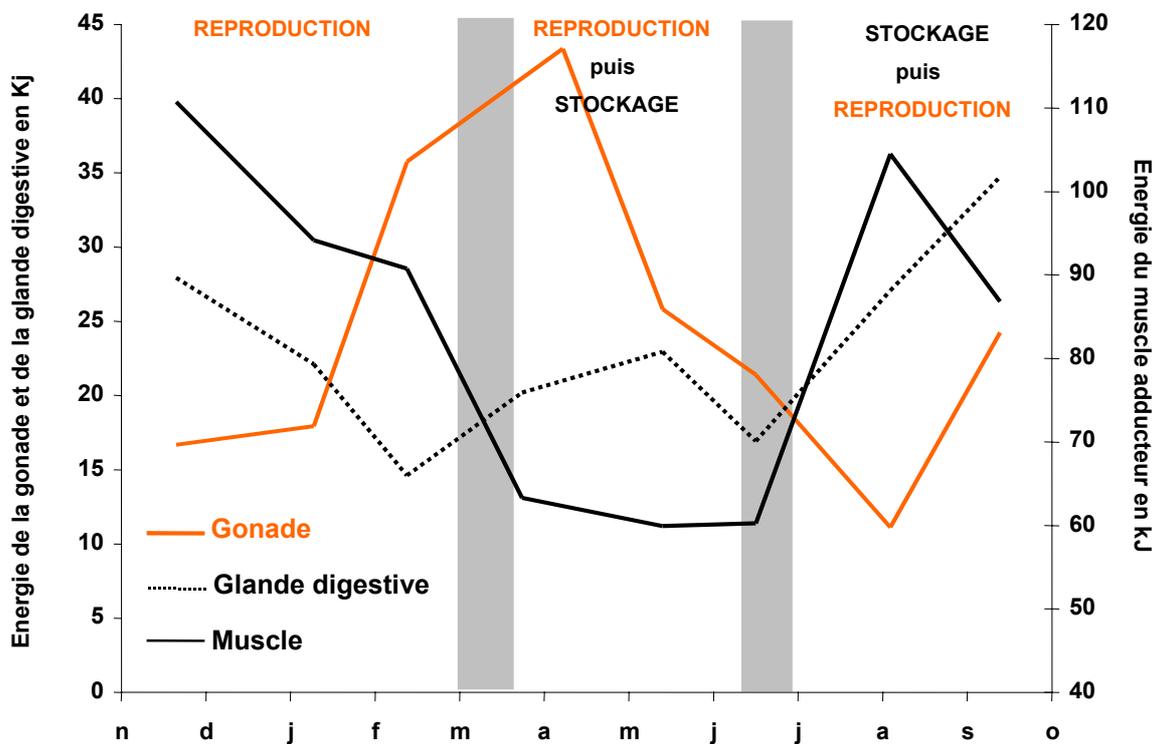


Figure II.36. Fenêtres temporelles des priorités d'allocation d'énergie chez les coquilles Saint-Jacques de la rade de Brest (D'après Saout, 2002).

De façon plus schématique, les différentes priorités d'allocation d'énergie peuvent être représentées de la manière suivante (Fig. II.37).

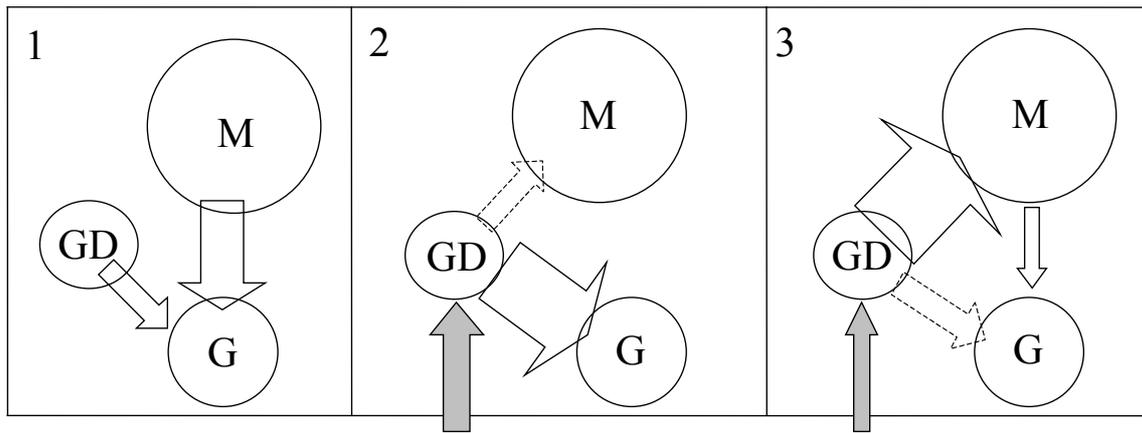


Figure II.37. Schéma simplifié de la distribution d'énergie chez *P. maximus*. Les tailles de flèches correspondent à l'importance relative des transferts d'énergie. Les processus prioritaires (\Rightarrow) et secondaires (\dashrightarrow) impliqués dans l'allocation d'énergie sont indiqués. Les flèches en gris (\Rightarrow) représentent les entrées de nourriture. Périodes 1 : Novembre à mars. 2 : Mars à fin juin. 3 : Fin juin à octobre. (G = Gonade, M = Muscle adducteur et GD = Glande Digestive).

Les variations saisonnières du $\delta^{15}\text{N}$ s'avèrent consistantes avec ces hypothèses (Fig. II.38). En effet, durant la première période d'allocation à la reproduction (période hivernale), les rapports isotopiques du muscle et de la gonade sont proches, traduisant une utilisation des réserves du muscle pour la production de gamètes, c'est-à-dire un transfert du muscle vers la gonade. De mi-mars à fin juin, la nourriture absorbée au niveau de l'épithélium est directement transférée à la gonade, ce processus est clairement traduit par un rapprochement des valeurs des rapports isotopiques de la glande digestive et de celles de la gonade.

A partir de l'été, le rapprochement progressif des valeurs du $\delta^{15}\text{N}$ de la gonade et du muscle traduirait la réinitialisation d'un processus de transferts entre le muscle et la gonade. Ceci serait cohérent avec la priorité au stockage de métabolites dans le muscle adducteur dès l'été proposé par Saout (2000).

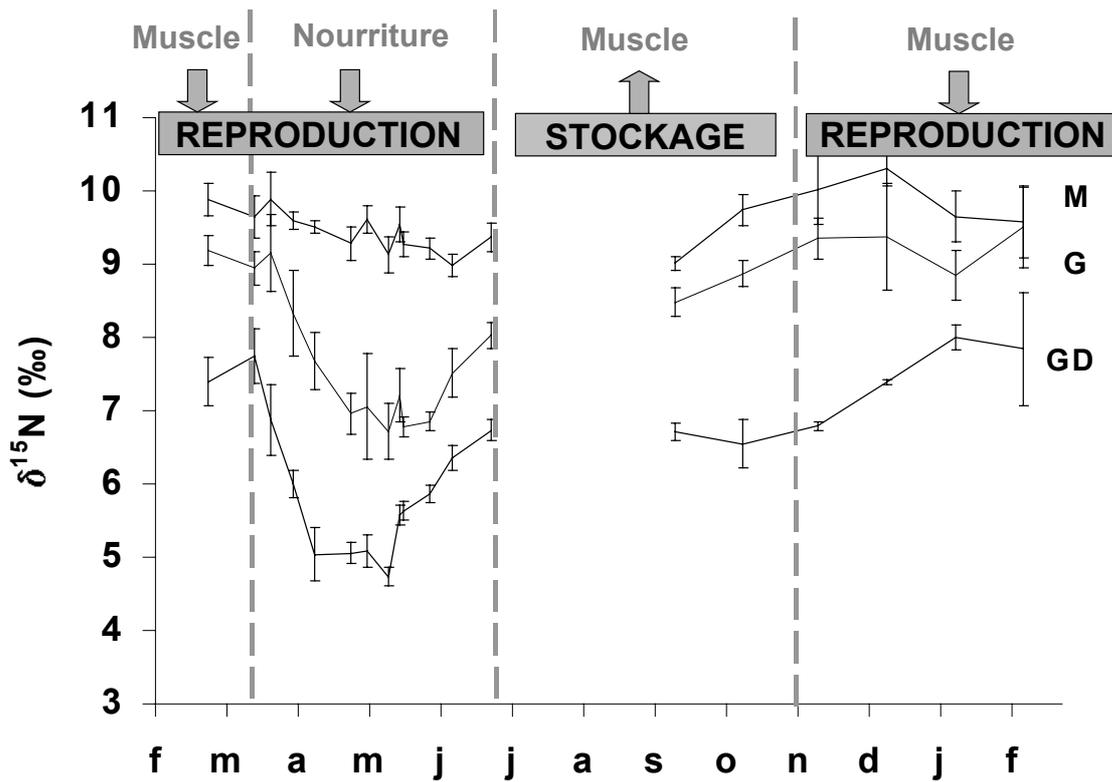


Figure II.38. Variations du $\delta^{15}\text{N}$ (‰) au cours de l'année au regard des différentes fenêtres de priorités d'allocation d'énergie.

En ce qui concerne les variations saisonnières de $\delta^{13}\text{C}$ (Fig. II.39), le lien avec les priorités d'allocation d'énergie est moins net, vraisemblablement en raison de l'influence potentielle du contenu lipidique qui se surimpose aux facteurs nourriture et métabolisme. Néanmoins, de grandes tendances apparaissent avec le rapprochement et l'évolution parallèle des signatures isotopiques de la gonade et de la glande digestive au printemps (fenêtre temporelle 2). La signature de la gonade se rapproche ensuite de celle du muscle, lors de l'utilisation de ces réserves pour la maturation gonadique (novembre-mars).

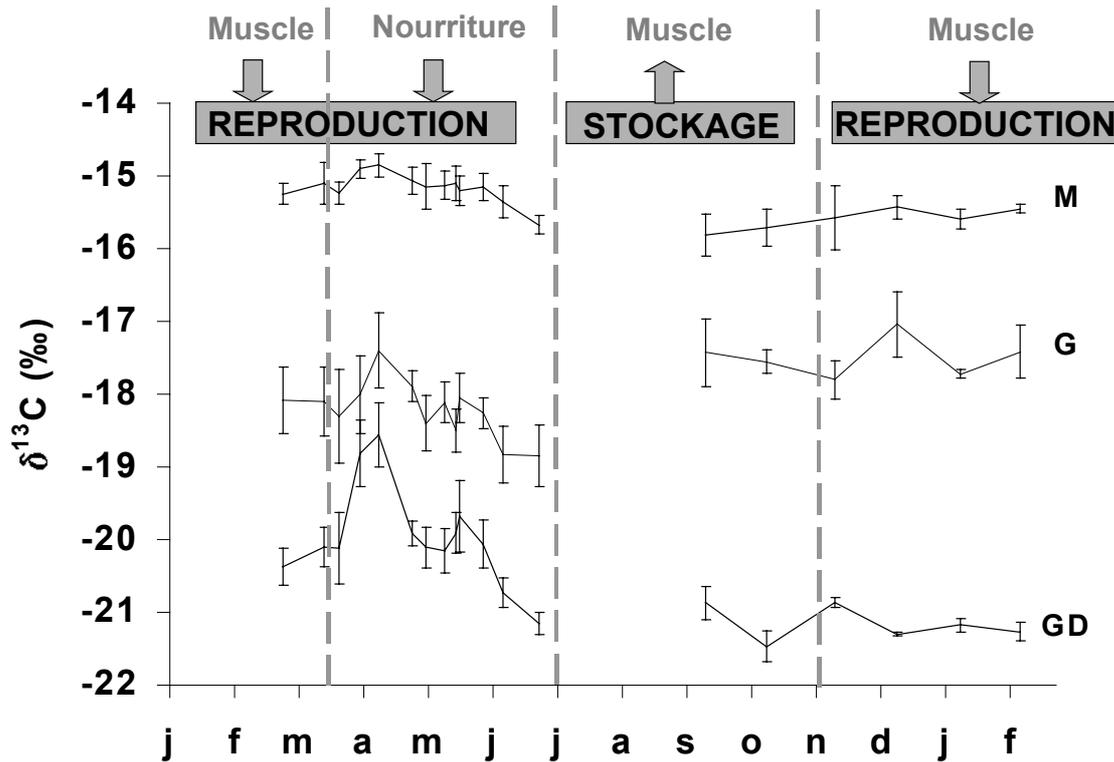


Figure II.39. Variations du $\delta^{13}\text{C}$ (‰) au cours de l'année au regard des différentes fenêtres de priorités d'allocation d'énergie.

L'étude des variations saisonnières de la composition isotopique des différents organes de *P. maximus* en milieu naturel, a montré que les résultats dépendaient à la fois du type de tissu analysé et de la période d'étude. La stratégie d'échantillonnage est donc primordiale dans les études de reconstruction du régime trophique. Nous concluons que des études saisonnières et multi organes sont souhaitables, toutefois, les organes cibles et les fréquences d'échantillonnage peuvent être ajustées aux questions posées. Pour accéder aux sources majeures de carbone et d'azote d'un organisme, le muscle sera plus adapté que l'ensemble du corps, et la fréquence d'échantillonnage pourra être relativement faible, étant donné le peu de variations saisonnières dans cet organe. Mais si la variabilité saisonnière doit être appréhendée, la glande digestive sera plus adaptée.

Cependant, même si les effets saisonniers et la variabilité multi organes sont pris en compte, beaucoup d'incertitudes demeurent (régimes trophiques mixtes, fractionnement métabolique, assimilation sélective) et soulignent la nécessité de travail expérimental pour valider les hypothèses relatives à l'utilisation générale des isotopes. Les études de traçage isotopique naturel doivent aussi considérer que le métabolisme peut avoir de profonds effets sur la signature isotopique des deux traceurs isotopiques les plus communément utilisés.

Ainsi, nous suggérons que l'utilisation des isotopes stables en écologie aille de pair avec une étude approfondie de l'écophysiologie et de la biochimie de l'espèce considérée.

2.5.5 Variations inter-sites

L'étude des rapports des isotopes stables chez les coquilles norvégiennes (Træna) et bretonnes (rade de Brest) confirme l'existence de différences de composition isotopique très marquées entre les organes. Dans les deux sites, si les valeurs absolues diffèrent, avec des organes plus appauvris en ^{13}C et ^{15}N en Norvège, le gradient " $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ du muscle $> \delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ de la gonade $> \delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ de la glande digestive" est conservé. Les écarts entre les organes sont identiques dans les deux sites pour le $\delta^{13}\text{C}$ mais sont plus élevés en Norvège pour le $\delta^{15}\text{N}$. Ces résultats pourraient indiquer que les processus physiologiques ne sont pas synchrones entre les populations brestoises et norvégiennes. Cette hypothèse semble relativement réaliste étant donné les différences de température, de disponibilité en nourriture et de photopériode existant entre ces deux sites (18° de différence en latitude). D'autre part, les signatures isotopiques, beaucoup plus appauvries en ^{13}C et ^{15}N pour les coquilles norvégiennes, reflètent vraisemblablement des différences de qualité de la nourriture avec des sources de nourriture différentes.

L'existence de signatures isotopiques marquées et distinctes entre les différents organes d'autres populations de coquilles Saint-Jacques laisse présager de l'intérêt d'une étude saisonnière sur d'autres populations, afin de généraliser l'utilisation de l'outil $\delta^{15}\text{N}$ comme traceur dans les problématiques d'allocation d'énergie.

2.6 Conclusions et Perspectives

L'étude des variations saisonnières des rapports des isotopes stables du carbone et de l'azote dans les différents tissus de *P. maximus* en milieu naturel nous a permis de mettre en évidence plusieurs points caractéristiques :

- La marée n'influe pas sur les variations des compositions isotopique et élémentaire des tissus de la coquille Saint-Jacques.

- Une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$, du rapport C/N et, dans une moindre mesure, du $\delta^{15}\text{N}$ est visible avec l'âge. Cette augmentation pourrait résulter d'une influence du métabolisme et, moins probablement, d'une modification du régime trophique.
- Nos résultats ne permettent pas de caractériser précisément le régime alimentaire de *P. maximus*, soit par manque de connaissance des sources potentielles, soit par méconnaissance du fractionnement isotopique réel de cette espèce.
- De fortes différences de composition isotopique entre les organes (y compris entre le muscle et l'ensemble du corps) sont observées, renforçant l'importance de la connaissance du fractionnement isotopique propre à chacun des organes, et ce pour une espèce donnée.
- Des variations saisonnières marquées sont mises en relation avec les priorités d'allocation d'énergie de la coquille Saint-Jacques. Une influence non négligeable du métabolisme sur les variations de composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) au sein des différents organes est envisagée.
- Des signatures isotopiques différentes entre les organes des coquilles de différentes populations de *Pecten maximus* (Brest-Norvège) sont observées. Ces résultats suggèrent l'intérêt de l'extension ce type d'études saisonnières à d'autres populations.

Les possibilités d'étude en milieu naturel sont relativement réduites pour répondre à toutes ces questions. Une étude détaillée de la composition isotopique de chaque composante de la matière organique particulaire est indispensable, même si elle se heurte à des difficultés évidentes d'échantillonnage. La première étape pourrait être d'accéder à la composition isotopique des différentes fractions de taille de la MOP.

Afin de vérifier une potentielle influence du métabolisme et d'accéder aux facteurs de fractionnement entre les sources de nourriture et les différents organes, une série d'expériences en milieu contrôlé, avec une source de nourriture de composition isotopique connue (phytoplancton marqué) pourrait être envisagée. En effet, en fonction de leur turnover, la composition isotopique de chaque organe devrait atteindre progressivement une valeur d'équilibre, représentative de leur fractionnement propre.

De plus, plusieurs séries d'expériences, pendant les trois fenêtres temporelles d'allocation d'énergie de la coquille Saint-Jacques, pourraient révéler des différences de vitesses, pour atteindre ces valeurs d'équilibre, selon si la gonade, le muscle ou la glande digestive est particulièrement mobilisée.

Ainsi, si le métabolisme de la coquille Saint-Jacques a une influence sur les rapports isotopiques, ces expériences en milieu contrôlé, pourraient permettre de quantifier les vitesses de transferts entre organes. La progression des connaissances concernant l'allocation d'énergie chez les bivalves est aujourd'hui confrontée à la disponibilité d'un outil facile à mettre en œuvre. Si nos hypothèses s'avèrent exactes, les variations saisonnières et inter-organes des rapports isotopiques pourraient constituer un outil écophysologique pertinent, permettant de suivre au sein de l'organisme, selon les saisons, les flux de métabolites depuis l'ingestion jusqu'à la production tissulaire.

CONCLUSION GENERALE

L'étude des réponses biologiques de *Pecten maximus* aux fluctuations environnementales nous a permis de soulever de nombreuses hypothèses quant au fonctionnement de l'écosystème rade de Brest, illustrant le fort couplage existant entre cette espèce et son environnement.

Cette étude offre ainsi de nombreuses perspectives de recherche sur le fonctionnement de cet écosystème concernant la détermination des conditions de sédimentation des blooms de diatomées et la caractérisation des cellules mises en jeu, la détermination des concentrations en oxygène à l'interface eau-sédiment, la détermination des facteurs de contrôle du basculement d'une production primaire siliceuse à une production non-siliceuse.

Notre incapacité à estimer les sources trophiques de *P. maximus* par le traçage isotopique naturel a aussi mis en évidence la méconnaissance de la composition de la matière particulaire à l'interface eau-sédiment en rade de Brest. En particulier, des mesures de microphytobenthos à 30 mètres de fond semblent indispensables pour statuer des valeurs atypiques de la composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) du muscle de la coquille Saint-Jacques.

**PARTIE III. INFORMATION ISOTOPIQUE
ET ELEMENTAIRE CONTENUE DANS LA
CALCITE DE *PECTEN MAXIMUS***

INTRODUCTION GENERALE

De nombreuses études visant à reconstruire les environnements passés s'appuient sur la composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$) et élémentaire (Ba, Mg, Sr, Mn, Pb...) de coquilles de mollusques marins vivants et fossiles (Jones, 1983 ; Jones & Quitmyer, 1996 ; Klein *et al.*, 1996a ; Klein *et al.*, 1997 ; Dettman *et al.*, 1999 ; Hickson *et al.*, 1999 ; Vander Putten *et al.*, 2000). Cependant, malgré la présence d'un enregistrement élémentaire et isotopique, il demeure difficile d'établir des relations précises entre la composition des coquilles et les paramètres environnementaux (Richardson, 2001). En particulier, un impact du métabolisme sur l'incorporation des isotopes et des éléments traces est reconnu par de nombreuses études (voir Richardson, 2001). La contribution des différents facteurs susceptibles d'agir sur le signal observé est cependant difficile à déterminer.

A la difficulté d'appréhender le rôle du métabolisme, s'ajoute la méconnaissance du rythme de croissance coquillière des espèces considérées. Si de nombreuses études se sont attachées à comprendre le rythme saisonnier des incréments de croissance coquillière, très peu ont abouti à un déchiffrement clair de ce signal chez les bivalves (Jones & Quitmyer, 1996). Le problème vient non seulement de la méconnaissance des rythmes de déposition des stries, mais aussi de l'incapacité à dater de façon absolue ces incréments de croissance (Price & Pearce, 1997 ; Hart & Blusztajn, 1998). Or une base de temps très fine est nécessaire pour calibrer les traceurs géochimiques, en particulier dans l'étude des fluctuations à haute fréquence. Les différents profils de mesure sont généralement placés sur une échelle de distance par rapport à l'umbo (Krantz *et al.*, 1987 ; Margosian *et al.*, 1987 ; Fatherree *et al.*, 1998 ; Hickson *et al.*, 1999 ; Keller *et al.*, 2002), ou alors une croissance constante est attribuée à l'organisme étudié, conduisant, en partant de cet arbitraire, à donner une date à chaque prélèvement (Vander Putten *et al.*, 2000). Cependant, l'étude de la croissance coquillière journalière des coquilles Saint-Jacques (Partie II.1) met en évidence une variation saisonnière de la croissance coquillière allant de quelques microns à 350 microns par jour, invalidant l'utilisation d'un taux de croissance constant au cours de l'année. De plus, pour les coquilles de la rade de Brest, un arrêt de croissance est identifié du mois de novembre à la fin du mois de mars (Chauvaud *et al.*, 1998). Ces deux caractéristiques démontrent l'impossibilité de calibrer correctement des proxy lorsque la saisonnalité de la croissance coquillière n'est pas connue, et lorsqu'une date calendaire ne peut être attribuée à chaque strie. Une incertitude liée au calage chronologique des mesures effectuées dans le milieu avec celles réalisées dans

la calcite des organismes, demeure lors des tentatives de validation des proxy (Klein *et al.*, 1996b, Hickson *et al.*, 1999 ; Vander Putten *et al.*, 2000).

Chez *Pecten maximus*, les stries de croissance sont journalières, visibles sur la face externe des coquilles, et reflètent l'histoire de l'animal à l'échelle du jour. Dans un premier temps (Partie II.1), nous avons étudié en détail la croissance coquillière de cette espèce en rade de Brest de 1998 à 2001, et mis en relation les variations saisonnières de sa croissance avec les paramètres environnementaux. Les différents profils obtenus (isotopiques et élémentaires) peuvent ainsi être placés sur une échelle calendaire, au jour près, permettant une justesse de calibration jamais égalée, à notre connaissance, lors des études antérieures.

Cette partie (Partie III) vise à comprendre les facteurs de contrôle de la composition isotopique et élémentaire des coquilles carbonatées de *P. maximus* et d'évaluer le potentiel de cette espèce pour enregistrer les fluctuations environnementales. Dans ce but, des mesures haute-fréquence de la variation temporelle de la chimie de l'eau et des conditions environnementales ont été couplées à des méthodes de micro-échantillonnage pour obtenir une résolution sub-hebdomadaire de la chimie coquillière par une approche i) de la composition isotopique (chapitre 1), ii) et de la composition élémentaire des coquilles (chapitre 2).

Chapitre 1. Analyse isotopique des coquilles

1.1 Introduction

L'analyse des isotopes stables du carbone et de l'oxygène de coquilles carbonatées, fossiles ou actuelles, joue un rôle important dans les reconstructions paléo-environnementales depuis les travaux d'Urey et de ses collaborateurs (Urey, 1947 ; Urey *et al.*, 1951 ; Epstein *et al.*, 1953). Ces travaux pionniers ont révélé que la composition isotopique de l'oxygène du carbonate de calcium des coquilles était une fonction de la température du milieu et de la composition isotopique du fluide ambiant lors de la précipitation. L'analyse du $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles de mollusques procure alors un moyen de déterminer la température de l'eau de mer lors de la précipitation, si la composition isotopique de l'eau de mer est connue. De façon similaire, le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles peut être mis en relation avec le $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (CID), et permet potentiellement de retracer la productivité des milieux (Dettman *et al.*, 1999).

Si de 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 (Marshall, 1992 ; Hickson *et al.*, 1999 ; Richardson, 2001), la détermination des facteurs contrôlant la composition isotopique du carbone des squelettes carbonatés est plus délicate. A ce jour, il est reconnu qu'à la fois des facteurs environnementaux (composition du carbone inorganique dissous – CID – de l'eau de mer) et biologiques (incorporation de CO_2 issu de la respiration) peuvent influencer la composition isotopique du carbone incorporé lors de la biominéralisation de la coquille (Fatherree *et al.*, 1998 ; Vander Putten *et al.*, 2000). Ces facteurs sont cependant difficiles à déconvoluer et leur étude est définitivement un challenge majeur pour les reconstructions paléo-environnementales (Fatherree *et al.*, 1998).

Des effets cinétiques et/ou métaboliques peuvent induire des écarts par rapport à une précipitation de calcite inorganique (Mitchell *et al.*, 1994). Les effets cinétiques, se traduisant par une discrimination envers l'isotope lourd, sont particulièrement importants lors de taux de précipitation élevés, probablement en raison de temps de calcification trop courts pour que l'équilibre isotopique puisse être atteint (McConnaughey, 1989 ; McConnaughey *et al.*, 1997) ; ils entraînent un appauvrissement en ^{13}C de nombreux carbonates biogéniques. Le métabolisme engendrerait une modification du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous interne,

soit par addition de CO₂ relativement enrichi en ¹²C, par le processus respiratoire, aboutissant à des carbonates plus légers ; soit, chez les organismes photosynthétiques, par la consommation de CO₂ enrichi en ¹²C, entraînant des valeurs de carbonates plus fortes que celles attendues à l'équilibre (McConnaughey, 1989 ; McConnaughey *et al.*, 1997 ; Heikoop *et al.*, 2000). Si d'après McConnaughey *et al.*(1997), le CO₂ respiré contribue peu à la formation des coquilles d'invertébrés aquatiques, de nombreux auteurs soutiennent qu'il représente une part non négligeable du carbone incorporé (Tanaka *et al.*, 1986 ; Stecher *et al.*, 1996 ; Klein *et al.*, 1996b ; Vander Putten *et al.*, 2000). En première approximation, les mollusques et les brachiopodes semblent précipiter leur coquille en équilibre avec le milieu ambiant alors que des groupes comme les échinodermes, les coraux et les algues calcaires présentent de forts déséquilibres par rapport à la composition isotopique de l'eau de mer (Marshall, 1992 ; Swart *et al.*, 1996 ; Lee & Wan, 2000).

La compréhension des facteurs de contrôle de la composition isotopique du squelette calcitique de la coquille Saint-Jacques est donc primordiale pour une reconstruction précise de la variation des paramètres environnementaux. Ainsi, dans cette étude, la composition isotopique ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$) de la calcite des individus de classe I de *P. maximus* a été déterminée, en parallèle avec la composition isotopique de l'eau de mer ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$) et la mesure des paramètres environnementaux (température, salinité, chlorophylle *a*) en rade de Brest au cours de l'année 2000.

En ce qui concerne l'oxygène, une équation de paléo-température sera établie pour les coquilles Saint-Jacques de la rade Brest, d'après les données de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ obtenues par Chauvaud en 1994, 1995 et 1996 (N=334 ; Chauvaud *et al.*, en préparation), les données correspondantes de température, et la relation liant la composition isotopique de l'eau de mer et la salinité (cette étude). Cette équation sera ensuite validée avec nos propres données, acquises pendant l'année 2000.

Les objectifs de cette étude sont multiples :

- Etudier la variabilité interindividuelle de la composition isotopique de *P. maximus*
- Etablir les facteurs de contrôle de la composition isotopique du carbone et de l'azote de la calcite
- Déterminer si cette espèce peut être utilisée pour reconstruire les variations saisonnières de la température et de la productivité des eaux côtières.
- Appliquer ces résultats à des coquilles prélevées sur le plateau continental à des profondeurs de 100, 150 et 170 mètres.

1.2 Matériel et méthodes

1.2.1 Données environnementales

En 1994, 1995 et 1996, la température de fond a été mesurée toutes les demi-heures par une sonde EBRO Ebi-85 fixée sur le fond en baie de Roscanvel. Une moyenne journalière a ensuite été calculée. En 2000, seules des données discrètes (pleine mer) de température, à un mètre au-dessus du sédiment, sont disponibles, avec approximativement trois valeurs par semaine (Partie I). La salinité a été mesurée par une sonde CTD SeaBird SBE 19, à différentes échelles de temps (de journalières pendant les périodes de bloom à mensuelles en hiver) de manière discrète (pleine mer \pm 2 heures en 2000 et variable les autres années).

Le 27 mars 2001, une série de 10 échantillons d'eau de mer de surface a été réalisée le long d'un gradient de salinité dans l'Elorn (Fig. I.2, Partie I), de l'eau douce aux eaux marines, pour caractériser l'influence de la salinité sur le $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer. L'eau a été stockée dans des flacons en plastique préalablement lavés à l'HCl 10% et rincés à l'eau milli-Q. Pour le $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$, 48 prélèvements ont été effectués du 23 janvier 2000 au 14 janvier 2001 à l'aide d'une bouteille Niskin-5L à un mètre au-dessus du fond. Afin de minimiser tout échange entre le CO_2 dissous et le CO_2 atmosphérique, l'eau de mer est versée dans le flacon à l'aide d'un tuyau relié à la bouteille Niskin plongeant dans le fond du flacon. L'eau doit déborder afin qu'il y ait le moins de contact possible avec l'atmosphère. Afin de stopper toute activité biologique susceptible de modifier les concentrations en carbone inorganique, 2 ml de HgCl_2 sont immédiatement ajoutés au prélèvement avant de reboucher celui-ci. Les échantillons sont ensuite stockés à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant plusieurs mois jusqu'à l'analyse. Les flacons utilisés (en verre et à col rodé étroit) ont été préalablement lavés à l'HCl (10%) pendant une nuit, rincés à l'eau milli-Q, puis brûlés à 450°C pendant 4 heures. Afin d'assurer l'étanchéité du rodage, le bouchon est enduit de graisse silicone avant chaque prélèvement.

1.1.2 Échantillons de *P. maximus*

1.1.2.1 En rade de Brest

Les coquilles de *P. maximus* ont été collectées sur le site de Roscanvel au cours des années 1994, 1995, 1996 (N=6) et 2000 (N=3) par dragage ou en plongée. Le travail a porté

sur des individus de la classe I, choix justifié par le fait qu'à cet âge, la durée de croissance en nombre de jours par an est la plus importante, et que le taux de croissance est le plus fort (Chauvaud *et al.*, 1998). Ces caractéristiques permettent de prélever des quantités de calcite plus importantes pour chaque échantillon, et de maximiser le nombre d'analyses isotopiques, fournissant ainsi une information plus fiable sur une plus grande fraction d'année. Le profil de croissance journalière annuel a été déterminé pour chacune des coquilles selon la méthode énoncée au chapitre 1 de la deuxième partie (II.1), afin de pouvoir localiser et donc de dater, au long de ce profil, chaque prélèvement de calcite.

Minéralogiquement, les coquilles de *P. maximus* sont composées principalement de calcite, excepté dans les zones internes d'attachement du muscle (myostracum) où de l'aragonite est déposée (Roux *et al.*, 1990 ; Barbin *et al.*, 1991b). La connaissance de la minéralogie du bivalve étudié est importante lors de l'analyse isotopique car la calcite et l'aragonite possèdent des facteurs de fractionnement (eau-minéral précipité) différents (Romanek *et al.*, 1992). Ainsi, pour notre étude, les prélèvements réalisés sur la face externe de la valve gauche sont strictement calcitiques.

Les poudres de calcite, destinées aux analyses isotopiques, ont été prélevées parallèlement aux lignes de croissance à l'aide d'une perceuse équipée d'un micro-foret de 0,3 mm. Les coquilles sont échantillonnées sur un linéaire dorso-ventral, correspondant à la production coquillière entre le premier et le deuxième hiver de vie, suivant l'axe de croissance maximale. Chaque prélèvement (Fig. III.1) couvre approximativement une à trois stries consécutives, selon le taux de croissance, et représente de 18 à 108 µg de matière (moyenne 70µg). Ce prélèvement séquentiel permet d'obtenir des profils de $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ à une très haute-résolution.

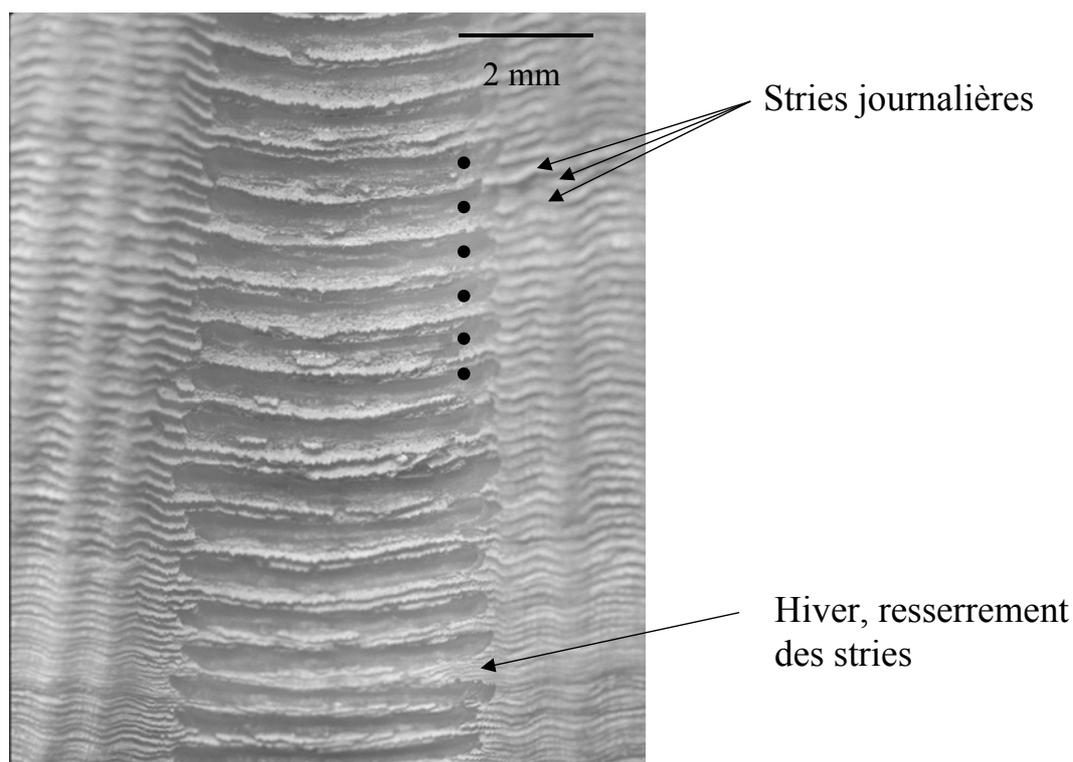


Figure III.1. Photographie des prélèvements de calcite (les points noirs marquant quelques unes des bandes de prélèvement).

1.1.2.2 Sur le plateau continental armoricain

Des coquilles Saint-Jacques ont été prélevées par dragage sur le plateau continental de la zone Ouest-Bretagne au cours de la campagne IFREMER/PERCOL (pêche et écologie des ressources coquillières du large ; coll. Fifas, DRV/RH IFREMER) en juin 1998 (Fig.III.2). Les caractéristiques des trois sites sélectionnés sont présentées dans le tableau III.1. La méthode de prélèvement de la calcite est identique à celle évoquée au paragraphe précédent.

Tableau III.1. Principales caractéristiques des stations du plateau continental

Stations	Latitude	Longitude	Profondeur (m)	Date de prélèvement
16	47°37'20,28	-7°1'25,32	170	07/06/98
46	47°55'48,72	-6°25'46,20	150	17/06/98
63	48°36'19,44	-4°55'23,16	100	19/06/98

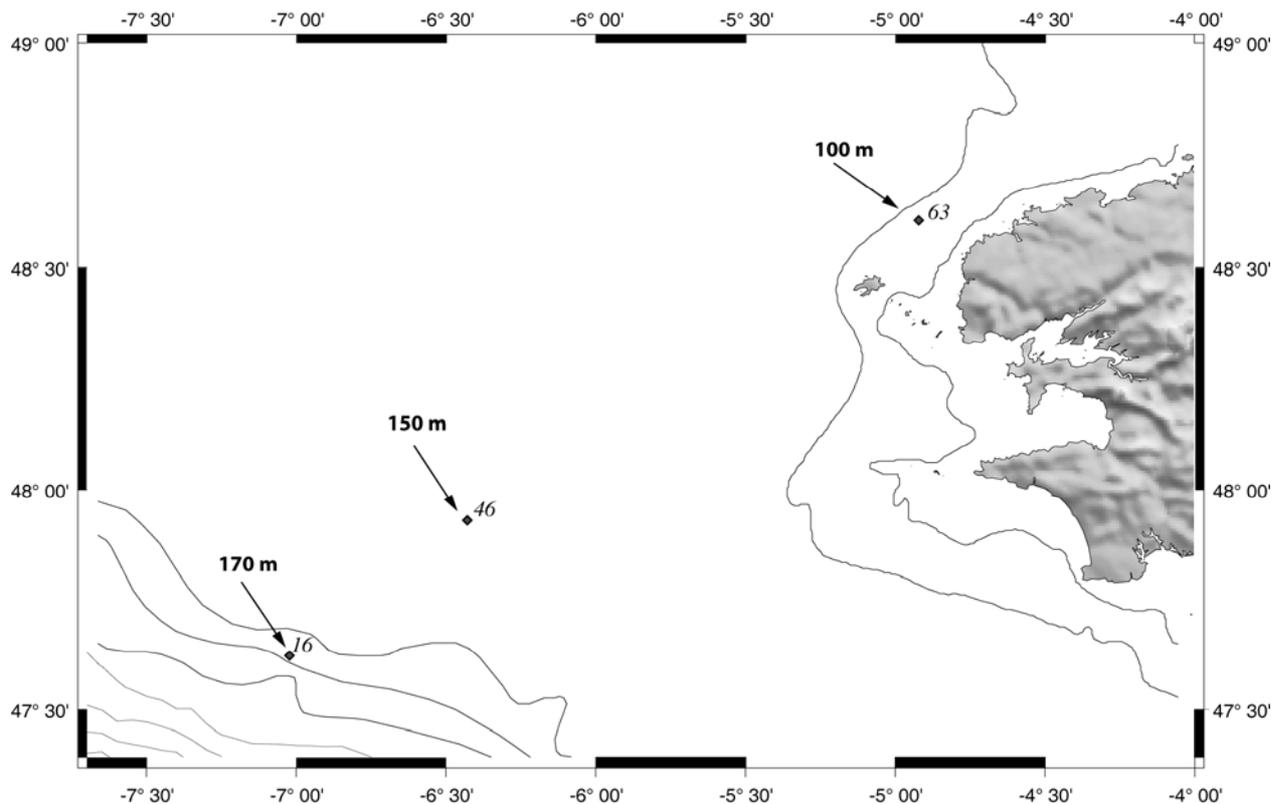


Figure III.2. Localisation des trois stations du plateau continental (16, 46 et 63).

1.1.3 Analyses isotopiques

1.1.3.1 $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ calcite

L'analyse des échantillons a été effectuée à l'université de Stanford par Mucciarone et Dunbar. Les échantillons de calcite ont été acidifiés avec de l'acide phosphorique (100%) à 70°C pendant 470 secondes et analysés avec un passeur d'échantillons automatique de carbonates Finnigan MAT Kiel III, couplé à un spectromètre de masse de rapports isotopique Finnigan MAT 252. Un total de 521 échantillons a été analysés (3% analysés en triplicats), conjointement à l'analyse de standards NBS-19 (National Institute of Standards and Technology, NIST SRM 8544). La précision sur 616 analyses de NBS-19 durant l'année d'étude est de 0,039‰ et 0,059‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$, respectivement. Les données sont exprimées selon l'unité conventionnelle (δ) avec $\delta \text{‰} = (\text{R}_{\text{échantillon}} / \text{R}_{\text{standard}} - 1) \times 1000$, où les rapports isotopiques $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ et $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ sont reportés par rapport au standard international VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite).

Si certains auteurs préconisent d'éliminer la part organique dans la poudre de CaCO_3 prélevée, en plaçant les échantillons sous vide à 380°C pendant une heure chez *Adamussium Colbeki*, *Laternula elliptica*, *Mytililus trossolus* et plusieurs espèces du genre *Chione* (Barrera *et al.*, 1994 ; Bemis & Geary, 1996 ; Klein *et al.*, 1996b), d'autres affirment, chez *Mytilus edulis*, que ce traitement ne modifie en rien les résultats isotopiques, rejetant l'existence d'interférences entre la matrice organique et le signal isotopique de la calcite (Vander Putten *et al.*, 2000). Chez *P. maximus*, Roux *et al.* (1990) ont montré que le brûlage de la poudre, sous vide à 380°C pendant une heure, ne modifiait pas les résultats isotopiques, et entraînait une augmentation de la marge d'erreur. Ainsi, il a été décidé, pour notre étude, d'analyser directement les échantillons de calcite, sans passage préalable au four.

1.1.3.2 $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$

Les valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$ ont été mesurées à l'aide de la procédure standard d'équilibre avec du CO_2 (laboratoire LEMAN, Bièvres) ; 0.3 ml d'eau sont équilibrés avec du CO_2 et mesurés avec un spectromètre de masse de rapport isotopiques à flux continu (CF-IRMS ; 20-20, Europa Scientific, Crewe, UK). Tous les échantillons sont préparés et analysés en triplicats. La reproductibilité pour l'analyse de trois échantillons est inférieure à 0.1‰ (moyenne 0.04‰). Les valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$ sont reportées par rapport au V-SMOW.

1.1.3.3 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$

L'analyse des échantillons a été effectuée par Fontugne, au laboratoire des Sciences de l'Environnement et du Climat de Gif-sur-Yvette (UMR 1572 CEA/CNRS). La méthode utilisée est celle décrite par Leboucher (1998) qui consiste en une acidification de l'échantillon à l'aide d'acide phosphorique, puis du piégeage cryogénique du CO_2 formé à -196°C . L'ampoule contenant le CO_2 issu de l'acidification du CID est ensuite placée sur le passeur d'échantillon du spectromètre de masse pour l'analyse isotopique (spectromètre de masse Fisons Optima, précision de l'analyse de $\pm 0,15\%$).

1.1.4 Relation température - $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$

1.1.4.1 Calibration

Afin d'établir une équation reliant le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles à la température et au $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau, 331 mesures de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$, de température et de salinité, obtenues par Chauvaud (UMR CNRS 6539, IUEM) ont été utilisées.

Les équations de paléotempératures expriment généralement la température en fonction de $\alpha_{\text{calcite-eau}}$ qui est le fractionnement entre la calcite et l'eau de mer :

$$\alpha_{\text{calcite-eau}} = \frac{1000 + \delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}}{1000 + \delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}}$$

Une régression linéaire liant la température en degrés Celsius et $\alpha_{\text{calcite-eau}}$ sera donc établie. Les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer sont calculées en appliquant la régression linéaire liant la salinité au $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$. Afin d'exprimer le $\delta^{18}\text{O}$ de cette relation par rapport au même standard, le V-SMOW, les données de $\delta^{18}\text{O}$ calcite (vs. PDB) ont été converties en valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ calcite relatives au V-SMOW selon l'expression suivante (Coplen *et al.*, 1983) :

$$\delta^{18}\text{O}_{V\text{-SMOW}} = 1,03091 \delta^{18}\text{O}_{PDB} + 30,91$$

L'équation obtenue sera comparée à l'équation la plus récente de précipitation inorganique, celle de Kim & O'Neil (1997, $1000\ln\alpha = 18,03(10^{-3}T^{-1}) - 32,42$, T°K). Cette équation a été choisie car elle s'intéresse à la précipitation de carbonates calcitiques dans une large gamme de température.

1.1.4.2 Estimation de la température

En rade de Brest : Pour les trois coquilles Saint-Jacques prélevées en 2000 (A, B et C), une date calendaire étant affectée à chaque prélèvement de calcite, chaque valeur de $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite correspond à une température et à une salinité de l'eau de mer à proximité du bivalve lors de la précipitation calcitique. Ces valeurs de salinité sont converties en $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$ attendu d'après l'équation reliant la salinité et le $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$. Ainsi d'après l'équation empirique de paléotempérature obtenue, une température prédite peut être calculée pour chaque couple de valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ et de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$. Cette température prédite sera ensuite comparée avec la température (données interpolées) mesurée dans le milieu le jour correspondant.

Sur le plateau continental armoricain : L'équation de paléo-température a été appliquée aux valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$, en affectant une valeur fixe au $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$ correspondant à une salinité de 35,5 pour les coquilles de la station 16 et 46 et une salinité de 35 pour la station 63 (d'après les mesures de salinité effectuées par Morin *et al.*, 1991).

1.2 Résultats

1.2.1 Analyses de l'eau

1.2.1.1 $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$

Une relation linéaire (Fig.III.3), traduisant la courbe de mélange entre les eaux douces et marines, relie la salinité S au $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$ ($r^2 = 0,9995$; $n = 10$; $p < 0,0001$) :

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{eau (V-SMOW)}} = 0,164 S - 5,382$$

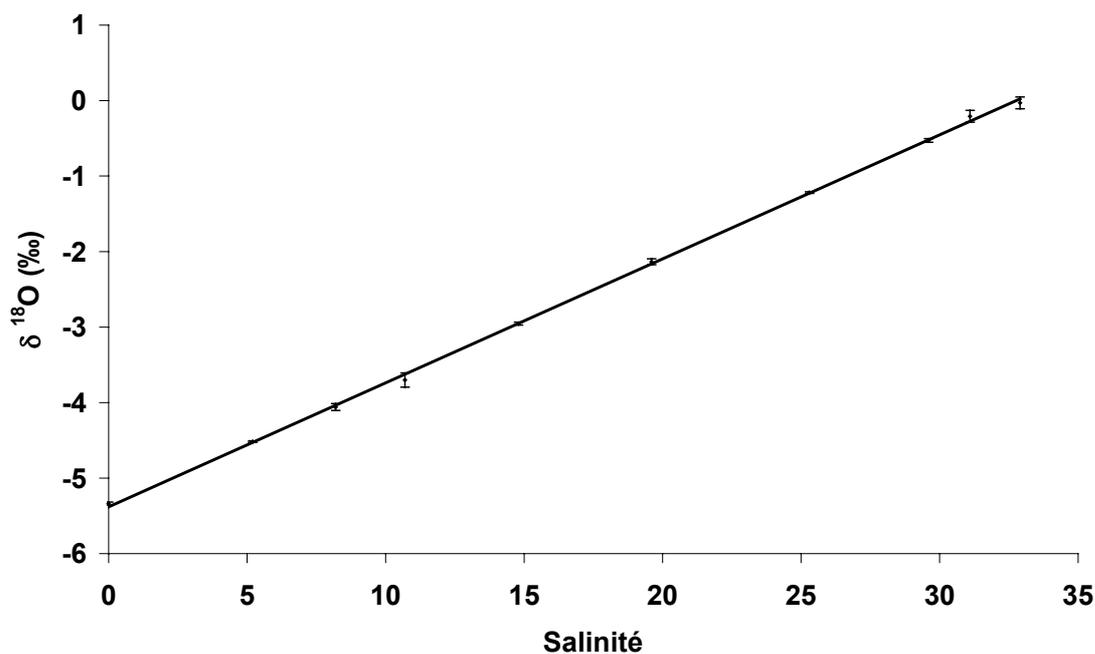


Figure III.3. Relation liant la salinité à la composition isotopique de l'eau ($p < 0,001$).

1.2.1.2 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$

La composition isotopique du carbone inorganique dissous présente un cycle annuel bien marqué avec des minima hivernaux (-0,08‰ le 23 janvier et -0,21‰ le 20 décembre) et des maxima estivaux (1,42 ‰ le 30 juin, Fig. III.4). L'amplitude de variation du signal est de

1,62‰. De fortes variations saisonnières sont décelables à l'intérieur de ce cycle (0,7‰ de variation du 19 au 20 mai). Le suivi du 18 mai sur un cycle de marée montre que des variations de l'ordre de 0,7‰ peuvent avoir lieu en une journée (Fig. III.5). Cependant la valeur observée à pleine mer (0,89 ± 0,15‰) est une bonne représentation de la valeur moyenne journalière (0,78 ± 0,28‰).

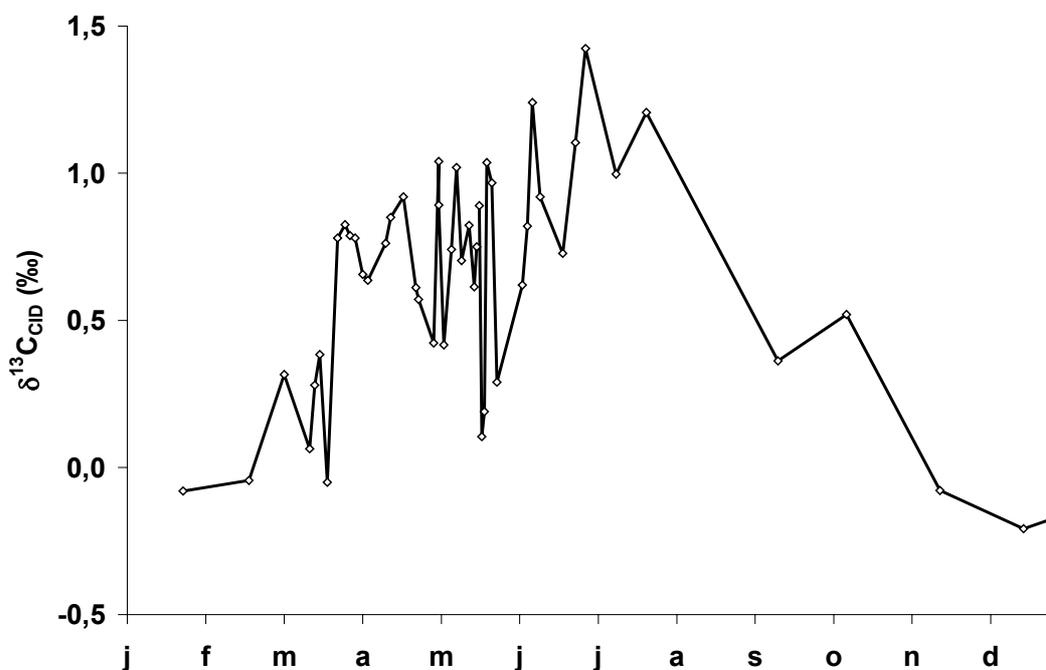


Figure III.4. Evolution saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ (‰) à un mètre au-dessus du fond à Roscanvel au cours de l'année 2000 (suivi à pleine mer ± 2 heures).

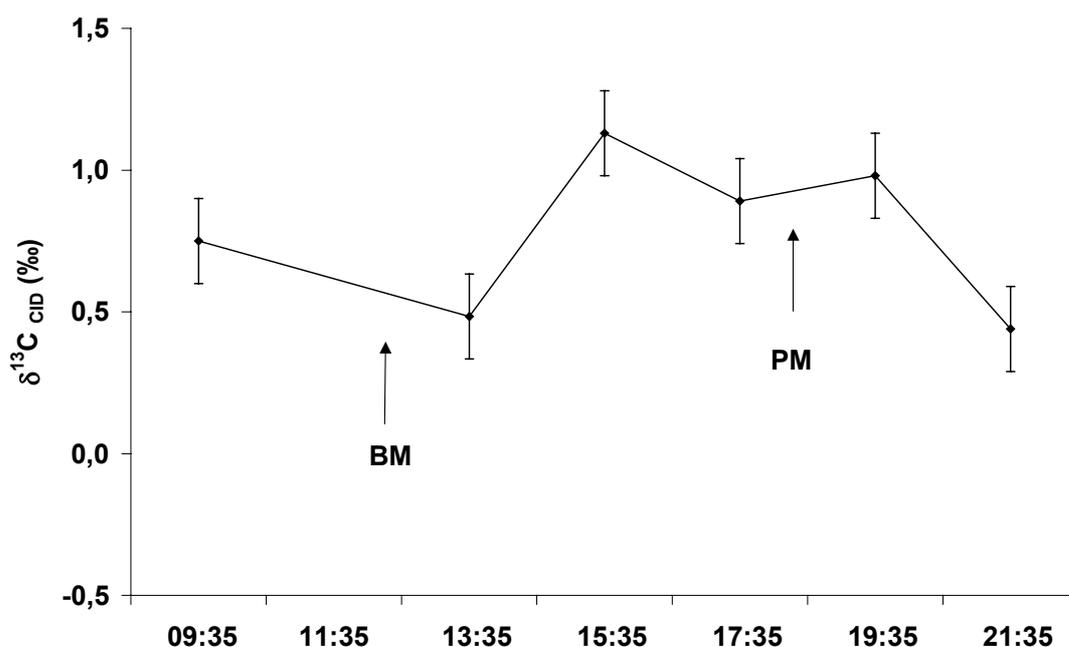


Figure III.5. Variation du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ (‰) à un mètre au-dessus du fond à Roscanvel au cours d'un cycle de marée le 18 mai 2000 (coefficient de marée=86).

1.2.2 Variations des isotopes stables de la calcite

1.2.2.1 $\delta^{18}\text{O}$

Le $\delta^{18}\text{O}$ (V-PDB) de la calcite des coquilles varie entre -0,3 et 1,7‰ (Fig. III.6, amplitude moyenne 1,6‰). Toutes les coquilles présentent un cycle saisonnier similaire, les plus fortes valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ étant observées en hiver, les plus faibles en été. Les coquilles B et C présentent des minima proches de -0,3‰ alors que le $\delta^{18}\text{O}$ le plus faible de la coquille A est seulement de -0,058‰. Ces minima sont atteints au début du mois d'août pour la coquille C, au début du mois de septembre pour la coquille B et à la mi-septembre pour la coquille A. Les valeurs maximales du $\delta^{18}\text{O}$ varient selon la coquille considérée, ils sont respectivement de 1,1‰, 1,4‰, et 1,5‰ pour les coquilles B, C et A. Par contre, les dates d'apparition de ces maxima sont très similaires, les 18, 17 et 19 avril pour les coquilles B, C et A respectivement.

1.2.2.2 $\delta^{13}\text{C}$

L'ensemble des coquilles présente un signal de $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite décroissant (Fig. III.7), du mois d'avril au mois de novembre, avec des valeurs maximales proches de 0,9‰ et des minima de l'ordre de -0,2‰ (amplitude moyenne de 1‰). Les coquilles B et C atteignent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de 0‰ au mois de juin alors que la coquille A présente des valeurs beaucoup plus élevées jusqu'au milieu du mois d'août.

1.2.2.3 Comparaison $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$

La figure III. 8 met en évidence la similarité des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des coquilles B et C, alors que la coquille A présente en moyenne des valeurs plus fortes, c'est à dire enrichies en isotope lourd (^{18}O et ^{13}C).

Si la figure III. 9 décrit une relation linéaire entre les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques, la figure III. 8 montre qu'à l'évidence, cette corrélation n'est effective qu'une partie de l'année (avril-septembre). De plus, la pente de l'équation linéaire reliant les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ aux valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ est différente pour les trois coquilles (1,0433 ; 1,1917 et 1,3912 pour A, B et C respectivement).

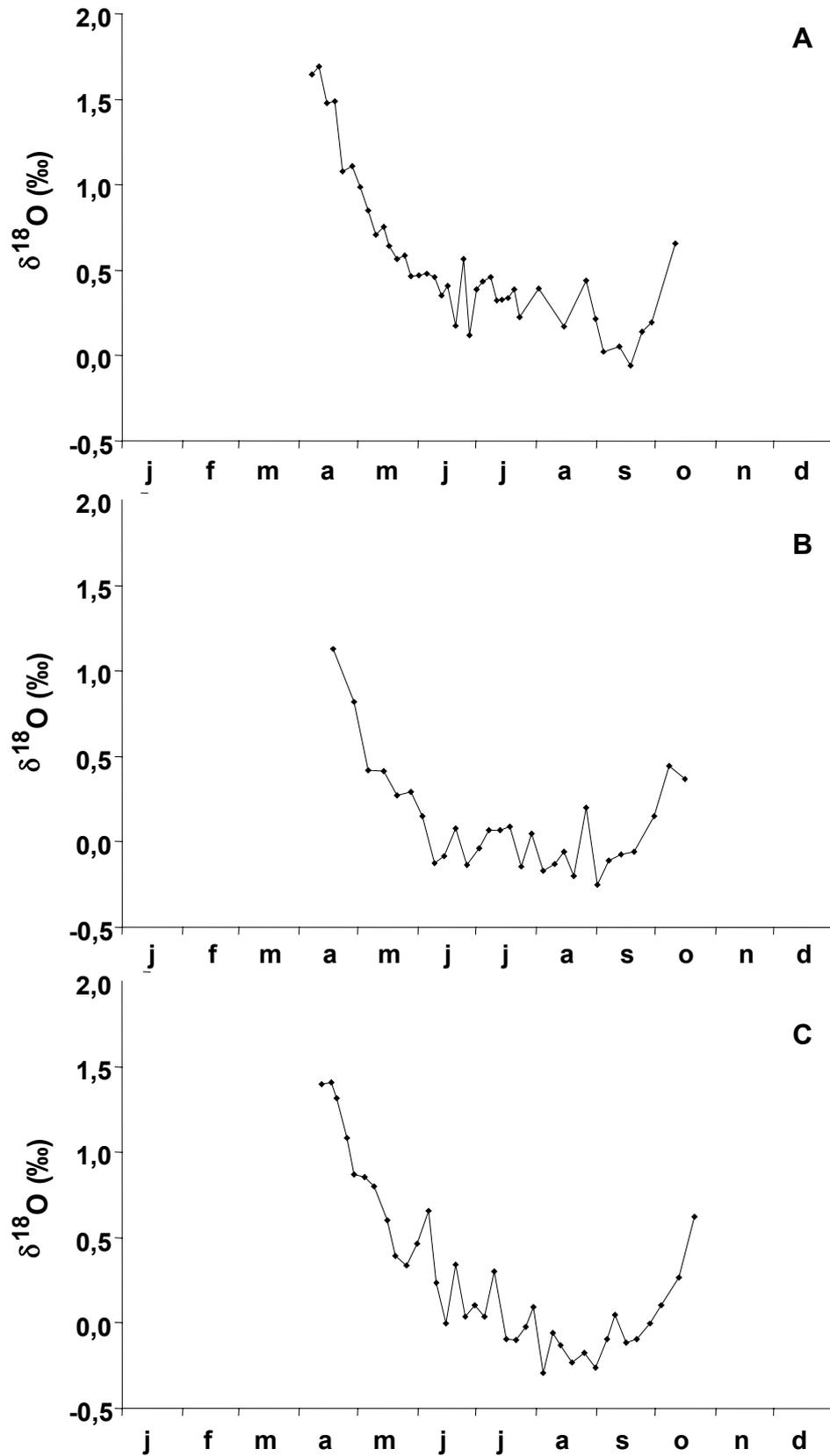


Figure III.6. Variations du $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des trois individus (A, B et C) collectés en 2000 (‰).

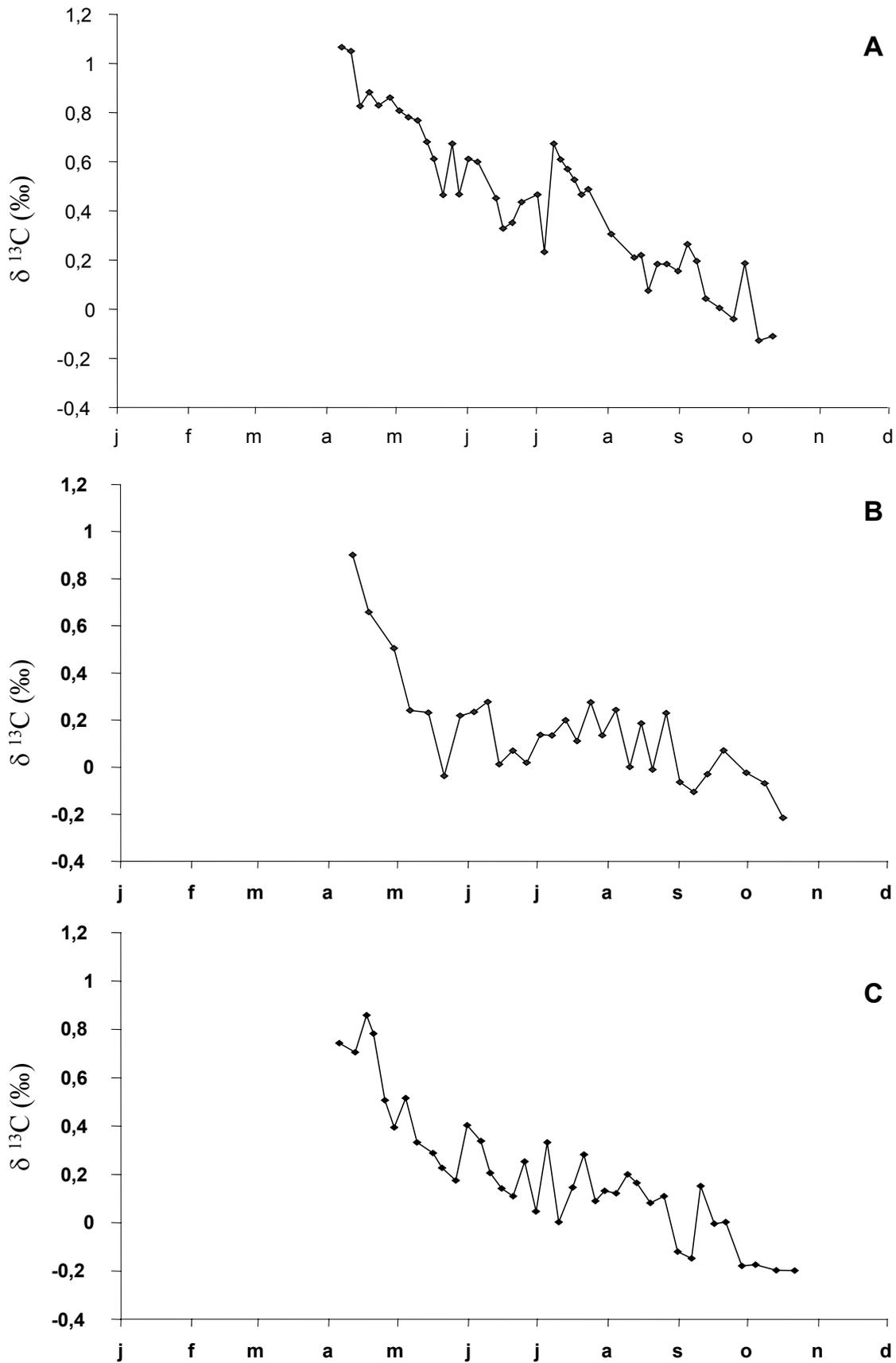


Figure III.7. Variations du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des trois individus (A, B et C) collectés en 2000 (‰).

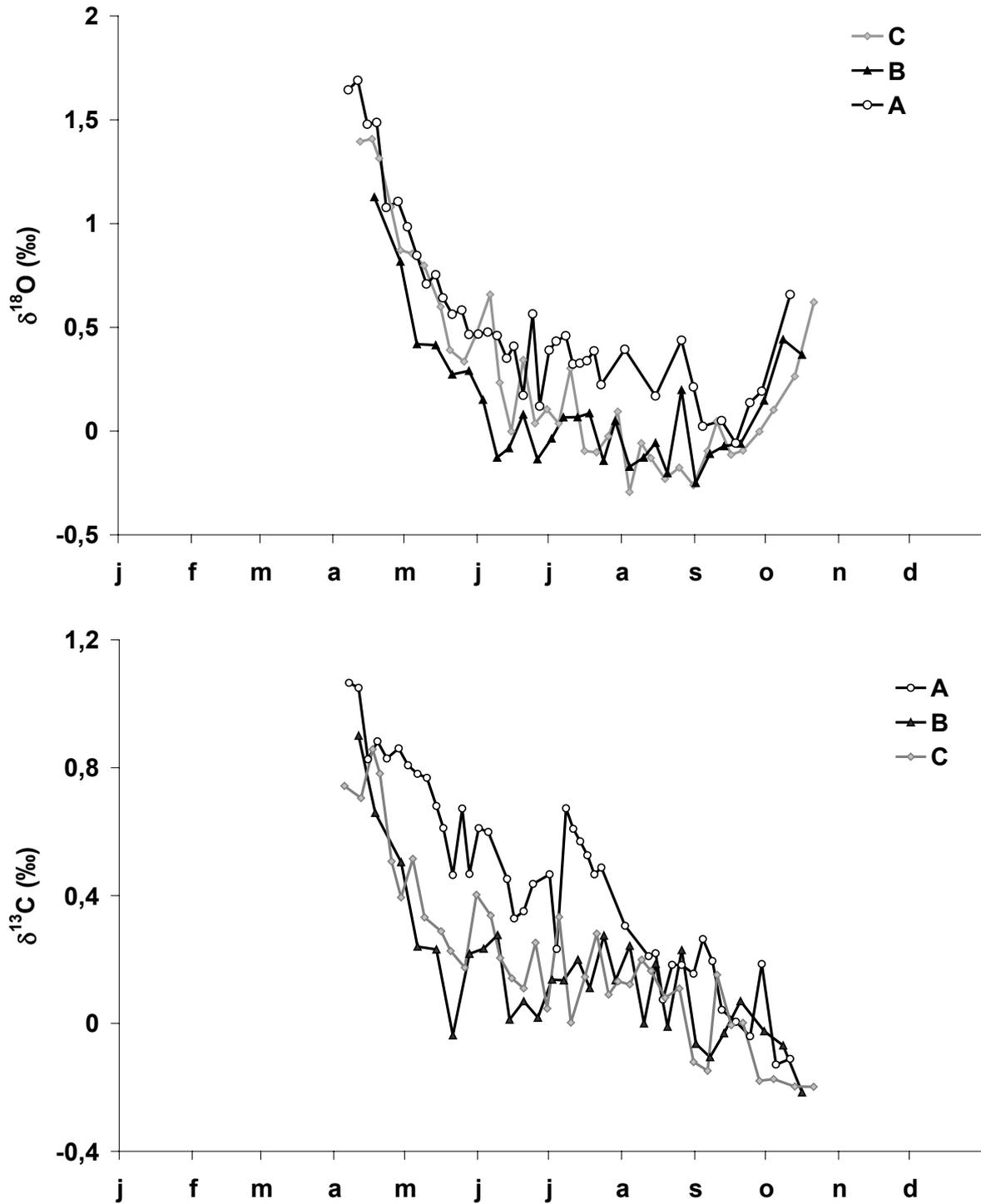


Figure III.8. Variations du $\delta^{18}\text{O}$ et du $\delta^{13}\text{C}$ (‰) de la calcite des trois individus (A, B et C) collectés en 2000.

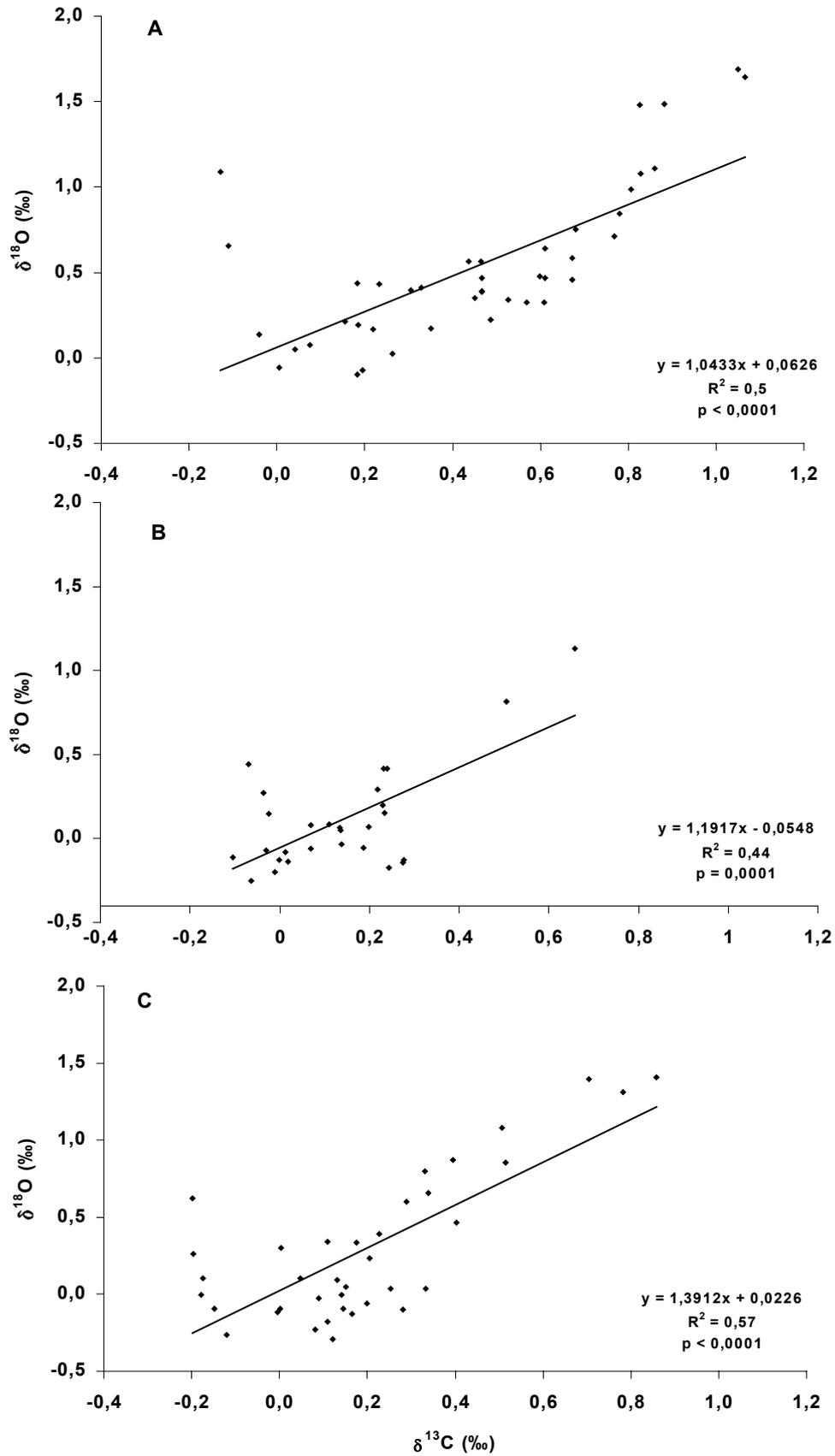


Figure III.9. Relation entre les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ et du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des trois individus (A, B et C) collectés en 2000 (‰).

