

Guillaume CAILLEAU

Cycle du carbone et biominéralisation carbonatée en milieu continental : la diagenèse des phases oxalate-carbonate

Carbon cycle and carbonate biomineralization in terrestrial environments : diagenesis of oxalate-carbonate phases



IMPRIMATUR POUR LA THESE

**Cycle du carbone et biominéralisation carbonatée en milieu continental :
la diagénèse des phases oxalate-carbonate**

Guillaume CAILLEAU

UNIVERSITE DE NEUCHATEL

FACULTE DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel,
sur le rapport des membres du jury

MM. E. Verrecchia (directeur de thèse),
J.-M. Gobat, C. Dupraz,
G.M. Gadd (Dundee UK),
R. Riding (Cardiff UK)
et A. Strasser (Fribourg)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 12 décembre 2005

Le doyen :



J.-P. Derendinger

Université de Neuchâtel
Institut de géologie

Cycle du carbone et biominéralisation carbonatée en milieu continental : la diagenèse des phases oxalate-carbonate

Thèse

Présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel

Pour l'obtention du grade de *Docteur ès Sciences*

par

Guillaume Cailleau

Soumise au jury de thèse suivant:

Prof. Geoffrey Gadd, Université de Dundee (Royaume-Uni); Examineur

Prof. Jean-Michel Gobat, Université de Neuchâtel (Suisse); Examineur

Prof. Robert Ridding, Université de Cardiff (Royaume-Uni); Examineur

Prof. André Strasser, Université de Fribourg (Suisse); Examineur

Dr. Christophe Dupraz, Université de Neuchâtel (Suisse); Examineur

Prof. Eric Verrecchia, Université de Neuchâtel (Suisse); Directeur de thèse

Avant-propos

Le projet “iroko”, objet de cette thèse, est un sujet interdisciplinaire où j’ai eu le grand plaisir de collaborer avec Olivier Braissant, Le microbiologiste. Par sa valeur scientifique mais également par ses qualités humaines, ces quatre dernières années resteront pour toujours gravées dans mes souvenirs. De nos missions en Afrique qui auront marqué à jamais ma mémoire, je n’oublierai jamais certains moments comme notre passage en douane à Abidjan, le check point de Daloa, notre départ précipité de Biga. Je pense également que, comme moi, tu garderas de grands souvenirs de certaines spécialités culinaires locales : le ragoût d’Agouti, le couscous camerounais chez l’habitant, le bangui à Biga.

Je souhaite remercier chaleureusement mon directeur de thèse, Eric Verrecchia, qui a réussi en quelque sorte l’alliance parfaite entre Olivier et moi-même ; notre entente a, je pense, fait énormément pour le succès de nos travaux respectifs. Merci pour ta motivation et ton entrain communicatifs pour la science, même si tu es parfois très... trop occupé. Je garderai toujours en mémoire nos premières discussions en triumvirat, avec Olivier, où j’essayais de désespérément de m’accrocher avec mes pauvres bases en biologie. J’aurais vraiment beaucoup appris au contact de vous les deux. Sous ton impulsion, une autre façon de voir la science m’est apparue, à cette interface entre le monde minéral et biologique. Merci de ta confiance.

Merci à Christophe Dupraz qui fut toujours de bon conseil et d’une grande disponibilité. Nos discussions du matin devant un café me manqueront certainement. Merci encore de nous avoir fait partager ton domaine de recherche lors de la croisière aux Bahamas, bon courage avec la petite Mathilde.

Merci à Karin Verrecchia qui a corrigé avec patience mes diverses proses rédigées dans la langue de Shakespeare.

Comment ne pas remercier Dadras Massoud, Mireille Leboeuf, Sousan Abolhassani et Michèle Vlimant pour leur implication et leurs conseils pour l’observation en microscopie Electronique qui fut l’une des bases de ce travail. Je remercie également Laurent Emmanuel de l’Université Pierre et Marie Curie de m’avoir accueilli au sein de son laboratoire lors d’un stage de mesure des signatures isotopiques de mes carbonates. André Villard qui a confectionné mes nombreuses lames minces. Merci d’avoir mis au point une super technique d’induration, même si maintenant tous te reflent des trucs pas possible; merci aussi pour ta bonne humeur, même si je dois avouer avoir eu du mal à comprendre toutes tes blagues. Thierry Adatte pour toutes les analyses en diffraction X, Philip Steinman pour les analyses RockEval. Enfin, je voudrais remercier Benjamin Kaeser qui est venu à Berne pour réaliser mes analyses WDS.

Durant nos campagnes de terrain nous avons bénéficié d’aides diverses, je tiens à remercier Eslain Bomisso pour nous avoir guidé sur la trace des irokos en Côte d’Ivoire, Léonard Kaboré notre chauffeur, ainsi que le Centre Suisse de Recherche Scientifique à Abidjan. Au Cameroun nous avons bénéficié des conseils éclairés de M. Jean-Marie Gargouille et du support logistique de la Société d’Exploitation de la Foresterie du Noun, qu’ils soient remerciés pour leur grande aide.

J'aurais enfin une pensée pour Jean-Paul Loreau, mon ancien directeur de DEA, qui m'a formé à la diagenèse des carbonates et qui grâce à un lobbying intense fut à l'origine de ma venue à Neuchâtel. Il aurait aimé, j'en suis certain, parcourir ce manuscrit.

A tous ceux avec qui j'ai passé de bons moments ici à Neuchâtel et qui pour certains sont venus me donner un coup de main sur le terrain, Laurent Ciancaleoni, Cyril Dommergues Laurent Chalumeau, Cécile Allanic et Michèle Lettingue, un grand merci à vous. Merci également à ceux que j'aurais oubliés et qui ont contribué de près ou de loin à faire aboutir ce travail. J'aurais une petite pensée pour grOOon, Walt et Chrono ;-).

J'aimerais enfin remercier ces messieurs des douanes, de tout pays, pour systématiquement me chercher des noises, je sais vraiment pas ce que je vous ai fait. On peut dire qu'à Abidjan, Paris ou Miami, même combat ; aux aéroports, je suis un véritable paratonnerre comme le dit Olivier.

Merci au fond national suisse de recherche scientifique pour son support financier.

Ainsi s'achève ma vie d'étudiant, au sens administratif du terme, tant de choses restant encore à apprendre.

*A mes parents, qui toujours m'ont soutenu,
A mon grand père*

Abstract

In terrestrial environments, the carbon sequestration pool in the global carbon cycle is almost entirely attributed to soil and plant organic carbon storage while soil mineral carbon is generally neglected. Nevertheless, significant biologically induced accumulations of carbonate have been observed in soils under the tropical tree “iroko” (*Milicia excelsa*). Without an input of calcium from carbonate sources in the system, these accumulations constitute a carbon sink by definition. Approximately $1.2 \cdot 10^{-4}$ to $2.3 \cdot 10^{-3}$ PgC are not sequestered each year due to deforestation of irokos. This calculation is based on an average of 5.76 kg/yr of carbon sequestration by one tree and extrapolated for to the iroko population in Africa. This proposed quantification suggests that the iroko carbon sink is about one or two orders of magnitude less than some environments such as coral reefs or continental shelves. Furthermore, this carbon sink is highly significant because the residence time of mineral carbon in carbonate-enriched soils associated with the irokos is $10^2 - 10^6$ years, i.e. 100,000 times longer than soil organic matter residence time.

These accumulations of carbonate are the result of the oxalate-carbonate transformation by oxalotrophic bacteria. The iroko tree provides a large amount of oxalate (a photosynthetic by-product), which once released in the soil, can be consumed by soil oxalotrophic bacteria. There are two consequences of this consumption: (i) carbonate ions are produced and available in the soil solution, (ii) and soil pH increases leading to favorable conditions for carbonate precipitation (in a primary acid soil with a pH around 5, the induced pH can reach 9).

In the iroko ecosystem, biological agents are present and active at various scales. Termites and saprophytic fungi are involved in the release of oxalate crystals in the soil. Soil oxalotrophic bacteria are able to consume oxalate leading to CO_3^{2-} production. Carbonate ions can be pumped by iroko roots, circulating into wood vessels in which they can form calcium carbonate crystals in the presence of calcium, when conditions are favorable. They can also precipitate as calcium carbonate in soil pores, depending on local conditions. Soil bacteria and fungi obviously influence precipitation of carbonate inside the soil. Moreover, regarding carbon isotopic signatures and crystallographic properties of needle fiber calcite (NFC) observed in surficial environments, including African soils, they result from a direct biogenic influence. The nomenclature of the various types of NFC has been reinterpreted regarding diagenesis and geochemical fingerprints. The possible biogenic origin of nanorods usually found in the presence of NFC is also discussed from new observations and experiments.

In conclusion, this study has demonstrated the potential importance of the oxalate-carbonate pathway in the global carbon cycle, emphasizing the crucial interrelations between geological and biological processes.

Table des matières

Chapitre 1 Introduction	1
<i>1.1 Localisation des sites d'étude du projet "iroko"</i>	4
<i>1.2 Le site annexe de Tabernas</i>	4
<i>1.3 L'oxalatisation</i>	4
<i>1.3.1 Quelques rappels sur l'oxalate</i>	4
<i>1.3.2 Localisation dans les tissus</i>	6
<i>1.3.3 Quelles sont les fonctions de l'oxalate ?</i>	8
<i>1.3.4 Quel est le devenir de l'oxalate dans les sols ?</i>	8
<i>1.4 La calcitisation dans le règne végétal</i>	8
<i>1.4.1 Où le carbonate de calcium précipite-t-il ?</i>	9
<i>1.4.2 Quelle(s) fonction(s) pour le carbonate de calcium dans les plantes ?</i>	9
<i>1.5 Introduction sur l'iroko</i>	9
Chapitre 2 Méthodologie	13
<i>2.1 Les méthodes d'échantillonnages</i>	14
<i>2.1.1 Méthode d'échantillonnage des différents liquides (précipitations, eaux courantes)</i>	14
<i>2.1.2 Méthode d'échantillonnage du sol</i>	14
<i>2.1.3 Méthode d'échantillonnage en vue de la conception de lames minces</i>	14
<i>2.1.4 Echantillonnage de la calcite en aiguille</i>	15
<i>2.2 Les méthodes d'observations et analyses in situ</i>	15
<i>2.2.1 La microscopie optique</i>	15
<i>2.2.2 La microscopie électronique</i>	15
<i>2.2.3 Les méthodes d'analyses</i>	18
<i>2.3 Localisation des sites d'études d'Afrique</i>	21
<i>2.3.1 Description du site de Côte d'Ivoire</i>	21
<i>2.3.2 Description des sites du Cameroun</i>	21
<i>2.4 Le site d'étude du désert de Tabernas</i>	22
Chapitre 3 Les propriétés intrinsèques des sols, leur influence sur l'écosystème iroko et l'impact de la transformation oxalate-carbonate	23
<i>3.1 Résultats</i>	24
<i>3.1.1 L'influence de l'iroko sur le pH</i>	24
<i>3.1.2 L'influence de l'iroko sur la teneur en acide oxalique du sol</i>	25
<i>3.2 Comparaison de trois sites différents : Biga (Côte d'Ivoire), Mankaré et Machatoum (Cameroun)</i>	26
<i>3.2.1 La granulométrie</i>	27
<i>3.2.2 Distribution du pH autour de l'iroko</i>	28
<i>3.2.3 Distribution de la teneur en carbonate dans le sol autour de l'iroko</i>	31
<i>3.2.4 Distribution de la teneur en carbone pyrolysable dans le sol autour de l'iroko</i>	31
<i>3.2.5 Distribution de la teneur en acide oxalique dans le sol autour de l'iroko</i>	31
<i>3.2.6 Comparaison entre divers paramètres sur un même profil</i>	32
<i>3.3 Discussion</i>	36
<i>3.4 Conclusion</i>	39
Chapitre 4 La biominéralisation de l'iroko	41
Partie I L'écosystème iroko et les aspects pétrographiques	42
<i>4.1 Les observations de terrains</i>	44
<i>4.2 L'étude pétrographique</i>	44
<i>4.2.1 Les repères dans les tissus de l'arbre</i>	44

4.2.2	<i>Localisations des différentes cristallisations</i>	47
4.3	Discussion	51
4.4	Conclusion	57
	Partie II L'écosystème iroko et les isotopes du carbone	59
4.5	Dans l'arbre	59
4.5.1	<i>La matière organique</i>	59
4.5.2	<i>L'oxalate de calcium</i>	59
4.5.3	<i>Le carbonate de calcium</i>	59
4.6	Dans le sol	60
4.7	Discussion	60
	Chapitre 5 Essai de quantification du puits de carbone "iroko"	63
5.1	<i>Qu'est ce qu'un puits de carbone ?</i>	64
5.2	<i>Quantification des accumulations de carbonate autour d'un Iroko.</i>	64
5.3	Résultats	65
5.3.1	<i>Description des deux profils</i>	65
5.3.2	<i>Méthode d'échantillonnage</i>	65
5.3.3	<i>Méthode de dosage du calcaire total</i>	65
5.4	Quantification	67
5.4.1	<i>Quantification de la masse de carbonate autour de l'arbre</i>	67
5.4.2	<i>Les accumulations de carbonate de calcium autour de l'iroko constituent-elles un puits de carbone?</i>	68
5.4.3	<i>Dynamique du système</i>	70
5.4.4	<i>Essai de quantification globale</i>	71
5.5	Discussion	74
5.6	Conclusion	76
	Chapitre 6 Les cactus et le cycle oxalate-carbonate	77
6.1	Aspects préliminaires	78
6.2	Résultats	78
6.2.1	<i>La carte de distribution du pH</i>	78
6.2.2	<i>La carte de distribution de la teneur en PC</i>	81
6.2.3	<i>La carte de distribution de la teneur en acide oxalique</i>	81
6.2.4	<i>La teneur en carbonate</i>	81
6.3	Discussion	82
6.4	Conclusion	84
	Chapitre 7 Les phases carbonatées et leur relation avec la matière organique du sol	85
7.1	Résultats	86
7.1.1	<i>Les blocs de carbonate</i>	86
7.1.2	<i>Les séquences texturales</i>	86
7.1.3	<i>Les ciments sparitiques</i>	88
7.1.4	<i>Les textures singulières</i>	91
7.1.5	<i>Les formes organiques</i>	93
7.1.6	<i>Les sécrétions des blessures de l'arbre</i>	93
7.1.7	<i>Les productions expérimentales</i>	95
7.1.8	<i>Analyses isotopiques</i>	95
7.1.9	<i>Analyse chimique ponctuelle</i>	98
7.2	Discussion	101
7.2.1	<i>La genèse de la porosité dans le sol</i>	101
7.2.2	<i>Les textures laminées</i>	101

7.2.3	<i>La relation entre les différentes textures et les organismes identifiés</i>	105
7.2.4	<i>La genèse d'hémi-sphérulites expérimentaux : comparaison avec des homologues naturels</i>	106
7.2.5	<i>Des textures ou structures non identifiées ?</i>	108
7.3	Conclusion	108
	Chapitre 8 L'origine de la calcite en aiguille	109
8.1	<i>Localisation des sites étudiés</i>	112
8.2	Résultats	113
8.2.1	<i>Type de roche parente</i>	113
8.2.2	<i>Relations entre structures organiques et aiguilles de calcite</i>	113
8.2.3	<i>La morphologie des aiguilles de calcite</i>	116
8.2.4	<i>Les mésostructures</i>	119
8.2.5	<i>Observation des aiguilles au MET</i>	123
8.2.6	<i>Les données isotopiques du carbone et de l'oxygène</i>	125
8.3	Discussion	127
8.3.1	<i>L'origine des rhomb chains et des whisker crystals</i>	130
8.3.2	<i>Les conditions de genèse d'une aiguille</i>	130
8.3.3	<i>L'origine des faisceaux d'aiguilles</i>	131
8.3.4	<i>La signature isotopique du carbone</i>	131
8.4	Conclusions	135
8.4.1	<i>L'origine de la calcite en aiguille</i>	135
8.4.2	<i>Synthèse sur la nomenclature</i>	136
	Chapitre 9 Une hypothèse pour la formation des nano-baguettes de carbonate	137
9.1	<i>Aspect préliminaire</i>	138
9.2	<i>Description</i>	140
9.3	<i>Les problèmes liés à l'analyse des nano-baguettes</i>	143
9.4	<i>Conclusions partielles sur la nature de ces nano-baguettes</i>	143
9.5	<i>Protocole de reproduction expérimentale</i>	147
9.6	<i>Conclusions partielles sur la reproduction expérimentale</i>	147
9.7	<i>Résultats de la EELS et de la ESI</i>	149
9.8	<i>L'analyse du produit naturel</i>	149
9.9	<i>Discussion</i>	150
	Chapitre 10 Discussion générale	153
10.1	<i>L'importance du puits de carbone "iroko" et les quantifications</i>	154
10.2	<i>L'importance de la biologie dans l'écosystème iroko, son impact sur les sols africains</i>	156
10.2.1	<i>Le sol "hôte"</i>	156
10.2.2	<i>L'iroko</i>	157
10.2.3	<i>La libération de l'oxalate</i>	158
10.2.4	<i>La consommation de l'oxalate par les bactéries oxalotrophes</i>	158
10.2.5	<i>Les carbonates biologiquement induits</i>	158
10.2.6	<i>En résumé</i>	161
	Chapitre 11 Conclusion	165
	Bibliographie	169
	Annexes	177

Introduction

Chapitre 1 Introduction

Les études scientifiques sur le cycle global du carbone sont nombreuses. L'enjeu est important. La préoccupation actuelle relative à l'impact de la teneur en dioxyde de carbone dans l'atmosphère sur les changements climatiques est croissante. On parle beaucoup des puits de carbone, le plus important étant constitué par les océans. Ceux-ci "pompe" le CO₂ atmosphérique régulant sa teneur. Malheureusement, tous les modèles prédictifs actuels montrent qu'à terme, l'océan, actuellement le principal puits de carbone de la planète arrivera à saturation, n'agissant plus sur cette teneur en CO₂ de l'atmosphère. Les continents seront le lieu où les principaux agents influençant cette teneur en CO₂ prendront place. Qui n'a pas entendu parler de ces programmes de reforestation en Amazonie ? Les continents ont l'attention de plus en plus de scientifiques au regard de cette problématique. Sur les continents, la matière organique des forêts constitue un puits de carbone. Mais ce type de puits de carbone est-il efficace ? A court terme, il le reste. Si on considère une zone de reforestation, elle fonctionnera comme un réservoir qui pendant 10 à 1000 ans, agira comme un puits de carbone, la forêt piégeant plus qu'elle ne relâche; mais au delà de cette période, elle n'aura plus aucun impact, ce réservoir venant à passer à l'équilibre. On parle alors de forêt-climax. Le problème est que la matière organique a un temps de résidence dans les sols relativement limité, de 10¹ à 10³ ans. La matière organique est dégradée en très grande partie et repart vers l'atmosphère sous forme de dioxyde de carbone. Peut-on ainsi parler de puits de carbone efficace ?

Existe-t-il d'autres types de puits de carbone que la matière organique dans les sols? Au regard des grandes synthèses sur le sujet fournies par l'*IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Prentice et al., 2001)*, il n'en existe pas d'autres, ou alors ils sont négligés ou négligeables (Fig. 1.1). Tout au plus mentionnent-ils le réservoir carbone "inerte" (charbon et matière organique résistante à la décomposition). Malgré tout, de nombreux travaux étudient le cas de certains carbonates secondaires accumulés dans les sols (Capo et Chadwick, 1999; Elbersen et al., 1999). La majorité de ces travaux a conclu soit à une absence de puits de carbone et donc à une simple redistribution, soit à un puits de carbone négligeable à une échelle globale. Un exemple d'accumulation importante décrit par Carozzi (1967), autour d'un arbre tropical, l'iroko, semblait un cas particulier intéressant à étudier. En effet, l'étude de l'hypothèse d'un piégeage de CO₂ atmosphérique via la photosynthèse sous forme de carbonate dans les sols est une idée qui reste à tester.

Au regard du temps de résidence des carbonates dans les sols, bien supérieur à celui de la matière organique, il peut être 100000 fois plus long (Retallack, 1990), piéger du carbone sous cette forme minérale, plus inerte, est plus efficace.

Le but de ce travail, en collaboration avec Olivier Braissant (qui traite les aspects microbiologiques), est de comprendre les processus et l'impact que représente la biominéralisation via l'étude du cycle oxalate/carbonate lié à l'iroko. La minéralisation dans le règne végétal est une chose très répandue et bien connue (Pobeguïn, 1943, 1954 ; Franceschi

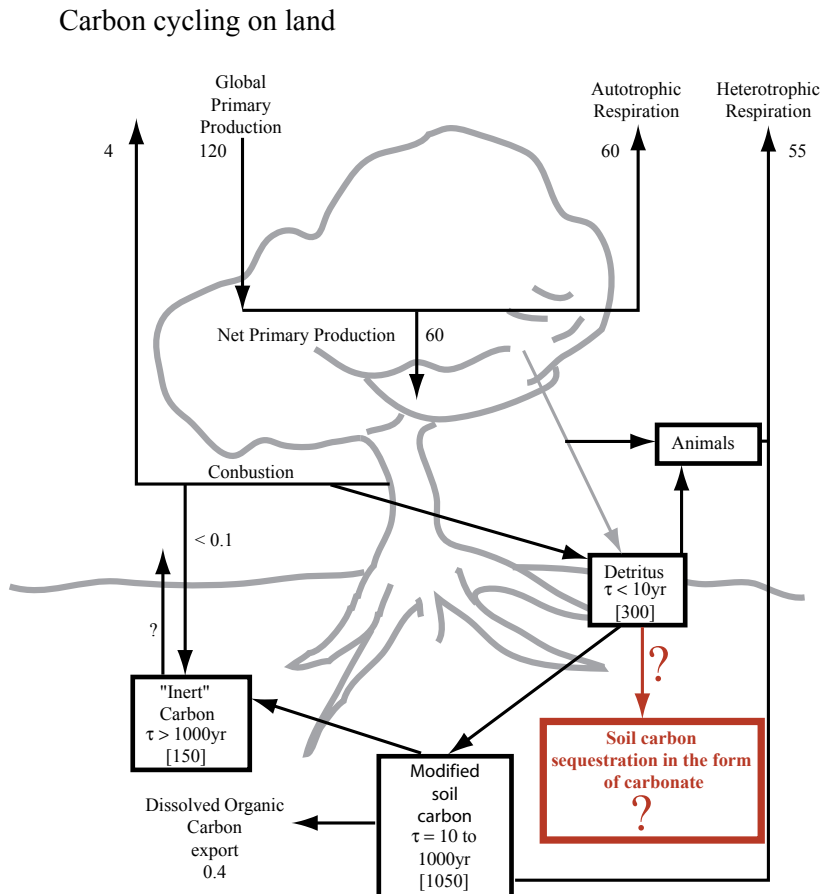


Fig. 1.1 : Cycle du carbone en domaine continental tel qu'il est pris en compte par l'IPCC (modifiée d'après Prentice et al, 2001). Aucun puits de carbone sous forme de carbonate accumulé dans les sols n'est pris en compte dans cette synthèse. Légende : inert carbon : charbon et matière organique résistante à la décomposition ; τ : turn over du réservoir ; Les données sont exprimées en GtC (gigatonnes de carbone).

