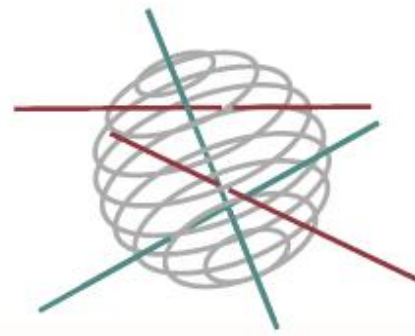


# SSD

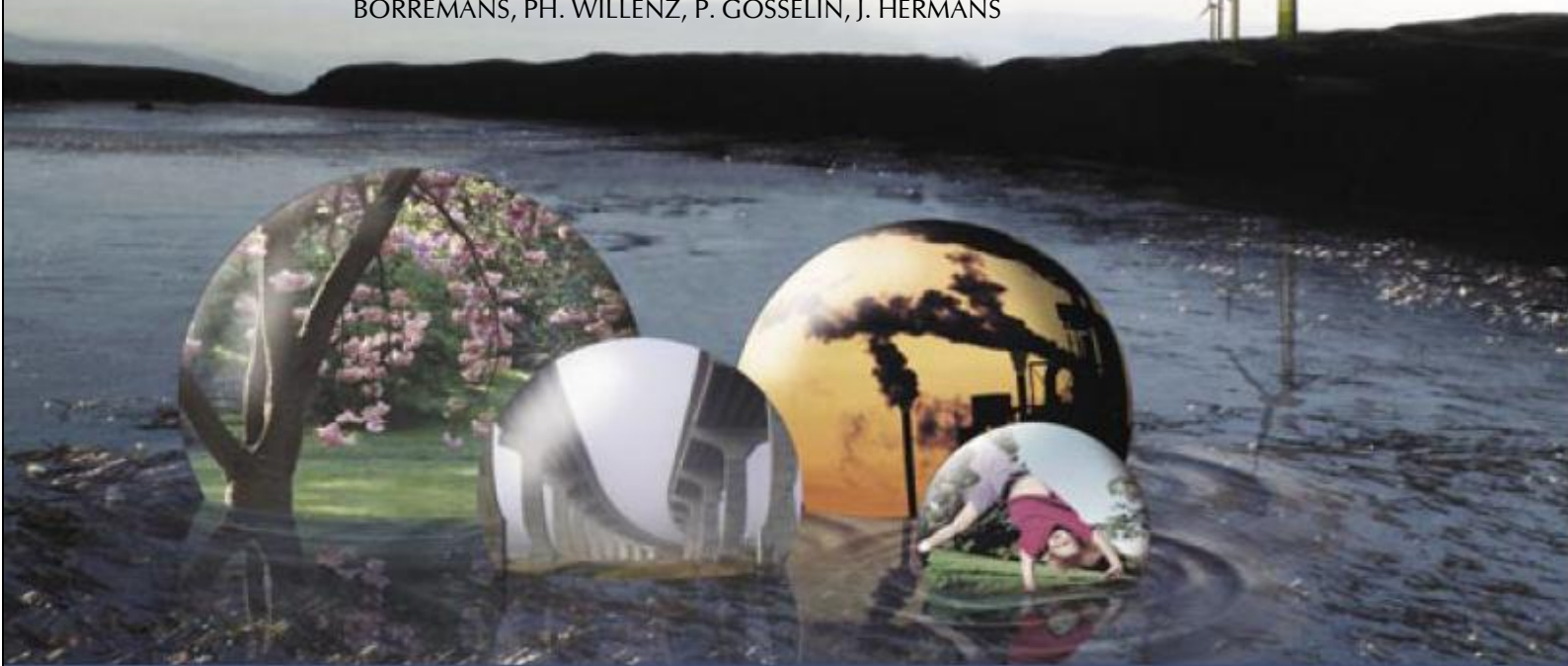
SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT



**EVALUATION CRITIQUE DES SQUELETTES CALCAIRES  
COMME ENREGISTREURS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE  
GLOBAL**

**« CALMARS II »**

L. ANDRE, F. PLANCHON, F. DEHAIRS, M. BAUWENS, V.  
BEELAERTS, R. MAS, R. BLUST, H. HANSEN, PH. DUBOIS, C.  
BORREMANS, PH. WILLENZ, P. GOSSELIN, J. HERMANS



ENERGY 

TRANSPORT AND MOBILITY 

AGRO-FOOD 

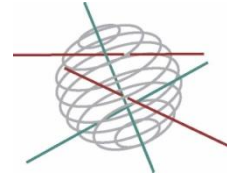
HEALTH AND ENVIRONMENT 

CLIMATE 

BIODIVERSITY 

ATMOSPHERE AND TERRESTRIAL AND MARINE ECOSYSTEMS 

TRANSVERSAL ACTIONS 



***Climat***

Rapport Final (Phase I) Résumé



**EVALUATION CRITIQUE DES SQUELETTES CALCAIRES COMME  
ENREGISTREURS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE GLOBAL**