1.2.3 Croissance coquillière

La croissance coquillière est déterminée dans ce paragraphe afin de tester l'existence d'une influence du taux de croissance sur la composition isotopique des individus étudiés.

1.2.3.1 Variations interindividuelles

La comparaison des courbes individuelles de croissance avec la courbe moyenne pour l'année 2000, réalisée sur 55 individus, montre que les individus A, B et C, pris au hasard, sont bien représentatifs de la population de la rade de Brest (Fig. III.10). Leur croissance est conforme à celle de la courbe moyenne : reprise au début du mois d'avril, ralentissement du 6 mai au 4 juin, maximum estival à la fin du mois de juin et un ralentissement jusqu'à l'arrêt au mois de novembre. La coquille A reprend toutefois sa croissance une semaine avant les autres coquilles et présente, en moyenne, une croissance journalière plus élevée que celle des autres (Tableau III.2, Fig. III.10) ; elle présente une taille au premier anneau nettement inférieure à celle des deux autres individus.

Tableau III.2. Croissance coquillière moyenne des coquilles A, B et C ($\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$), et taille des coquilles au premier anneau et au deuxième anneau de croissance (mm).

	Coquille A	Coquille B	Coquille C
Taille au 1 ^{er} anneau (mm)	28	34	35
Taille au 2 ^{ème} anneau (mm)	71,5	73,5	75
Croissance coquillière journalière moyenne ($\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$)	192	173	175

1.2.3.2 Relation avec les isotopes stables

Les figures III.11 et III.12 montrent qu'il n'y a pas de corrélation entre la croissance coquillière journalière des individus de *P. maximus* et les variations des isotopes du carbone et de l'oxygène. Toutefois une très faible corrélation est apparente entre le $\delta^{18}\text{O}$ et la croissance de la coquille B ($p = 0,0321$), et entre le $\delta^{13}\text{C}$ et la croissance de la coquille A ($p = 0,0106$) ; son occurrence chez deux individus différents et pour les deux composés étudiés, ne nous permet pas de retenir la vitesse de croissance comme facteur explicatif des variations isotopiques observées. Un effet de l'interaction des facteurs température et croissance sur le signal $\delta^{18}\text{O}$ a été recherché, il n'est significatif que pour la coquille B.

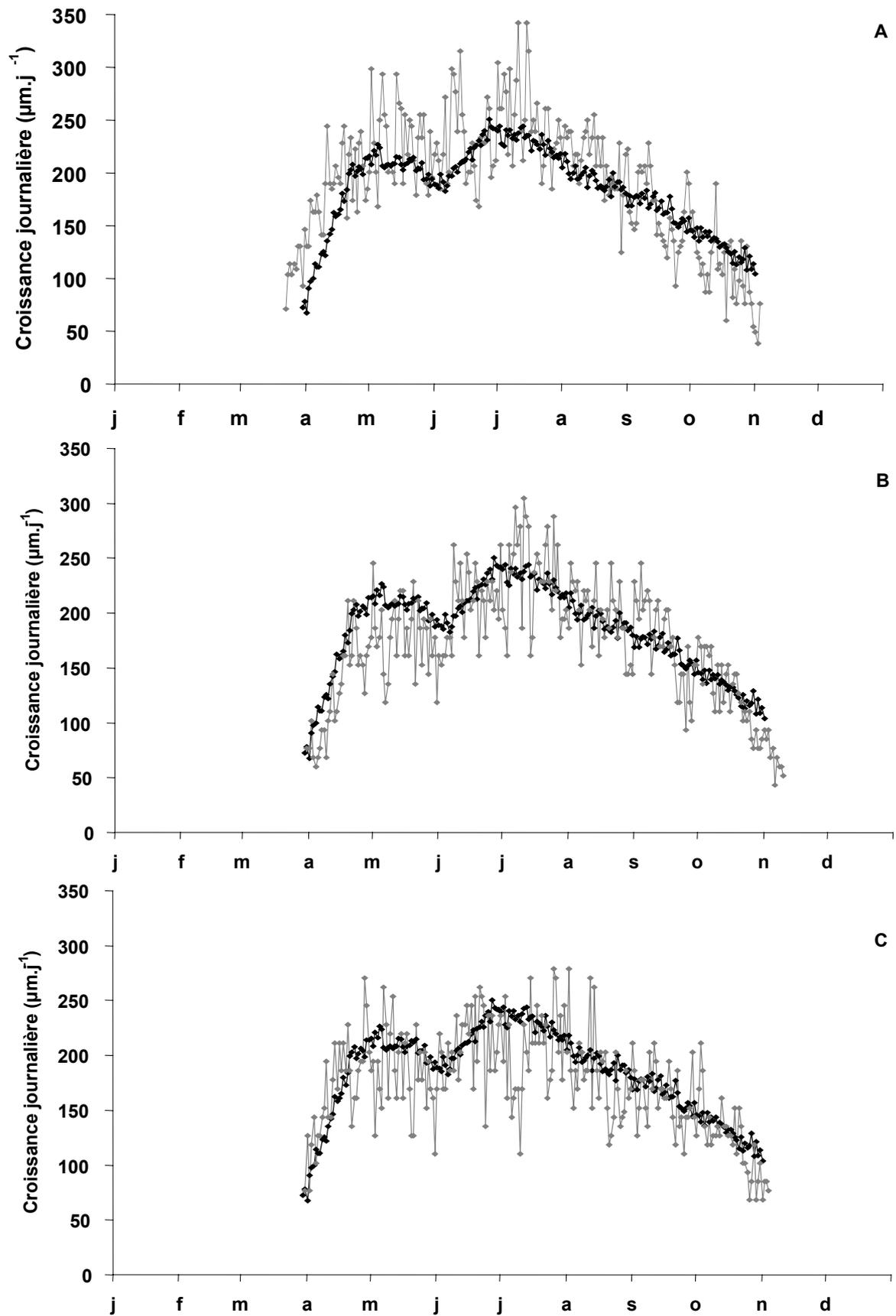


Figure III.10. Variations de la croissance journalière pour les trois individus (A, B et C, courbe grise) collectés en 2000 ($\mu\text{m.j}^{-1}$) et courbe moyenne (courbe noire, N=55) pour cette année.

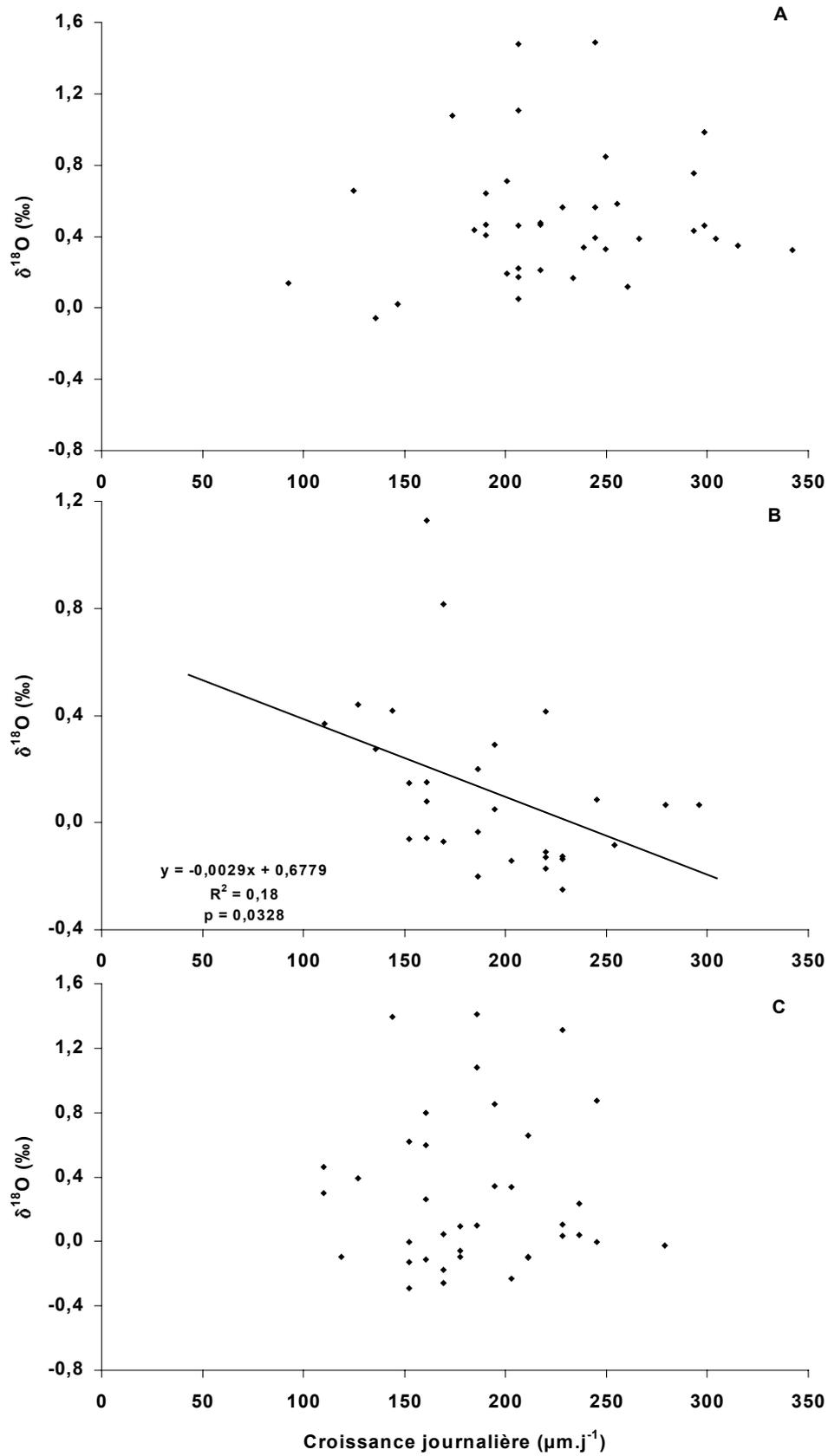


Figure III.11. Relation entre le $\delta^{18}\text{O}$ (‰) et la croissance journalière ($\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$) pour les trois individus (A, B et C) collectés en 2000.

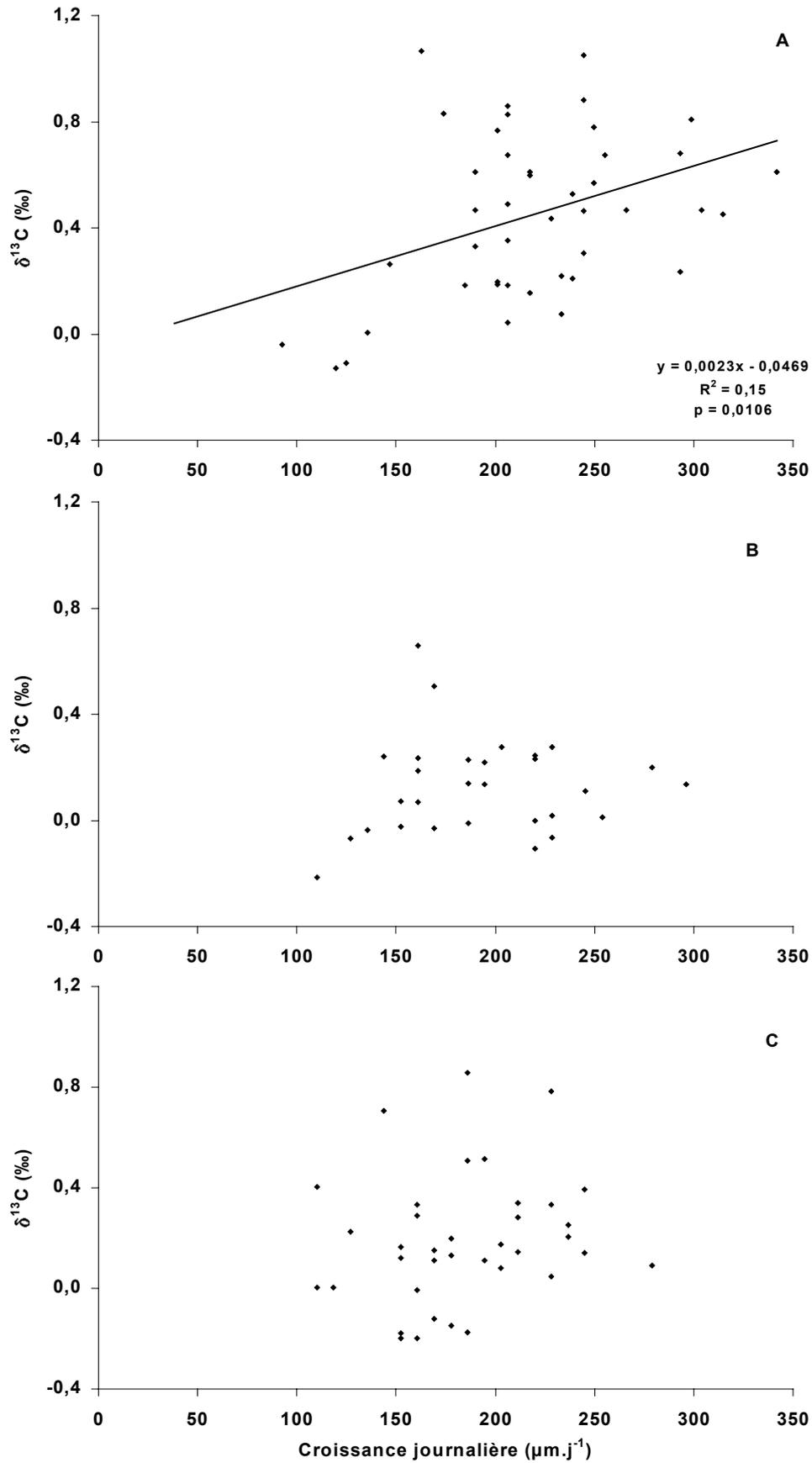


Figure III.12. Relation entre le $\delta^{13}\text{C}$ (‰) et la croissance journalière ($\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$) pour les trois individus (A, B et C) collectés en 2000.

1.2.4 Relation $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}} - \delta^{18}\text{O}_{\text{eau}} - \text{Température}$

L'utilisation des données de Chauvaud *et al.* (en préparation) nous permet d'établir une relation linéaire liant le $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite, le $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau et la température (N=333 valeurs établies sur plusieurs individus; $r^2=0,929$; $p<0,0001$), représentée sur la figure III.13. L'équation empirique de paléo-température établie pour *Pecten maximus* est la suivante :

$$\alpha = -2,5276 \cdot 10^{-4} T (\text{°C}) + 1,0346 \quad \text{ou} \quad T(\text{°C}) = \frac{1,0346 - \alpha}{2,5276 \cdot 10^{-4}}$$

$$\text{avec } \alpha = \frac{1000 + \delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}}{1000 + \delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}}$$

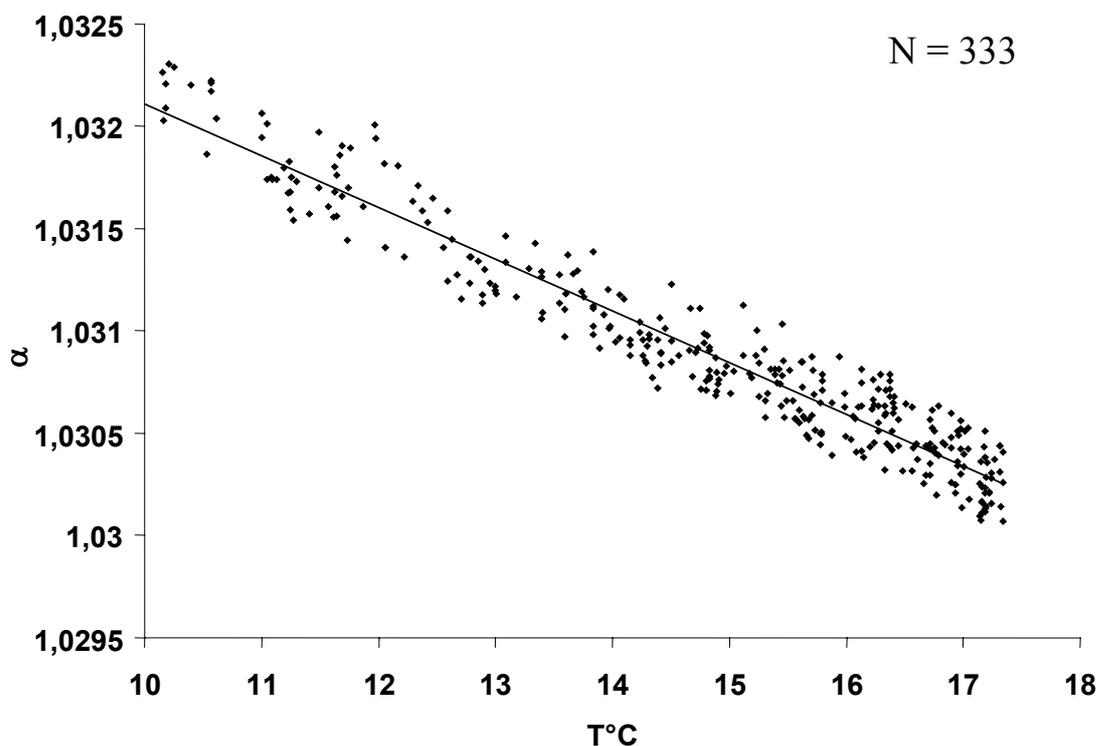


Figure III.13. Relation liant $\alpha [(1000 + \delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}} \text{ v-SMOW}) / (1000 + \delta^{18}\text{O}_{\text{eau}} \text{ v-SMOW})]$ à la température du milieu (°C) sur le site de Roscanvel (N=333).

1.2.5 Estimation de la température en 2000

L'application de l'équation de paléo-température définie ci-dessus, aux valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ des coquilles A, B et C, permet de retracer les variations saisonnières de la température en 2000 (Fig. III.14).

Si l'on traite globalement la totalité des températures prédites par les 3 individus, l'écart moyen à la température observée est de 0,6°C (Tableau III.3). La température est donc prédite à plus ou moins 0,6°C.

Tableau III.3. Ecart moyen entre la température prédite et la température observée (valeur absolue en °C) pour les trois coquilles A, B et C.

	Coquille A	Coquille B	Coquille C
$ T^{\circ} \text{prédite} - T^{\circ} \text{observée} $ (°C)	0,6	0,7	0,5

A l'échelon individuel, la coquille A prédit en moyenne des valeurs de température de 0,6°C inférieures à la température observée alors que les coquilles B et C donnent des températures, en moyenne, supérieures à la température observée (de 0,6 et 0,3°C, respectivement ; Fig. III.14 et III.15). D'autre part, la valeur de l'écart n'est pas dépendante de la valeur absolue de la température vécue (Fig. III.16).

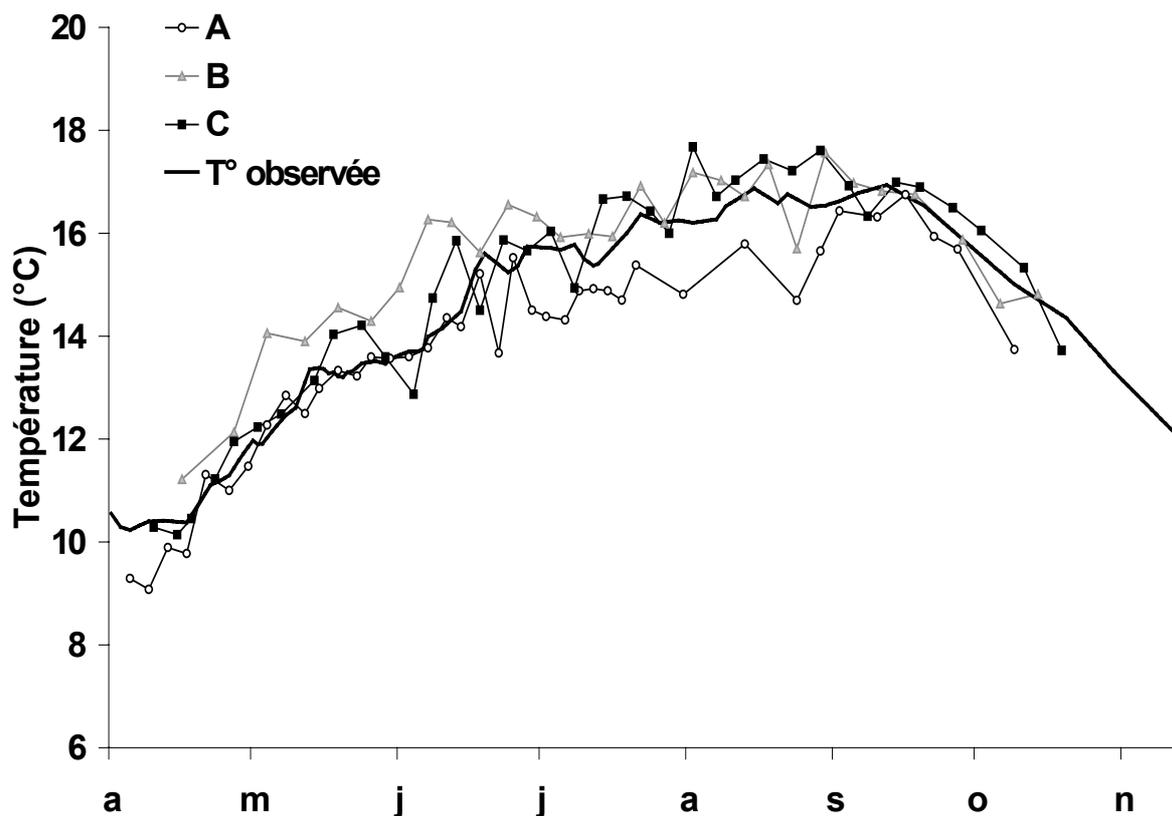


Figure III.14. Températures prédites d'après les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles A, B et C, en corrigeant le $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer des variations de salinité au cours de l'année 2000. La courbe noire (en gras) correspond à la température mesurée à Roscanvel à un mètre du fond.

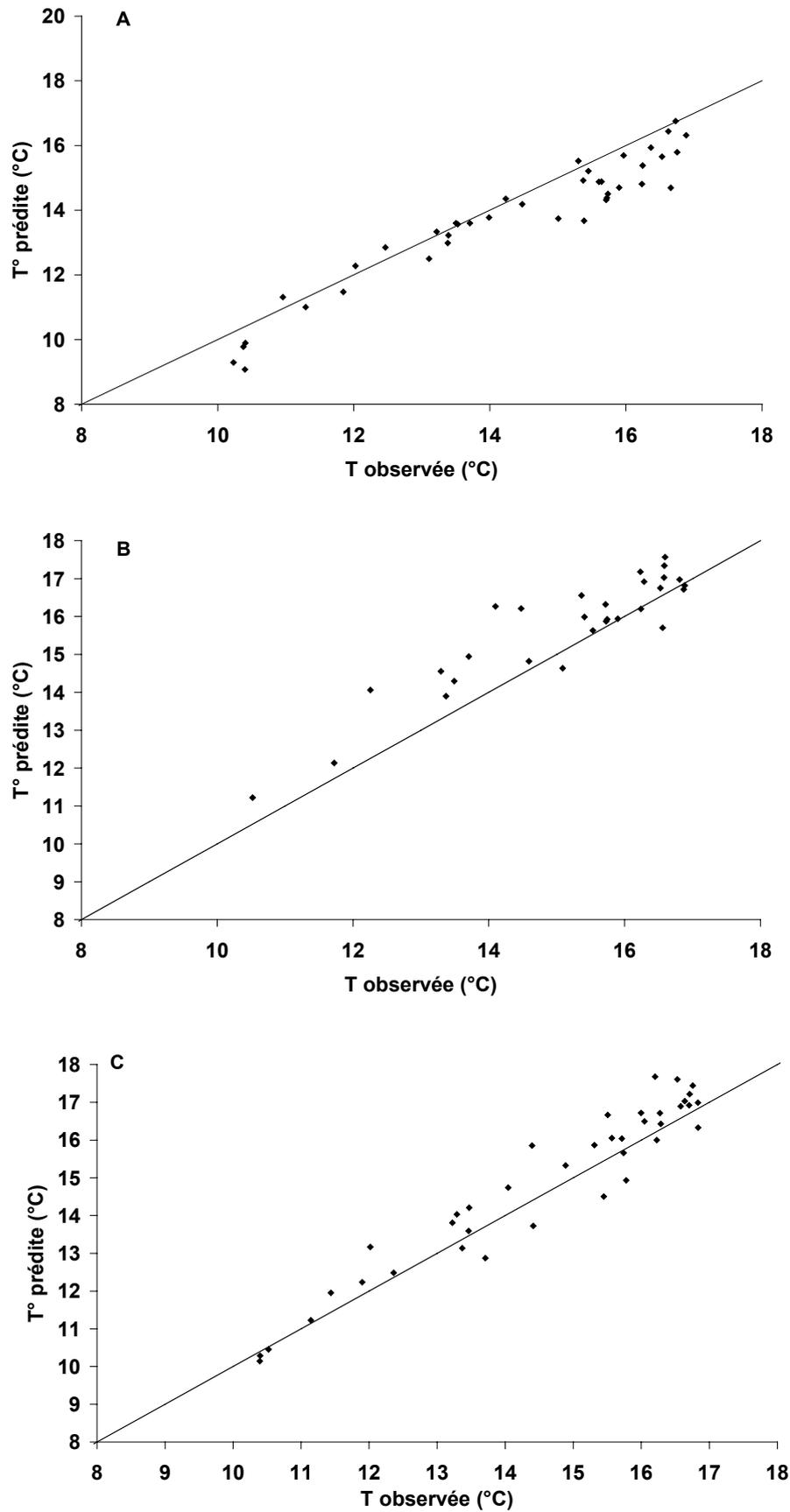


Figure III.15. Relations entre la température prédite et la température observée (°C) pour les coquilles A, B et C au cours de l'année 2000. La droite figure la première bissectrice $X = Y$.

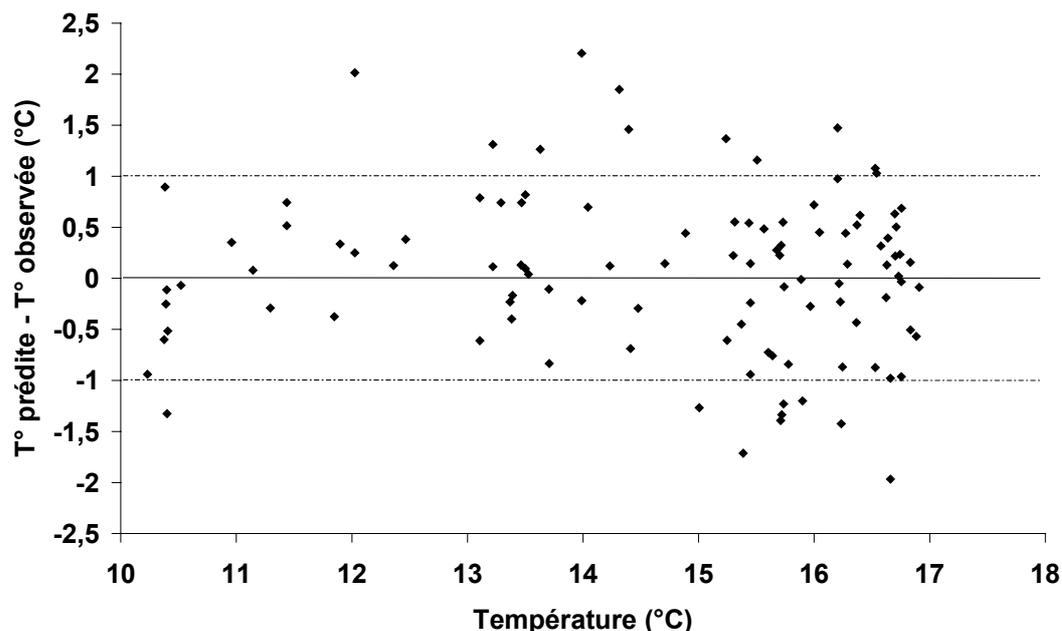


Figure III.16. Relation entre les écarts de température (T° prédite – T° observée) et la température observée ($^\circ\text{C}$).

Si l'on fixe maintenant une valeur de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau de mer}}$ constante, c'est à dire en conditions réelles de l'utilisation de l'équation de paléo-température dans un environnement inconnu, avec une valeur de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau de mer}} = 0,275\text{‰}$ pour une salinité moyenne de 34,5 dans les eaux de fond de la rade de Brest (voir Partie I), l'écart moyen entre les températures prédites et les températures observées est de $0,7^\circ\text{C}$ (Fig. III.17, Tableau III.4).

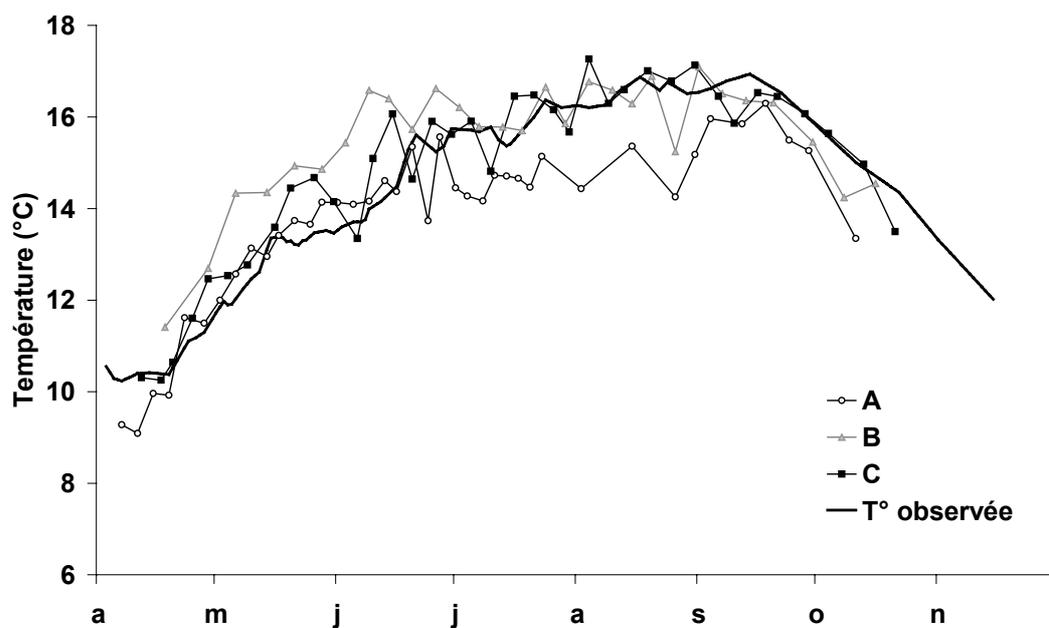
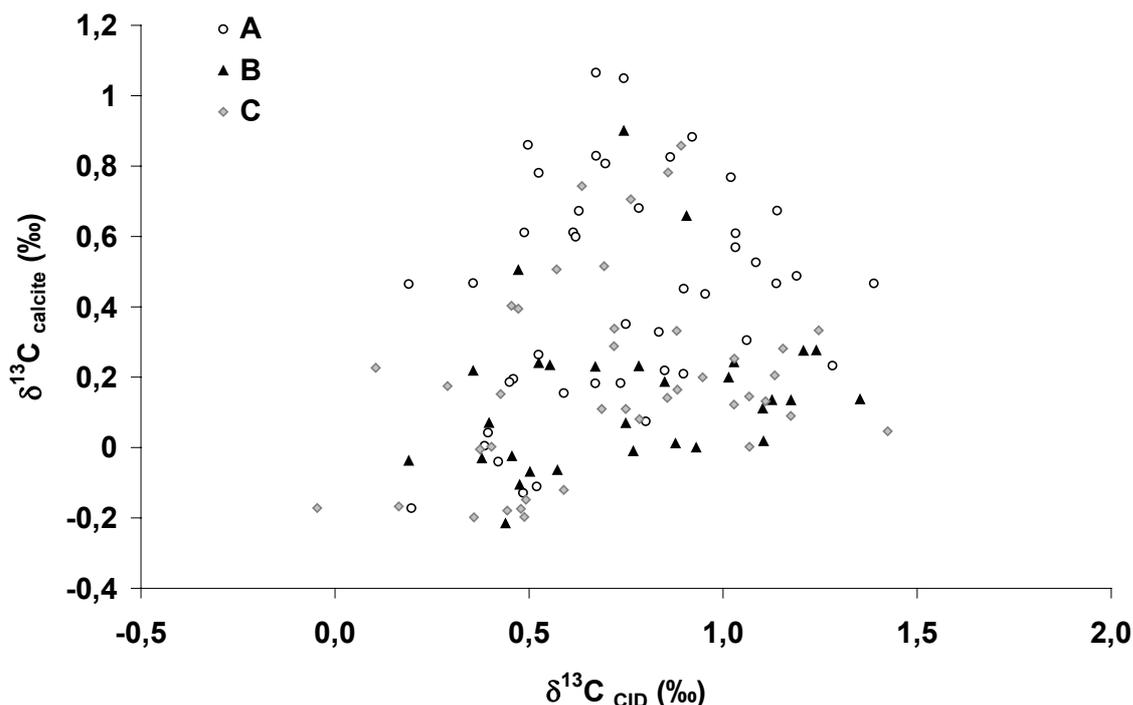


Figure III.17. Températures prédites d'après les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles A, B et C au cours de l'année 2000, avec une valeur fixe de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau de mer}}$ de $0,275\text{‰}$. La courbe noire (en gras) correspond à la température mesurée à Roscanvel à un mètre du fond.

Tableau III.4. Ecart moyen entre la température prédite et la température observée (valeur absolue en °C) pour les trois coquilles A, B et C, lorsque l'on fixe une valeur de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau de mer}} = 0,275\text{‰}$.

	Coquille A	Coquille B	Coquille C
$ T^{\circ}_{\text{prédite}} - T^{\circ}_{\text{observée}} $ (°C)	0,8	0,9	0,5

1.2.6 Relation $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$

**Figure III.18.** Relation entre le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des coquilles A, B et C et le $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (‰).

Que ce soit globalement ou en considérant les coquilles individuellement, aucune relation entre le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des coquilles A, B et C et le $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous n'est observée (Fig. III.18). Cependant, lorsque l'on compare les écarts entre le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite et le $\delta^{13}\text{C}$ du CID, un cycle annuel, identique pour toutes les coquilles, sur lequel se superpose des oscillations de période voisine d'un mois, est observé (Fig. III.19). Au mois d'avril, les valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite sont proches de celles du carbone inorganique dissous, et l'écart se creuse progressivement jusqu'à un maximum proche de $-1,2\text{‰}$ à la fin du mois de juin pour la coquille C (30 juin) et au début du mois de juillet pour les coquilles A et B (4 et 7 juillet, pour A et B, respectivement). A partir de cette date, les valeurs du $\delta^{13}\text{C}$ de la coquille et du CID se rapprochent à nouveau.

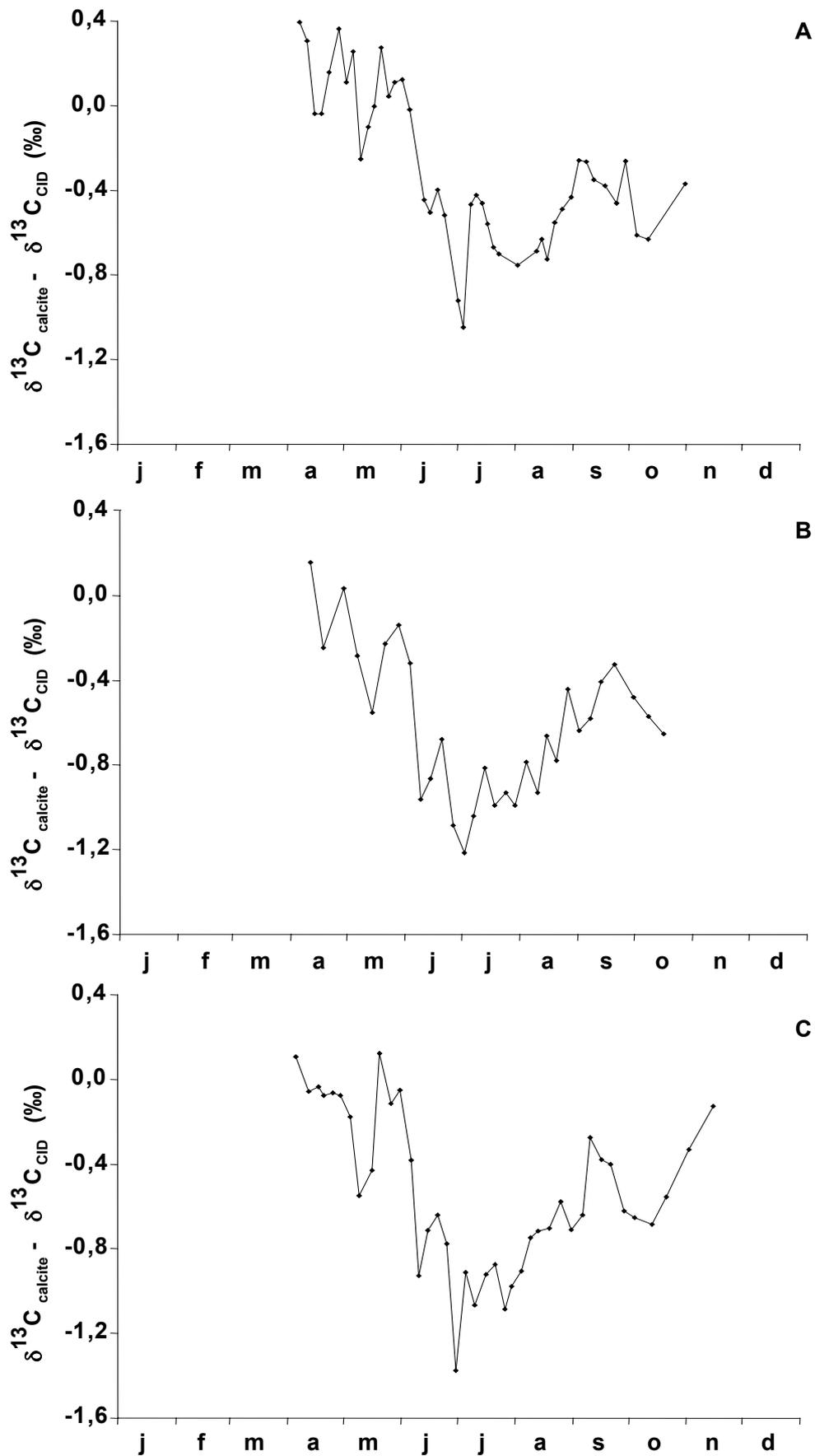


Figure III.19. Variations des écarts entre le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles A, B et C et le $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (‰).

1.2.7 Coquilles du plateau continental

1.2.7.1 Croissance coquillière

Station 63 (profondeur 100 m) :

Les deux coquilles prélevées à 100 mètres de fond présentent un cycle saisonnier de croissance, similaire à celui rencontré en rade de Brest, avec des minima et des maxima bien différenciés (Fig. III.20). La coquille 100H (individu de classe IV) présente 3 cycles de croissance correspondant aux années 1997, 1996 et 1995. Le nombre de jours de croissance diminue de la première année de croissance (1995) à sa dernière année de croissance (1997) : 150, 140 et 97 pour les années 1, 2 et 3, respectivement. La coquille 100F (individu de classe II) présente un seul cycle de croissance correspondant à sa première année de croissance (année 1, 1997). Le nombre de stries déposées est de 147 stries, équivalent à celui de la coquille 100H, lors de sa première année de croissance (1995). En conséquence, en 1997, le nombre de stries déposées de la coquille 100F est supérieur à celui de la coquille 100H (147 vs. 97), procurant un enregistrement sur une plus longue période de temps. La valeur moyenne maximale des distances inter-stries diminue avec l'âge, avec 270 μm pour l'année 1 (identique pour les coquilles 100H et 100F), 240 μm pour l'année 2 et 205 μm pour l'année 3 (coquille 100H).

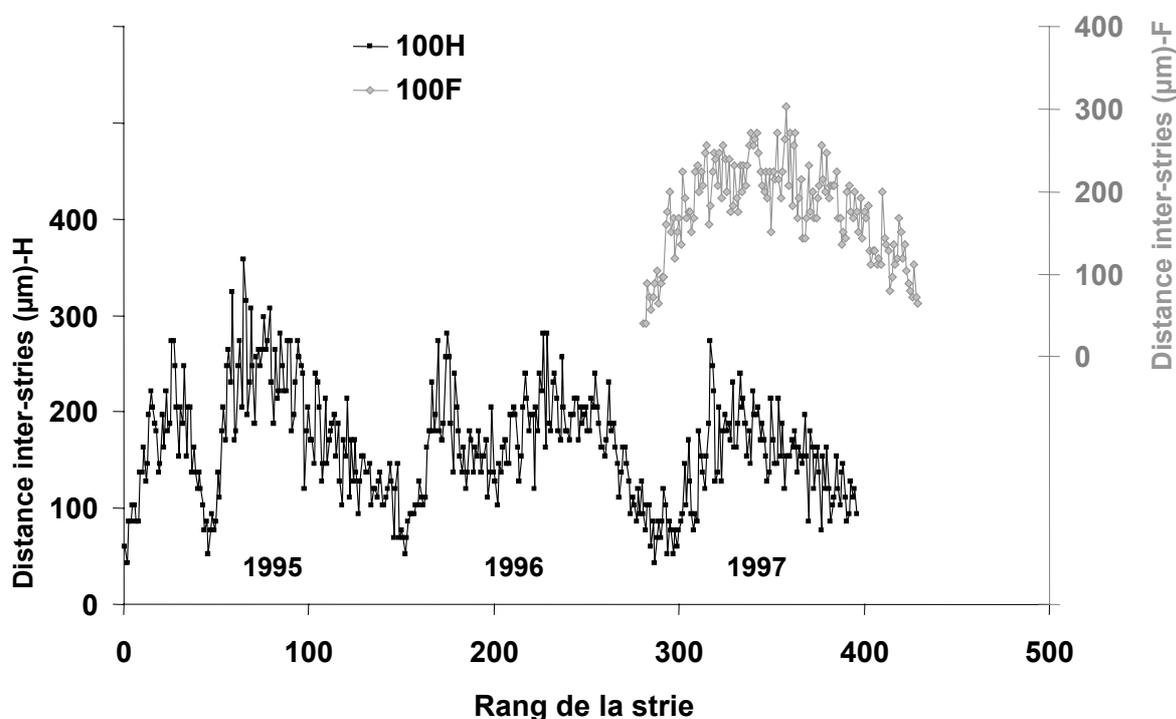


Figure III.20. Croissance coquillière des coquilles 100F et 100H prélevées à 100 mètres de fond (Station 63). L'année de croissance 1997 de la coquille 100F a été superposée à l'année de croissance 1997 de la coquille 100H.

Deux ralentissements de croissance sont observés pour la coquille 100H, en 1995 (-200 μm) et en 1996 (-150 μm). En 1997, aucun accident de croissance n'est noté.

Station 46 (profondeur 150 m):

Les deux individus échantillonnés présentent des cycles saisonniers bien marqués (Fig. III.21), avec une forte décroissance du nombre de stries déposées au cours des années pour la coquille la plus âgée (J, individu de classe VIII). Les distances inter-stries diminuent fortement entre l'année 1 et l'année 7 de croissance pour cette dernière coquille. Des ralentissements de croissance sont observés au cours du cycle annuel en 1992 et 1993. La coquille I (individu de classe IV), en revanche semble présenter un schéma "classique" de croissance durant toute sa vie.

Les années 2 et 3 de croissance, dont le cycle est entier et commun aux deux coquilles, permettent de définir un nombre de stries déposé de 100 et 90 en moyenne, pour les années 2 et 3, respectivement.

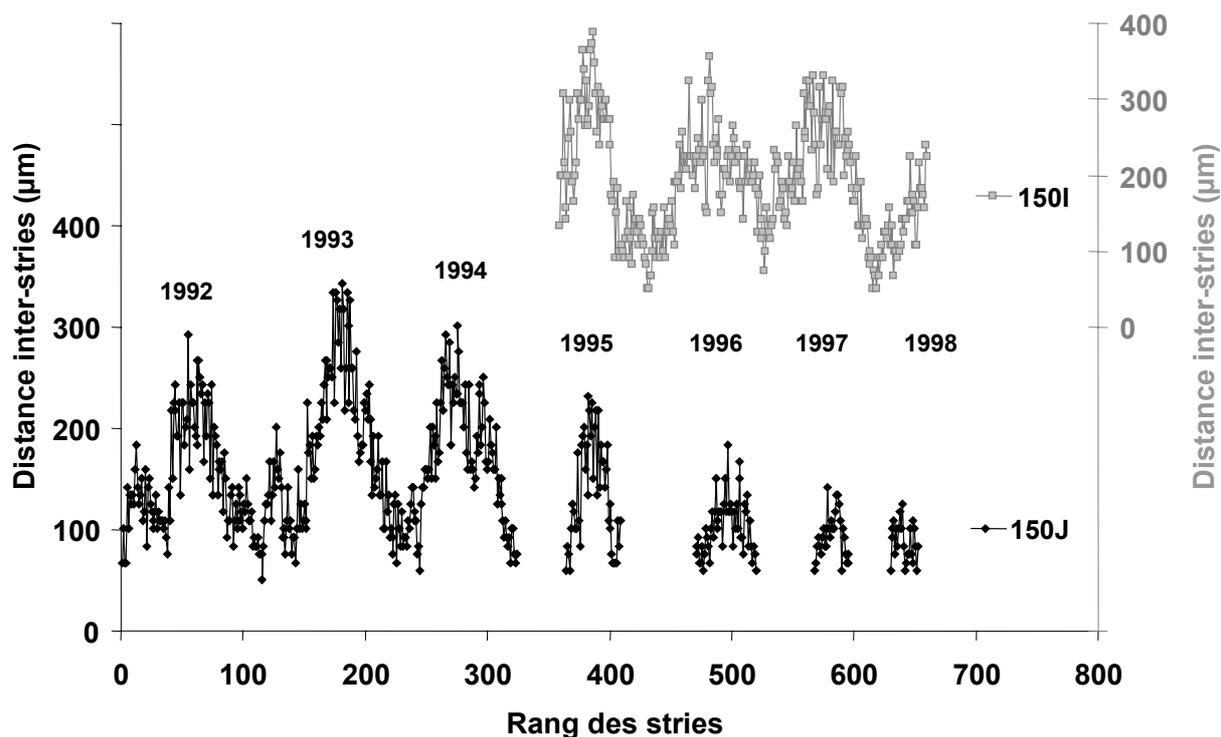


Figure III.21. Croissance coquillière des coquilles 150I et 150J prélevées à 150 mètres de fond (Station 46). Le profil de la coquille 150J a été segmenté, et les éléments de profils distribués, de manière à aligner les mêmes années civiles pour les deux coquilles.

Station 16 (profondeur 170 m):

Les deux individus de classes III prélevés à 170 mètres de fond, en bordure du talus continental, présentent trois cycles annuels bien marqués, correspondant aux années 1996, 1997 et 1998 (Fig. III.22). Une décroissance du nombre de stries déposées par cycle est également observée en fonction de l'âge, la coquille 170D ayant en moyenne un nombre de stries déposées supérieur à celui de la coquille 170E et des distances inter-stries maximales plus élevées (Tableau III.5).

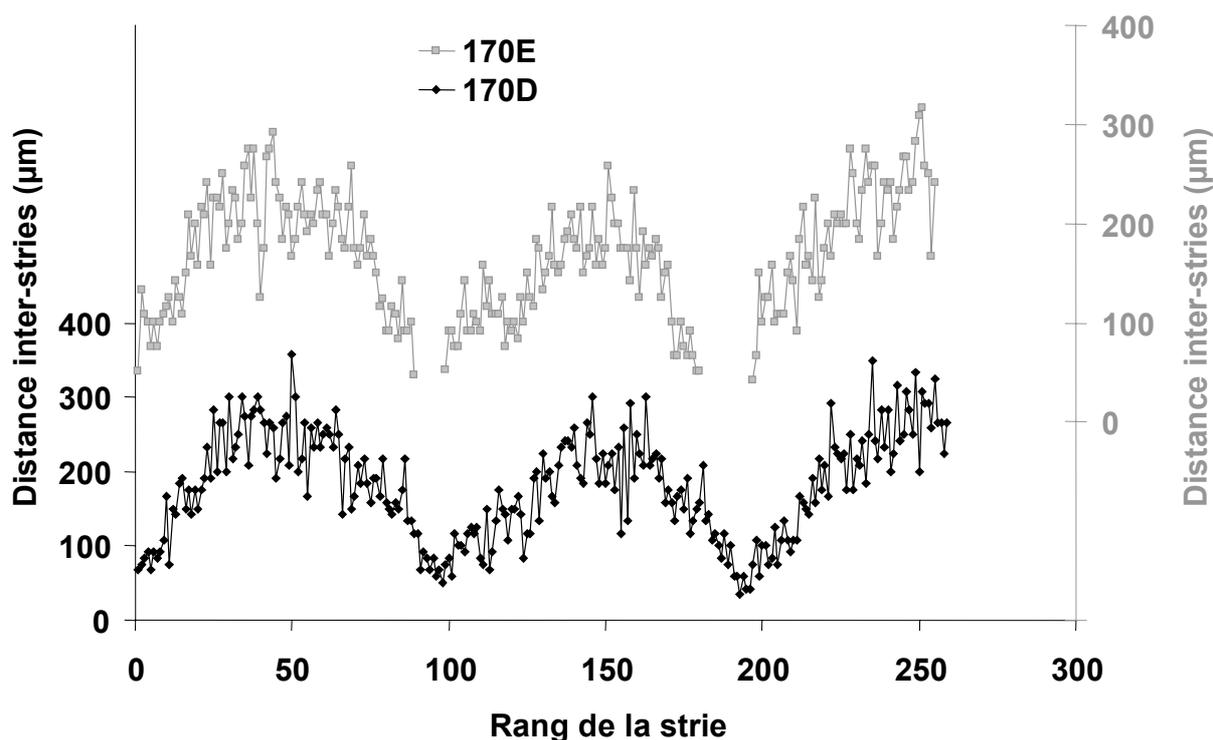


Figure III.22. Croissance coquillière des coquilles D et E prélevées à 170 mètres de fond (170D et 170E, Station 16).

Tableau III.5. Nombre de stries déposées et distance inter-stries maximales durant les années 1, 2 et 3 de croissance.

Année de croissance		1 ^{ère} année	2 ^{ème} année	3 ^{ème} année (en cours)
Coquille 170D	Nombre de stries	98	95	63
	Distance inter-stries maximale	300	266	316
Coquille 170E	Nombre de stries	89	81	58
	Distance inter-stries maximale	275	216	275

1.2.7.2 Composition isotopique

Station 63 (profondeur 100 m) :

Lors de la première année de croissance de la coquille 100F, un cycle saisonnier, est nettement visible pour le $\delta^{18}\text{O}$ avec des valeurs oscillant entre 0,25 et 1,4‰ (amplitude de 1,1‰ ; Fig. III.23). Pour le $\delta^{13}\text{C}$, l'amplitude de variation est plus faible (0,6‰) avec des valeurs maximales au début de la vie, une nette décroissance à la 50^{ème} strie déposée, puis une stabilisation du signal autour de 0,3‰. La coquille 100H, présente quand à elle trois cycles bien différenciés de $\delta^{18}\text{O}$, correspondant aux trois années de croissance de cet individu. L'amplitude de variation est de 1,5‰.

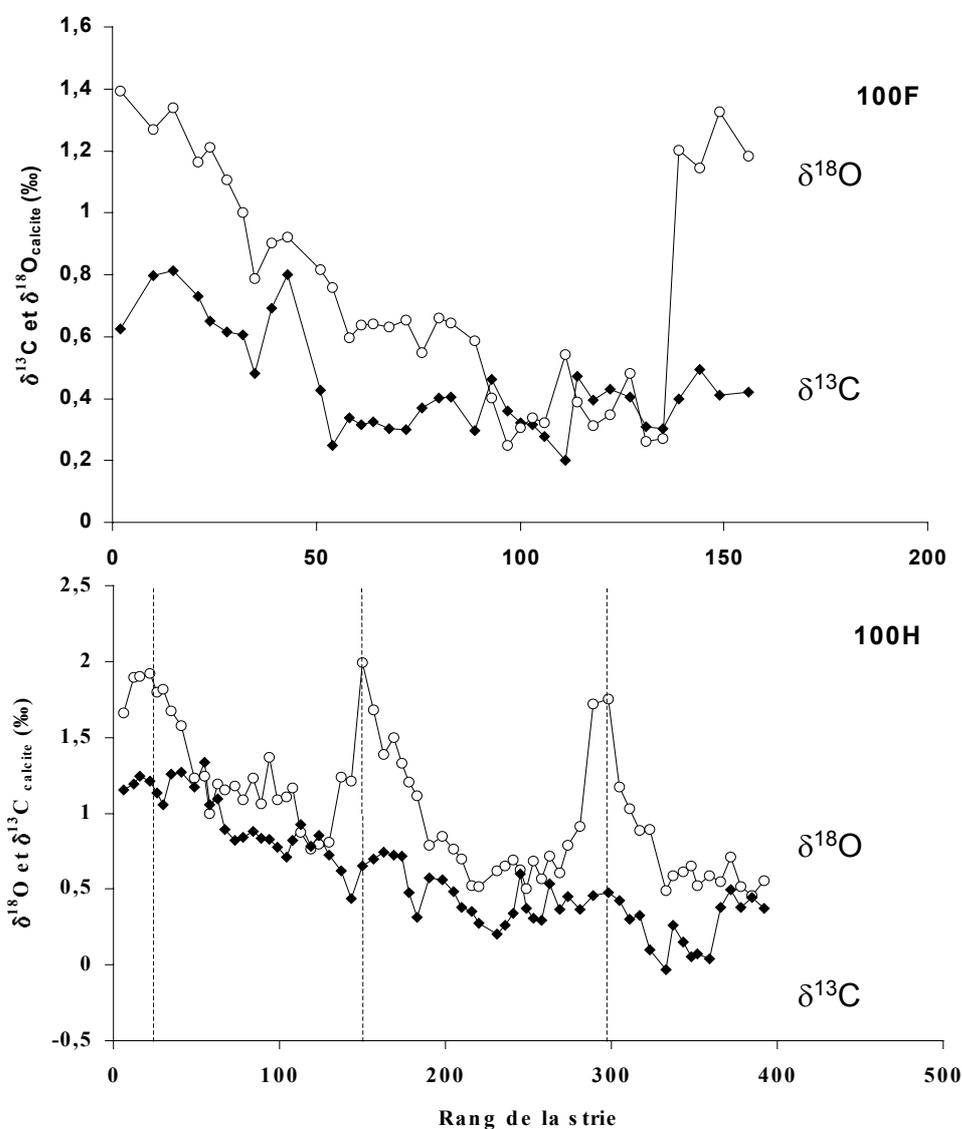


Figure III.23. Composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$, ‰) des coquilles 100F et 100H prélevées à 100 mètres de fond (Station 63). Les pointillés délimitent les cycles annuels d'après les courbes de croissance coquillière.

Une décroissance de 0,3‰ des maxima et des minima est visible au cours des cycles successifs. Néanmoins, les minima de croissance symbolisés par les pointillés, coïncident avec des maxima de $\delta^{18}\text{O}$, et les plus fortes croissances avec les plus faibles valeurs de $\delta^{18}\text{O}$. Le signal de $\delta^{13}\text{C}$ décroît lui aussi sur toute la durée de vie de la coquille 100H, de 1,2 à 0‰, et ne présente aucun cycle apparent.

Station 46 (Profondeur 150 m):

Pour les deux coquilles, une décroissance du signal est observée à la fois pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$ au cours de la vie (Fig. III.24). La coquille la plus jeune (150I, classe IV) présente 4 cycles saisonniers de $\delta^{18}\text{O}$ marqués, avec des maxima proches de 2‰ lors de la première année de croissance et 1,65‰ la quatrième année.

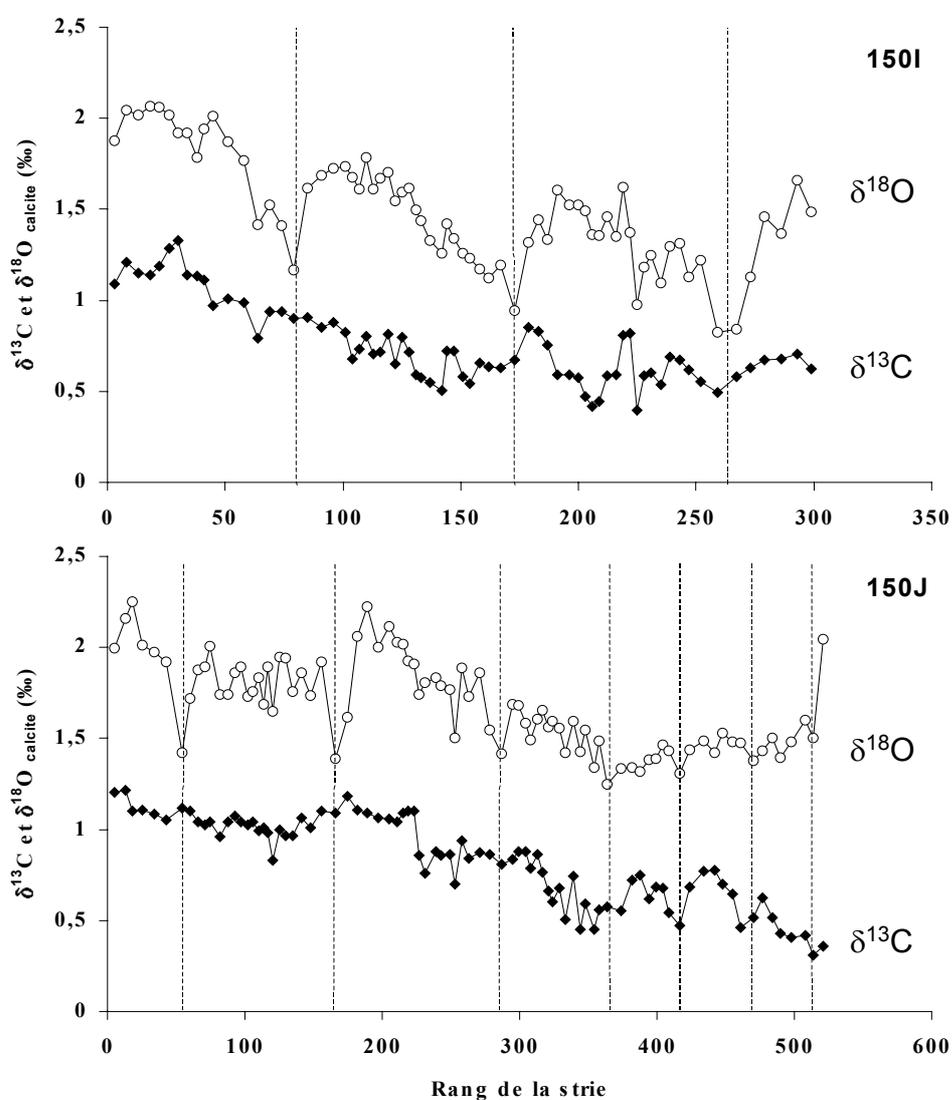


Figure III.24. Composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$, ‰) des coquilles 150I et 150J prélevées à 150 mètres de fond (Station 46). Les pointillés délimitent les cycles annuels d'après les courbes de croissance coquillière.

La coquille de classe VIII (150J) présentent aussi des cycles annuels liés au cycles de croissance, mais de plus en plus atténués au cours du temps, traduisant la diminution du nombre de jours de croissance et de la période d'enregistrement des paramètres environnementaux. L'amplitude du signal est de 1,2 ‰ pour la coquille 150I et de 0,7‰ pour la coquille J. Contrairement aux coquilles prélevées à 100 mètres de fond, les minima de $\delta^{18}\text{O}$ correspondent ici aux minima de croissance, et ce pour les deux coquilles 150I et 150J.

Le $\delta^{13}\text{C}$ de la coquille 150I décroît jusqu'à la strie numéro 142, et se stabilise ensuite à des valeurs proches de 0,6‰. A l'opposé, le $\delta^{13}\text{C}$ de la coquille 150J est stable dans les premières années de sa vie, et diminue dès la 240^{ème} strie déposée pour atteindre des valeurs de 0,4‰.

Station 16 (Profondeur 170 m):

Les deux coquilles de la station 16 (170 m) ne présentent pas de cycles de $\delta^{18}\text{O}$ ou de $\delta^{13}\text{C}$ synchrones avec les cycles de croissance (Fig. III.25). Une diminution des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ est nettement visible de la première à la troisième année de croissance. Les deux coquilles présentent la même amplitude de variation pour le $\delta^{18}\text{O}$ (0,8‰) avec des valeurs de 2‰ lors de la première année de croissance (1996) et de 1,2‰ lors de la troisième année (1998). Le signal de $\delta^{13}\text{C}$ diminue au cours de la vie des deux coquilles en passant de 1,3 à 0,3‰. Les courbes des variations de $\delta^{18}\text{O}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ des deux individus peuvent être superposées dans un même référentiel temporel, puisque les deux coquilles ont été prélevées le même jour (Fig. III.26), toutefois les variations ne peuvent être étudiées dans le détail, leur nombre de jour de croissance étant différent (§1.3.7.1).

La figure III.26 illustre cependant la bonne cohérence du signal isotopique des deux coquilles étudiées, excepté à la fin de la deuxième et au début de la troisième année de croissance où la coquille 170E présente des compositions isotopiques en carbone et en oxygène très enrichies en isotope lourd. D'une manière générale, la coquille 170E a des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ et de $\delta^{13}\text{C}$ supérieures à celles de la coquille 170D.

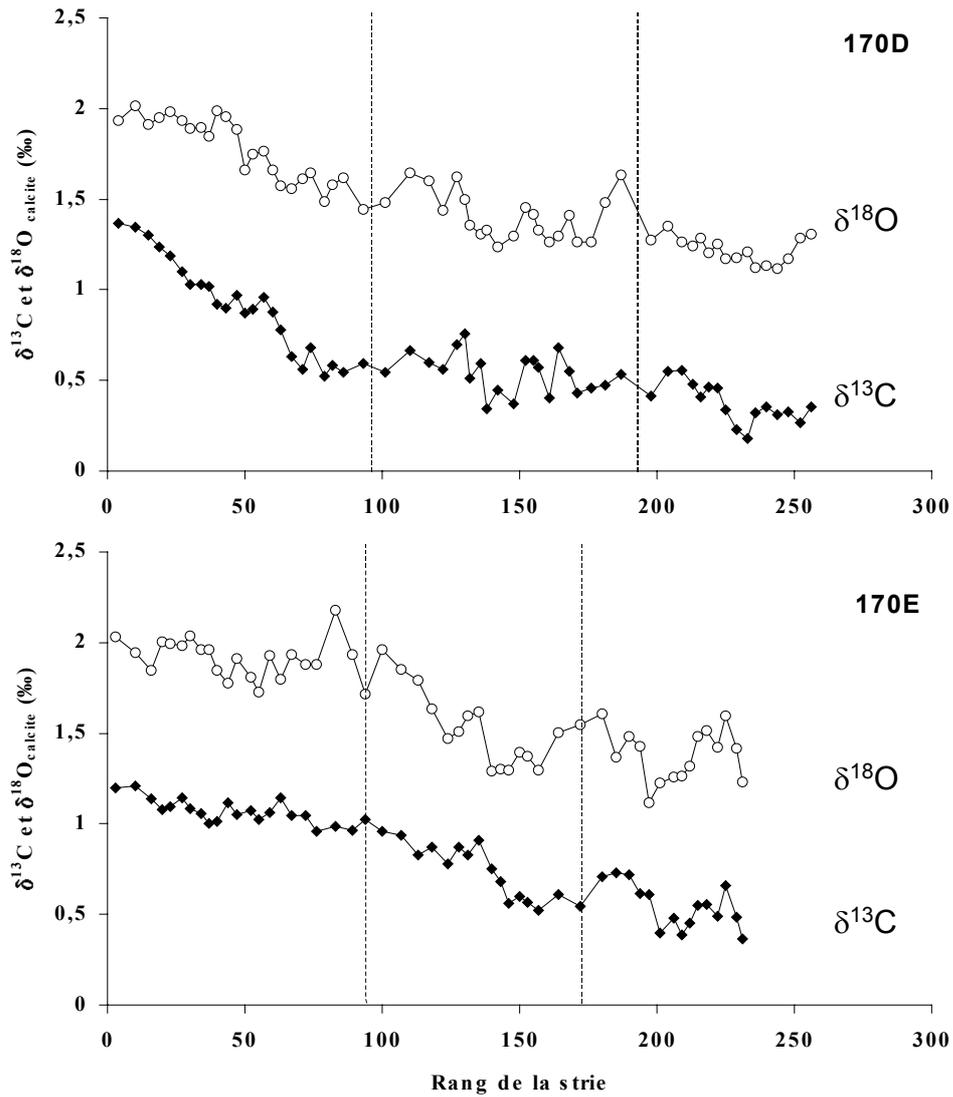


Figure III.25. Composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$, ‰) des coquilles 170D et 170E prélevées à 170 mètres de fond (Station 16).

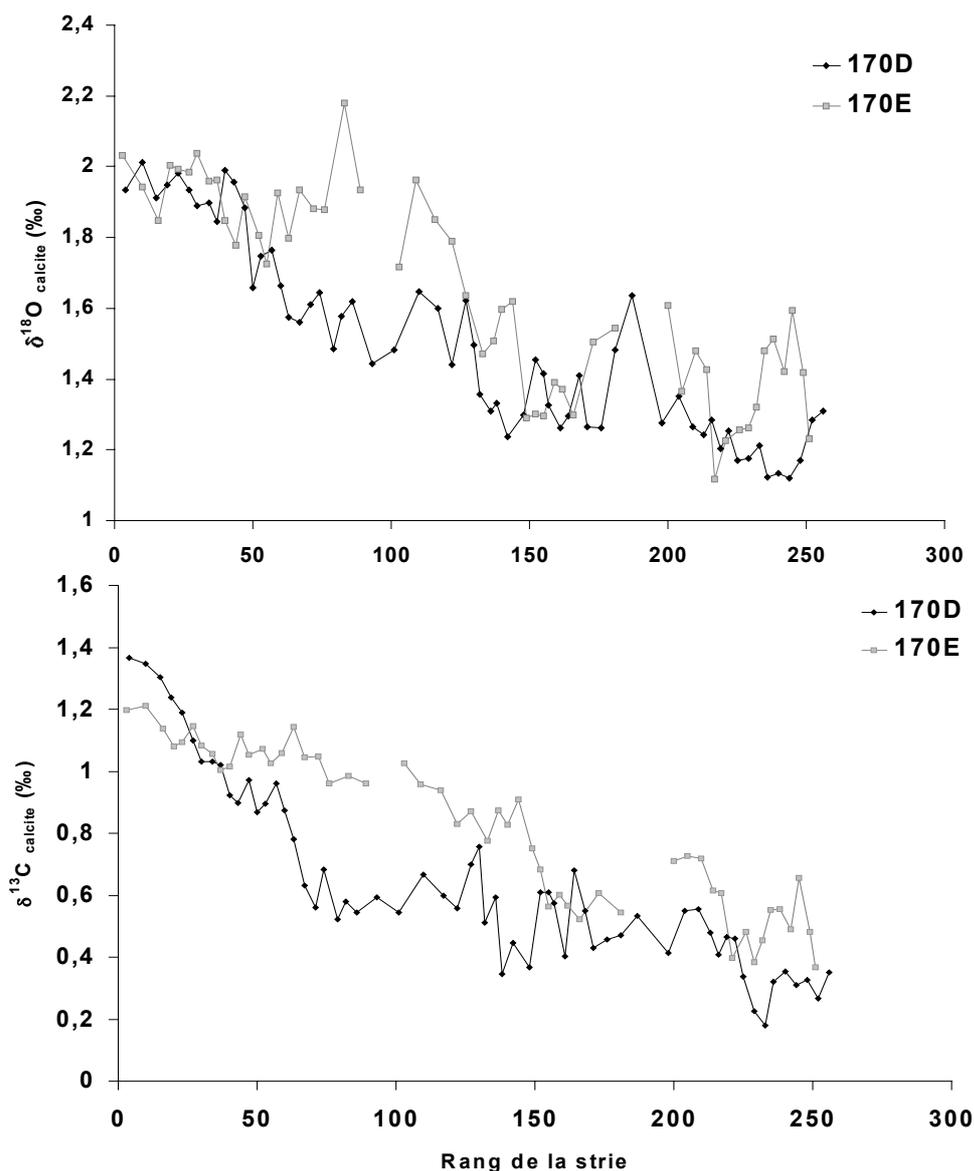


Figure III.26. Variations interindividuelles de la composition isotopique ($\delta^{18}\text{O}$ et $\delta^{13}\text{C}$, ‰) des deux individus de classe III de la station 16 (170D et 170E). Le positionnement des courbes est opéré en tenant compte des profils de croissance respectifs (voir figure III.22)

Relation $\delta^{18}\text{O}/\delta^{13}\text{C}$:

La figure III.27 met en évidence l'existence d'une relation linéaire entre le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles pour les trois stations étudiées ($p < 0,0001$). Cependant, on peut noter que l'intensité de cette relation est croissante de la station la moins profonde (100 m) à la station la plus profonde (170 m).