Carbon cycle on the continents as it is described by the IPCC (modified from Prentice et al, 2001). No carbon sink as soil carbonate accumulation has been taken into account in this synthesis. Caption : inert carbon: charcoal and decaying resistant organic matter ; τ : turnover of the pool ; Data are expressed in GtC (gigatons of carbon).

et Horner, 1980). Les trois principaux types de biominéralisation que l'on rencontre dans la nature sont la silicification, l'oxalatisation et la calcitisation ; seuls ces deux derniers types seront abordés ici dans le cadre de ce projet "iroko".

Un autre type d'accumulation de carbonate de calcium dans les sols, dont l'origine est encore le sujet de controverses va également faire l'objet d'une étude approfondie. La calcite en aiguille (NFC: *Needle Fiber Calcite*) est une des formes les plus ubiquistes de la calcite en milieu continental vadose. Elle a fait l'objet de nombreuses études, mais son origine reste toujours incertaine. D'origine purement physicochimique pour certains, biogène pour d'autres, les arguments avancés jusqu'alors restent sujets à discussion. L'origine même du carbone reste incertaine, est-ce une simple redistribution par dissolution réprécipitation ou un puits de carbone ? L'origine de cette forme de carbonate sera discutée au regard d'une étude développée sur un grand éventail de sites, englobant les sites africains étudiés pour les irokos.

1.1 Localisation des sites d'étude du projet "iroko"

Le projet initial avait tablé sur deux sites d'études possibles suivant la situation politique locale, le Cameroun, pays le plus stable ou la Côte d'Ivoire. Pour la première mission commune avec Olivier Braissant, la Côte d'Ivoire fut choisie. Bénéficiant du support logistique du Centre Suisse de Recherche Scientifique à Abidjan et de contacts à l'Université de Cocody, cette mission qui se voulait être une mission d'exploration, en vue d'une suivante plus approfondie. Cette mission s'est déroulée dans le centre-ouest de la Côte d'Ivoire, dans la région de Daloa. Six mois après le retour de cette mission, la guerre civile ne permettait plus de retour en Côte d'Ivoire. Le deuxième site initialement prévu, le Cameroun, dans la province du Noun fut donc retenu pour la deuxième mission commune, Olivier Braissant avait déjà effectué une mission au Sud du Cameroun dans la région de Kribi. Les différents sites relatifs à l'étude du système iroko sont présentés dans la figure (localisation Afrique). En Côte d'Ivoire, le site principal d'étude est le site de Biga (6°39'N, 6°23'W) situé au sud de Daloa. Localisé dans une pénéplaine Tertiaire ayant subi l'érosion Quaternaire, ce site se trouve dans une région montrant peu de variations d'altitudes. Ces dernières varient de 200 à 300 m au-dessus du niveau de la mer. Les sols locaux typiques sont des sols ferrallitiques développés sur des granites et granitoïdes dont certains Inselbergs dominent la savane régionale.

Au Cameroun, deux sites ont fait l'objet d'investigations, il s'agit du site de Mankaré (5°27'N, 11°03'E) et du site de site de Machatoum (5°27'N, 11°03'E). Dans la province ouest du Cameroun, près de la localité de Massangam, la région étudiée présente de plus importantes variations altitudinales que la région explorée en Côte d'Ivoire. L'altitude varie en moyenne entre 600 et 900 m en moyenne, mais des crêtes de plus de 1000 m sont nombreuses. Les sols de ces deux sites sont bien différents l'un de l'autre, celui de Mankaré étant un sol développé sur les alluvions du fleuve Mbam, tandis que le sol de Machatoum, est un sol très argileux développé sur des basaltes. L'ensemble des sites étudiés en Afrique est pointé dans la figure (1.2).

1.2 Le site annexe de Tabernas

Situé dans le désert de Tabernas, un site d'étude non plus de l'iroko, mais d'un cactus a été choisit suite à l'impossibilité de retournée en Côte d'Ivoire. Ce site de "secours" visait encore a étudier la transformation de l'oxalate en carbonate. Le site d'étude (37°13'N, 2°16'W ; Fig. 1.3) se situe environ à 1000 m d'altitude, le sol sur lequel se trouvait le cactus s'est développé sur une roche-mère de type schiste ardoisier.

1.3 L'oxalatisation

1.3.1 Quelques rappels sur l'oxalate

L'oxalate de calcium (C_2O_4Ca) est un cristal organique très répandu chez les plantes, mais également chez les animaux (l'oxalate représente la majeure partie de la masse des calculs rénaux). Chez le végétaux, les cristaux d'oxalate de calcium se forment dans la plupart des

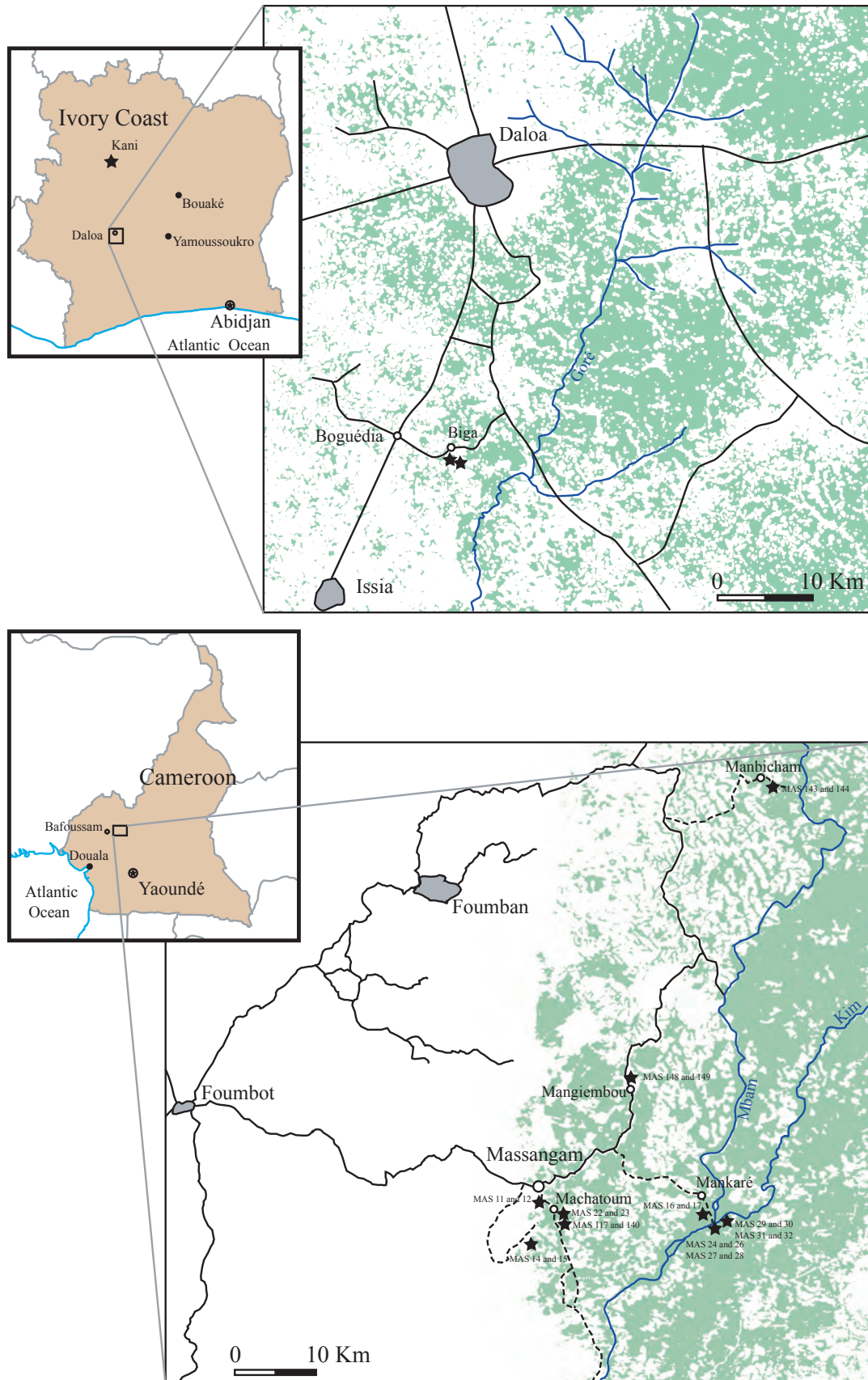


Fig. 1.2 : Carte de localisation des différent irokos étudiés en Côte d'Ivoire (sur les site de Biga et Kani) et dans la province du Noun au Cameroun.

Location map of iroko trees (stars) studied in Ivory Coast (Biga and Kani sites) and in Cameroon, (province of Noun).

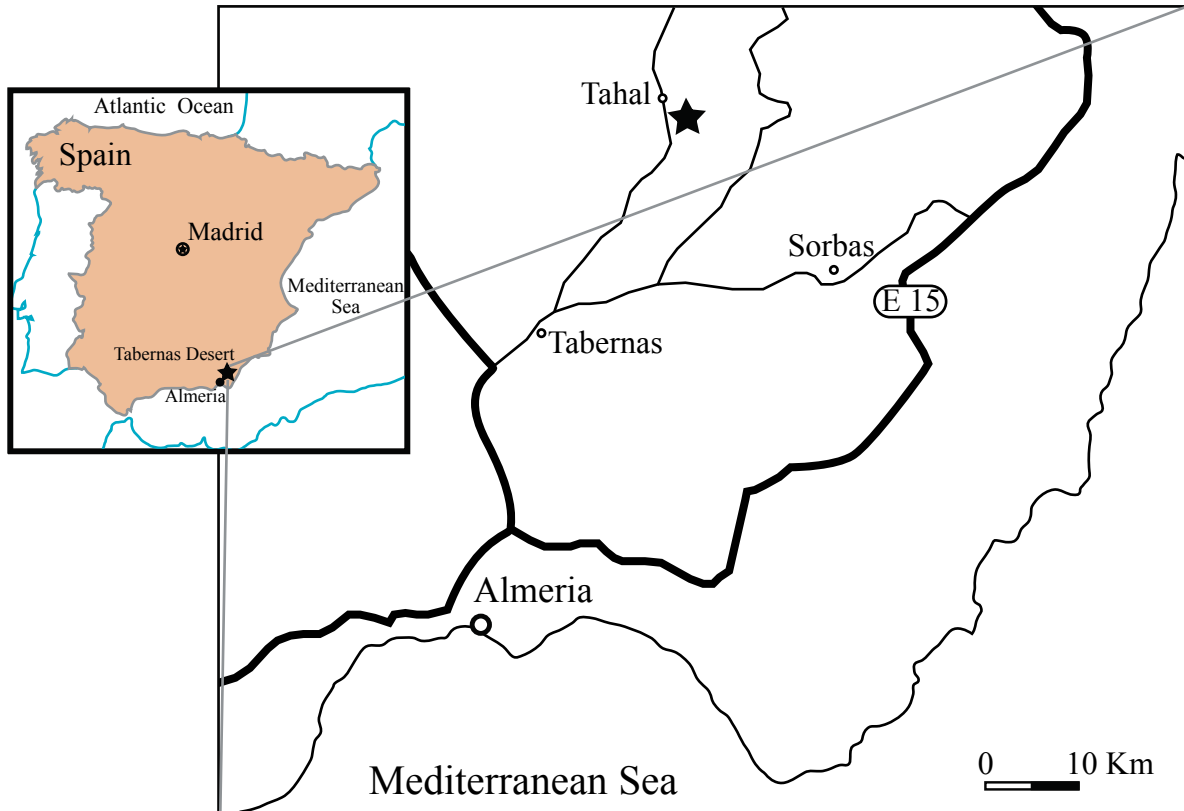


Fig. 1.3 : Carte de localisation du site d'étude des *Opuntias* (étoile) dans le désert de Tabernas, région d'Almería, Sud de l'Espagne.

Location map of the Opuntia site (star) in the Tabernas Desert, Almería area, southern Spain.

organes et tissus de la plante, généralement dans les cellules que l'on appelle idioblastes. On rencontre deux formes principales d'oxalate de calcium dans les plantes, une forme monohydratée, la Whewellite et une forme dihydratée, la Weddellite.

L'oxalate de calcium présente différentes voies de synthèse mais la plus importante est celle liée à la photosynthèse comme le décrit la figure (1.4). Il a été démontré que l'oxalate peut être formé par de nombreuses plantes dont le métabolisme est basé sur l'acide L-ascorbique (Wagner et Loewus, 1973); chez les champignons, il est produit par oxydation directe de l'acide malique (Gentile, 1954).

1.3.2 Localisation dans les tissus

L'oxalate peut être trouvé dans tous les tissus des plantes, du système reproducteur aux feuilles, dans leur intégralité (e.g. pétiole), dans les racines, dans les tissus vasculaires, l'écorce, etc. Chez *Cactus senilis*, une Cactée, le sel d'oxalate peut représenter 85% de la masse sèche. Chez les champignons, on rencontre l'oxalate formant un manchon autour des filaments. Les champignons sont connus pour excréter d'importantes quantités d'acides organiques. L'acide oxalique ou l'oxalate le sont en quantité assez abondante pour provoquer la précipitation de son sel calcique. Cette production d'oxalate de calcium accompagne souvent la dégradation de la matière organique du sol dans l'horizon A ; ce serait un moyen de retenir le calcium (Graustein et al., 1977).

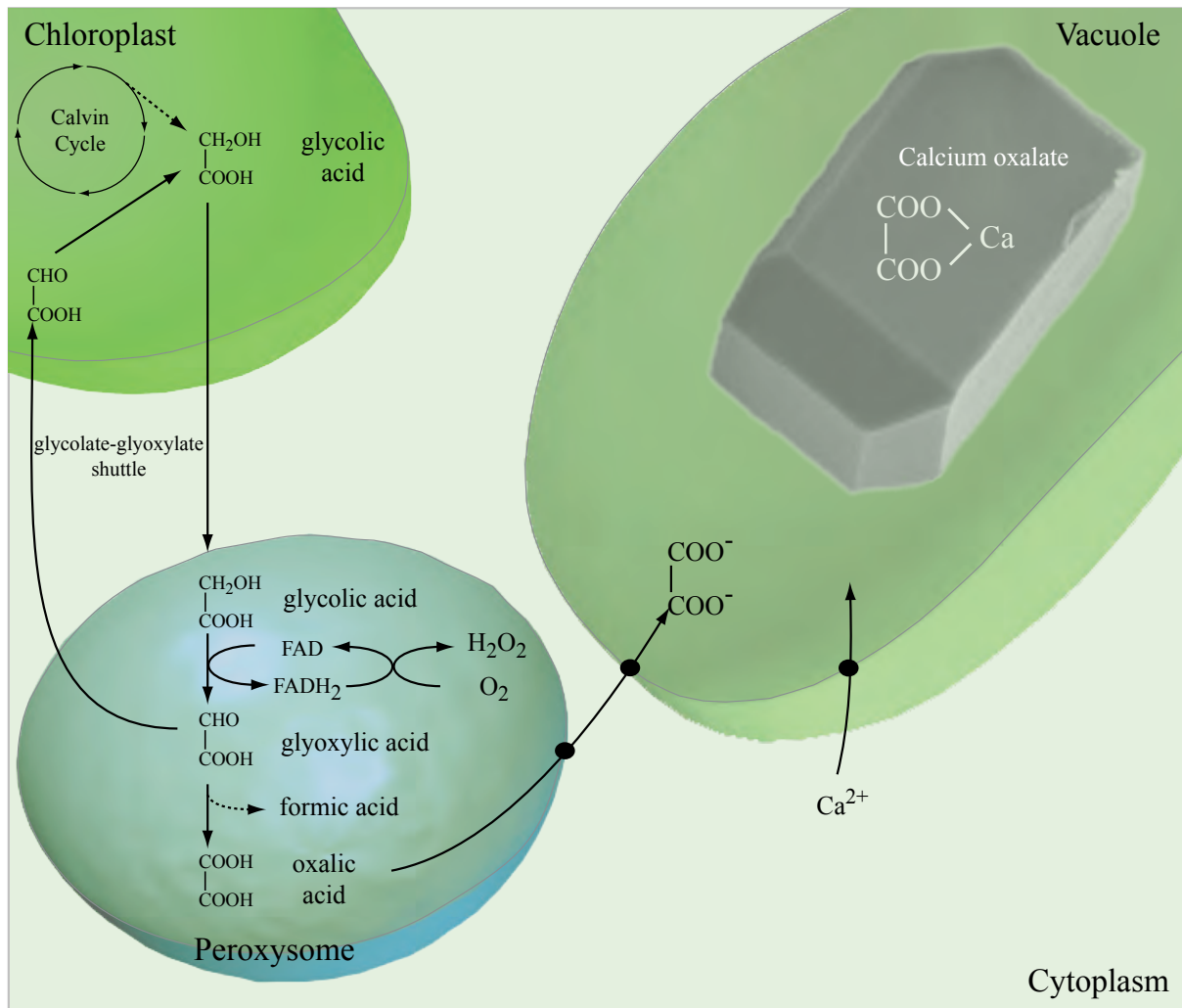


Fig. 1.4 : Voie de biosynthèse de l'oxalate de calcium liée à la photosynthèse. L'acide glycolique est un des premiers produits de la photosynthèse, il est transféré dans un peroxyssome qui est un organite contenant, entre autres, des enzymes oxydatives produisant et décomposant le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Dans ce peroxyssome l'acide glycolique est dans un premier temps oxydé pour donner de l'acide glyoxylique. Cet acide peut alors, soit être transféré vers le chloroplaste incapable de le synthétiser, soit être oxydé pour former l'acide oxalique qui est transféré dans la vacuole. Simultanément, la teneur en Ca^{2+} dans le cytoplasme est régulée par un transfert vers la vacuole. Le mécanisme induisant ce transfert est un gradient de pH (acide dans la vacuole), les ions H^+ sont transférés vers le cytoplasme suite à la différence de concentration. Ces deux transports inverses de Ca^{2+}/H^+ sont couplés via un antiport. Dans la vacuole, une cristallisation spontanée se produit lors de la rencontre entre l'ion oxalate et l'ion calcium.

Biosynthesis pathway of calcium oxalate related to photosynthesis. Glycolic acid is one of the first products of photosynthesis; it is transferred in a peroxyssome which is an organelle containing amongst other things oxydative enzymes producing and breaking up hydrogen peroxide (H_2O_2). In this peroxyssome the glycolic acid is initially oxidized to give a glyoxylic acid. This acid can then either be transferred towards the chloroplast unable to synthesize it, or be oxidized to form the oxalic acid which is transferred into the vacuole. At the same time, the Ca^{2+} content in the cytoplasm is controlled by a transfer to the vacuole. The mechanism inducing this transfer is a gradient of pH (acidic conditions in the vacuole), H^+ ions are transferred towards the cytoplasm following the difference in concentration. These two opposite directions of Ca^{2+}/H^+ is coupled via an antiport. In the vacuole, a spontaneous crystallization occurs when the oxalate ion meets the calcium ion.

1.3.3 Quelles sont les fonctions de l'oxalate ?

On a attribué à l'oxalate de nombreuses fonctions possibles :

- les cristaux pourraient être un moyen de protection contre les herbivores, ou les insectes tel que les termites ;
- les cristaux pourraient avoir purement une fonction de support de la structure organique (Schneider, 1901) ;
- l'acide oxalique aurait une fonction de régulation du calcium dans le cytoplasme (Robert et Roland, 1989) ;
- l'oxalate serait également un agent retardant de la combustion (Prior et Cutler, 1992).

1.3.4 Quel est le devenir de l'oxalate dans les sols ?

Comme il est mentionné ci-dessus, l'acide oxalique peut être stocké sous forme d'oxalate de calcium dans les cellules, mais il peut également être exsudé par les racines (Jones, 1998). Dans les sols, on peut trouver des teneurs en oxalate de l'ordre de $2716 \mu\text{mol.l}^{-1}$, mais sa teneur dans les sols, est essentiellement conditionnée pas la différence entre sa production et sa consommation. En effet, l'oxalate peut être consommé par de nombreuses bactéries du sol (Chandra et Shethna, 1975 ; Sahin, 2003), même si c'est un substrat métabolique peu rentable. Cette consommation de l'oxalate a deux conséquences, l'augmentation du pH et la production d'ions carbonates. La décomposition de l'oxalate de calcium contribue à augmenter le pH car l'acide modérément fort (i.e acide oxalique) est transformé en un acide encore plus faible (i.e. acide carbonique).

La transformation se produit suivant l'équation ci-dessous :



Enfin, il est également connu que l'oxalate, grâce à ses propriétés de chélateur, est un agent actif de l'altération des sols.

1.4 La calcitisation dans le règne végétal

La calcitisation, mais nous devrions parler de carbonatation car de nombreuses formes de carbonate de calcium sont décrites chez les plantes, est un phénomène abondamment observé dans le règne végétal. Les algues sont bien connues pour précipiter des squelettes aragonitiques (e.g. *Acetabularia*, ordres des Dasycladales), mais également de la calcite (e.g. *Mélobésiées*, famille des Rhodophycées). La vatérite, quant à elle, un autre polymorphe de la calcite, semble n'avoir jamais été décrit. Ceci est peut-être dû au fait que cette forme est instable, et ne serait que transitoire.

1.4.1 Où le carbonate de calcium précipite-t-il ?

Dans le règne végétal, diverses localisations du carbonate de calcium peuvent être rencontrées : dans la vacuole, le cytoplasme, et il peut commencer à précipiter dans les vaisseaux du bois fonctionnels (Pobeguïn, 1954). On le trouve en incrustations de membranes cellulaires, les membranes végétales se minéralisant facilement ; ces formes sont appelées cystolithes. Enfin, les excréments (ou précipitations extraorganiques) restent les cas les plus fréquents dans le règne végétal. Chez les algues, le genre *Halimeda* (Codiacées) est bien connu, sur les continents, les arbres sont aussi connus pour ces formes tel l'arbre tropical *Milicia excelsa*.

1.4.2 Quelle(s) fonction(s) pour le carbonate de calcium dans les plantes ?

Contrairement à l'oxalate dont plusieurs hypothèses tentent d'expliquer l'origine (métabolique, fonction de soutien, protection, etc.), la présence des carbonate dans les tissus des plantes reste mystérieuse. On explique leur précipitation par simple dégazage du dioxyde de carbone, mais aucune hypothèse, quant à leur fonction, n'est avancée dans la littérature scientifique.