**« CALMARS II »  
SD/CS/02**

**Promoteurs**

**Ph. Willenz**

Royal Belgian Institute of Natural Sciences

**Luc André**

Royal Museum for Central Africa (RMCA)

**Ronny Blust**

Universiteit Antwerpen (UA)

**Frank Dehairs**

Vrije Universiteit Brussel (VUB)

**Ph. Dubois**

Université Libre de Bruxelles (ULB)

**Auteurs**

**Luc André, Frédéric Planchon**

RMCA -Section of Petrography-Mineralogy-Geochemistry

**Ronny Blust, Hanna Hansen**

UA - Ecophysiology, Biochemistry and Toxicology Unit, Department of Biology)

**Frank Dehairs, Maité Bauwens**

VUB-Department of Analytical Chemistry

**Remy Mas**

Laboratory of isotope geochemistry

**Philippe Dubois, Catherine Borremans**

ULB- Laboratory of Marine Biology

**Philippe Willenz, Pol Gosselin**

RBINS-Department Invertebrates

**Julie Hermans, Melany Gilis**

RBINS-Department Invertebrates and ULB-Laboratory of Marine Biology





Avenue Louise 231  
B-1050 Bruxelles  
Belgium  
Tel: + 32 (0)2 238 34 11 – Fax: + 32 (0)2 230 59 12  
<http://www.belspo.be>

Contact person: *Mrs Martine Vanderstraeten*  
+ 32 (0)2 238 36 10

Neither the Belgian Science Policy nor any person acting on behalf of the Belgian Science Policy is responsible for the use which might be made of the following information. The authors are responsible for the content.

No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without indicating the reference

L. André, F. Planchon, F. Dehairs, M. Bauwens, V. Beelaerts, R. Mas, R. Blust, H. Hansen, Ph. Dubois, C. Borremans, Ph. Willenz, P. Gosselin, J. Hermans - ***Evaluation critique des squelettes calcaires comme enregistreurs du changement climatique global "CALMARS II"***  
Rapport Final Ph 1. Résumé Bruxelles : Politique scientifique fédérale 2009 – (Programme La Science pour un Développement Durable)

Pendant les deux premières années du projet, les cinq partenaires ont concentré leurs efforts dans deux directions principales.

Premièrement, le travail de terrain a été réalisé afin de récolter des spécimens et des échantillons d'eau ainsi que pour installer des appareils de mesures en continu.

Des oursins *Paracentrotus lividus* et des échantillons d'eau ont été prélevés par l'ULB et l'IRScNB dans différentes stations autour de la Méditerranée: Cabo Rasso (Portugal), Marseille (France), Sardaigne (Italie), Antiparos (Grèce) en vue de leur analyse.

Des étoiles de mer *Asterias rubens* ont été récoltées par l'ULB en avril et mai 2006 le long d'un gradient de salinité dans l'estuaire de l'Escaut. Des étoiles de mer sympatriques (*Asterias rubens*, *Marthasterias glacialis*, *Echinaster sepositus*, *Henricia sanguinolenta*, *Asterina gibbosa*, *Anseropoda placenta*) ont été récoltées dans le Finistère (Bretagne, France) en mars et avril 2006.

L'éponge hypercalcifiée *Petrobiona massiliana* et des échantillons d'eau de mer ont été récoltés mensuellement par l'IRScNB à La Vesse (Marseille) de juin 2006 à janvier 2008 (20 séries de récoltes). Des récoltes additionnelles ont été réalisées en Sardaigne (Italie) et l'île de Rhode (Grèce). Des sondes de température et de salinité ont été installées dans toutes les localités afin de réaliser des enregistrements en continu.

Le monitoring d'un site colonisé par *Mytilus edulis* (brise-lames à Knokke) a débuté en avril 2006. Pour chaque étude de terrain, la température, la salinité, la conductivité, les concentrations en oxygène dissout et le pH ont été mesurés. Ses moules et de l'eau de mer a été prélevé en vue d'analyses ultérieures. De plus, l'analyse de deux séries de données a été réalisée: (1) Des mesures dans des coquilles de *Mytilus edulis* récoltées à Terneuzen, Breskens and Hoofdplaat. (2) Des mesures dans des coquilles de *Ruditapes philippinarum* récoltées dans le Golfe du Morbihan. Les bivalves ont été disséqués après prélèvement des épibiontes et de l'hémolymphe. L'eau de mer a été filtrée pour en analyser la Chlorophylle-a, la composition élémentaire de la matière en suspension, y compris les éléments majeurs et mineurs, et C, N. De l'eau de mer filtrée a été récoltée pour analyser le Ba, Sr, et Mg. Les premières séries d'échantillons ont été traitées à l'acide et analysées en ICP-AES et HR-ICP-MS.