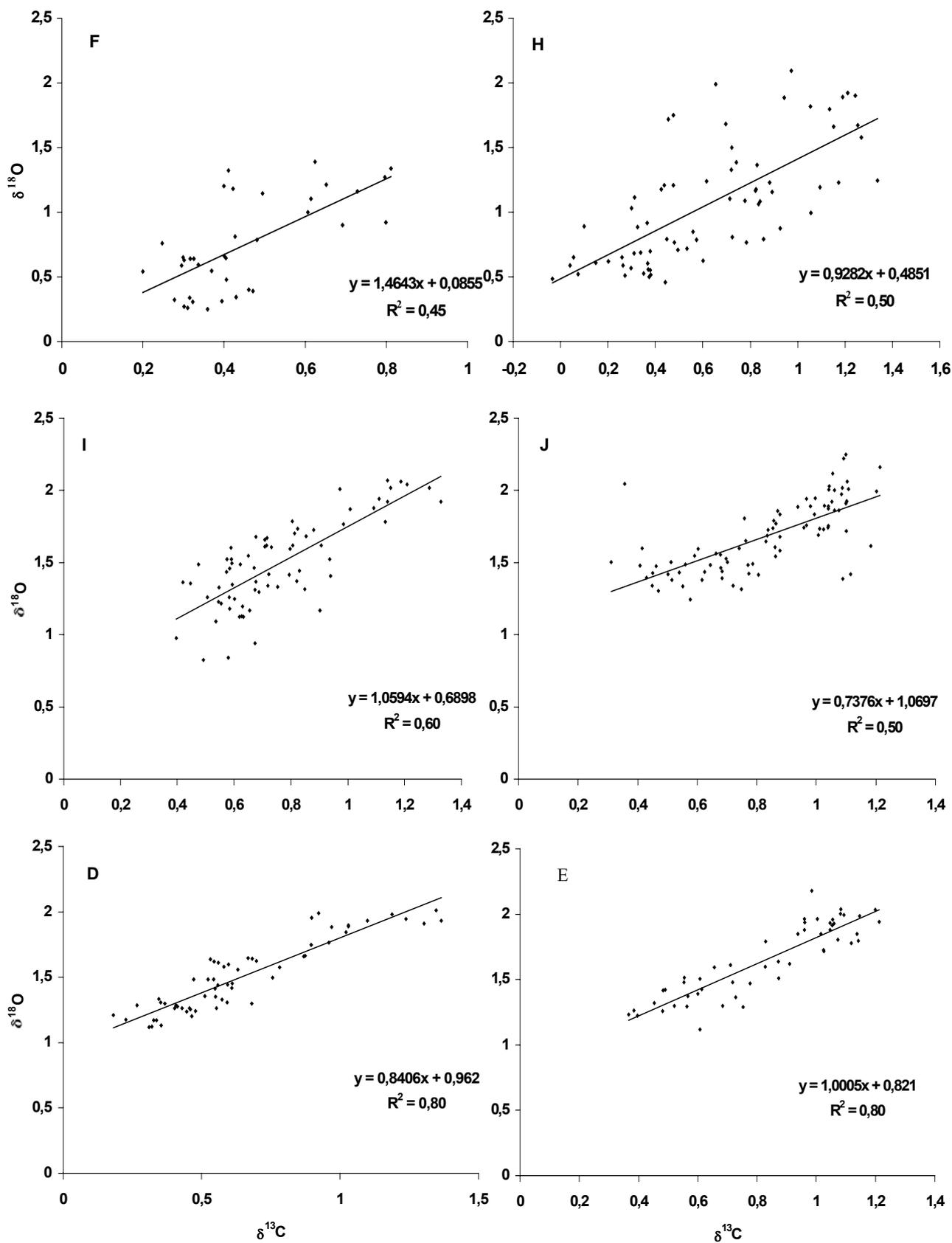


Figure III.27. Relations entre le $\delta^{18}\text{O}$ et le $\delta^{13}\text{C}$ (‰) des coquilles du plateau continental : 100F et 100H (100 m), 150I et 150J (150 m) et 170D et 170E (170 m).

1.2.7.3 Estimation de la température

D'après l'équation de paléo-température établie au paragraphe 1.3.4, et en fixant la salinité à 35,5 (soit $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}} = 0,444$), une température a pu être affiliée à chaque valeur de $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques.

A 100 mètres de fond:

La température oscille globalement entre 8,0 et 15,0°C d'après la figure III.28. Cependant, d'après la coquille 100H, une augmentation des maxima de 1,1°C est observée entre 1995 et 1996 et de 0,2°C entre 1996 et 1997. La température aurait donc augmenté de 1,3°C sur les trois années de vie de la coquille, de 12,9 à 14,2°C. La coquille 100F enregistre des maxima (15,0°C) de 0,8°C supérieurs à ceux de la coquille 100H en 1997 (14,2°C). Une différence est également observée, en ce qui concerne les minima de température (10,4°C et 8,9°C pour la coquille 100F et 100H, respectivement).

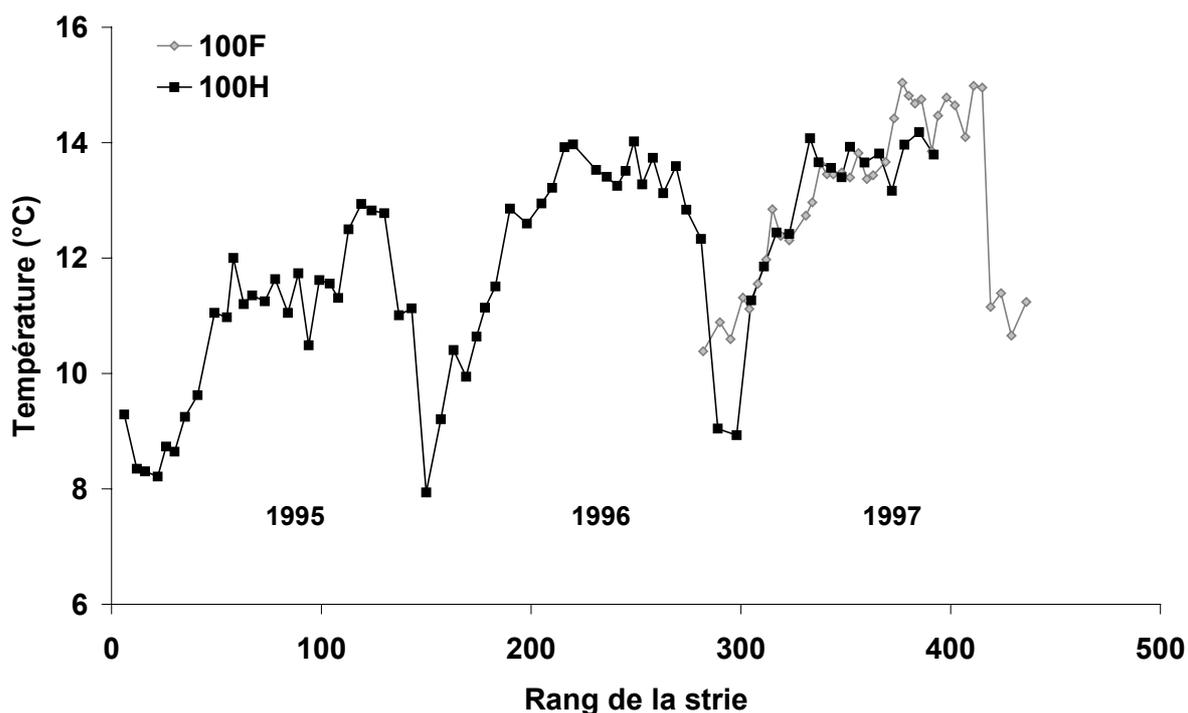


Figure III.28. Estimation de la température (°C) d'après le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles F et H (100 m).

A 150 mètres de fond:

La température oscille entre 7,2 et 11,3 d'après la coquille J et entre 8,0 et 13,0°C d'après la coquille 150I (Fig. III.29). Comme pour la station 3, les maxima et les minima enregistrés augmentent au cours du temps, de façon plus marquée pour la coquille 150J, avec

une augmentation de 1°C entre la première et la deuxième année de croissance, et de 0,5° entre la deuxième et la troisième. L'amplitude de variation de la température est cependant plus faible qu'à 100 mètres, avec seulement 5° d'amplitude.

A 170 mètres de fond:

L'amplitude de température est de 4,3°C avec des minima de 8,0°C et des maxima de 11,8°C. Les deux coquilles enregistrent un signal de température similaire (Fig. III.30). Aucun cycle saisonnier n'est observé. Une augmentation générale de la température est observée avec le vieillissement des coquilles, avec 1°C d'augmentation entre la première et la deuxième année de croissance, et 0,5° entre la deuxième et la troisième année de croissance.

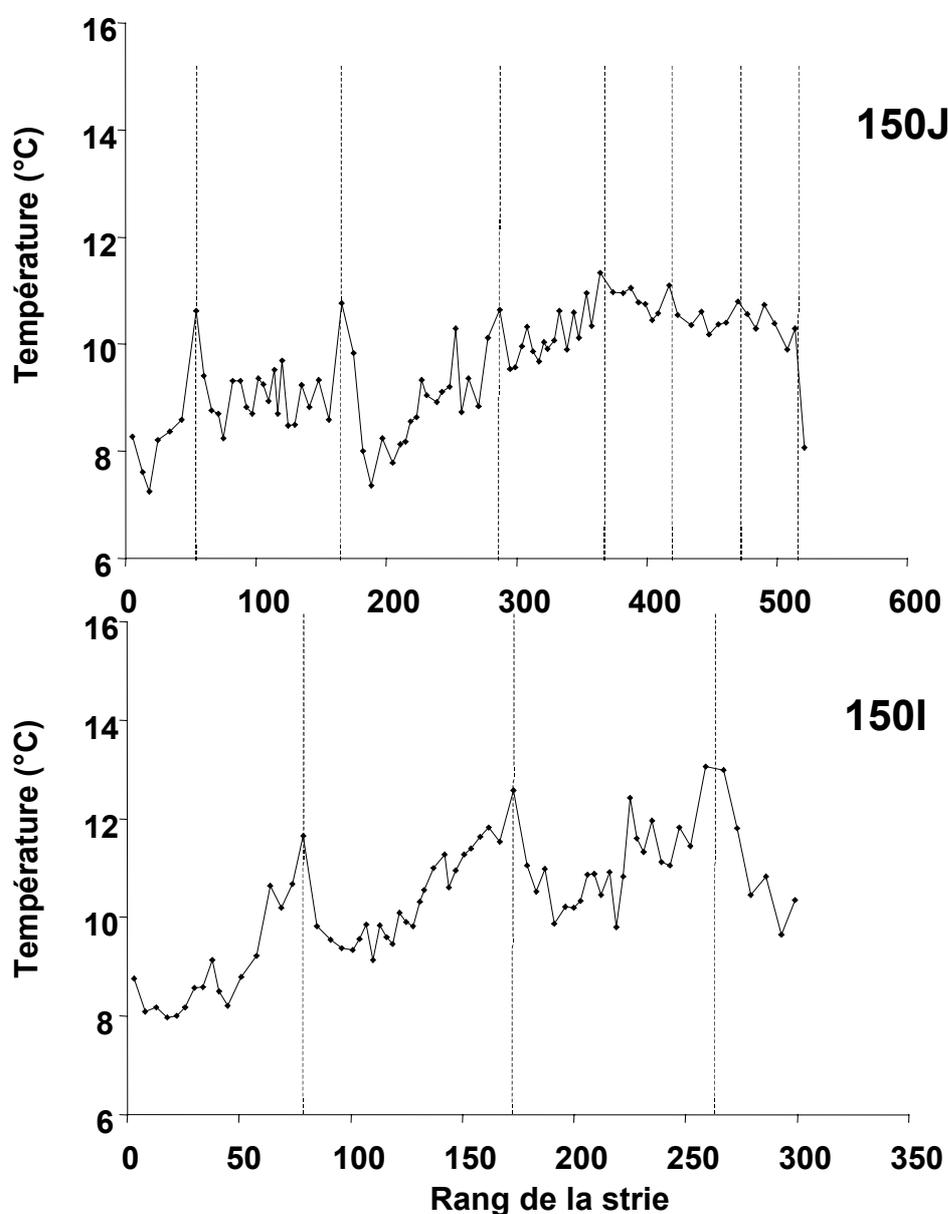


Figure III.29. Estimation de la température (°C) d'après le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles 150I et 150J (150 m).

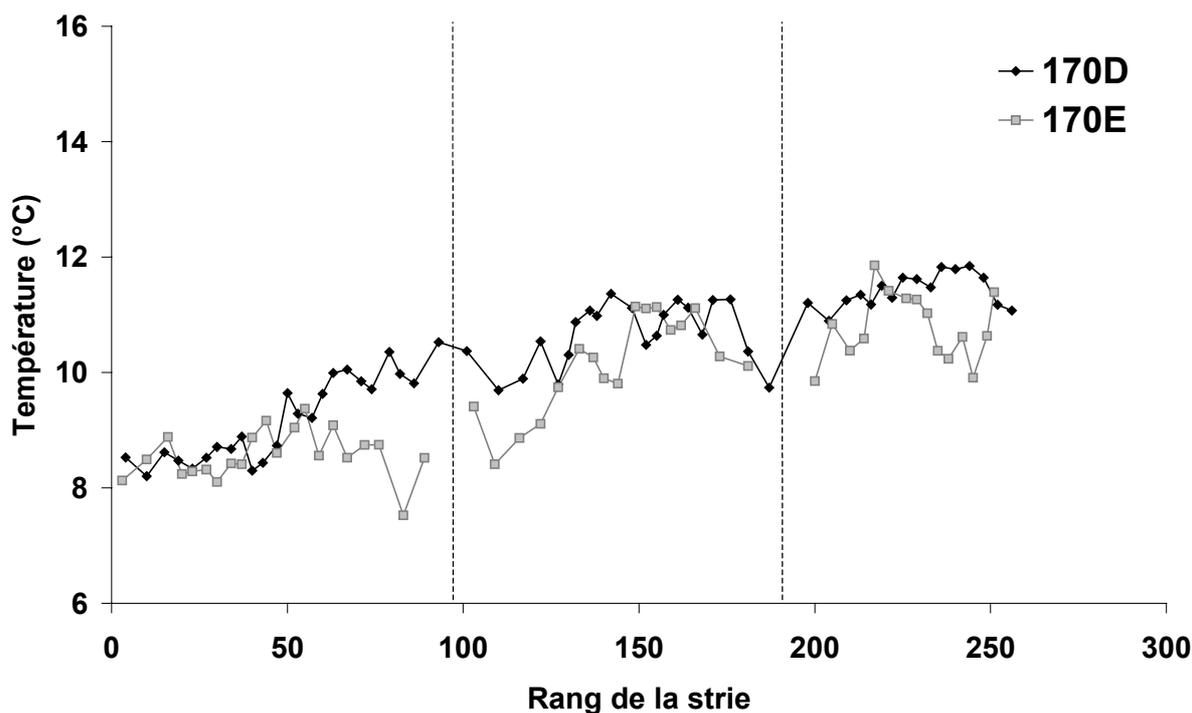


Figure III.30. Estimation de la température (°C) d'après le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles 170D et 170E (170 m).

1.3 Discussion

1.3.1 Relation $\delta^{18}\text{O}$ -température en rade de Brest

1.3.1.1 Estimation de la température

L'équation de paléo-température empirique calculée pour la rade de Brest, et appliquée à trois coquilles nées en 1999, permet de retracer le cycle saisonnier de la température durant l'année 2000. Toutefois, les valeurs absolues obtenues sont plus ou moins écartées de la température mesurée, avec un écart absolu moyen de 0,6°C lorsque les variations de salinité sont prises en compte et de 0,7°C si on considère une salinité fixe moyenne (34,5) correspondant à un $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer de 0,275‰.

Plusieurs sources d'erreurs dans l'élaboration et dans l'utilisation de l'équation empirique peuvent expliquer ces différences.

- De par le mode de prélèvement des échantillons de calcite sur la coquille (Fig. III.1), le $\delta^{18}\text{O}$ mesuré, et ainsi la température prédite résultante, représente une valeur moyenne sur un ou trois jours en période de forte croissance, et de cinq à six jours en période hivernale. S'il est probable que la température fournie par la détermination du $\delta^{18}\text{O}$, soit assimilable à une

température moyenne sur la période considérée, il ne faut pas négliger une altération éventuelle de l'information liée à une calcification discontinue dans le temps, donc à un enregistrement discontinu de la température. Une telle discontinuité à l'échelle du jour est décrite chez les espèces intertidales (Rhoads & Lutz, 1980), à notre connaissance, elle n'a pas été étudiée chez les espèces infralittorales.

- Nos mesures *in situ* de température et de salinité au cours de l'année 2000, sont effectuées à heure fixe (PM \pm 2h), et le suivi sur un cycle de marée (voir Partie I) indique que des variations de 0,4 unités peuvent avoir lieu aussi bien pour la salinité que pour la température. Or des variations de salinité de 0,5 entraînent des variations de la température estimée de 0,3°C. Ainsi, si l'on cumule les erreurs dues aux mesures discrètes de la salinité et de la température et la précision de la mesure de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$, nous pouvons très simplement expliquer que la température ne soit prédite qu'avec une précision pouvant aller jusqu'à 0,7°C.

- D'autre part, on peut supposer que certaines erreurs proviennent de l'équation reliant la salinité au $\delta^{18}\text{O}$ qui n'a été établie qu'une seule fois, au mois de mars. En effet, la valeur du $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer dépend aussi de celle des eaux continentales, variable selon les saisons, et on peut supposer que l'équation puisse différer entre les mois estivaux et les mois hivernaux. Ainsi, une meilleure calibration serait possible en mesurant au cours de l'année sur le site de Roscanvel, les variations de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$, ou tout du moins, en établissant une relation $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau}}$ /salinité à différentes périodes de l'année.

1.3.1.2 Variations interindividuelles

Si l'amélioration de l'équation empirique de paléo-température par une mesure plus pertinente des paramètres environnementaux contribuait à prédire plus justement la température lors de la précipitation calcitique, elle ne pourrait résorber les variations interindividuelles mises en évidence dans cette étude. En effet, un biais dans la prédiction des températures, différent selon les coquilles analysées, est observé : la coquille A donne en moyenne des températures inférieures de 0,6°C à celles observées, et les coquilles B et C de 0,6 et 0,3°C respectivement, supérieures aux températures observées. Ces résultats montrent que la biominéralisation est un processus dépendant de la biologie des organismes, puisqu'une précipitation strictement minérale conduirait à des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ identiques, quel que soit l'individu considéré.

Ces différences au niveau de la biologie des trois individus échantillonnés pourraient être reflétées par des différences de croissance journalière. La coquille A présente en

moyenne des températures inférieures à la température observée, c'est à dire des $\delta^{18}\text{O}$ supérieurs à ceux des autres coquilles. Si l'on assimile l'intensité de la croissance à celle du métabolisme, cette coquille présentant la croissance moyenne la plus élevée des trois individus étudiés, elle aurait un métabolisme plus important. Un fort métabolisme induirait alors un enrichissement en isotope lourd (^{18}O). Cependant, si l'on regarde la croissance et les valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ à l'échelle saisonnière, la coquille A présente les plus fortes déviations par rapport à la température observée au mois de juillet et au mois d'août, alors que ces déviations sont visibles au mois mai et juin pour la coquille B. La figure III.31 montre que si la croissance de ces coquilles diffère effectivement au début de l'année (mars-avril-mai), elle est comparable au mois de juillet et au mois d'août, ne pouvant expliquer les fortes valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ observées chez la coquille A. Les différences de $\delta^{18}\text{O}$ entre les coquilles ne peuvent donc être expliquées simplement par les variations de la croissance journalière.

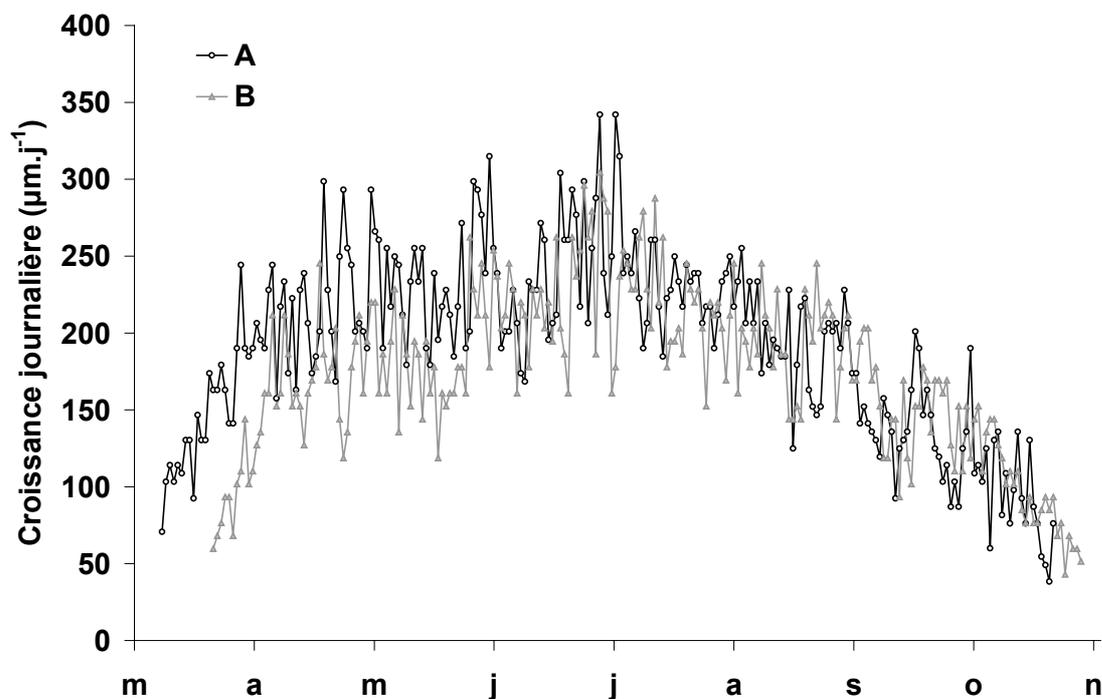


Figure III.31. Croissance journalière ($\mu\text{m.j}^{-1}$) des coquilles A (courbe noire) et B (courbe grise) durant l'année 2000.

Les différences observées dépendent vraisemblablement de processus biologiques complexes, difficilement décelables à ce niveau. Ainsi, la variabilité interindividuelle de l'incorporation des isotopes de l'oxygène, mise en évidence sur les trois coquilles de la rade de Brest, nous conduit à conseiller l'utilisation d'un minimum de deux ou trois coquilles pour estimer la température avec plus de fiabilité. Malgré cette variabilité interindividuelle, l'application de notre équation empirique à trois coquilles de la rade de Brest démontre que le

$\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques est contrôlé majoritairement par la température et le $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau environnante, et son application est un bon traceur des variations de température en rade de Brest. Dans le cadre de reconstruction de paléo-températures, où une valeur fixe de $\delta^{18}\text{O}_{\text{eau de mer}}$ est intégrée dans l'équation empirique, la température sera prédite à plus ou moins $0,7^\circ\text{C}$ si trois coquilles sont utilisées et à plus ou moins $0,9^\circ\text{C}$ si une seule coquille est prise en compte (écart maximum correspondant à la coquille B).

1.3.1.3 Comparaison avec l'équation de précipitation inorganique de Kim & O'Neil (1997)

D'après de nombreux auteurs, la précipitation de calcite pourra être considérée en équilibre isotopique, si la valeur du $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ des coquilles de bivalves est identique à celle de la calcite inorganique précipitée dans le même environnement (Wefer & Berger, 1991). L'application de l'équation de précipitation inorganique de Kim & O'Neil (1997) montre que les valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ de *Pecten maximus* sont enrichies de $0,3 \pm 0,2\%$, en moyenne, par rapport au $\delta^{18}\text{O}$ prédit dans la calcite (Fig. III.32), la coquille B étant toutefois enrichie de seulement $0,1\%$. Si l'on compare notre équation empirique et celle de Kim & O'Neil ($1000\ln\alpha = 18,03 (10^3 \text{ T}^{-1}) - 32,42$, avec T en Kelvin), pour une même température, les facteurs de fractionnement $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite-eau}}$ sont différents (Fig. III.33). De nombreuses études expliquent les écarts comme des déviations à l'équilibre en raison d'effets cinétiques et/ou métaboliques (Hickson *et al.*, 1999 ; Surge *et al.*, 2001 ; Owen *et al.*, 2002b). Les effets cinétiques induisent un appauvrissement en isotope lourd lors des fortes croissances coquillières et sont généralement décelés par une corrélation linéaire entre les variations de $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$. Etant donné que nous observons un enrichissement et non un appauvrissement en isotope lourd, ce phénomène ne peut expliquer les déviations à l'équilibre observées dans cette étude.

Selon des études récentes (Spero *et al.*, 1997 ; Zeebe, 1999), ce facteur de fractionnement serait non seulement dépendant de la température mais aussi du pH au moment de la précipitation du squelette carbonaté. C'est à dire que de multiples fractionnements à l'équilibre (α) peuvent être calculés pour une même température mais des pH différents (Zeebe, 1999). Ainsi, des différences de pH lors de la précipitation pourraient expliquer les différences de pente observées entre notre équation empirique et l'équation de précipitation inorganique de Kim & O'Neil (1997). En particulier, une augmentation de pH entraînerait une diminution du $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles et ainsi une apparente augmentation de la

température (Zeebe, 1999). Selon le même auteur, l'équation proposée par Kim & O'Neil (1997), correspondrait à un pH de 7,8.

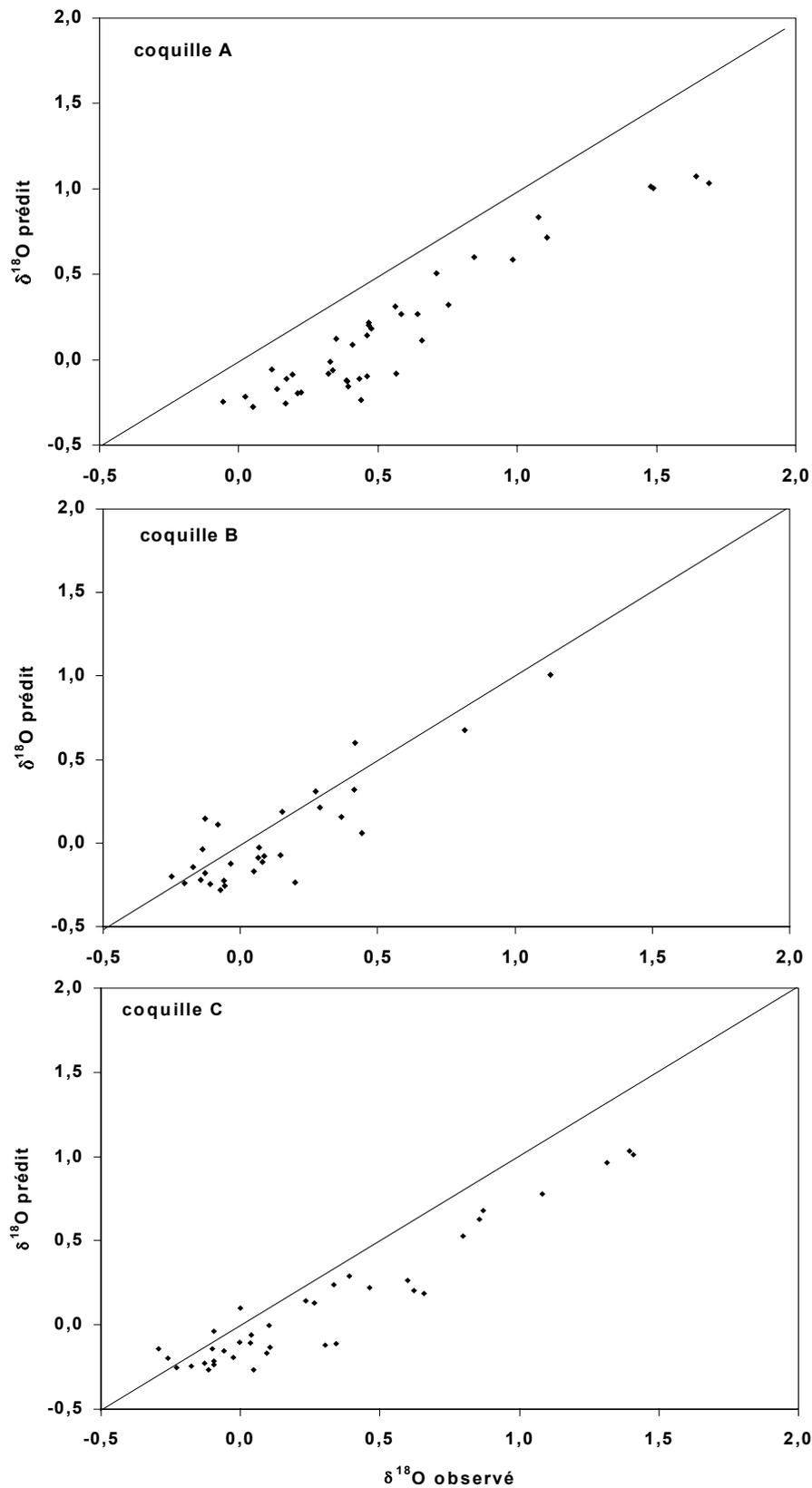


Figure III.32. Valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ prédites d'après Kim & O'Neil en fonction des valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ observées chez *Pecten maximus* (‰) pour l'année 2000.

Une augmentation de pH de l'ordre de 0,2-0,3 unités, entraîne une diminution des valeurs de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ de 0,22 à 0,33‰ (Zeebe, 1999). Ainsi si la précipitation en rade Brest avait lieu à un pH proche de 7,6 nous pourrions expliquer les différences moyennes observées. Si le pH de l'eau de mer dans cette étude n'a pas été calculé, sa valeur moyenne mesurée en rade de Brest est proche de 8 (Clavier, com.pers.). Ces différences ne semblent donc pas pouvoir expliquer les écarts avec l'équation de Kim & O'Neil.

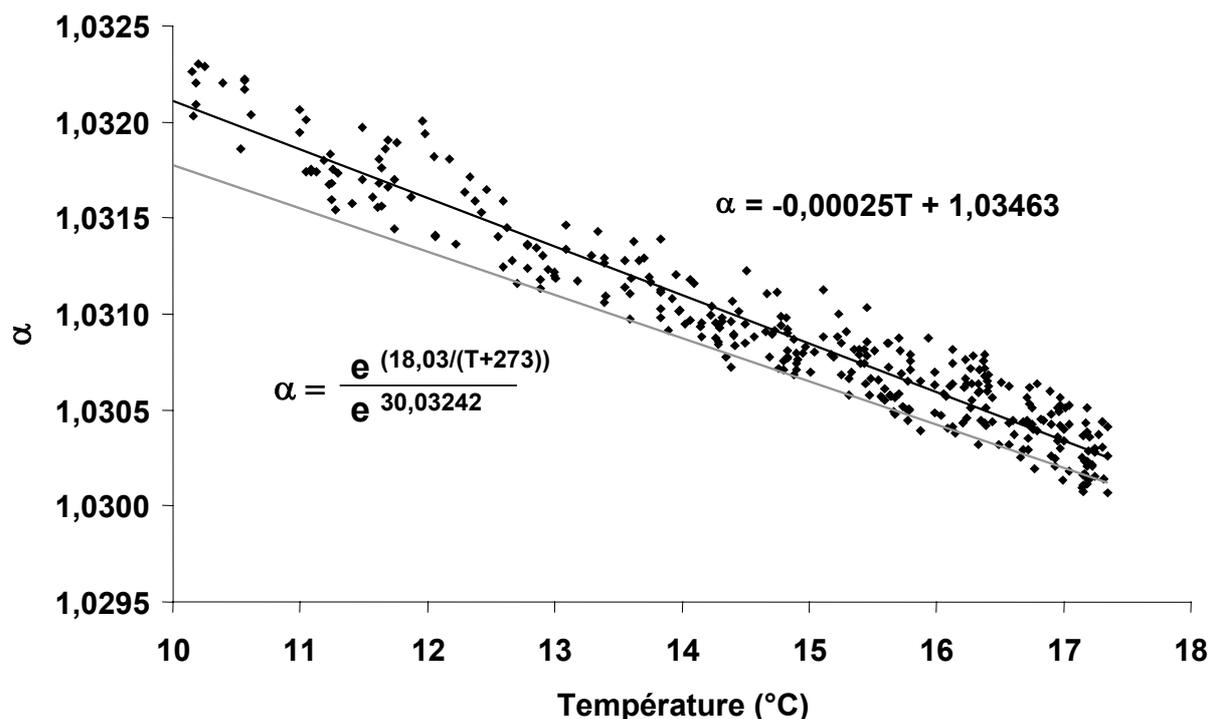


Figure III.33. Facteurs de fractionnement isotopique pour l'oxygène entre la calcite et l'eau d'après Chauvaud *et al.* (en préparation, en noir), et d'après Kim & O'Neil (1997, en gris).

Etant données les variations inter-individuelles observées, il semble plus réaliste de rechercher à l'échelon des processus individuels, plutôt que dans le milieu environnant, l'origine des déviations observées (cf. §1.4.1.2) Ainsi, en conservant l'hypothèse d'une influence du pH, nous pouvons supposer que les différences interindividuelles observées résulteraient plutôt de différences dans la valeur de pH du fluide extra palléal, où s'effectue la précipitation calcitique, dépendant du métabolisme individuel de ces coquilles Saint-Jacques. Seule une analyse chimique de ce compartiment permettrait de révéler de telles différences.

1.3.2 Relation $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}-\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$

1.3.2.1 Evolution saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$

Les variations saisonnières de la composition isotopique du carbone inorganique dissous des eaux littorales sont expliquées par l'action combinée de la photosynthèse, de la respiration, des apports par les rivières et de la diffusion des gaz (Hellings *et al.*, 1999 ; Hellings *et al.*, 2001). La contribution du carbone inorganique dérivé de la respiration autochtone et de la décomposition de la matière organique peut entraîner une forte diminution du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous. La matière organique particulaire qui atteint le sédiment est particulièrement enrichie en ^{12}C , et son oxydation provoque un enrichissement en ^{12}C des espèces de carbone dissous à l'interface eau-sédiment et dans les espaces interstitiels des premiers centimètres du sédiment (Keller *et al.*, 2002). Le CO_2 issu de la respiration des hétérotrophes dérive de la matière organique assimilée et possède donc une signature très enrichie en ^{12}C (Michener & Schell, 1994). Enfin, le CID des rivières possède une signature fortement appauvrie en ^{13}C (Hellings *et al.*, 2000 ; Savoye, 2001). A l'opposé, une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ du CID est observée durant les blooms, en raison de la fixation préférentielle de ^{12}C par le phytoplancton. Le cycle annuel du $\delta^{13}\text{C}$ du CID, en rade de Brest semble refléter ces différentes influences. Des pics de $\delta^{13}\text{C}$ du CID sont associés aux pics de chlorophylle *a* au cours de la période productive (Fig. III.34) et la dominance de la photosynthèse durant cette période explique les fortes valeurs printanières et estivales. Certains pics de $\delta^{13}\text{C}$ du CID ne correspondent cependant pas à des variations de chlorophylle *a*. A la fin de l'été, le CID s'enrichit en ^{12}C probablement en raison de l'action conjuguée de la dégradation de la matière organique, de la respiration des organismes benthiques et de l'augmentation des débits des rivières (Fig. III.35). Leur contribution sur le cycle du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ augmenterait progressivement avec la diminution de la fixation autotrophe de carbone jusqu'à un seuil maximal en hiver.

Ainsi, en rade de Brest, le cycle annuel de la composition isotopique du carbone inorganique dissous trouverait l'essentiel de son explication dans la saisonnalité de processus biologiques (photosynthèse vs respiration) et de processus météorologiques (débit des rivières). A plus haute fréquence, la succession rapide des efflorescences printanières imprime également sa marque dans la composition isotopique du CID. Ainsi, si les variations du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques reflétaient celles du $\delta^{13}\text{C}$ du CID, alors un moyen fiable de reconstituer la productivité primaire des écosystèmes côtiers serait disponible.

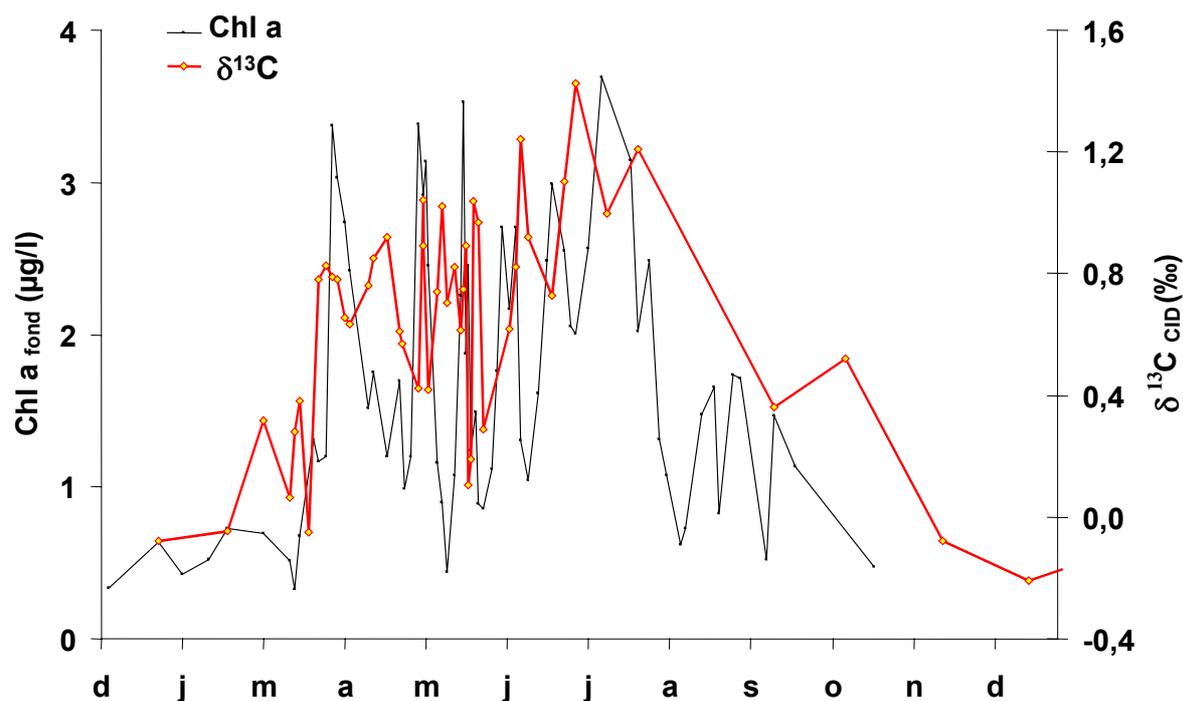


Figure III.34. Variations du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (‰) et de la chlorophylle a ($\mu\text{g.l}^{-1}$) à un mètre du sédiment à Roscanvel pendant l'année 2000.

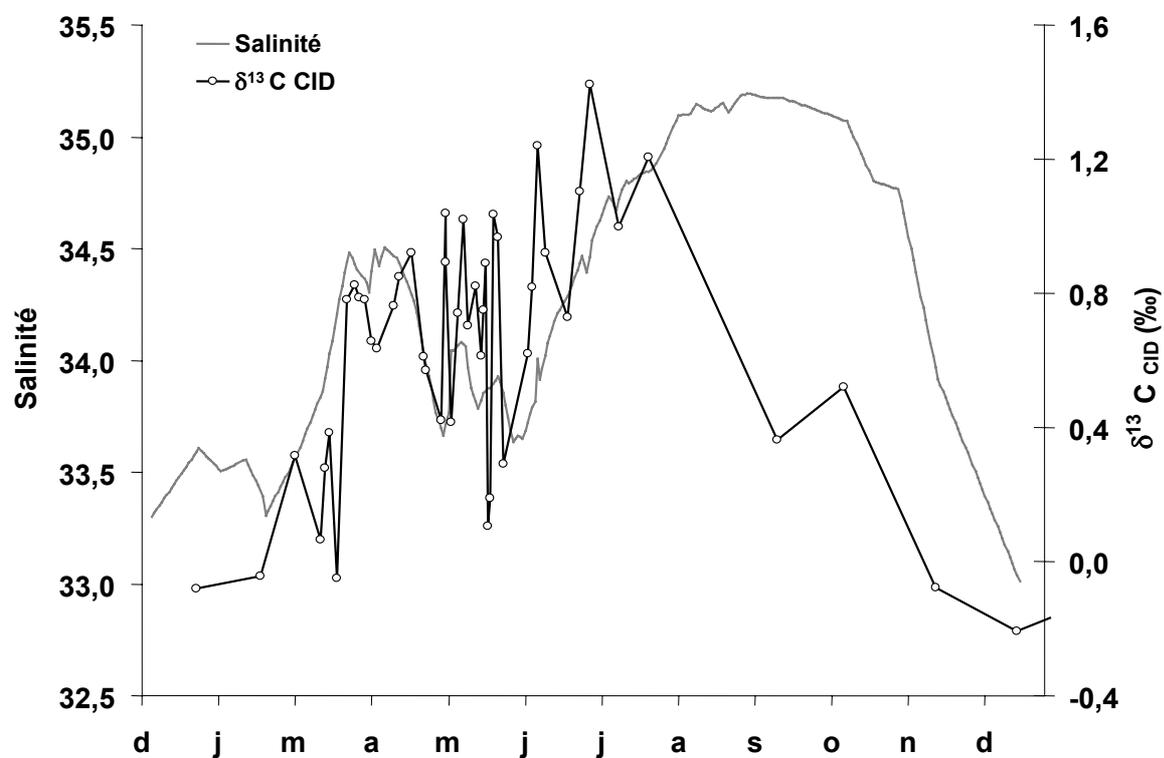


Figure III.35. Variations du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous (‰) et de la salinité à un mètre du sédiment à Roscanvel pendant l'année 2000.

1.3.2.2 Evolution saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$

Le carbone inorganique dissous est sensé être une source majeure de carbone pour le squelette carbonaté. Cependant les variations du $\delta^{13}\text{C}$ coquillier observées dans cette étude ne correspondent pas aux variations du $\delta^{13}\text{C}$ du CID, leurs variations saisonnières étant fortement découplées (Fig. III.18). Si certains pics de $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite sont associés à des pics de $\delta^{13}\text{C}$ du CID, ce phénomène ne peut en aucun cas être généralisé et nous pouvons affirmer que le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles n'est pas un bon indicateur des variations de la production primaire pélagique.

Le $\delta^{13}\text{C}$ du CID augmente jusqu'au mois de juin pour ensuite retrouver progressivement des valeurs hivernales, alors que le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles décroît continuellement du mois d'avril au mois de novembre. Si l'on observe la relation entre les écarts de composition isotopique de la calcite et du CID, un schéma saisonnier identique pour les trois coquilles apparaît (Fig. III.19). L'écart entre les deux compositions isotopiques augmente progressivement du mois d'avril au mois de juillet (de 0 à 1,2 ‰ en moyenne), puis diminue mais de façon moins prononcée jusqu'au mois de novembre, cet écart étant toujours important à la fin de l'année (0,4‰ en moyenne). Deux explications alternatives peuvent être proposées :

- i) Le signal observé est dépendant de la composition isotopique du CID et tout écart représenterait alors la contribution d'une autre source de carbone***
- ii) La décroissance du signal est strictement sous le contrôle de processus biologiques***

i) Sous l'hypothèse d'une forte contrainte environnementale sur la composition isotopique du squelette carbonaté des coquilles Saint-Jacques, la composition isotopique du carbone des coquilles devrait refléter celle du CID, et tout écart (représenté sur la figure III.19) représenterait alors la contribution d'une autre source de carbone.

D'une manière générale, la calcite est appauvrie en ^{13}C par rapport au CID. La source la plus probable de carbone plus négatif en $\delta^{13}\text{C}$ que le CID est le CO_2 métabolique, qui chez les organismes non-photosynthétiques, dérive principalement de la nourriture (Michener & Schell, 1994). Ainsi, une augmentation de la contribution de carbone métabolique issu de la respiration entraîne une dilution du carbone issu du CID. Etant donné que ce carbone

métabolique est très fortement enrichi en ^{12}C ($\delta^{13}\text{C}$ négatif), une très faible proportion suffit à modifier le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite. En conséquence, si du CO_2 métabolique est incorporé durant la biominéralisation, le déséquilibre résultant devrait suivre les variations saisonnières de l'activité métabolique. Les plus grandes déviations de composition isotopique entre la calcite et le CID sont observées à la fin du mois de juin ou au début du mois de juillet alors que la croissance coquillière est maximale (Fig.III.36). Selon Lewis & Cerrato (1997), la croissance coquillière est un très bon proxy de l'activité métabolique car elle est corrélée au taux de respiration chez *Mya arenaria*. Ainsi, le métabolisme augmenterait du mois d'avril au mois de juillet, entraînant une augmentation de la contribution de carbone métabolique dans le fluide extrapalléal et ainsi un enrichissement en ^{12}C de la calcite, par rapport au CID. La contribution de ce CO_2 métabolique diminue ensuite progressivement avec la diminution de la croissance coquillière. Cependant, si une corrélation linéaire existe entre la croissance journalière et les écarts de composition isotopique de la calcite et du CID, cette relation est très faible. De plus, la figure III.36 montre que ces écarts s'articulent autour d'un axe central (juillet) et ne se répartissent pas symétriquement ; ainsi pour une valeur comparable de la croissance, les écarts sont plus élevés dans la deuxième partie de l'année. Encore une fois, la croissance journalière ne semble pas un indice suffisant du métabolisme respiratoire.

La période fin juin-début juillet correspond à une date clé du métabolisme chez les adultes de la coquille Saint-Jacques (Saout, 2000 ; cette étude, Partie II, chapitre 2, paragraphe 2.5.4). En effet, du mois de mars à la fin du mois de juin, la priorité est à la reproduction, et passe ensuite à une phase d'accumulation de réserves dans le muscle et la glande digestive (Juin à Octobre). Cette date charnière correspond ainsi à un profond changement dans les priorités d'allocation d'énergie chez la coquille Saint-Jacques. Si ce phénomène n'a jamais été mesuré sur des individus de classe I, il est probable que ces juvéniles aient besoin d'accumuler des réserves avant la période hivernale et qu'un virage métabolique ait lieu à la même période. Les deux périodes de l'année articulées autour du mois de juillet seraient donc caractérisées par des métabolismes différents.

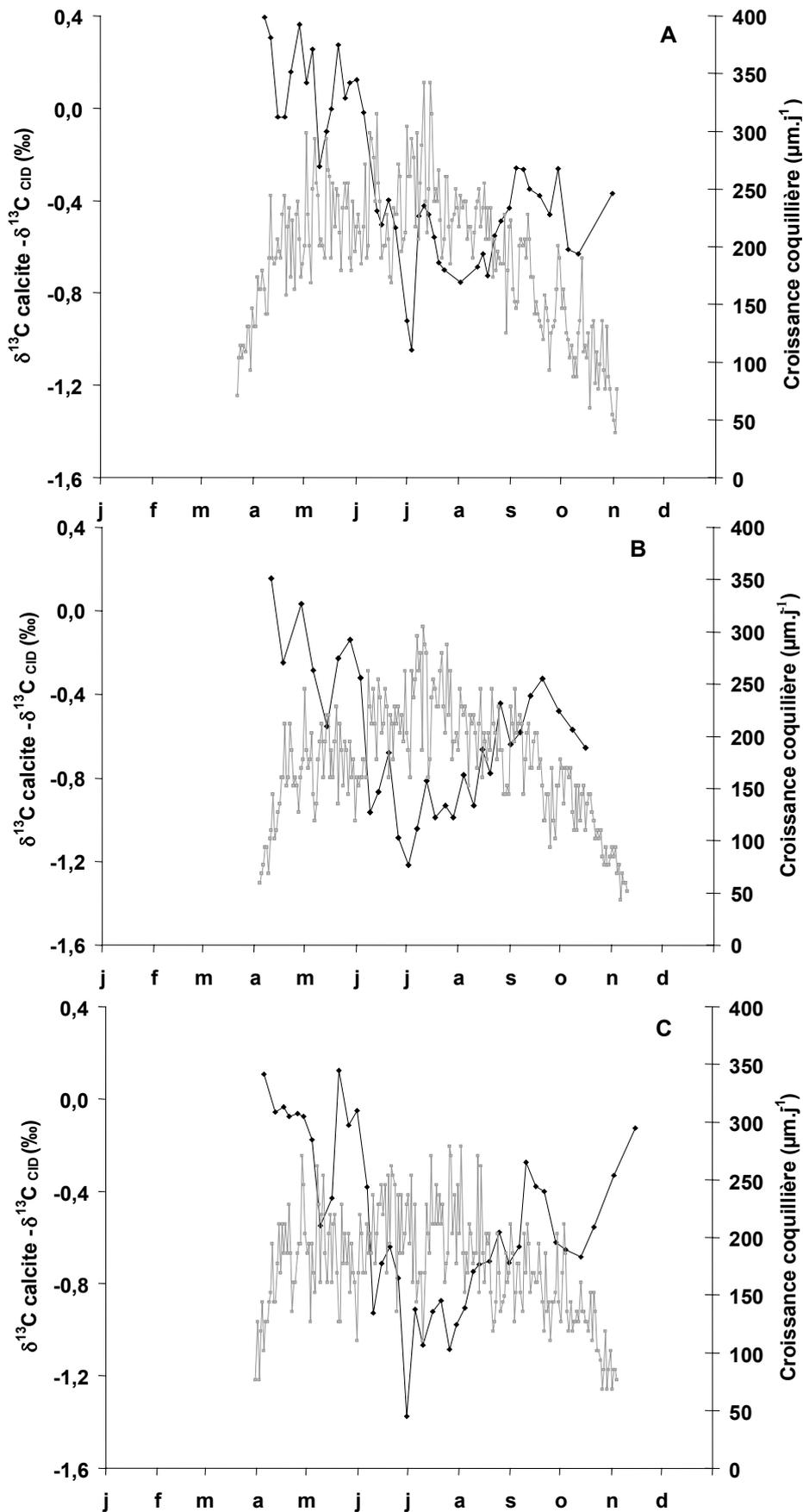


Figure III.36. Variations des écarts de composition isotopique entre la calcite et le CID (‰) au cours de l'année 2000 et croissance coquillière journalière des coquilles Saint-Jacques A, B et C ($\mu\text{m.j}^{-1}$).

Une autre manière d'aborder l'influence du métabolisme sur la composition isotopique est proposée par Tanaka *et al.* (1986). Pour évaluer la part du carbone dérivée du "CO₂ métabolique" (M), par opposition à celle issue du carbone inorganique dissous de l'eau de mer (1-M), ils proposent une équation simple :

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}} = (\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}} + \varepsilon_{\text{cl-b}}) \times (1-M/100) + (\delta^{13}\text{C}_{\text{méta}} + \varepsilon_{\text{cl-CO}_2}) \times M/100$$

soit,

$$M = 100 \times \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}} + \varepsilon_{\text{cl-b}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}}{\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}} + \varepsilon_{\text{cl-b}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{méta}} - \varepsilon_{\text{cl-CO}_2}}$$

où $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ et $\delta^{13}\text{C}_{\text{méta}}$ sont les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous dans l'eau de mer et du CO₂ dérivé du métabolisme de l'individu, $\varepsilon_{\text{cl-b}}$ est le facteur de fractionnement entre la calcite et les ions bicarbonates (‰, d'après Romanek *et al.*, 1992), et $\varepsilon_{\text{cl-CO}_2}$ le facteur de fractionnement entre la calcite et le CO₂ dissous ($\varepsilon_{\text{cl-CO}_2} = 11,98 - 0,12 \times T^{\circ}\text{C}$, d'après Romanek *et al.*, 1992). La valeur de $\delta^{13}\text{C}_{\text{méta}}$ ne peut pas être calculée directement et Tanaka *et al.* (1986) considèrent que la valeur de $\delta^{13}\text{C}$ des tissus de *Mytilus edulis* est une bonne approximation. La valeur moyenne du muscle de *P. maximus* a été utilisée pour ce calcul étant donné que la composition isotopique du muscle est relativement stable sur l'année (-15,3‰, Partie II.2, §2.4.2.3). Les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ du CID, du $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$ et de $\varepsilon_{\text{cl-CO}_2}$ ont été prises en compte.

Cette équation permet d'évaluer l'évolution saisonnière de la part du métabolisme dans le carbone incorporé pour l'élaboration du squelette calcitique (Fig. III. 37). Les valeurs de M oscilleraient entre 10 et 31%, avec une moyenne de 19, 23 et 22% pour les coquilles A, B et C, respectivement. Le CO₂ issu de la respiration représente donc une part non négligeable du carbone incorporé dans la coquille, confirmant par une autre voie de calcul la justesse des hypothèses posées précédemment. C'est pour la coquille A que la contribution du CO₂ issu du métabolisme a le moins d'impact sur le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite, or cette coquille présente une croissance journalière supérieure aux autres coquilles. Si les variations de croissance peuvent expliquer l'évolution du métabolisme à l'échelle saisonnière, elles ne permettent cependant pas de comprendre les variations interindividuelles du métabolisme.

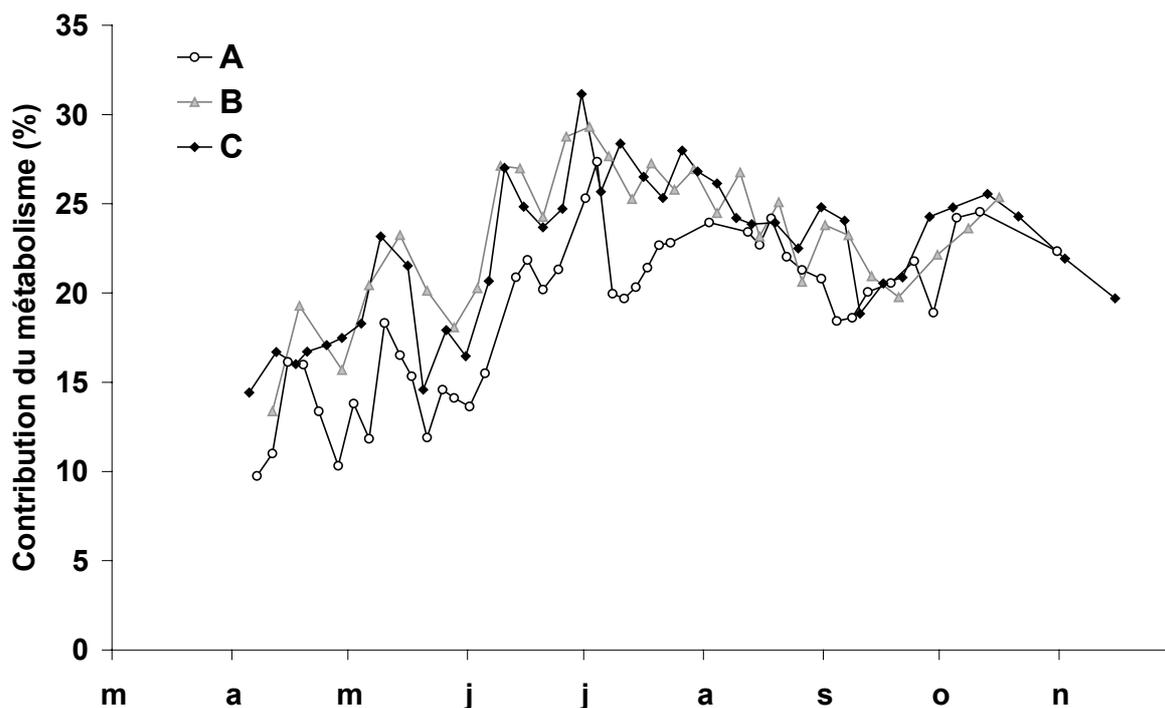


Figure III.37. Pourcentage de carbone des coquilles dérivé du métabolisme pour les coquilles Saint-Jacques A, B et C (%).

Selon Romanek *et al.*(1992), le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles est enrichi de 1‰ par rapport au $\delta^{13}\text{C}$ du CID. Durant l'année 2000, la composition isotopique du carbone des coquilles est proche de celle du CID au mois d'avril, puis ces valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ sont appauvries en ^{13}C par rapport au $\delta^{13}\text{C}$ du CID. Ces résultats illustrent une forte déviation par rapport à l'équilibre décrit par les expériences de précipitation inorganique de Romanek *et al.* (1992) et ce tout au long de l'année. L'apparent déséquilibre entre le $\delta^{13}\text{C}$ du CID et le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles de *P. maximus* pourrait être dû à un effet cinétique, conduisant à la discrimination des isotopes lourds lors de forts taux de croissance (McConnaughey, 1989). Cependant nous avons expliqué précédemment que cette hypothèse ne pouvait être retenue pour la coquille Saint-Jacques (§ 1.4.1). Selon l'équation proposée par Tanaka *et al.*, (1986), la contribution du carbone métabolique lors de la précipitation oscille entre 10 et 30%. Cette valeur de 10% serait suffisante pour entraîner un appauvrissement permanent du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite par rapport à l'équilibre proposé par Romanek *et al.* (1992).

ii) Une deuxième manière d'interpréter la décroissance du signal de $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des individus de classe I, est de considérer que ce phénomène est entièrement contraint par la biologie de l'animal. La décroissance du signal serait alors imprimée par le vieillissement des

individus et absolument indépendante des variations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$. L'analyse d'un individu plus âgé de la rade de Brest permettrait de répondre à cette hypothèse. Soit le signal décroît linéairement tout au long de la vie de l'animal, soit à chaque saison, une augmentation des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ correspondant aux valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ est visible, et réfute alors l'hypothèse d'un contrôle entièrement biologique. Cette hypothèse sera traitée plus en détail lors de la discussion portant sur les résultats obtenus sur des coquilles du large ayant vécu plusieurs années de croissance (§ 1.4.3.2).

Certains auteurs (Krantz *et al.*, 1987; Keller *et al.*, 2002) ont reporté une telle diminution du signal du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite au cours de la vie des bivalves. L'hypothèse est que le changement physiologique associé au passage de l'état juvénile à l'état adulte, et l'accroissement avec l'âge de l'effort de reproduction, pourrait induire l'incorporation de davantage de carbone dérivé du métabolisme dans le pool de carbonates utilisé pour la calcification (Krantz *et al.*, 1987). La chute du $\delta^{13}\text{C}$ dans cette étude pourrait ainsi simplement refléter l'effet du vieillissement des individus. Schein *et al.* (1991), ont en effet mis en évidence l'allègement des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ au cours de la vie d'un individu de *Pecten maximus* de la rade de Brest.

Aucune relation simple entre le $\delta^{13}\text{C}$ des coquilles de *P. maximus* et le $\delta^{13}\text{C}$ du CID des eaux de la rade de Brest n'a pu être mise en évidence. L'incorporation de carbone métabolique est la cause la plus probable des déviations observées par rapport au $\delta^{13}\text{C}$ du CID. Bien que de fortes variations saisonnières apparaissent dans le cycle du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite, la contribution importante du métabolisme empêche l'utilisation de cette composition isotopique pour reconstituer le $\delta^{13}\text{C}$ du CID au moment de la précipitation du squelette carbonaté.

1.3.3 Les coquilles du plateau continental

1.3.3.1 Croissance

L'analyse de la croissance au long du gradient bathymétrique (100, 150 et 170 m) met en lumière l'existence de cycles de croissance comparables à ceux observés pour les coquilles Saint-Jacques de la rade de Brest. Tout comme en rade de Brest, une diminution du nombre de stries déposées et de l'amplitude de croissance est observée avec le vieillissement des coquilles (Chauvaud & Paulet, en préparation). Le cycle saisonnier de croissance en rade de Brest est déterminé par les fluctuations de température et de photopériode (Chauvaud & Paulet, en préparation). Les individus prélevés au large sont cependant exposés à des variations saisonnières de température et de photopériode extrêmement faibles. Si le nombre de stries déposées lors de la première année de croissance diminue avec la profondeur, les maxima de croissance (distances inter-stries) sont comparables à ceux de la rade de Brest et une cyclicité de la croissance est maintenue, même à 170 mètres de fond, soulevant de nombreuses questions quant au déterminisme de ce cycle. De plus, des accidents de croissance, comparables à ceux observés en rade de Brest, sont identifiés de 100 à 170 mètres de fond, alors que la ressource trophique est sensée être limitée. L'étude des stratégies de croissance des coquilles du large n'est pas le propos de cette thèse, toutefois, ces premiers résultats illustrent l'intérêt des études de croissance sur un gradient côte-large. La diminution de la saisonnalité des paramètres environnementaux, la dépendance de ces organismes vis à vis de la ressource trophique, et la décroissance du signal anthropique de la côte vers le large, font de ces coquilles prélevées au large, un excellent laboratoire naturel pour tester les hypothèses établies à la côte.

1.3.3.2 Evolution du signal isotopique avec l'âge

L'analyse du signal isotopique sur plusieurs années de vie des coquilles Saint-Jacques, étudié sur des individus du plateau continental, met en évidence une décroissance du signal à la fois pour le $\delta^{18}\text{O}$ et pour le $\delta^{13}\text{C}$, et donc un enrichissement en isotope léger (^{12}C et ^{16}O) au cours de la vie, pour toutes les coquilles de plus d'un an étudiées. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène :

- i) Un effet cinétique entraînant l'appauvrissement en isotope lourd au cours de la vie.*
- ii) Un changement du métabolisme, au cours de la vie, entraînant une contribution plus importante des isotopes légers à la formation du squelette carbonaté. Cette hypothèse est généralement évoquée pour expliquer la décroissance du $\delta^{13}\text{C}$, avec l'incorporation de CO_2 isotopiquement négatif, issu de la respiration.*
- iii) Une "diagenèse précoce" de la calcite, entraînant un enrichissement en isotope lourd au cours de la vie de l'animal. Dans ce cas, seule la dernière année de vie représenterait correctement les valeurs observées et les premières années de la vie auraient un signal enrichi par effet de la diagenèse.*
- iv) Une dérive effective des signaux environnementaux au cours de la période considérée*

i) Un effet isotopique est généralement invoqué lorsque le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$ covarient linéairement, entraînant un appauvrissement du signal isotopique. Cette variation linéaire est effectivement mise en évidence dans cette étude. Cependant ces effets cinétiques sont associées à des croissances rapides empêchant l'oxygène et le carbone de s'équilibrer avec le milieu ambiant (McConnaughey, 1989, 1997). Dans notre cas, ces effets cinétiques seraient de plus en plus forts avec l'âge, alors que la croissance coquillière diminue fortement. Cette hypothèse ne peut donc expliquer la décroissance des signaux obtenus.

ii) L'hypothèse d'une diminution du signal avec l'âge a été soulevée au paragraphe 1.4.2.2. La décroissance du signal sur la vie, chez les coquilles Saint-Jacques du large, renforce l'hypothèse d'une forte contrainte biologique sur le $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$. Toutefois, aucune explication sur la contribution plus importante au cours de la vie, du CO_2 métabolique issu de la respiration, n'a été proposée dans la littérature.

Une explication pourrait résider dans une augmentation plus rapide de l'offre en CO_2 métabolique par rapport à la demande pour la calcification. Nous avons approché cette offre de carbone métabolique par le calcul de l'oxygène consommé, en utilisant les relations d'allométrie liant poids secs individuels et respiration, établies pour la coquille Saint-Jacques de la rade de Brest par Suprpto (1986, Annexe IV). Les poids secs de chair sont calculés pour des individus des classes I à V au mois de juillet de chaque année, à partir des

régressions liant hauteur et poids secs de chair (Paulet, en préparation, Annexe IV). La demande pour la calcification correspond à la quantité de CaCO_3 précipitée en fonction de la taille moyenne des individus au cours de la vie. Le tableau III.6 présente les valeurs de poids et de consommation d' O_2 pour un individu moyen en rade de Brest. La figure III.38 illustre, qu'au cours de la vie, la respiration augmente plus vite que la demande de carbone pour la calcification, ce qui pourrait expliquer la contribution plus importante du CO_2 métabolique, plus riche en ^{12}C , et la décroissance observée du signal de $\delta^{13}\text{C}$.

Tableau III.6. Caractéristiques de croissance coquillière et de respiration en fonction de l'âge, estimées à partir d'un individu moyen en rade de Brest.

RADE DE BREST					
CLASSE D'AGE	I	II	III	IV	V
Hauteur de la coquille en juillet (mm)	51	80	95	103	106
Accroissement journalier en juillet ($\mu\text{m.j}^{-1}$)	236	179	133	97	71
Poids de CaCO_3 produit par jour (g)	0,212	0,340	0,334	0,278	0,215
Poids sec de chair (g)	2,6	11,4	19,7	25,5	27,9
Quantité d' O_2 respiré par jour (ml)	47	196	336	432	472
RATIO O_2 respiré / CaCO_3 produit	222	579	1005	1551	2199

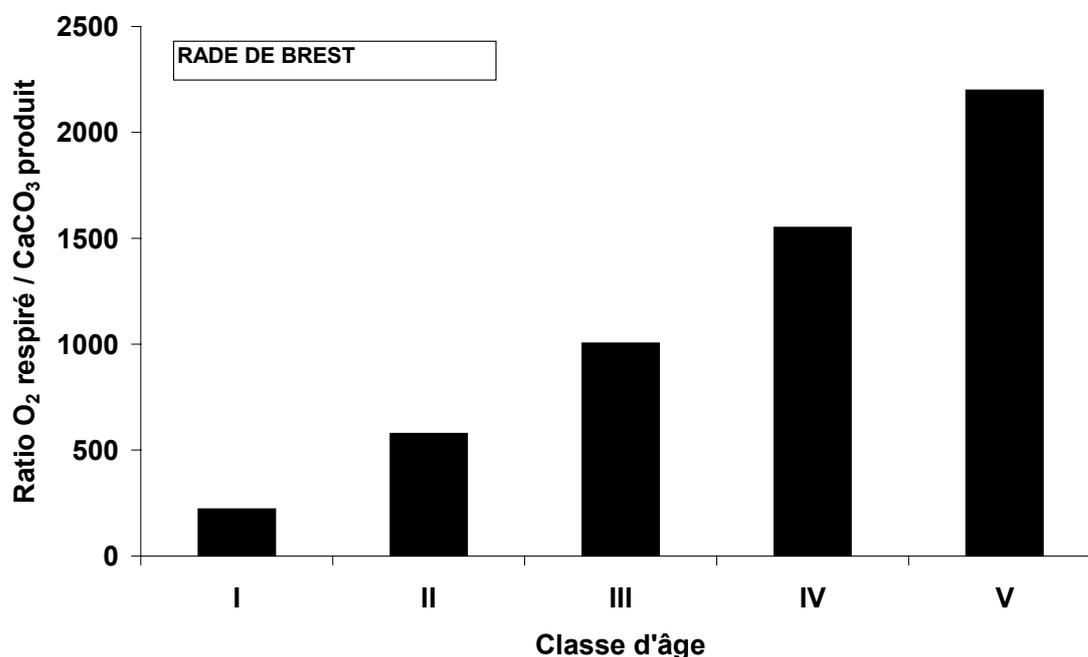


Figure III.38. Variations du rapport O_2 respiré / CaCO_3 produit, pour une coquille moyenne en rade de Brest au mois de juillet de chaque année.

Ce calcul peut également être réalisé pour les coquilles prélevées sur le plateau continental. Les caractères propres de la croissance (journalière et au cours de la vie), y sont intégrés ; l'équation respiratoire étant inconnue pour ces individus, nous utiliserons en première approche celle des coquilles côtières. L'exemple de la coquille 150J est présenté dans le tableau III.7 et la figure III.39. La même conclusion que précédemment peut en être tirée, la disponibilité relative du CO₂ métabolique croît avec la taille, mais de manière beaucoup plus atténuée, puisque la croissance est plus faible à ces profondeurs. Si le rapport O₂ respiré / CaCO₃ produit est du même ordre de grandeur la première année de croissance en rade de Brest et à 150 mètres de fond, il est deux fois plus élevé dès la deuxième année en rade. La décroissance du signal de δ¹³C devrait donc être deux fois plus élevée en rade de Brest par rapport aux coquilles du plateau continental. Nous ne disposons pas du signal isotopique sur toute la vie d'une coquille Saint-Jacques en rade de Brest. Toutefois, si nous comparons l'amplitude du signal de δ¹³C sur la première année de croissance entre les coquilles du large et celles de la rade, l'amplitude est beaucoup plus importante en rade de Brest (1‰ en une année en rade de Brest pour 0,4‰ en moyenne au large). Une amplitude de l'ordre de 1‰ est visible au large mais sur toute la vie des coquilles. La relation O₂ respiré / CaCO₃ produit permet donc, non seulement d'expliquer la décroissance du signal observé à l'échelle de la vie, mais aussi les variations inter-sites en fonction du métabolisme des coquilles Saint-Jacques.