Essayer de quantifier l'impact du facteur biologique sur l'accumulation de carbonate de calcium dans les sols devait s'orienter dans un premier temps sur un système le plus simple possible. L'accumulation de carbonate secondaire est souvent interprétée comme une simple redistribution d'un carbonate préexistant (e.g. un carbonate préexistant est dissout par des infiltrations de pluies puis est reprécipité par simple dégazage). Pour déterminer si une accumulation de carbonate dans un sol est un puits de carbone et non pas une simple redistribution d'un carbonate préexistant, une panoplie de méthodes très « lourdes » est à mettre en œuvre. Il faut tracer les sources de calcium et pouvoir échantillonner les diverses phases carbonatées présente dans le sol. La faisabilité, surtout sur ce dernier point est souvent à la limite du possible, spécialement quand les formes carbonatées secondaires sont de petites tailles.

Ce dernier point nous a mené vers l'étude d'un système d'accumulation de CaCO_3 , dans milieu initialement dépourvu de carbonate. L'iroko un arbre tropical exclusivement africain est connu depuis longtemps (Campbell et Fisher, 1932) pour se minéraliser de son vivant. D'abondantes masses de carbonate ont été décrites (Carozzi, 1967) autour de cet arbre, dans les sols dont la roche mère est granitique. Le système iroko semblait donc être un objet particulièrement adapté au type d'étude projetée.

1.5 Introduction sur l'iroko

Une fiche de description la plus complète possible concernant cet arbre est ici développée. De son nom latin *Milicia excelsa* (Welw.) C.C. Berg, famille des *Moraceae*, l'iroko est souvent associé, voir confondu à *Milicia regia* par les exploitants forestiers.

Synonymes : *Chlorophora excelsa* (Welw.) Benth., *C. alba* A. Chev., *C. tenuifolia* Engl., *Maclura excelsa* (Welw.) Bureau, *Milicia africana* Sim, *Morus excelsa* Welw.

Les noms vernaculaires autres qu'iroko sont nombreux :

Semli (Sierra Leone, Liberia), Odoum (Ghana, Côte d'Ivoire), Rokko, Oroko (Nigeria), Abang, Mandji (Cameroun, Gabon), Mereira (Angola), Kambala (Zaire), Mvule (Afrique de l'Est) ; Lusanga, Mokongo, Molundu, Mvuli, Tule mufala, etc.

La répartition du genre *Milicia* est exclusive à l'Afrique, et on le rencontre dans les pays suivants (Fig. 1.5) : Angola, Bénin, Burundi, Burkina Faso, Cameroun, Congo, Côte d'Ivoire, Ethiopie, Gabon, Guinée, Guinée-Bissau, Guinée Equatoriale, Gambie, Ghana, Kenya, Libéria, Malawi, Mozambique, Nigeria, Ouganda, République Centre-Africaine, République Démocratique du Congo, Sao Tomé & Príncipe, Sierra Leone, Sénégal (Basse-Casamance), Soudan, Tanzanie, Togo et Zimbabwe.

L'espèce *regia* est répandue dans les pays suivants: Bénin, Cameroun, Côte d'Ivoire, Gambie, Ghana, Guinée-Bissau, Guinée, Libéria, Sierra Leone et Sénégal. Elle a été introduite au Nigeria. On ne la trouve que sur la façade ouest de l'Afrique.

Habitat : *Milicia* est présent dans les zones de transition entre les forêts fermées (avec fourrés) et la savane, mais il est également fréquent dans les forêts galeries. On peut le trouver dans les forêts décidues (arbres à feuilles caduques), les forêts semi-décidues, ou les forêts sempervirentes (arbres à feuilles persistantes). On le trouve depuis le niveau de la mer et jusqu'à 1300 m en moyenne, mais il a été observé sur le Mont Kilimandjaro à une altitude de 4500 m en Tanzanie. *Milicia excelsa* et *regia* préfèrent les zones sèches, lumineuses, et les plaines, ces arbres sont considérés comme des espèces pionnières. En Afrique de l'ouest, l'iroko est présent dans des zones où les précipitations sont comprises entre 1150 mm et 1900 mm en moyenne, les températures variant de 25°C à 35 °C.

Description : L'iroko peut être soit male, soit femelle, ce qui peut poser des problèmes de pérenité de population réduite (cas rencontré dans un parc naturel au Mozambique). Pouvant atteindre 49 m de haut (Fig. 1.6), l'iroko possède généralement un tronc droit où les premières branches peuvent n'apparaître qu'à 24 m. Sa densité moyenne à 12% d'humidité est de 650 Kg/m³. De par ses qualités mécaniques, sa résistance aux attaques des termites, il est très recherché par les exploitants forestiers. Il n'est par contre pas flottable.

Il faut noter enfin que cette essence est également présente, pour certains pays (e.g. Sao Tomé et Príncipe), dans les forêts dites d'ombre, résultat de la plantation d'arbres de couverture plus ou moins dense dans les plantations de cacao et de café. Ce sont des plantations à double usage, couverture et exploitation ultérieure de bois précieux.

Pour plus d'informations, et bibliographie liée :

http://www.unep-wcmc.org/species/tree_study/africa/fra/1-60.htm

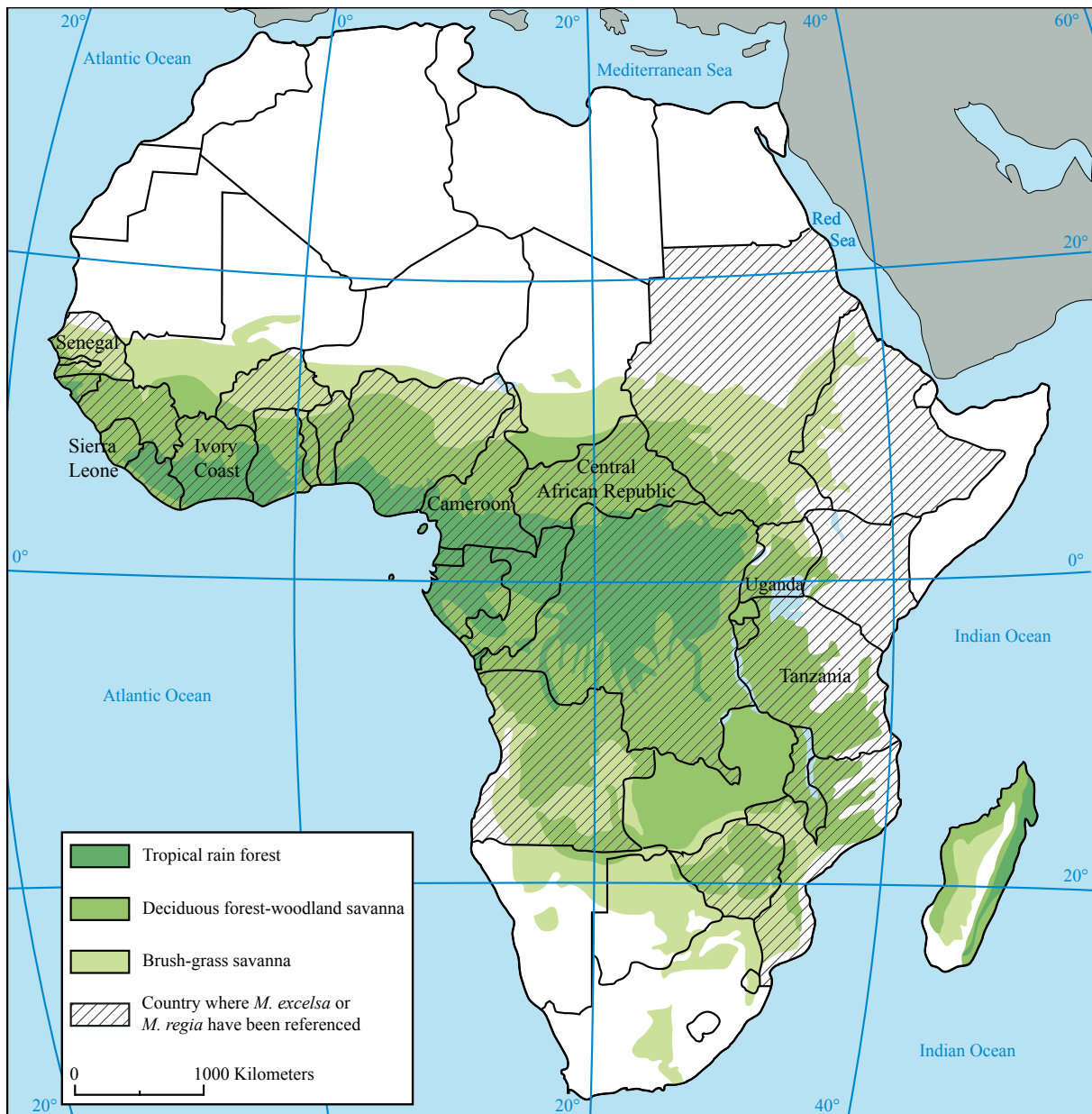


Fig. 1.5 : Carte générale de l'Afrique montrant les différents types de végétations où l'on trouve des irokos. En hachures sont représentés les pays où le genre *Milicia* a été recensé.

*Map of Africa showing the distribution of the 3 kinds of vegetation where irokos are found. Shadings represent countries where the genus *Milicia* has been referenced.*



Fig. 1.6 : A : iroko dans une plantation de café au Cameroun (flèche blanche). B : détail du tronc présentant une forte desquamation de l'écorce. C : l'iroko présente parfois des racines dont la cuticule externe prend des teintes rouges tachetée de orange. D : détail de feuilles de *Milicia excelsa*.

*A : iroko in a coffee plantation in Cameroon (white arrow). B : important desquamation of the iroko bark. C : sometimes the root of the iroko has a reddish cuticle with orange spots. D : detail of *Milicia excelsa* leaves.*

Méthodologie

Chapitre 2 Méthodologie

Les nombreuses méthodes d'échantillonnages, d'observations et d'analyses utilisées dans cette étude, mais également leur redondance dans les différents cas rencontrés impliquent la rédaction de ce chapitre dans un souci de concision.

2.1 Les méthodes d'échantillonnages

2.1.1 Méthode d'échantillonnage des différents liquides (précipitations, eaux courantes)

Sur tous les sites étudiés et dans la mesure du possible, les précipitations ont été prélevées dans des bacs de rétention en vue d'analyse ultérieure. Les échantillons étaient acidifiés avec du HNO₃ ultrapure 10% et conditionnés soit en frigo ou à défaut dans des lieux frais. Le même conditionnement était appliqué aux échantillons de cours d'eau, de marécages et de puits.

2.1.2 Méthode d'échantillonnage du sol

Sur tous les sites étudiés, un échantillonnage "à maillage serré" a été choisi. Travaillant sur des objets de taille métriques à pluri-métriques (au sol), donc relativement restreints, leur emplacement par rapport à l'objet étudié (arbre ou cactus) est donc variable et sera précisé pour chaque étude. Un échantillonnage systématique a été privilégié. Suivant les cas, soit une fosse pédologique allongée, s'éloignant de l'objet d'étude, soit plusieurs fosses ont été creusées. L'espacement vertical entre chaque prélèvement est généralement de 5 cm, ce qui correspond à la fois à la faisabilité d'échantillonnage (une boîte de 250ml plus ou moins pleine pour chaque profondeur) et donnait la possibilité de bien tracer les variations des différentes propriétés à étudier sur des profils de sol jamais supérieur à 130 cm. Un échantillonnage tous les 10 cm pouvait être pratiqué suivant l'homogénéité apparente des profils. La quantité maximale d'échantillons pour les campagnes africaines était évidemment prédéfinie avant le départ d'Europe pour des raisons de coût et de transport.

2.1.3 Méthode d'échantillonnage en vue de la conception de lames minces

Différents types d'échantillons ont été prélevés en Afrique: des échantillons de bois "sain", du tronc essentiellement; des échantillons de carbonate prélevés directement sur le tronc, sorte de sécrétion durcies (cf. Campbell et Fisher RC, 1932); des blocs minéralisés de bois tombés sur le sol et provenant du tronc, mais également des racines, résidus de l'action des termites; enfin des blocs de carbonate plus ou moins massifs (blocs pouvant atteindre 2 kg) mis à jour pendant le creusement des fosses pédologiques.

2.1.4 Echantillonnage de la calcite en aiguille

Suivant les possibilités, la calcite en aiguille a été prélevée avec des pinces brucelles sur le terrain ou sous loupe binoculaire en laboratoire. Cette dernière méthode se faisait soit sur de gros bloc de roche mère, soit dans des échantillons de sol meuble. Selon les analyses envisagées, la masse de cette forme de calcite à prélever était variable, au minimum 3 mg sont souhaitables pour les isotopes (cf. section *Analyses isotopiques du carbone et de l'oxygène*), mais l'analyse par chromatographie ionique nécessitait 10-25 mg.

2.2 Les méthodes d'observations et analyses in situ

2.2.1 La microscopie optique

Préparation de lames minces

Les échantillons de bois, de sol ainsi que les blocs de carbonate destinés à la confection de lames minces ont tous été indurés avec une résine de type époxy à deux composants sous vide d'air. Les échantillons de cactées ont été lyophilisés avant l'induration sous vide d'air. Le matériel d'une épaisseur de 30-35 μm était poli à l'oxyde de cérium (ou un autre abrasif suivant le lieu de confection de la lame) pour d'éventuelles observations en cathodoluminescence.

L'observation optique

Divers modes d'observation ont été utilisés en microscopie optique : 1) la lumière normale ; 2) la lumière polarisée analysée ; 3) l'épifluorescence UV, Cette méthode d'observation est principalement utilisée ici pour différencier les cristaux d'oxalate des carbonates. Les cristaux d'oxalates, en plus de leur habitus particulier, ont la particularité quasi constante d'avoir une luminescence beaucoup plus faible que les carbonates. Cette méthode permet de mettre en évidence certaines formes de matière organique ; 4) la cathodoluminescence, permet de mettre en évidence des variations dans l'incorporation de divers éléments dans le réseau de la calcite. Des variations d'intensité de luminescence tout aussi bien que les teintes peuvent refléter les variations des propriétés oxydo-réductrices de la solutions parentes. Pour plus de détails, une synthèse sur cette méthode d'observation a été faite par Amieux (1982).

2.2.2 La microscopie électronique

Préparation des échantillons pour l'observation au Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Le microscope utilisé durant ce travail, est un Phillips XL30, un microscope électronique à canon à effet de champ (*Field Emission Gun Scanning Electron Microscope* ; FEG-SEM). Il

peut fonctionner en mode environnemental (*Environmental Scanning Electron Microscope* ESEM), ce qui ne nécessite aucune préparation pour les échantillons (seule la taille est limitée à 6-7 cm). Le XL30 permet également l'observation en mode basse température (Cryo-scan).

Pour le mode classique, tous les types d'échantillons ont été séchés préalablement et collés sur un plot de MEB avec une pastille de colle carbone. Pour éviter les phénomènes de charge, assurer à la fois une meilleure conductivité et une plus grande stabilité à l'échantillon, de la colle au carbone pouvait être ajoutée. Un dépôt d'or d'une dizaine de nanomètres était ensuite effectué. La distance de travail au MEB variait principalement de 10 à 15 mm avec une accélération de 5 à 15 KV. Les faibles accélérations étaient nécessaires à l'observation des aiguilles de calcite souvent sujettes aux phénomènes de charges, même si cela était au détriment de la résolution.

Pour répondre à certaines questions non résolues par le mode classique, le mode basse température a été employé. Son mode de préparation permet des observations sur des cassures nettes, ce qui est très utile pour observer par exemple la structure interne de certains cristaux, des sections d'aiguilles de calcite, etc. Les échantillons de petites tailles (2 mm d'épaisseur maximale, une largeur inférieure à 7-8 mm et une longueur centimétrique) sont enchâssés dans un porte-objet et entouré d'agar qui fera office de colle à basse température. On plonge le porte-objet dans un "slush" d'azote (littéralement : neige fondante) puis on transfère l'échantillon dans la chambre de préparation ; on y sublime l'eau de l'échantillon, puis on pratique une cassure à l'aide d'un couteau ; enfin, on dépose une mince couche d'or pour assurer la conductivité.

Préparation des échantillons pour l'observation au Microscope Electronique à Transmission (MET)

Ce type de microscope a été utilisé pour l'observation des aiguilles de calcite mais aussi pour essayer de déterminer le type de structure interne de certains cristaux. Le microscope utilisé est un Phillips CM-200, les observations ont été réalisées à une accélération de 200 KV et un porte-objet simple ou double tilt (rotation), ce microscope permet des observations haute résolution ainsi que des analyses en micro-diffraction. La taille de la grille porte-objet (3 mm de diamètre) à film de carbone ne permet pas la dépose de cristaux directement à la pince brucelles (Fig. 2.1). Le film de carbone étant systématiquement détruit lors de la dépose. De plus l'épaisseur optimum pour l'observation à 200 KV étant d'environ 15-20 nm pour des carbonates et 2 μm la limite supérieure pour une observation exploitable, l'étude de gros cristaux nécessite une préparation préalable. Le matériel est broyé succinctement entre deux lames de verre préalablement nettoyé à l'alcool et séché à l'air comprimé pour éviter toute contamination. La poudre est ensuite ramassée délicatement par une grille à film de carbone. Cette technique somme toute sommaire permet d'observer des fragments de cristaux beaucoup moins épais. Il faut toutefois toujours garder à l'esprit les contraintes subies par le matériel lors de cette préparation.

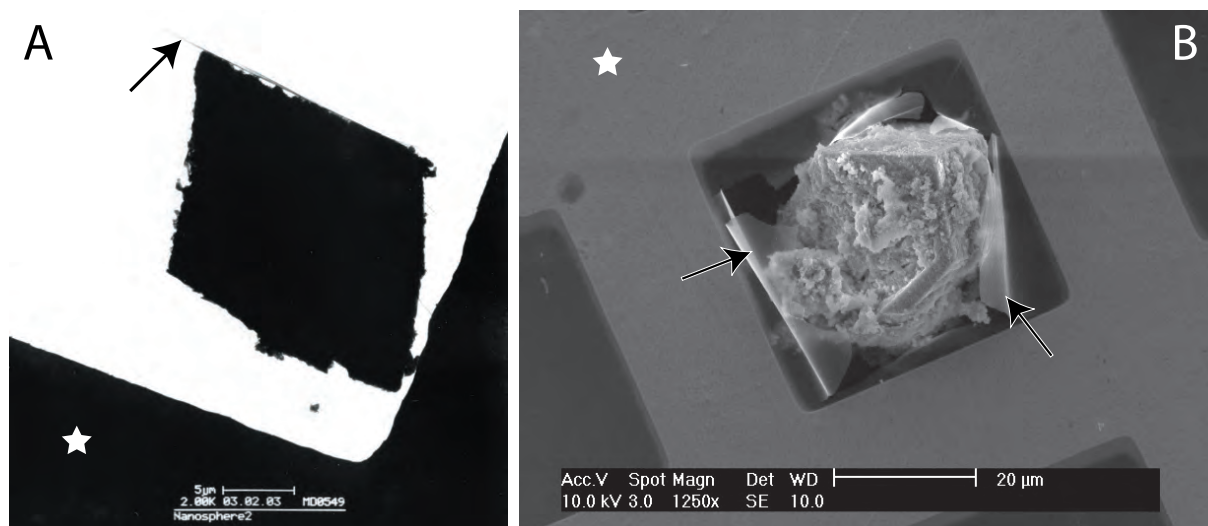


Fig. 2.1 : A : Photographie au MET d'un cristal qui crève le film carbone. Ce type d'échantillon est beaucoup trop épais pour une observation globale, seuls les bords peuvent être observés par rotation du porte-objet. B : on peut voir sur cette photographie au microscope électronique à balayage en mode environnemental les conséquences d'une dépose de cristal. Les flèches pointent le film de carbone abîmé par le cristal, les étoiles, la grille de cuivre.

A : TEM photomicrograph showing a crystal that has torn up the thin carbon film of the grid. In this case of sample preparation, the thickness of the crystal limits the observation to the edge. This is accomplished by rotation of the sample. B : ESEM photomicrograph showing the consequences of the deposition of a crystal on a grid with brucelles tweezers. Arrows point the carbon film broken by the crystal; stars indicate the copper grid.

Dans l'optique d'observer des sections d'aiguille de calcite, et pour compléter l'étude commencée à l'aide du MEB en mode cryogénique, des coupes au microtome ont été réalisées. Un amas de calcite en aiguille était déposé dans un eppendorf, puis, recouvert d'une résine de type époxy à deux composants (également utilisée pour les lames minces). Le vide d'air était ensuite réalisé et maintenu pendant une vingtaine de minutes. Des sections ultrafines ont ensuite été réalisées avec un microtome Reichert Ultracut S (Leica) à l'aide d'un couteau en diamant. On a obtenu ainsi des coupes de 150-60 nm qui ont été déposées sur une grille de MET sans film carbone.

ESI et EELS

La nécessité d'étudier la nature de certains cristaux de très petites tailles, 19-22 nm de large et 1.4-1.6 µm de longueur maximale observée, a révélé la limite de faisabilité de la méthode EDS (Fig. 2.2), pour l'analyse élémentaire. Pour résoudre ce problème, deux techniques ont été utilisées en parallèle sur un MET Zeiss CM902 au laboratoire de microscopie électronique de l'Université de Lausanne: la spectroscopie de perte d'énergie électronique (*Electron Energy Loss Spectroscopy* ou EELS) et l'imagerie par spectroscopie d'énergie (*Energy Spectrometry Imaging* ou ESI). La EELS permet de déterminer les éléments présents dans le matériel étudié, il permet de déterminer des bornes énergétiques à utiliser par la ESI, ce qui permet de faire une carte de la présence d'un élément comme le calcium par exemple.

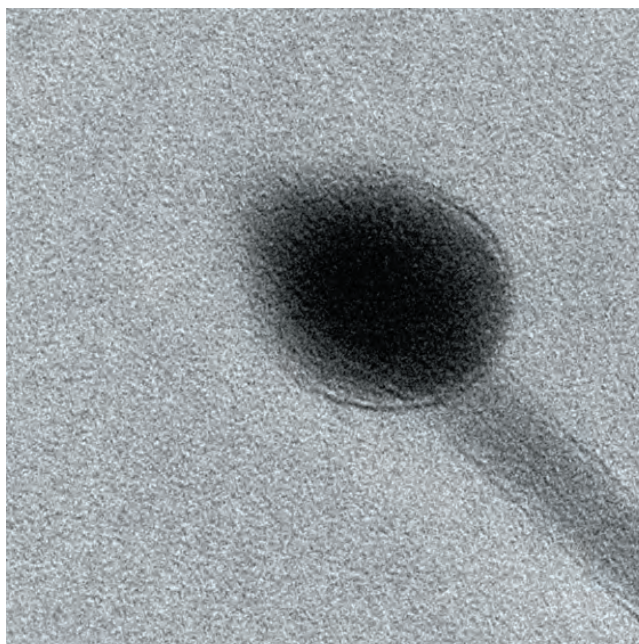


Fig. 2.2 : Observation au MET haute résolution d'une nanobaguette sur laquelle une mesure EDS est tenté (le disque noir correspond à la zone analysée). Le but ici était de détecter la présence de calcium suspectée être en enduit (6.5-7.3 nm en moyenne) autour d'un support organique. On voit très nettement que la zone d'analyse est bien plus importante que la baguette seule, qui représente déjà entre la moitié et les 2 tiers de ce que l'on cherche à analyser.