Deuxièmement, chaque partenaire a développé ses techniques expérimentales propres, en ayant à l'esprit l'utilisation ultérieure par les autres participants du projet.

Les développements méthodologiques de l'analyse des rapports isotopiques du Mg dans des carbonates biogéniques a été mise en place en conformité avec le programme initial des tâches. Le MRAC s'est concentré successivement sur les protocoles de préparation selon les techniques de pointe actuelles et ensuite à la mise au point analytique du "Multi-Collector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer" (MC-ICP-MS) pour la mesure des isotopes du Mg. Le MRAC a aussi mis au point une méthode analytique sur le MC-ICP-MS (Nu instrument) pour la mesure sûre des isotopes du Mg. Une routine spécifique de mesure du Mg a été établie pour l'appareil Nu afin d'accumuler et de transformer les valeurs brutes des différents collecteurs du spectromètre en valeurs de rapports isotopiques correspondants à  $6\text{Mg}/24\text{Mg}$  and  $25\text{Mg}/24\text{Mg}$ .

L'UA a étudié l'incorporation d'éléments clef dans les tissus mous et la coquille de moules dans différentes conditions. A cette fin, le transfert d'éléments par voie intercellulaire et intracellulaire a été suivi sous conditions contrôlées. Un mélange d'isotopes radioactifs ou stables des éléments a été utilisé

comme traceur afin de suivre la cinétique d'incorporation et les processus d'accumulation et de séparer quantitativement les différentes voies.

La VUB a établi un modèle non paramétrique (en utilisant des échantillons de bois comme modèles) qui permet de corriger la sous estimation de la variation d'amplitude d'un signal lié à l'expansion d'un échantillon au cours de sa croissance. Afin de cerner les facteurs qui produisent des pics récurrents de Ba dans les coquilles de bivalves, des expériences de culture de différentes espèces de phytoplancton de la Mer du Nord (diatomées et flagellés) ont été réalisées pour permettre d'identifier les facteurs qui contrôlent l'incorporation du Ba et d'autres éléments.

Des oursins *Paracentrotus lividus* ont été élevés en aquarium à l'ULB sous des conditions contrôlées de température et de salinité. Deux mécanismes de croissance ont été étudiés: la régénération à court terme de piquants chez les adultes et la croissance à long terme du test de juvéniles. Au terme de l'expérience, les oursins ont été disséqués, et leur squelette a été nettoyé de tout reste de tissus vivants. Les plaques du test nouvellement formées ont été reconnues en microscopie à épifluorescence en utilisant la calcéine comme marqueur du squelette initial. La répartition du magnésium dans les différents compartiments du corps d' *Asterias rubens* récolté sur un brise-lames à Knokke. Les parties non calcifiées du tégument interne et du squelette partageaient des rapports similaires de Mg/Ca. Au contraire, les autres tissus non calcifiés (gonades, caecum pylorique, liquide coelomique) ont un rapport Mg/Ca beaucoup plus élevé, proche de celui de l'eau de mer. Ceci indique que la discrimination du Mg se produit dans les tissus qui entourent l'endosquelette. Aucune différence phylogénétique n'a été détectée dans les espèces d'étoiles de mer sympatriques vivant dans les mêmes conditions de température et de salinité.

Le squelette de *Petrobiona massiliana* a été observé en microscopie électronique à balayage (MEB) afin de comprendre la morphologie des différentes structures à analyser lors de l'étude de la croissance. Afin d'étudier les mécanismes de biominéralisation au niveau cellulaire, un protocole de cryofixation de *P. massiliana* dans du propane liquide (-160°C) a été mis au point à l'aide des instruments LEICA EM CPC Cryoplunger et LEICA EM AFS2 Freeze Substitutioner récemment acquis.

La méthode a d'abord été mise au point sur de jeunes spécimens de l'éponge d'eau douce *Ephydatia fluviatilis* cultivée in vitro. Des spécimens de *Petrobiona massiliana* ont aussi été transférés en aquariums pour suivre leur croissance sous différentes conditions contrôlées de température et de salinité. La croissance de spécimens de *Petrobiona massiliana* a été estimée in situ par marquages successifs à la calcéine. Des éponges initialement marquées avant le début du projet ont été récoltées après un an. Une expérience de régénération de *P. massiliana* a été initiée en septembre 2006. Au terme de l'expérience, les concentrations en Mg et Ca seront mesurées dans les parties régénérées des éponges par AL-ICPMS (MRAC) et le  $\delta^{18}O$  par spectrométrie de masse.

Au cours des deux premières années, les activités des cinq partenaires se sont déroulées conformément au programme initial. Des contacts réguliers et des réunions entre groupes concernés ont permis de coordonner les activités.