Tableau III.7. Caractéristiques de croissance coquillière et de respiration en fonction de l'âge, estimées à partir de la coquille 150J.

PLATEAU CONTINENTAL					
CLASSE D'AGE	I	II	III	IV	V
Hauteur de la coquille en juillet (mm)	36	55	70	83	87
Accroissement journalier en juillet (µm.j ⁻¹)	225	284	251	192	126
Poids de CaCO ₃ produit par jour (g)	0,098	0,290	0,384	0,384	0,276
Poids sec de chair (g)	1,4	3,4	7,5	12,6	15,1
Quantité d'O ₂ respiré par jour (ml)	24,6	60,8	131,5	217,1	259,1
RATIO O₂ respiré / CaCO₃ produit	250	210	342	565	939

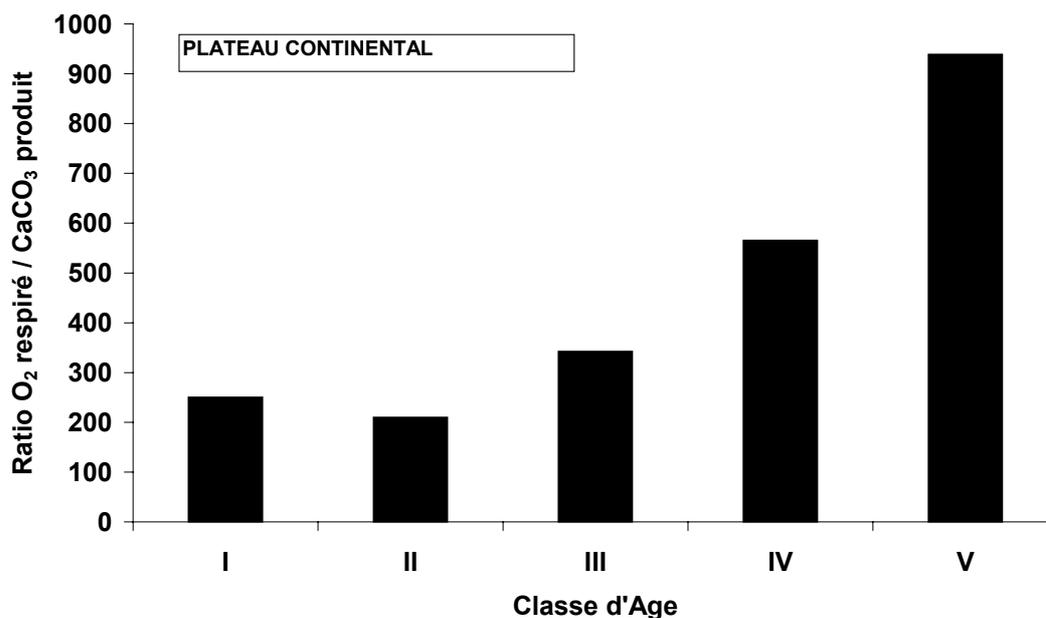


Figure III.39. Variations du rapport O₂ respiré / CaCO₃ produit pour la coquille 150J (station 63, 150 mètres de fond).

Ce calcul réalisé à l'échelle de la vie entière des coquilles Saint-Jacques, pourrait-il aussi expliquer la décroissance du $\delta^{13}\text{C}$ observée à l'échelle d'une année en rade de Brest ? En utilisant à nouveau les équations de Suprpto (1986), et en les appliquant, jour après jour, à des individus de la classe I de la rade de Brest en 2000, il est possible d'estimer la consommation journalière d'oxygène, en tenant compte de la taille réelle des individus, donc de leur poids de chair sèche estimé. Pour un individu moyen, la production journalière de calcite est calculée en tenant compte de la hauteur totale de la coquille et de l'incrément linéaire quotidien. De la même manière que précédemment il est alors possible de calculer le rapport O₂ respiré/CaCO₃ produit. L'évolution au cours de l'année de ce rapport est présenté sur la figure III.40. Après une courte période de diminution, correspondant au démarrage progressif de la croissance, cet indice augmente régulièrement tout au long de l'année. Il traduit une disponibilité croissante en CO₂ métabolique vis à vis des besoins potentiels pour la calcification.

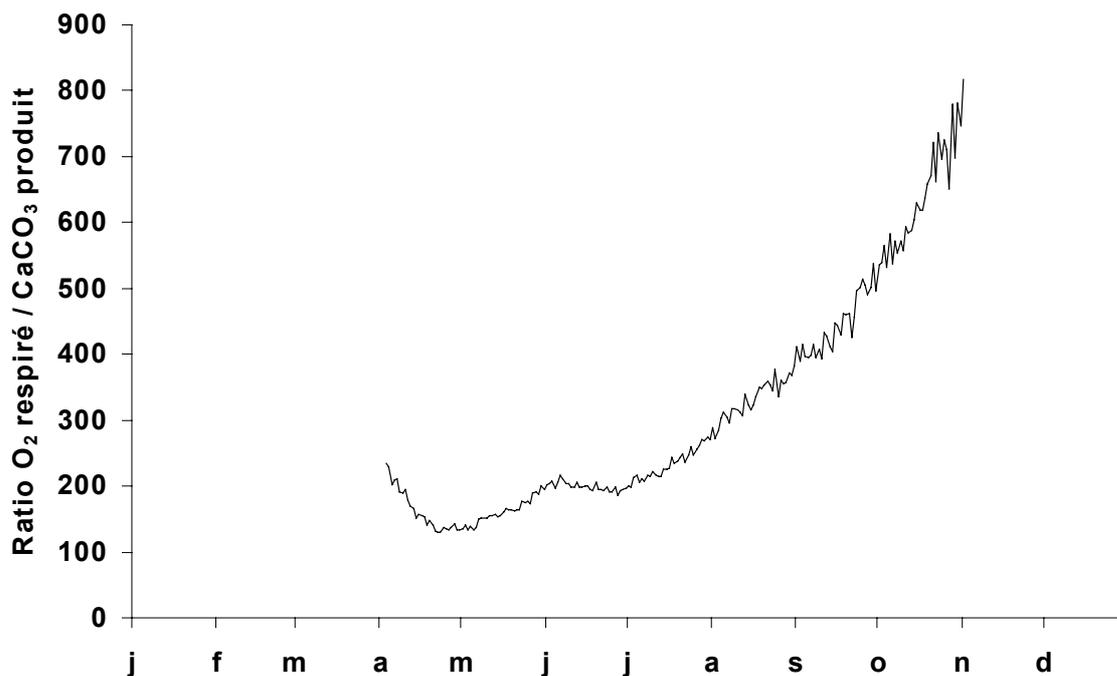


Figure III.40. Variations du rapport O₂ respiré/CaCO₃ produit pour un individu de taille moyenne de la classe I de la rade de Brest au cours de l'année 2000.

Ainsi, en résumé, la contribution du CO₂ métabolique augmente progressivement au cours de la vie des coquilles Saint-Jacques par rapport à la demande de CaCO₃. Ce carbone métabolique enrichi en ¹²C serait donc incorporé en plus grande quantité dans les coquilles au fil du temps. Cette hypothèse nous permet d'expliquer la décroissance du signal à l'échelle de la vie des coquilles Saint-Jacques mais également à l'échelle annuelle. Elle nous permet également d'expliquer les différentes pentes du signal entre les sites étudiés.

Toutefois, si l'incorporation de CO₂ enrichi en ¹²C permet d'expliquer simplement la décroissance des signaux de δ¹³C, l'interprétation est plus délicate pour le δ¹⁸O. En effet à l'échelle de la vie, une décroissance du signal est observée pour les coquilles du Plateau continental mais pas à l'échelle annuelle (cette étude) ni sur la vie (Schein *et al.*, 1991) en rade de Brest. De plus, de nombreuses études ont reporté une décroissance du signal de δ¹³C mais pas du δ¹⁸O avec l'âge (Krantz *et al.*, 1987 ; Harrington, 1989 ; Schein *et al.*, 1991 ; Keller *et al.*, 2002). Ainsi, les différences observées entre l'évolution du δ¹⁸O au cours de la vie et sur une année de croissance ne nous permettent pas de dire si la décroissance est due au métabolisme ou uniquement à un signal environnemental. Le signal de δ¹⁸O au cours de l'année 2000 en rade de Brest est en effet expliqué principalement par les variations de température et de salinité.

iii) La troisième hypothèse implique une altération des signaux géochimiques ($\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{18}\text{O}$) de la coquille au cours de la vie de l'organisme, ce phénomène est défini ici sous le nom de "diagenèse précoce" bien qu'il n'implique pas l'enfouissement des coquilles par sédimentation. Des changements de composition chimique des coquilles ont, en effet, été mis en évidence, sur les parties les plus anciennement déposées de bivalves encore vivants (Cuif, com. pers.), ils pourraient entraîner des variations du signal isotopique. Toutefois, si l'on considère les coquilles 150I et 150J (Fig. III.41), d'âge différent, et que l'on compare les valeurs isotopiques de la calcite déposée à la même date, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et de $\delta^{18}\text{O}$ sont très différentes. Cette observation est contradictoire avec l'hypothèse d'un effet de la diagenèse. La coquille 150J possède un signal isotopique enrichi en isotope lourd par rapport à la coquille 150I alors que la diagenèse, si elle altérait le signal, aurait agit de la même manière sur ces deux coquilles, puisque le même temps s'est écoulé depuis la formation de ce matériel carbonaté. Si une diagenèse précoce avait eu lieu, entraînant une dérive du signal isotopique, les compositions isotopiques des coquilles 150I et 150J auraient donc été identiques. Ces résultats réfutent donc l'hypothèse d'un enrichissement des valeurs isotopiques par effet d'une diagenèse précoce.

La pente de la décroissance observée entre la première et la troisième année de croissance de la coquille 150I est très proche de celle de la coquille 150J, de sa première à sa troisième année de croissance (pour le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$), accéditant plutôt l'hypothèse d'une contribution du métabolisme sur la décroissance du signal.

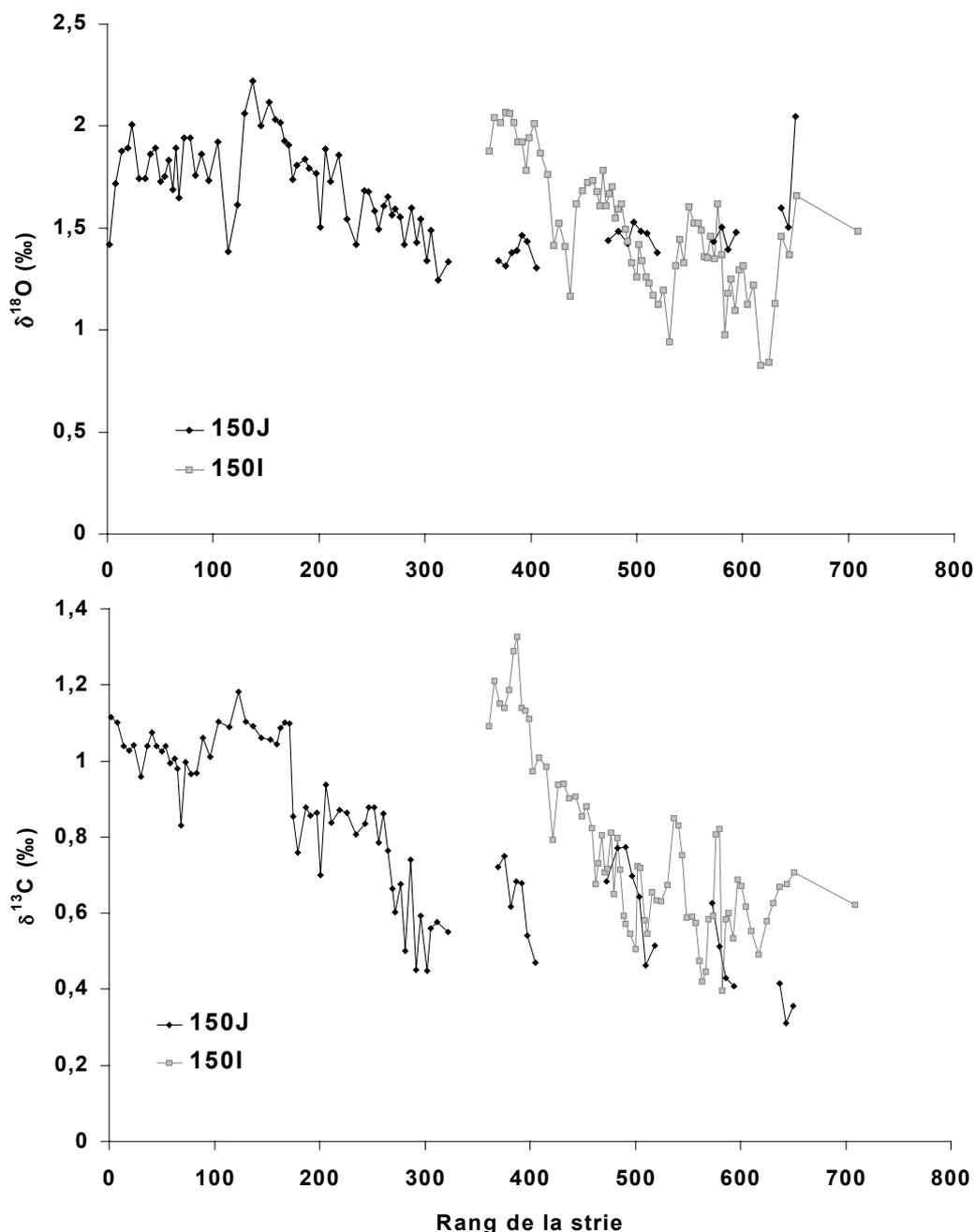


Figure III.41. Variations du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{18}\text{O}$ (‰) des coquilles 150I et 150J de la station 46 (150 m).

iv) Aucune donnée sur la composition isotopique des masses d'eau du plateau continental armoricain n'étant disponible, nous ne pouvons statuer d'une modification des paramètres environnementaux durant la vie des individus étudiés. Il nous semble toutefois peu probable qu'un remplacement ou qu'un vieillissement de ces eaux entraîne une dérive de leur signal isotopique pour tous les sites étudiés. D'autant plus que de 100 à 170 mètres, le renouvellement de ces eaux serait plus ou moins assuré par des échanges avec la surface (zone homogène, Fig. III.42).

En conclusion, l'hypothèse du métabolisme cohérente à l'échelle annuelle et à celle de la vie des individus, nous semble la plus pertinente. Elle pourrait être testée par l'analyse isotopique de coquilles supplémentaires, et en particulier, d'une coquille âgée issue de la rade de Brest où les conditions environnementales peuvent être plus facilement contrôlées. Cela nous permettrait d'une part de vérifier l'existence d'une dérive des signaux isotopiques avec la taille, et d'autre part, de mettre en parallèle la composition isotopique de la calcite et de l'eau de mer à une échelle pluri-annuelle.

Des expériences *in situ* en milieu confiné, à l'aide d'enceintes benthiques, et l'injection de CID marqué dans l'enceinte où est présente la coquille, permettraient de définir la part du carbone incorporé dans la coquille provenant du milieu externe, par la mesure du $\delta^{13}\text{C}$ du CID, du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite et de la consommation d'oxygène dans l'enceinte.

1.3.3.3 $\delta^{18}\text{O}$ - température

D'après les données disponibles sur le plateau continental armoricain (Vincent & Kurc, 1969 ; Morin *et al.*, 1991 ; Morin *et al.*, 1994), nous pouvons placer approximativement nos différentes stations (63, 46 et 16) sur la représentation schématique de la structure hydrologique du plateau continental (Fig. III.42). La station 63 se situe dans une zone homogène, où la colonne d'eau est fortement brassée sur 100 mètres de profondeur. En hiver les températures resteraient autour de 9-10°C et pourraient atteindre 14-15° avec le réchauffement estival (Le Corre, com. pers.). Les deux autres stations 46 (150) et 16 (170 m) sont situées dans la zone homogène du talus continental pour laquelle peu de données sont disponibles. La température y oscillerait de 10 à 12°C. Toutefois, dans cette zone, des échanges peuvent avoir lieu à la fois avec la surface et les fonds océaniques lors de remontées d'eaux froides le long du talus, et lors d'échanges avec les eaux d'un bourrelet froid présent de manière permanente sur le plateau. Ainsi, la complexité de l'hydrologie dans cette zone et le peu de mesures disponibles ne nous permettent pas de statuer des températures attendues avec précision (Le Corre, com. pers.).

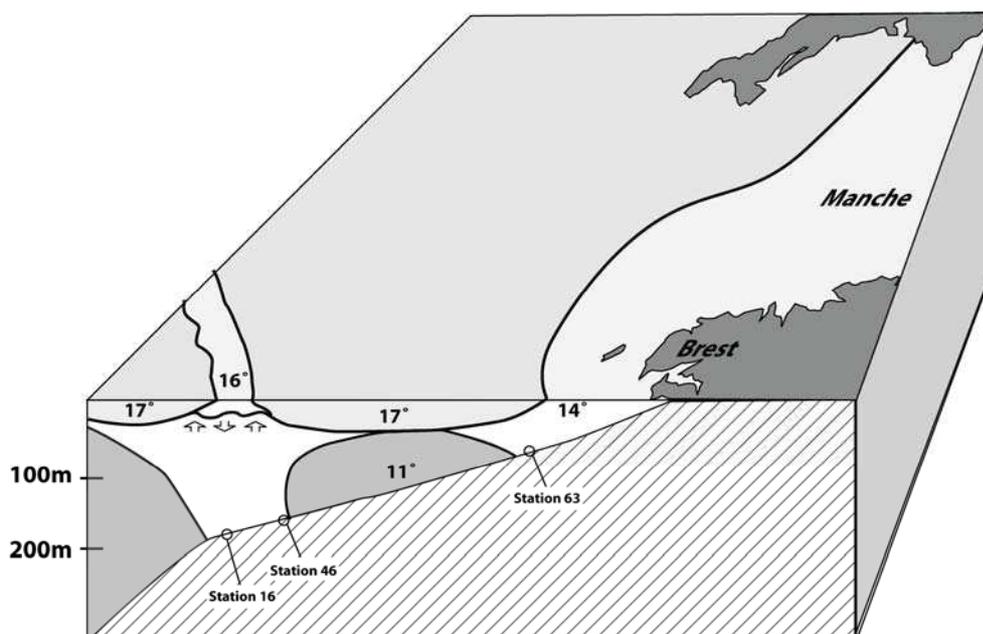


Figure III.42. Représentation schématique de la structure hydrologique du plateau continental armoricain (modifié d'après Vincent & Kurc, 1969) et localisation des stations 16 (170 m), 46 (150 m) et 63 (100 m). Les zones en blanc correspondent à des zones homogènes, et la partie centrale du plateau, grisée (11°C), au bourrelet froid.

L'analyse du $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles du gradient côte-large permet de reconstituer des cycles de température bien marqués à 100 mètres de fond, avec des variations maximales de température allant de 8 à 15°C. Le cycle thermique en 1997, déduit de la moyenne des deux coquilles étudiées, décrit une oscillation de 9,8 à 14,6°C, ce qui est en accord avec les connaissances sur l'évolution thermique saisonnière à ces profondeurs. Le cycle saisonnier de croissance coquillière des coquilles Saint-Jacques, correspond aux observations effectuées en rade de Brest, avec des minima de croissance associés aux minima de température.

A 150 mètres de fond, les amplitudes observées seraient de 5°C, de 8°C à 13°C. Si on fait une moyenne sur les deux coquilles, la température évolue de 8 à 12°C. Ces écarts thermiques sont cependant peu cohérents avec les mesures *in situ*, même s'il est possible que des remontées d'eau froide entraînent de tels minima thermiques, et que le brassage avec la surface permette des maxima proches de 13°C. Les connaissances actuelles disponibles sur l'hydrologie du plateau continental ne nous permettent pas de conclure sur la validité de nos résultats. Toutefois, nous observons une augmentation du signal enregistré au cours du temps, pouvant être interprété comme un effet du métabolisme (cf. paragraphe précédent), plutôt que par une dérive environnementale. Étonnamment, les minima thermiques coïncident avec les maxima de croissance en opposition avec le cycle habituel des coquilles Saint-Jacques en rade de Brest et à 100 mètres de fond. Deux hypothèses peuvent être proposées : soit le cycle des

coquilles à 150 mètres de fond est inversé par rapport à nos connaissances, soit le signal enregistré est biaisé.

A 170 mètres, l'amplitude observée est plus faible (3,8°C) de 8,0 à 11,8°C avec une très bonne adéquation entre les deux coquilles 170 D et 170E. Les cycles saisonniers ne sont pas nettement mis en évidence. Une augmentation des minima et des maxima thermiques est également observée au cours des trois années de vie de ces deux individus ; elle est maximale entre la première et la deuxième année de croissance (1°C), et vraisemblablement liée au métabolisme plus qu'à une réelle variation de température. Si les maxima thermiques prédits $11,8 \pm 0,7^\circ\text{C}$ sont cohérents avec les $11,0^\circ\text{C}$ attendus, les minima seraient surestimés par rapport aux températures attendues (10°C , Vincent & Kurc, 1969).

Ainsi, l'équation de paléo-température appliquée aux coquilles du large, nous permet d'accéder aux cycles saisonniers de température à 100 mètres de fond. Cependant, ces cycles sont très difficiles à interpréter à 150 et 170 mètres où l'amplitude de variation attendue de la température est très faible (1 ou 2°C), et où les températures prédites sont parfois incohérentes au vu des mesures *in situ*. Les extrema de température mis en évidence dans cette étude pourraient cependant être expliqués par des influences des eaux profondes ou par des échanges avec la surface. Cependant, l'équation de paléo-température est basée sur l'analyse de spécimens dans un environnement où la variabilité isotopique est expliquée par de larges variations saisonnières de température (Rade de Brest : $10\text{-}18^\circ\text{C}$). De plus, l'application de cette équation a révélé des variations interindividuelles de la température estimée, directement dépendantes de la composition isotopique, et qui vraisemblablement, étaient dues à des différences de métabolisme. Ainsi, il semble délicat d'appliquer cette équation pour mettre en évidence des variations de température, dont l'amplitude est de l'ordre de un ou deux degrés Celsius. De plus cette équation a été validée pour une gamme de température n'allant pas au-dessous de 10°C , n'autorisant pas son application à des températures inférieures. L'examen de la figure III.33 (p 178) suggère que cette relation n'est vraisemblablement plus linéaire à des températures inférieures à 10°C . De plus, un effet du métabolisme sur le signal de $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$ a été mis en évidence pour les coquilles Saint-Jacques de la rade de Brest à l'échelle saisonnière. La forte influence de la température sur les variations du $\delta^{18}\text{O}$ pourrait masquer les faibles effets du métabolisme sur cette composition isotopique en rade de Brest. Ainsi, pour de faibles gammes de températures, l'effet du métabolisme pourrait être majoritaire, et expliquer en partie le peu de cohérence dans les cycles obtenus. L'augmentation des corrélations linéaires entre le $\delta^{18}\text{O}$ et le $\delta^{13}\text{C}$ avec la profondeur, et donc

la diminution de l'amplitude de la température, viennent renforcer cette hypothèse. En effet, si l'on admet que le $\delta^{13}\text{C}$ est influencé par le métabolisme et que le $\delta^{18}\text{O}$ est influencé majoritairement par la température et faiblement par le métabolisme, plus l'influence de la température diminue, plus celle du métabolisme est prononcée, et plus les signaux de $\delta^{18}\text{O}$ et le $\delta^{13}\text{C}$ seront corrélés (influencés par le même facteur métabolisme). Le signal observé à de grandes profondeurs (amplitude de $\delta^{18}\text{O}$ de l'ordre de 1‰) serait alors la résultante du bruit de fond associé à l'incertitude autour des mesures de $\delta^{18}\text{O}$ calcite, de l'incertitude liée à la détermination du $\delta^{18}\text{O}$ de l'eau de mer utilisé pour l'élaboration de l'équation de paléo-température (variation de 0,3‰ pour 0,5 unités de salinité) et du métabolisme, rendant inapplicable cette équation pour des variations de température trop faibles.

Si le $\delta^{18}\text{O}$ des coquilles aux fortes profondeurs (> 100 m) ne semble pas permettre de reconstituer dans le détail l'évolution des températures, nos résultats indiquent une diminution cohérente de l'amplitude de température avec la profondeur, avec un enregistrement moyen de la température aux alentours de 10-11°C à 150 et 170 mètres de fond, ce qui est en accord avec les données disponibles. La détermination du signal de $\delta^{18}\text{O}$ d'un plus grand nombre d'individus et le décryptage de l'influence du métabolisme permettrait peut être de comprendre l'évolution thermique sur le talus continental. En particulier, l'analyse de coquilles provenant de la zone du bourrelet froid, où une forte stratification thermique isole les eaux de fond, devrait prédire des températures avec une amplitude de 2°C au maximum. Si des valeurs extrêmes sont prédites, ces résultats nous permettraient de confirmer si les minima (8°C) et maxima (13°C) mis en évidence à 150 et 170 mètres reflètent véritablement la température du milieu (c'est à dire des échanges avec la surface ou des remontées d'eaux froides le long du talus) où s'ils sont dus à des artéfacts.

1.4 Conclusion et perspectives

Cette étude démontre que le $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques est un bon indicateur de la température pour des gammes de variation entre 10 et 18°C. Toutefois, la variabilité interindividuelle mise en évidence conduit à préférer l'utilisation de plusieurs coquilles afin de statuer des variations thermiques du site étudié. Ces variations pourront alors être prédites à plus ou moins 0,7°C. La probabilité d'obtenir plusieurs coquilles de sites archéologiques ou de carottages étant très faible, le couplage de l'analyse isotopique avec d'autres méthodes permettrait d'améliorer la fiabilité des prédictions. En particulier, un

modèle mathématique couplant la croissance coquillière et la phototempérature (Température*Photopériode) est en cours de publication (Chauvaud *et al.*, en préparation), et permet d'affiner la reconstruction de la température à partir de la croissance coquillière de *Pecten maximus* et de quelques données isotopiques. De plus, certains éléments traces de la coquille (Sr, Mg) ont été décrits comme de bons proxy de la température et pourraient être couplés aux mesures de $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ (Beck *et al.*, 1992 ; Klein *et al.*, 1996a, b).

L'étude des coquilles du plateau continental armoricain laisse penser que les températures ne peuvent être justement prédites en dessous de 10°C, l'équation empirique n'étant probablement plus linéaire pour ces valeurs. L'effet de l'âge sur des coquilles Saint-Jacques de la rade de Brest devra être étudié en détail afin de déterminer si les variations au cours de la vie des coquilles du large sont véritablement un effet du métabolisme ou un effet environnemental. Les incohérences des cycles de température observées sur les coquilles, à 150 et 170 mètres de profondeur, renforcent toutefois l'idée que le métabolisme a un impact sur la signature isotopique des carbonates des coquilles Saint-Jacques et que les variations saisonnières de la température ne peuvent être appréhendées correctement que lorsque l'amplitude thermique est suffisamment importante pour masquer les effets du métabolisme.

Le signal de $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite ne peut en aucun cas être utilisé pour retracer les variations du $\delta^{13}\text{C}$ du CID et de la productivité des eaux. Le peu de lien entre les variations haute-fréquence du $\delta^{13}\text{C}_{\text{calcite}}$ et du $\delta^{13}\text{C}_{\text{CID}}$ laisse penser que la disponibilité en carbonates du milieu externe n'a aucune influence sur ce signal et que la biologie gouverne majoritairement ces variations. Cependant, si l'hypothèse d'une forte contrainte biologique sur ce signal semble évidente, des études complémentaires sont nécessaires, et en particulier l'étude des caractéristiques chimiques du fluide extrapalléal et la mise en place d'étude *in situ* (enceintes benthiques), qui pourraient apporter de nombreux éléments permettant de déconvoluer les contributions environnementale et métabolique à ce signal. L'étude du $\delta^{13}\text{C}$ sur une coquille de la rade ayant vécu plusieurs années, parallèlement à l'étude du $\delta^{13}\text{C}$ du CID nous permettra de trancher sur l'influence de la respiration au cours de la vie de ces organismes. Si ce signal est véritablement sous l'influence biologique, son décryptage pourrait alors permettre son utilisation en tant que marqueur biologique du métabolisme à différentes profondeurs et à différentes latitudes.

Chapitre 2. Analyse élémentaire

2.1 Introduction

Dans la lignée des avancées en analyse isotopique, la détermination de la composition élémentaire des coquilles de mollusques a soulevé l'intérêt des scientifiques, désireux d'obtenir d'autres proxy de la variation des conditions environnementales. Historiquement, l'extraction d'information chimique, à haute résolution spatiale, à partir de coquilles a d'abord été limitée par la technologie analytique disponible. Le développement de techniques de plus en plus performantes a permis de passer d'une mesure sur l'ensemble de la coquille (Pilkey & Goodel, 1963), à des analyses discrètes, plus ou moins espacées le long de la coquille (Stecher *et al.*, 1996). Ces techniques incluent la photométrie de flamme (Dodd, 1965), la spectrométrie de fluorescence de rayons-X (Hallam & Price, 1968), la spectrométrie d'absorption (Carriker *et al.*, 1980) et d'émission atomique (Klein *et al.*, 1996a ; 1996b), la cathodoluminescence (Barbin *et al.*, 1991a ; Barbin *et al.*, 1991b ; Schein *et al.*, 1991), la microsonde électronique (Vander Putten *et al.*, 1999) et protonique (Carriker *et al.*, 1991). Plus récemment, le développement de techniques de microanalyses de plus en plus sensibles, telles que l'ablation laser couplée à la spectrométrie de masse à plasma inductif (LA-ICP-MS, Gray, 1985), a offert la possibilité d'étudier la composition chimique des coquilles à très haute résolution spatiale donc temporelle, dans le cas d'organismes dont la croissance se fait par accréation. En particulier, cette technique permet une détection rapide et multi-élémentaire à de faibles limites de détection ne nécessitant pas ou peu de préparation des échantillons. Cependant, cette technique est encore relativement nouvelle et les méthodes de routine pour la détermination quantitative des éléments traces ne sont pas encore clairement établies dans le cas des matrices carbonatées (Sinclair *et al.*, 1998 ; Craig *et al.*, 2000).

Ces techniques, appliquées à de nombreux mollusques, ont mis en évidence de fortes variations saisonnières de la distribution de ces éléments dans la coquille, illustrant l'importance d'une analyse à haute résolution spatiale plutôt qu'une analyse globale. De nombreux éléments traces sont couramment utilisés comme proxy (Mg, Sr, Ba, U, Cd, Pb), bien que des résultats discordants (incluant des relations positives, négatives ou l'absence de relation) existent parfois entre les concentrations en éléments traces et les variables environnementales (Richardson, 2001). Par exemple, le strontium semble potentiellement un

outil performant pour reconstruire les températures de surface. Son utilisation est fondée sur l'existence d'une relation inverse entre la température et les rapports Sr/Ca dans les coraux (Beck *et al.*, 1992). Dodd (1965) observe une corrélation positive entre le strontium et la température de l'eau dans la couche calcitique de la coquille de plusieurs espèces du genre *Mytilus*, et une relation inverse dans la couche aragonitique nacrée. Hallam & Price (1968), quant à eux, trouvent une relation négative entre la température et les rapports Sr/Ca dans la coquille aragonitique de *Cardium edule*. A l'opposé, Stecher *et al.* (1996) stipulent que les variations de strontium dépendent principalement du taux de croissance de *Mercenaria mercenaria* et non de la température ; ce rapport serait aussi fortement influencé par l'activité métabolique et la salinité chez *Mytilus trossolus* (Klein *et al.*, 1996b). Enfin, Vander Putten *et al.* (2000) ne trouvent aucune relation entre les rapports Sr/Ca dans la coquille de *Mytilus edulis* et les paramètres environnementaux.

Les mêmes incohérences existent pour l'utilisation du magnésium, comme traceur de la température et/ou de la salinité, entre les différentes espèces (Klein *et al.*, 1996a ; Klein *et al.*, 1997 ; Vander Putten *et al.*, 2000), illustrant la nécessité d'une calibration propre à chaque espèce. De plus, il devient évident que la composition élémentaire des coquilles de mollusques, tout comme leur composition isotopique, est aussi contrôlée par des facteurs biologiques (Klein *et al.*, 1996b), rendant complexe l'interprétation des profils.

Plus récemment, Stecher *et al.* (1996) et Vander Putten *et al.* (2000) ont suggéré que les pics de Ba/Ca dans la calcite des bivalves, pourraient être le résultat de forts niveaux de baryum particulière, associés aux blooms de diatomées. En effet, de fortes concentrations de baryum sont liées à des régions océaniques de forte productivité primaire (Dehairs *et al.*, 1980, 1992, 1997 ; Bishop, 1988). Le baryum pourrait donc être un bon proxy de la paléoprodutivité (Dymond *et al.*, 1992 ; François *et al.*, 1995). Ce phénomène résulterait de la précipitation de cristaux de baryte, au sein de micro-environnements riches en matière organique formés par la sédimentation d'assemblages de diatomées (Bishop, 1988). Néanmoins, tous les blooms de diatomées ne sont pas corrélés à des pics de Ba/Ca chez *Mytilus edulis*, et aucune relation linéaire n'est observable entre le Ba/Ca coquillier et la concentration en chlorophylle *a* (Vander Putten *et al.*, 2000). Ces auteurs concluent donc que des études supplémentaires sont nécessaires pour vérifier si le baryum peut être utilisé comme un proxy quantitatif de la production primaire.

Dans un tel contexte, le modèle coquille Saint-Jacques, en offrant un calage temporel précis des dépôts calcitiques, semble donc s'imposer comme candidat pour la nécessaire amélioration de nos connaissances sur l'intégration des éléments traces aux squelettes carbonatés. L'une des hypothèses qui sous tend notre démarche, est que le manque de corrélation et les éventuels hiatus observés entre milieu extérieur et calcite, puissent trouver leur origine dans une mauvaise appréciation des concordances temporelles.

Dans cette étude, une analyse haute résolution des éléments traces des coquilles de *Pecten maximus* par LA-ICP-MS a été effectuée. En raison des nombreuses difficultés inhérentes à l'application de cette méthode récente à des matrices carbonatées, une approche méthodologique a permis, dans un premier temps, d'optimiser l'échantillonnage par ablation laser pour les coquilles Saint-Jacques. Les résultats préliminaires de composition élémentaire des coquilles seront présentés, et les profils datés des différents analytes étudiés confrontés aux variations saisonnières des paramètres environnementaux. En particulier, une analyse de la composition élémentaire de la matière particulaire en suspension (Ba, Sr, Mg, Mn, Ti, Al, Na) et de l'eau de mer (Sr, Ba) a été effectuée en complément du suivi environnemental classique (température, salinité, chlorophylle *a*, voir Partie I).

2.2 Matériel et méthodes

Dans le cadre de cette étude, les analyses élémentaires [éléments majeurs (>100ppm), traces (<100ppm) et ultra-traces (<10 ppb)] de la matière particulaire, dissoute ou solide ont été obtenues par différentes méthodes que nous développerons dans ce chapitre, en détaillant tout d'abord les principaux appareils utilisés, les techniques d'échantillonnage, la préparation des échantillons pour l'analyse ainsi que leurs éventuels protocoles d'attaque. Les concentrations souvent faibles des éléments traces (de l'ordre de quelques ppb) nécessitent l'utilisation de techniques analytiques performantes. En particulier, l'échantillonnage puis les conditions de préparation pour les analyses, doivent se faire de façon à éviter au maximum les contaminations extérieures lors des manipulations.

Pour l'analyse par ablation laser des coquilles Saint-Jacques, les résultats préliminaires de mise au point de la méthode analytique seront présentés dans cette partie méthodologique afin de consacrer la partie des résultats à l'analyse des profils élémentaires en relation avec les données environnementales. Pour le suivi environnemental, seules les méthodes spécifiques à la mesure des éléments traces seront précisées dans ce chapitre, la partie I de la thèse développant les autres aspects.

2.2.1 Appareils de mesures

Nous nous focaliserons essentiellement sur la spectrométrie d'émission atomique à plasma induit (ICP-AES pour Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry), utilisée pour la détermination de la composition élémentaire de la matière organique particulaire, et la spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS, pour Inductively Coupled Plasma-mass Spectrometry), utilisée dans le cadre de l'analyse d'éléments traces dans les échantillons de calcite et l'eau de mer.

2.2.1.1 ICP-AES

Principe : La spectrométrie d'émission atomique utilise le fait qu'une population d'atomes ou d'ions soumis à une excitation émet un rayonnement lumineux caractéristique. L'atome est constitué d'un noyau autour duquel gravitent des électrons. Chaque électron gravite sur une orbite déterminée par son énergie. Un apport d'énergie peut exciter un électron passant ainsi de son état fondamental à un état supérieur dit excité. Cet électron instable rejoindra son orbite originelle (état fondamental) en libérant à son tour une quantité d'énergie sous forme de photons, dans un ensemble de longueurs d'ondes qui sont propres à l'élément ou l'atome considéré. L'ensemble de ces longueurs d'onde s'appelle le spectre de l'élément. L'excitation peut être réalisée dans une flamme et dans des conditions de température modérées mais elle peut aussi être réalisée dans un plasma. Un plasma est un gaz (dans notre cas de l'Argon) partiellement ionisé à très haute température (4000 à 10000°K). Il est généré et maintenu par le passage d'un flux d'Argon à travers une torche où règne un champ électromagnétique. Ce champ entraîne la collision des ions Ar^+ avec des atomes Ar qui sont ainsi ionisés ce qui conduit à la formation du plasma.

L'ionisation dans un plasma est très énergétique et permet d'arracher un, voire deux électrons de l'atome, selon ses potentiels de première et de deuxième ionisation. C'est le principe de l'ICP (Inductively coupled Plasma) qui permet à la fois l'atomisation et l'ionisation des éléments.

Fonctionnement (Fig. III.40): L'échantillon liquide est introduit sous forme d'aérosols au centre d'un plasma d'argon où il est atomisé et ionisé. L'énergie apportée excite les atomes et les ions présents dans le plasma qui émettent un spectre de raies caractéristique. Les photons émis dans le plasma lors de la désexcitation des atomes et des ions, sont ensuite dirigés vers la

partie optique du spectromètre. Un système de réseau de diffraction et une fente de sortie permettent d'isoler les différentes raies. Le rôle des miroirs concaves est de focaliser la lumière respectivement sur le réseau puis sur la fente de sortie. Enfin, un détecteur optique (photomultiplicateur) permet de mesurer l'intensité de chaque raie d'émission.

L'intensité des raies d'émission d'un atome ou d'un élément est proportionnelle à sa concentration dans la solution, ce qui permet une analyse quantitative. Il peut cependant y avoir des perturbations du signal, c'est à dire des interférences, globalement classées en deux catégories :

a. Les interférences spectrales : elles résultent de la superposition de différentes raies ou bandes moléculaires provenant d'autres éléments ou molécules non totalement dissociés (ou formés dans le plasma). Un élément pouvant avoir plusieurs raies d'émission spectrale, le choix de la raie d'émission utilisée est primordial et fonction des possibles interférences spectrales.

b. Les effets de matrices : les transferts énergétiques dans le plasma peuvent être affectés par la nature de la matrice introduite. Il peut en résulter une modification des intensités des raies selon les éléments et le domaine spectral étudié.

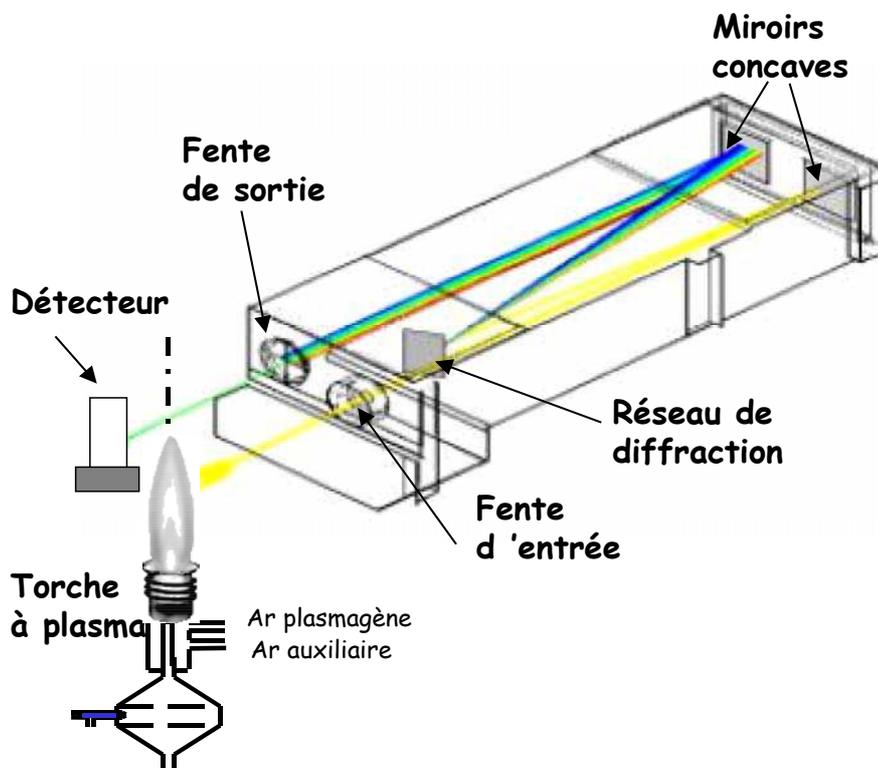


Figure III.40. Schéma de fonctionnement d'un ICP-AES séquentiel

2.2.1.2 ICP-MS

Principe : La spectrométrie de masse à plasma inductif couplé permet de séparer les ions produits dans le plasma en fonction de leur rapport masse/charge grâce à un filtre de masse basé sur l'association d'un champ électrique et d'un champ magnétique perpendiculaire au premier.

Fonctionnement (Fig. III.41) : Après formation des aérosols et les étapes d'atomisation et d'ionisation dans le plasma, identiques à l'ICP-AES, les ions sont extraits du plasma grâce à une interface formée de cônes métalliques, qui permet de passer progressivement de la pression atmosphérique du plasma, au vide poussé régnant dans le spectromètre de masse. Les photons, quant à eux, sont stoppés par un écran spécifique afin de ne pas perturber le comptage des ions. Ces ions ainsi échantillonnés pénètrent dans une enceinte dans laquelle règne un vide primaire, ils sont ensuite focalisés à travers une série de lentilles ioniques, séparés dans un filtre de masse (le plus souvent quadripolaire) en fonction de leur rapport m/Z et enfin détectés par un multiplicateur d'électrons. L'ICP-MS quadripolaire utilisé est un détecteur séquentiel mais rapide qui permet d'analyser quasi simultanément une large gamme de masse en quelques secondes seulement. Par ailleurs, ce type d'appareil présente une grande sélectivité (peu d'interférences spectrales) et une très grande sensibilité permettant d'analyser la plupart des éléments traces à des concentrations de l'ordre du ng.l^{-1} (ppt). L'ICP-MS permet de travailler à des concentrations 100 à 1000 fois inférieures à celles nécessaires pour l'ICP-AES. C'est à ce jour l'outil le mieux adapté à l'analyse de traces et d'ultra-traces.

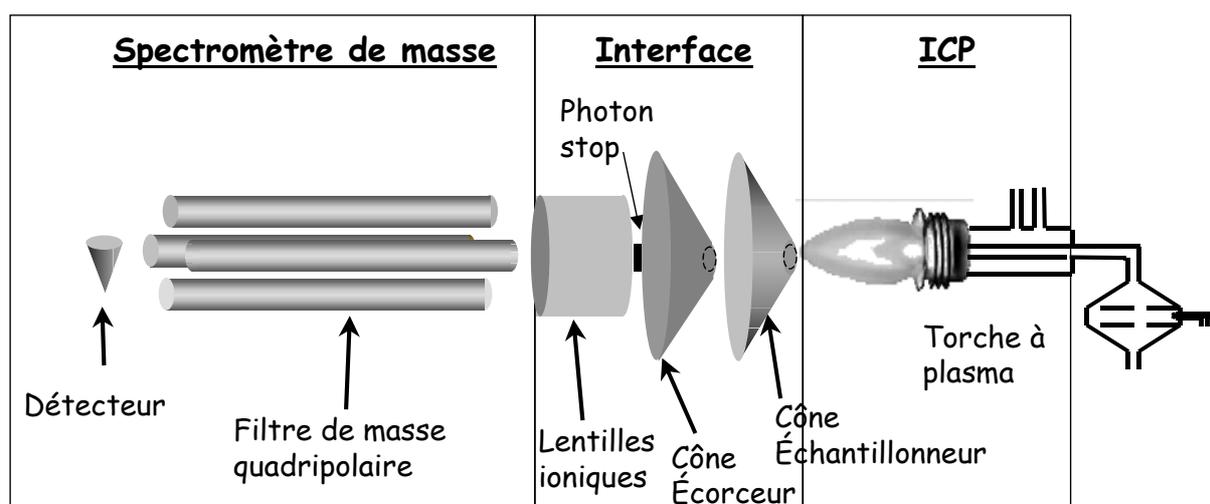


Figure III.41. Représentation schématique des différentes parties d'un ICP-MS quadripolaire.

L'ICP est donc respectivement utilisé comme source de lumière émise par la désexcitation radiative d'atomes et d'ions pour l'ICP-AES et, comme source d'ions pour l'ICP-MS. Il faut noter que l'ICP-AES et l'ICP-MS ont été conçus au départ pour l'analyse de solutions liquides. Ceci nécessite la mise en solution des échantillons qui seront injectés dans le plasma sous forme d'aérosols très fins ($<10\ \mu\text{m}$).

Le couplage du laser en amont des deux premières techniques permet d'introduire directement l'échantillon (sans préparation préalable de mise en solution) sous forme de fines particules (aérosol sec) et d'obtenir une haute résolution spatiale d'analyse puisque la taille du faisceau laser peut varier de 10 à 200 μm environ. Dans cette étude, les échantillons de coquilles Saint-Jacques sont analysés par couplage d'un laser Nd :YAG (UV, 266nm) à un ICP-MS (LA-ICP-MS).

Dispositif d'ablation laser : L'échantillon est placé dans une cellule d'ablation étanche (Fig. III.42) parcourue par un flux de gaz (généralement de l'Argon). Un système optique permet de focaliser le faisceau laser sur la surface à analyser et de régler la taille de ce faisceau (liée à la quantité de matière ablatée). La cellule d'ablation est montée sur une plaque motorisée permettant de fixer la zone à ablater. Le couplage d'un microscope et d'une caméra à ce dispositif assure un réglage précis de la zone de tir et le suivi direct de la qualité de l'ablation. La matière ablatée est transportée jusqu'au spectromètre par le flux continu d'Argon au moyen d'un simple tuyau assurant la jonction avec le spectromètre de masse (ICP-MS).

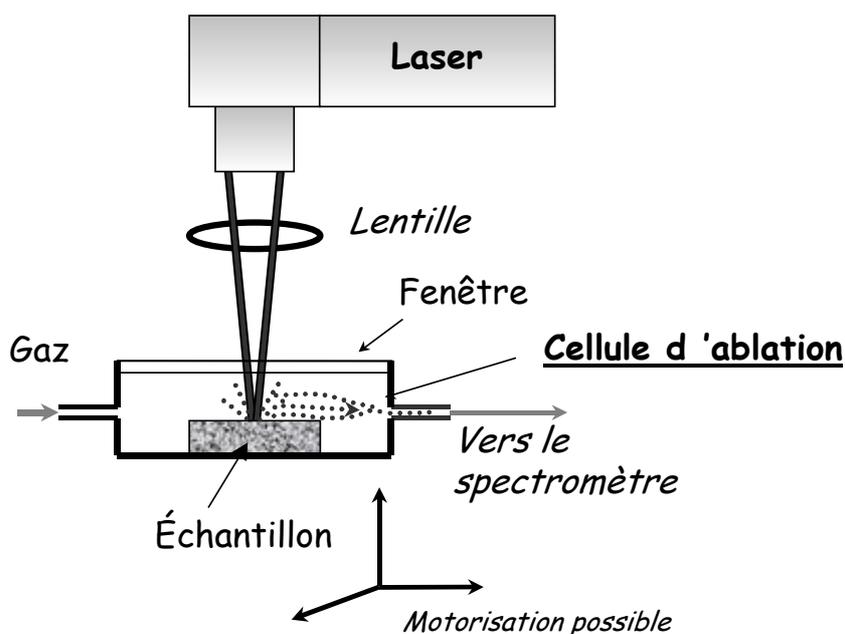


Figure III.42. Schéma illustrant le dispositif d'ablation laser

L'ablation laser est une alternative à la mise en solution de l'échantillon. Cette technique permet une analyse de surface de l'échantillon (pénétration du faisceau laser de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de micromètres). Différentes analyses sont réalisables (Fig. III.43), comme la cartographie (ablation en cratère), les profils latéraux (ablation en trait) ou même le balayage. La plupart des échantillons solides ne nécessitent pas ou peu de préparation particulière pour l'ablation laser, tout au plus un léger traitement de surface (polissage, nettoyage).

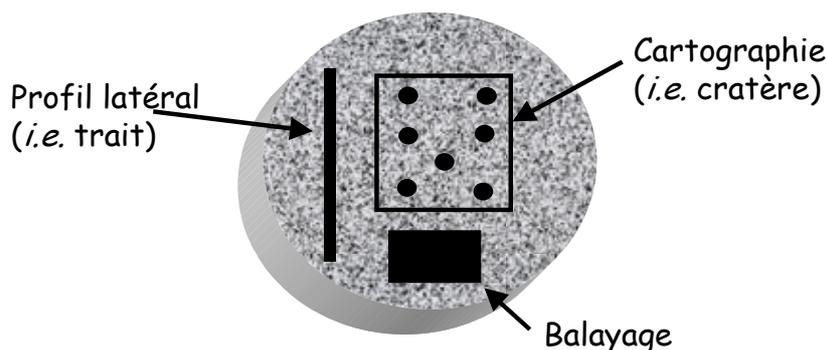


Figure III.43. Schéma illustrant les différents types d'ablation laser réalisables.

2.2.2 Analyse géochimique des coquilles

2.2.2.1 Collecte et préparation des échantillons de coquille

Dans le cadre de cette étude, cinq coquilles de la rade de Brest issues du banc de Roscanvel (Fig. I.2 ; Partie I), différentes de celles utilisées pour la détermination de la composition isotopique, ont été analysées. Les analyses sont effectuées systématiquement sur l'année de croissance 1 (entre l'hiver 1 et l'hiver 2), tout comme les études de croissance journalière (voir Partie II.1). Ainsi, trois de ces coquilles correspondent à l'année 2000 (A, B et C), une correspond à l'année 1998 (D), et une à l'année 1999 (E). La coquille A a été analysée avec un protocole analytique, un laser et un ICP-MS différents de ceux utilisés pour les coquilles B, C, D et E (voir § analyses en trait ou en cratère, p 213).

Une fois les coquilles Saint-Jacques vidées de leurs chairs, les valves gauches sont nettoyées à l'acide acétique (bain de 1 minute) afin de mieux visualiser les stries de croissance, rincées à l'eau Milli-Q puis séchées. Des sections de coquille (environ 20×45mm),

de dimensions adaptées à celles de la chambre d'ablation sont ensuite réalisées à l'aide d'une scie diamantée (Fig. III.44).

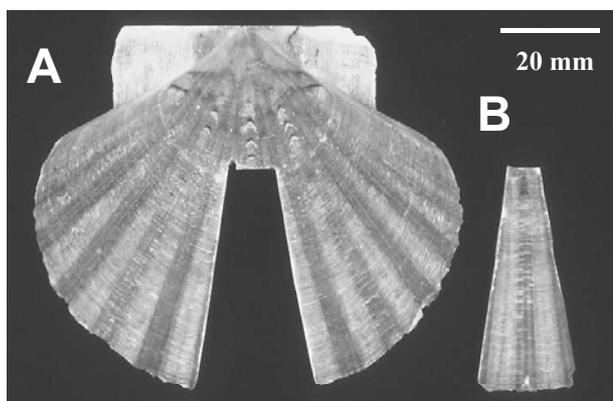


Figure III.44. (A) Valve gauche de coquille Saint-Jacques. (B) Fragment de coquille utilisé pour l'analyse par LA-ICP-MS.

2.2.2.2 Mise en œuvre du couplage LA-ICP-MS

Toutes les analyses ont été effectuées au Laboratoire de Chimie Analytique Bio Inorganique et Environnement de Pau (LCABIE, collaboration avec Pécheyrans et Amouroux). Un ICP-MS X7-Thermo Elemental et un laser LSX 100-Cetac ont été utilisés pour l'analyse des coquilles. Le laser est constitué d'un cristal Nd:YAG opérant à 266 nm (UV). Cet appareil venant d'être acquis par le LCABIE, une étape préalable de mise au point analytique a dû être mise en place pour l'analyse des coquilles Saint-Jacques.

➤ Nécessité de l'utilisation d'un étalon interne

Le couplage LA-ICP-MS requiert l'utilisation d'étalons internes pour corriger diverses instabilités et dérives i) du laser (focalisation manuelle, dérive énergétique) et ii) de l'ICP-MS au cours du temps. Cet étalon interne doit être un élément constitutif de la matrice en concentration invariante et avoir le même comportement que les analytes étudiés au cours de l'ablation. Les variations de signal observées sur l'étalon interne seront utilisées pour normaliser les résultats. Un isotope du calcium est généralement utilisé lors des analyses de carbonates de calcium (Vander Putten *et al.*, 1999). En effet sa concentration est considérée comme constante dans l'ensemble de la coquille (Stecher *et al.*, 1996) bien que l'homogénéité de la distribution de cet élément dans toute la coquille n'ait que rarement été vérifiée. Dans cette étude, le ^{43}Ca sera utilisé comme étalon interne, car en tant que constituant majoritaire

du squelette carbonaté des coquilles Saint-Jacques (40% en moyenne, Larvor, 1996), le calcium est l'élément le plus homogène dans la matrice et dont nous considérerons la concentration constante dans la coquille. La détermination future des concentrations de Ca tout le long de la coquille (analyse par microsonde électronique) s'avère cependant nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

La figure III.45 illustre les bénéfices de la normalisation des signaux par rapport au ^{43}Ca dans un verre de référence NIST 612 (12% CaO) de composition homogène et parfaitement connue (certifiée par le National Institute of Standards and Technology). Ce verre a été analysé trois fois au cours d'une période de cinq heures. Les résultats de la figure III.45 mettent en évidence cette dérive : les signaux de Baryum et de Strontium diminuent au cours du temps (variation de 40% au bout d'une heure). La normalisation par rapport au ^{43}Ca permet de corriger ces dérives (variation inférieure à 3% après cinq heures) et s'avère indispensable pour l'interprétation future des résultats. On remarque également que l'écart type obtenu sur les mesures est nettement amélioré par la normalisation au ^{43}Ca .

➤ Problèmes liés à l'analyse quantitative

Pour la détermination quantitative des éléments traces par LA-ICP-MS dans les calcites naturelles, des étalons externes sont requis pour établir la relation entre la réponse instrumentale de l'ICP-MS en terme de signal et la concentration de l'analyte. L'étalon choisi doit idéalement avoir la même matrice au niveau chimique et physique que celle de l'échantillon analysé. Cependant, actuellement, aucun étalon de calcite homogène n'est disponible dans le commerce. Une alternative est l'utilisation des verres NIST qui sont les étalons de références les plus utilisés en ablation laser ICP-MS (Vander Putten *et al.*, 2000). Cependant, le verre a une matrice complètement différente du CaCO_3 et ne réagit pas de la même manière à l'ablation. En d'autres termes, l'interaction laser/verre est différente de l'interaction laser/calcite. Certains auteurs ont testé des poudres de calcite pure compactée, dopées avec des solutions standards d'éléments traces (Craig *et al.*, 2000) et concluent que la matrice obtenue est encore trop éloignée de celles des calcites naturelles. La mise au point et la fabrication d'étalons de calcite selon plusieurs méthodes est en cours, en collaboration avec le Laboratoire de Chimie Analytique Bio Inorganique et Environnement de Pau (LCABIE, Pécheyran). Ainsi, dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons aux variations saisonnières des différents analytes relatives au calcium, et non aux concentrations absolues.

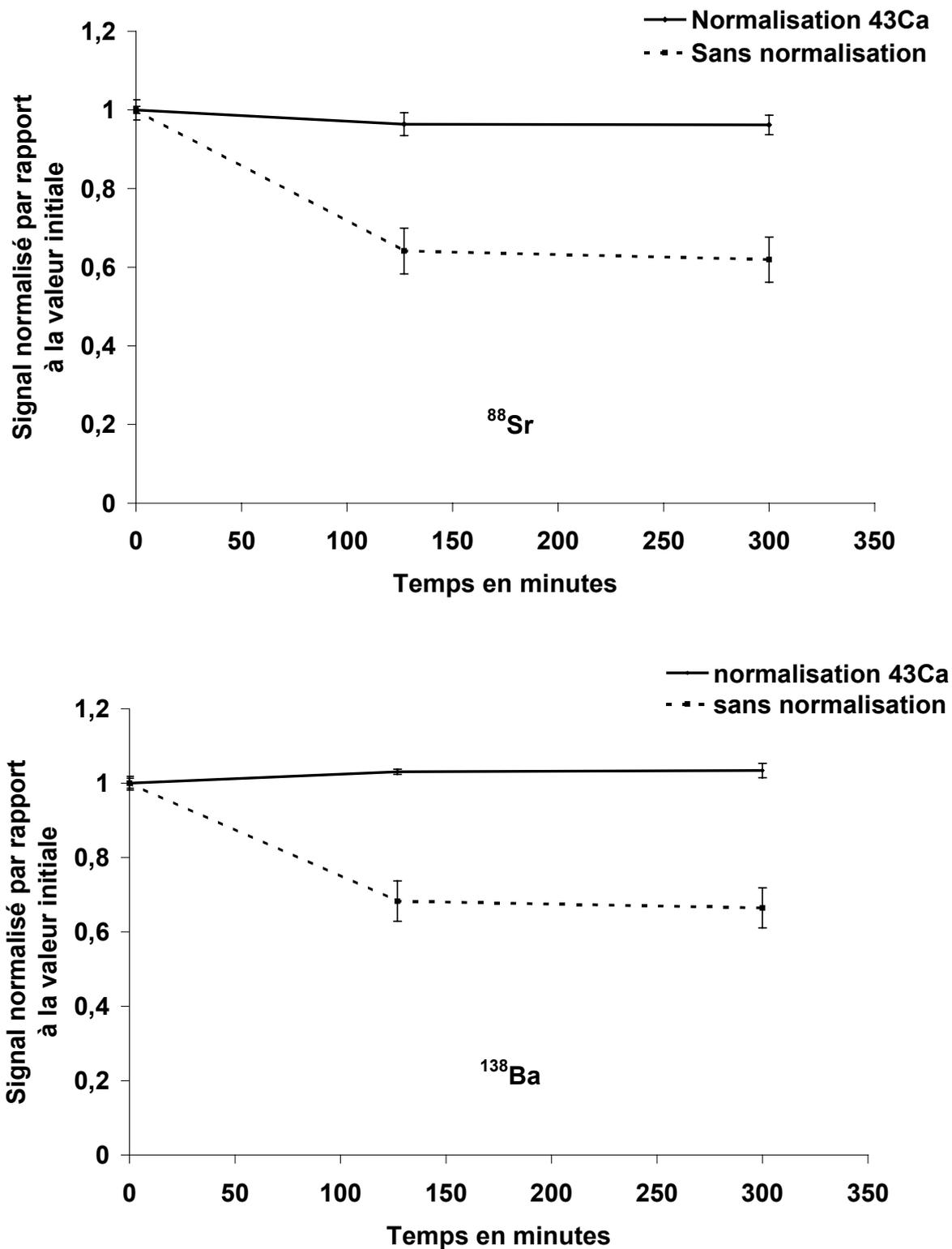


Figure III.45. Effet de la normalisation au ^{43}Ca sur la variation du signal de baryum et de strontium dans le NIST 612 au cours du temps.

➤ Analyses préliminaires – tests de validité de la technique

- Influence de l'énergie du faisceau laser sur la surface ablatée

La figure III.46 met en évidence l'influence de l'énergie du faisceau laser sur la taille de la surface ablatée. Une énergie moyenne de 0,7mJ a été adoptée afin d'obtenir des diamètres de cratères, ou des largeurs de traits, d'environ 80 μm . Ces résultats illustrent aussi les problèmes liés à la dérive énergétique du laser au cours de la journée. Une baisse de l'énergie du laser entraîne une diminution de la surface d'ablation, de la quantité de matière ablatée et par conséquent une diminution du signal des différents isotopes. L'utilisation du calcium comme étalon interne permet de palier à ces éventuels baisses énergétiques du laser.

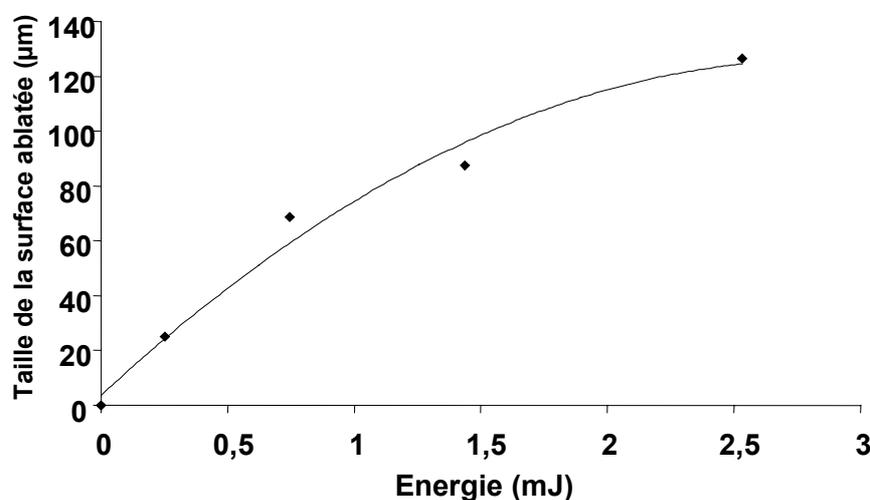


Figure III.46. Variations de la largeur de l'ablation en fonction de l'énergie du laser.

- Analyse en trait ou en cratère

Des analyses préliminaires (coquille A) ont été effectuées au cours de l'année 2001 au laboratoire de Zurich (Laboratoire ETH, D. Günther) avec un laser ArF opérant à 193 nm (UV). Des cratères de 80 μm de diamètre ont été réalisés à une fréquence de un cratère par strie (Fig. III.48) sur des échantillons de coquille Saint-Jacques. Ces premiers résultats ont conduit à l'hypothèse qu'une telle résolution était vraisemblablement trop fine, étant donnée la variabilité des réponses d'un spot à l'autre sur une même strie. Des ablations en trait pourraient permettre d'échantillonner une surface plus grande, et d'obtenir une moyenne plus représentative avec une meilleure reproductibilité. La croissance journalière de la coquille Saint-Jacques et la disposition des stries permet ce type d'ablation en trait, c'est à dire un échantillonnage sur la même strie (même période temporelle, Figures III.47, 49 et 50).

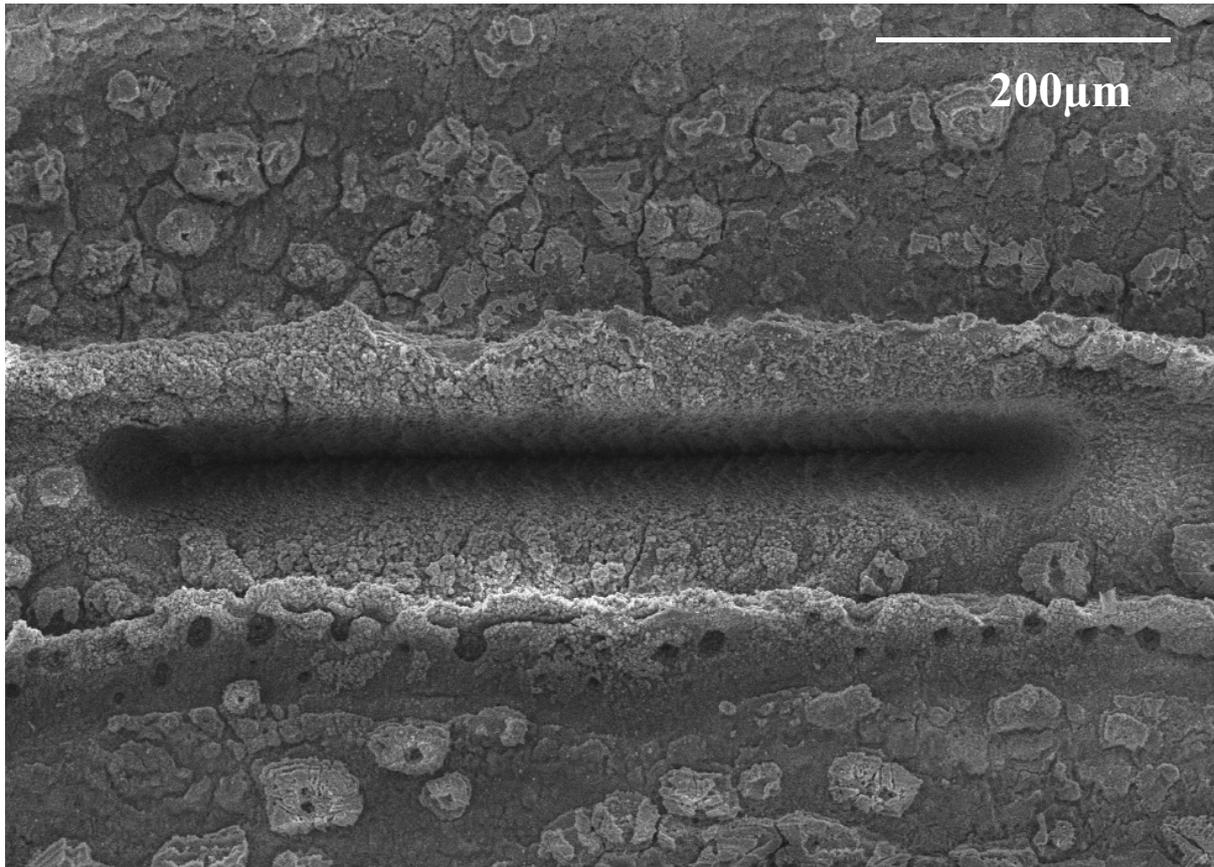


Figure III.47. Ablation en trait avec un laser LSX 100 Cetac, Nd YAG opérant à 266 nm (UV)

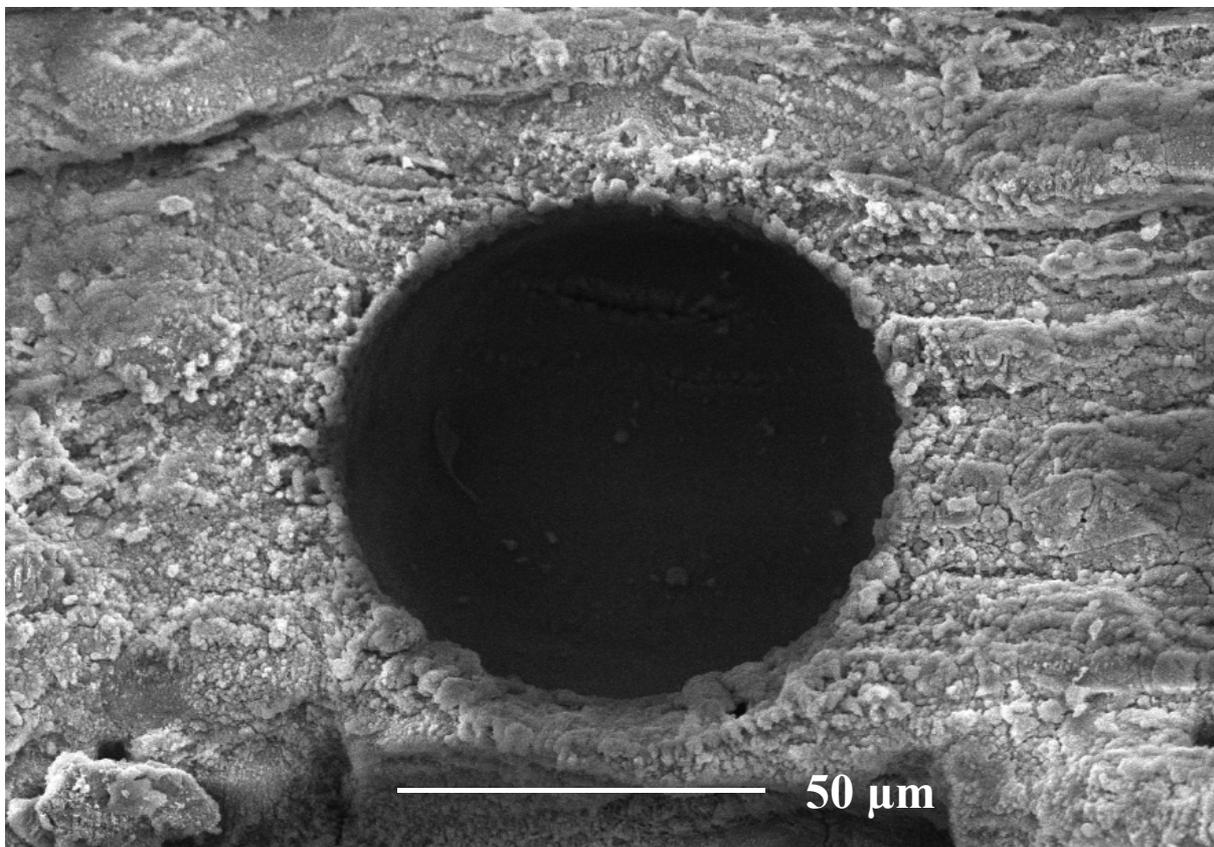


Figure III.48. Ablation en cratère avec un laser Excimer opérant à 193 nm (UV)

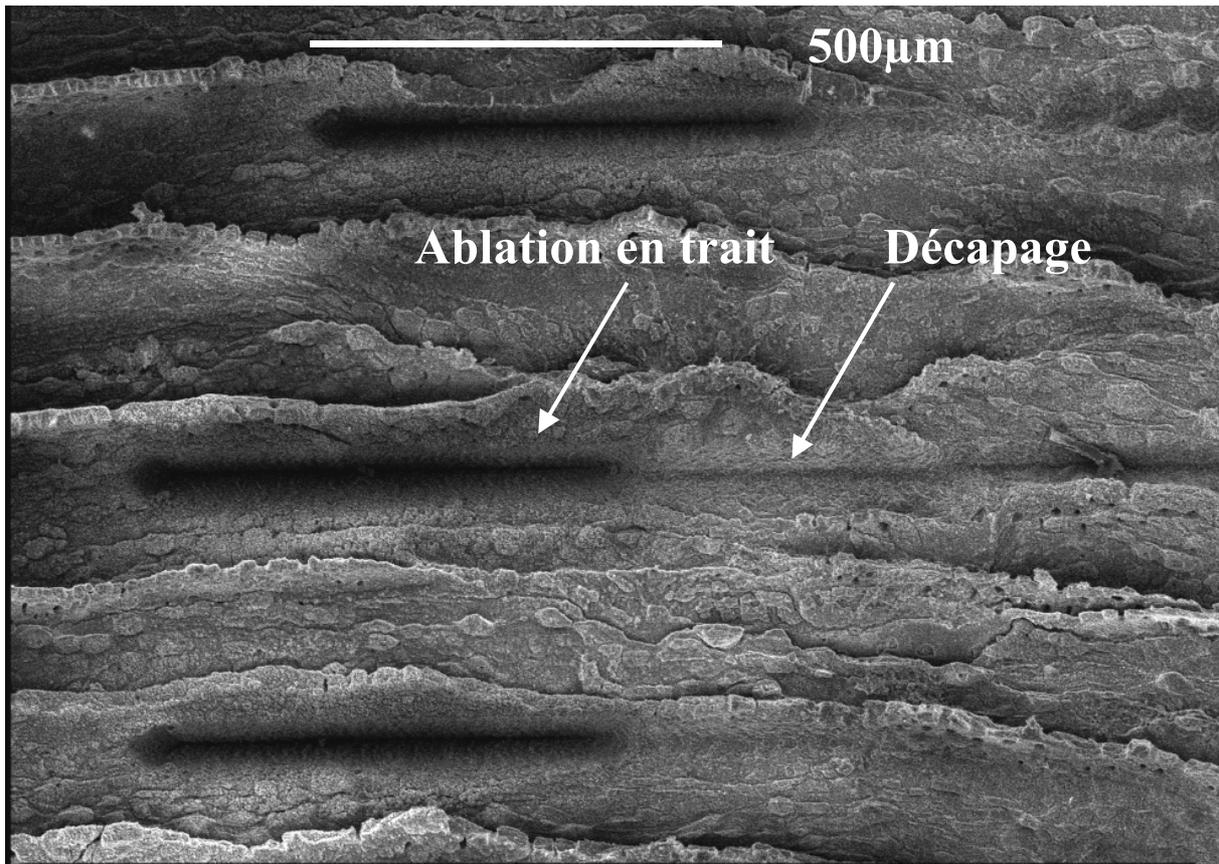


Figure III.49. Ablations en trait et visualisation du décapage (Laser Nd YAG-266 nm).