High resolution TEM photomicrograph showing the result of a EDS measurement (black area) on a nanorod. The purpose is to detect the presence/absence of calcium in the coating (6.5-7.3 nm in average) developed on an organic support. The analysed area is bigger than the nanorod, which itself represents half or two thirds of what we want to analyse (i.e. the coating).

Principe de la EELS

Les électrons du faisceau du MET traversent la matière (i.e. le film de carbone et le matériel à étudier). Tous les électrons incidents ont une énergie constante et connue ; en interagissant avec la matière, une perte d'énergie intervient. Cette perte d'énergie varie suivant le type d'élément rencontré par les électrons, donc la mesure de la perte d'énergie des électrons permet de déterminer le type d'élément présent.

2.2.3 Les méthodes d'analyses

L'analyse granulométrique

Une analyse granulométrique de différents sols a été réalisée. Se basant sur le protocole élaboré par Chalumeau (2003), la préparation des échantillons est organisée comme suit : 1) une phase de décarbonatation est réalisée par ajout d'acide chlorhydrique 10 % sur une masse d'échantillon variant de 50 à 90 g selon la masse d'échantillon disponible. Il faut veiller à ce que le pH ne soit pas inférieur à 2-3 pour éviter une attaque des particules argileuses. Une masse initiale de 100 g est recommandée, mais les échantillons traités ici non par de fraction trop grossière ni un taux de carbonate trop élevé pour rendre les analyses inexploitable.

2) Une phase d'élimination de la matière organique est ensuite réalisée par ajout d' H_2O_2 . Cette destruction de la matière organique est réalisée à pH 8 pour accélérer celle-ci. 3) La phase de tamisage est ensuite réalisée en récupérant la fraction fine non retenue par le tamis de $63\ \mu\text{m}$. 4) La phase de dispersion des particules fines (i.e. des argiles) est ensuite réalisée par ajout d'héxamétaphosphate de sodium.

Les classes granulométriques sont ensuite définies par les rejets des tamis et par analyse avec un système laser pour définir la fraction d'argile ($> 2\ \mu\text{m}$) présente dans la fraction inférieure à $63\ \mu\text{m}$. Les résultats sont ensuite exprimés en pourcentage massique.

Méthode de dosage du calcaire total

L'importante différence de teneur en carbonate entre les deux profils implique l'utilisation de deux méthodes de dosages différentes. Pour les échantillons dont la teneur en carbonate est inférieure à 20 % (% massique), le protocole suivant a été appliqué :

1 g d'échantillon broyé (pesé sur une balance de précision 0.001 g) a été dissout par un mélange de 25 ml de H_2SO_4 0.5 N et 125 ml d'eau déionisée. L'échantillon est alors placé au bain-marie à $90\ ^\circ\text{C}$ pendant 1 heure. On détermine ensuite la teneur en carbonate par dosage en retour avec une solution de NaOH 0.5N.

La deuxième méthode de détermination de la teneur en carbonate pour les échantillons ayant plus de 20 % de carbonate est un dosage par perte de masse :

1 g d'échantillon broyé, pesé sur une balance de précision 0.0001 g et séché à $80\ ^\circ\text{C}$ pendant 48 h) est dissout dans 50 ml d'HCl 10 % pendant 1h. L'échantillon est alors filtré sur un filtre millipore® $0.45\ \mu\text{m}$ préalablement séché et pesé. Séché dans les mêmes conditions que précédemment, l'échantillon est de nouveau pesé pour déterminer la masse de carbonate disparue (en tenant compte de la masse du filtre).

Le dosage de l'oxalate par une méthode enzymatique

Permettant de déterminer la teneur en oxalate dans les échantillons des différents profils de sol, cette méthode peut également être utilisée pour des tissus végétaux. Une masse de 10 g d'échantillon préalablement séché puis réduit en poudre est placée dans un tube de 50 ml. 25 ml de HCl 1N sont ajoutés, puis le tube est placé sous agitation lente pendant une nuit. Après cette agitation, le pH de la solution est porté à 2 par ajout d'HCl 6N. Les échantillons sont ensuite filtrés à $0.2\ \mu\text{m}$ à l'aide de filtre à seringue (Nalgène). Le filtrat est ensuite analysé à l'aide de kits de détermination de l'oxalate (Sigma). Utilisant les propriétés d'une oxalate oxydase couplée à une peroxydase, ces kits permettent d'obtenir une mesure colorimétrique de la concentration en oxalate en solution et donc la teneur en oxalate de l'échantillon.

Le dosage du $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$

Le choix du $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ a été privilégié car il donne l'acidité actuelle (contrairement au pH_{KCl} qui donne une acidité totale ou potentielle), instantanée des conditions lors de l'échantillonnage. Le mode opératoire est le suivant : (1) on introduit 10.0 g de sol dans un bécher de 50 ml ; (2) on ajoute 25 ml d'eau déionisée ; (3) on laisse agiter pendant un minimum de 16 h en

remuant régulièrement au début.

Suivant les pH estimés au papier pH, on étalonne le pHmètre (Metrohm 682 Titroprocessor) soit à partir de solutions à 4 et 7 unités pH (pour des sols acides), soit à partir de solutions à 7 et 9 unités pH (pour des sols basiques). Les mesures sont effectuées sous agitation jusqu'à stabilisation de la mesure. Des mesures sur des étalons sont pratiquées toutes les 4-5 mesures pour détecter une éventuelle dérive.

La mesure du carbone pyrolysable

La détermination de la teneur en Carbone Pyrolysable (PC) dans le sol est réalisée suivant la méthode Rock Eval. Une masse de 70 mg d'un échantillon préalablement broyé et séché est placé dans une nacelle porte-échantillon (cette masse peut varier suivant le teneur supposée de matière organique). La méthode comprend deux étapes analytiques pendant lesquelles on pyrolyse l'échantillon. Durant la première phase, l'échantillon est chauffé en atmosphère inerte, pendant la seconde sous conditions oxydantes. Les effluents sont mesurés en continu pendant la pyrolyse permettant entre autre de déterminer la teneur en PC.

Analyses isotopiques du carbone et de l'oxygène

Les analyses faites sur des échantillons de carbonate ont été réalisées exclusivement au Laboratoire de Biominéralisations et Paléoenvironnements de l' Université Pierre et Marie Curie de Paris VI (sous la direction du Dr. Laurent Emmanuel). Dans un premier temps les échantillons étaient séchés et broyés (hormis pour la calcite en aiguille). Une attaque au peroxyde d'hydrogène pouvait être entreprise pour ôter de la matière organique présente (pas trop longtemps, car l' H_2O_2 à un pH acide et on peut perdre du matériel). La masse standard d'échantillon pour une mesure, pour une teneur proche de 100 % de carbonate est de 1-2 mg. L'attaque se fait avec de l'acide orthophosphorique sensé ne pas attaquer la matière organique. La séparation entre les différents types de gaz produit, se fait via une méthode cryogénique. Le dioxyde de carbone est isolé des autres gaz formés lors de l'attaque par simple condensation avec de l'azote liquide ($-196^\circ C$), puis de la neige carbonique ($-80^\circ C$). La première étape condense tous les gaz condensables, la deuxième ne retient que le CO_2 , qui est ensuite injecté dans l'appareil de mesure. L'appareil utilisé pour l'analyse isotopique du carbone et de l'oxygène est un spectromètre de masse VG Micromass 602. Ce dernier mesure les masses 44, 45 et 46 correspondant aux différentes masses de la molécule CO_2 suivant sa constitution en isotope du carbone et de l'oxygène.

$$R = \frac{\text{abondance isotope rare}}{\text{abondance isotope abondant}}$$

$$R^{13}(CO_2) = \frac{[^{13}C \ ^{16}O_2]}{[^{12}C \ ^{16}O_2]} = \frac{\text{masse 45}}{\text{masse 44}} \quad R^{18}(CO_2) = \frac{[^{12}C \ ^{18}O \ ^{16}O]}{[^{12}C \ ^{16}O_2]} = \frac{\text{masse 46}}{\text{masse 44}}$$

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) \times 1000 \text{ [‰]}$$

La signature isotopique de l'échantillon est ensuite définie comme suit:

On analyse 6 fois un couple étalon/échantillon, ce qui permet de définir statistiquement (en interne au programme de pilotage de la machine) la signature isotopique de l'échantillon par rapport au standard PDB. La valeur standardisée du δ est donnée en ‰ (pour mille). Les données non publiées de Loisy (1997) ont été obtenues à l'Université de Berne sur un spectromètre de masse VG Prism2.

2.3 Localisation des sites d'études d'Afrique

Le projet initial avait tablé sur deux sites d'études possibles suivant la situation politique locale, le Cameroun, pays le plus stable ou la Côte d'Ivoire. Pour la première mission commune à Olivier Braissant et moi-même, la Côte d'Ivoire fut choisie. Bénéficiant du support logistique du Centre Suisse de Recherche Scientifique à Abidjan et de contacts à l'Université de Cocody, cette mission qui se voulait être une mission d'exploration, pour une suivante plus approfondie. 6 mois après notre retour, la guerre civile ne permettrait plus de retour en Côte d'Ivoire. Le deuxième site initialement prévu, le Cameroun, dans la province du Noun fut donc retenu pour la deuxième mission commune, Olivier Braissant avait déjà effectué une mission au Sud du Cameroun dans la région de Kribi. Les différents sites relatifs à l'étude du système iroko sont présentés dans la figure (1.2)

2.3.1 Description du site de Côte d'Ivoire

Le site de Biga

Situé dans le centre ouest de la Côte d'Ivoire, près de Daloa, la capitale du cacao de l'ouest ivoirien, le village de Biga est le premier site de étudié dans ce travail. Cette localité a été choisit suite aux travaux de Carozzi (1967) dans un village voisin celui de Zuzua. Le site de Biga (6°39'N, 6°23'W) se situe à 280 m d'altitude dans une zone relativement plate localement marécageuse dans le périmètre 4360 de la Compagnie Ivoirienne du bois. La roche mère est constituée de granites calco-alcalins et de granitoides hétérogènes à biotite, le sol peut être qualifié d'arénitique plus ou moins silteux suivant les horizons. Sur ce site 2 profils ont été levé. Le profil A se situe à 30 cm du tronc soit environ à 1.30 m du centre du tronc, les échantillons y ont été prélevé tous les 5 cm. Le tronc de cet iroko de 2.5 m de diamètre environ étant creux, un deuxième profil (B) a été levé en son centre, avec un échantillonnage tous les 10 cm.

2.3.2 Description des sites du Cameroun

Le site de Mankaré

Dans la province Ouest du Cameroun, dans l'arrondissement de Massangam, le site de Mankaré (5°27'N, 11°03'E) se situe non loin du fleuve Mbam. A une altitude de 620 m, l'iroko étudié s'est développé sur des silts sableux fluviaux. Le site est situé sur une légère

penne (< 5°), et l'iroko avait un diamètre d'environ 2.20 m et son tronc était creux. Quatre profils nommés de A à D ont été levés, le profil A tout au centre avec une profondeur de 1.25 m, le profil B éloigné de A de 0.5 m est profond de 1.05 m, il est considéré comme sous le tronc creux. Le profil C, situé à côté du tronc, à 1.3 m de A est profond de 0.9 m, enfin le profil D, situé à 4.1 m de A est profond de 0.6 m. Un échantillonnage tous les 5 cm a été pratiqué dans les profils A et B tandis que les profils C et D sont prélevés tous les 10 cm.

Le site de Machatoum

Dans la province Ouest du Cameroun, dans l'arrondissement de Massangam, le site de Machatoum (5°27'N, 11°03'E) se situe à 770 m d'altitude. L'iroko étudié (2.3 m de diamètre), s'est développé dans des sols très argileux, il se situe sur une petite rupture de pente n'excédant pas les 15°. Trois profils ont été levés et nommés E, F et G. Le profil E contre le tronc de l'iroko est profond de 0.8 m, le profil F, éloigné de 0.5 m du E, est également profond de 0.8 m. Enfin, le profil G a été levé à 2.5 m du E et a une profondeur de 0.9 m. Les trois profils situés juste dans la rupture de pente formaient un transect parallèle à celle-ci. Dans chaque profil, les échantillons ont été prélevés tous les 10 cm.

2.4 Le site d'étude du désert de Tabernas

Situé dans le Sud de l'Espagne non loin de la ville d'Almería (Fig. 1.3), le site d'étude (37°13'N, 2°16'W) se situe dans le désert de Tabernas près de la localité de Tahal. Sur le site, à environ 1000 m d'altitude, les opuntias couvrent une surface de plus de deux hectares sur une pente d'une quinzaine de degrés. Il s'agit d'un ancien lieu d'habitation, les opuntias y sont souvent plantés pour faire office de clôture aussi bien que par coutume, les opuntias étant consommés lors d'une fête dans le sud de l'Espagne. Cinq profils de 0.35 m de profondeur ont été réalisés à 0, 0.15, 0.3, 0.6 et 0.9 m d'un *Opuntia* haut de 1 m. Le transect ainsi formé était disposé perpendiculairement à la pente. Dans chaque profil, les échantillons ont été prélevés tous les 5 cm.

**Les propriétés intrinsèques
des sols, leur influence
sur l'écosystème
iroko et l'impact de la
transformation oxalate-
carbonate**

Chapitre 3 Les propriétés intrinsèques des sols, leur influence sur l'écosystème iroko et l'impact de la transformation oxalate-carbonate

Pour comprendre l'écosystème iroko, une approche pluridisciplinaire a été entreprise. Ainsi l'aspect "microbiologique" du système est traité dans la thèse d'Olivier Braissant via l'étude de la transformation oxalate-carbonate déjà suspectée dans un autre contexte par Verrecchia (1990). L'impact de l'iroko sur son milieu a été "quantifié". L'hypothèse du "moteur" de cette calcitisation à savoir le cycle oxalate-carbonate doit être confrontée à une revue des différents paramètres du sol dont le pH, les teneurs en acide oxalique, en calcaire total, et en carbone pyrolysable. Si des essais de quantification du puits de carbone représenté par l'iroko ont été entrepris (Cailleau et al., 2004) les différences observées sur le terrain, suite à la deuxième campagne au Cameroun, rendent cette étude primordiale.

L'impact de l'iroko sur son milieu est étudié à l'aide d'une comparaison entre des sols sous l'influence de l'iroko et des sols proches, supposés hors de leur influence. Ensuite, des paramètres intrinsèques, comme la granulométrie du sol et la minéralogie des argiles, sont mesurés ainsi que des paramètres contraints par l'écosystème iroko comme le pH ou la quantité d'acide oxalique. Cette étude a pour objectif de comprendre quelles sont les caractéristiques pouvant influencer l'importance de l'accumulation de carbonate dans les sols et ainsi pouvoir relativiser la validité des essais de quantification qui seront entrepris dans le chapitre *Essai de quantification du puits de carbone "iroko"*.

3.1 Résultats

3.1.1 L'influence de l'iroko sur le pH

Dans un premier temps, pour déterminer l'influence de l'iroko sur le pH du sol, la méthode d'échantillonnage suivante a été appliquée. Sur chaque site camerounais (11) où un iroko a été trouvé, un échantillon a été prélevé au pied de ce dernier, ainsi qu'à une quinzaine de mètres de l'arbre. On peut estimer que celui-ci est hors de l'influence de l'iroko. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure (3.1). Le pH du sol sous l'influence d'un iroko varie de 6.26 à 10.2 tandis que sa moyenne est égale à 7.66 ± 1.26 . Hors de l'influence d'un iroko, le pH dans le sol varie de 5.59 à 7.03, avec une moyenne de 6.17 ± 0.49 . Hormis le site de l'échantillon Mas 11, l'ensemble des échantillons ont été prélevés sous des irokos d'au moins 1 m de diamètre à 1 m du sol. L'iroko du site où Mas 11 a été prélevé ne faisait pas plus de 0.7 m de diamètre.

Under an iroko		At a distance from an iroko	
Sample n°	pH	Sample n°	pH
mas 11	6.26	mas 12	5.62
mas 14	8.18	mas 15	5.96
mas 22	9.61	mas 23	5.59
mas 24	7.69	mas 26	7.03
mas 27	7.83	mas 28	6.72
mas 29	6.80	mas 30	6.54
mas 31	6.87	mas 32	5.92
mas 143	6.78	mas 144	6.49
mas 148	6.56	mas 149	5.97
mas 117	7.52	mas 140	6.41
mas 16	10.20	mas 17	5.64

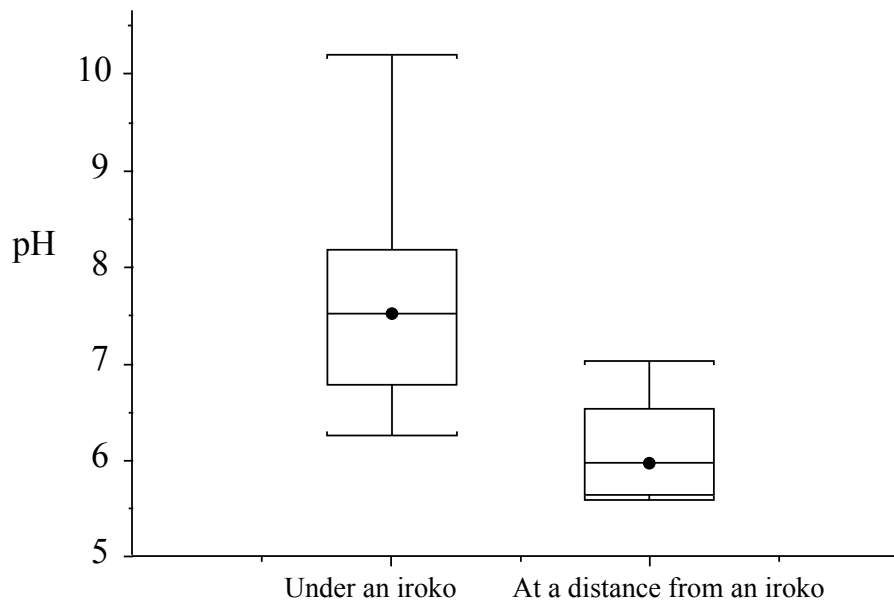


Fig. 3.1 : Tableau des valeurs obtenues pour le $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ des échantillons sous l'influence d'un iroko et hors de cette influence. Les *box plots* des deux distributions présentées dans le tableau montrent qu'elles sont nettement différentes.

Table of $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ obtained for samples under and outside of the influence of an iroko. Box plots of the two distributions presented in the table showing that they are clearly different.

3.1.2 L'influence de l'iroko sur la teneur en acide oxalique du sol

La même étude a été menée pour l'influence de l'iroko sur la teneur en oxalate (dosée ici sous la forme acide oxalique) dans le sol. Les mêmes sites que ceux précédemment utilisés pour le pH (11 sites) sont pris en compte. Les résultats sont présentés dans la figure (3.2). La teneur en acide oxalique sous l'influence d'un iroko varie de 8.5 à 122.7 mg/kg, avec une moyenne de 42.8 ± 36.2 mg/kg. Hors de l'influence d'un iroko, la teneur en acide oxalique dans le sol varie de 4.6 à 30.8 mg/kg, avec une moyenne de 14.9 ± 8.3 mg/kg.

Under an iroko		At a distance from an iroko	
Sample n°	Oxalic acid content (in mg/kg)	Sample n°	Oxalic acid content (in mg/kg)
mas 11	11.9	mas 12	19.7
mas 14	29.5	mas 15	11.6
mas 22	72.2	mas 23	11.2
mas 24	122.7	mas 26	7.1
mas 27	86.8	mas 28	15.0
mas 29	14.2	mas 30	10.4
mas 31	41.4	mas 32	18.5
mas 143	35.0	mas 144	30.8
mas 148	19.7	mas 149	26.7
mas 117	8.5	mas 140	8.5
mas 16	28.6	mas 17	4.6

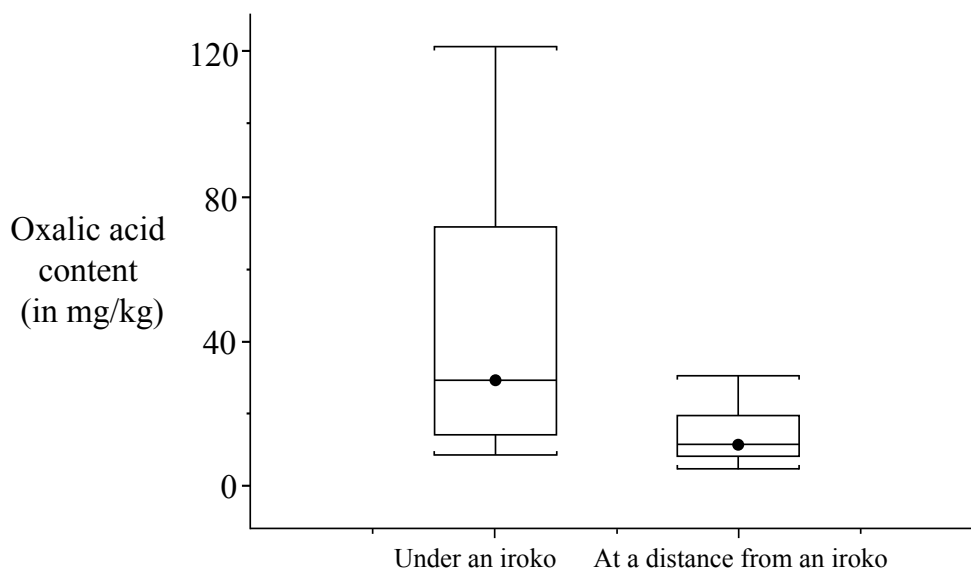


Fig. 3.2 : Tableau des valeurs mesurées pour la teneur en acide oxalique des échantillons sous l'influence d'un iroko et hors de cette influence. Les *box plots* des deux distributions présentées dans le tableau précédent montrent qu'elles sont nettement différentes.

Table of oxalic acid content measured for samples under and outside the influence of an iroko. Box plots of the two distributions presented in the table showing that they are clearly different.

3.2 Comparaison de trois sites différents : Biga (Côte d'Ivoire), Mankaré et Machatoum (Cameroun)

Sur ces trois sites, des mesure de la distribution granulométrique (texture), du type d'argile présente, du pH, de la teneur en calcium, en carbonate ainsi qu'en oxalate ont été menées. Elles vont permettre de comprendre le comportement des différents sites et si certains paramètres peuvent expliquer la variabilité des teneurs constatées en carbonate suite à la campagne de terrain au Cameroun.