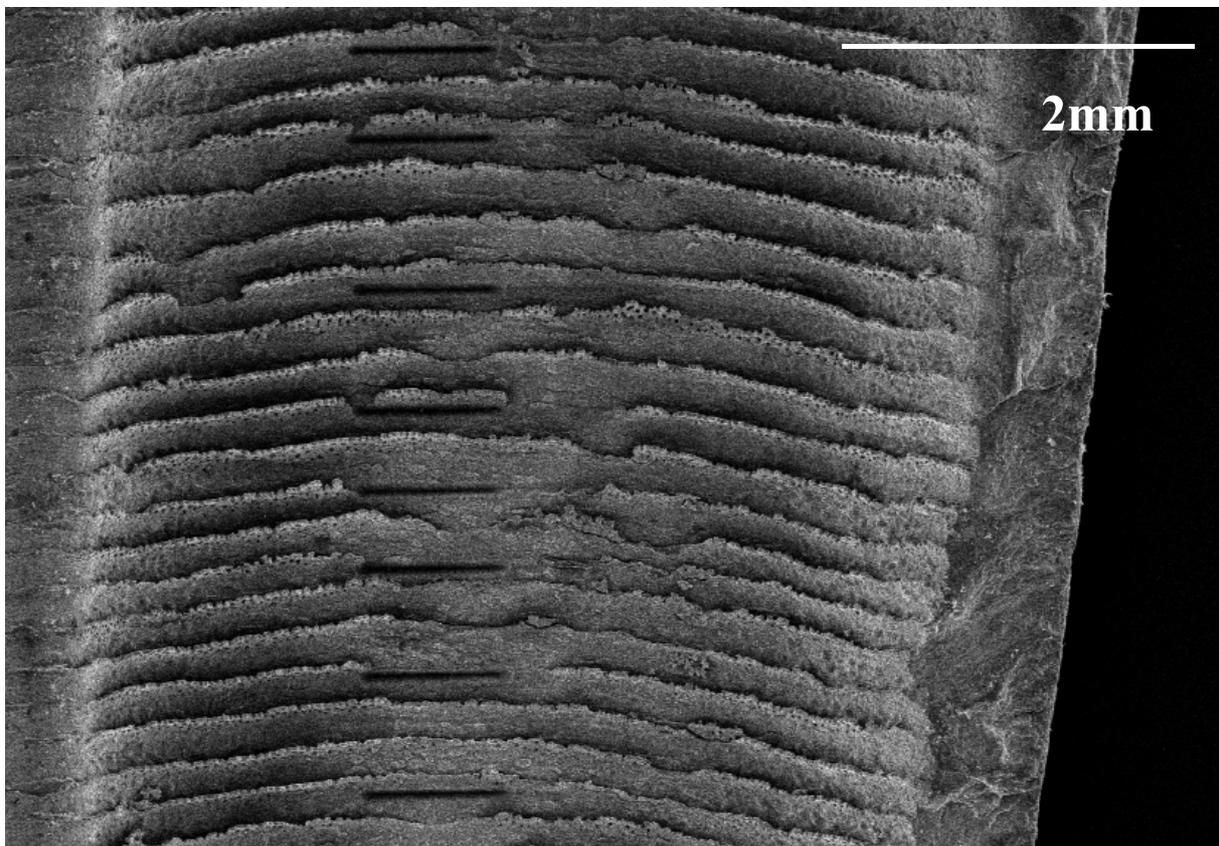


Figure III.50. Série d'ablations en trait (Laser Nd YAG - 266 nm).

Ainsi, au Laboratoire de Chimie Analytique Bio Inorganique et Environnement de Pau (LCABIE), des ablations en trait et en cratère ont été comparées dans les mêmes conditions analytiques (Laser Nd :YAG à 266 nm).

La figure III.51 illustre clairement, sur l'exemple du baryum, le gain en stabilité du signal en passant d'une ablation en cratère à une ablation en trait. La décroissance du signal observée lors de l'analyse par ablation en cratère s'explique d'une part par la forme gaussienne du faisceau laser (plus on descend en profondeur moins la surface ablatée est grande et plus le signal sera faible), et d'autre part par le fait que les aérosols formés au fond du cratère auront d'autant plus de mal à être extrait et conduit au plasma que la profondeur du cratère est grande.

Le tableau III.8 présente les erreurs relatives liées aux différents types d'ablation pour le strontium, le baryum et le calcium. Pour les deux conditions de défocalisation (défocus 10 et 500) du faisceau laser utilisées, les analyses en trait améliorent considérablement les écart-types relatifs sur les quantités des différents isotopes et sur les rapports au ^{43}Ca correspondants. Cependant l'ablation en cratère a pour avantage de pouvoir s'affranchir facilement des éventuelles contaminations de surface en ne considérant le signal qu'après une dizaine de secondes. L'ablation en trait ne permet pas une telle correction puisque le signal est moyenné sur toute la longueur d'ablation. Afin de palier à ces contaminations de la surface coquillière, un décapage préalable a été effectué. Il consiste en un balayage du faisceau laser de la surface à analyser 10 fois plus rapide ($50 \mu\text{m/s}$) que pour l'analyse, le laser opérant à la même fréquence (20 Hz, tableau III.11). Cette opération permet ainsi d'ablater une couche peu profonde et de ne pas biaiser les analyses ultérieures.

Tableau III.8. Valeurs des écart-types relatifs (%) selon le mode d'ablation utilisé (trait ou cratère) dans le cas d'un défocus 10 et 500 sur des échantillons de calcite de coquille Saint-Jacques.

Type d'ablation	Défocus	^{87}Sr	^{88}Sr	^{137}Ba	^{138}Ba	^{43}Ca	$^{87}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{88}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{137}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	$^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$
cratere	10	32,68	33,25	56,52	55,41	27,32	7,13	7,61	35,68	33,89
Trait		1,99	1,67	6,38	4,36	4,26	3,00	3,25	7,13	6,62
cratere	500	36,97	37,22	46,23	43,77	33,74	4,85	5,20	21,58	16,16
Trait		2,67	2,50	13,88	13,18	4,15	2,57	2,75	11,80	10,81

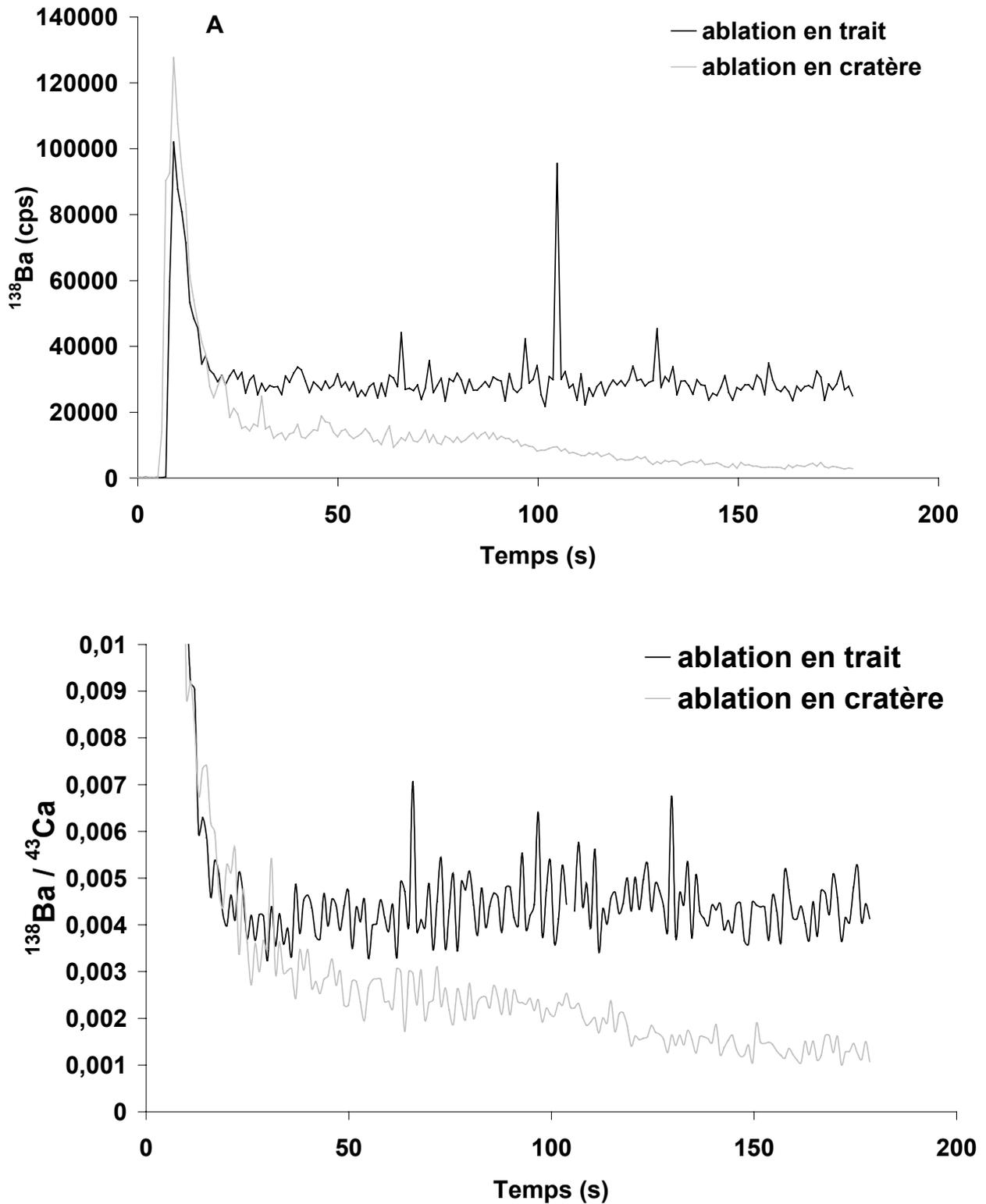


Figure III.51. Evolution du signal de baryum, ^{138}Ba en coups par seconde (A), et du rapport $^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$ (B) au cours d'une ablation en trait (courbe noire) et en cratère (courbe grisée).

Les résultats de cette pré-ablation par rapport à une ablation ordinaire sont illustrés dans le tableau III.9. Au cours des trois réplicats, on observe une baisse systématique des signaux pour tous les analytes étudiés. Les écart-types relatifs sont nettement diminués par le décapage qui, en nettoyant la surface coquillière, procure une analyse plus homogène et plus représentative.

Tableau III.9. Valeurs des signaux pour les isotopes du strontium, calcium et baryum (en coups par seconde), de leur rapport au ^{43}Ca et les écart-types relatives associées (RSD en %) avec (zones grisées) et sans décapage lors de trois réplicats sur des échantillons de calcite de coquille Saint-Jacques.

Type d'ablation	^{87}Sr	^{88}Sr	^{137}Ba	^{138}Ba	^{43}Ca	$^{87}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{88}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{137}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	$^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	
Sans décapage	1653534 8,03	18449075 7,87	3254 12,23	20255 14,18	5316993 6,63	0,31285 2,44	3,49093 2,01	0,00062 6,96	0,00383 7,74	moyenne RSD
Avec décapage	1589346 3,27	17714880 3,50	2507 6,21	16090 6,42	5067762 2,55	0,31489 1,83	3,50978 2,09	0,00050 5,49	0,00319 6,38	moyenne RSD
Sans décapage	1787077 5,85	19816736 6,56	4405 15,40	27989 13,20	5701783 5,11	0,31511 2,20	3,49400 2,36	0,00077 10,08	0,00492 8,11	moyenne RSD
Avec décapage	1541372 5,51	17117303 5,31	3528 5,04	22724 4,44	5023039 5,45	0,30855 1,35	3,42833 1,42	0,00071 2,52	0,00456 2,50	moyenne RSD
Sans décapage	1704833 6,55	18981540 5,95	3024 8,93	19458 7,24	5595717 6,33	0,30690 2,92	3,41887 3,28	0,00054 3,52	0,00351 3,28	moyenne RSD
Avec décapage	1518314 5,12	16940756 5,67	2590 7,96	16395 8,35	5117134 5,07	0,29855 1,76	3,33065 1,82	0,00051 3,64	0,00322 3,66	moyenne RSD

- Reproductibilité des mesures sur une même strie

Les variations de signal sur une même strie sont inférieures à 5% pour les différents isotopes et inférieures à 3% pour les différents analytes rapportés au ^{43}Ca (Tableau III.10). L'ablation en trait permet donc de moyennner les hétérogénéités et d'avoir une très bonne précision d'analyse sur toute la strie.

Tableau III.10. Valeurs des signaux pour les isotopes du strontium, calcium et baryum (en coups par seconde), de leur rapport au ^{43}Ca et les écart-types relatifs associés (RSD en %) lors de quatre répliquats sur des échantillons de calcite de coquille Saint-Jacques. La zone grisée représente l'écart-type relatif sur l'ensemble des répliquats.

Répliquats	^{87}Sr	^{88}Sr	^{137}Ba	^{138}Ba	^{43}Ca	$^{87}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{88}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{137}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	$^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	
1	1759607 4,77	19567635 5,06	2797 10,23	17760,78 11,30	5954491 4,54	0,297 1,71	3,303 1,58	4,71E-04 6,68	2,99E-03 7,04	moyenne RSD
2	1638987 3,08	18208602 2,85	2555 6,33	16246,34 4,45	5518393 3,62	0,298 0,80	3,318 1,67	4,66E-04 8,19	2,96E-03 4,75	moyenne RSD
3	1814038 3,85	20300424 4,45	2811 6,42	18207 5,77	5953786 3,58	0,306 1,54	3,424 2,50	4,73E-04 3,99	3,07E-03 3,43	moyenne RSD
4	1788794 6,56	19850843 5,64	2702 14,94	17120 14,90	5909049 6,16	0,304 2,38	3,374 2,32	4,58E-04 9,11	2,90E-03 9,33	moyenne RSD
RSD sur les 4 répliquats	4,43	4,62	4,34	4,91	3,62	1,41	1,66	1,49	2,42	

➤ Instrumentation et acquisition de données

Un ICP-MS X7-Thermo Elemental et un laser LSX 100-Cetac ont été utilisés pour l'analyse des coquilles. Le laser est constitué d'un cristal Nd :YAG opérant à 1064 nm. En sélectionnant la quatrième harmonique on peut travailler à 266 nm (UV). Les différentes conditions de fonctionnement sont résumées dans le tableau III.11. Les coquilles B, C, D et E ont été analysées sur trois jours du 12 au 14 août 2002.

Durant l'acquisition, les intensités de signal ont été enregistrées pour un ou plusieurs isotopes des éléments suivants : Mg (25 et 26), Ca (43), Mn (55), Ni (58 et 60), Cu (63 et 65), Zn (66 et 68), Sr (87 et 88), Cd (111 et 114), Sn (118 et 120), Ba (137 et 138), U (238), Se (82), Hg (202) et Pb (208). La comparaison des rapports des abondances relatives des différents isotopes de chaque élément à leur rapport dans la matrice de CaCO_3 nous a permis de vérifier la présence ou l'absence d'interférences, et de choisir l'isotope le plus pertinent pour les interprétations (le plus abondant : ^{26}Mg , ^{43}Ca , ^{55}Mn , ^{58}Ni , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{88}Sr , ^{114}Cd , ^{120}Sn , ^{138}Ba , ^{202}Hg et ^{208}Pb). Le baryum, par exemple, est à 71,7 % sous forme de ^{138}Ba et à 11,2% sous forme de ^{137}Ba . Le rapport naturel $^{138}\text{Ba}/^{137}\text{Ba}$ est donc de 6,4 (71,7/11,2). Dans nos échantillons de calcite, ce rapport est de 6,38 ($\pm 0,49$; N = 60) confirmant l'absence d'interférence. A l'opposé, le nickel, le cuivre, le zinc et le cadmium sont interférés, et seule la mesure future d'autres isotopes de ces quatre éléments nous permettra d'identifier et de corriger ces interférences.

Tableau III.11. Conditions de fonctionnement du LA-ICP-MS.

<p>Laser : CETAC LSX 100</p> <p>Longueur d'onde : 266 nm Mode du laser : Q-switched, defocus 500µm Energie : ~ 0.7 mJ Fréquence de tir : 20 Hz Vitesse de balayage : 5 µm/s (analyse), 50 µm/s (décapage de surface) Durée d'ablation : 112 s Distance ablatée : ~ 550 µm</p>
<p>ICP-MS : X7 Thermo Elemental</p> <p>Cônes Nickel Puissance plasma : 1350W Débits d'Argon : Plasmagène : 14 L/mn Auxiliaire : 1.43 L/mn Nébulisation (balayage cellule d'ablation) : 1.43 L/mn Dwell time : 38 ms Nombre d'isotopes : 23 Traitement du signal : mode "TRA Profile" du logiciel de gestion de l'ICPMS (Thermo Elemental Plasmalab)</p>

La figure III.52 représente l'allure du signal pour trois éléments (^{88}Sr , ^{138}Ba et ^{43}Ca) au cours d'une ablation. Pour chaque analyse, l'intensité du bruit de fond de chaque masse analysée a été mesurée pendant les cinq secondes (r_0) précédant l'ablation. Ce signal correspond au blanc Argon (seul l'argon balaye la cellule d'ablation et parvient au plasma, le tir laser n'ayant pas encore eu lieu). Les signaux des différents analytes ont ensuite été corrigés du signal de ce bruit de fond. La définition des cinq zones (r_1 à r_5 , chacune ayant une durée de 18 secondes) permet d'obtenir une très bonne précision sur la mesure du signal. Pour chaque zone, une valeur moyenne du signal mesuré sur une masse donnée est calculée. La valeur moyenne et l'écart-type du signal est ainsi obtenu en considérant les cinq mesures associées à ces cinq zones.

Les limites de détection, pour chaque analyte, correspondent à trois fois l'écart-type sur le bruit de fond (blanc Argon). Tous les isotopes cités ci-dessus, excepté l' ^{238}U et le ^{82}Se , ont un signal supérieur à cette limite de détection et seront donc pris en compte.

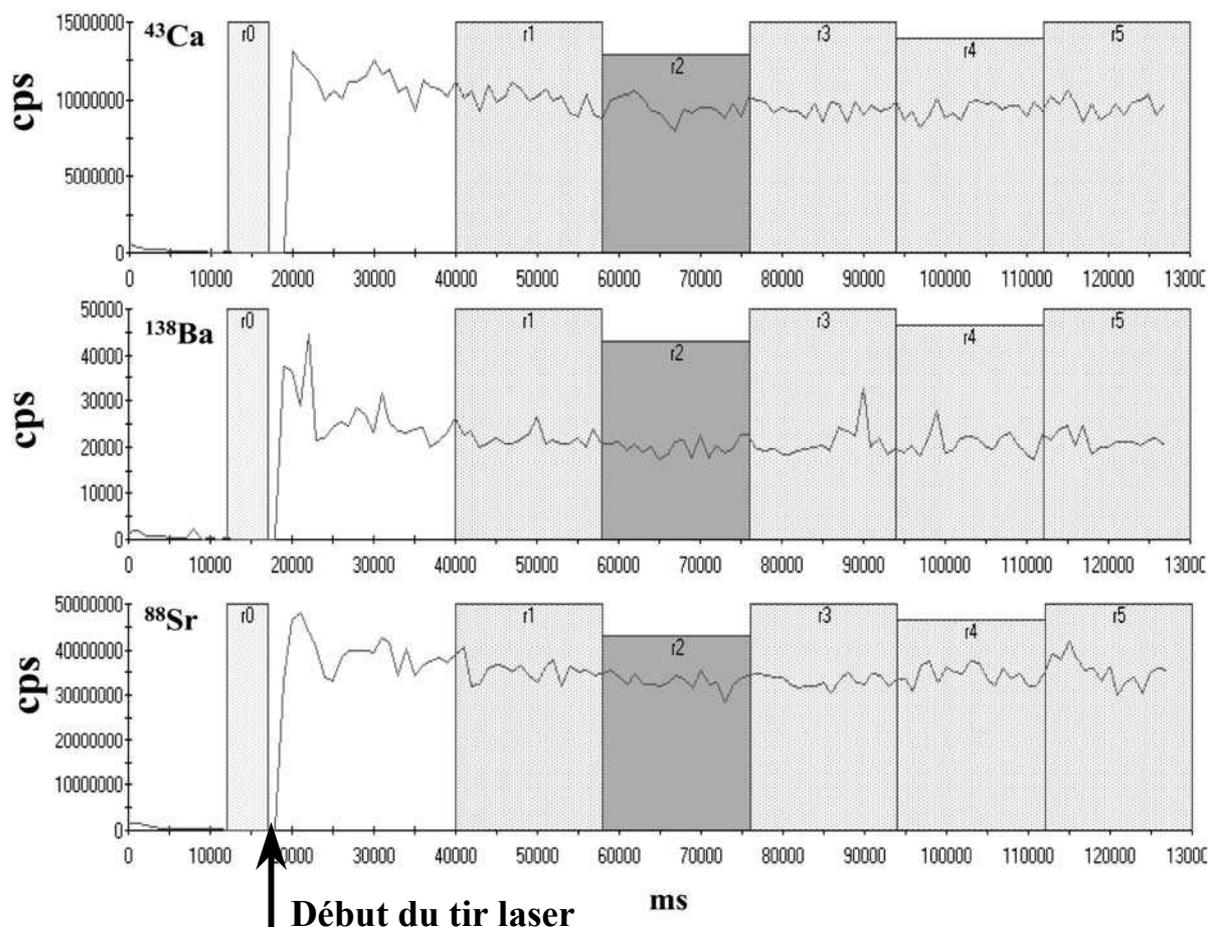


Figure III.52. Exemples de signaux en coups par seconde (cps) pour les isotopes ^{43}Ca , ^{138}Ba et ^{88}Sr , correspondant à un temps d'acquisition de 130 s (comprenant la détermination du blanc et l'ablation). Les différentes régions correspondent aux zones utilisées pour le calcul du signal moyen. Le bruit de fond est enregistré pendant 5000 ms (r0). Une moyenne des zones r1 à r5 permet le calcul du signal moyen pour un analyte et de l'écart-type correspondant.

2.2.2.3 Recalage des profils d'éléments traces par rapport à la croissance journalière

Une fois les analyses terminées, la section de coquille est photographiée au microscope électronique à balayage (MEB) afin de visualiser les différents traits d'ablation. Les différentes photos (une dizaine en moyenne par coquille) sont ensuite superposées à l'aide du logiciel *PanaView Image Assembler* afin de reconstituer la section de coquille (Fig.III.53). La croissance coquillière journalière est ensuite mesurée comme décrit dans la partie II.1 (Visilog 5.1), et un numéro de strie est attribué à chaque profil d'ablation permettant le recalage temporel précis des données.

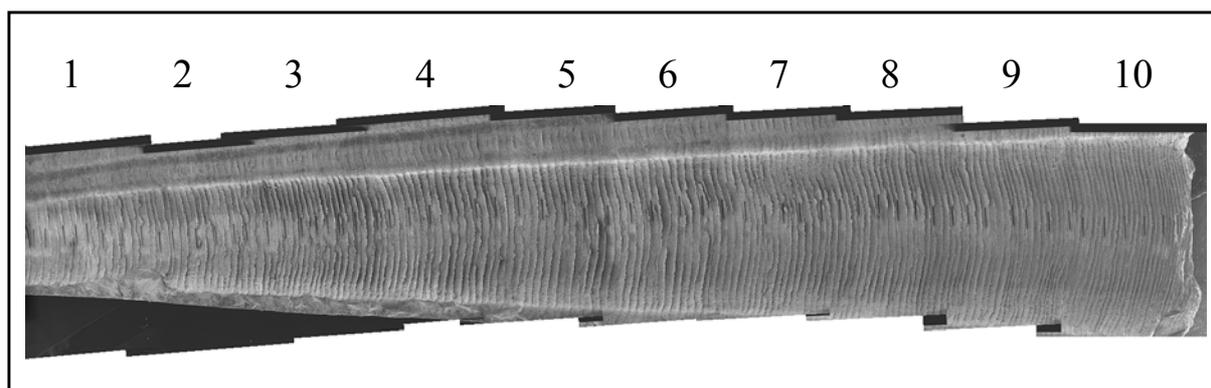


Figure III.53. Section de coquille après superposition des 10 images.

2.2.3 Analyse géochimique des particules en suspension et de l'eau de mer

2.2.3.1 Echantillonnage

Dans le cadre du suivi hydrologique à Roscanvel (Février-Décembre 2000), les échantillons ont été collectés à l'aide de bouteilles Niskin de 5 litres dans la couche de surface (1m de profondeur) et dans la couche de fond (1 mètre au-dessus du fond). De 500 ml à 1 litre d'eau de mer (selon la charge en particule) ont été passés sur des filtres en polycarbonates de 0,6 μm de porosité (Nucléopores) et de 47 mm de diamètre dans une unité de filtration à vis polysulfone (PSF) préalablement rincée à l'acide (1,2 M) et à l'eau distillée. Les filtres sont ensuite stockés dans des boîtes de pétri en plastique et séchés à l'étuve (60°C) pendant 48 heures. Les échantillons ainsi séchés sont conservés jusqu'à l'analyse. La fraction dissoute filtrée des échantillons d'eau de fond, est récupérée et stockée dans des flacons type nalgène au réfrigérateur jusqu'à l'analyse.

2.2.3.2 Traitement et analyse des échantillons

Filtres : La préparation et l'analyse des filtres de matière particulaire a été effectuée au musée Royal d'Afrique Centrale (Tervuren, Belgique), en collaboration avec André, Cardinal et Dehairs (Vrije Universiteit Brussel).

- Au laboratoire, les échantillons filtrés sont digérés dans des récipients en Téflon fermés (Savilex PFA, 22ml) à l'aide d'un mélange d'acides pour récupérer le particulaire sous forme dissoute en vue de l'analyse à l'ICP-AES qui permet uniquement l'analyse

d'échantillons en solution. Les digestions ont été effectuées dans une salle blanche soumise à une surpression d'air filtré afin d'éviter toute contamination par introduction d'air extérieur. Avant toute attaque, les Savilex en Téflon sont préalablement nettoyés à l'aide d'un mélange de trois acides concentrés de qualité Suprapur (1,5 ml d'HCl / 1ml d'HNO₃ / 0,5 ml d'HF), pendant toute une nuit à 95°C, puis rincés trois fois à l'eau Milli-Q et séchés. Les filtres sont ensuite transférés dans les Savilex propres et l'ensemble pesé à la balance de précision (10⁻⁴ mg).

Les échantillons sont dissous à 95°C pendant une nuit dans un mélange des trois acides concentrés de qualité Suprapur (1,5 ml d'HCl / 1ml d'HNO₃ / 0,5 ml d'HF) ajouté dans les Savilex. Cette digestion s'effectue sous hotte à flux laminaire. Une évaporation à sec est ensuite effectuée pendant deux à trois heures toujours sous la hotte à flux laminaire pour éliminer les acides concentrés : les Savilex débouchés restent donc sur la plaque chauffante à 110°C jusqu'à ce que les acides soient entièrement évaporés. Le résidu obtenu est dissous dans 2,5 ml de HNO₃ (2%) et le volume ajusté à 11ml par pesée avec de l'eau Milli-Q. Le poids final soustrait du poids du filtre et du Savilex permettra de connaître la dilution exacte des échantillons. Avant l'analyse spectrométrique, les échantillons (résidu + acide + eau MilliQ) sont transférés dans des tubes en polypropylène de 12 ml en évitant de transvaser les restes de filtres susceptibles de boucher l'ICP-AES. Les Savilex en Téflon sont ensuite débarrassés des résidus de filtre Nucléopore et nettoyés suivant le même protocole d'attaque acide (une nuit à 95°C dans un mélange des trois acides).

Des blancs ont été effectués suivant la même procédure analytique avec une solution du mélange des réactifs seule (sans filtre) ainsi qu'à des filtres vierges du même type (Nucléopore). Le résultat des analyses des blancs sera soustrait au signal de tous les échantillons.

- Les éléments traces sont ensuite analysés par spectrométrie d'émission atomique couplée à une torche à plasma (ICP-AES, Thermo Optek Iris Advantage). La dérive de l'appareil au cours du temps (dérive du rendement de nébulisation, dérive de transfert énergétique du plasma) est corrigée automatiquement par l'introduction simultanée d'étalons internes non présents dans les échantillons à analyser. Dans le cadre de nos analyses, nous avons choisi l'Or (Au) et l'Yttrium (Y) dont les raies atomiques et ioniques permettent de corriger les éventuelles dérives instrumentales sur les différents analytes recherchés.

Pour l'analyse quantitative, des solutions étalons représentatives des analytes recherchés ont été utilisées. Le protocole analytique a par ailleurs été validé par l'analyse de

différents échantillons de roches de référence dont la composition élémentaire est certifiée (DWA, dolomite ; SGR-1, argile ; JGB-1, gabbro).

Selon les recommandations IUPAC, les limites de détection sont calculées à partir de l'écart-type (SD) sur 10 analyses du blanc (eau Milli-Q). Tous les analytes mesurés présentent des concentrations supérieures à dix fois la limite de détection.

- Les échantillons n'étant pas rincés à l'eau distillée, la présence de cristaux de sels peut apporter une certaine quantité d'éléments qu'il faut corriger de la concentration totale obtenue. La présence de sels est détectée par l'analyse du sodium (Na). Pour les éléments dont le rapport X/Na était plus de dix fois inférieur au rapport du même élément X/Na dans l'eau de mer, une correction a été appliquée par la formule suivante en assumant que tout le Na provient du sel de mer : $X_p = X_{tot} - Na \times (X/Na)_{sw}$, où X_{tot} est la concentration totale de l'élément et X_p est la concentration corrigée de l'apport du sel et X/Na_{sw} , le rapport de l'élément et du Na dans l'eau de mer d'après Broecker & Peng (1982). Cette correction a été appliquée uniquement au Sr, les autres éléments ayant des abondances supérieures à dix fois le rapport dans l'eau de mer, suggérant que la contribution du sel de mer était négligeable.

D'autre part, le signal observé représente à la fois la fraction biogénique de la matière particulaire (liés aux processus biologiques en rade de Brest) et la fraction lithogénique provenant des apports des rivières. Une correction supplémentaire permet de s'affranchir de la fraction lithogénique. La contribution de la fraction lithogénique peut en effet être corrigée par l'équation suivante : $X_{xs} = X_{tot} - R \times (X/R)_{croûte}$, où X_{xs} est la concentration de l'analyte en excès (fraction biogénique), X_{tot} est la concentration totale de l'élément, R est la concentration d'un élément 100% lithogénique de référence (concentration dans la croûte terrestre), et X est la concentration de l'analyte étudié dans la croûte terrestre (d'après Taylor & McLennan, 1985, Ba = 600ppm ; Ti = 6000ppm ; Sr = 200ppm ; Mg = 13300ppm ; Mn = 852 ppm). Cette méthode implique cependant un biais conséquent si la composition des roches des bassins versants du site considéré diffère de la composition moyenne de la croûte terrestre.

L'aluminium et le titane sont généralement utilisés comme référence lithogénique (Cardinal *et al.*, 2001b) ; cependant, leur origine exclusivement lithogénique est actuellement débattue (Moran & Moore, 1992). L'utilisation du titane donnant des résultats plus cohérents dans notre étude, la correction par cet élément a été privilégiée.

Eau de mer : Le traitement et l'analyse des échantillons d'eau de mer ont été effectués au Laboratoire de Chimie Analytique Bio Inorganique et Environnement (LCABIE, Pau). Les échantillons d'eau de mer n'ayant pas été acidifiés immédiatement après le prélèvement, ils ont été acidifiés à 2% d'acide nitrique Suprapur pendant 2 jours, puis trente minutes aux ultra sons avant l'analyse, afin de remettre en solution les éléments éventuellement absorbés sur les parois. Seuls le baryum et le strontium ont été analysés à travers les isotopes suivants: ^{137}Ba , ^{138}Ba , ^{87}Sr , ^{88}Sr . Les échantillons ont été dilués 30 fois pour l'analyse du baryum et 5000 fois pour le strontium, et analysés avec un ICP-MS X7 CCT de Thermo Elemental. Un étalonnage externe par l'ajout de quantités connues de baryum et de strontium permet de quantifier les résultats. Les effets de matrice et les dérives instrumentales sont corrigés par l'ajout de deux étalons internes (Y et Bi).

2.3 Résultats

2.3.1 Particules en suspension

Les différentes fractions des éléments sous forme particulaire, totale et biogénique, sont présentées sur les figures III.55 à III.59. La correction lithogénique a été effectuée avec le titane, élément d'origine lithogénique, dont l'évolution saisonnière des concentrations dans l'eau de la rade est très étroitement liée au débit des rivières (Fig. III.54).

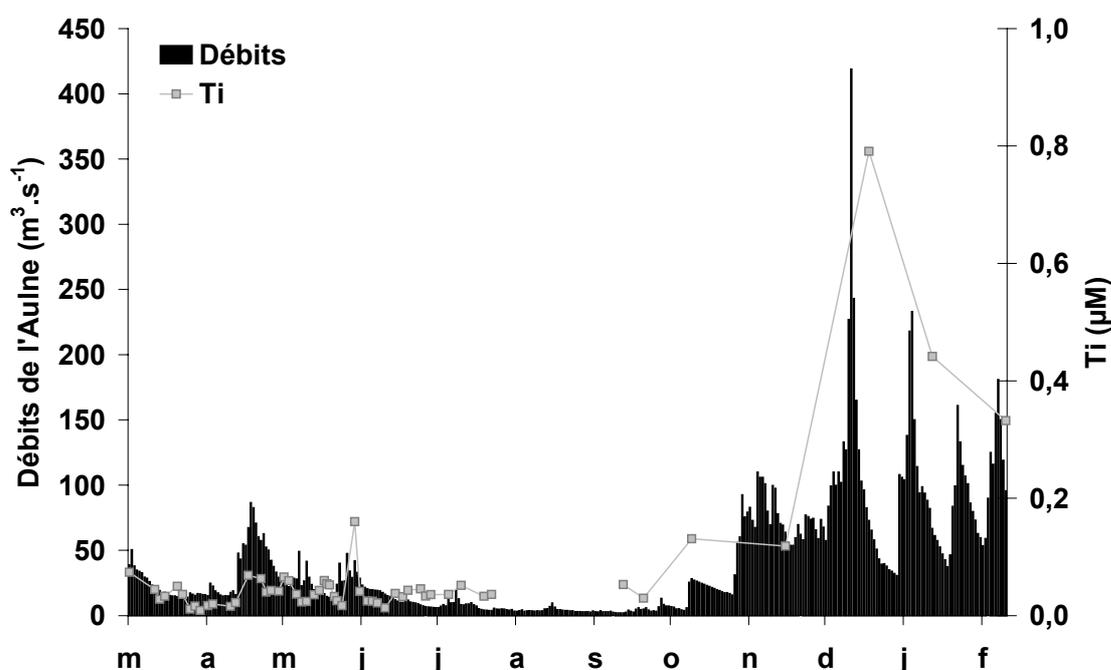


Figure III.54. Variations saisonnières des concentrations en titane (μM) et du débit de l'Aulne ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) en 2000.

Tous les éléments étudiés (Mn, Ba, Sr, Mg) ont une concentration dans l'eau fortement influencée par les apports des rivières, ceci étant particulièrement évident lors des crues du mois de décembre 2000 et de janvier 2001. Dans certaines situations, des valeurs négatives des concentrations corrigées des apports lithogéniques sont observées, dans quelques cas c'est la correction elle-même qui ne semble pas modifier le signal chimique ; de telles constatations signifient que la composition chimique moyenne de la croûte terrestre utilisée pour la correction lithogénique est significativement différente de celle du bassin versant de la rade de Brest.

Pour le baryum, cette correction semble satisfaisante. Les concentrations en baryum particulaire biogénique oscillent entre 0 et 6nM, avec des pics marqués le 3 et le 27 mars, le 20 mai, le 24 juillet et le 14 septembre (Fig. III.55).

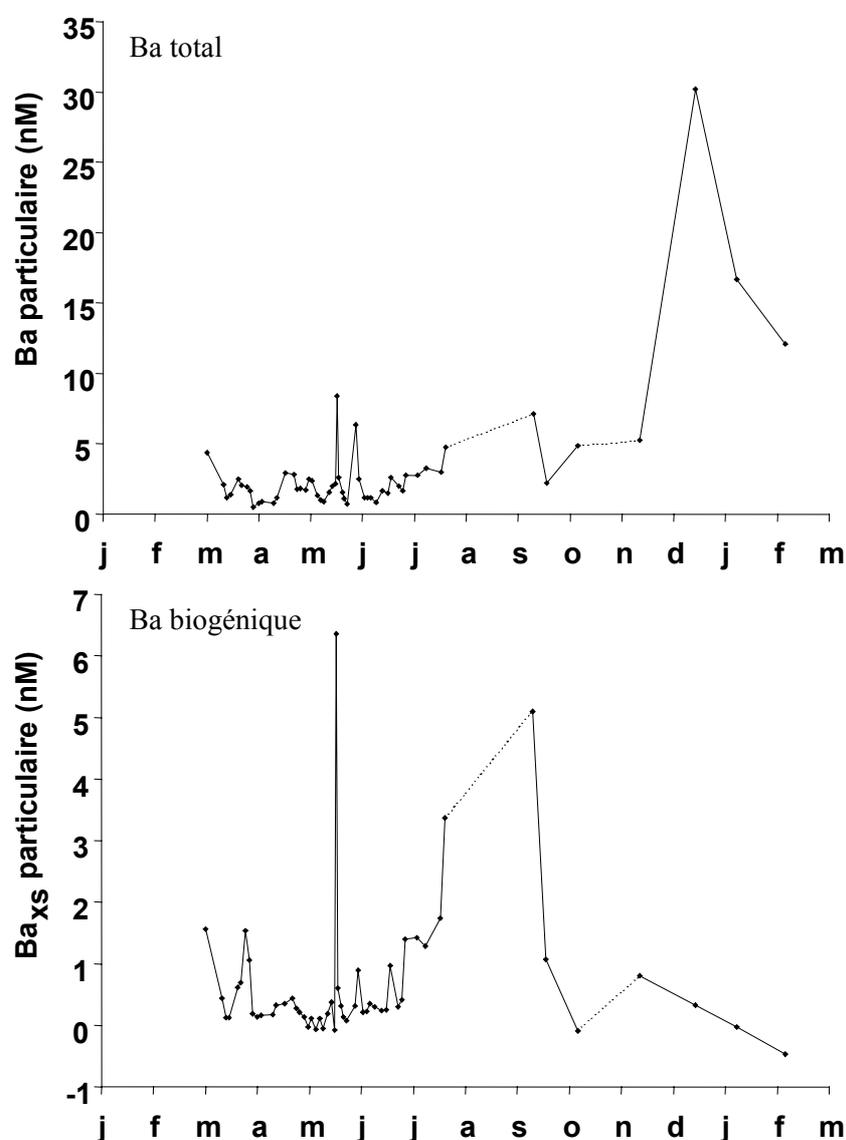


Figure III.55. Variations des concentrations en baryum particulaire total et biogénique (nM) au cours de l'année 2000.

Pour le strontium, la correction ne permet pas de corriger les forts apports lithogéniques hivernaux (Fig. III.56). Le substratum des bassins versants est ancien et composé de roches métamorphiques et de massifs granitiques, contenant des feldspaths riches en strontium (Benoit, com.pers). On peut ainsi supposer que les apports de strontium lithogénique sont plus importants que ceux estimés avec la composition moyenne de la croûte terrestre.

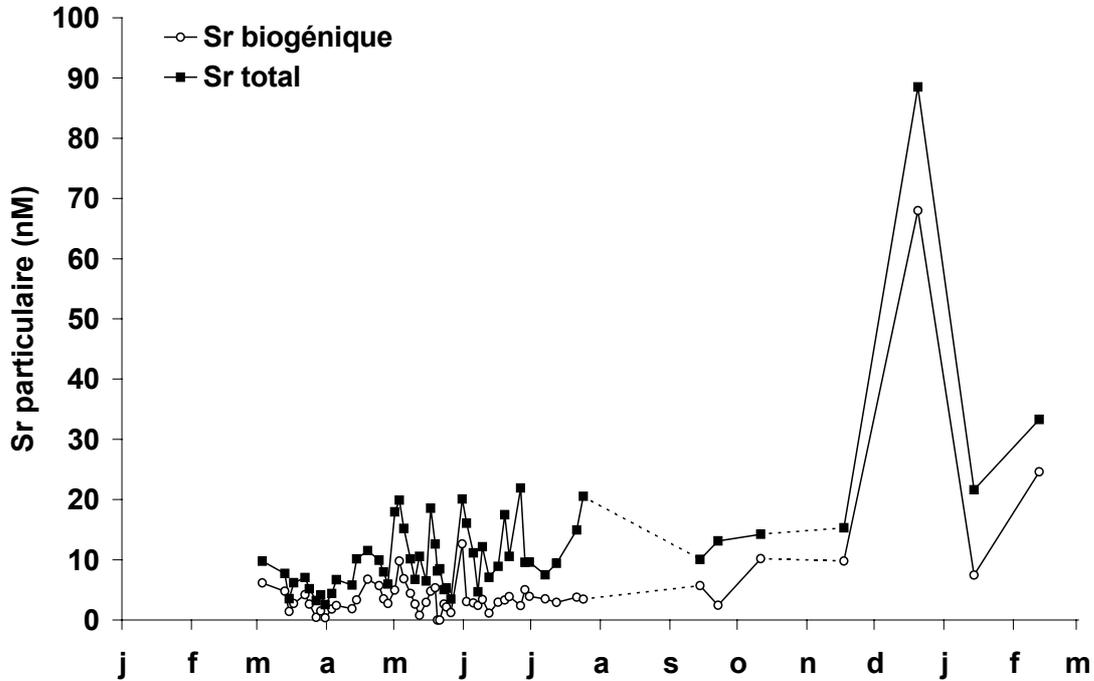


Figure III.56. Variations des concentrations en strontium particulaire avec et sans correction lithogénique (nM) au cours de l'année 2000.

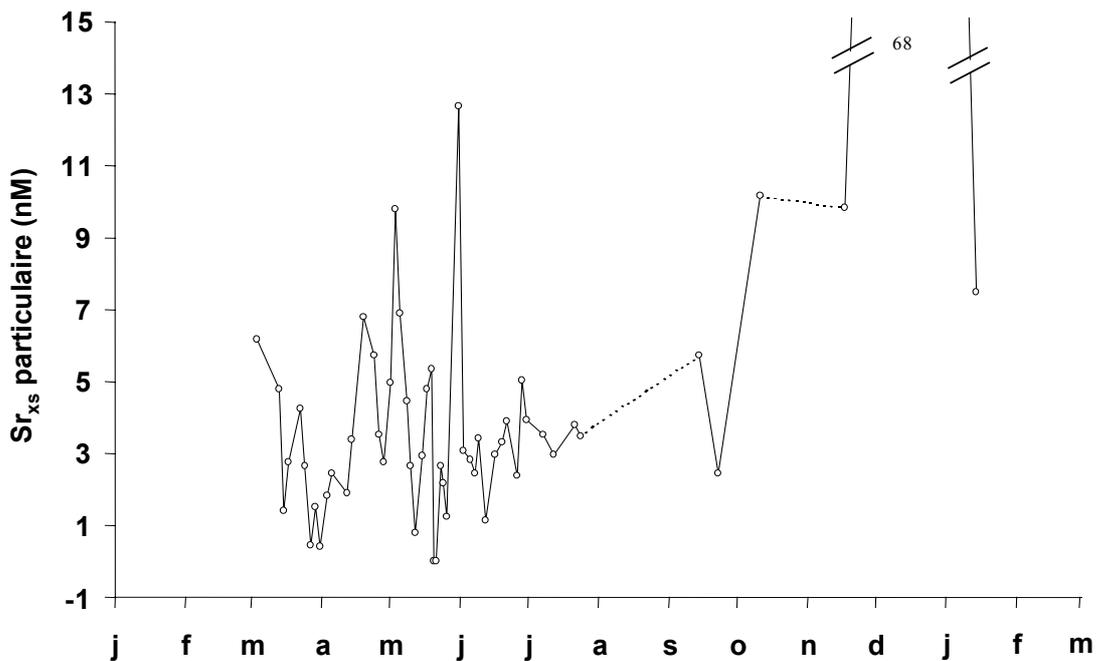


Figure III.57. Variations de la concentration en strontium particulaire biogénique (nM) au cours de l'année 2000.

Si l'on néglige le pic hivernal, très probablement surestimé, les concentrations en strontium biogénique varient d'un facteur 10, avec de fortes oscillations (Fig. III.57). Les pics les plus importants sont observés le 3 et le 24 mars, le 19 avril, le 3, le 19 et le 31 mai, le 28 juin et le 14 septembre.

Le magnésium total est faiblement influencé par la fraction lithogénique (Fig. III.58). Cet élément présente de fortes fluctuations saisonnières (de 0,6 à 13 μ M) avec une succession de pics durant toute la période de mesure.

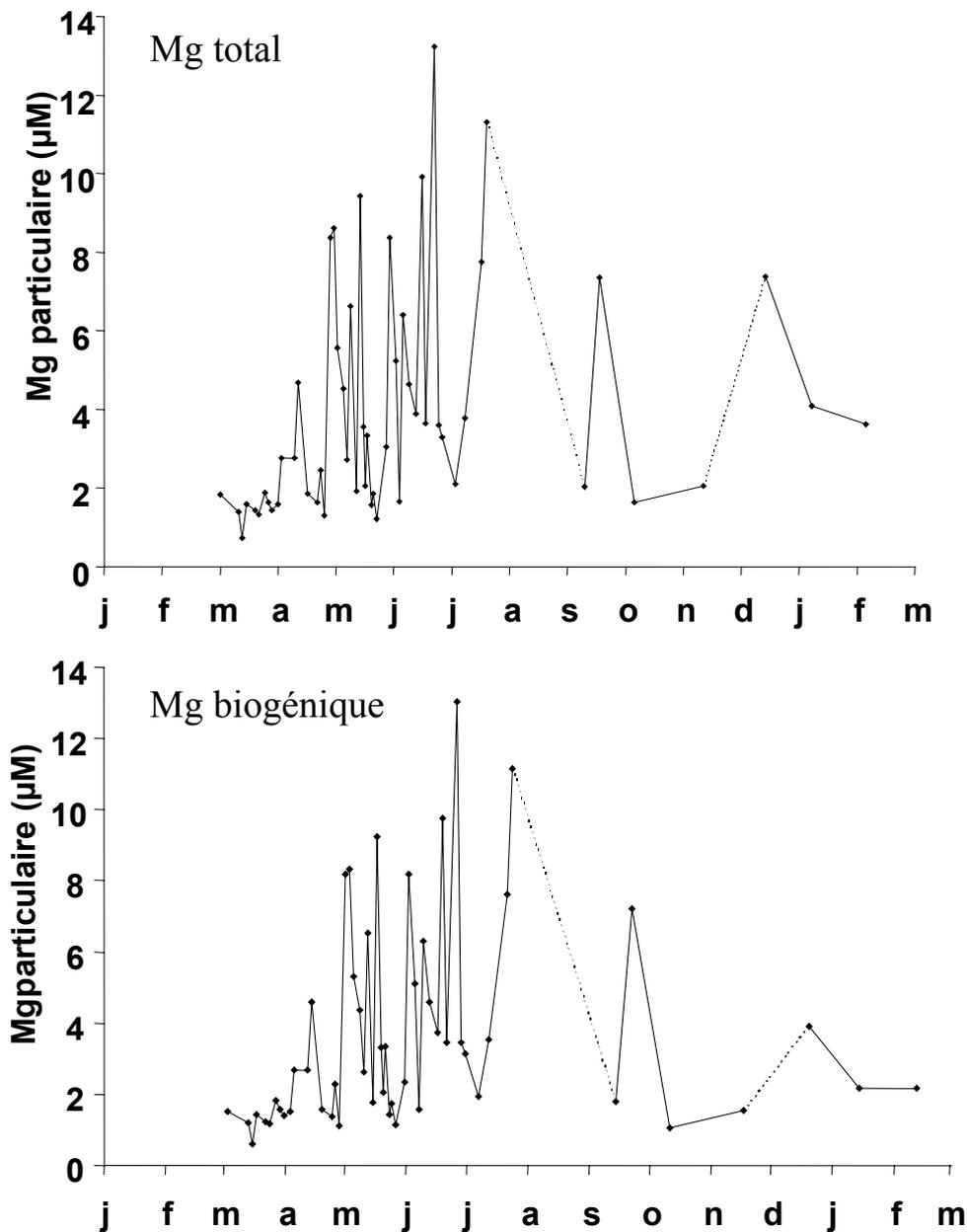


Figure III.58. Variations des concentrations en magnésium particulaire total et biogénique (μ M) en 2000.

Les concentrations de manganèse, comme celles de baryum et de strontium sont fortement influencées par la fraction lithogénique (Fig. III.59). Cependant, tout comme pour le strontium, la correction n'est pas satisfaisante puisqu'elle produit des valeurs hivernales négatives. Nous pouvons toutefois considérer que cette correction donne une bonne idée des pics de manganèse biogénique puisqu'elle a tendance à surestimer la fraction lithogénique. Ces pics de manganèse sont observés du 24 au 1^{er} mai, le 21 mai et le 12 juillet.

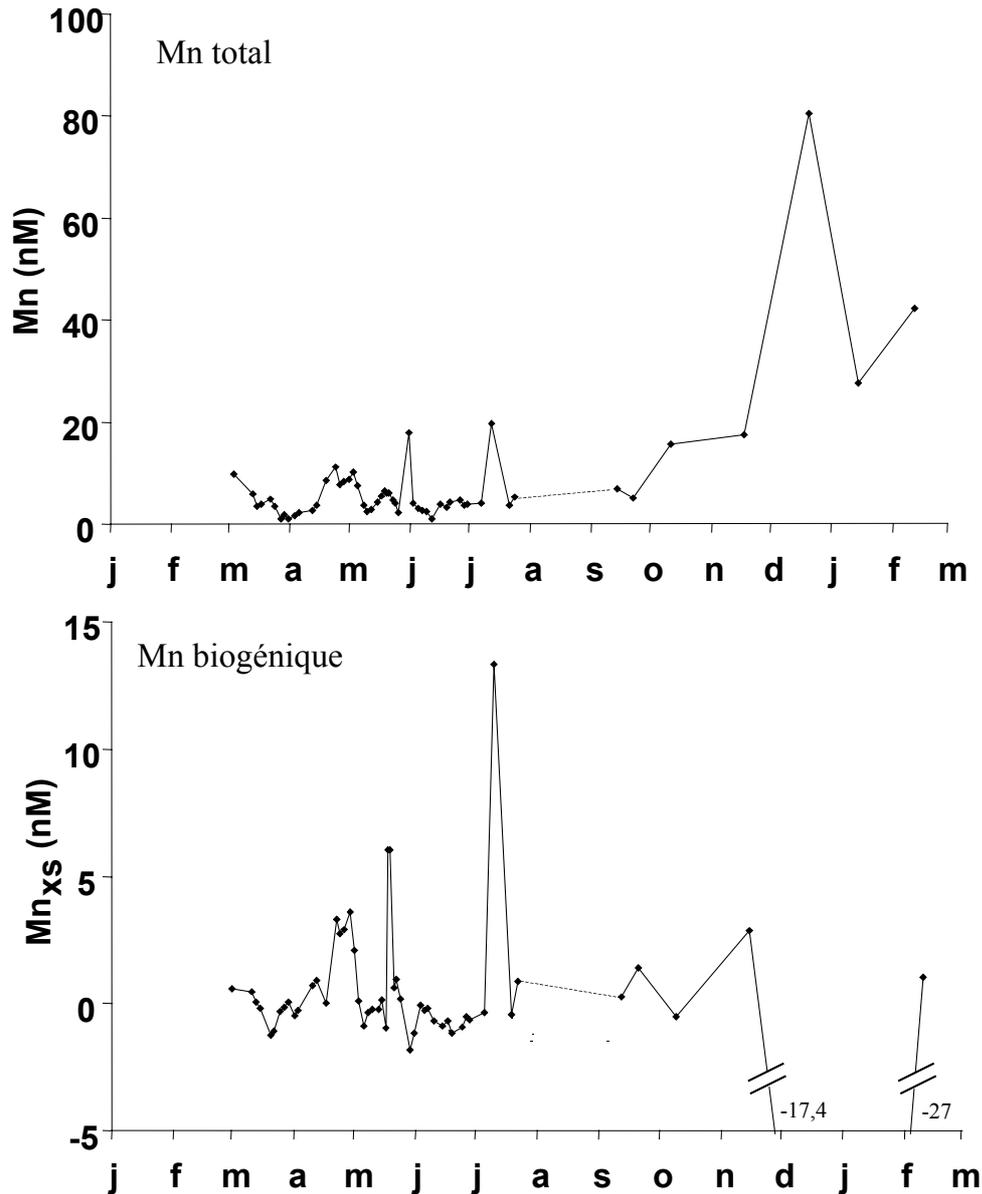


Figure III.59. Variations des concentrations en manganèse particulaire total et biogénique (nM) en 2000.

2.3.2 Eléments dissous dans l'eau de mer

La concentration de baryum dissous à Roscanvel oscille entre 45 et 104 nM, avec une valeur moyenne autour de 58 (± 12) nM (Fig. III.60). Le strontium a une concentration 1000 fois plus élevée avec une valeur moyenne de 76 (± 12) μM , oscillant entre 48 et 153 μM (Fig. III.60). Plusieurs pics sont observés autour de ces valeurs moyennes, le 13 mars, le 14 avril, le 20 et le 31 mai, le 5 juin, le 21 juillet, le 14 septembre 2000 et en janvier 2001 pour le baryum, le 31 mars 2000 pour le strontium.

Ces valeurs sont conformes aux concentrations moyennes des eaux océaniques généralement rapportées, oscillant entre 32 et 150 nM pour le baryum et de 90 μM pour le strontium (Bruland, 1983).

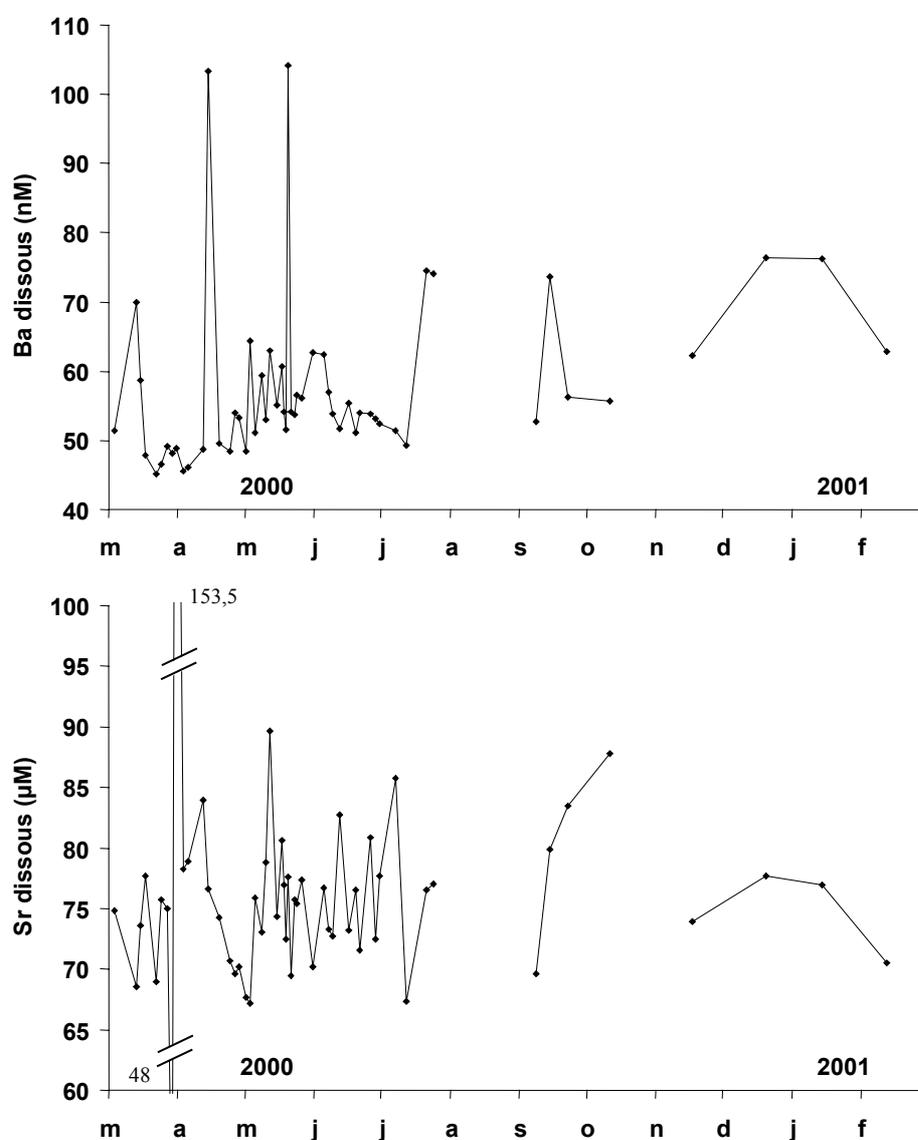


Figure III.60. Variations temporelles des concentrations en Ba (nM) et Sr dissous (μM) au cours des années 2000 et 2001.

2.3.3 Croissance coquillière

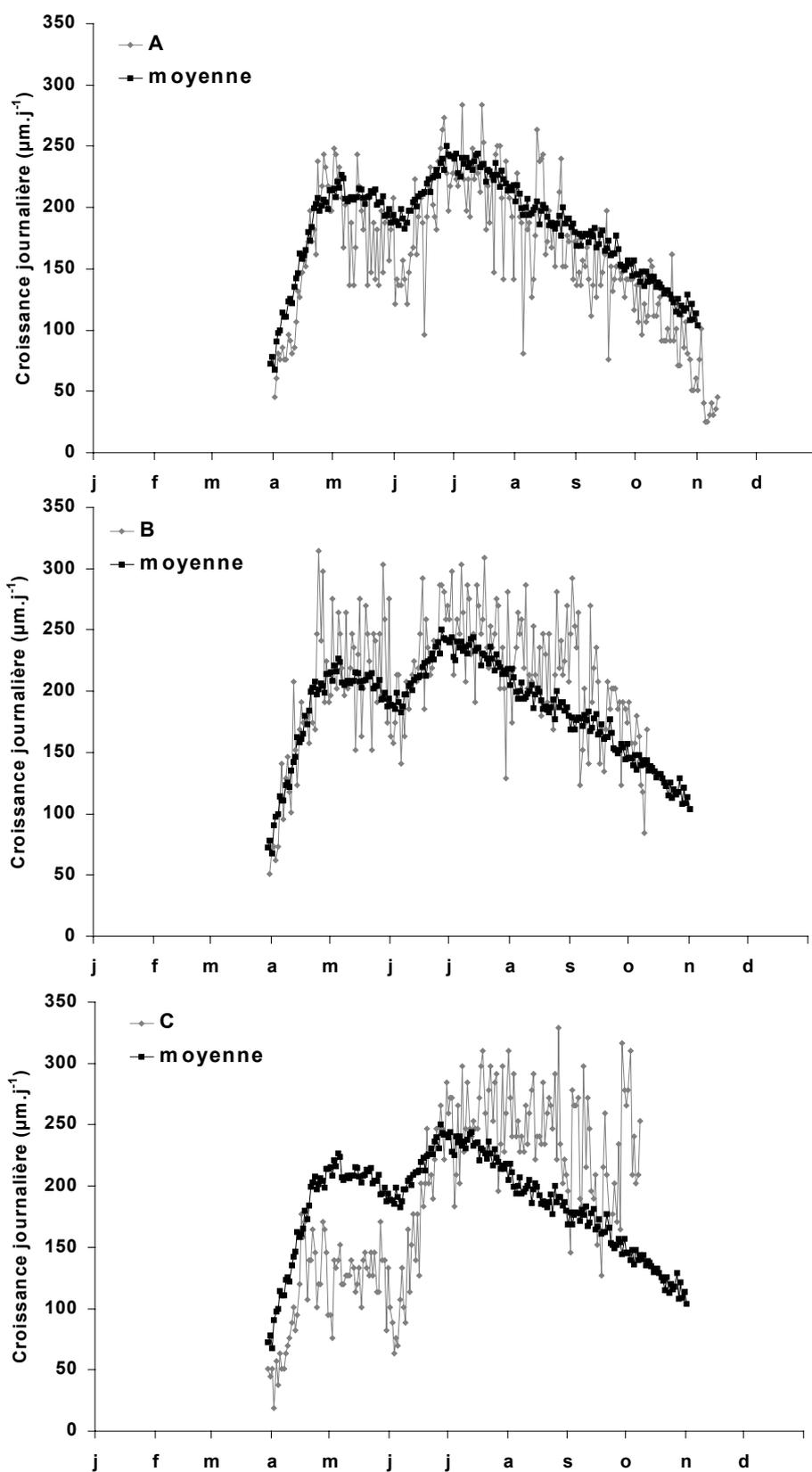


Figure III.61. Courbes de croissance journalière des trois individus échantillonnés en 2000 (A, B et C, µm.j⁻¹) superposées à la courbe de croissance moyenne (N = 39).

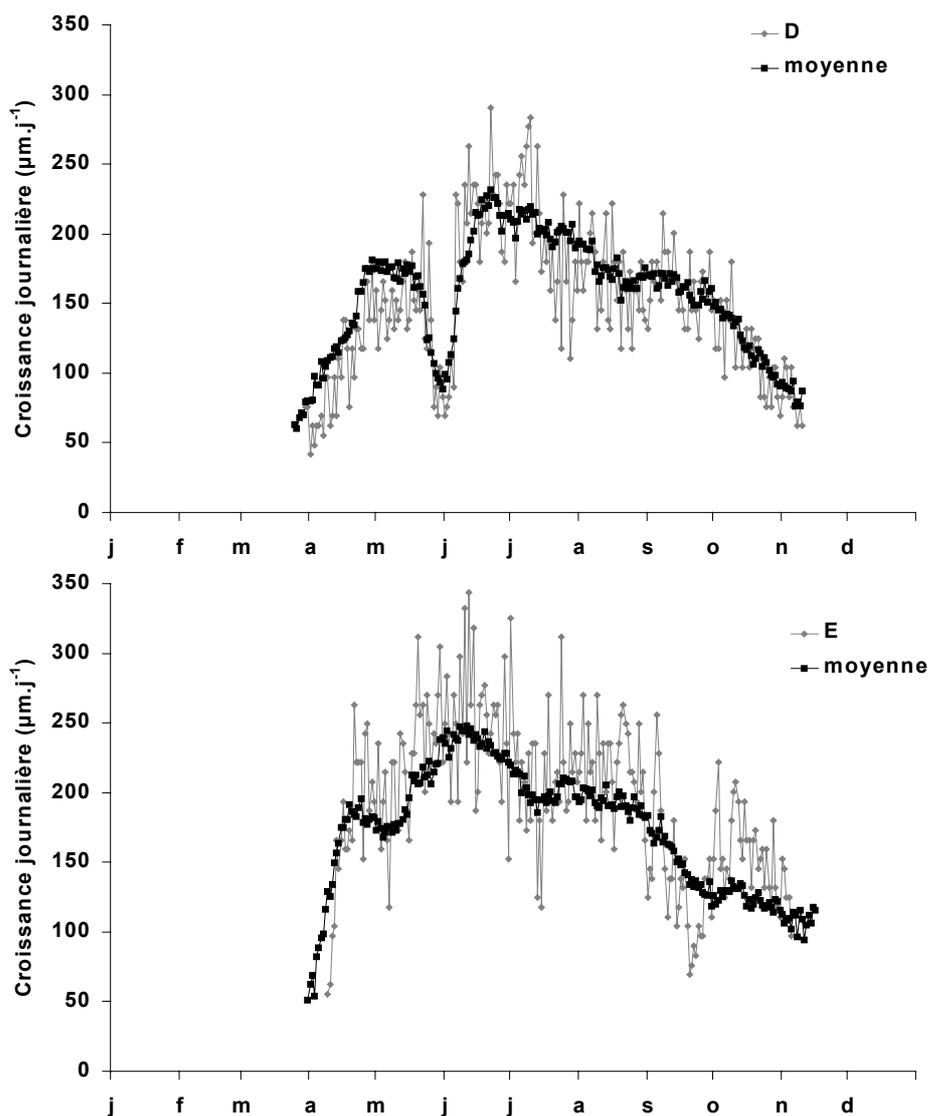


Figure III.62. Courbes de croissance journalière des individus échantillonnés en 1998 (D, $\mu\text{m.j}^{-1}$) et en 1999 (E, $\mu\text{m.j}^{-1}$), superposées à la courbe de croissance moyenne de chacune de ces années (N=56 en 1998 et N=38 en 1999).

Toutes les coquilles présentent des profils de croissance journalière conformes à la moyenne des coquilles étudiées pour les années considérées (Fig. III. 61 et III.62), exceptée la coquille C qui présente une croissance atypique, avec un ralentissement de croissance plus prononcé au mois de mai, et une croissance plus forte que la moyenne le reste de l'année.

2.3.4 Eléments traces dans les coquilles

Les profils de la coquille A, analysée à Zurich par des ablations en cratères, présentent des signaux très bruités pour tous les analytes étudiés, excepté pour le rapport Sr/Ca (Fig. III.63 à III.67). Ces fortes anomalies, apparaissant sous la forme de multiples pics, sont dues à la méthode analytique et confirment l'intérêt des ablations en trait (voir § 2.2.3.2). Elles ne seront donc pas prises en compte par la suite.

2.3.4.1 Evolution saisonnière

Les variations du rapport Sr/Ca, Pb/Ca et Mg/Ca au cours de l'année sont relativement faibles. Les profils de Sr/Ca varient d'un facteur 1,3 à 1,4 avec des valeurs maximales aux alentours du mois de septembre (Fig. III.64). Le rapport Mg/Ca varie d'un facteur 2,8 à 4, selon les individus considérés, avec des valeurs augmentant graduellement du mois de juin au mois d'octobre ; les valeurs du mois d'avril et du mois de mai sont plus stables (Fig. III.65). Le rapport Pb/Ca varie d'un facteur 2,3 à 2,8 (Fig. III.67) avec des valeurs maximales observées au mois d'août.