3.2.1 La granulométrie

Elle a été réalisée sur 4 échantillons pour chaque profil. Pour pouvoir les comparer, ils ont été choisis à des profondeurs identiques (-0.1 m, -0.3 m, -0.6 m et -0.9 m), ce qui a été possible du fait que les profils avaient des profondeurs relativement comparables. Les profils utilisés ici sont tous à côté du tronc de l'iroko (profil A pour Biga ; profil C pour Mankaré ; profil G pour Machatoum). La synthèse des résultats est compilée dans la figure (3.3) et schématisée dans la figure (3.4). Une très nette ségrégation entre les trois différents sites est observée : la texture du site de Machatoum peut être qualifiée d'argileuse à argilo-silteuse, celle du site de Mankaré de silto-sableuse à sablo-silto-argileuse, et enfin celle du site de Biga de sablo-silteuse à sableuse. On constate donc qu'il y a une tendance nette à un enrichissement en fraction grossière depuis le pôle argileux que représente Machatoum vers un pôle plus sableux (grossier > 63 μm) représenté par Biga. L'analyse en diffraction X de la fraction argileuse montre que l'on est systématiquement en présence de kaolinite et d'illite-montmorillonite (Fig. 3.5).

Machatoum		Clay	Silt	Coarse
Sample n°	depth in cm	%	%	%
mas 139	10	85.22	0.15	14.64
mas 137	30	86.43	0.00	13.57
mas 134	60	63.35	26.46	10.20
mas 131	90	38.53	48.71	12.71
Mankaré		Clay	Silt	Coarse
Sample n°	depth in cm	%	%	%
mas 94	10	12.27	54.05	33.69
mas 92	30	7.37	57.40	35.24
mas 89	60	37.55	25.67	36.78
mas 86	90	12.90	53.76	33.35
Biga		Clay	Silt	Coarse
Sample n°	depth in cm	%	%	%
cic 38-39	10	8.17	45.82	46.01
cic 42-43	30	12.45	37.28	50.27
cic 49	60	7.50	16.84	75.66
cic 55	90	10.70	31.69	57.62

Fig. 3.3 : Tableau de synthèse des résultats de l'étude granulométrique entreprise sur les 3 sites de Biga, Mankaré et Machatoum. Les valeurs sont en pourcentage massique par classe granulométrique (argile < 2 μm ; 2 μm < silt < 63 μm ; élément grossier > 63 μm).

Synthetic table of the granulometric study performed for the 3 sites of Biga, Mankaré and Machatoum. The values are percentage weight of each granulometric class (clay < 2 μm ; 2 μm < silt < 63 μm ; coarse > 63 μm).

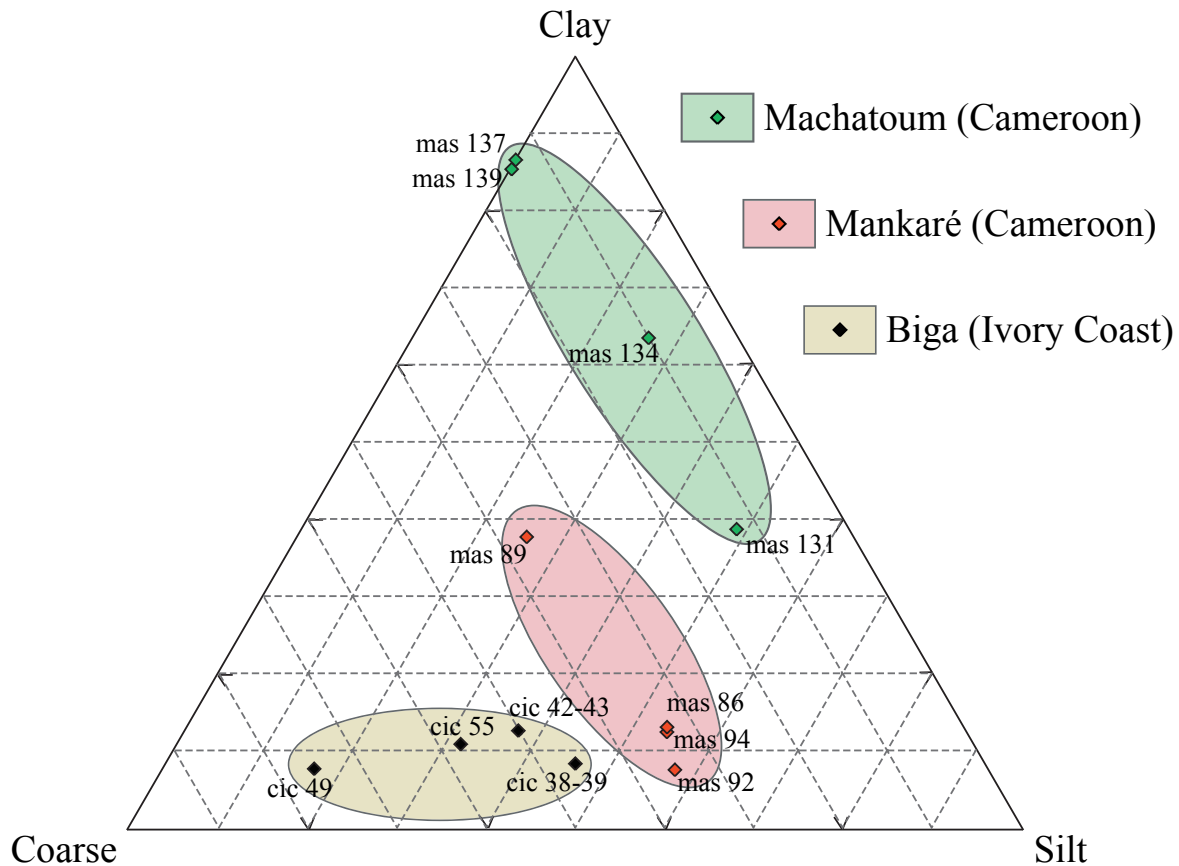


Fig. 3.4: Diagramme ternaire de la distribution des classes granulométriques présentes dans les différents profils. Il y a une très nette ségrégation entre les trois sites et une tendance à l'augmentation de la fraction grossière depuis le pôle le plus pauvre (Machatoum) vers le pôle plus riche (Biga).

Ternary diagram of granulometric class distribution present in the 3 profiles. There is a clear segregation between the three sites and a trend of a coarse content increase from the poor pole (Machatoum) to the rich pole (Biga).

3.2.2 Distribution du pH autour de l'iroko

Nous l'avons vu précédemment, le pH sous les irokos est totalement différent de celui des sols avoisinant, hors de l'influence de l'arbre. Sur les trois sites pris en compte ici, ceux du Cameroun (Mankaré et Machatoum) ont été échantillonnés en vue de cartographier diverses caractéristiques des sols. Le site ivoirien de Biga ne compte lui que deux profils, mais il sert néanmoins de point de comparaison. Des valeurs très hautes (pouvant dépasser 10,2) ont été mesurées dans les profils de sol sous les troncs généralement creux. La valeur moyenne la plus basse pour un profil sous un tronc est de 7.6 pour le site de Machatoum, tandis que la valeur moyenne haute est de 10.11 pour le site de Mankaré (9.17 pour Biga). Les cartes de distribution du pH sont données dans la figure (3.6). On peut noter que sur les sites de Mankaré et de Biga, les pH sont plus élevés qu'à Machatoum, aussi bien en moyenne qu'en valeurs extrêmes. Par exemple, à 1.5 m du centre de l'iroko, la différence de pH est au minimum d'une unité pH (2 unités entre Biga et Machatoum). En résumé, il y a un gradient de pH entre les trois sites, le plus acide étant celui de Machatoum ; si Mankaré montre des valeurs ponctuelles les plus élevées dans le profil sous le tronc creux, celui de Biga montre une étendue latérale plus importante de ses fortes valeurs, le profil à côté du tronc étant moins acide (environ d'une unité pH) que son homologue de Mankaré.

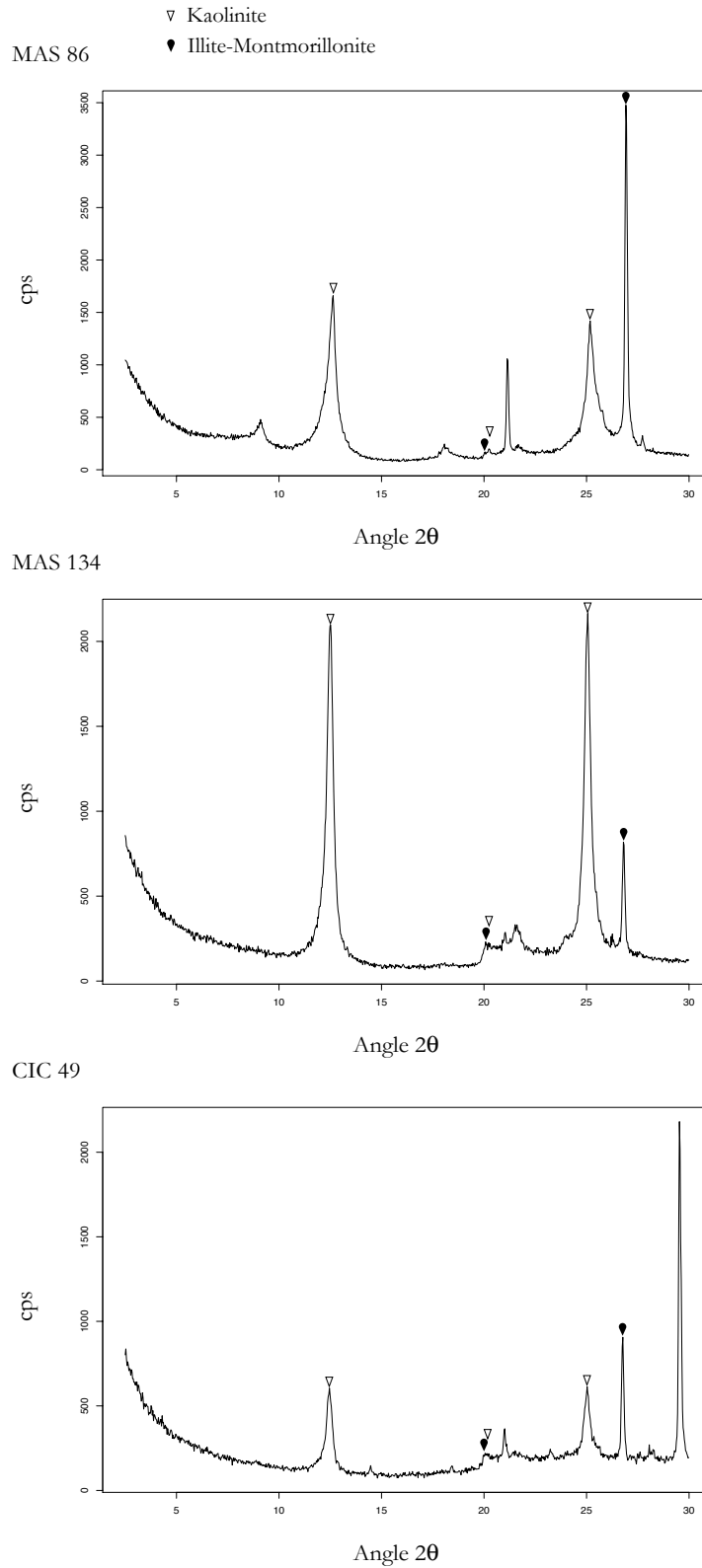


Fig. 3.5: Spectres des diffractions X sur la fraction argileuse obtenue lors de l'analyse granulométrique. Le site de Mankaré est représenté par l'échantillon MAS 86, celui de Machatoum est représenté par l'échantillon MAS 134, enfin le site de Biga par l'échantillon CIC 49. La kaolinite et l'illite-montmorillonite sont les seules argiles détectées.

X-ray diffraction spectrums of the clay fraction obtained from the granulometric analysis. MAS 86 comes from Mankaré site, MAS 134 comes from Machatoum site, and CIC 49 comes from Biga site. Kaolinite and illite-montmorillonite are the only clays detected.

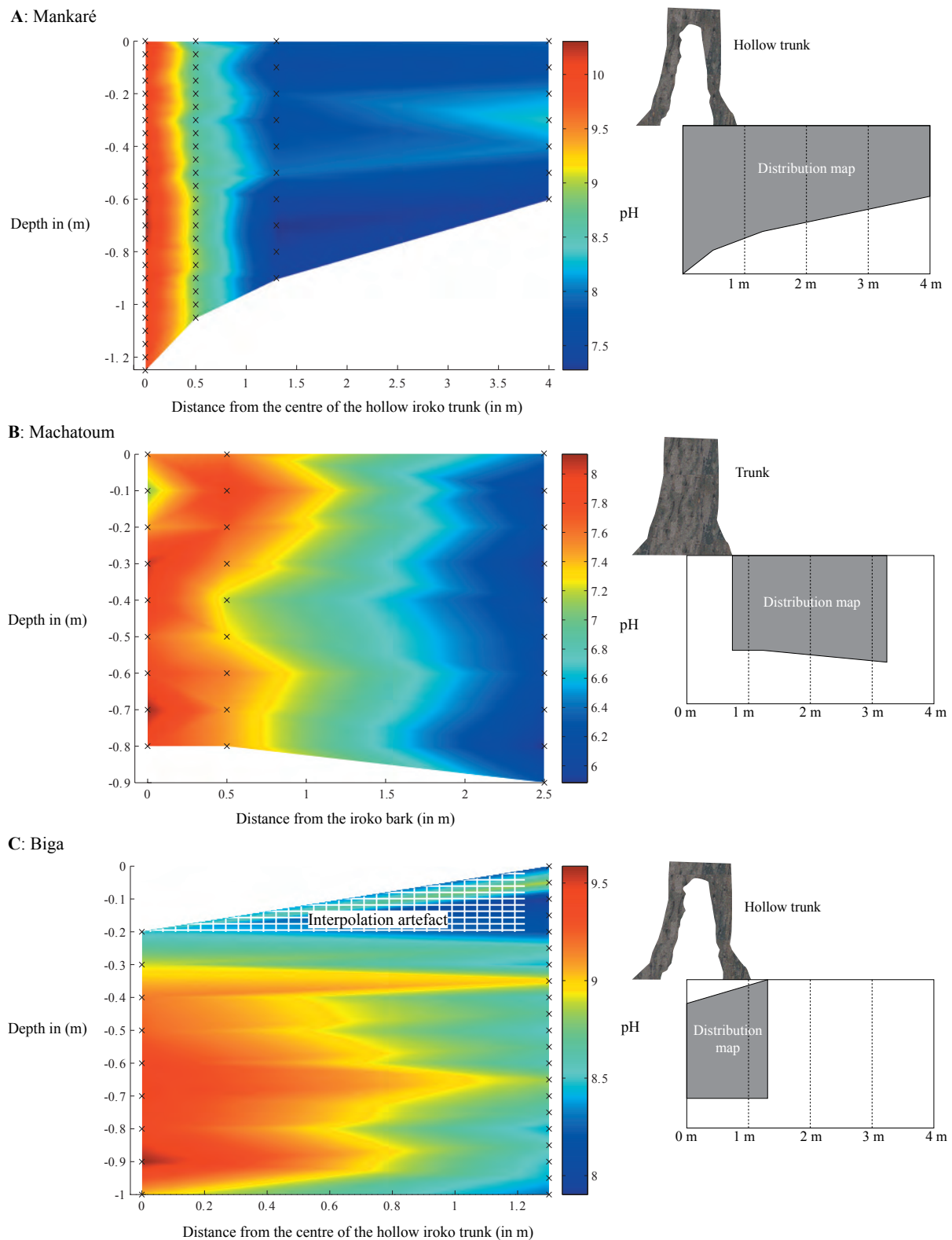


Fig. 3.6 : Cartes de distribution des pH pour les sites de Mankaré (A), de Machatoum (B) et Biga (C). A : Sur le site de Mankaré, une très nette ségrégation des pH est observée, avec des pH supérieurs à 8.4 (pH de stabilité de la calcite en conditions normales de température et de pression) sous le tronc creux. B : Sur le site de Machatoum, on ne mesure pas de pH supérieur à 8.4, néanmoins les pH les plus élevés sont observés proche du tronc. C : Sur le site de Biga, le pH est quasi systématiquement supérieur à pH 8.4, mais il est plus élevé sous le tronc creux de l'iroko.

Distribution map of pH for the sites of Mankaré (A), Machatoum (B), and Biga (C). A : At Mankaré

3.2.3 Distribution de la teneur en carbonate dans le sol autour de l'iroko

En l'absence de détection de carbonate sur le terrain ainsi que de valeurs relativement basses du pH sur le site de Machatoum, ce dernier n'a pas fait l'objet de dosage exhaustif de tous les échantillons pour la recherche de carbonate. On ne prendra en compte que les valeurs pour le site de Mankaré et de Biga. La carte de distribution de la teneur en carbonate dans ces deux sites est donnée dans la figure (3.7). Les carbonates sont préférentiellement présents dans les profils sous le tronc creux où des teneurs supérieures à 60 % ont été relevées. Le site de Biga est quant à lui le seul à posséder des teneurs relativement importantes en carbonate (supérieures à 10 %) hors des profils sous les troncs. L'absence de profil plus éloigné du tronc laisse une incertitude quant à la teneur en carbonate ; néanmoins des tests à l'acide chlorhydrique très réactif à plus de 3 m de l'écorce du tronc trahissent sa présence latérale en assez forte concentration. On peut donc définir un gradient de teneur en carbonate avec Machatoum comme site le plus pauvre en carbonate, Mankaré et enfin Biga étant les plus riches en carbonate. Ces deux derniers sites présentent globalement des profils très semblables sous le tronc.

3.2.4 Distribution de la teneur en carbone pyrolysable dans le sol autour de l'iroko

Le carbone pyrolysable (PC) est représentatif de la matière organique présente dans le sol. Il diffère légèrement du TOC (Carbone Organique Total qui est légèrement plus important). Suite à l'absence de carbonate sur le site de Machatoum, de nouveau, seuls les sites de Mankaré et Biga sont étudiés de manière approfondie. Une carte de la distribution du PC a été établie (Fig. 3.8) pour chacun de ces sites. Une teneur assez forte (0.7 % à Mankaré pour une moyenne de 0.2 % et 1.0 % à Biga pour une moyenne de 0.2 %) semble systématiquement présente au pied de l'iroko et semble coïncider avec la présence d'une forte desquamation de l'écorce de l'iroko. Sous le tronc creux, une teneur moyenne comprise entre 0.3 % et 0.55 % est observée dans les deux sites, celui de Mankaré ayant des valeurs légèrement supérieures à celles de Biga.

3.2.5 Distribution de la teneur en acide oxalique dans le sol autour de l'iroko

La distribution de la teneur en acide oxalique que l'on a mesurée sur les trois sites de Mankaré, Machatoum, et Biga est assez variable suivant les sites (Fig. 3.9). Le site de Machatoum montre une ségrégation pour la teneur en acide oxalique, à une profondeur de plus de 10 cm ; aucune mesure ne dépasse 15 mg/kg tandis que localement on atteint (sur un seul point, il faut le noter) les 175 mg/kg. Ce point n'est distant que de 50 cm de l'écorce de l'arbre. Sur le site de Mankaré, l'acide oxalique est présent sous le tronc préférentiellement et

site, a clear segregation of pH is observed, pH higher than 8.4 (stability pH for calcite in the normal condition or temperature and pressure) are present below the hollow trunk. B : At Machatoum site, pH never reaches 8.4, nevertheless, the highest pH are measured near the trunk. C : At Biga site, the pH is almost systematically higher than 8.4, and the highest are observed below the hollow trunk.

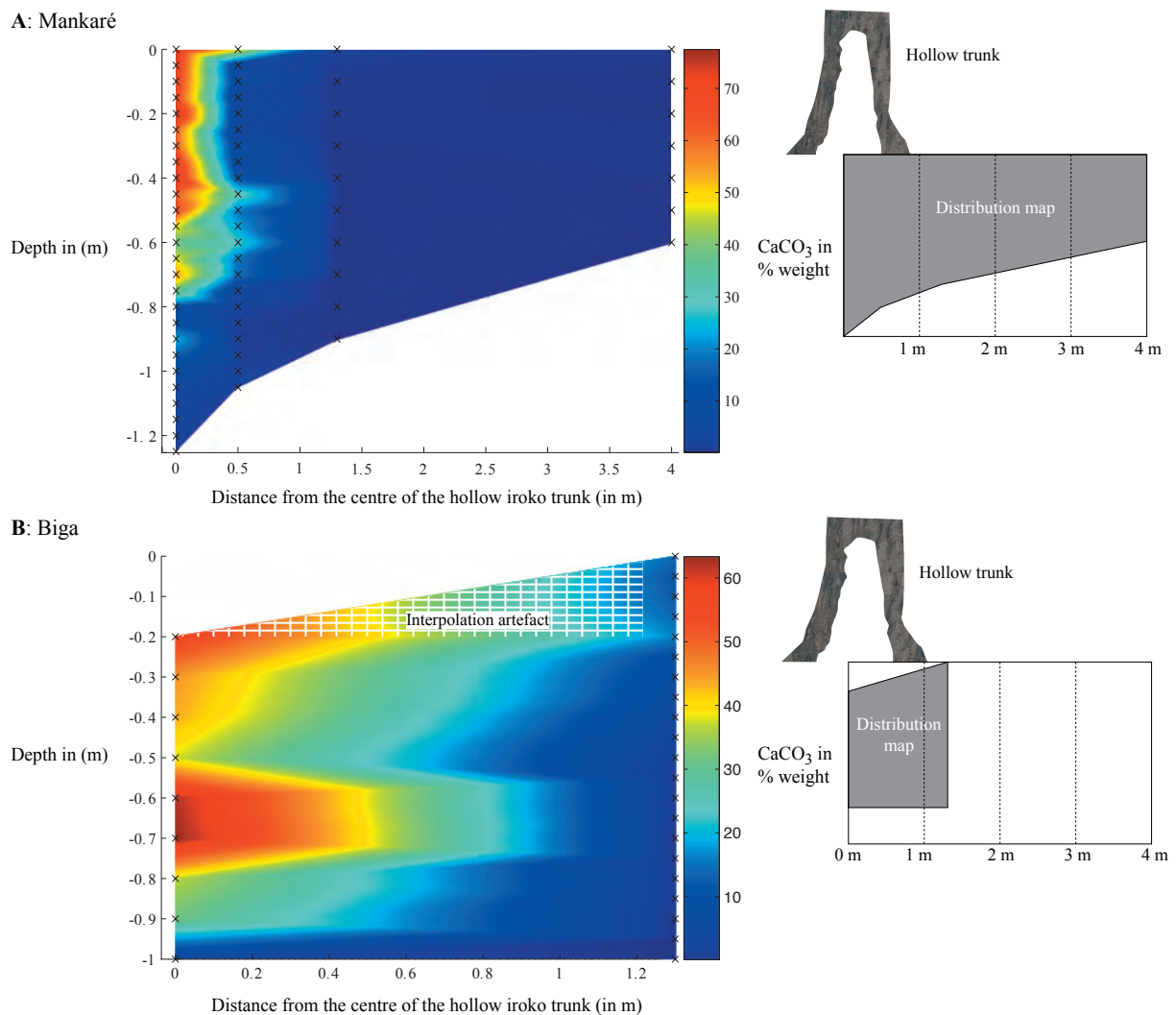


Fig. 3.7 : Cartographie de la teneur en carbonate dans les profils des sols du site de Mankaré (A) et Biga (B). On voit très nettement que les carbonates sont présents sous l'iroko et principalement sous le tronc attaqué par des termites (c'est le cas pour les deux sites). Ceci a déjà été mentionné par Cailleau et al. (2005) pour le site de Biga.

Maps of the carbonate content in the soil profile at the Mankaré (A) and Biga (B) sites. It is clear that the carbonates are principally present under the trunks of the two sites, which are attacked by termites. At the site of Biga, this fact has already been described by Cailleau et al. (2005).

de manière relativement irrégulière sur la verticale. A l'inverse, sur le site de Biga, on observe les valeurs les plus basses dans le profil sous le tronc ; c'est dans la partie supérieure que les valeurs maximales comprises entre 15 et 30 mg/kg sont observées. Dans le profil à 30 cm du tronc, les valeurs sont beaucoup plus élevées ; on dépasse à de nombreuses reprises les 100 mg/kg. Encore une fois, la distribution est relativement irrégulière sur la verticale. On constate donc une grande disparité dans la distribution de l'acide oxalique dans les sols de ces trois sites, ce qui constitue en première approximation une information importante si l'on considère que c'est le moteur de l'écosystème iroko.

3.2.6 Comparaison entre divers paramètres sur un même profil

Pour comprendre le comportement de diverses variables, pH, teneur en acide oxalique, teneur en calcaire total, ainsi que la teneur en carbone pyrolysable dans le sol, ces données

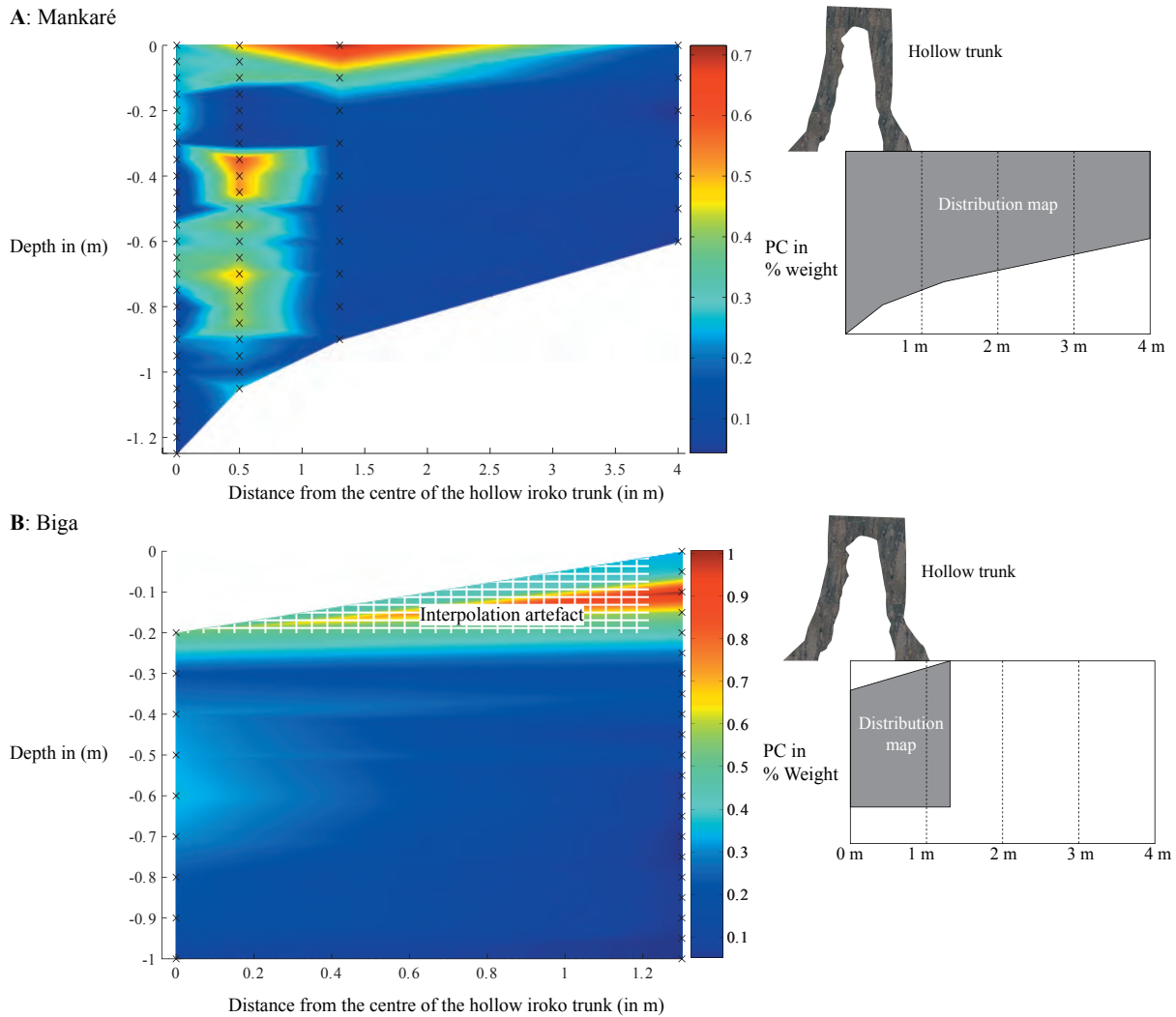


Fig. 3.8 : Cartes de distribution de la teneur en carbone pyrolysable (en % massique) dans les profils des sols du site de Mankaré (A) et Biga (B). A : On voit très nettement l'incorporation lente de la matière organique sous la litière (à une profondeur comprise entre 0 cm et 20 cm) mais spécialement au pied du tronc là où les produits de la desquamation de l'écorce sont présents. On note également sa teneur relativement forte sous le tronc de l'iroko attaqué par des termites. B : Un raisonnement similaire est applicable pour le site de Biga, hormis le fait que sous le tronc, la teneur en matière organique est légèrement plus faible que sur le site de Mankaré.

Distribution map of the pyrolysable carbon content (in % weight) in the soil profiles at the Mankaré (A) and Biga (B) sites. A : The incorporation of the organic matter from the litter is clearly visible (from a depth of 0 cm to 20 cm), but particularly close to the flake-off bark deposits. Note the relatively high PC content below the iroko trunk under termite attack. B : The same interpretation can be made for the Biga site, but under the hollow trunk, organic matter content is slightly lower than at the Mankaré site.

sont comparées sur un même profil (Fig. 3.10). Le choix du profil à étudier s'est porté sur le profil A de Biga car c'est le seul profil où l'on trouve des carbonates, qui ne soit pas sous le tronc d'un iroko, et donc saturé par les carbonates.

L'oxalate de calcium semble provenir préférentiellement de l'iroko (Fig. 3.2) ; on peut faire l'hypothèse fort probable que ce dernier en est l'unique source, l'apport fongique n'étant pas quantifiable. Le carbone pyrolysable quant à lui permet de déterminer la teneur en matière organique présente (incorporée) dans le sol exception faite de géopolymères. Le pH

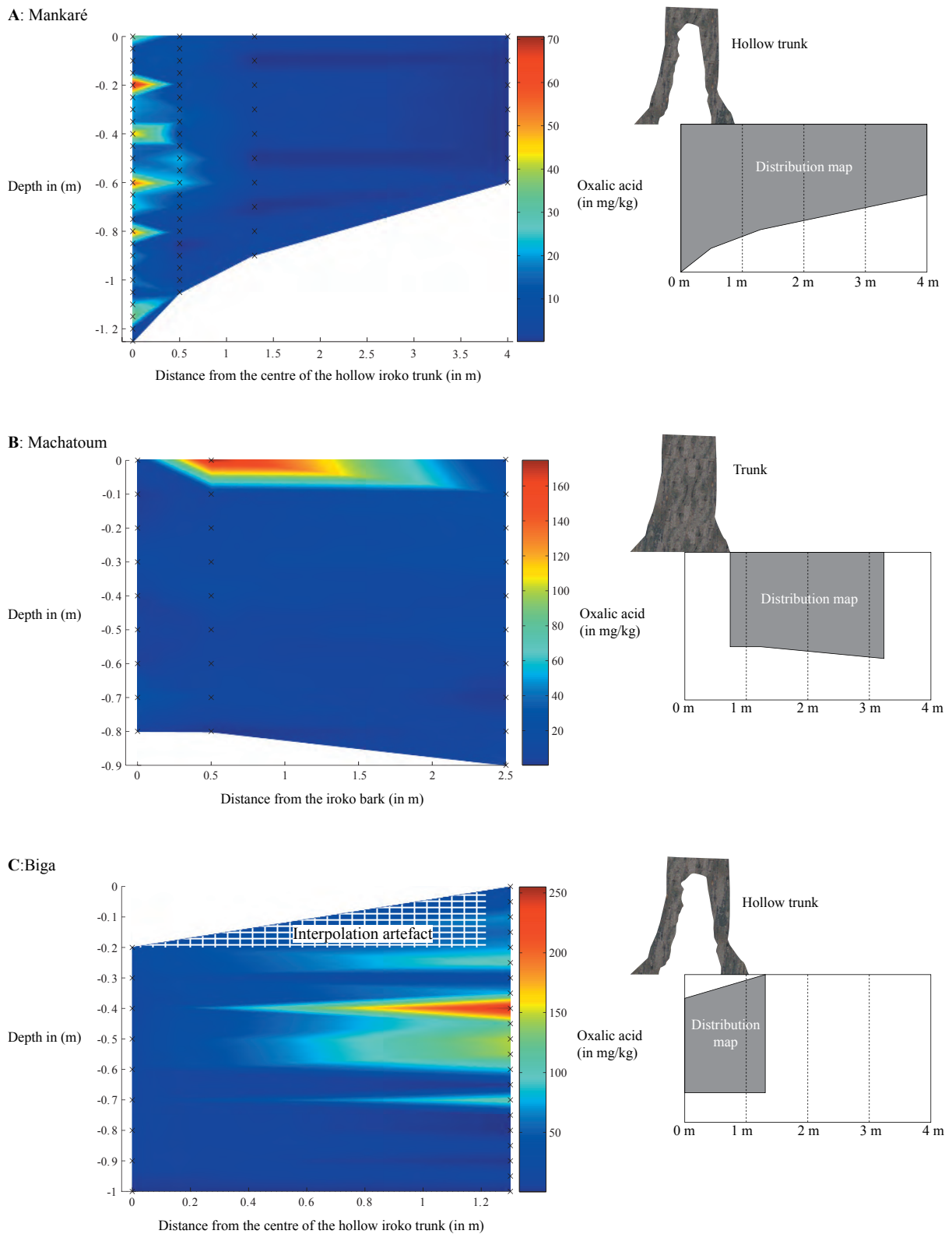


Fig. 3.9 : Cartes de distribution de la teneur en acide oxalique pour les sites de Mankaré (A), de Machatoum (B), et Biga (C). A : L'acide oxalique est principalement présent sous le tronc creux (représenté par les deux premiers profils à 0 et 0.5 m du centre du tronc). Sa répartition verticale est assez irrégulière dans le profil en 0 m. Les profils prélevés à côté ou loin du tronc ne présentent quasiment plus d'acide oxalique. B : Sur le site de Machatoum l'acide oxalique n'est mesuré que dans les 10 premiers centimètres de profondeur (dans un point principalement). C : Le site de Biga présente la plus forte teneur en acide oxalique dans le profil à côté de l'arbre. Mais celle-ci est irrégulière suivant la verticale. Dans le profil sous le tronc creux, on mesure

Depth (in m)	Sample n°	CaCO ₃ in %Weight	PC [%]	pH	Oxalic acid in mg/kg
0.00	CIC 037	13.88	0.33	8.20	25.0
-0.05	CIC 038	11.63	0.38	8.87	32.2
-0.10	CIC 039	12.26	1.01	7.90	68.4
-0.15	CIC 040	13.88	0.58	8.16	54.7
-0.20	CIC 041	16.51	0.43	8.20	71.0
-0.25	CIC 042	9.37	0.29	8.60	105.2
-0.30	CIC 043	7.63	0.18	8.45	23.0
-0.35	CIC 044	6.87	0.21	8.99	78.7
-0.40	CIC 045	4.01	0.17	8.57	255.4
-0.45	CIC 047	2.50	0.07	8.66	116.0
-0.50	CIC 046	1.14	0.12	8.54	147.1
-0.55	CIC 048	0.75	0.06	8.66	142.5
-0.60	CIC 049	0.25	0.06	8.58	82.7
-0.65	CIC 051	0.50	0.06	8.84	0.0
-0.70	CIC 050	0.00	0.05	8.72	109.3
-0.75	CIC 052	0.50	0.05	8.61	0.0
-0.80	CIC 053	0.62	0.06	8.44	0.0
-0.85	CIC 054	0.75	0.06	8.57	8.3
-0.90	CIC 055	0.00	0.06	8.48	0.9
-0.95	CIC 056	0.12	0.05	8.44	9.2
-1.00	CIC 057	0.00	0.05	8.30	0.0

Fig. 3.10: Tableau de synthèse des diverses données mesurées dans le profil A du site de Biga. La teneur en carbonate est donnée en pourcentage massique; PC [%] est la teneur en carbone pyrolysable (différent du TOC) en pourcentage massique ; pH est le pH_{H_2O} ; la teneur en acide oxalique est exprimée mg par kg d'échantillon sec.

Synthetic table of various parameters measured in the A profile at the Biga site. Carbonate content is given in % weight; PC [%] is the pyrolysable carbon content (different from TOC) in % weight ; pH is the pH_{H_2O} ; the oxalic acid content is given in mg per kg of dry sample.

est une des résultantes de la présence de l'arbre (Fig. 3.1 ; Fig. 3.6), les pH avoisinants étant beaucoup plus acides. Il en est de même pour les carbonates au regard du site de Mankaré où ils sont absents des profils à côté de l'arbre.

On constate que la teneur en CaCO₃ est fortement corrélée ($r=0.81$) avec le carbone pyrolysable (Fig. 3.11). L'allure générale des courbes du carbone pyrolysable et de la teneur en carbonate est relativement similaire (Fig. 3.12) si ce n'est que la courbe représentant la matière organique est décalée de 10 cm vers la surface par rapport à celle de la teneur en CaCO₃. Le calcul de la corrélation en tenant compte de ce décalage pour le carbone pyrolysable donne un $r=0.89$.

une petite concentration l'acide oxalique dans les 60 premiers centimètres.

Distribution map of the oxalic acid content for the sites of Mankaré (A), Machatoum (B), and Biga (C). A : The oxalic acid is principally present under the hollow trunk (represented here by the two first profiles at 0 and 0.5 m from the trunk's centre). Its vertical distribution is fairly irregular in the profile at 0 m. Profiles sampled near or far from the trunk contain almost no oxalic acid. B : At Machatoum site oxalic acid is only measured in the first 10 cm of depth (at principally one point). C : At Biga site, the highest oxalic acid content is measured near the trunk. But vertically, oxalic acid content is irregular. In the profile below the hollow trunk, in the first 60 cm, a low oxalic acid content is measured.

3.3 Discussion

La présence de carbonate dans les sols de Côte d'Ivoire est connue depuis Carozzi (1967). Néanmoins, il est connu que les sols de Côte d'Ivoire développés sur des granites calco-

	% CaCO ₃	PC [%]	pH	oxalic acid mg / kg
% CaCO ₃	1			
PC [%]	0.80511218	1		
pH	-0.44770667	-0.61728909	1	
oxalic acid mg / kg	0.03662525	0.05705549	0.14464917	1

Fig. 3.11: Matrice de corrélation entre la teneur en carbonate de calcium (%CaCO₃), le carbone pyrolysable (PC [%]), le pH et l'acide oxalique (mg/kg) présents dans le sol.

Correlation matrix of carbonate content (%CaCO₃), pH, and oxalic acid (mg/kg) in the soil.

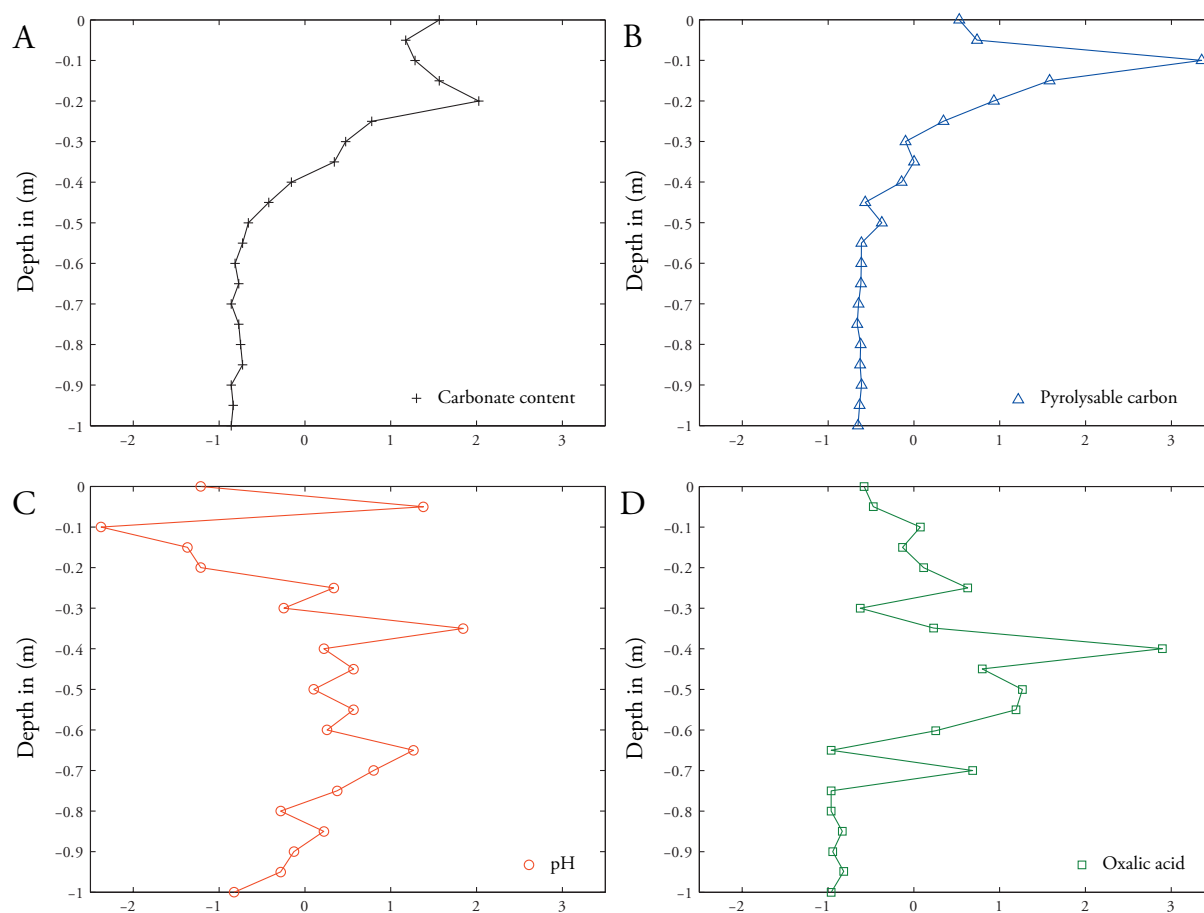


Fig. 3.12 : Graphique des données centrées réduites des 4 différents paramètres mesurés sur les principaux profils étudiés, ici le profil A du site de Biga. A: La teneur en carbonate; B: La teneur en carbone pyrolysable; C: Le pH; D: La teneur en acide oxalique.

Graph of standardized data showing the 4 parameters measured in the principal profiles studied, here the A profile of the Biga site. A: Carbonate content; B: Pyrolysable carbon content; C: pH; D: Oxalic acid content.

alcalins présentent des pH compris entre 4.3 et 6 (Leneuf, 1959). Or, le pH de stabilité de la calcite est supérieur à 8.4 dans les conditions de T (25°C) et de $p\text{CO}_2$ (3.43×10^{-4} atm.). Les mesures du $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ sur le profil A du site de Biga ont montré des valeurs comprises entre 7.9 et 8.99. En première approximation, il est tentant d'essayer d'expliquer ces pH élevés par l'influence du CaCO_3 présent dans les sols autour des irokos. En effet, le carbonate de calcium alcaliniserait le milieu et induirait les valeurs de pH élevées qui ont été mesurées. Malheureusement, la corrélation entre la teneur en CaCO_3 et le pH est faible et de plus de signe négatif (-0.45).

Quelle est donc l'origine de ce pH alcalin et de ces carbonates ? Le "moteur" qui est invoqué ici est la transformation de l'oxalate en carbonate (Verrecchia, 1990). En effet, l'oxalate consommé par les bactéries oxalotrophes qui ont été identifiées dans les sols d'Afrique (Braissant et al., 2002) est accompagnée expérimentalement par la libération d'ions carbonate et d'ions calcium ainsi que d'une alcalinisation du milieu (Fig. 3.13). Il a été démontré expérimentalement (Braissant et al., 2004) que dans un milieu où le pH était initialement de 7.0, la consommation d'oxalate menait le pH à 9.5 (Fig. 3.14).

Si l'aspect expérimental est établi, qu'en est-il de la réalité du terrain? L'étude comparative de sites sous influence d'irokos et de sites hors de leur influence montre très clairement leur impact que ce soit sur le pH ou sur la teneur en acide oxalique dans le sol (ou plus précisément un mélange entre des sels d'oxalate, par exemple de l'oxalate de calcium et de l'acide oxalique, puisque tout est ici passé en solution et mesuré). Le pH dans un sol sous iroko est par exemple, en moyenne, plus alcalin de l'ordre de 1.5 unités pH que celui d'un

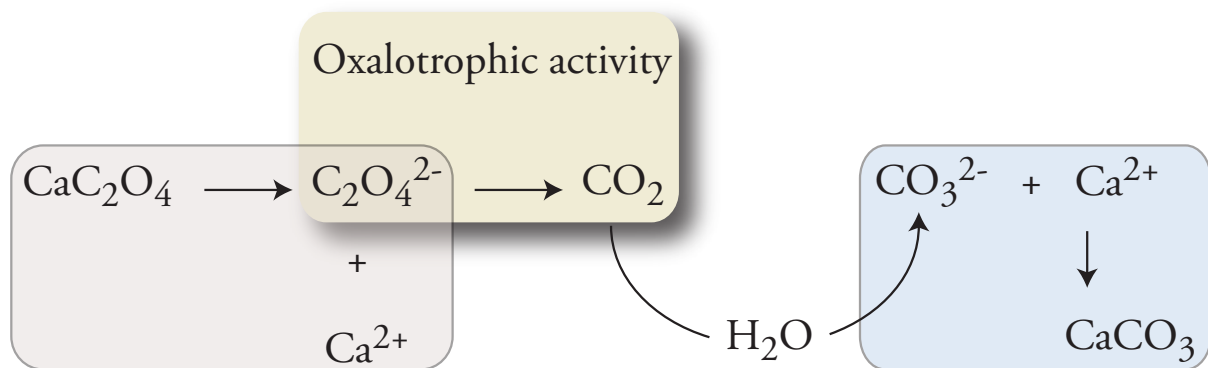


Fig. 3.13 : Voie métabolique simplifiée de la transformation de l'oxalate en carbonate par les bactéries.
Simplified bacterial pathway of oxalate transformation into carbonate.

sol hors de leur influence. De même, sous iroko, on mesure en moyenne approximativement trois fois plus d'acide oxalique que dans un sol "normal".