Les profils de Ba/Ca et Mn/Ca sont beaucoup plus contrastés, avec des variations d'un facteur 5 à un facteur 7,5 pour Mn/Ca (Fig. III.66) et d'un facteur 3 à un facteur 10 pour Ba/Ca (Fig. III.63). Pour le rapport Ba/Ca, le cycle annuel est caractérisé par la présence de un à deux pics très marqués au printemps et en été, et de quelques pics plus faibles à l'automne. Le rapport Mn/Ca présente un maximum au printemps, et des variations d'amplitudes plus modérées le reste de l'année.

2.3.4.2 Variations inter-individuelles

Les profils des coquilles B et C, ayant vécu leur première année de croissance durant l'année 2000, peuvent être comparés. Au paragraphe 2.2.3.2, nous avons expliqué qu'une analyse quantitative n'avait pu être effectuée (pas d'étalon externe satisfaisant), et que pour cette raison, il était délicat de comparer les valeurs absolues des différents profils étant donnée la variabilité instrumentale au cours du temps. Toutefois, nous avons approché cette variabilité en calculant le pourcentage de variation maximale entre les rapports isotopiques des différents éléments par rapport au Ca (E/Ca), sur le NIST 612, au cours des trois jours de manipulation au laboratoire de Pau. Le tableau III.12 montre que ces variations maximales sur

les trois jours de mesure sont variables selon l'élément considéré. Nous pouvons ainsi approcher les variations inter-individuelles en terme d'intensité des coquilles B et C.

Tableau III.12. Pourcentage (%) de variation des différents rapports (E/Ca) sur le NIST 612 au cours des trois jours d'analyse.

$^{138}\text{Ba}/^{43}\text{Ca}$	$^{88}\text{Sr}/^{43}\text{Ca}$	$^{55}\text{Mn}/^{43}\text{Ca}$	$^{26}\text{Mg}/^{43}\text{Ca}$	$^{208}\text{Pb}/^{43}\text{Ca}$
29%	5%	16%	26%	25%

Les pourcentages de variation présentés dans le tableau III.12, ne nous permettent pas de déceler de différences significatives entre les profils de Sr/Ca, Ba/Ca, Mn/Ca, Pb/Ca et Mg/Ca des coquilles B et C.

Les rapports Mn/Ca, Mg/Ca et Pb/Ca présentent des évolutions fortement similaires pour les coquilles B et C alors que ces profils diffèrent pour les rapports Sr/Ca (au printemps) et Ba/Ca. La coquille C présente en effet des pics de Ba/Ca décalés dans le temps (15 jours environ) par rapport à la coquille B.

2.3.4.3 Variations inter-annuelles

Les rapports Sr/Ca, Mg/Ca, Mn/Ca et Pb/Ca présentent des amplitudes de variation comparables de 1998 à 2000. Les rapports de Ba/Ca en 1998 semblent significativement supérieurs à ceux de 1999 (64%) et de 2000 (168%) par rapport aux 30% de variations maximale observée sur les trois jours d'analyse. De même, le signal en 1999 semble significativement plus fort qu'en 2000 (65%).

Les évolutions saisonnières sont relativement similaires pour les rapports Sr/Ca et Mg/Ca et très différents pour les autres éléments (Pb/Ca, Ba/Ca et Mn/Ca).

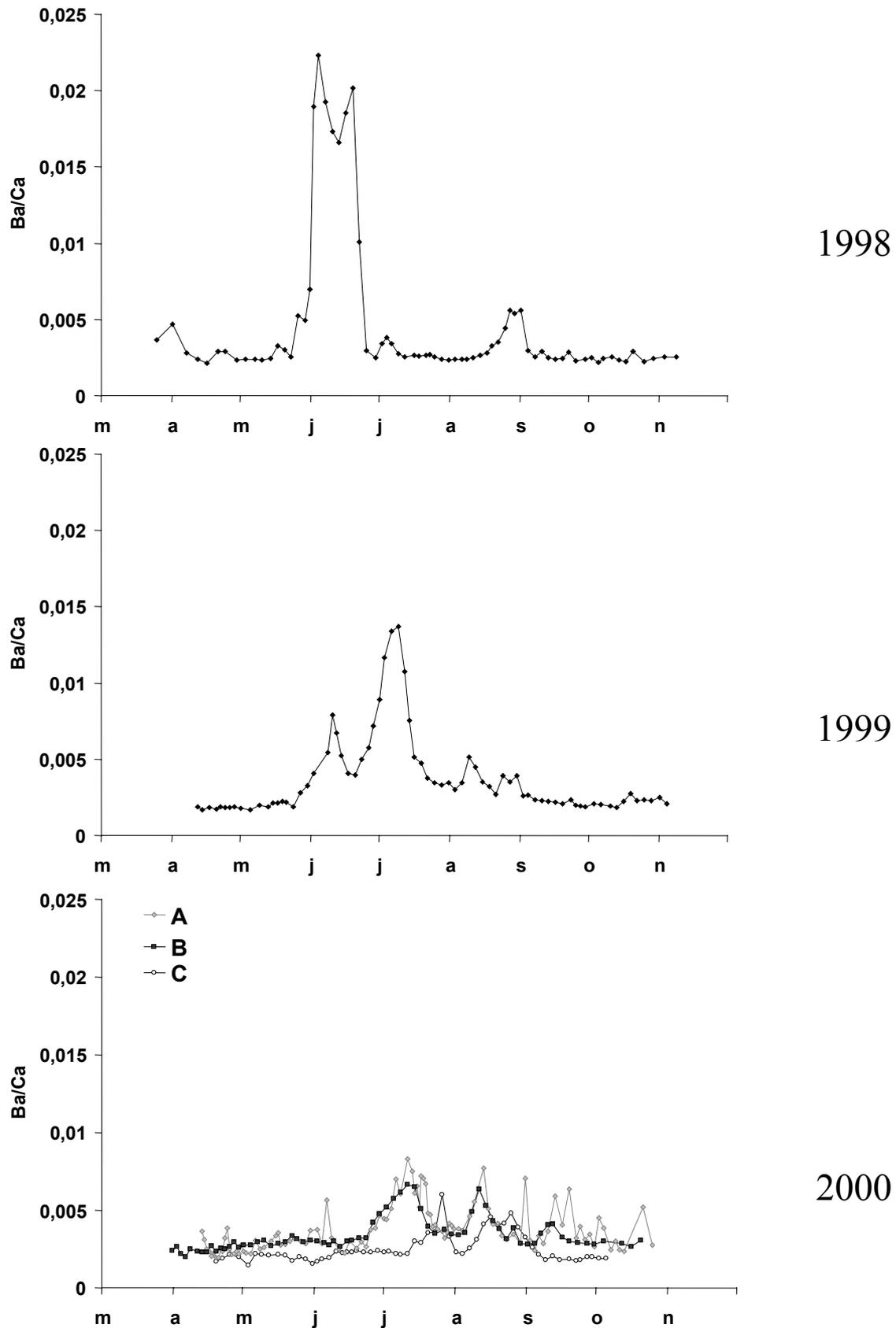


Figure III.63. Profils de Ba/Ca au cours des années 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles A, B et C).

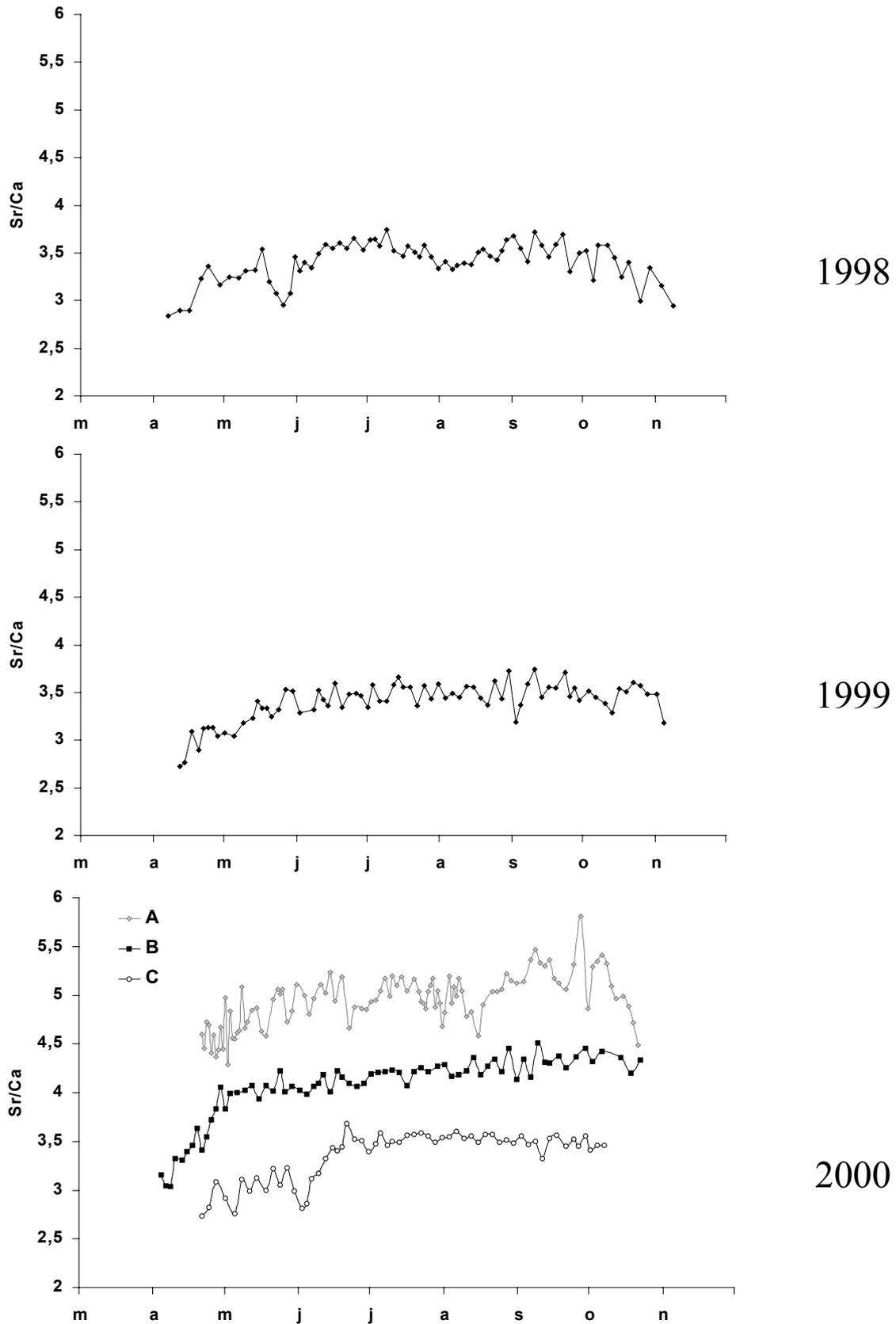


Figure III.64. Profils de Sr/Ca au cours des années 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles A, B et C).

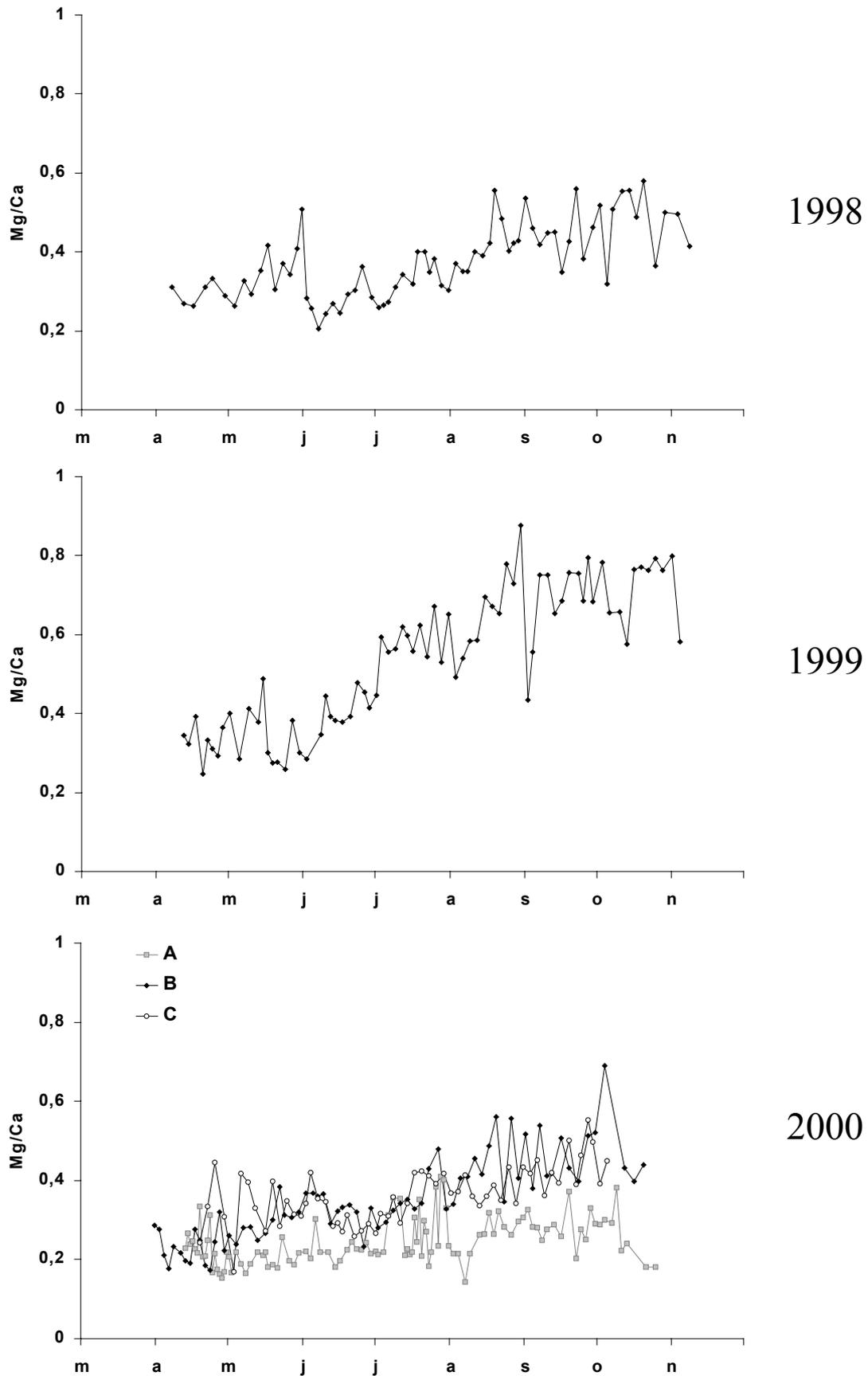


Figure III.65. Profils de Mg/Ca au cours des années 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles A, B et C).

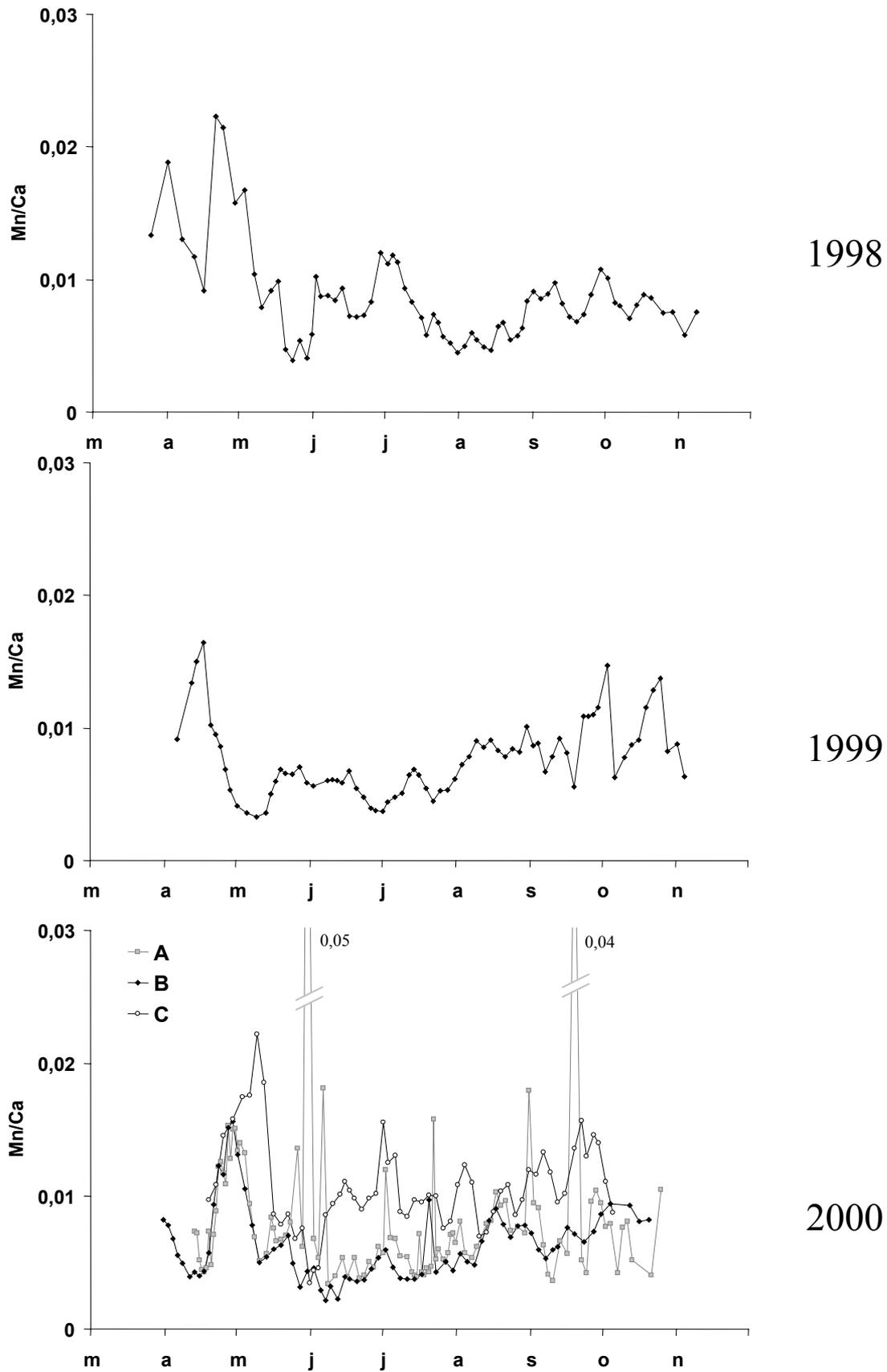


Figure III.66. Profils de Mn/Ca au cours des années 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles A, B et C).

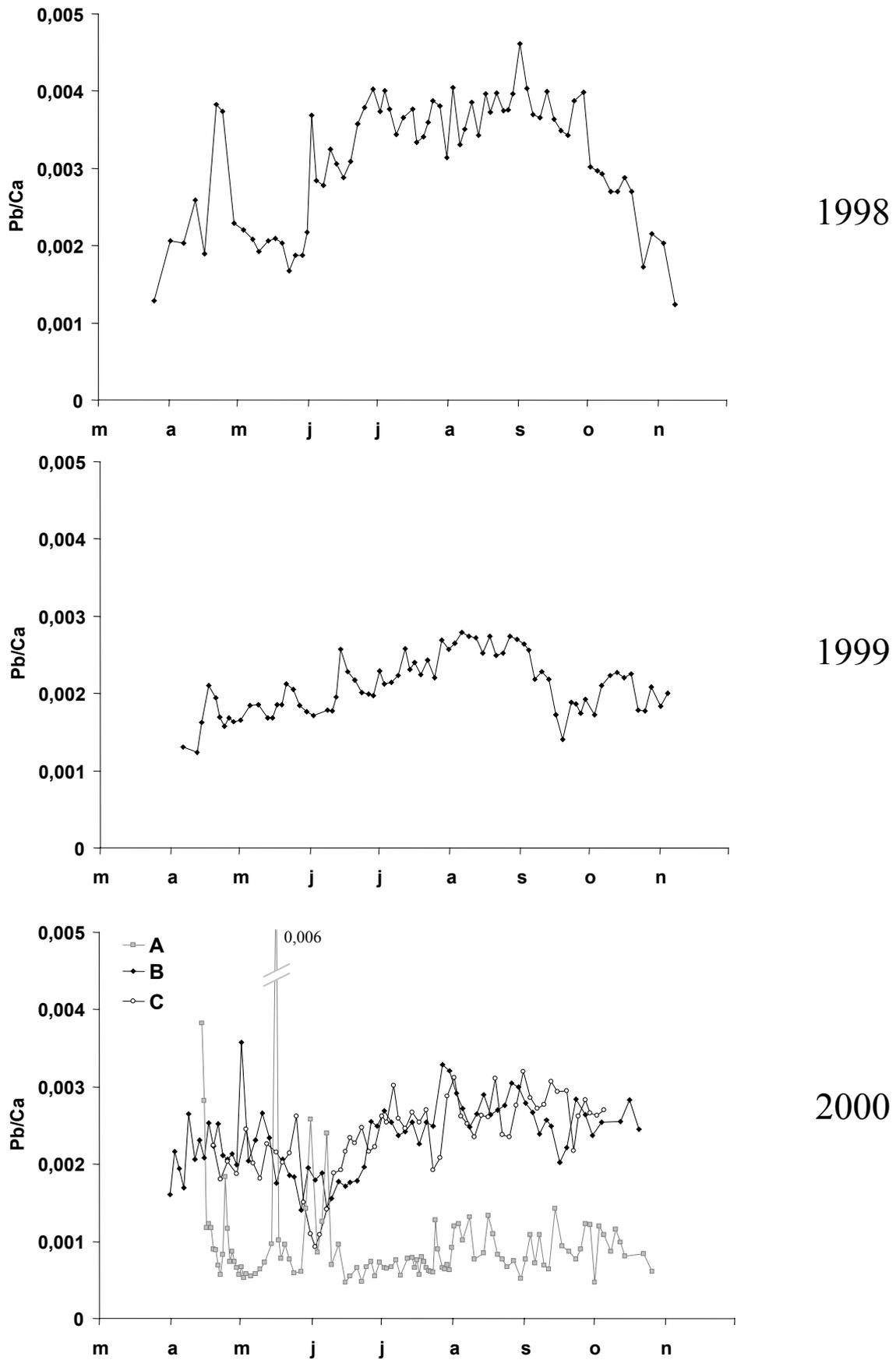


Figure III.67. Profils de Pb/Ca au cours des années 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles A, B et C).

2.4 Discussion

2.4.1 Strontium

Les profils de Sr/Ca sont caractérisés, pour l'année 2000, par une phase ascendante puis par un plateau atteint à des dates variables selon les individus (Fig. III.68). Dans l'eau, le strontium dissous ou particulaire, montre un signal bruité sans tendance saisonnière (Fig. III. 68). A l'évidence, il n'y a pas de lien entre les variations des concentrations de strontium mesurées dans la masse d'eau et les rapports Sr/Ca dans les coquilles de *Pecten maximus*. La précipitation n'est donc pas à l'équilibre avec le milieu.

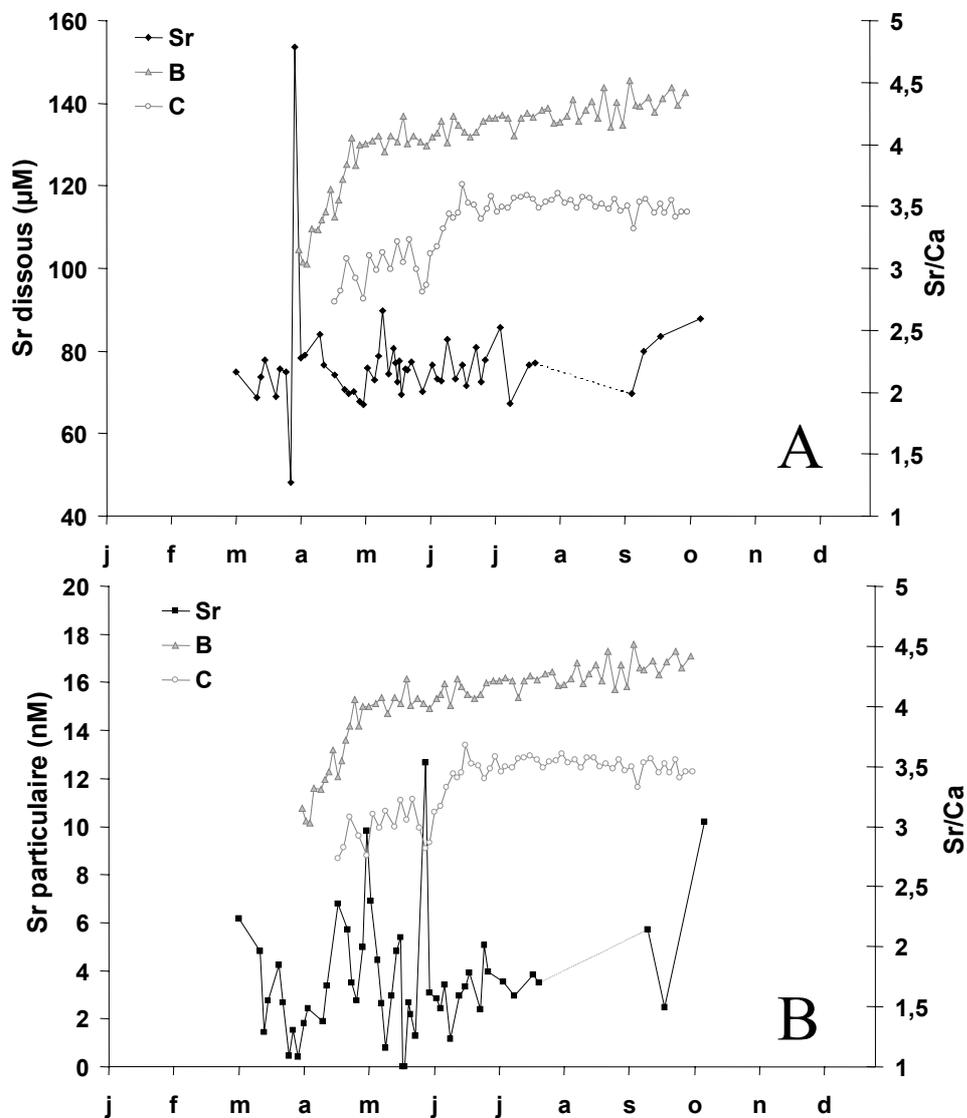


Figure III.68. Profils de Sr/Ca des coquilles B et C (2000) et évolution des concentrations de strontium dissous (µM, A) et particulaire (nM, B) à un mètre du fond à Roscanvel (2000).

Chez les coraux, les variations de strontium sont corrélées aux variations inter-annuelles de température (Beck *et al.*, 1992 ; Cardinal *et al.*, 2001). Dans notre cas, si nous superposons ces deux paramètres à une échelle saisonnière, un lien est effectivement notable entre la température et les variations de Sr/Ca (Fig. III.69). Une corrélation positive linéaire entre la température et le rapport Sr/Ca est observée, significative pour les quatre coquilles ($p < 0,0001$; $r^2 = 0,43$ en 1998 ; $r^2 = 0,62$ en 1999, et $r^2 = 0,75$ et $0,76$ pour les coquilles B et C, respectivement en 2000). Cependant, la figure III.69 montre que les variations, de plus haute fréquence, imprimées à l'intérieur du cycle de Sr/Ca ne sont pas expliquées par la température (fin mai et début août 1998, fin mai 2000, coquille C). De plus, les deux coquilles ayant vécu en 2000, présentent des profils de Sr/Ca divergents. Ainsi, malgré la covariation observée entre les rapports Sr/Ca et la température, nous ne pouvons proposer ce paramètre comme traceur de la température ; un autre facteur influence vraisemblablement fortement ce rapport.

Stecher *et al.* (1996) n'observent aucune relation entre la température et les variations du rapport Sr/Ca chez *Mercenaria mercenaria*. Ces auteurs stipulent que les variations de Sr/Ca dépendent principalement du taux de croissance. La figure III.70 montre que, de façon indéniable, le rapport Sr/Ca varie conjointement avec la croissance journalière des coquilles Saint-Jacques. Cependant, cette covariation n'est pas effective toute l'année. En avril et en mai, les rapports Sr/Ca sont corrélés à la croissance alors qu'à partir du mois de juin, les signaux sont découplés. En effet, durant la seconde partie de l'année, le rapport Sr/Ca présente un plateau alors que la croissance décroît dès le mois de juillet. Les fortes anomalies de croissance sont imprimées dans le signal de Sr/Ca à la fin du mois de mai 1998 et durant toute la phase printanière pour la coquille C qui présente une croissance atypique en 2000 (voir § 2.3.3). Cependant, certains accidents n'entraînent pas de chute du rapport Sr/Ca comme en septembre 1999. Les différences observées entre des profils Sr/Ca des coquilles B et C appuient cependant l'hypothèse qu'un facteur biologique, et non environnemental, contrôle la composition du strontium dans la calcite des coquilles Saint-Jacques. Un impact général du métabolisme, révélé en partie par la croissance journalière, pourrait gouverner le signal de Sr/Ca, en plus de la température.

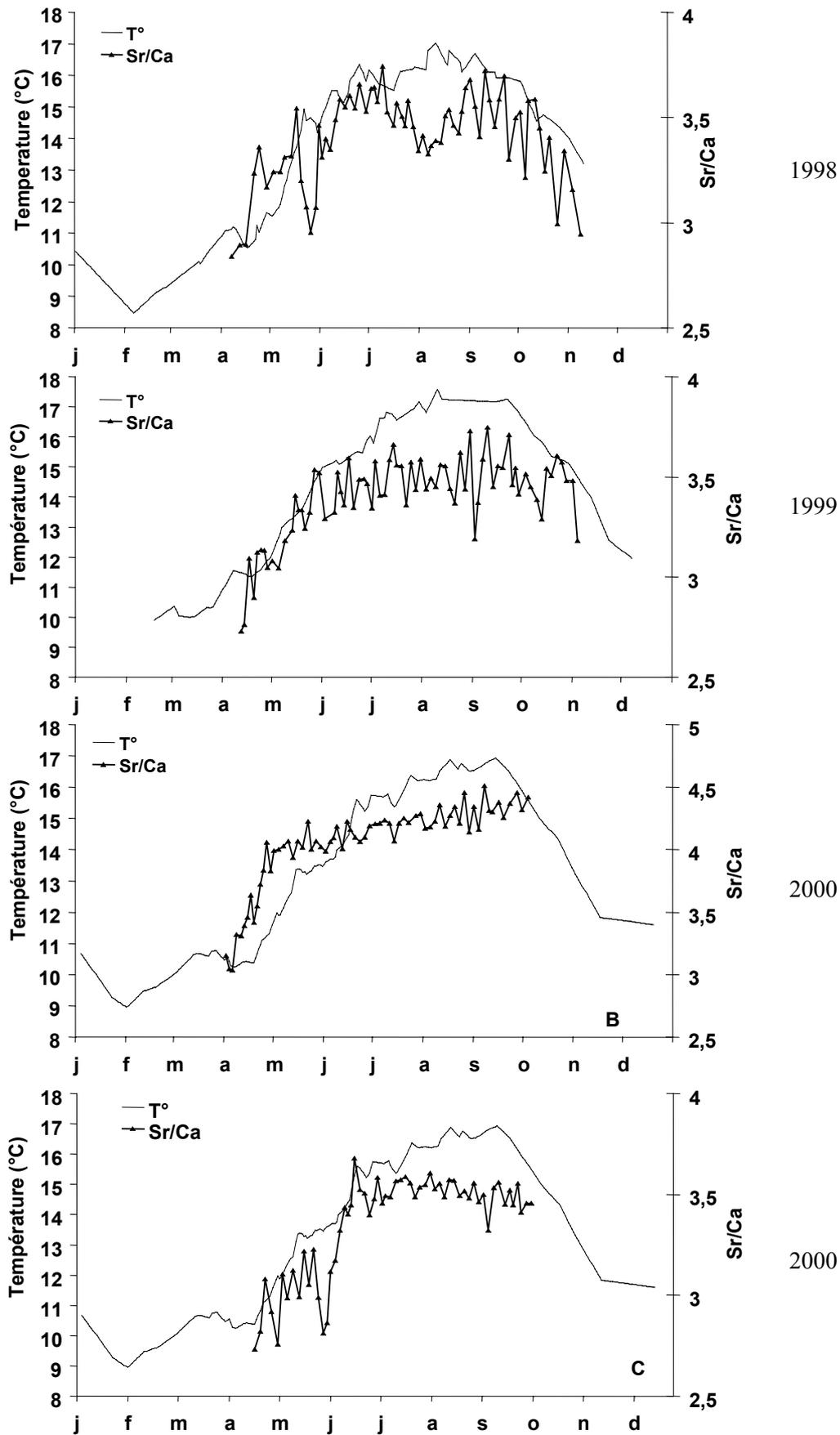


Figure III.69. Profils de Sr/Ca en fonction de la température (°C) au cours des années 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles B et C).

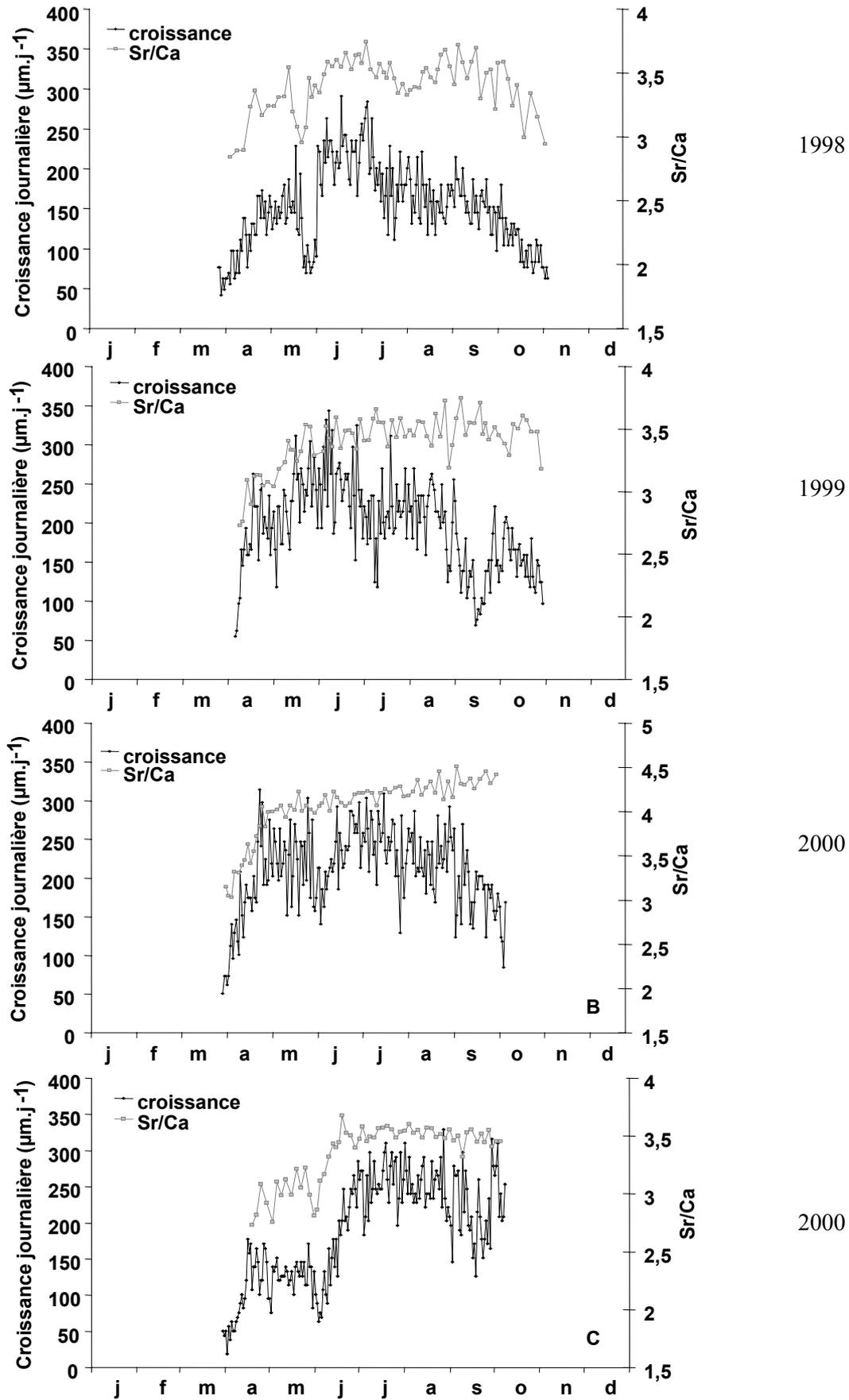


Figure III.70. Courbes de croissance journalière ($\mu\text{m.j}^{-1}$) et profils de Sr/Ca en 1998 (coquille D), 1999 (coquille E) et 2000 (coquilles B et C).

2.4.1.2 Magnésium

Au cours de l'année 2000, les profils de Mg/Ca dans la calcite des coquilles B et C présentent une allure similaire, avec des valeurs croissantes au cours de l'année (Fig. III.71). Les concentrations de Mg biogénique, de la matière particulaire, décrivent un cycle saisonnier avec de fortes oscillations tout au long de l'année, des valeurs minimales hivernales et un maximum à la fin du mois de juin, et ne peuvent expliquer l'augmentation des rapports Mg/Ca de la calcite au cours de l'année (Fig. III.71). Les concentrations de Mg en phase dissoute n'ont pas été mesurées. Si l'on suppose, comme dans certaines études, que le Mg dissous varie en fonction de la salinité (Vander Putten *et al.*, 2000) et qu'il est incorporé dans la calcite, alors le rapport Mg/Ca devrait varier en fonction de la salinité. L'ensemble de nos résultats (Fig. III.72) ne permet pas de soutenir l'hypothèse d'un tel lien.

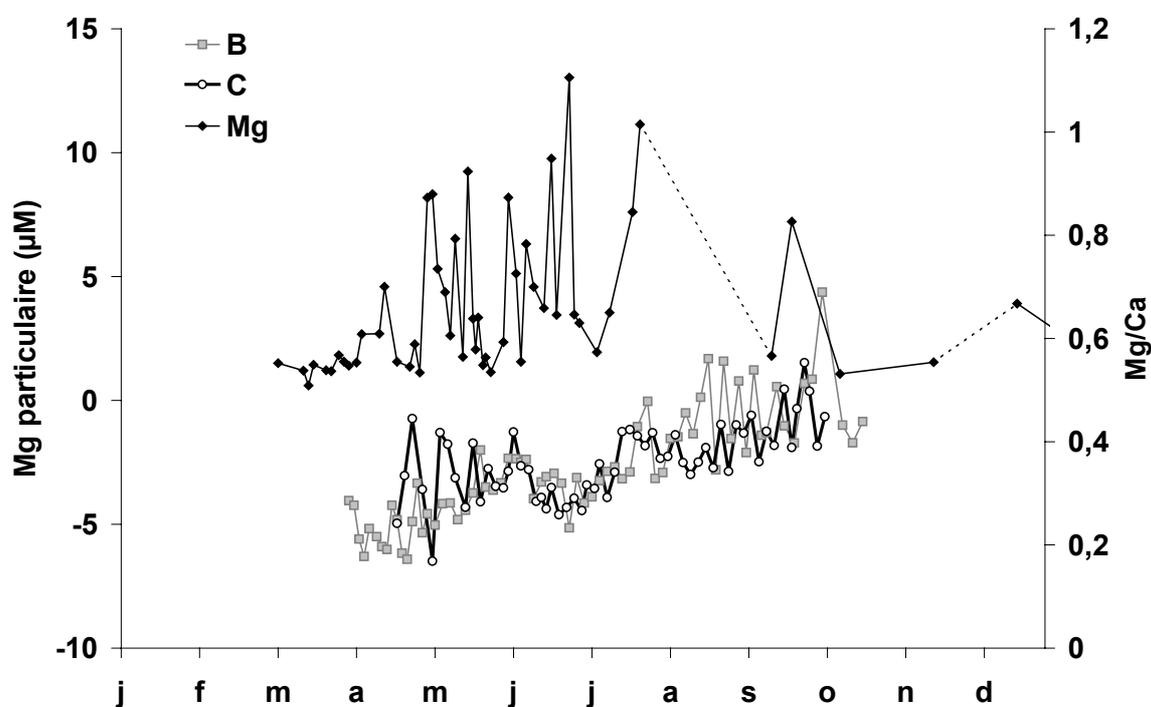


Figure III.71. Profils de Mg/Ca des coquilles B et C et concentrations de Mg biogénique particulaire (μM) en 2000.

Un paramètre environnemental, dont les valeurs augmentent au cours de l'année, qui pourrait expliquer l'allure générale du signal de Mg/Ca, est la température. Klein *et al.* (1996a) reportent en effet une corrélation positive entre la température et les valeurs de Mg/Ca dans les coquilles de *Mytilus trossolus*. Chez *Pecten maximus*, si une corrélation significative ($p < 0,01$) est décelable entre la température et les rapports Mg/Ca des coquilles B, C (2000, $r^2 = 0,57$ et $0,16$, respectivement) et E (1999, $r^2=0,49$), aucune relation n'est observée en 1998 pour la coquille D.

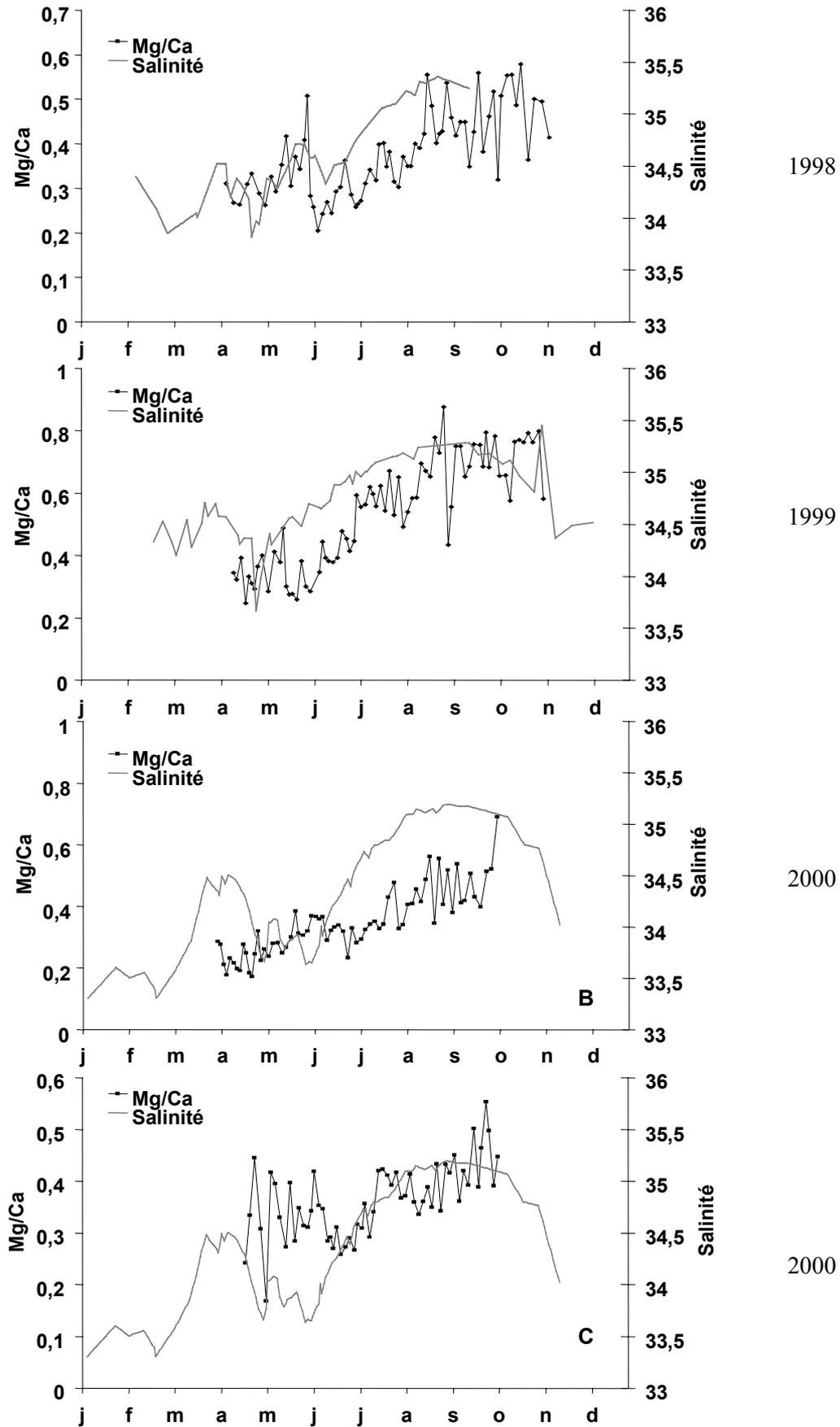


Figure III.72. Profils de Mg/Ca des coquilles D, E, B et C et évolution saisonnière de la salinité en 1998, 1999 et 2000.

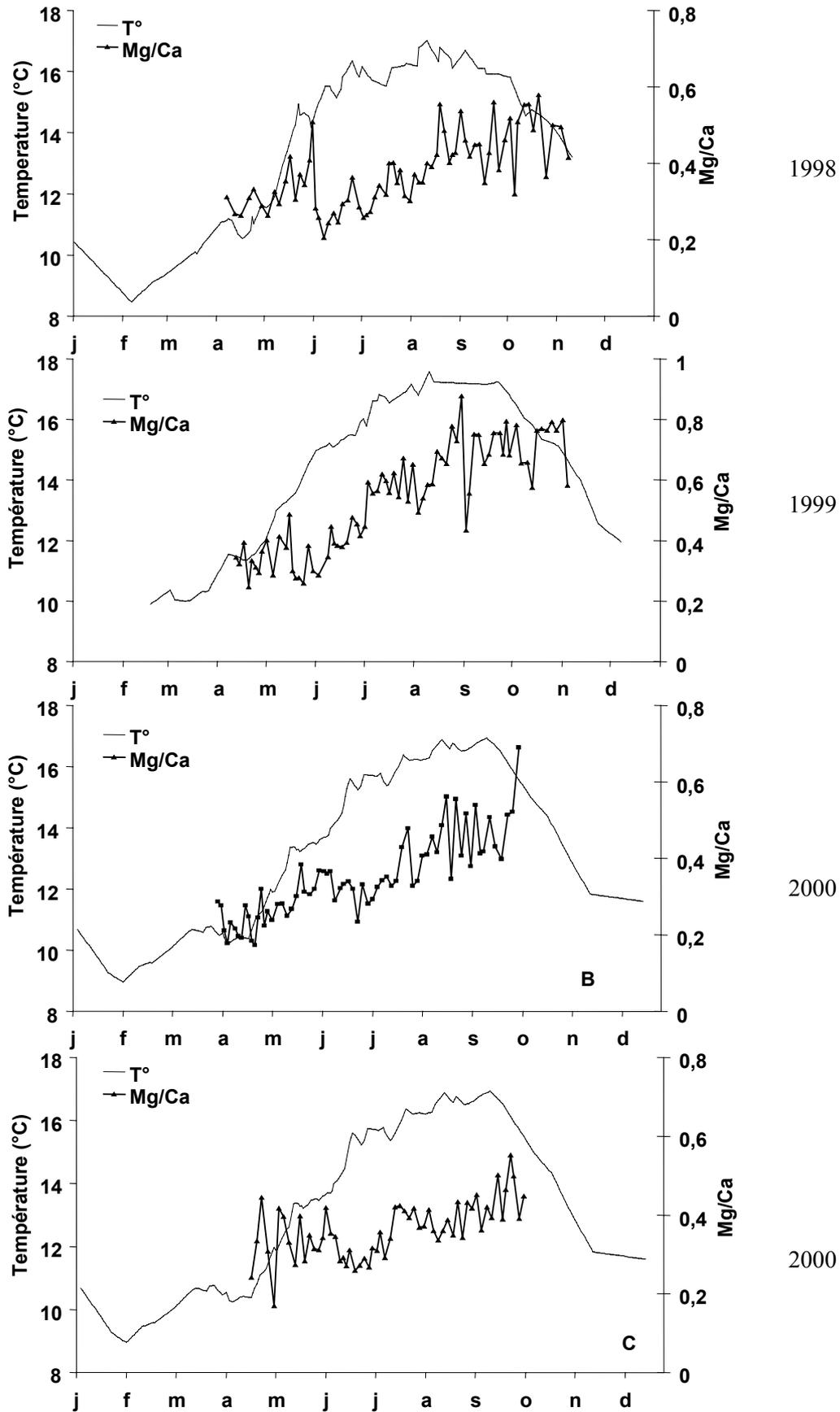


Figure III.73. Profils de Mg/Ca des coquilles D, E, B et C et évolution saisonnière des températures (°C) en 1998, 1999 et 2000.

De plus, la figure III.73 illustre le découplage des variations saisonnières de ces deux variables. Tout comme pour le strontium, la croissance pourrait influencer les rapports Mg/Ca. Cependant, la figure III.74 montre que les variations de croissance ne peuvent en aucun cas expliquer les variations saisonnières du rapport Mg/Ca pour les quatre coquilles étudiées.

Ainsi, les variations de Mg/Ca ne sont pas explicables avec les données environnementales disponibles, ni avec nos connaissances sur la biologie de *Pecten maximus*. Un signal de magnésium marqué, croissant sur tous les individus au cours de l'année, est cependant observé, traduisant un phénomène vraisemblablement cohérent. Afin de tester l'hypothèse d'une influence biologique sur ce signal, il faudrait pouvoir mesurer en complément, le rapport Mg/Ca dans l'estomac et dans le fluide extrapalléal de ces individus.

2.4.2 Plomb

A la différence des profils de Sr/Ca et de Mg/Ca, un cycle annuel marqué est visible pour le rapport Pb/Ca, avec une décroissance du signal généralement observée au mois d'août (Fig. III.75). La reproductibilité des signaux de Pb/Ca entre les deux coquilles lors de l'année 2000 (Fig. III.67), et les fortes variations saisonnières rencontrées en 1998, 1999 et 2000 laissent penser que ce rapport pourrait être un bon indicateur des concentrations environnementales de cet élément. Toutefois, aucune donnée n'est disponible sur le plomb dissous ou particulaire en rade de Brest. De plus, Vander Putten *et al.* (2000) affirment que cet élément est influencé par d'autres facteurs que les variations environnementales. Dans notre étude, une forte corrélation positive est observée entre la croissance journalière de *Pecten maximus* et les variations de Pb/Ca ($p < 0,1$) pour les coquilles D (1998), E (1999) et C (2000) ; elle n'est pas significative pour la coquille B (2000, $p = 0,2$) bien qu'un couplage entre ces deux variables soit suggéré à partir de l'observation de la figure III.75. Ce lien est extrêmement fort par périodes, par exemple du mois de juillet au mois d'octobre 1999, et même pour l'ensemble de l'année 2000 pour la coquille C.

Ainsi, si globalement la relation n'est pas parfaite, c'est qu'un deuxième facteur, pouvant être les concentrations ambiantes en plomb dissous ou particulaire contrôlerait l'incorporation de plomb dans la calcite des coquilles Saint-Jacques.

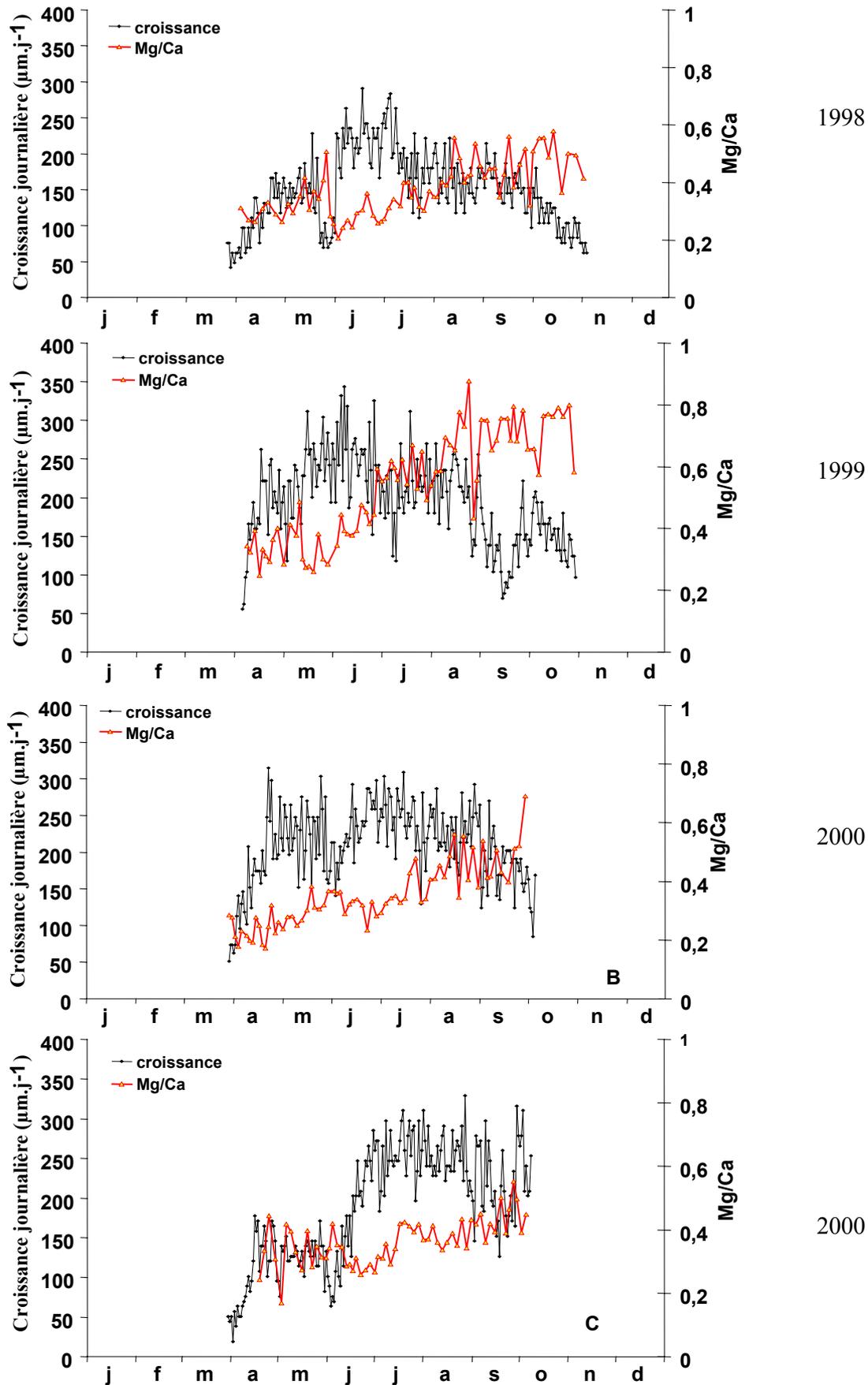


Figure III.74. Profils de Mg/Ca et croissance journalière ($\mu\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$) des coquilles D(1998) , E (1999), B et C (2000).

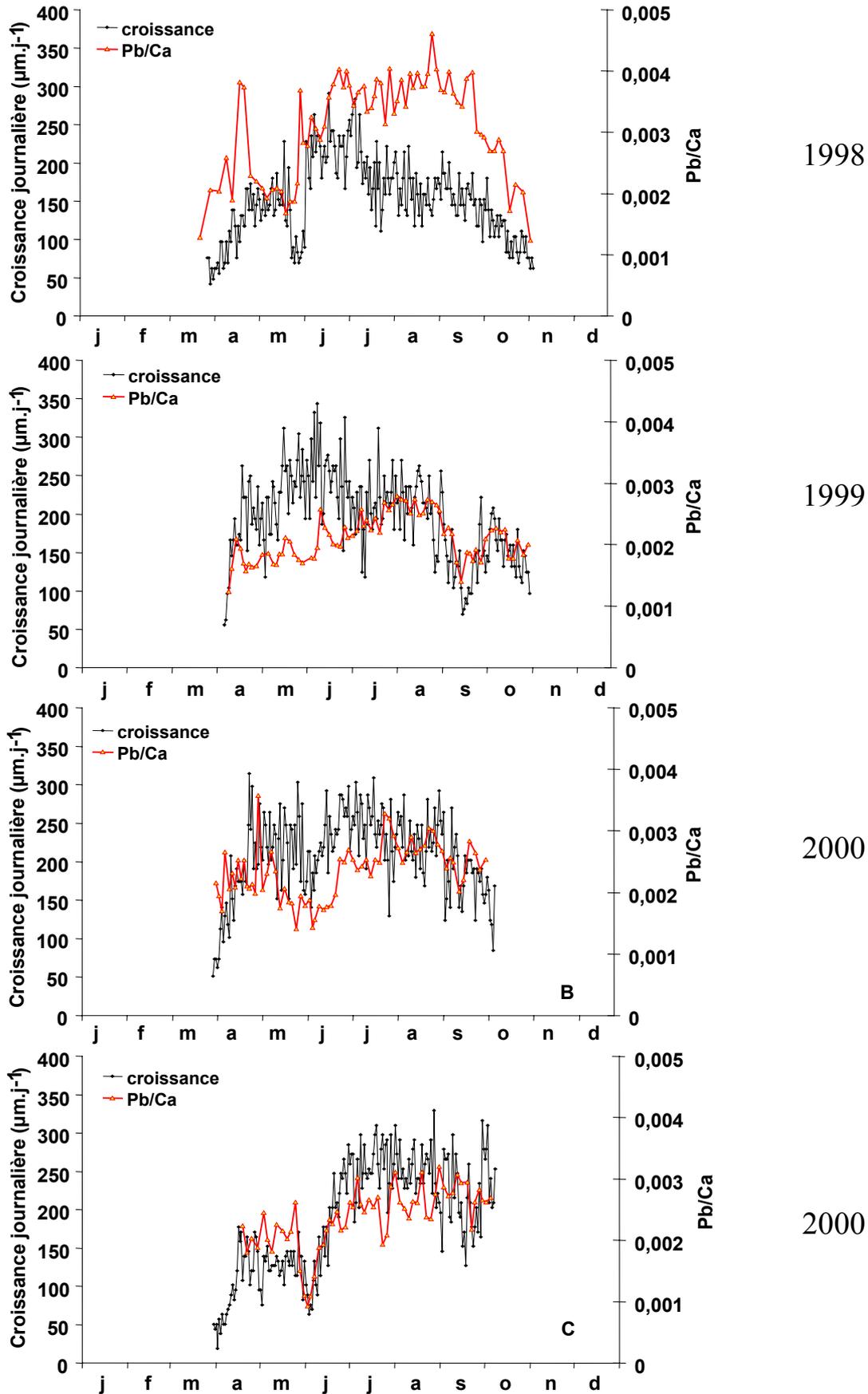


Figure III.75. Relations entre la croissance journalière des individus de *P. maximus* et le rapport Pb/Ca en 1998 (D), 1999 (E) et 2000 (coquilles B et C).

La contribution des variations de croissance journalière aux rapports Pb/Ca serait due à un effet cinétique. Le plomb possède une grande affinité avec les carbonates, il précipite plus facilement que le calcium ou le strontium, bien qu'il soit présent en plus faible concentration dans l'eau de mer (Morel & Hering, 1993). D'autre part, environ 50% du plomb dans l'eau est en phase dissoute et peu complexé avec la matière organique dissoute (Morel & Hering, 1993). En supposant que cet élément soit incorporé sous forme dissoute dans la calcite des coquilles Saint-Jacques, sa forte affinité et sa disponibilité pourraient expliquer qu'il soit très sensible aux variations de croissance (fractionnement cinétique), contrairement aux autres éléments étudiés ayant des affinités comparables au calcium. Les valeurs maximales observées en période estivale seraient alors dues aux plus fortes valeurs de croissance.

Un effet cinétique est clairement identifié dans cette étude. Les données de plomb, en phase dissoute et particulaire, permettraient de déconvoluer la part des deux facteurs (croissance et concentrations ambiantes), et d'évaluer le potentiel du rapport Pb/Ca dans la calcite des coquilles Saint-Jacques comme traceur des concentrations ambiantes, ou même de la croissance. D'autre part, l'étude des variations d'autres éléments comme le mercure, ayant des affinités comparables à celles du plomb, nous permettrait de vérifier l'hypothèse d'un effet cinétique sur l'incorporation de cet élément.

2.4.3 Baryum

Les cycles annuels de Ba/Ca dans la calcite sont caractérisés par la succession de deux à trois pics bien marqués, sans aucune autre fluctuation le reste de l'année, et relativement reproductibles entre les individus. Les deux coquilles Saint-Jacques étudiées présentent cependant des pics décalés de quinze jours (Fig. III.77). Des pics de baryum ont également été observés chez *Mercenaria mercenaria* et *Spisula soldissima* (Stecher *et al.*, 1996) et chez *Mytilus edulis* (Vander Putten *et al.*, 2000). Ces auteurs suggèrent que ces pics sont le résultat de forts niveaux de baryum particulaire, associés aux blooms de diatomées. Ces bivalves suspensivores absorberaient les particules riches en baryum, et ce baryum une fois métabolisé, se retrouverait en partie dans le fluide extrapalléal et serait séquestré dans la coquille (Stecher *et al.*, 1996).

La figure III.76 illustre l'évolution saisonnière du Ba particulaire en 2000, comparée à celle du titane, d'origine strictement lithogénique. Cette figure montre que l'évolution du baryum est fortement liée à celle du titane, donc des apports lithogéniques, excepté le 20 mai,

et du 30 juin au 22 septembre 2000. La comparaison des profils de Ba/Ca dans les coquilles B et C de *Pecten maximus* et des concentrations de baryum biogénique (corrigé des apports lithogéniques) à un mètre du fond au cours de l'année 2000 est représentée sur la figure III.77.

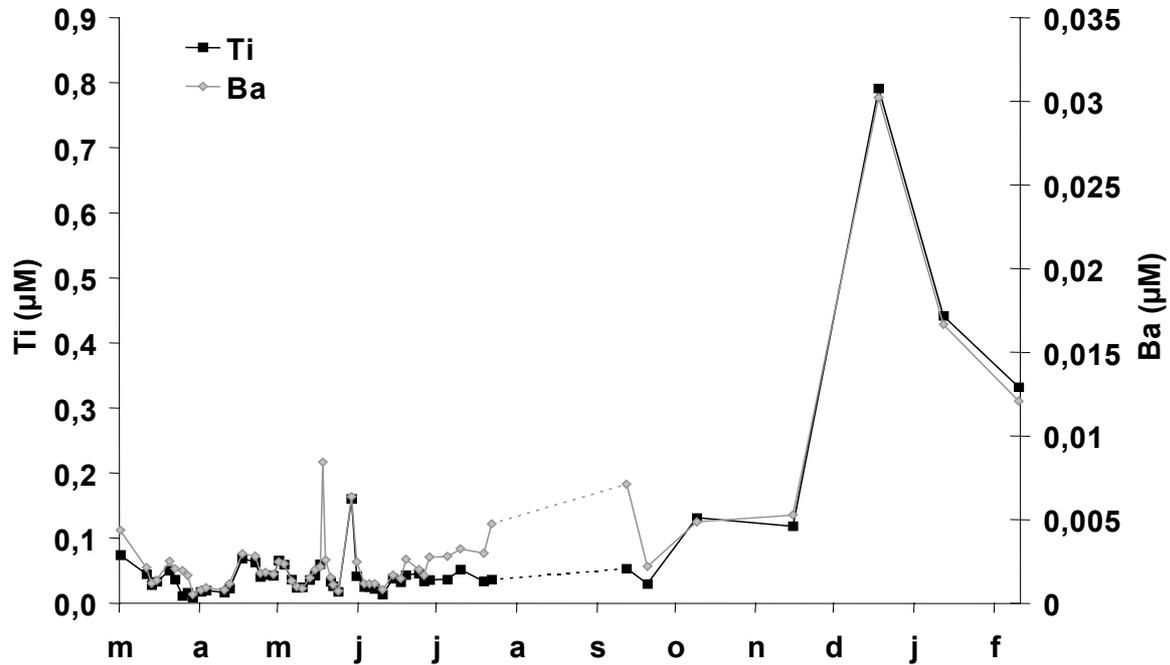


Figure III.76. Profils de Ti et Ba total (μM) au cours de l'année 2000 et 2001.

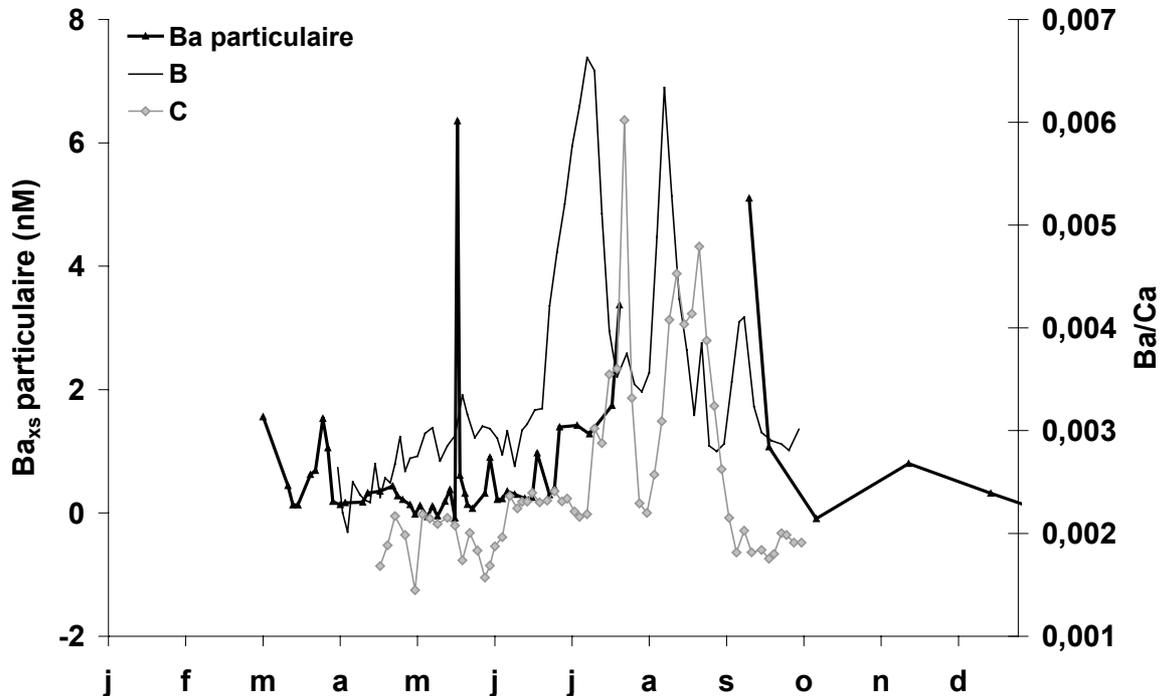


Figure III.77. Profils de Ba biogénique ($\text{Ba}_{x,s}$, nM) et de Ba/Ca dans les coquilles B et C au cours de l'année 2000.

Les pics de baryum dans la coquille de *P. maximus* apparaissent durant la période du 26 juin au 16 septembre, suggérant que les individus B et C incorporeraient préférentiellement du baryum particulaire d'origine biogénique, plus facilement assimilable que du baryum associé à des particules minérales. Le 20 mai, le pic serait trop éphémère pour permettre aux coquilles Saint-Jacques d'incorporer du baryum dans leur squelette.

Si l'on essaye maintenant de mettre en relation le baryum particulaire biogénique et les efflorescences phytoplanctoniques au cours de l'année 2000 (Fig. III.78), on observe qu'à la plupart des efflorescences de diatomées (excepté le 1^{er} mai lors de l'efflorescence de *Skeletonema costatum*) correspond un pic de baryum particulaire, mais d'amplitude variable.

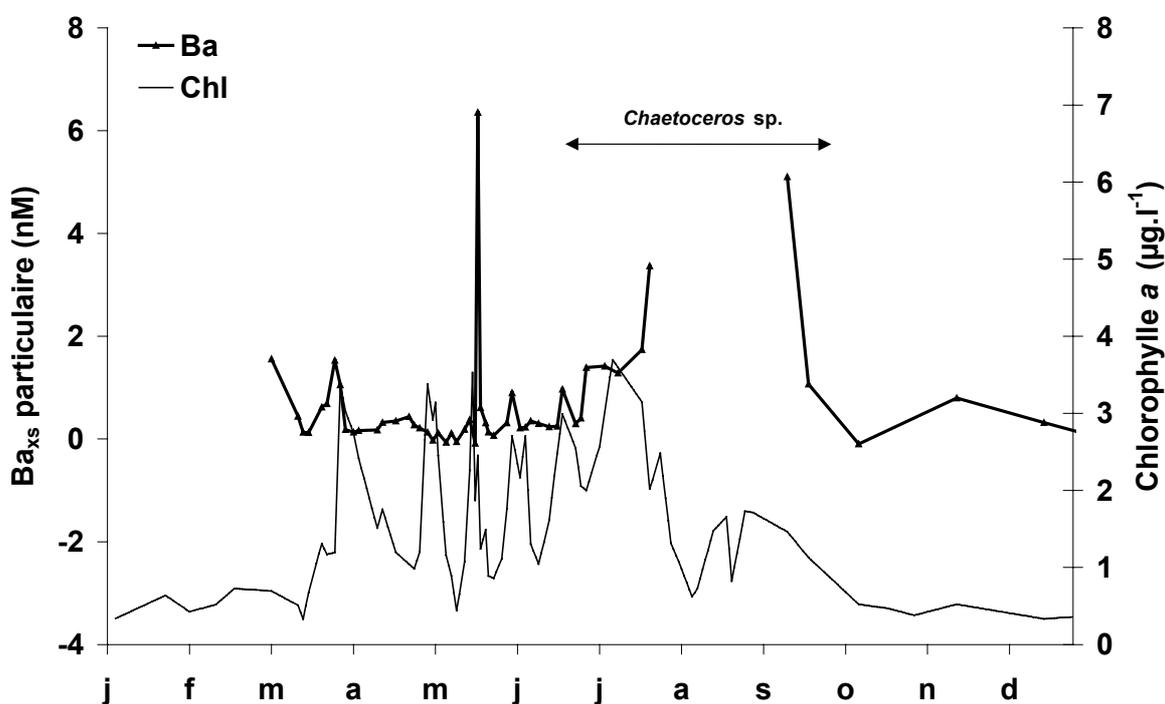


Figure III.78. Profils Ba biogénique (Ba_{xss} , nM) et concentration en chlorophylle *a* ($\mu\text{g.l}^{-1}$) au cours de l'année 2000.

En effet, un fort pic est observé le 20 mai suite à un bloom de *Pseudo-nitschia pseudodelicatissima* (17-20 mai), et durant la période du 26 juin au 14 septembre, lors des efflorescences de *Chaetoceros* sp. (Partie I). Cependant, le reste de l'année, les blooms de diatomées donnent lieu à des concentrations très faibles de baryum particulaire dans la colonne d'eau, sans lien avec leur intensité.

La coquille Saint-Jacques pourrait également incorporer du baryum sous forme dissoute, forme majoritaire du baryum en rade de Brest (50nM contre 5nM dans le particulaire). Si le premier pic de la coquille C (26 juillet) correspond à un pic de Ba dissous,

le pic le plus important observé dans la calcite de la coquille B, de la fin du mois de juin au début du mois de juillet, ne correspond pas à de fortes quantités de baryum dissous dans le milieu (Fig. III.79) et semble réfuter l'hypothèse d'une incorporation de baryum dans la coquille de *Pecten maximus* en provenance de la phase dissoute.

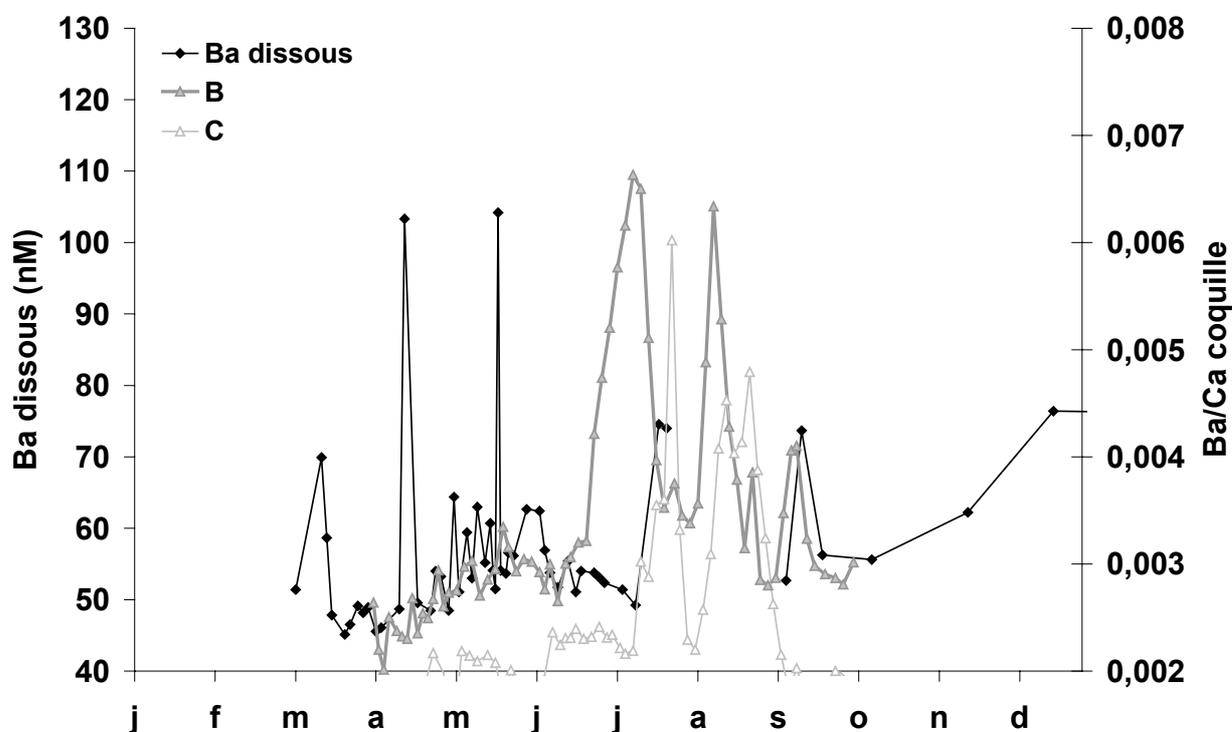


Figure III.79. Profils de Ba dissous (nM) et de Ba/Ca dans les coquilles B et C au cours de l'année 2000.

Ainsi, en 2000, les pics de Ba/Ca dans la coquille de *Pecten maximus*, semblent associés à des concentrations de baryum biogénique dans la couche de fond, élevées et durables, lors des efflorescences de *Chaetoceros* sp. Cependant, les efflorescences de diatomées ne provoquent pas systématiquement de pics de Ba/Ca dans la coquille de *P. maximus* au cours de l'année 2000. De plus, si l'on cherche à superposer les pics de baryum dans la coquille, avec les concentrations en chlorophylle *a* de 1998 à 2000, aucune relation simple ne peut être mise en évidence (Fig. III.80). En 1998, le premier pic de baryum (initié le 26 mai et s'achevant le 25 juin) pourrait être associé aux deux blooms de diatomées, *Cerataulina pelagica* (20-29 mai) et *Chaetoceros* sp. (12-18 juin ; Partie I, Fig. I.16). Le second pic, de faible amplitude (22 août-4 septembre) correspond cependant à une efflorescence de dinoflagellés, *Gyrodinium chlorophorum* (17 août-28 septembre). En 1999, le premier pic (10 juin) et le deuxième (6-9 juillet) sont associés à une efflorescence de diatomées *Chaetoceros* sp. (9 juin). Les deux petits pics du mois d'août sont

vraisemblablement associés à *Gymnodinium chlorophorum* (10 juillet-20 août). Enfin en 2000, tous les pics (11 juillet, 11 août et 12 septembre) sont associés à des blooms de diatomées du genre *Chaetoceros* sp (Fig. I.16, Partie I).

Ainsi, si certains pics de baryum sont associés à des diatomées, d'autres ont lieu simultanément à des efflorescences de dinoflagellés. De plus, tous les blooms de diatomées n'entraînent pas de pics de Ba dans la calcite des coquilles Saint-Jacques. En particulier, la plus forte efflorescence de diatomées en 1999 (*Rhizosolenia delicatula*, 30 avril), et toute la période printanière de production de diatomées en 2000 (24 mars – 19 juin, dont l'espèce *Chaetoceros* sp.) ne se traduisent pas par des pics de baryum. Si les fenêtres d'apparition de ces pics de baryum dans la calcite semblent correspondre à des quantités importantes de baryum biogénique particulière dans la colonne d'eau en 2000, ils ne peuvent en aucun cas être utilisés pour tracer la production phytoplanctonique siliceuse. Des études sont nécessaires pour comprendre les raisons de la formation de baryum particulière en milieu côtier. Ces études permettront peut-être alors d'établir un lien avec certaines espèces de diatomées ou de dinoflagellés, et d'utiliser les pics de Ba/Ca pour identifier des efflorescences particulières. Toutefois, la présence de différences temporelles d'incorporation entre deux coquilles Saint-Jacques ayant vécu la même année (B et C en 2000), dénote probablement l'existence de processus complexes d'incorporation dans lesquels une part de variation biologique inter-individuelle devra être prise en compte.

Le rapport Ba/Ca de l'aragonite des coraux est également associé aux débits des rivières (Shen & Sanford, 1990). La figure III.81 illustre que les pics de baryum observés dans la coquille de *Pecten maximus* ne témoignent pas des apports terrigènes. Les forts débits du mois d'avril n'entraînent aucun pic de Ba/Ca dans le squelette carbonaté des coquilles Saint-Jacques.

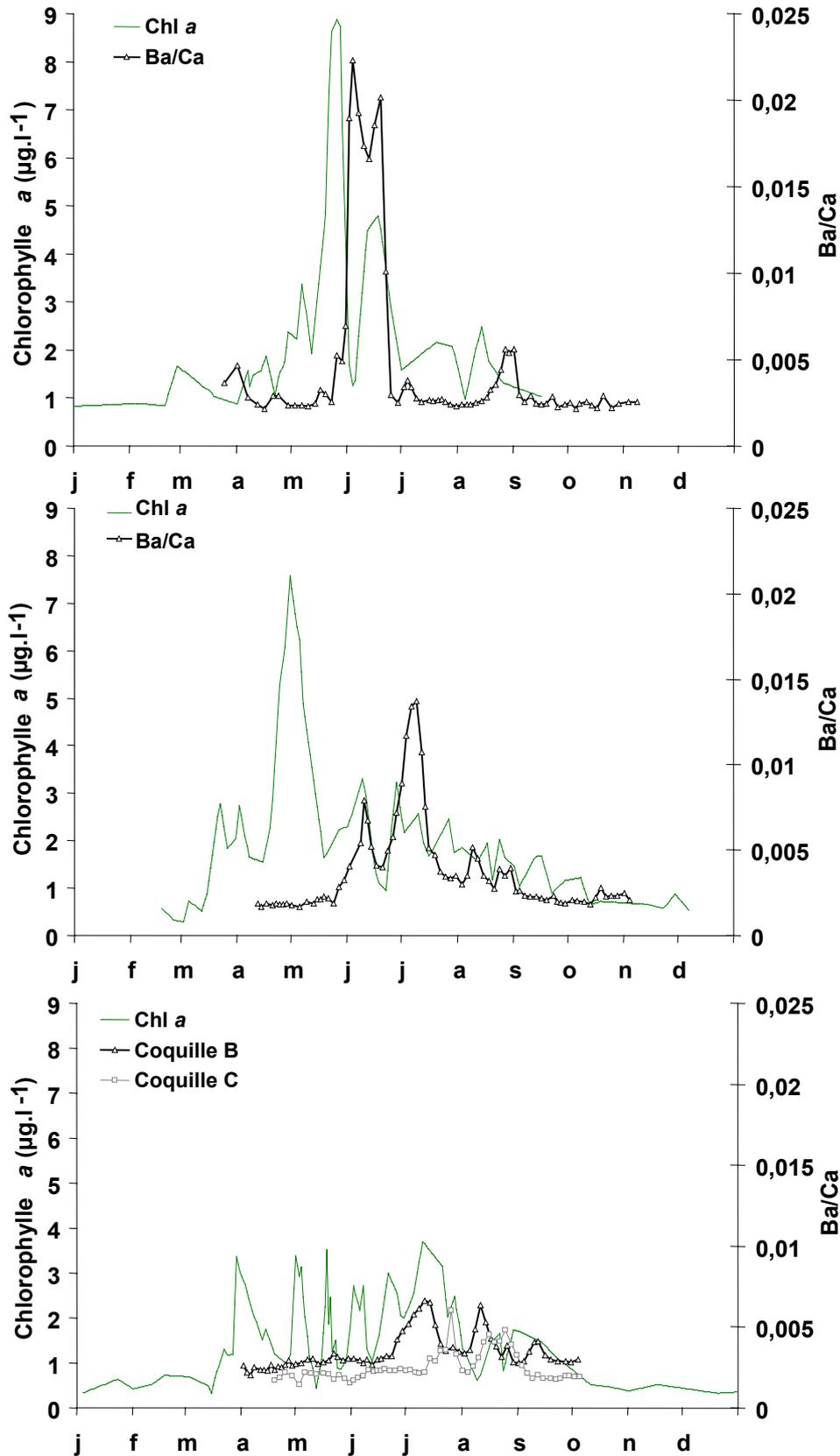


Figure III.80. Profils de Ba/Ca des coquilles D (1998), E (1999), B et C (2000), et concentrations en chlorophylle a ($\mu\text{g.l}^{-1}$) au cours des années 1998, 1999 et 2000.

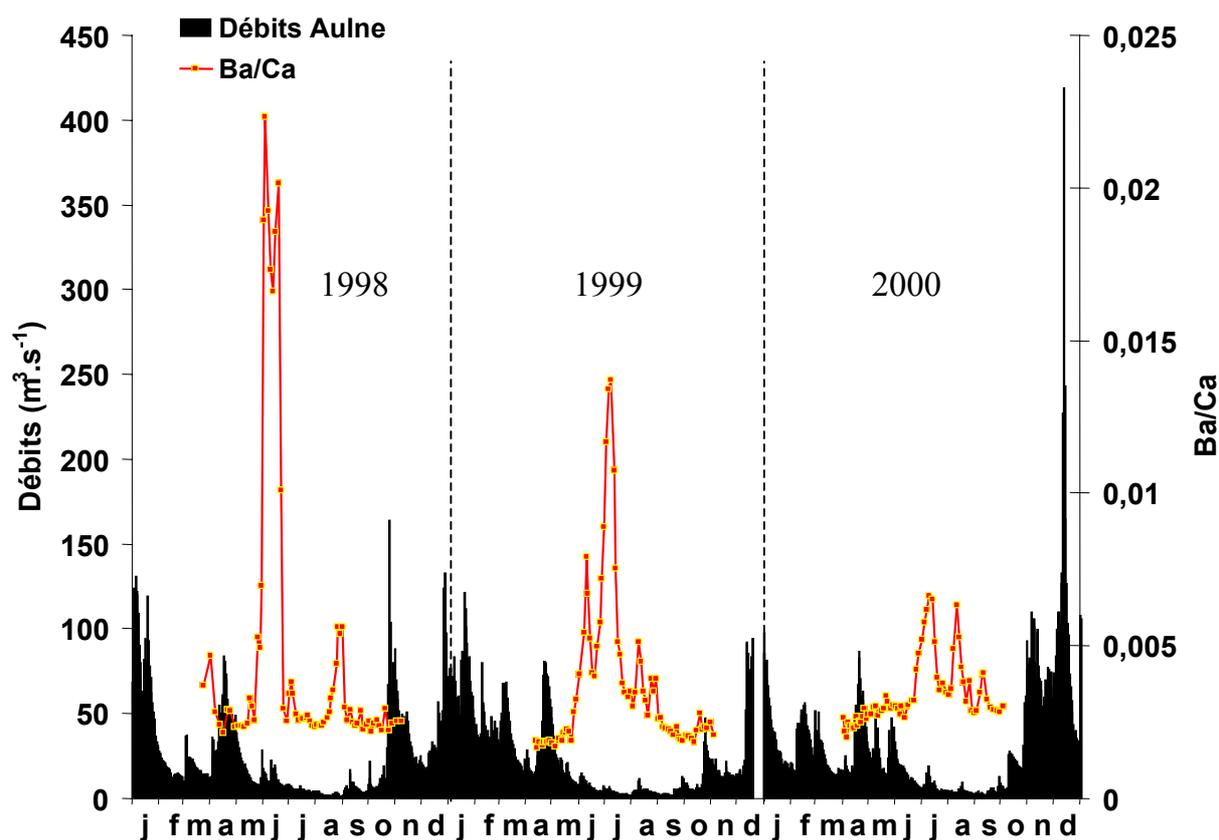


Figure III.81. Profils de Ba/Ca et débits de l'Aulne ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) au cours des années 1998, 1999 et 2000.

2.4.4 Manganèse

Le rapport Mn/Ca est rarement pris en compte dans les études environnementales sur les mollusques. Cependant Vander Putten *et al.* (2000) suggèrent que l'augmentation de Mn dans le squelette carbonaté serait due à une augmentation des concentrations de Mn particulaire, associée à certains blooms phytoplanctoniques.

D'après la figure III.82 des pics de manganèse sont effectivement associés à des efflorescences phytoplanctoniques. Le premier pic correspond à un bloom de *Skeletonema costatum* (1^{er} mai, voir Partie I), le second à un bloom de *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (17-18 mai), et le troisième à un bloom de *Chaetoceros* sp. (10 juillet).

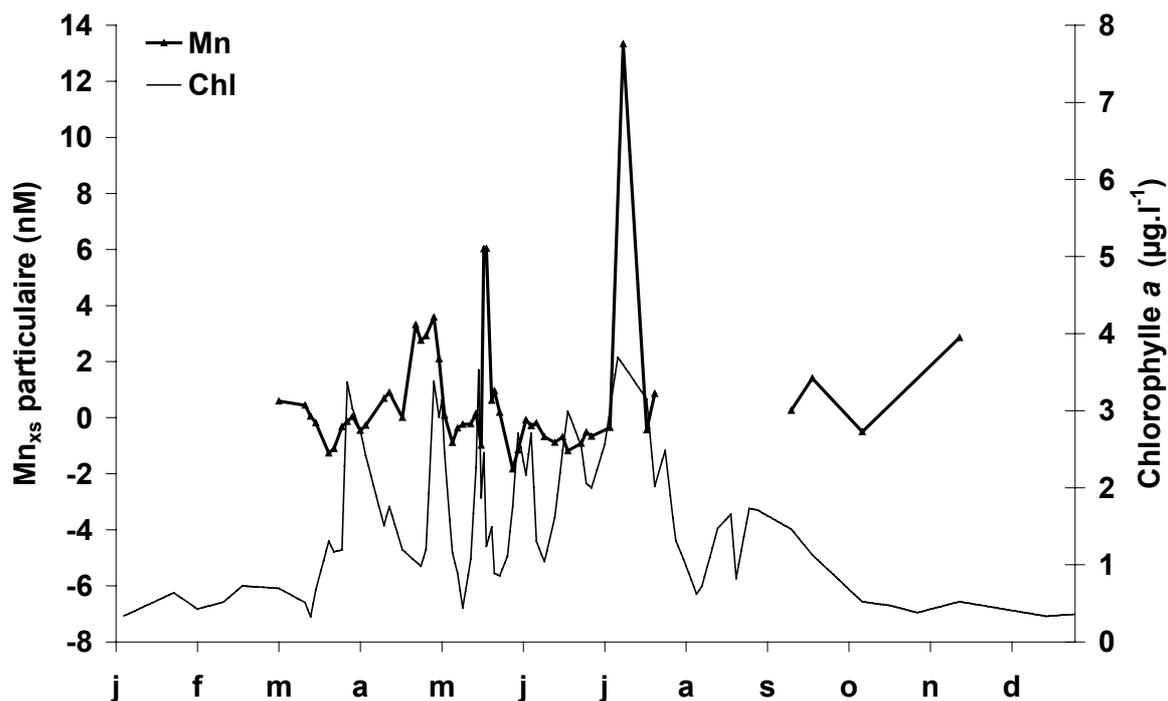


Figure III.82. Profils Mn biogénique particulaire (Mn_{xs} , nM) et concentration en chlorophylle *a* ($\mu\text{g.l}^{-1}$) au cours de l'année 2000.

La comparaison des profils de Mn/Ca des coquilles B et C et des concentrations de manganèse particulaire biogénique (Fig. III.83) montre que les deux premiers pics de Mn/Ca dans la coquille sont effectivement associés à de fortes concentrations en Mn biogénique dans le milieu ; les amplitudes des pics ne sont cependant pas comparables. Les pics de Mn dans les coquilles B et C à la fin du mois de juin ne correspondent pas à une augmentation des teneurs en Mn dans la matière particulaire. Enfin, le dernier pic de Mn particulaire (12 juillet), peut être associé à une légère augmentation du rapport Mn/Ca dans les coquilles aux alentours du 20 juillet. Ainsi, l'association entre les pics de Mn/Ca dans le squelette des coquilles Saint-Jacques les teneurs de manganèse dans la couche de fond n'est pas simple, bien qu'une corrélation semble exister.

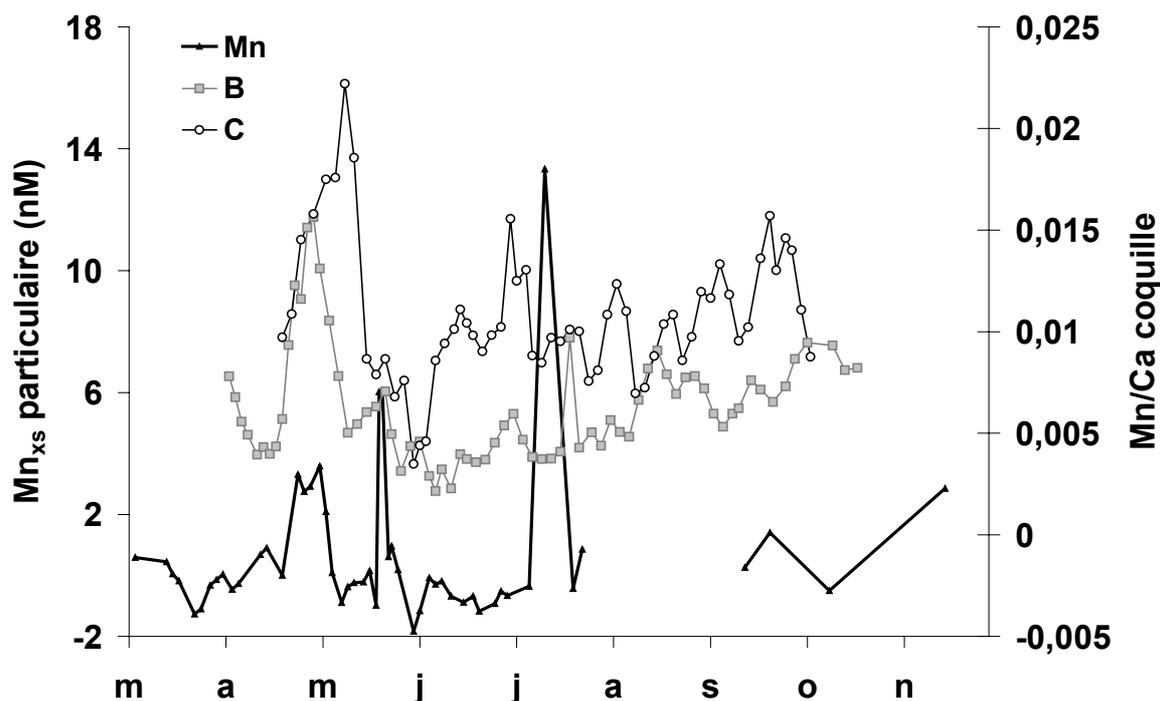


Figure III.83. Profils de Mn/Ca des coquilles B et C, et concentrations en manganèse particulaire (Mn_{xs} , nM) en 2000.

Si l'on superpose les profils de Mn/Ca des coquilles D et E aux variations de la chlorophylle *a* en 1998 et 1999 (Fig. III.84), il semble difficile de généraliser la correspondance des pics de Mn/Ca et des efflorescences phytoplanctoniques. Par contre, une corrélation apparaît entre les débits des rivières et les rapports Mn/Ca, particulièrement marquée lors des fortes crues du mois d'avril (Fig. III.85). Ainsi, les pics de Mn/Ca de la calcite observés au mois d'avril et au mois de mai semblent correspondre à de forts niveaux de Mn particulaire, amenés par les rivières. Cette relation est beaucoup moins nette sur le reste de la période de l'année.

Si les pics de Mn/Ca dans la calcite des coquilles Saint-Jacques sont associés à de forts niveaux de Mn particulaire, la relation avec les efflorescences phytoplanctoniques ne peut être validée dans cette étude. Les débits des rivières ou des remises en suspension en provenance du sédiment, pourraient expliquer l'augmentation des teneurs en Mn particulaire et l'incorporation de cet élément dans la calcite de *P. maximus*.

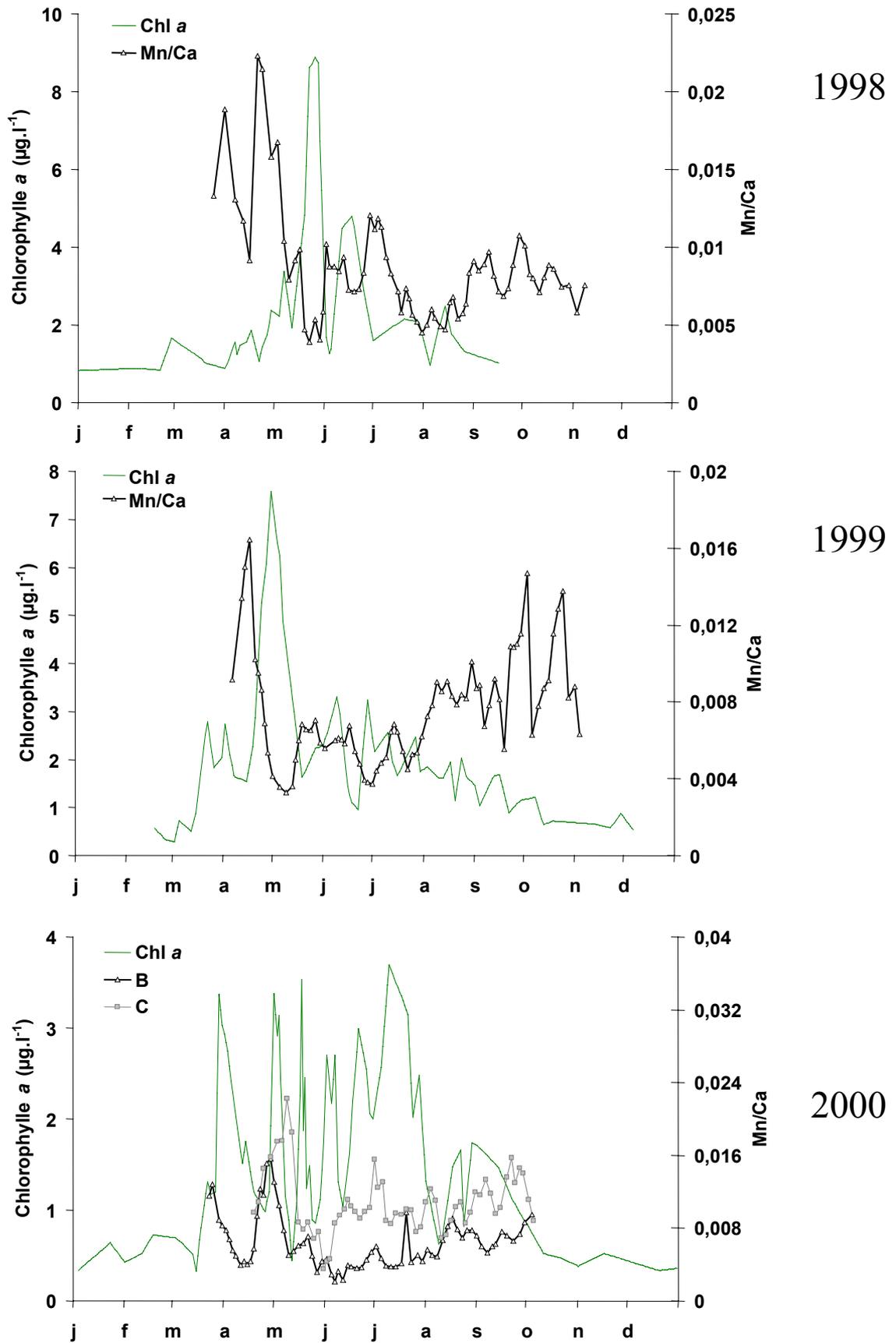


Figure III.84. Profils de Mn/Ca des coquilles D (1998), E (1999), B et C (2000) et concentrations en chlorophylle a ($\mu\text{g.l}^{-1}$) au cours des années 1998, 1999 et 2000.

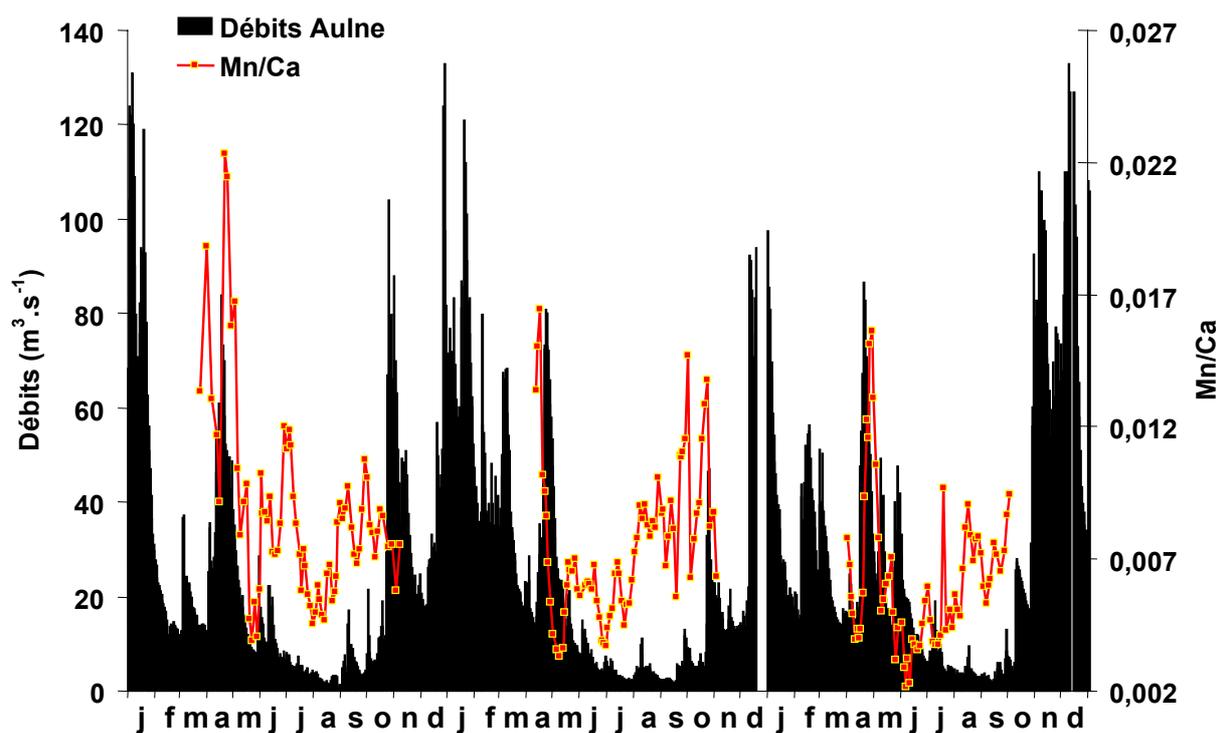


Figure III.85. Profils de Mn/Ca et débits de l'Aulne ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$) au cours des années 1998, 1999 et 2000 (exemple de la coquille B).

2.5 Conclusion et perspectives

Les prélèvements par ablation laser nous ont permis d'obtenir des profils élémentaires à haute résolution dans la calcite des coquilles de *Pecten maximus* à l'échelle du jour. Ces profils ont ensuite pu être datés, grâce à nos connaissances sur la croissance journalière des coquilles Saint-Jacques, de 1998 à 2000. De plus, l'analyse en trait procure une reproductibilité sur les mesures, supérieure à celle de l'ablation en cratère, généralement utilisée dans la littérature (Vander Putten *et al.*, 2000), réduisant les problèmes d'hétérogénéité à petite échelle. Les signaux obtenus sont donc représentatifs de variations de la composition de la coquille et, à l'échelle de l'année, ils décrivent des cycles cohérents. Cependant, malgré le calage temporel des profils, la connaissance des taux de croissance et la mesure de nombreux paramètres environnementaux, nous ne pouvons pas proposer, dans l'état actuel de nos recherches, un élément trace de la calcite comme proxy environnemental. Les variations inter-individuelles rencontrées suggèrent une influence de la biologie des organismes sur l'incorporation de ces éléments traces, que ce soit à un niveau cinétique (croissance) ou métabolique.

Les résultats de cette étude appuient cependant le fort intérêt de l'analyse et de la compréhension des variations des éléments traces dans le squelette des coquilles Saint-Jacques. Dans un premier temps, l'analyse de coquilles Saint-Jacques supplémentaires est primordiale pour généraliser la présence de différences interindividuelles ou révéler le caractère exceptionnel des profils d'une coquille atypique. La quantification des profils des éléments obtenus est le second objectif à court terme ; elle permettra de comparer les concentrations inter-annuelles et inter-sites et peut-être de faire de *Pecten maximus*, à terme, un outil de bio-monitoring de la pollution des eaux côtières. Cette quantification peut avoir lieu via l'obtention d'étalons externes fiables (poudres de calcite compactées, Pécheyran, LCABIE, en cours), ou par le prélèvement de calcite par micro-prélèvement (micro-perceuse commandée par ordinateur) et analyse par ICP-MS, avec la mesure simultanée par LA-ICP-MS.

Une autre question essentielle est celle de la voie d'incorporation des éléments traces, qui pourrait être variable selon les éléments (sous forme particulière pour le baryum et le manganèse, et sous forme dissoute pour le plomb). Afin de tester une incorporation des éléments sous forme particulière via l'ingestion de nourriture, des prélèvements du contenu stomacal des coquilles Saint-Jacques doivent être entrepris. Devant la difficulté de maintenir le rythme journalier de production coquillière en élevant des coquilles Saint-Jacques au laboratoire (Lorrain, 1999), une approche semi-naturelle à l'aide d'enceintes benthiques, pourrait confirmer ou non l'incorporation des éléments sous forme dissoute. En effet, l'injection de solutions d'éléments traces à des concentrations fortement enrichies par rapport au milieu naturel, à l'intérieur des enceintes benthiques pendant des temps d'incubation suffisamment longs (quelques jours), et la détermination postérieure des concentrations de ces éléments, dans la calcite des coquilles Saint-Jacques, permettraient de répondre à cette question.

Enfin, étant donné que la calcite précipite à partir d'un compartiment interne, le fluide extra-palleal (FEP), d'une manière générale, le lien entre ce liquide, le milieu extérieur et la calcification devra être précisé afin de déconvoluer la part environnementale et métabolique sur le signal observé.

CONCLUSION GENERALE

Cette étude nous a permis d'élaborer des corrélations précises (données journalières et datées) entre les variables environnementales et la composition chimique (isotopique et élémentaire) des incréments journaliers de croissance chez *Pecten maximus*. Si le $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques apparaît comme un proxy de la température, le $\delta^{13}\text{C}$ ne peut être utilisé comme traceur de la productivité primaire. Les différents profils d'éléments traces semblent covarier avec plusieurs paramètres, rendant difficile leur application directe, à ce jour, comme traceurs environnementaux. De plus, l'analyse conjointe de la composition isotopique et élémentaire de la calcite de *P. maximus* révèle la présence de variations inter-individuelles, et la possibilité d'une forte contribution métabolique sur les différents signaux observés, en particulier sur le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite.

Outre l'augmentation du nombre d'analyses et l'amélioration des techniques analytiques dans le cas des éléments traces, l'objectif futur sera de déconvoluer les facteurs environnementaux et métaboliques, sur l'incorporation des éléments chimiques dans la calcite de *P. maximus*. Des analyses isotopiques et élémentaires du fluide extrapalléal, du contenu stomacal, ainsi qu'une approche en milieu semi-naturel (enceintes benthiques) sont proposées.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

GENERALES

Conclusions et perspectives générales

Ce travail consistait d'une part, à mieux comprendre les relations liant un invertébré benthique, la coquille Saint-Jacques, à son environnement, en particulier trophique, et d'autre part, à extraire des informations chimiques de son squelette calcifié dans un but de calibration de nouveaux proxy environnementaux. L'ensemble de nos résultats fait ressortir plusieurs points :

Dans un premier temps, ces travaux ont permis de confirmer le lien entre les anomalies de croissance de *Pecten maximus* et les efflorescences phytoplanctoniques siliceuses et non siliceuses. En particulier, des carences en éléments nutritifs (acide orthosilicique et phosphates) ont pu être associées à chaque efflorescence de diatomées perturbant la croissance, appuyant fortement l'hypothèse selon laquelle ces carences entraînent des changements des propriétés du phytoplancton. Toutefois, les mécanismes biologiques expliquant les ralentissements de croissance restent obscurs (colmatage branchial, hypoxie). L'hypothèse d'une perturbation liée aux propriétés qualitatives du phytoplancton (agrégats, particules d'exopolymères transparentes) devra être étudiée *in-situ*. La mise en place de dispositifs couplant des caméras et un granulomètre laser (Gartner *et al.*, 2001), pourrait nous permettre d'identifier et de caractériser les agrégats durant les efflorescences phytoplanctoniques. La mesure complémentaire des concentrations en oxygène dans les premiers centimètres au-dessus du sédiment s'avère également indispensable, afin d'identifier si la dégradation bactérienne de la matière organique provoque des variations des concentrations en oxygène, pouvant conduire à des perturbations de la respiration de *P. maximus*.

La mesure des variations isotopiques ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) dans les différents tissus de *P. maximus* ne nous a pas permis de déterminer précisément les ressources trophiques de cette espèce. Toutefois, l'application des facteurs de fractionnement moyens admis dans la littérature, montre que le phytoplancton n'est pas une ressource trophique majoritaire. Deux hypothèses principales découlent de cette observation i) le phytoplancton constitue une source minoritaire de nourriture pour la coquille Saint-Jacques, le microphytobenthos pouvant alors constituer une des sources principales de nourriture ; ii) les facteurs de fractionnement moyens classiquement utilisés dans la littérature ne sont pas valables pour la coquille Saint-Jacques.

Dans le futur, deux voies de recherche devront être privilégiées. La première, *in situ*, aura pour objectif d'identifier et d'isoler chaque source trophique potentielle ; la seconde, au laboratoire, cherchera à déterminer les facteurs de fractionnement propres à cette espèce à l'aide d'une source de nourriture marquée isotopiquement.

D'autre part, les variations saisonnières des rapports isotopiques du carbone et de l'azote des différents tissus de *P. maximus* (gonade, glande digestive et muscle adducteur) ont pu être mises en relation avec les différentes priorités d'allocation d'énergie de cet organisme. Si ce résultat démontre une influence du métabolisme sur les rapports isotopiques qui devra être prise en compte dans les études de réseaux trophiques, il ouvre de nouvelles perspectives quant à l'utilisation des variations de ces rapports en tant qu'outil écophysiological. En effet, si nos hypothèses s'avèrent exactes, les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$ des différents organes, permettraient de suivre au sein même de l'organisme, les flux de métabolites depuis l'ingestion jusqu'à la production tissulaire. Des expériences en milieu contrôlé permettraient de quantifier les vitesses de transferts des métabolites entre les différents organes, par une approche comparative à différentes périodes de l'année, lors de différentes fenêtres d'allocation d'énergie de l'espèce.

Le second volet de ce travail, portant sur l'information chimique contenue dans la calcite des coquilles Saint-Jacques, montre l'intérêt de l'utilisation du $\delta^{18}\text{O}$ comme traceur de l'évolution saisonnière de la température. La gamme d'utilisation de ce proxy s'étend de 10 à 18°C, avec une précision moyenne de $\pm 0,7^\circ\text{C}$. L'étude du $\delta^{18}\text{O}$ de coquilles prélevées sur le plateau continental armoricain (le long d'un gradient bathymétrique) révèle une diminution de l'amplitude du signal avec la profondeur, correspondant à une plus faible saisonnalité de la température. Toutefois, une dérive du $\delta^{18}\text{O}$ au cours de la vie de l'animal est observée. Des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si cette dérive correspond à un signal environnemental ou à un effet métabolique.

Le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite des coquilles Saint-Jacques ne permet pas de retracer les variations du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous et de la productivité du milieu. Une forte contrainte biologique semble s'exercer sur ce signal. Une plus grande contribution de CO_2 métabolique issu de la respiration, au cours de la vie de l'animal, par rapport à la demande pour la production de CaCO_3 , entraînerait une décroissance du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite à l'échelle annuelle et à l'échelle de la vie des coquilles Saint-Jacques. Si notre hypothèse s'avère exacte, la mesure du $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite de *Pecten maximus* pourrait être un outil particulièrement adapté à l'étude du métabolisme à différentes profondeurs et à différentes latitudes, et viendrait

compléter les résultats issus de l'analyse des variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$ des tissus mous.

Enfin, les premières analyses, issues du développement méthodologique de la spectrométrie de masse à plasma induit couplée à un système d'ablation laser, nous ont permis d'obtenir des profils cohérents de Sr/Ca, Mg/Ca, et Pb/Ca, Ba/Ca et Mn/Ca à une échelle journalière. Les variations saisonnières de ces rapports semblent cependant être influencées simultanément par plusieurs facteurs environnementaux et/ou métaboliques, dont les effets sont à ce jour difficiles à déconvoluer. L'augmentation du nombre d'analyses et la détermination des quantités absolues de ces éléments traces sont indispensables. La multiplication des profils pour une même année devrait en effet nous permettre d'isoler plus facilement les déterminants du signal, décryptage rendu difficile dans cette étude par l'analyse d'un nombre trop faible d'individus.

Intérêt de l'outil coquille Saint-Jacques en terme de paléoclimatologie

La précision des données de température ($\pm 0,7^\circ\text{C}$), obtenue à partir des mesure du $\delta^{18}\text{O}_{\text{calcite}}$ de *Pecten maximus* en rade de Brest, est du même ordre que celle résultant de l'utilisation du rapport Sr/Ca dans l'aragonite des coraux (de $0,5$ à 1°C , Beck *et al.*, 1997). De plus, l'information saisonnière qui en découle est du plus haut intérêt. La variabilité climatique haute-fréquence, ainsi que les valeurs prises par les extrêmes saisonniers, sont un aspect fondamental du climat (Karl *et al.*, 1995 ; Palmer & Raisanen, 2002). L'accès à ces informations est limitée par l'existence de données haute-résolution à long terme (Karl *et al.*, 1995) ; la coquille Saint-Jacques pourrait contribuer à produire ce type de données et ainsi alimenter les modèles de prédiction climatique qui tentent d'intégrer cette échelle temporelle (Easterling *et al.*, 2000).

La multiplication des données de $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite de *P. maximus* autorisera une approche statistique permettant d'améliorer la précision de ce proxy. D'autre part, l'utilisation conjointe des mesures de $\delta^{18}\text{O}$, de Sr/Ca et du modèle de croissance (Chauvaud *et al.*, en préparation) pourraient permettre de reconstituer la température avec une précision largement supérieure à celle du $\delta^{18}\text{O}$ seul. Enfin, des techniques de micro-prélèvements comme les micro-perceuses automatiques haute résolution, ou l'ablation laser, amélioreraient la résolution de prélèvement des analyses isotopiques.

La généralisation de nos mesures à l'échelle de l'aire de distribution de la coquille Saint-Jacques, permettrait d'étendre la portée de nos prédictions d'une échelle locale à une

échelle régionale. Une confrontation de nos résultats à ceux produits par d'autres outils tels que la dendrochronologie pourrait alors être envisagée.

La disponibilité du matériel coquillier d'époques anciennes demeure toutefois un préalable au développement de cet outil. Les collaborations mises en place ont permis de recenser plusieurs dizaines de vestiges coquilliers d'époques historique et préhistorique à l'échelle de la façade atlantique européenne (Dupont, 2002). La fouille spécifique d'amas coquilliers, notamment d'époque mésolithique et néolithique, devrait permettre d'enrichir cette série d'une valeur exceptionnelle.

Complexité des relations milieu-calcite

Notre étude montre que la composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) et élémentaire de la calcite de *P. maximus* n'est pas le reflet de celle du milieu pélagique, approchée par des prélèvements réalisés à un mètre au-dessus du sédiment. Ces différences peuvent être expliquées de deux manières non exclusives:

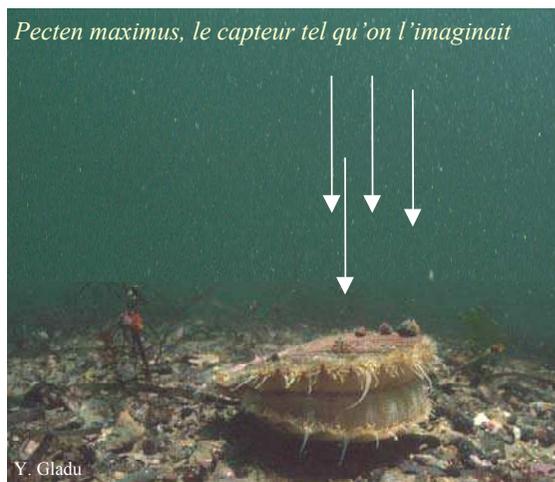
Concept 1. Les caractéristiques de l'eau de mer à proximité directe de l'animal, sont différentes de celles mesurées à un mètre du sédiment (Fig. 1).

Concept 2. La composition chimique du fluide extrapalléal, lieu de la précipitation calcitique, est contrôlée par le métabolisme de l'animal et diffère donc de celle du milieu externe (Fig. 2).

Concept 1. La figure 1 illustre les difficultés conceptuelles liées à l'utilisation de l'outil coquille Saint-Jacques. Si nous espérons que la coquille trace majoritairement son environnement pélagique (concept de départ), au terme de notre travail, il apparaît que ce capteur est aussi fortement soumis aux processus benthiques (Fig. 1, concept 1). Cette espèce vit enfouie dans le sédiment, et son environnement proche peut être très différent de celui mesuré à un mètre du sédiment. Par exemple le $\delta^{13}\text{C}$ du CID mesuré à un mètre du fond est moins influencé par l'activité respiratoire du benthos et par la dégradation bactérienne, que le $\delta^{13}\text{C}$ du CID à l'interface eau-sédiment. La coquille Saint-Jacques enregistre donc à la fois l'influence de la colonne d'eau et celle du sédiment. Si le $\delta^{18}\text{O}$, contrairement aux autres proxy, permet une calibration satisfaisante, c'est parce que la température est très peu influencée par les processus benthiques. L'amélioration de la calibration des proxy passera par une mesure des paramètres physico-chimiques, comme le $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous et les éléments traces, à l'interface eau-sédiment.

Concept de départ :

L'animal se comporte comme un capteur de l'environnement pélagique



La coquille Saint-Jacques, espèce épigée suspensivore, enregistre majoritairement l'environnement pélagique

Concept 1. Importance des processus à l'échelle de l'animal

L'animal se comporte comme un capteur de l'environnement benthopélagique



La colonne d'eau, où sont effectuées les mesures environnementales, n'est pas le milieu de proximité de l'animal. Celui-ci est limité à la couche de fond fortement soumise aux flux benthiques

Figure 1. Difficultés conceptuelles liées à l'utilisation de l'outil coquille Saint-Jacques

Concept 2. La précipitation du squelette carbonaté n'est pas contrôlée uniquement par les facteurs environnementaux. C'est une biominéralisation dans laquelle les processus biologiques ont une place importante. Le milieu de précipitation, compartiment extrapalléal périphérique, contient un fluide (fluide extrapalléal, FEP), dont la composition peut être influencée à la fois par l'environnement extérieur et par le fonctionnement métabolique de l'animal (Fig. 2). Ainsi, comme nous l'avons montré dans la partie III.1, la composition isotopique du FEP peut être altérée par du CO₂ issu de la respiration. L'incorporation des éléments traces peut emprunter différentes voies i) ils peuvent être intégrés passivement sous forme dissoute au fluide extrapalléal ii) ils peuvent également être ingérés, sous forme dissoute ou particulaire, absorbés au niveau des épithéliums digestifs, subir les processus métaboliques et enfin être acheminés vers le FEP via le système hémolymphatique. De plus, il faut considérer que l'ensemble de ces processus de routage est très probablement modulé par les variations saisonnières du métabolisme.

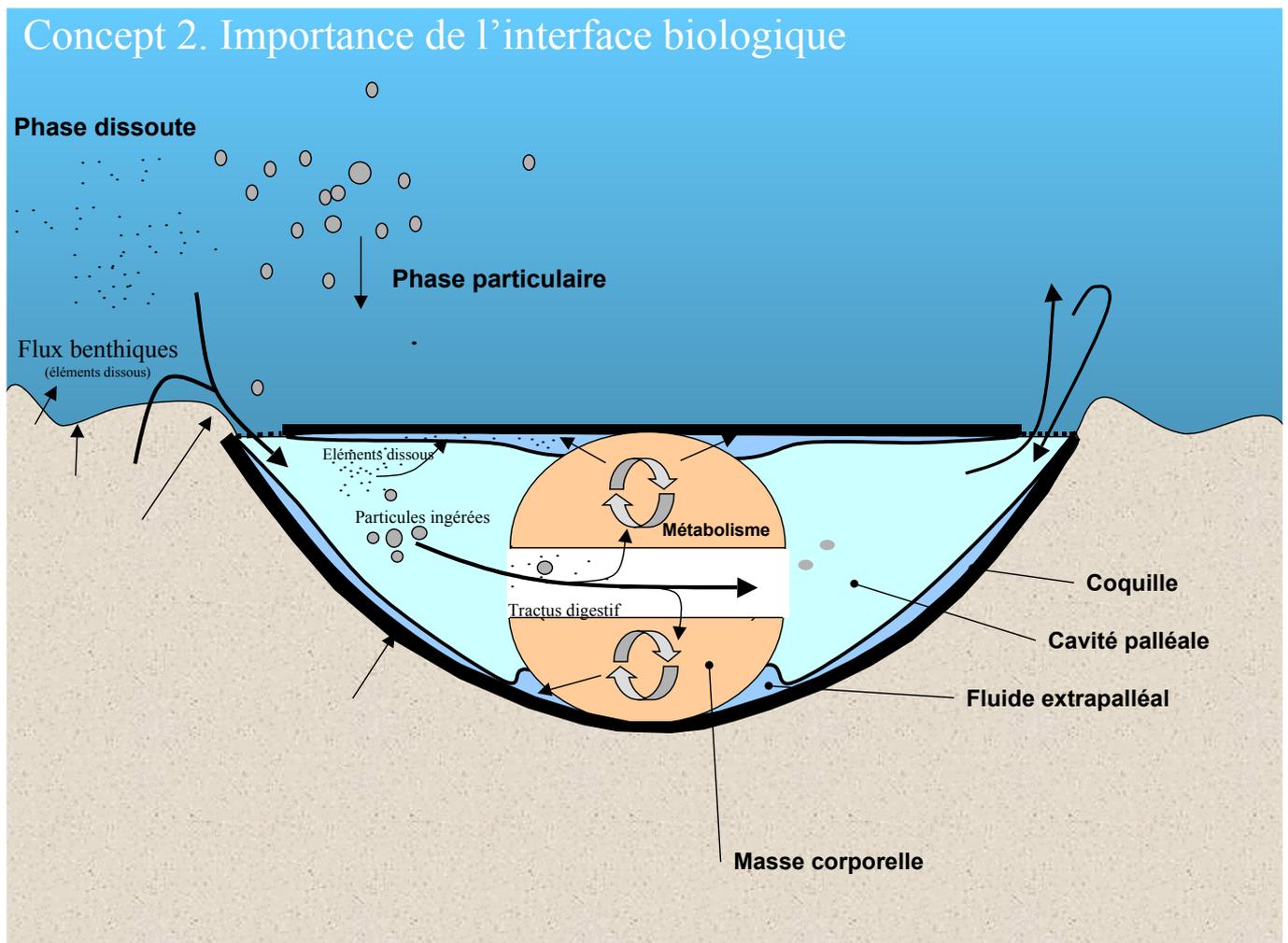


Figure 2. Représentation schématique de l'interface biologique sur la composition du fluide extrapalléal de la coquille Saint-Jacques.

Une meilleure compréhension des processus d'incorporation des isotopes et des éléments traces, par une approche des relations liant la calcite, le milieu extérieur, le contenu stomacal et le fluide extrapalléal est donc essentielle. Des études complémentaires en milieu semi-contrôlé à l'aide d'enceintes benthiques, par l'injection de CID et d'éléments traces marqués, aideraient à définir les liens entre le milieu externe et la précipitation de calcite.

Ainsi, l'intérêt du modèle coquille Saint-Jacques est évident pour l'étude du fonctionnement des écosystèmes, puisqu'il a permis de révéler des dysfonctionnements de la production primaire, et de mettre en lumière certains paradoxes concernant le rôle de l'acide orthosilicique à différentes périodes de l'année. De plus, l'accumulation de données haute-fréquence de température, et à terme de données élémentaires, font de la coquille Saint-Jacques un outil de surveillance des écosystèmes côtiers. La validité du signal de $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite des coquille Saint-Jacques se prête à des applications immédiates dans le domaine de la paléoclimatologie. Par contre, les autres paramètres chimiques étudiés apparaissent fortement influencés par des processus biologiques. Ainsi, le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite, associé à la composition isotopique des tissus mous de *Pecten maximus*, pourrait être un traceur particulièrement prometteur, du métabolisme des coquilles Saint-Jacques.

Ce travail de thèse, dès l'origine inscrit dans un cadre multidisciplinaire, où se croisent biologie, écologie et biogéochimie, a démontré la pertinence de cette démarche pour une étude de traçage environnemental. Entre autres, si l'approche biologique était au départ développée pour améliorer la compréhension du signal biogéochimique, ce travail, arrivé à son terme, ouvre une perspective où l'approche biogéochimique devient un outil d'analyse des processus biologiques.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Adams, T.S., Sterner, R.W. 2000. The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. *Limnology and Oceanography*. 45, 601-607.
- Allredge, A.L., Gotschalk, C.C. 1989. Direct observations of the mass flocculation of diatom blooms: characteristics, settling velocities and formation of diatom aggregates. *Deep Sea Research* 36, 159-171.
- Allredge, A.L., Jackson, G.A. 1995. Aggregation in marine systems. *Deep Sea Research. Part II* 42, 1-7.
- Allredge, A.L., Passow, U. and Logan, B.E., 1993. The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean. *Deep Sea Research. I.* 40(6), 1131-1140.
- Aminot, A. Chaussepied, M. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO, Brest, 395pp.
- Anderson, T.R., Williams, P.J.B. 1998. Modelling the seasonal cycle of dissolved organic carbon at station E1 in the English channel. *Estuarine Coastal Shelf Science* 46, 93-109.
- Antoine, L. 1979. La croissance de la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (L.) et ses variations en mer Celtique et en Manche. Thèse de troisième cycle, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 149p.
- Barbin, V., Ramseyer, K., Debenay, J.P., Schein, E., Roux, M., Decrouez, D. 1991a. Cathodoluminescence of recent biogenic carbonates: an environmental and ontogenic fingerprint. *Geological Magazine* 128, 19-26.
- Barbin, V., Schein, E., Roux, M., Decrouez, D., Ramseyer, K. 1991b. Stries de croissance révélées par cathodoluminescence dans la coquille de *Pecten maximus* (L.) récent de la rade de Brest (Pectinidae, Bivalvia). *Geobios* 24.
- Barrera, E., Tevesz, M. J. S., Carter, J. G., McCall, P. L. 1994. Oxygen and carbon isotopic composition and shell microstructure of the bivalve *Laternula elliptica* from Antarctica. *Palaos*. 9, 275-287.
- Beck, J.W., Edwards, L., Ito, E., Taylor, F.W., Recy, J., Rougerie, F., Joannot, P., Henin, C. 1992. Sea-surface temperature from coral skeletal strontium/calcium ratios. *Science*, 644-647.

- Beck, J.W., Récy, J., Taylor, F., Edwards, R.L., Cabioch, G. 1997. Abrupt changes in early Holocene tropical sea surface temperature derived from coral records. *Nature*, 385, 705-707.
- Belin, C., Raffin, B. 1998. Les espèces phytoplanctoniques toxiques et nuisibles sur le littoral français de 1984 à 1995, résultats du REPHY (réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines). Chapitre 3. Espèces toxiques et nuisibles pour la faune marine. <http://www.ifremer.fr/envlit/pdf/rephypdf/rephy5.pdf>
- Bemis, B. E., Geary, D. H. 1996. The usefulness of bivalve stable isotope profiles as environmental indicators: data from the eastern pacific ocean and the southern caribbean sea. *Palaios*. 11, 328-339.
- Bienfang, P.K. and Harrison, P.J., 1984. Sinking rate response of natural assemblages of temperate and subtropical phytoplankton to nutrient depletion. *Marine Biology* 83, 293-300.
- Bienfang, P.K., Harrison, P.J. and Quamrby, L., 1982. Sinking rate response to depletion of nitrate, phosphate and silicate in four marine diatoms. *Marine Biology* 67, 295-302.
- Bishop, J.K. 1988. The barite-opal-organic carbon association in oceanic particulate organic matter. *Nature* 332, 341-343.
- Bligh, E.G., Dyer W.M., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.
- Broecker, W.S., Peng, T.H. (eds). 1982. *Tracers in the sea*, 690p, Lamont-Doherty Geol. Observ., Palisades, New York.
- Broom, M.J., Mason, J. 1978. Growth and spawning in the Pectinid *Chlamys opercularis* in relation to temperature and phytoplankton concentration. *Marine Biology* 47, 277-285.
- Bruland, K.W. 1983. Trace elements in seawater. In *Chemical Oceanography*. Riley, J.P., Chester, R. eds. Academic Press. Vol 8. pp 157-220.
- Brzezinski, M.A., Nelson, D.M. 1989. Seasonal change in the silicon cycle within a Gulf Stream warm-core ring. *Deep-Sea Research* 36, 1009-1030.
- Brzezinski, M.A., Olson, R.J. and Chisholm, S.W., 1990. Silicon availability and cell cycle progression in marine diatoms. *Marine Ecology Progress Series* 67, 83-96.
- Canuel, E.A., Cloern, J.E, Ringelberg, D.B., J.B. Guckert, Rau G.H., 1995. Molecular and isotopic tracers used to examine sources of organic matter and its incorporation into the food webs of San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography* 40(1), 67-81.

- Cardinal, D., Hamelin, B., Bard, E., Pätzold, J. 2001. Sr/Ca, U/Ca and $\delta^{18}\text{O}$ records in recent massive corals from Bermuda: relationships with sea surface temperature. *Chemical Geology* 176, 213-233.
- Carriker, M.R., Swann, C.P., Prezant, R.S., Counts, I., C.L. 1991. Chemical elements in the aragonitic and calcitic microstructural groups of shell of the oyster *Crassostrea virginica*: a proton probe study. *Marine Biology* 109, 248-297.
- Carriker, M.R., Palmer, R.E., Sick, L.V., Johnson, C.C. 1980. Interaction of mineral elements in seawater and shells of oysters (*Crassostrea virginica* (Gmelin)) cultured in controlled and natural systems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 46, 279-296.
- Chauvaud, L., Thouzeau, G., Grall, J. 1996. Experimental collection of great scallop postlarvae and other benthic species in the Bay of Brest: settlement patterns in relation to spatio-temporal variability of environmental factors. *Aquaculture International* 4, 263-288.
- Chauvaud, L., 1998. La coquille Saint-Jacques en rade de Brest : un modèle biologique d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest-France, 266pp.
- Chauvaud, L., Donval, A., Thouzeau, G., Paulet, Y.-M., Nézan, E. 2001. Food intake of *Pecten maximus* (L.) from the Bay of Brest (France): influence of environmental factors and phytoplankton species composition. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris*. 324, 1-13.
- Chauvaud, L., Jean, F., Ragueneau, O., Thouzeau, G. 2000. Long term variation of the Bay of Brest ecosystem: benthic-pelagic coupling revisited. *Marine Ecology Progress Series* 200, 35-48.
- Chauvaud, L., Strand, O. 1999. Growth traits in three populations of *Pecten maximus*. In 12th International Pectinid Workshop, Bergen, p164.
- Chauvaud, L., Thouzeau, G., Paulet, Y.M. 1998. Effects of environmental factors on the daily growth rate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 227, 83-111.
- Chiési, F., Schein, e., Roux, M. 1995. Variations de la durée du mois synodique enregistrées par la coquille des Pectinidés depuis 200 millions d'années. *Compte Rendus de l'Académie des Sciences Paris*. 321, 353-359.
- Cifuentes, L.A., Sharp, J.H., Fogel, M.L. 1988. Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnology and Oceanography* 35(5), 1102-1115.

- Clark, G.R., 1968. Mollusk shell: Daily growth lines. *Science*, 161:800-802.
- Clark, G.R., 1974a. Periodic growth and biological rhythms in experimentally grown bivalves. In : Rosenberg, G.D., Runcorn SK (eds.). *Growth rhythms and the history of the earth rotation*, Wiley, London, 103-117.
- Clark, G.R., 1974b. Calcification on an unstable substrate : marginales growth in the mollusk *Pecten diegensis*. *Science*. 183, 968-970.
- Cloern, J.E. 1982. Does the benthos control phytoplankton biomass in south San Francisco Bay ? *Marine Ecology Progress Series* 9, 191-202.
- Cloern, J.E. 1996. Phytoplankton bloom dynamics in coastal ecosystems: a review with some general lessons from sustained investigation of San Francisco Bay, California. *Reviews of Geophysics* 34, 127-168.
- Cloern, J. E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210, 223-253.
- Coma, R., Ribes, M., Gili, J.-M., Zabala, M. 2000. Seasonality in coastal benthic ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 448-453.
- Conley, D.J., Malone, T.C. 1992. Annual cycle of dissolved silicate in Chesapeake Bay : implications for the production and fate of phytoplankton biomass. *Marine Ecology Progress Series* 81, 121-128.
- Conley, D.J., Schelske, C.L.& Stoermer, E.F., 1993. Modification of the biogeochemical cycle of silica with eutrophication. *Marine Ecology Progress Series* 101, 179-192.
- Coplen, T.B., Kendall, C., Hoppo, J. 1983. Comparison of stable isotope reference samples. *Nature* 302, 236-238.
- Craig, C.A., Jarvis, K.E., 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-mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15, 1001-1008.
- Craig, H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 12, 133-149.
- Crocker, K.M., Passow, U. 1995. Differential aggregation of diatoms. *Marine Ecology Progress Series* 117, 249-257.
- Dame, R.F. 1996. *Ecology of marine bivalves : an ecosystem approach* CRC Marine Science Series, New York, 254pp.

- Daniel, A. 1995. Le cycle de l'azote en un écosystème côtier : développement d'un analyseur pour la mesure in situ des nitrates et des nitrites ; variations saisonnières de la production azotée phytoplanctonique. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. 145 p.
- Dehairs, F., Chesselet, R., Jedwab, J. 1980. Discrete suspended particles of barite and the barium cycle in the open ocean. *Earth Planetary Science Letters* 49, 528-550.
- Dehairs, F., W. Baeyens and L. Goeyens, 1992. Accumulation of suspended barite at mesopelagic depths and export production in the Southern Ocean, *Science*, 258, 1332 - 1335.
- Dehairs, F., D. Shopova, S. Ober, C. Veth and L. Goeyens, 1997. Particulate barium stocks and oxygen consumption in the Southern Ocean mesopelagic water column during spring and early summer: Relationship with export production, *Deep-Sea Research II*, 44, 497-516.
- Del Amo, Y., 1996. Dynamique et structure des communautés phytoplanctoniques en écosystème côtier perturbé; cinétique de l'incorporation de silicium par les diatomées. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. 217 p.
- Del Amo, Y., Le Pape, O., Tréguer, P., Quéguiner, B., Ménesguen, A., Aminot, A. 1997a. Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. I. Seasonal evolution of nutrient limitation for the diatom dominated phytoplankton of the Bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress Series* 161, 213-224.
- Del Amo, Y., Le Pape, O., Tréguer, P., Quéguiner, B., Ménesguen, A., Aminot, A. 1997b. Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. II. Specific role of the silicic acid pump in the year-round dominance of diatoms in the Bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress Series* 161, 225-237
- Delmas, R. 1981. Etude de l'évolution saisonnière des sels nutritifs dans la rade de Brest en fonction des apports fluviaux et des échanges avec l'Iroise. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 163 p.
- De Master, D.J., 1981. The supply and accumulation of silica in the marine environment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 1715-1732.
- DeNiro, M., and S. Epstein. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45: 341-351.
- DeNiro, M., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 495-506.

- Dettman, D.L., Reische, A.K., Lohmann, K.C. 1999. Controls on the stable isotope composition of seasonal growth bands in aragonitic fresh-water bivalves (unionidae). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63, 1049-1057.
- Dodd, J.R. 1965. Environmental control of strontium and magnesium in *Mytilus*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 29, 385-398.
- Dodge, R.E., Vaisnys, J.R. 1980. Skeletal growth chronologies of recent and fossil corals. In skeletal growth of aquatic organisms, eds. Rhoads, D.C., Lutz, R.A. Plenum, 493-517.
- Dupont, C. 2002. Etude de la malacofaune des sites mésolithiques et néolithiques de la façade atlantique de la France: contribution à l'économie et à l'identité culturelle des groupes concernés. Thèse de troisième cycle. Université de Paris I.
- Dymond, J.R., Suess, E., Lyle, M. 1992. Barium in deep-sea sediment: A geochemical proxy for paleoproductivity. *Paleoceanography* 7, 163-181.
- Easterling, D.R., Meehl, G.A., Parmesan, C., Changnon, S.A., Karl, T.R., Mearns, L.O. 2000. Climate extremes: Observations, Modeling, and Impacts. *Science* 289, 2068-2074.
- Eisma, D., Bale, A.J., Dearnaley, M.P., Fennessy, M.J., Van Leussen, W., Maldiney, M.-A., Pfeiffer, A., Wells, J.T. 1996. Intercomparison of in situ suspended matter (floc) size measurements. *Journal of Sea Research* 36, 3-14.
- Elbrachter, M., Schnepf, E. 1996. *Gymnodinium chlorophorum*, a new, green, bloom forming dinoflagellate (Gymnodiniales, Dinophyceae) with a vestigial prasinophyte endosymbiont. *Phycologia* 35, 381-393.
- Engel, A., Schartau, M. 1999. Influence of transparent exopolymer particles (TEP) on sinking velocity of *Nitzschia closterium* aggregates. *Marine Ecology Progress Series* 182, 69-76.
- Epstein, S.R., Buchsbaum, R., Lowenstam, H.A., Urey, H.C. 1953. Revised carbonate-water isotopic temperature scale. *Geological Society of American Bulletin* 64, 1315-1326.
- Fatherree, J.W., Harries, P.J., Quinn, T.M. 1998. Oxygen and carbon isotopic "dissection" of *Baculites compressus* (Mollusca: Cephalopoda) from the Pierre Shale (Upper Campanian) of South Dakota: Implications for paleoenvironmental reconstructions. *Palaios* 13, 376-385.
- Focken, U. 2001. Stable isotopes in animal ecology : the effect of ration size on the trophic shift of C and N isotopes between feed and carcass. *Isotopes Environmental Health Studies* 37, 199-211.

- Focken, U., Becker, K. 1998. Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using $\delta^{13}\text{C}$ data. *Oecologia* 115, 337-343.
- François, R., Honjo, S., Manganini, S., Ravizza, G. 1995. Biogenic barium fluxes to the deep-sea: Implication for paleoproductivity reconstructions. *Global Biogeochemical Cycles* 9, 289-303.
- France, R.L. 1995. Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: Foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series* 124, 307-312.
- Fry, B., Brand, W., Mersch, F.J., Tholke, K., Garitt, R. 1992. Automated analysis system of coupled $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ measurements. *Analytical Chemistry* 64, 288-291.
- Gannes, L.Z., Martinez Del Rio, C., Koch, P. 1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology* 119A, 725-737.
- Gannes, L.Z., O'Brien, D.M., Martinez Del Rio, C. 1997. Stable isotopes in animal ecology: Assumptions, caveats and a call for more laboratory experiments. *Ecology* 78, 1271-1276.
- Geider, R., 1987. Light and temperature dependence of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae and Cyanobacteria: implication for physiology and growth of phytoplankton. *New Phytology* 106, 1-34.
- Glibert, P.M., McCarthy, J.J. 1984. Uptake and assimilation of ammonium and nitrate by phytoplankton : indices of nutritional status for natural assemblages. *Journal of Plankton Research*. 6, 677-697.
- Grall, J., Chauvaud, L., Thouzeau, G., Fifas, S., Glemarec, M., Paulet, Y. M. 1996. Distribution de *Pecten maximus* (L.) et de ses principaux compétiteurs et prédateurs potentiels en rade de Brest. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences, Paris*. 319, 931-937.
- Grall, J. 2002. Biodiversité spécifique et fonctionnelle du maerl : réponses à la variabilité de l'environnement côtier. Thèse de troisième cycle. Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 301 p.
- Gray, A.L. 1985. Solid sample introduction by laser ablation for inductively coupled plasma Source Mass Spectrometry. *Analyst* 110:551-556
- Gruffydd, L.D. 1981. Observations on the rate of production of external ridges on the shell of *Pecten maximus* in the laboratory. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 61, 401-411.

- Hafsaoui, M. 1984. Fertilisation d'un système eutrophe à forte variabilité saisonnière et annuelle (rade de Brest). Mise en évidence des facteurs limitants de la production phytoplanctonique. Assimilation simultanée des différentes formes d'azote inorganique et organique. Thèse de troisième cycle. Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 170p.
- Hallam, A., Price, N.B. 1968. Environmental and biochemical control of strontium in shells of *Cardium edule*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 32, 319-328.
- Harrison, G.I. and Morel, F.M.M., 1986. Response of the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* to iron stress. *Limnology and Oceanography* 31, 989-997.
- Harrington, R.J. 1989. Aspects of growth deceleration in bivalves: clues to understanding the seasonal $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ record — A comment on Krantz *et al.* (1987). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 70, 399-407.
- Hart, R.S., Blusztajn, J. 1998. Clams as recorders of ocean ridge volcanism and hydrothermal vent field activity. *Science* 280, 883-886.
- Heikoop, J.M., Dunn, J.J., Risk, M.J., Swchwarz, H.P., McConnaughey, T.A., Sandeman, I.M. 2000. Separation of kinetic and metabolic isotope effects in carbon-13 records preserved in reef coral skeletons. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 975-987.
- Hellings, L., Dehairs, F., Tackx, M., Keppens, E., Baeyens, W. 1999. Origin and fate of organic carbon in the freshwater of the Scheldt Estuary as traced by stable carbon isotope composition. *Biogeochemistry* 47, 167-186.
- Hellings, L., Dehairs, F., Van Damme, S., Baeyens, W. 2001. Dissolved inorganic carbon in a highly polluted estuary (the Scheldt). *Limnology and Oceanography* 46, 1406-1414.
- Helm, N.E., Malouf, R.E., 1983. Role of production of the external ridges in the bay scallop, *Argopecten irradians*. *American Zoologist* 23, 835.
- Hickson, J.A., Johnson, A.L.A., Heaton, T.H.E., Balson, P.S. 1999. The shell of the Queen Scallop *Aequipecten opercularis* (L.) as a promising tool for paleoenvironmental reconstruction: evidence and reasons for equilibrium stable-isotope incorporation. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 154, 325-337.
- Hily, C. 1984. Variabilité de la macrofaune benthique dans les milieux hypertrophiques de la rade de Brest. Thèse de troisième cycle. Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 359 p.
- Hily, C. 1989. La mégafaune benthique des fonds meubles de la rade de Brest : pré-échantillonnage par vidéo sous-marine. *Cahiers de Biologie Marine* 30, 433-454.
- Hoefs, J. 1997. Stable isotopes geochemistry. 4th edition. Springer-Verlag, Berlin, 201p.