Malgré tout, une grande disparité est observée quant à l'impact de l'écosystème iroko sur le sol dans les trois sites (Mankaré, Machatoum et Biga) et cela quel que soit le paramètre pris en compte. Cette variabilité dans les teneurs en carbonate, en acide oxalique, ainsi qu'en carbone pyrolysable dans le sol, n'est pas dépendante de la minéralogie des argiles présentes

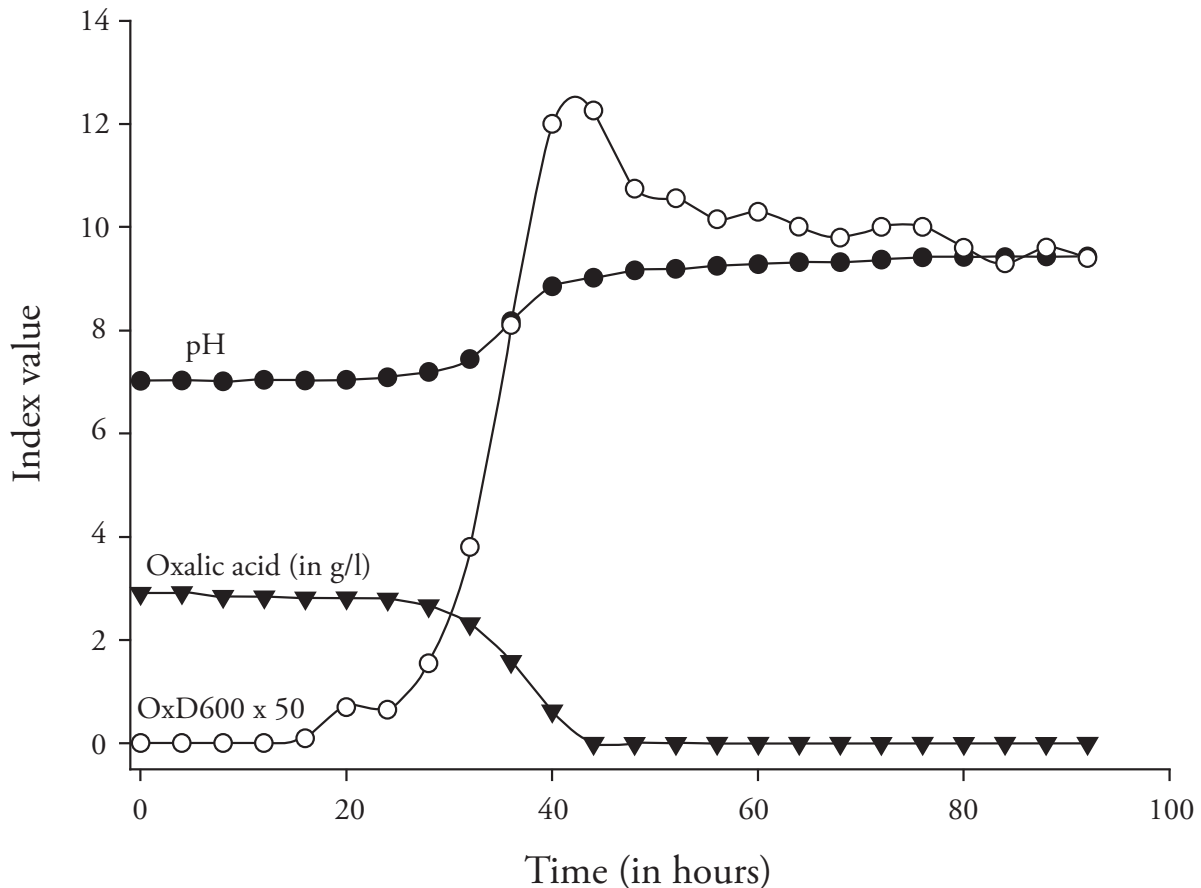


Fig. 3.14 : Evolution de valeurs indiciaires (densité de cellules mesurée par turbidimétrie à 600 nm, pH, et concentration en oxalate en g.L^{-1}) durant la culture de *Ralstonia eutropha* dans le milieu DSM 81 (d'après Braissant et al., 2004).

*Evolution of index values (cell density measured turbidimetrically at 600 nm, pH and oxalate concentration in g.L^{-1}) during the culture of *Ralstonia eutropha* in a DSM 81 liquid medium (from Braissant et al., 2004).*

sur les différents sites, leur nature étant constante. Toutefois, la nature granulométrique des trois sites est différente, Machatoum étant très riche en argile, Mankaré étant plus silteux, Biga pouvant être qualifié de sableux. Cette tendance est à comparer avec la tendance observée relative aux accumulations de carbonate dans ces trois sites, Biga étant le plus riche en carbonate, suivi de Mankaré, puis enfin Machatoum ou des carbonates n'ont été observés que sur le tronc (aucun test à l'acide n'ayant révélé la présence de carbonate dans le sol). Ceci, au regard du système oxalate-carbonate, doit être analysé en prenant en compte les cartes de distribution de l'acide oxalique dans le sol. Un point important est la distribution de l'acide oxalique dans le sol de Machatoum. Il n'est présent qu'en surface (ou quasiment), ceci est assez cohérent avec le fait que l'abondance d'argile agit comme une barrière de perméabilité favorisant l'écoulement. Ceci est d'autant plus vrai que l'iroko du site de Machatoum est situé sur une rupture de pente favorisant l'écoulement latéral. On peut avancer que ce contexte particulier n'a pas favorisé l'accumulation de carbonate ; néanmoins le système fonctionne tout de même au regard de la distribution du pH dans le sol.

La consommation de l'oxalate par les bactéries oxalotrophes doit donc bien prendre place dans les premiers centimètres du sol, mais son impact n'est pas favorisé par le contexte géomorphologique local. Finalement, le site de Biga, où l'on observe la plus grande quantité

de carbonates est un sol sans pente, n'induisant que peu de lessivage ; il est relativement pauvre en argile ce qui implique une absence de barrière de perméabilité. Enfin le tronc subissait une attaque de termites, le tronc étant creux. Comme nous le verrons dans le chapitre "*la biominéralisation de l'iroko*", une attaque de termite favorise la libération de l'oxalate de calcium présent dans les tissus du bois vers le sol pour qu'il soit ensuite consommé par les bactéries oxalotrophes.

L'étude comparative des divers paramètres du sol menée sur le profil A de Biga montre une relation très nette entre la teneur en carbone pyrolysable et la teneur en CaCO_3 . Le carbone pyrolysable est une bonne image du flux de matière organique provenant de l'iroko et s'incorporant dans le sol. Il est donc également une bonne image de l'incorporation de l'acide oxalique (porté par les tissus du bois ou sécrétions) dans le sol. Ceci semble au premier abord contradictoire au regard de la très faible corrélation (0.06) observée entre la teneur en carbone pyrolysable et la teneur en acide oxalique. Mais nous parlons en termes de flux et non pas en termes de réservoir (ce que nous avons mesuré) car ce dernier est en partie "consommé". Il est connu que l'oxalate est consommé dans les premiers horizons du sol (van Hees et al., 2002 ; cf thèse Braissant, 2005). Il est donc normal d'observer une faible teneur en oxalate dans les premiers centimètres du profil. On peut expliquer le décalage de +10 cm en profondeur pour la teneur en carbone pyrolysable par rapport à la teneur en CaCO_3 en prenant en compte les processus impliqués dans l'écosystème iroko (cf le chapitre "*la biominéralisation de l'iroko*"). En effet, les tissus de l'iroko atteignent la surface du sol par divers processus, pour constituer une litière. L'oxalate est dans un premier temps libéré dans le sol par dégradation de la matière organique, puis consommé par les bactéries oxalotrophes. Les ions carbonates sont alors libérés sous forme aqueuse ; on peut donc imaginer que des mouvements *per descencum* seraient à l'origine du décalage de 10 cm vers le bas du profil, ceci étant rendu possible par la faible teneur en argile du sol de Biga. De même on peut suggérer que les ions carbonates ne demeurent libres en solution que peu de temps au regard de leur faible diffusion dans le sol.

3.4 Conclusion

L'impact de l'iroko sur son environnement est clairement établi, il est nettement visible dans les mesures du pH, de la teneur en acide oxalique ou de la teneur en carbonate. Alors que la nature minéralogique des argiles présente dans les sols ne semble pas avoir d'impact sur l'accumulation de carbonate, il semble être établi que la teneur en argile à une grande influence. Le site le moins argileux étant également le plus carbonaté tandis qu'à l'opposé le site le plus argileux est le moins carbonaté. De même on peut s'interroger sur l'implication de la morphologie du site qui, dans certain cas, peut impliquer des flux latéraux (donc des pertes pour le site) dans des systèmes en pentes comme à Machatoum. L'action des termites doit aussi être prise en compte car sur les trois principaux sites étudiés, les deux plus carbonatés sont également ceux dont les irokos sont le plus nettement attaqué par les termites.

L'importance des mouvements latéraux mis en évidence ici, est à mettre en opposition aux

mouvements *per descencum* fortement suspectés sur le site de Biga où l'on a une totale absence de pente et une faible teneur en argile dans le sol. Le “moteur” de l'écosystème iroko, la consommation de l'oxalate par les bactéries oxalotrophes prend préférentiellement place dans les premiers centimètres du sol comme cela a déjà été noté dans la littérature scientifique ; les conséquences de cette consommation de l'oxalate suivit de phénomènes de diffusion expliqueraient ainsi les pH alcalins observés en profondeur.

Si les mesures semblent confirmer la transformation oxalate-carbonate en tant que moteur conditionnant les propriétés physiques et chimiques de l'écosystème iroko, les observations macroscopiques et pétrographiques sont-elles en accord avec cette déduction ?

La biominéralisation de l'iroko

Chapitre 4 La biominéralisation de l'iroko

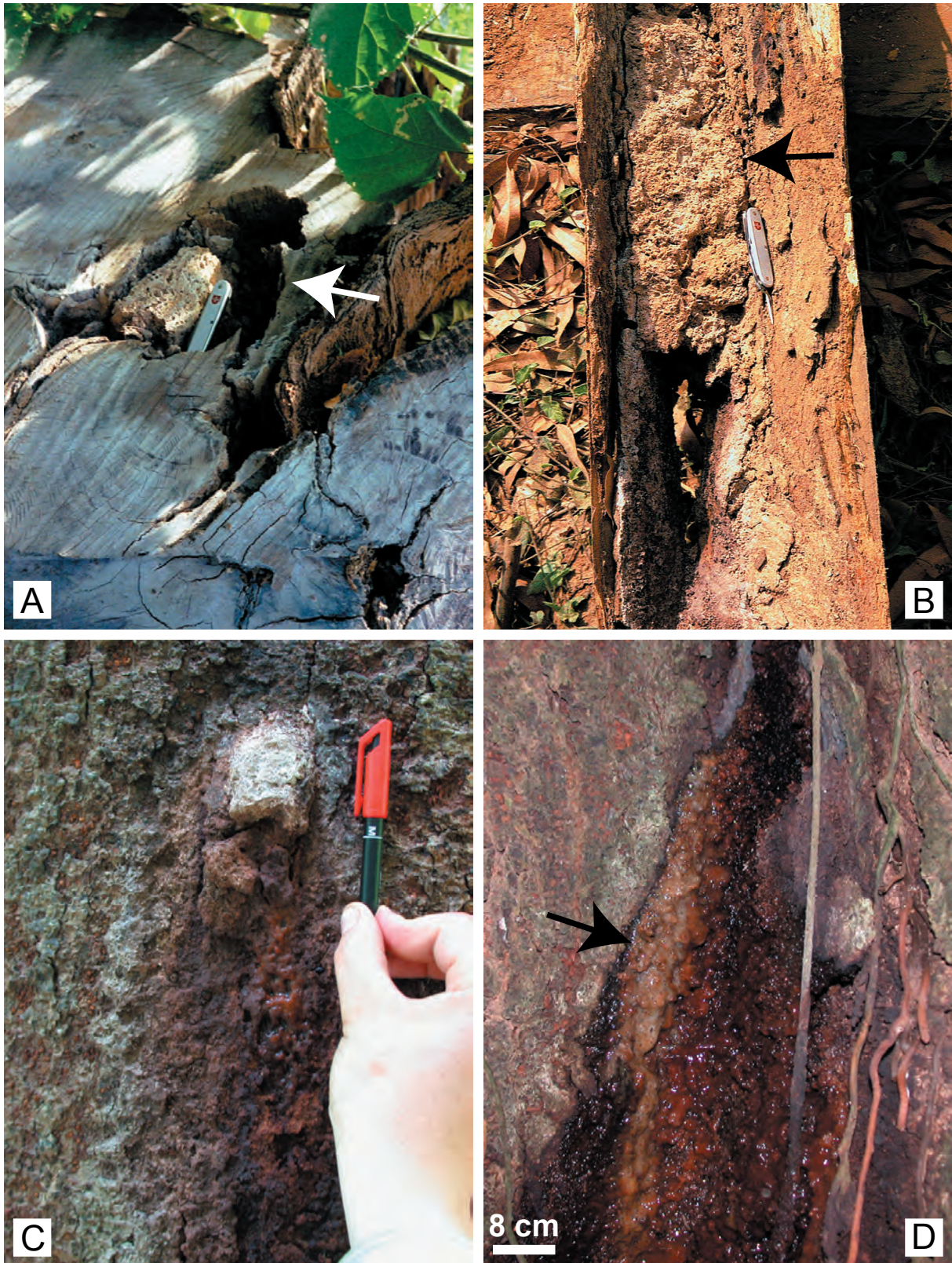
Partie I L'écosystème iroko et les aspects pétrographiques

L'étude pétrographique de tissus "sains" de l'iroko jusqu'à ceux complètement minéralisés est proposée. Cette étude vise à comprendre la dynamique induite par le cycle oxalate-carbonate et les processus menant à la minéralisation des tissus du bois. L'origine de la minéralisation a déjà fait l'objet d'une étude *in situ* dans les années 30 (Campbell et Fisher, 1932; Harris, 1933). Il n'était pas rare que des bris de chaîne de tronçonneuse soient occasionnés par ces minéralisations. La minéralisation de la partie basse du tronc (Fig. 4.1.A, B et C) obligeait souvent les exploitants forestiers à pratiquer une coupe à 1 m du sol.

Les premières observations indiquaient la présence de minéralisations au niveau des blessures présentes sur le tronc ou les branches, au niveau des zones où une branche avait été arrachée, des zones de l'arbre subissant une attaque d'insectes, ou sur certaines surfaces de l'arbre, brûlées par les feux de brousse. La majorité de ces localisations était corrélée avec la présence de sécrétions liquides (interprétées comme de la sève; Fig. 4.1.D) ou sèches (Fig. 4.1.C) provenant des blessures de l'arbre (Harris, 1933). Les blessures sur les tissus de l'iroko ont été interprétées comme le résultat du vent (pour les branches arrachés) ou de blessures occasionnées par les animaux de la jungle. L'intervention d'insectes "colonisant" les blessures entretenait l'écoulement de la sève par les conduits qu'ils forent. Des tentatives de reproduire artificiellement le processus de minéralisation ont été menées. Elles ont montré que des incisions superficielles (ne touchant pas le cambium) ne menaient jamais à une minéralisation, mais avec le temps la blessure se refermait normalement. Les incisions plus profondes, dans les tissus du bois (les vaisseaux conducteurs de la sève minérale) ne présentent pas de minéralisation à court terme, mais des observations effectuées 9 mois plus tard montraient une minéralisation similaire à celles naturelles (Harris, 1933). Ces blessures artificielles avaient été colonisées après 3 mois par des insectes forant les tissus du bois.

Fig. 4.1 : A: Bloc de carbonate issu de l'écoulement d'une sécrétion, sectionné lors de l'abattage de l'arbre sur le site de Machatoum. Le bloc est au contact de l'écorce, mais les différents lobes du tronc ont refermé cette zone. Une attaque des termites est visible mettant à nu les tissus du bois (flèche). B: Résidu du sciage d'une grume, comme on en trouve de nombreux dans les parcs à bois des scieries (SEFN Massangam). Notez le bloc de carbonate (flèche) issu de l'écoulement d'une sécrétion directement au contact de l'écorce. C: "stones" ("pierres") observé sur le site de Kani, telles qu'elles ont été décrites par Campbell et Fisher (1932); sous la sécrétion carbonatée indurée des insectes non déterminés ont été observés. D: Sécrétion active observée sur un des irokos du site de Biga. Le test à l'acide chlorhydrique (flèche) montre la présence de carbonate (un essai de filtration de cette sécrétion révèle la présence de pseudomorphose calcitique des tissus tels que fibres de cellulose, cellules du parenchyme, etc...), des amas micritique ainsi que des cristaux euhédraux (Cailleau et al, 2005).

A: Cross section of a block of secreted carbonate observed next to the logging operation at the Machatoum site. The block is in contact with the bark, but the different lobes of the trunk have enclosed the area. Exposed wood tissue (arrow) is the result of termite activity. B: Remains of a sawn log, as found in great number in wood sawmill parks (SEFN Massangam). Note the block of secreted carbonate (arrow) in contact with the bark. C: "stones"



observed at the Kani site, as described by Campbell and Fisher (1932); below the carbonated and hardened secretion, unidentified insects have been observed. D: Active secretion observed on one of the trees at the Biga site. Presence of carbonate is demonstrated by the acid test (arrow). An attempt to filtrate this secretion has revealed the presence of calcitic pseudomorphoses of wood tissues such as cellulose, parenchyma cells, etc.. micritic aggregates and euhedral crystals have also been observed (Cailleau et al, 2005).

Le feu n'a pas été interprété comme un agent direct de la minéralisation, mais plutôt comme un facteur permettant d'exposer la zone cambiale mais également le xylème à des insectes qui par la suite, en forant les tissus, entretiendront un flux de sève.

Les analyses de 3 échantillons de sève d'arbre où le processus de minéralisation était en cours ont montré que le carbonate de calcium représente 17 à 24 % du matériel sec (qui lui ne représente que 1.4 % du total ; Harris, 1933). Le reste du matériel consiste en cendres (dont en moyenne 43.5 % de K_2O) et parfois jusqu'à 2 % de SiO_2 .

4.1 Les observations de terrains

Les rares irokos d'un diamètre supérieur à 1 mètre qui ont pu être observés, présentent systématiquement une forte desquamation de leur écorce (Fig. 4.2.A), squames que l'on retrouve en quantité importante sur le sol. Ces derniers ne réagissent pas à l'acide chlorhydrique 10 % (HCl). Les arbres observés présentaient souvent des traces d'attaques de termites sapant la structure même du tronc aussi bien sur la surface externe de ce dernier (Fig. 4.2.B), qu'à l'intérieur du tronc qui pouvait être complètement creux. La surface interne du tronc était comme couverte par une masse blanchâtre semblant avoir littéralement coulé sur cette paroi. La masse blanche est très réactive au test à l'acide. Il n'est pas rare de trouver sur le sol, spécialement quand le tronc est creux, des dalles de bois pouvant atteindre une trentaine de centimètres de long (Fig. 4.2.C). Ces dernières réagissent plus ou moins fortement à une solution d'HCl. Des dalles de même type ont également été trouvées dans le sol pendant le creusement de la fosse pédologique. L'attaque des termites peut également affecter les racines comme cela est montré par la figure (4.2.D). Sous la cuticule rouge apparaît une masse dure ne semblant pas être organique, sorte de maillage blanc ne réagissant pas à l'acide. Lors du creusement de la fosse pédologique à l'intérieur du tronc, il a été observé une grande quantité de fragments de bois en décomposition mélangés à la matrice originelle du sol (Fig. 4.2.E). La présence de galeries d'une termitière sous l'arbre étudié sur le site de Biga (Côte d'Ivoire) a été détectée (cela est également vrai pour le site de Manbicham au Cameroun).

4.2 L'étude pétrographique

L'étude pétrographique a été menée 1) sur différents types d'échantillons de bois sain et partiellement calcifié, prélevé sur une souche ou exhumé du sol, 2) sur des échantillons d'écorce, 3) de racines partiellement détruites par les termites, et 4) de blocs de carbonate prélevés dans le sol, d'origine indéterminée au premier regard.