- Jackson, G.A., 1990. A model of the formation of marine algal flocs by physical coagulation processes. *Deep Sea Research. I*, 37: 1197-1211.
- Jackson, G.A. 1995. Comparing observed changes in particle size spectra with those predicted using coagulation theory. *Deep-Sea Research. II*. 54, 159-184.
- Jean, F. 1994. Modélisation à l'état stable des transferts de carbone dans le réseau trophique benthique de la rade de Brest (France). Thèse de troisième cycle. Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, 170 p.
- Jennings, S., Pinnegar, J.K., Polunin, N.V.C., Warr, K.J. 2002a. Linking size-based and trophic analyses of benthic community structure. *Marine Ecology Progress Series* 226, 77-85.
- Jennings, S., Warr, K.J., Mackinson, S. 2002b. Use of size-based production and stable isotope analyses to predict trophic transfer efficiencies and predator-prey body mass ratios in food webs. *Marine Ecology Progress Series* 240, 11-20.
- Joll, L.M., 1988. Daily growth rings in juvenile saucer scallop, *Amusinium balloti* (Bernardi). *Journal of Shellfish Research* 7, 73-76
- Jones, D.S. 1983. Sclerochronology: reading the record of the molluscan shell. *American Scientist* 71, 384-391.
- Jones, D.S., Quitmyer, I.R. 1996. Marking time with bivalve shells: oxygen isotopes and season of annual increment formation. *Palaios* 11, 340-346.
- Kang, C.K., Sauriau, P.-G., P. Richard, Blanchard, G.F., 1999. Food sources of the infaunal suspension-feeding bivalve *Cerastoderma edule* in a muddy sand flat of Marennes-Oleron Bay, as determined by analyses of carbon and nitrogen stable isotopes. *Marine Ecology Progress Series* 187, 147-158.
- Karl, T.R., Knight, R.W., Plummer, N. 1995. Trends in high-frequency climate variability in the twentieth century. *Nature* 377, 217-220.
- Keller, N., Del Piero, D., Longinelli, A. 2002. Isotopic composition, growth rates and biological behaviour of *Chamelea gallina* and *Callista chione* from the Gulf of Trieste (Italy). *Marine Biology* 140, 9-15.
- Kharlamenko, V.I., Kiyashko, S.I., Imbs, A.B., Vyshkvartzev, D.I. 2001. Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable isotope ratio and fatty acid analysis. *Marine Ecology Progress Series* 220, 103-117.
- Kim, S-T., O'Neil, R. Equilibrium and nonequilibrium oxygen isotope effects in synthetic carbonates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61 (16), 3461-3475.

- Klein, R.T., Lohmann, K.C., Kennedy, G.L. 1997. Elemental and isotopic proxies of paleotemperature and paleosalinity: Climate reconstruction of the marginal Northeast Pacific ca. 80 ka. *Geology* 25, 363-366.
- Klein, R.T., Lohmann, K.C., Thayer, C.W. 1996a. Bivalve skeletons record sea-surface temperature and $\delta^{18}\text{O}$ via Mg/Ca and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios. *Geology* 24, 415-418.
- Klein, R.T., Lohmann, K.C., Thayer, C.W. 1996b. Sr/Ca and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in skeletal calcite of *Mytilus trossolus*: Covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60, 4207-4221.
- Koroleff, F., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. International Council for the Exploration of the Sea, C.M. 9, 19-22.
- Krantz, D.E., Williams, D.F., Jones, D.S. 1987. Ecological and paleoenvironmental information using stable isotope profiles from living and fossil molluscs. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 58, 249-266.
- Krausse, G.L., Schelske, C.L., Davis, C.O., 1983. Comparison of three wet-alkaline methods of digestion biogenic silica in water. *Freshwater Biology* 13, 73-81.
- Kreeger, D.A., Newell, R.I.E., 2001. Seasonal utilisation of different seston carbon sources by the ribbed mussel, *Geukensia demissa* (Dillwyn) in a mid-Atlantic salt marsh. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 260, 71-91.
- Lajtha, K., Michener, R.H. 1994. Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell Scientific. 316pp.
- Larvor, H. 1996. La biominéralisation de *Pecten maximus* L. : anomalies liées aux perturbations du milieu. Thèse de troisième cycle. Université de Bretagne Occidentale. Brest, France. 185 pp.
- Le Boucher, V. 1998. Carbone 14 thermonucléaire et tritium, traceurs de la circulation des masses d'eau et de la pénétration du CO_2 anthropique dans l'Océan Indien. Thèse de doctorat, Université de Paris VI, 202p.
- Le Pape, O. 1996. Modélisation des cycles biogéochimiques des éléments limitant la production phytoplanctonique en rade de Brest. Thèse de doctorat, Ecole Nationale supérieure d'Agronomie de Rennes, Rennes, 195p.
- Le Pape, O., Del Amo, Y., Menesguen A., Aminot, A., Quéguiner, B., Treguer, P. 1996. Resistance of a coastal ecosystem to increasing eutrophic conditions: the Bay of Brest (France), a semi-enclosed zone of Western Europe. *Continental Shelf Research* 16 (15), 1885-1907.

- Lee, X., Wan, G. 2000. No vital effect on $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values of fossil brachiopod shells, Middle Devonian of China. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 2649-2664.
- Lewis, D.E. & Cerrato, R.M., 1997. Growth uncoupling and the relationship between shell growth and metabolism in the soft shell clam *Mya arenaria*. *Marine Ecology Progress Series* 158, 177–189.
- Leynaert, A., Tréguer, P., Lancelot, C., Rodier, M. 2001. Silicon limitation of biogenic silica production in the Equatorial Pacific. *Deep-Sea Research*.I 48, 639-660.
- Logan, B.E., Passow, U., Alldredge, A.L., Grossart, H.-P., Simon, M. 1995. Rapid formation and sedimentation of large aggregates is predictable from coagulation rates (half-lives) of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research II* 42, 203-214.
- Lorenzen, C., 1967. Determination of chlorophyll and phaeophytin: spectrophometric equation. *Limnology and Oceanography* 12, 343–346.
- Lorrain, A. 1999. Effet des paramètres environnementaux sur la croissance coquillière journalière des juvéniles de *Pecten maximus* (L.) en rade de Brest : Approche expérimentale et in situ. Mémoire de DEA, Université de Brest, 30pp.
- Lorrain, A., Paulet, Y.-M., Chauvaud, L., Savoye, N., Nézan, E., Guérin, L. 2000. Growth anomalies in *Pecten maximus* from coastal waters (Bay of Brest, France): relationship with diatom blooms. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 80, 667-673.
- Lorrain, A., Paulet, Y.-M., Chauvaud, L., Savoye, N., Donval, A., Saout, C. 2002. Differential $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures among scallop tissues: Implications for ecology and physiology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 275, 47-61.
- Malouf, R.E., Bricelj, V.M., 1989. Comparative biology of clams : environmental tolerance, feeding and growth. Chapter 2 In : J. Manzi et M.Castagna (Editors), *Clam Mariculture in North America*. Elsevier, New-York : 23-73.
- Margosian, A., Tan, F.C., Cai, D., Mann, K.H. 1987. Seawater temperature records from stable isotopic profiles in the shell of *Modiolus modiolus*. *Estuarine Coastal Shelf Science* 25, 81-89.
- Marshall, J.D. 1992. Climatic and oceanographic isotopic signals from the carbonate rock record and their preservation. *Geological Magazine*. 129, 143-160.
- Martin-Jézéquel, V., Hildebrand, M. and Brzezinski, M., 2000. Silicon metabolism in diatoms: implications for growth. *Journal of Phycology* 36, 1-20.
- Masson, J. 1958. The breeding of the scallop *Pecten maximus* (L.) in Manx waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 37, 653-671.

- McConnaughey, B., J., Whelan, J.F., Paull, C.K. 1997. Carbon isotopes in biological carbonates: Respiration and photosynthesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 611-622.
- McConnaughey, T. 1989. ^{13}C and ^{18}O isotopic disequilibrium in biological carbonates: I. Patterns. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53, 151-162.
- Michener, R.H., Schell, D.M. 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. P. 138-157. In K. Lajtha and R.H. Michener [eds], *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific.
- Middelburg, J.J., Barranguet, C., Boschker, H.T.S., Herman, M.J., Moens, T., Heip, C.H.R. 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: An in situ ^{13}C -labeling study. *Limnology and Oceanography* 45, 1224-1234.
- Minagawa, M., Wada, E., 1984. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 1135-1140.
- Mitchell, L., Fallick, A.E., Curry, G.B. 1994. Stable carbon and oxygen isotope compositions of mollusc shells from Britain and New Zealand. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 11, 207-216.
- Montagnes, D.J.S, Berges, J.A., Harrison, P.J., Taylor, F.J.R. 1994. Estimating carbon, nitrogen, protein and chlorophyll a from volume in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 39(5), 1040-1060.
- Morel, F.M.M., Hering, J.G. 1993. *Principle and applications of aquatic chemistry*. Wiley - Interscience Publication, John Wiley & Sons, Inc., 588 pp.
- Morin, P., Conan, O., Le Corre, P. 1994. Fronts thermiques de marée : Cas des fronts de Manche Occidentale et de la mer Celtique. *Oceanis*. 20 (6), 21-43.
- Morin, P., Le Corre, P., Marty, Y., L'Helguen, S. 1991. Evolution printanière des éléments nutritifs et du phytoplancton sur le plateau continental armoricain (Europe du Nord-Ouest). *Oceanologica Acta*. 14 (3), 263-278.
- Murphy, J.& Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in Natural waters. *Analytica Chimica Acta*. 27, 31-36.
- Nézan, E., Arzul, G., Bodennec, G., Erard-Le Denn, E., Gentien, P., Lassus, P., Marcaillou-Le Baut, C., Ryckaert, M. 1996. Suivi du phytoplancton en rade de Brest et synthèse des connaissances sur les dinoflagellés nuisibles. Publications spéciales de la CUB, Brest, 68pp.

- Nichols, S.J., Garling, D., 2000. Food webs dynamics and trophic level interactions in a multispecies community of freshwater unionids. *Canadian Journal of Zoology* 78, 871-882.
- Nier, A.O. 1947. A mass spectrometer for isotope and gas analysis : Review of Scientific Instruments, 18, p.398-4111.
- Norkko, A., Hewitt, J.E., Thrush, S.F., Funnel, G.A. 2001. Benthic-pelagic coupling and suspension-feeding bivalves : Linking site-specific sediment flux and biodeposition to benthic community structure. *Limnology and Oceanography* 46 (8), 2067-2072.
- O'Leary, M.H. Carbon isotope fractionation in Plants. *Phytochemistry*. 20, 553-567.
- Officer, C.B., Ryther, J.H. 1980. The possible importance of silicon in marine eutrophication. *Marine Ecology Progress Series* 3, 83-91.
- Owen, R., Richardson, C., Kennedy, H. 2002a. The influence of shell growth rate on striae deposition in the scallop *Pecten maximus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82 (4), 621-623.
- Owen, R., Kennedy, H., Richardson, C. A. 2002b. Isotopic partitioning between shell calcite and seawater: Effect of shell growth rate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 66, 1727-1737.
- Owens, N.J.P. 1987. Natural variations in ^{15}N in the marine environment, p.389-451. In: J.H.S. Blaxter, Southward AJ [eds], *Advances in Marine Biology*, 24. Academic Press, London.
- Palmer, T.N., Raisanen, J. 2002. Quantifying the risk of extreme seasonal precipitation events in a changing climate. *Nature* 415, 512-514.
- Pan, Y., Parsons, M.L., Busman, M., Moeller, P.D.R., Dortch, Q., Powell, C.L., Doucette, G.J. 2001. *Pseudo-Nitzschia* sp. cf. *pseudodelicatissima* - a confirmed producer of domoic acid from the northern Gulf of Mexico. *Marine Ecology Progress Series* 220, 83-92.
- Pannela, G.& MacClintock, C.,1968. Biological and environmental rhythms reflected in molluscan shell growth. *Journal of Paleontology Memoires* 42, 64-80.
- Parker, P.L. 1964. The biogeochemistry of the stable isotopes of carbon in a marine bay. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 28, 1155-1164.
- Parsons, G.J., Robinson, S.M.C., Roff, J.C., Dadswell, M.J., 1993. Daily growth rates as indicated by valve ridges in postlarval giant scallop (*Placopecten magellanicus*) (Bivalvia: Pectinidae). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 50, 456-464.

- Passow, U., Alldredge, A.L. 1995. Aggregation of a diatom bloom in a mesocosm: The role of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research. - Part II* 42, 99-109.
- Paulet, Y. M., Lucas, A., Gerard, A. 1988. Reproduction and larval development in two *Pecten maximus* (L.) populations from Brittany. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 119, 145-156.
- Paulet, Y.M., Dorange, G., J.C., C., Le Penneç, M. 1992. Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L. *Annales de l'Institut Océanographique, Paris* 68, 45-64.
- Paulet, Y. M., Bekhadra, F., Dechauvelle, N., Donval, A., Dorange, G. 1997. Cycles saisonniers, reproduction et qualité des ovocytes chez *Pecten maximus* en rade de Brest. *Annales de l'Institut Océanographique, Paris.* 73, 101-112.
- Penna, A., Bertulli, S., Penna, N., Magnani, M. 1999. Influence of nutrient ratios on the in vitro extracellular polysaccharide production by marine diatoms from the Adriatic Sea.. *Journal of Plankton Research.* 21, 1681-1690.
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies, *Annual Review of Ecological Systems* 18,293-320.
- Peterson, B.J., 1999. Stables isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. *Acta Oecologica.* 20 (4), 479-487.
- Pilkey, O.H., Goodel, H.G. 1963. Trace elements in recent mollusk shells. *Limnology and Oceanography* 8, 137-148.
- Pinnegar, J.K. Polunin, N.V.C. 1999. Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues : implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology.* 13, 225-231.
- Price, G.D., Pearce, N.J.G. 1997. Biomonitoring of pollution by *Cerastoderma edule* from the British Isles: a laser ablation ICP-MS study. *Marine Pollution Bulletin* 34, 1025-1031.
- Prieto, L., Ruiz, J., Echevarria, F., Garcia, C.M., Bartual, A., Galvez, J.A., Corzo, A., Macias, D. 2002. Scales and processes in the aggregation of diatom blooms : high time resolution and wide size range records in a mesocosm study. *Deep Sea Research. I.* 49, 1233-1253.
- Quéguiner, B. 1982. Variations qualitatives et quantitatives du phytoplancton dans un écosystème eutrophe fortement soumis aux effets de marée : la rade de Brest. Thèse 3ème cycle, Université de Bretagne Occidentale, Brest.
- Quéguiner, B., Tréguer, P. 1984. Studies on the phytoplankton in the Bay of Brest (Western Europe). Seasonal variations in composition, biomass and production in relation to hydrological and chemical features (1981-1982). *Botanica Marine* 27, 449-459.

- Ragueneau, O. 1994. La dynamique du phytoplancton en écosystèmes macrotidaux : couplage avec l'hydrodynamique et le cycle biogéochimique du silicium. Thèse de 3ème cycle, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France. 334p.
- Ragueneau, O., De Blas Varela, E., Treguer, P., Queguiner, B., Del Amo, Y. 1994. Phytoplankton dynamics in relation to the biogeochemical cycle of silicon in a coastal ecosystem of Western Europe. *Marine Ecology Progress Series* 106, 157-172.
- Ragueneau, O., Tréguer, P. 1994. Determination of biogenic silica in coastal waters: applicability and limits of the alkaline digestion method. *Marine Chemistry* 45, 43-51.
- Ragueneau, O., Chauvaud, L., Leynaert, A., Thouzeau, G., Paulet, Y.-M., Bonnet, S., Lorrain, A., Grall, J., Corvaisier, R., Le Hir, M., Jean, F., Clavier, J. 2002. Direct evidence of a biologically active coastal silicate pump: ecological implications. *Limnology and Oceanography* 47 (6), 1849-1854.
- Raikow, D.F., Hamilton, S.K., 2001. Bivalve diets in a midwestern U.S stream: A stable isotope enrichment study. *Limnology and Oceanography* 46, 514-522.
- Redfield, A.C., Ketchum, B.H., Richards, F.A. 1963. The influence of organisms on the composition of seawater. In the sea, vol 2, Hill, M.N. (ed.), Willey Interscience, NewYork, 26-77.
- Rhoads, D.C. & Lutz, R.A. 1980. Eds. Skeletal growth of aquatic organisms. New York. Plenum Press.
- Richardson, C.A. 2001. Molluscs as archives of environmental change. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* 39, 103-164.
- Riebesell, U. 1991. Particle aggregation during a diatom bloom. II. Biological aspect. *Marine Ecology Progress Series* 69, 281-291.
- Roditi, H.A, Fisher, N.S., Sanudo-Wilhelmy, S.A., 2000. Uptake of dissolved organic carbon and trace elements by zebra mussels. *Nature* 407, 78-80.
- Rolff, C., 2000. Seasonal variations in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of size-fractionated plankton at a coastal station in the northern Baltic proper. *Marine Ecology Progress Series* 203, 47-65.
- Romanek, C.S., Grossman, E.L., Morse, J.W. 1992. Carbon isotopic fractionation in synthetic aragonite and calcite: Effects of temperature and precipitation rate. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56, 419-430.
- Roux, M., Schein, E., Rio, M., Davanzo, F., Filly, A. 1990. Enregistrement des paramètres du milieu et des phases de croissance par les rapports $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ et $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dans la coquille de *Pecten maximus* (Pectinidae, Bivalvia). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris*. 310, 385-390.

- Sagan, G., Thouzeau, G. Variabilité spatio-temporelle de la biomasse microphytobenthique en rade de Brest et en Manche occidentale. *Oceanologica Acta*. 21 (5), 677-694.
- Salomon, J.V, Breton, M. 1991. Numerical study of the dispersive capacity of the Bay of Brest, France, towards dissolved substances. In : Lee Cheung (ed.) *Environmental Hydraulics*, Balkema, Rotterdam, p. 459-464.
- Salomon, J.C. & Breton, M. 1996. Les principales caractéristiques du bassin versant de la rade de Brest. I.1. Le milieu physique, pp 42–46 in *Contrat de Baie. La rade de Brest et son bassin versant. Etat des lieux et des milieux*. Avril 1997.
- Saout, C., Quéré, C., Donval, A., Paulet, Y.M., Samain, J-F. 1999. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the bay of Brest (France). *Aquaculture* 172, 301-314.
- Saout, C., 2000. Contrôle de la reproduction chez *Pecten maximus* (L.) : Etudes *in situ* et expérimentales. Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale. 172p.
- Savoie, N., 2001. Origine et transfert de matière organique particulaire dans les écosystèmes littoraux macrotidaux. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 324p.
- Schein, E., Roux, M., Barbin, V., Chiési, F., Renard, M., Rio, M. 1991. Enregistrement des paramètres écologiques par la coquille des bivalves : approche pluridisciplinaire. *Bulletin of Society Geology France*. 162, 687-698.
- Schubert, C.J., Nielsen, B., 2000. Effects on decarbonation treatments on $\delta^{13}\text{C}$ values in marine sediments. *Marine Chemistry* 72, 55-59.
- Shen, G.T., Sanford, C.L. 1990. Trace element indicators of climate variability in reef-building corals. In: Glynn, P.W. (ed), *Global Ecological Consequences of the 1982-83 El Nino*. Elsevier, Amsterdam, pp 255-283.
- Sinclair, D.J., Kinsley, L.P.J., McCulloch, M.T. 1998. High resolution analysis of trace elements in corals by laser ablation ICP-MS. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 62, 1889-1901.
- Smayda, T.J., 1970. The suspension and sinking of phytoplankton in the Sea. *Oceanography and Marine Biology. A review* 8, 353-414.
- Smayda, T.J. 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea : evidence for a global epidemic. In : Graneli, E. (ed.) *Toxic marine phytoplankton*. Elsevier Science Publishing Co., New York, p29-40.
- Smetacek, V. 1985. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Marine Biology* 84, 239-251.

- Spero, H.J., Bijma, J., Lea, D.W., Bemis, B.E. 1997. Effect of seawater carbonate concentration on foraminiferal carbon and oxygen isotopes. *Nature* 390, 497-500.
- Stecher III, H.A., Krantz, D.E., Lord III, C.J., Luther III, G.W., Bock, K.W. 1996. Profiles of strontium and barium in *Mercenaria mercenaria* and *Spissula soldissima* shells. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60, 3445-3456.
- Stephenson, R.L., F.C. Tann, Mann, K.H., 1984. Stable carbon isotope variability in marine macrophytes and its implications for food web studies. *Marine Biology* 81, 223-230.
- Suprpto, D. 1986. Ecophysiologie de différentes populations de *Pecten maximus* (L.) Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest-France, 153p.
- Surge, D., Lohmann, K. C., Dettman, D. L. 2001. Controls on isotopic chemistry of the American oyster, *Crassostrea virginica*: implications for growth pattern. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 172, 283-296.
- Swart, P.K., Leder, J.J., Szmant, A.M., Dodge, R.E. 1996. The origin of variations in the isotopic record of scleractinian corals: II. Carbon. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60, 2871-2885.
- Tanaka, N., Monaghan, M.C., Rye, M.C. 1986. Contribution of metabolic carbon to mollusc and barnacle shell carbonate. *Nature* 320, 520-523.
- Taylor, S.R., McLennan, S.M. 1985. The continental crust: its composition and evolution, 312p, Blackwell Sci., Malden, Mass.
- Tebble, N. 1966. British bivalve seashells. A handbook for identification. Trustees of the British Museum (Natural History) London. Alden Press. Oxford. 212p.
- Thomson, D.R., Phillips, R.A., F.M. Stewart, Waldron, S., 2000. Low $\delta^{13}\text{C}$ signatures in pelagic seabirds: Lipid ingestion as a potential source of ^{13}C -depleted carbon in the Procellariiformes. *Marine Ecology Progress Series* 208, 265-271.
- Thomson, M.L., Schaffner, L.C. 2001. Population biology and secondary production of the suspension feeding polychaete *Chaetopterus* cf. *variopedatus* : Implications for benthic- pelagic coupling in lower Chesapeake Bay. *Limnology and Oceanography* 46 (8), 1899-1907.
- Tieszen, L.L., Boutton, T.W., K.G. Tesdahl, Slade, N.A., 1983. Fractionation and turn-over of stable carbon isotopes in animal tissues : implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* (Berlin). 57, 32-37.
- Treguer, P. & Le Corre, P., 1975. Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'Auto-Analyseur II: Technicon. Laboratoire d'Océanographie Chimique, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 2ème édition, 110 pp.

- Urey, H.C., 1947. The thermodynamic properties of isotopic substances: Journal of the Chemical Society, p. 562-581.
- Urey, H.C., Lowenstam, H.A., Epstein, S.R., McKinney, C.R. 1951. Measurements of paleotemperatures and temperatures of the Upper Cretaceous of England, Denmark and the Southeastern United States. Bulletin of Geological Society American 62, 399-416.
- Vander Putten, E., Dehairs, F., André, L., 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, 261-272.
- Vander Putten, E., Dehairs, F., Keppens, E., 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.
- Vander zanden, M.J., Rasmussen, J.B. 2001. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. Limnology and Oceanography 46, 2061-2066.
- Vincent, A., Kurc, G. 1969. Variations saisonnières de la situation thermique du Golfe de Gascogne en 1967. Rev. Trav. Inst. Pêches Maritimes 33 (1), 79-96.
- Wada, E., Hattori, A., 1991. Nitrogen in the sea: forms, abundances and rate processes. CRC Press, 208p.
- Wefer, G., Berger, W. H. 1991. Isotope paleontology: growth and composition of extant calcareous species. Marine Geology 100, 207-248.
- Weiss, E.T., Carmichael, R.H., Valiela, I. 2002. The effect of nitrogen loading on the growth rates of quahogs (*Mercenaria mercenaria*) and soft-shell clams (*Mya arenaria*) through changes in food supply. Aquaculture 211, 275-289.
- Wheeler, A.P. 1992. Mechanisms of molluscan shell formation, p. 179-216. In E. Bonnucci [ed.], Calcification in Biological systems. CRC Press.
- Wilbur, K.M., Saleuddin, A.S.M. 1983. Shell formation, p. 235-287. In A.S.M. Saleuddin, K.M. Wilbur [eds.], The mollusca. Academic press.
- Wildish, D.J., Kristmanson, D.D., Saulnier, A.M. 1992. Interactive effect of velocity and seston concentration on giant scallop feeding inhibition. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 155, 161-168.
- Wildish, D., Kristmanson, D. 1997. Benthic suspension feeders and flow. Cambridge University Press. United kingdom. Pp 409.

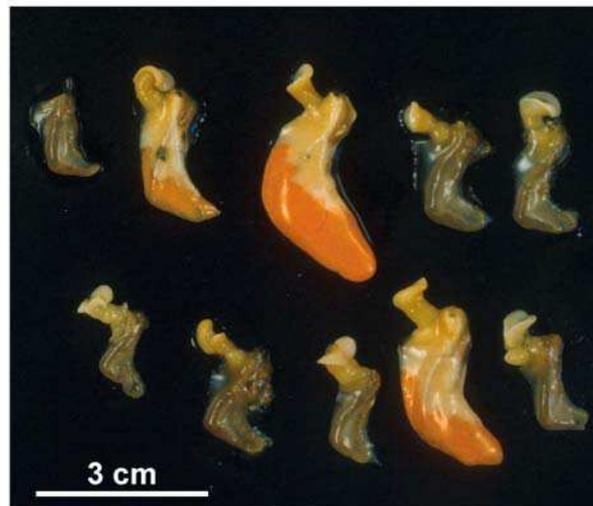
- Williams, P.J. B. 1990. The importance of losses during microbial growth: commentary on the physiology, measurement and ecology of the release of dissolved organic material. *Marine Microbial Food Webs* 4, 175-206.
- Yentsch, C.S., Menzel, D.W. 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and pheophytin by fluorescence. *Deep Sea Research* 10, 221-231.
- Zeebe, R.E. 1999. An explanation of the effect of seawater carbonate concentration on foraminiferal oxygen isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63, 2001-2007.

ANNEXES

ANNEXE I



Pecten maximus: Individus de classe I, nés en 2001, prélevés le 19 octobre 2002 sur le site de Roscanvel en rade de Brest. L'individu A présente une gonade développée (stade 3, Mason, 1958) tandis que l'individu B, de même âge et de même taille, présente une gonade indifférenciée (stade 1, Mason, 1958).



Organes reproducteurs de 10 coquilles Saint-Jacques de classe I prélevées le 19 octobre 2002 sur le site de Roscanvel en rade de Brest

ANNEXE II

STADES	CRITERES MACROSCOPIQUES D'IDENTIFICATION
IMMATURE	Gonade petite, plate et anguleuse, transparente et sans couleur. Les tissus sexuels ne sont pas visibles à l'œil nu. Toute la boucle du canal alimentaire est clairement visible.
1) DEVELOPING (virgin) or SPENT-RECOVERING (juvenile)	Gonade en croissance, encore plate et anguleuse. Tissus sexuels non visibles à l'œil nu, juste de tout petits follicules, translucides et clairsemés. Gonade uniformément fauve, sans différenciation visible en partie mâle et en partie femelle. Canal alimentaire visible.
2) DIFFERENCIATED GONAD (virgin and juvenile)	Gonade en croissance, encore plate et anguleuse, maintenant différenciée de façon évidente en partie mâle et en partie femelle. La partie mâle est blanche tandis que la partie femelle est fauve ou saumon/orange. Canal alimentaire encore visible, follicules encore petits et épars.
3) RECOVERING	Gonade plus large et proportionnellement plus épaisse mais encore anguleuse. Elle est flasque et contient de l'eau libre, spécialement chez les adultes après la ponte. Couleurs plus vives, partie mâle blanche, partie femelle orange. Follicules plus larges et plus denses, mais des espaces sont encore visibles entre eux. Le canal alimentaire est encore visible.
4) FILLING	Gonade encore plus large et plus épaisse (épaisseur = 1/3 largeur), encore un peu flasque, contenant un peu d'eau libre. Moins anguleuse mais pas complètement lisse. Couleurs marquées, partie mâle blanche et partie femelle orange ou rose grenadine. Canal alimentaire encore visible entre les follicules, surtout dans la partie mâle.
5) HALF FULL	Gonade plus large et plus épaisse, ferme, ne contenant quasiment plus d'eau libre. Formes arrondies. Couleurs vives. Follicules plus larges, s'assemblent par paquets. Boucle du canal alimentaire invisible.
6) FULL	La gonade est au maximum de son développement (épaisseur = 1/2 largeur). Elle est très ferme et ne contient plus d'eau libre. Follicules très colorés et très compacts. Boucle du canal alimentaire invisible.
7) SPENT AND PARTIALLY SPENT	La ponte peut être partielle ou complète. Gonade déprimée, anguleuse, fine et affaissée, flasque, contenant beaucoup d'eau libre. Si la ponte est totale la gonade est de couleur fauve et les follicules apparaissent vides. Si la ponte est partielle, la différenciation entre partie mâle et partie femelle est encore visible. Des amas colorés sont localement visibles, indiquant la rétention de produits génitaux.

Echelle de maturité des gonades d'après Mason (1958)
et modifié par Paulet (1990)

Marine Chemistry, en révision

**A decarbonation and preservation method for the analysis of organic C
and N contents and stable isotope ratios of low-carbonated marine
suspended particulate material**

Anne Lorrain^{a,*}, Nicolas Savoye^b, Laurent Chauvaud^a, Yves-Marie Paulet^a
and Norbert Naulet^c

^a LEMAR, UMR 6539 CNRS, Institut Universitaire Européen de la Mer, Place Nicolas Copernic, 29 280 Plouzané- France.

^b Vrije Universiteit Brussel, Department of Analytical and Environmental Chemistry, Pleinlaan 2, B-1050 Brussels- Belgium.

^c Université de Nantes, Laboratoire d'Analyse Isotopique et Electrochimique de Métabolismes. UMR 6006 CNRS, BP 92208, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes cedex 03- France

* corresponding author: Anne Lorrain. Tel: +33-298 49 86 78, Fax: +33-298 49 86 45

E-mail address: Anne.Lorrain@univ-brest.fr

ANNEXE III

Abstract

The aim of this study was to determine a simple and routine procedure to preserve, decarbonate and analyze low-carbonated filters of suspended particulate organic matter (POM) for particulate organic carbon and nitrogen content, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. Our goal was to analyze these four parameters from a single and entire filter of POM without altering the organic material.

First, freezing (-20°C) versus oven-drying (60°C) were compared as the initial preservation step. Afterwards, non-acidified samples were compared to acid-treated samples using 0.12N HCl (diluted HCl rinsing at the end of the filtration) or 12N HCl (exposure of filters to HCl fumes during four hours in a dessicator). Regarding the preservation methods, our results indicate that freezing increases the uncertainty of $\delta^{15}\text{N}$ measurements and, in combination with concentrated HCl treatment, leads to a loss of particulate nitrogen and an alteration of the $\delta^{15}\text{N}$ signature. Thus, we recommend drying to preserve filter samples. Regarding acid treatments, we found that (i) diluted HCl would not be sufficient to fully remove the carbonate from our samples, (ii) in contrast, a four-hour exposure of the filters to the HCl fumes was enough to fully remove the inorganic carbon, and (iii) the concentrated HCl treatment did not alter the nitrogen measurements (when drying, without freezing, is used to preserve the filters). Consequently, we propose that POM filters are preserved by drying and carbonates are removed by exposing the filters to HCl fumes for four hours for the analysis of particulate organic C and N content and isotope ratios. This procedure was determined for low-carbonated samples, and further investigation is needed before extending this protocol to high-carbonated samples.

ANNEXE III

Keywords: Particulate Organic Matter (POM); Preservation; Decarbonation; C and N content; Stable isotopes.

1. Introduction

Over the last decades the techniques employed to determine organic carbon content, nitrogen content and stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) have been improved; these days they are widely used to determine the origin (marine vs. terrestrial) and fate of organic matter in the water column and modern sediments (Fontugne and Jouanneau, 1987; Gearing, 1988; Thornton and McManus, 1994) as well as in ancient sediments for paleo-reconstruction (Calvert et al., 1992; Bentaleb et al., 1997; Kienast, 2000). In addition, carbon and nitrogen stable isotope values of organisms are used to determine food webs structure in numerous environments (Owens, 1987; Peterson, 1999; Rolff and Elmgren, 2000). Most of these studies require seasonal sampling but, as the field-collected samples are not analyzed immediately, storage under controlled conditions to prevent organic matter alteration is necessary. In addition, to avoid biasing the isotopic signal of particulate organic carbon (POC), carbonates must be removed. Indeed, particulate inorganic carbon (carbonate minerals, mainly calcite, aragonite and dolomite) and particulate organic carbon exhibit distinct isotopic signatures (Hoefs, 1997). It is most important that the procedure used to remove carbonate from total particulate material should not alter the organic matter.

Various storage and decarbonation treatments have been reported in the literature. The storage of suspended particulate matter (SPM) generally consists in either drying (Rau et al., 1990) or freezing (Williams et al., 1992) the samples or applying both

ANNEXE III

methods (Riera et al, 2000). In the seventies and early eighties, the separation of inorganic and organic carbon, as well as the removal of carbonates from SPM or sediment involved either an acidification step with diluted H_3PO_4 (Cauwet, 1975; Froelich, 1980) or HCl (Roberts et al., 1973) or a loss on ignition (Dean, 1974; Telek and Marshall, 1974; Hirota and Szyper, 1975). More recently, acidification with diluted or concentrated HCl has been the standard method for elemental and isotopic analysis (Nakatsuka et al., 1992; Bernasconi et al., 1997; Wu et al., 1999); however, in some cases, authors still do not attempt to remove carbonates at all before analysis (Faganeli et al., 1988; Goering et al., 1990). Storage and acidification may alter the organic matter and, consequently, the values of elemental and isotopic data. Some reports on elemental carbon measurements highlighted that acidification with diluted HCl was unsatisfactory as it could result in the loss of acid-soluble organic carbon during carbonate dissolution (from 5 to 45% of the organic carbon can be lost) (Froelich, 1980; Weliky et al., 1983). Hedges and Stern (1984) claimed that the use of the vapor acidification method with concentrated HCl avoids loss of acid-soluble organic matter. But it is still questionable how aggressive methods such as these affect the results. In addition, stable isotopes were not analyzed in these studies. The same inconsistencies exist for preparing and storing marine organism samples (Kaehler and Pakhomov, 2001). In particular, Bunn et al (1995) have shown that weak-acid attack (HCl 10%) in soft tissues could lead to a 3% decrease in the mean $\delta^{15}N$ ratios, suggesting that those isotopic changes are due to loss of molecules during acid washing. A common solution to avoid any deterioration of N results by acid exposure is to cut the filter in two portions: one is used for the C analyses after decarbonation, and the other one is used for N analyses without decarbonation. This

ANNEXE III

method is based on the assumption that the POM is homogeneously distributed on the filter, which is rarely the case, especially from coastal water samples (as well as from other water sources). In addition, this requires one more step in the protocol, *i.e.* more time and possible contamination when cutting the filter.

For the C and N elemental and stable isotope analyses, few recent studies have dealt with the consequences of storage and decarbonation treatments on marine sediments (Schubert and Nielsen, 2000), particulate material (Nieuwenhuize et al., 1994) and organisms (Bunn et al., 1995; Bosley and Wainright, 1999). However, none of these studies focused on suspended particulate organic matter (POM).

In order to get a better insight on how the above methods may affect C and N elemental and isotopic composition of suspended POM samples, this study compares the most common preservation and decarbonation treatments: freezing (-20°C) versus oven-drying (60°C) on the one hand, and additionally diluted liquid HCl versus concentrated HCl vapor or no acid treatment on the other hand. Our aim is to determine a simple and routine method that (1) removes carbonates, (2) preserves organic material and (3) allows the analysis of the four parameters (*i.e.* C and N organic content, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) from one entire filter with minimal time and cost consumption.

2. Material and methods

2.1 Material

Each piece of laboratory equipment in contact with seawater or POM filters was pre-washed with HCl 10%, rinsed with de-ionised water (DIW) and dried. All the glassware (filter holders, filtration funnels, vials and filters) was pre-combusted (450°C,

ANNEXE III

4 h). Both the HCl washing and combustion eliminated any trace of inorganic and organic carbon.

2.2 Sample origin

Seawater was collected in the Bay of Brest (France), a coastal macrotidal ecosystem. In spite of the narrow strait that connects the Bay with Atlantic Ocean, it is a real marine ecosystem (Salomon and Breton, 1991; Chauvaud et al., 2000) with strong tidal exchanges with the ocean and little influence from the two rivers (the Aulne and the Elorn). The waters from the watershed are poorly carbonated, rocks being mainly composed of illite, chlorite, kaolinite and micas (Bassoulet, 1979), *i.e.* silicated minerals. As a result, the influence of carbonates on particulate material, via river input, is minor.

2.3 Sampling protocol

On the 5th of June 2001, 30 L of seawater were collected for C and N analysis using a 5L-Niskin bottle. The seawater was pre-filtered (200 µm) to avoid heterogeneity due to large particles, poured into two 15-L black carboys, and then placed in a cold dark room (6°C) before use. Before sampling these carboys were gently shaken in order to homogenize the seawater. Each 500-mL sample was filtrated through a pre-combusted glass fibre filter (Whatman GF/F, 25 mm diameter). Just before filtration, the filter was first rinsed with 10% HCl to eliminate any trace of inorganic carbon, and then with DIW. After filtration or diluted HCl treatment, the SPM filters were rapidly rinsed with a few mL of DIW to eliminate Cl⁻ ions that are harmful for the elemental analyser (Schubert and Nielsen, 2000) and placed in pre-combusted glass vials.

ANNEXE III

After filtration, different treatments were tested: freezing versus drying for storage, and acid treatment with either concentrated HCl vapours (12 N), diluted HCl rinsing (0.12 N) or none (0) (see the code used Table 1). Thirty SPM filters were stored dried (D) and thirty others stored frozen (F). In each set (D and F), 10 samples out of 30 were treated with concentrated HCl (12 N) after storage, 10 others with diluted HCl (0.12 N) before storage and the last 10 had no acid treatment (0). Three blanks were exposed to each procedure. To avoid any effect on the final data of the time elapsed between sampling and filtration, filtrations were performed randomly irrespectively of the succeeding treatment.

2.4 Preservation treatments

For the freezing treatment, immediately after filtration, the vials containing SPM filters were placed in a freezer (-20°C) and stored for one week. Before analysis, the filters were oven-dried for 12 hours at 60°C.

For the drying treatment, after filtration the filters were immediately dried (12 hours at 60°C), and then stored (one week) in a dark, dry place.

2.5 Acid treatments

Concentrated HCl treatment: after storage and just before analysis, the vials containing the dry SPM filters were placed in a glass dessicator containing a beaker filled with concentrated HCl to expose the samples to HCl vapour for 4 hours at room temperature. They were then placed inside a fume hood (3 hours) and then in an oven (overnight, 60°C) to drive off residual HCl and water.

ANNEXE III

A previous study of carbonate removal by the vapour phase method during various lengths of time, *i.e.* 4, 8 and 12 hours (Lorrain, unpublished data, table 2), had shown that the $\delta^{13}\text{C}$ isotopic signal obtained was the same regardless of the decarbonation time. So we considered a four-hour exposure sufficient to eliminate carbonate trace from this type of poorly carbonated material.

Diluted HCl treatment: after seawater filtration and before storage, 20 mL HCl 0.12 N were poured onto the SPM filter and left standing for one minute without vacuum. Then, the vacuum was started again to discard the HCl solution. The filters were immediately rinsed with DIW and transferred to vials for storage.

2.6 Elemental and isotopic analysis

After storage and acid treatment (no HCl, HCl 0.12 N or HCl 12 N) the filters were folded, placed into tin cups (9 mm height, 5 mm diameter) and kept in vials until analysis. SPM filters were analysed for C and N contents and isotope ratios using a Carlo Erba NA 2100 elemental analyser configured for C and N analysis and coupled to a Finnigan Delta S isotope ratio mass spectrometer.

Isotope ratios are reported in the classic δ notation:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{sample}} \text{ or } \delta^{15}\text{N}_{\text{sample}} = (R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} - 1) * 1000 \text{ where } R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}, {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}.$$

Standards are Pee Dee Belemnite for $\delta^{13}\text{C}$ and atmospheric nitrogen for $\delta^{15}\text{N}$. Values are reported in ‰. EA-IRMS precision is of 2% for C and N elemental analysis and of 0.1‰ for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis.

2.7 Data analysis

The effects of the different treatments on the four parameters, (*i.e.* particulate carbon and nitrogen content (PC and PN), $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) were investigated by performing a one-way analysis of variance on all the data (ANOVA, Statgraphics Plus, 99% confidence level). Homogeneity of variances and normality had been previously tested with Bartlett's test and Kolmogorov's test, respectively, as prerequisites for any analysis of variance.

3. Results

Table 3 lists the measured values, means and standard deviations. Blanks were measurable for only particulate carbon (PC) analyses; for all other measurements, they were below the detection limit. All the data were modeled by a normal distribution with 90% or higher confidence level (Kolmogorov's test). The equality of variances (s.d.) were also respected (Bartlett's test, $p > 0.05$) allowing the analysis of variance (ANOVA).

3.1 Particulate Carbon (PC)

Mean blank value was $12.6 \pm 5.0 \mu\text{g}$ for all of the treatments, corresponding to less than 7% of the mean gross PC value ($184 \mu\text{g}$). Net PC values were obtained by subtracting the blank mean value from the related gross PC for each treatment. The mean net PC value for all the filters was $172 (\pm 10.6) \mu\text{g}$.

With the exception of F-0 samples which differed from all the others ($p < 0.01$), no significant statistical difference was found between all the net PC mean values

ANNEXE III

(Fig.1A and Table 3). So, for the same decarbonation treatment, there was no difference between freezing and drying (D-0.12 and F-0.12; D-12 and F-12); except for the non-acidified filters where frozen samples had significantly higher values (D-O differed significantly from F-0, $p < 0.01$). When all the D values are pooled and compared to pooled F values, there were no statistical differences between F and D data, indicating that the preservation method had no effect on particulate carbon values. No significant difference was observed between concentrated and diluted HCl treatments, whatever the preservation method used.

The comparison of non-acidified and acidified filters led to different results depending on the preservation technique. Decarbonation resulted in a significantly reduced carbon content when the samples had been acidified and frozen ($p < 0.01$). On the other hand, no significant difference was noticed for drying preservation.

3.2 Particulate Nitrogen (PN)

The mean PN value for all the filters was $33.1 (\pm 1.9) \mu\text{g}$. The nitrogen content appeared homogeneous among the experiments except when freezing and concentrated acid treatment were combined (Fig.1B). Indeed, F-12 mean value ($30.5 \pm 1.0 \mu\text{g}$) differed significantly from those of the other treatments ($p < 0.01$; Table 3 and Fig. 1B).

3.3 $\delta^{13}\text{C}$

Significant differences appeared among all the acid treatments (Table 3 and Fig.1C; $p < 0.01$). Acidified filters (D-0.12, D-12, F-0.12, F-12) were, indeed, significantly depleted in ^{13}C (-21.3 vs. -20.4% , $p < 0.01$) when compared to the non-

ANNEXE III

acidified ones (D-0, F-0). Concentrated HCl vapour treatments led to stable isotope values significantly lower than those with diluted HCl treatments ($p < 0.01$).

On the other hand, there was no significant difference among the storage treatment regardless of the decarbonation method : D-0 did not differ from F-0, nor D-0.12 from F-0.12, nor D-12 from F-12.

3.4 $\delta^{15}N$

The overall mean $\delta^{15}N$ value was + 6.6 (± 0.4) ‰. F-0.12 differed significantly from the other treatments with a $\delta^{15}N$ value of 7.1‰ ($p < 0.01$, Fig.1E). When freezing preservation was used, there was an increase in the variability among mean $\delta^{15}N$ values (inter-value variability) together with an increase in standard deviations (intra-value variability, 0.38‰ vs. 0.26‰). When samples were dried, $\delta^{15}N$ mean values were more homogeneous, with only a slightly significant difference among D-12 and D-0.12 values ($p < 0.01$), but neither are different from D-0 values.

4. Discussion

4.1 *Characterization of the particulate organic matter*

The stable isotope ratios reported here (Table 3) are within the range of those encountered in the literature for coastal suspended particulate organic matter in temperate ecosystems (see Gearing (1988) for a review; see also Wada and Hattori, 1991). Furthermore, our data fall within the classical POM values measured in the Bay of Brest (Savoie, 2001). The POM was sampled the 5th of June 2001 at the SOMLIT station (Bay of Brest, France) during a phytoplankton bloom (see a time series at the address

ANNEXE III

http://www.obs-vlfr.fr/somlit/data/brest/brest_2001.xls). During this period, the dominant species were diatoms (*Rhizosolenia stolterfothii* (100 000 cells) and *Leptocylindrus danicus* (55 000 cells), Nézan, com. pers.), as is usually encountered during the first spring blooms in the Bay of Brest (Chauvaud, 2000). The chlorophyll concentration was approximately 3 $\mu\text{g.l}^{-1}$, a classical value for spring phytoplankton bloom in this area during the last decade (Chauvaud *et al.*, 2000). The C:N and POC:Chl *a* ratios were 6.0 and 57.2, respectively, values characteristic of phytoplankton-dominated material (Montagnes *et al.*, 1994, Cifuentes *et al.*, 1988). In addition, due to the sampling method (200 μm pre-filtration; sea above), the contribution of large detritus and zooplankton on the POM was minimized. In summary, there is evidence that the sampled POM was dominated by phytoplankton.

From our results, the carbonate content of the samples (difference between decarbonated and non-decarbonated samples) is less than 5% of the total carbon content (Table3). Consequently, one should be aware that our study deals only with poorly carbonated material.

4.2 Drying versus freezing

For carbon results, freezing and oven drying alone did not affect the studied parameters ($\delta^{13}\text{C}$ and PC). However, the combination of freezing with concentrated HCl decarbonation (F-12) led to a significant loss of PN, and freezing with diluted HCl led to a significant increase of $\delta^{15}\text{N}$ (Fig. 1B, 1E, Table 3, $p < 0.01$). Even if this combined effect can not be separated, it clearly appears that freezing has an impact on particulate nitrogen and nitrogen isotopic values.

ANNEXE III

Furthermore, preservation by freezing led to an increase in $\delta^{15}\text{N}$ variability and standard deviation. As a consequence, to determine the four POM parameters from a unique SPM filter, drying should be preferred to preserve the samples. Even if the storage duration is not evaluated in this study — since one week it is not representative of usual storage duration (generally weeks to months) — our data reveal a direct effect of the preservation method: freezing/defrosting affects the POM independently of storage duration.

4.3 Acid treatment

If only organic carbon is of interest in such studies, acidification treatment is needed *a priori* to remove all inorganic carbon from samples before analyses. However, following our investigations, no clear difference in particulate carbon measurements were noticed between acidified and non-acidified samples (except in the freezing method), confirming the very low carbonate content of our samples compared to the precision of the analysis. In contrast, $\delta^{13}\text{C}$ results pointed out the need of an acidification treatment. Indeed, with exposure to concentrated or diluted HCl, $\delta^{13}\text{C}$ mean value shifted from - 20.4‰ to - 21.3‰.

How can one explain a shift of 0.9‰ in $\delta^{13}\text{C}$ with such a small amount of removed carbonates? In temperate coastal ecosystems, the two potential PIC sources are drainage basin rocks and calcified benthic populations. The Bay of Brest drainage basin rocks are poorly carbonated, but 80% of the Bay surface is covered with calcified benthic populations: mainly maërl (calcareous algae), marine gastropods, pectinids and brittle stars (Grall et al., 1996; Chauvaud, 1998). Therefore, in this ecosystem, PIC is derived

ANNEXE III

mainly from the benthic population (assuming that zooplankton was removed from filters by the 200- μm filtration). Typical values for carbonates (calcite and aragonite) in the literature range from - 5.5‰ to + 7‰ for organisms such as pteropods or mollusks (Wefer and Berger, 1991; Vander Putten et al., 2000), and normally between - 0.5 ‰ and + 1.5‰ for most of them. In Bay of Brest, $\delta^{13}\text{C}$ measurements on pectinid shells (*Pecten maximus*) have revealed values within 0 and + 1‰ (Chauvaud, Lorrain and Dunbar, unpublished data).

To check the assumption of a carbonate effect in this 1‰ $\delta^{13}\text{C}$ difference between non-treated and acidified PC samples, we calculated an expected isotopic value for particulate organic carbon (POC). Indeed, $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ can be calculated from the equation:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}} = \frac{[\text{TPC}]\delta^{13}\text{C}_{\text{TPC}} - [\text{PIC}]\delta^{13}\text{C}_{\text{PIC}}}{[\text{POC}]}$$

where the mean non decarbonated PC value, *i.e.* the mean total particulate carbon (TPC) value, was 177 μg , and the mean decarbonated PC value, *i.e.* the mean POC value, was 169 μg . The difference between TPC and POC corresponds to the particulate inorganic carbon (PIC) removed by the acid treatment. Using our values for [TPC], [PIC], [POC] and $\delta^{13}\text{C}_{\text{TPC}}$ (Table 3), and assuming that the $\delta^{13}\text{C}_{\text{PIC}}$ is + 0.5‰ (mean value from literature cited above), the calculated $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ value is - 21.4‰, which is the same as the one measured (mean value of all acidified samples = - 21.3 \pm 0.2‰). This result proves that a very small quantity of inorganic carbon (less than 5% of the total carbon) can lead to a 1‰ increase of the $\delta^{13}\text{C}$ values. Such a shift in stable isotope ratio associated with no detectable shift in elemental composition has already been measured by Bunn et al. (1995) for seagrass nitrogen. And we believe that differences in PC

ANNEXE III

content between the two carbonate removal procedures are not detected, since the PC analyses do not allow the precision required for such $\delta^{13}\text{C}$ differences.

Because a small amount of carbonate significantly affects the $\delta^{13}\text{C}$ value — a 1‰ difference is indeed high enough to bias the future interpretation in food webs or organic matter origin studies — acid treatment of the SPM samples is required for $\delta^{13}\text{C}$ studies, even in low carbonated waters.

For both freezing and drying preservation, acid fumes led to further depleted $\delta^{13}\text{C}$ values compared to diluted acid ($p < 0.01$). But even if this difference has a statistical meaning, a 0.3‰ difference is not truly meaningful in stable isotope studies. In any case, those results suggest that the weak acid treatment could not be sufficient to remove all carbonates from our samples. Furthermore, acid fumes, with respect to other measurements, do not seem to affect N values, when not combined with freezing (see §4.2 above). Indeed, with the drying preservation method, PN and $\delta^{15}\text{N}$ values for both acid treatments are equivalent to the values of non-acidified samples at a 99% confidence interval (one-way analyse of variance).

Since acid fumes treatment is needed for $\delta^{13}\text{C}$ analyses and since it does not alter the other parameters (especially PN and $\delta^{15}\text{N}$) when drying preservation is used, we recommend removing carbonates from poorly-carbonated samples with strong-acid fume exposure for 4 hours.

5. Conclusion

The thorough examination of our results leads us to advise drying preservation which better preserves the particulate organic matter than freezing. Even if the storage times were not investigated in this study — and further work is needed to see if time might influence dried samples — freezing should be avoided for particulate organic matter analyses.

The carbon stable isotope analyses (*i.e.* the decrease of 1‰ in $\delta^{13}\text{C}$ values from non-decarbonated to decarbonated samples) evidenced that carbonates must be removed in order to avoid biasing the data, even for cases of poorly carbonated samples. Since the diluted HCl treatment did not seem to be strong enough compare to the HCl fume treatment, and as the later does not alter the nitrogen measurements (PN and $\delta^{15}\text{N}$), we recommend the use of strong HCl fumes to remove all carbonates from the samples.

To summarize, the protocol that we propose for the simultaneous determination of POC, PON, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ from a unique SPM filter sample consists in (1) drying the filter after filtration for storage, and (2) exposing the filter to concentrated HCl fumes for 4 hours to remove carbonates. This protocol allows routine, accurate and precise analyses of the four parameters from a single filter, which is helpful, especially when analysis time (human and/or machine time) and cost is limiting.

Since this study focused on poorly carbonated material, further investigations should be carried out to extend this procedure for the analysis of high carbonated samples. In particular, it may be necessary to expose highly-carbonated filters to acid fumes during longer periods of time to remove all the carbonates. But in this case the effect on organic material still needs to be tested.

Acknowledgements

We particularly thank Tara Schraga and anonymous reviewers for English corrections and helpful comments which greatly improved the original manuscript.

References

- Bassoulet, P., 1979. Etude de la dynamique des sédiments en suspension dans l'estuaire de l'Aulne (Rade de Brest). Thèse de doctorat de troisième cycle, Université de Bretagne Occidentale, Brest-France, 136pp.
- Bentaleb, I., Caratini, C., Fontugne, M., Morzadec-Kerfourn, M-T., Pascal, J-P., Tissot, C., 1997. Monsoon regime variation during the late Holocene in the Southwest India. NATO ASI series, Vol. I 49, p. 475-487.
- Bernasconi, S. M., Barbieri, A., Simona, M., 1997. Carbon and nitrogen variations in sedimenting organic matter in Lake Lugano. *Limnol. Oceanogr.* 42(8), 1755-1765.
- Bosley, K.L., Wainright, S.C., 1999. Effect of preservatives and acidification on stable isotope ratios ($^{15}\text{N}:^{14}\text{N}$, $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$) of two species of marine animals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56, 2181-2185.
- Bunn, S.E., Loneragan, N.R., Kempster, M.A., 1995. Effects of acid washing on stable isotope ratios of C and N in penaeid shrimp and seagrass: Implication for food-web studies using multiple stable isotopes. *Limnol. Oceanogr.* 40 (3), 622-625.
- Calvert, S. E., Nielsen, B., Fontugne, M., 1992. Evidence from nitrogen isotope ratios for enhanced productivity during formation of eastern Mediterranean sapropels. *Nature* 359, 223-225.

ANNEXE III

- Cauwet, G., 1975. Optimisation d'une technique de dosage du carbone organique des sédiments. *Chem. Geol.* 16, 59-63.
- Chauvaud L. 1998. La coquille Saint-Jacques en rade de Brest: un modèle biologique d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest-France, 266pp.
- Chauvaud, L., Jean, F., Ragueneau, O., Thouzeau, G., 2000. Long-term variation of the Bay of Brest ecosystem: benthic-pelagic coupling revisited. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 200, 35-48.
- Cifuentes, L.A., Sharp, J.H., Fogel, M.L., 1988. Stable carbone and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnol. and Oceanogr.*, 35(5), 1102-1115.
- Dean, W.E., Jr, 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: comparison with other methods. *J. Sedim. Petrol.* 44 (1), 242-248.
- Faganeli, J., Malej, A., Pezdic, J., Malacic, V., 1988. C : N : P ratios and stable C isotopic ratios as indicators of sources of organic matter in the gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Oceanol. Acta.* 11 (4), 377-382.
- Fontugne, M. R., Jouanneau, J.-M., 1987. Modulation of the Particulate Organic Carbon Flux to the Ocean by a Macrotidal Estuary : Evidence from Measurements of Carbon Isotopes in Organic Matter from the Gironde System. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 24, 377-387.
- Froelich, P.N., 1980. Analysis of organic carbon in marine sediments. *Limnol. Oceanogr.* 25(3), 564-572.

ANNEXE III

- Gearing, J.N., 1988. The use of stable isotope ratios for tracing the nearshore-offshore exchange of organic matter. In Coastal and estuaries studies, vol 22, 69-101, B.O. Jansson (Ed.), Coastal-offshore Ecosystem Interaction. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1988.
- Goering, J., Alexander, V., Haubenstock, N., 1990. Seasonal variability of stable carbon and nitrogen isotope ratios of organisms in a north pacific bay. Estuar. Cost. Shelf Sci. 30, 239-260.
- Grall, J., Chauvaud, L., Thouzeau, G., Fifas, S., Glemarec, M., Paulet, Y.M., 1996. Distribution de *Pecten maximus* (L.) et de ses principaux compétiteurs et prédateurs potentiels en rade de Brest. C. R. Acad. Sci. Paris 319, 931-937.
- Hedges, J.I., Stern, J.H., 1984. Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. Limnol. Oceanogr. 29(3), 657-663.
- Hirota, J., Szyper, J.P., 1975. Separation of total particulate carbon into inorganic and organic components. Limnol. Oceanogr. 20 (5), 896-900.
- Hoefs, J. 1997. Stable isotopes geochemistry. 4th edition. Springer-Verlag, Berlin, 201p.
- Kaehler, S., Pakhomov, E.A., 2001. Effects of storage and preservation on the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures of selected marine organisms. Mar. Ecol. Prog. Ser. 219, 299-304.
- Kienast, M., 2000. Unchanged nitrogen isotopic composition of organic matter in the South China Sea during the last climatic cycle: global implications. Paleoceanogr. 15 (2), 244-253.
- Montagnes, D.J.S., Berges, J.A., Harrison, P.J., Taylor, F.J.R., 1994. Estimating carbon, nitrogen, protein and chlorophyll *a* from volume in marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 39 (5), 1044-1060.

ANNEXE III

- Nakatsuka T., Handa N., Wada E., Wong C.S., 1992. The dynamic changes of stable isotopic ratios of carbon and nitrogen in suspended and sedimented particulate organic matter during a phytoplankton bloom. *J. Mar. Res.* 50, 267-296.
- Nieuwenhuize, J., Maas, Y.E.M., Middelburg, J., 1994. Rapid analysis of organic carbon and nitrogen in particulate materials. *Mar. Chem.* 45, 217-224.
- Owens, N.J.P. 1987. Natural variations in ^{15}N in the marine environment, p.389-451. In: J.H.S. Blaxter, Southward AJ [eds], *Advances in Marine Biology*, 24. Academic Press, London.
- Peterson, B.J. 1999. Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. *Acta Oecologica* 20 (4), 479-487.
- Rau, G. H., Teysseie, J.-L., Rassoulzadegan, F., Fowler, S.W., 1990. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ variations among size-fractionated marine particles: implications for their origin and trophic relationship. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 59, 33-38.
- Riera, P., Montagna, P.A., Kalke, R.D., Richard, P., 2000. Utilisation of estuarine organic matter during growth and migration by juvenile brown shrimp *Penaeus aztecus* in a South Texas estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 199, 205-216.
- Roberts, A.A., Palacas, J.G., Frost, I.C., 1973. Determination of organic carbon in modern carbonate sediments. *J. Sedim. Petrol.* 43 (4), 1157-1159.
- Rolff, C., Elmgren, R., 2000. Use of riverine organic matter in plankton food webs of the Baltic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 197, 81-101.
- Salomon, J.C., Breton, M., 1991. Numerical study of the dispersive capacity of the Bay of Brest, France, toward dissolved substances In : Cheung L (ed) *Environmental hydraulics*. Balkema, Rotterdam, p 459-464.

ANNEXE III

- Savoie, 2001. Origine et transfert de la matière organique particulaire dans les écosystèmes littoraux macrotidaux. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 324p.
- Schubert, C.J., Nielsen, B., 2000. Effects on decarbonation treatments on $\delta^{13}\text{C}$ values in marine sediments. *Mar. Chem.* 72, 55-59.
- Telek, G., Marshall, N., 1974. Using a CHN analyzer to reduce carbonate interference in particulate organic carbon analyses. *Mar. Biol.* 24, 219-221.
- Thornton, S.F., McManus, 1994. Application of organic carbon and nitrogen stable isotope and C/N ratios as source indicators of organic matter provenance in estuarine system: evidence from the Tay. *Estuar. Cost. Shelf Sci.* 38, 219-233.
- Vander Putten, E., Dehairs, F., Keppens, E., Baeyens, W., 2000. High resolution of trace elements in the calcite shell layer of modern *Mytilus edulis*: Environmental and biological controls. *Geochim. Cosmochim. Acta* 64(6), 997-1011.
- Wada, E., Hattori, A., 1991. Nitrogen in the sea: forms, abundances and rate processes. CRC Press, Boca Ranton, Florida, 208p.
- Wefer, G., Berger, W.H., 1991. Isotope paleontology: growth and composition of extant calcareous species. *Mar. Geol.* 100, 207-248.
- Weliky, K., Suess, E., Ungerer, C.A., Müller, P.J., Fischer, K. 1983. Problems with accurate measurements in marine sediments and particulate matter in seawater: A new approach. *Limnol. Oceanogr.* 28(6), 1252-1259.
- Williams, P.M., Robertson, K.J., Soutar, A., Griffin, S.M., Druffel, E.R.M., 1992. Isotopic signatures (^{14}C , ^{13}C , ^{15}N) as tracers of sources and cycling of soluble and

ANNEXE III

particulate organic matter in the Santa Monica Basin, California. *Prog. Oceanogr.* 30, 253-290.

Wu, J., Calvert, S.E., Wong, C.S., Whitney, F.A., 1999. Carbon and nitrogen isotopic composition of sedimenting particulate material at station Papa in the subarctic northeast Pacific. *Deep Sea Res. II* 46, 2793-2832.

ANNEXE III

Figure legends

Figure 1: Reported values of the suspended particulate material for all the six treatments (notation explained in Table 1) and their standard deviations: (A) Particulate Carbon-content (PC in μg), (B) Particulate Nitrogen (PN in μg), (C) $\delta^{13}\text{C}$ (‰), (D) $\delta^{15}\text{N}$ (‰).

ANNEXE III

Tables

Table 1: The six different treatments applied to the POM filter samples with their identification code.

Name	Acid treatment			Storage	
	HCl 12N	HCl 0.12N	None	Dried	Frozen
D-12	X			X	
D-0.12		X		X	
D-0			X	X	
F-12	X				X
F-0.12		X			X
F-0			X		X

Table 2: Means and standard deviations (N = 3) of particulate organic carbon (POC in μgC) and $\delta^{13}\text{C}$ (‰) of filters decarbonated during various period of time (4, 8 and 12 hours).

Hours of decarbonation	POC ($\mu\text{g C}$)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
4	$92,3 \pm 5,7$	$-24,0 \pm 0.1$
8	$89,3 \pm 4,0$	$-23,9 \pm 0.1$
12	$95.0 \pm 3,5$	$-24,1 \pm 0.1$

ANNEXE III

Table 3: Carbon and Nitrogen contents, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of the preservation (D = Dried, F = Frozen) and HCl treatments investigated (n.d. means not determined).

Elemental parameters	PC (μg)						PN (μg)					
	D			F			D			F		
Storage												
Acid treatment (HCl N)	0	0.12	12	0	0.12	12	0	0.12	12	0	0.12	12
	170	154	161	184	156	162	32.5	32.7	32.9	34.2	32.2	30.5
	159	162	172	187	169	171	30.9	32.8	34.3	33.6	35.2	30.6
	180	175	175	182	155	176	35.4	35.5	33.9	35.3	30.2	31.7
	169	169	178	187	172	177	33.0	32.6	34.7	35.7	34.3	31.3
	182	172	165	199	185	158	35.4	33.5	33.2	36.0	34.6	29.2
	177	166	165	201	166	163	35.2	33.5	32.4	35.7	33.1	30.5
	172	180	175	168	160	171	32.6	32.5	33.1	31.8	31.7	29.5
	169	170	184	170	169	176	34.7	34.9	35.0	29.7	34.4	32.0
	173	157	178	178	160	159	34.0	32.9	34.3	32.8	32.3	30.1
	164	162	190	n.d.	187	160	32.4	33.4	37.6	n.d.	34.5	29.5
Mean	171	166	174	184	168	167	33.6	33.4	34.1	33.9	33.3	30.5
Standard deviation	7.0	8.1	9.0	11.3	11.1	7.7	1.6	1.0	1.5	2.1	1.6	1.0

Isotopic parameters	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)						$\delta^{15}\text{N}$ (‰)					
	Dried			Frozen			Dried			Frozen		
Storage												
Acid treatment	0	0.12	12	0	0.12	12	0	0.12	12	0	0.12	12
	-20.1	-21.1	-21.3	-20.3	-20.9	-21.3	6.7	6.4	6.3	7.0	7.1	6.1
	-20.5	-21.1	n.d.	-20.4	-21.1	-21.3	6.3	6.5	n.d.	6.9	7.3	6.1
	-20.4	-21.3	-21.4	-20.4	-21.0	-21.3	6.8	6.4	6.4	6.5	7.3	6.4
	-20.3	-21.2	-21.5	-20.4	-21.3	-21.7	6.5	6.7	6.8	7.3	7.4	6.3
	-20.4	-21.3	-21.5	-20.3	n.d.	-21.3	6.9	7.0	5.9	6.9	n.d.	6.5
	-20.4	-21.1	-21.4	-20.4	-20.9	-21.3	6.5	6.7	6.3	6.6	7.1	6.5
	-20.3	-21.8	-21.3	-20.8	-21.0	-21.6	6.3	6.3	6.6	6.1	7.2	5.8
	-21.1	-21.2	-21.8	-20.0	-21.0	-21.2	6.4	7.0	6.2	6.3	7.3	7.3
	-20.2	-21.1	-21.7	-20.6	-21.0	-21.3	6.6	6.8	6.8	6.4	6.4	6.6
	-20.1	-21.1	-21.6	n.d.	-21.4	-21.4	6.7	6.7	6.1	n.d.	6.7	5.8
Mean	-20.4	-21.2	-21.5	-20.4	-21.1	-21.4	6.6	6.7	6.4	6.7	7.1	6.3
Standard deviation	0.29	0.22	0.17	0.22	0.17	0.16	0.21	0.25	0.31	0.38	0.33	0.44

ANNEXE III

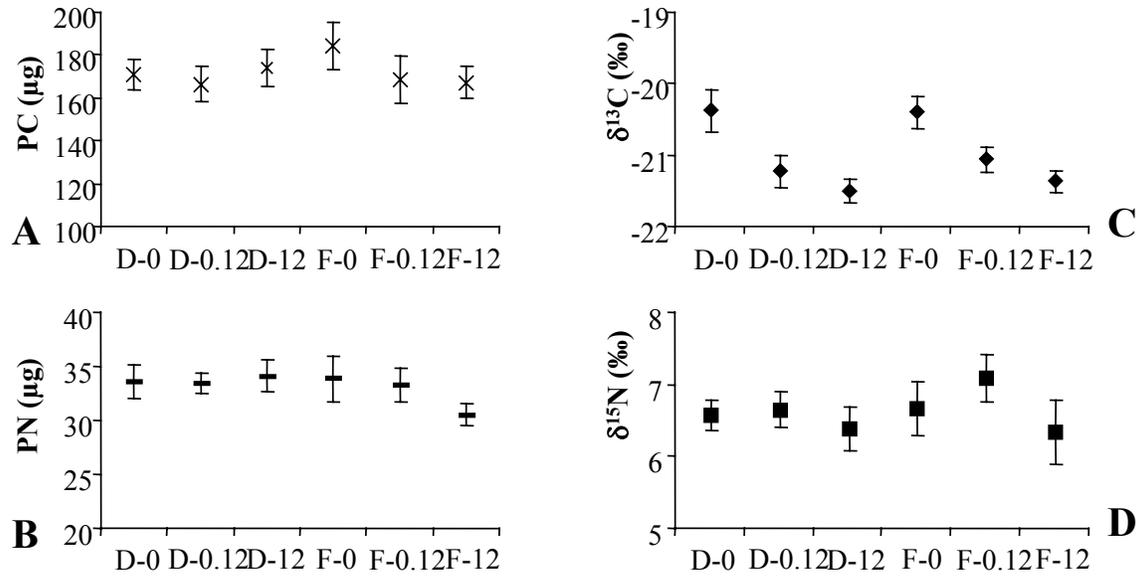


Figure 1.

EQUATIONS D'ALLOMETRIES UTILISEES POUR LES CALCULS DU BILAN RESPIRATION / PRODUCTION DE CaCO₃ (Partie III.1)

Equations réalisées à partir d'individus de la rade de Brest.

Equation reliant la consommation d'oxygène (ml.h ⁻¹) au poids sec de chair (g)	$y = 0,759 \times x^{0,978}$	Etablie expérimentalement en condition d'activité	Suprpto, 1986
Equation reliant le poids total humide (g) à la hauteur de la coquille (mm)	$y = 2,54.10^{-4} \times x^{2,9397}$	N = 2223 r ² = 0,91	Paulet (en préparation)
Equation reliant le poids de coquille (g) à la hauteur de la coquille (mm)	$y = 4,85.10^{-4} \times x^{2,6641}$	N = 106 r ² = 0,99	Paulet (en préparation)
Teneur en eau moyenne des tissus	81,3 %		Paulet (en préparation)