4.2.1 Les repères dans les tissus de l'arbre

Un petit rappel des structures globales des tissus du tronc est donné dans la figure (4.3.A), ceci par souci de bien localiser les diverses structures. Dans l'écorce sont distinguées les cellules parenchymateuses qui sont de petites cellules (d'un diamètre compris entre 25 μm et 50 μm) et les rayons phloémiens large de 10 μm et long de plus d'1 mm sur les lames minces (Fig. 4.3.B). L'écorce est séparée des tissus du bois par la zone de croissance de l'arbre (au niveau du tronc), le cambium. Sous le cambium se trouvent les tissus du bois

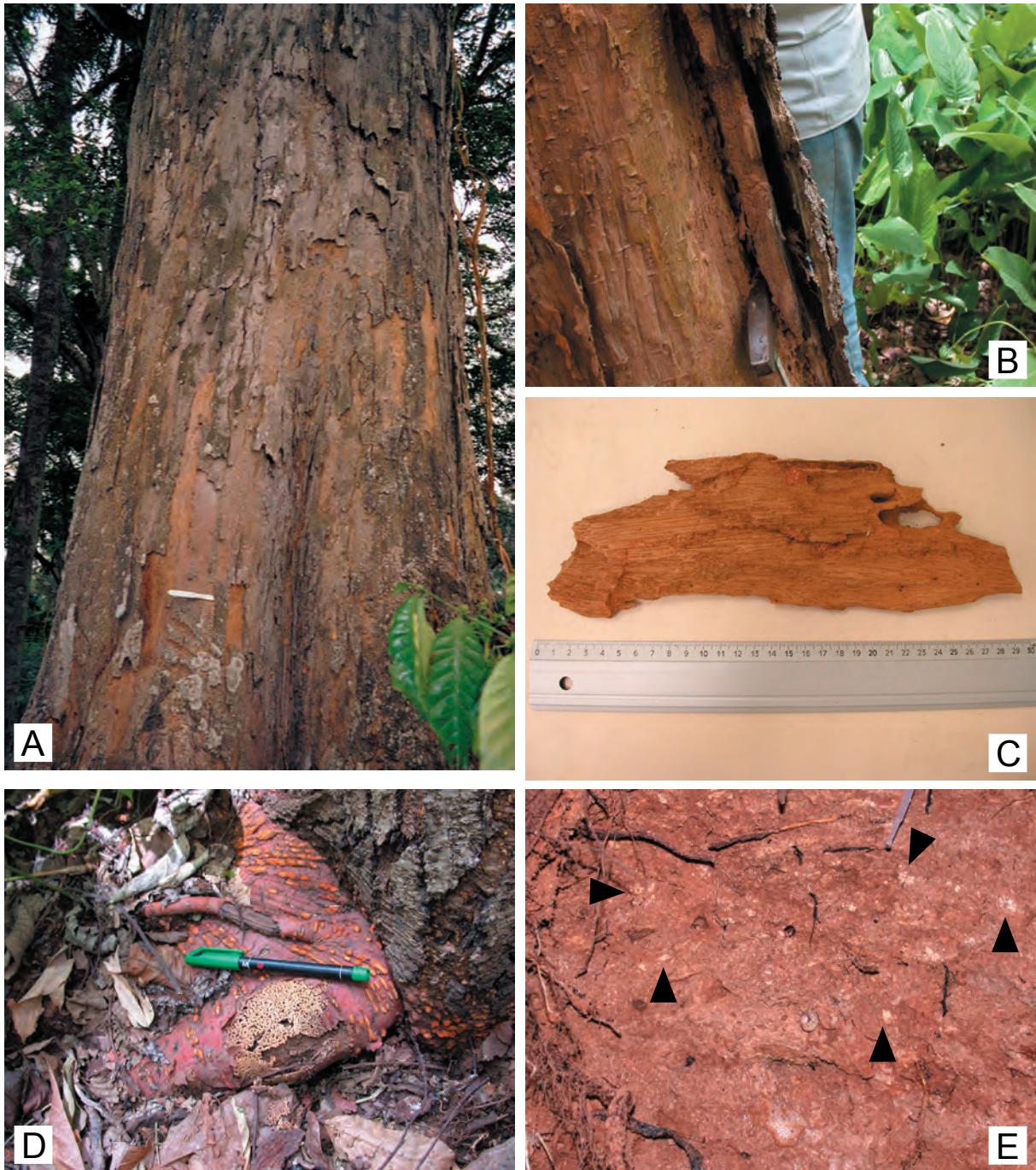


Fig. 4.2 : A: Vue générale du tronc d'un iroko montrant une forte desquamation de l'écorce (site de Mambicham), qui semble être l'état normal des arbres âgés. B: Un exemple d'attaque de termites ayant mis les tissus du bois à nu (site de Kani). C: Dalle de bois partiellement effervescente trouvé sur le sol, à l'intérieur d'un tronc creux sur le site de Biga. D: Racine d'iroko attaquée par des termites montrant un réseau de tissus blanchâtres ne réagissant pas à l'acide (site de Kani). E: Résidus de bois (pointeurs noirs) mélangés à la matrice du sol sous le tronc creux de l'un des irokos du site de Biga.

A: An iroko trunk showing a lot of flaking of the bark (site of Mambicham), which appears to be normal for old trees. B: Wood tissues, exposed to the atmosphere due to termite activity (site of Kani). C: Wood slab found on the soil inside the hollow trunk, and partially reacting to acid (site of Biga). D: Root of an iroko attacked by termites showing a network of white tissues which do not react with hydrochloric acid (site of Kani). E: Remains of wood tissues (black markers) mixed with the soil matrix below a hollow iroko trunk at the Biga site.

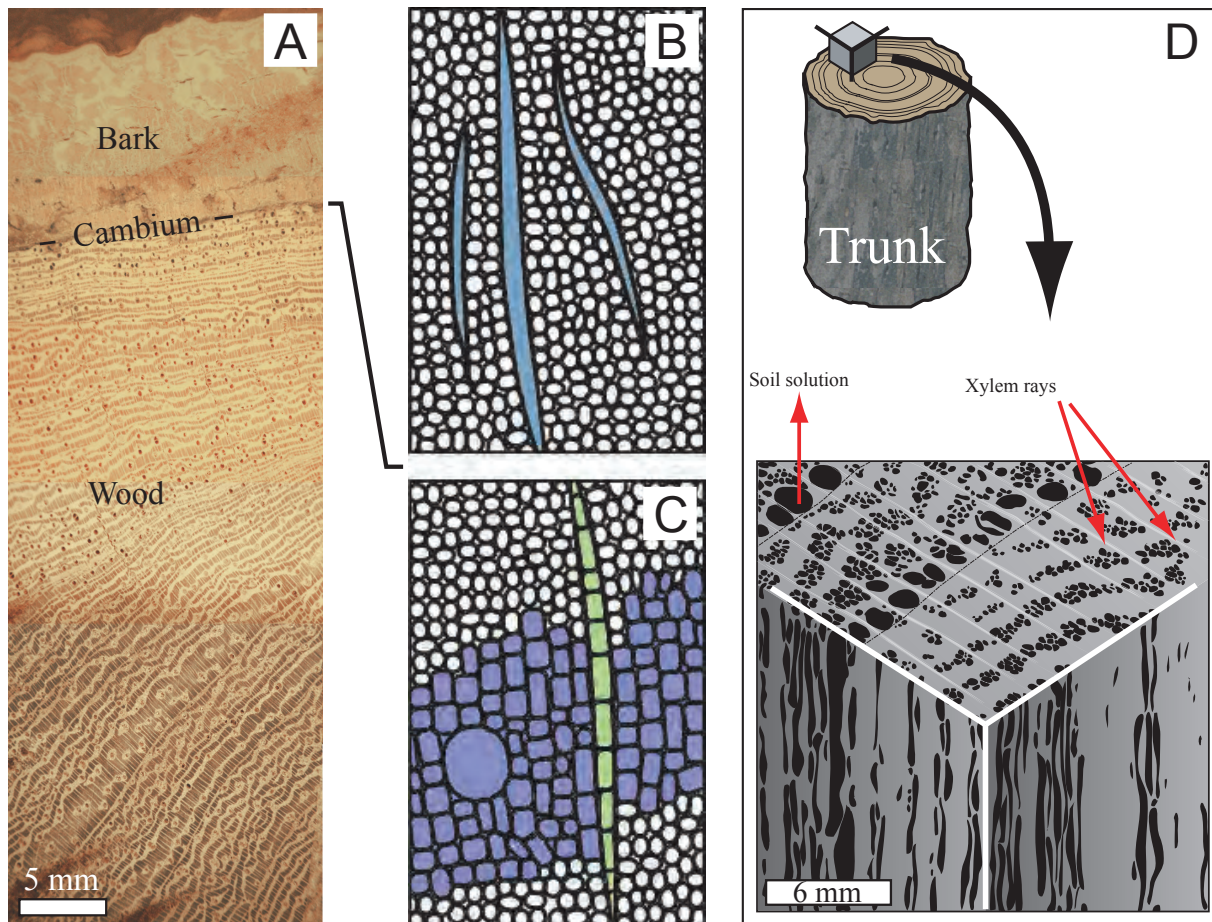


Fig. 4.3 : A: Structure globale des tissus composant le tronc. De l'extérieur vers l'intérieur on trouve, l'écorce, le cambium (la zone circulaire de croissance), et le bois. B et C: Représentations schématiques des structures de l'écorce et du bois. B: Dans l'écorce, deux types de structures sont distingués, les rayons phloémiens qui sont des structures allongées et les petites cellules du parenchyme. C: Dans les tissus du bois, trois structures sont distinguées: les plus petites cellules sont celles du parenchyme; les structures allongées parallèles à l'allongement du tronc et perpendiculaire au cambium, composées de nombreuses cellules forment les rayons du bois; enfin les vaisseaux conducteurs montrent de fortes sections comportant des tyloses, ainsi que de plus petites, mais dont la section reste supérieure à celles des cellules du parenchyme. D: Vue en trois dimensions d'un cube de bois (modifié d'après Raven et al., 2000) montrant la relation entre les différentes structures visibles dans les tissus du bois.

A: Structures that constitute the trunk. From the outer part to the inner part, the bark, the cambial zone (circular area of growth), and the wood. B: In the bark, 2 different kinds of structures have been distinguished: the phloemian rays, which are elongated structures, and small parenchyma cells. C: In the wood tissues, 3 structures have been identified, the smaller ones are parenchyma cells; the elongated structure perpendicular to the cambium, parallel to the lengthening of the trunk, and composed of several cells are xylem rays; the conductive vessels show 2 kinds of cross section in size, the largest presents tyloses whereas the small ones are nevertheless bigger than the parenchyma cells. D: 3 dimensions view of a block of wood (modified from Raven et al., 2000) showing the relationship between the different structures observed in wood tissues.

composés de cellules parenchymateuses (globalement similaire en taille à celles présentes dans l'écorce), de rayons du bois (composés de nombreuses cellules allongées striant le bois de façon radiale) et des vaisseaux conducteurs, alternant plus ou moins concentriquement avec les cellules parenchymateuses (Fig. 4.3.C, D). Les vaisseaux du bois qui servent à acheminer la sève minérale depuis le sol vers les hauteurs parcourent toute la longueur de l'arbre. Pouvant dépasser les 250 μm de diamètre, les plus gros vaisseaux sont accompagnés

d'autres plus petits ainsi que de cellules non conductrices ayant une taille supérieure à celle des cellules du parenchyme.

4.2.2 Localisations des différentes cristallisations

L'oxalate

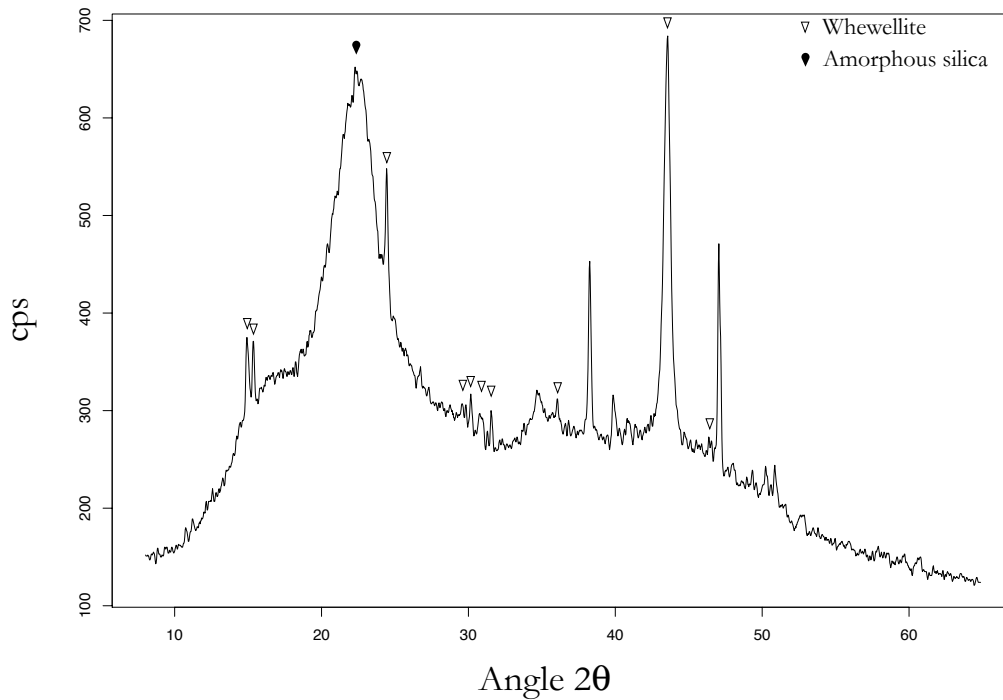
L'observation des lames minces a montré une grande différence entre les tissus du bois et de l'écorce. Dans l'écorce, les cristaux d'oxalate déterminés comme de la whewellite (Fig. 4.4.A) par l'analyse par diffraction X sont présents dans les cellules parenchymateuses, parfois piégés par de la silice amorphe (Fig. 4.5.A). Dans les tissus du bois, la whewellite (Fig. 4.4.B) est observée principalement dans les petites cellules ou petits vaisseaux situés autour des grands vaisseaux conducteurs, dans les rayons du bois, et dans les cellules parenchymateuses en bordure des structures précédemment citées (Fig. 4.5.B). On trouve souvent des cristaux d'oxalate piégés dans des plages de carbonate, mais quasi systématiquement, les cristaux d'oxalate sont intacts. Dans de rares cas observés, l'oxalate présente des golfes de dissolution (Fig. 4.6). Ces observations sont en relation avec des blessures affectant l'écorce, le cambium, et les tissus du bois sous-jacent. L'oxalate était exposé à une contamination extérieure, la sécrétion calcitrisante précédemment citée venant ensuite recouvrir les tissus du bois initiant à la fois une pseudomorphose calcitique du matériel organique et la précipitation "épitaxiale" sur les tissus découverts par la blessure. Le phénomène global forme la large bande calcitique observée dans la figure (4.5.C, D).

Dans les racines, sous l'action des termites, la concentration relative en oxalate augmente (Fig. 4.6.A); l'action des champignons semble également concomitante, menant également à la libération des cristaux d'oxalate de calcium dans le sol (Fig. 4.6.B, C et D). Dans le sol, l'oxalate peut être observé présentant des figures de dissolution (Fig. 4.6.E) relativement similaire à ce que l'on observe en lame mince dans des fragments de bois (Fig. 4.6.F).

Les carbonates

Aucun carbonate n'a été observé dans les tissus de l'écorce. Les carbonates sont présent dans les tissus du bois (Fig. 4.4.B). On trouve la calcitisation affectant de grandes portions pseudomorphosées de tissus qui peuvent se retrouver dans le sol (Fig. 4.7.A, B). La carbonatation affecte préférentiellement les vaisseaux conducteurs qui peuvent être partiellement ou complètement remplis (Fig. 4.7.C, D). Elle affecte aussi les rayons du bois (Fig. 4.5.B). La présence de calcite dans ces tissus induit localement la formation de plages complètement minéralisées (hormis les cellules du parenchyme qui ne sont que rarement minéralisées avec cette importance), les plages les plus importantes étant les vaisseaux conducteurs (plus ou moins parallèles entre elles), reliées entre elles par les rayons du bois (Fig. 4.8.A, B). Si on les observe ici en coupe, il faut bien comprendre que ces plages carbonatées sont des édifices en trois dimensions. L'observation au MEB montre que, non seulement les vaisseaux sont remplis par des cristaux de calcite, mais des pseudomorphoses calcitiques de divers tissus du bois sont fréquentes. Elles affectent aussi bien la cellulose (Fig. 4.7.B, E), que les cellules parenchymateuses (Fig. 4.7.F), préservant extrêmement bien toutes les fines structures de ces tissus.

A: Bark



B: Wood

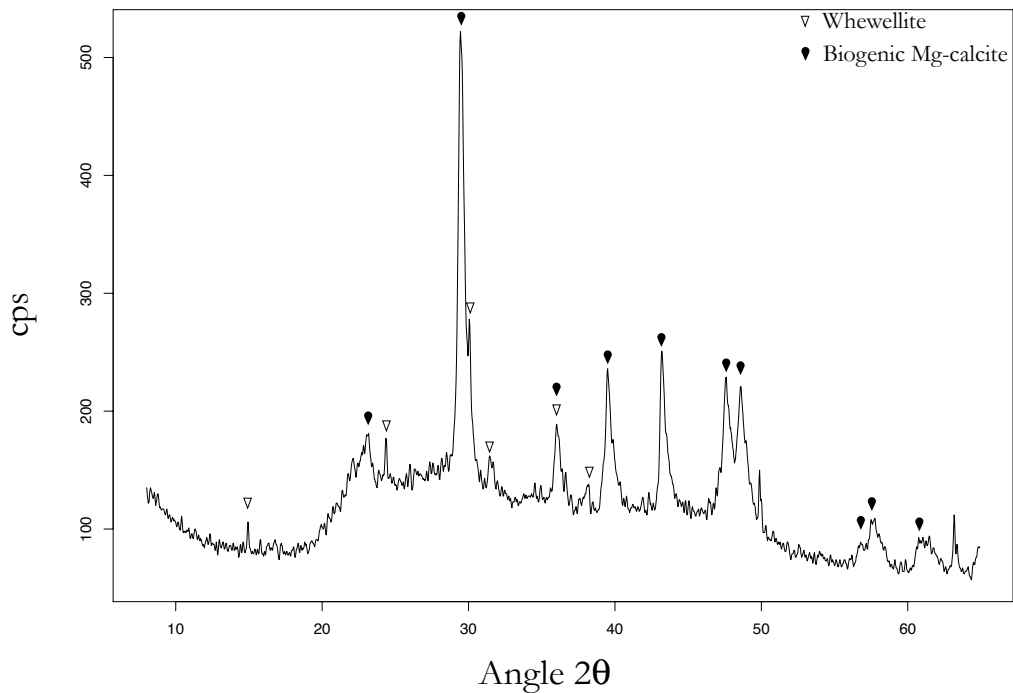


Fig. 4.4 : A : Diffractogramme aux rayons X d'écorce partiellement minéralisée montrant la présence de Whewellite (oxalate de calcium monohydrate) et de silice amorphe. B : Diffractogramme aux rayons X de tissus du bois d'un iroko partiellement minéralisée montrant la présence de Whewellite (oxalate de calcium monohydrate) et de calcite magnésienne biogène (calcite hautement magnésienne).

A : X-ray diffractogram of partially mineralized iroko bark showing the presence of whewellite (calcium oxalate monohydrate) and amorphous silica. B : X-ray diffractogram of a partially mineralized iroko wood tissues displaying the presence of whewellite (calcium oxalate monohydrate) and biogenic Mg-calcite (High Magnesium Calcite).

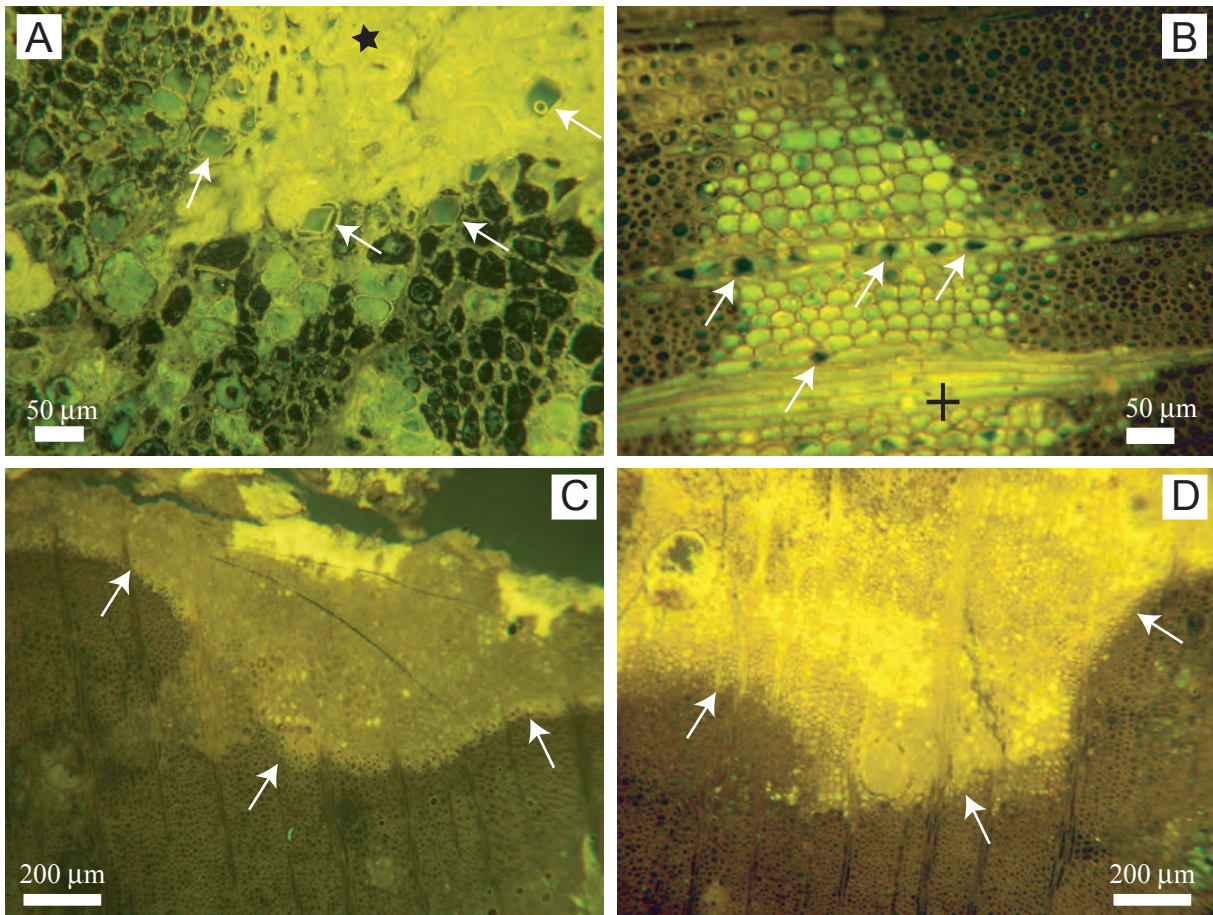


Fig. 4.5 : A, B, C et D: Photographies réalisées au microscope optique sous fluorescence UV. A: Tissus de l'écorce montrant un front de silicification (zone très claire, étoile) se développant dans le parenchyme. On voit très nettement les cristaux d'oxalate (flèches) piégés dans la silice amorphe; ceux-ci sont donc antérieurs. B: Dans les tissus du bois, les cristaux d'oxalate (flèches) sont présents dans les cellules des rayons du bois (structures allongées). L'oxalate ne présente pas de figure de dissolution. Une phase de carbonatation est ici présente (plus) à la fois dans les rayons du bois et dans les cellules latérales aux vaisseaux conducteurs (zone la plus fluorescente). Cette dernière est postérieure à la phase de précipitation de l'oxalate qu'elle piège. C et D: Front de calcitisation (flèches) suite à une blessure. Dans ce cas particulier, des cristaux d'oxalate peuvent être observés avec des golfes de dissolution (voir Fig. 4.6.F).

A, B, C and D: Optical microscope observations under UV fluorescence. A: Bark tissues showing a silicification front (bright area, star) developed in the parenchyma cells. Oxalate crystals (arrows) are embedded in the amorphous silica which is posterior to oxalatisation. B: In the wood tissues, oxalate crystals (arrows) are found in xylem rays (elongated structures). No oxalate crystal dissolution features has been observed. A calcitization phase is observed (plus) in xylem rays and lateral cells of conductive vessels (most fluorescent area). The latter is most recent than the precipitation of oxalate. C and D: Calcitization front (arrows) close to a wound. In this peculiar case, dissolution features of oxalate can be observed (see Fig. 4.6.F).

Hormis les grandes masses de carbonate qui seront étudiées dans le chapitre 7, il est important de noter la présence dans le sol de cristaux de CaCO_3 dont la structure est atypique pour de la calcite. Ils ont des habitus variés, certains classiques pour l'oxalate de calcium: rhomboèdres, prismes tronqués, bipyramides tronquées, etc. On trouve ces cristaux en amas dans le sol, formant des enduits sur les grains (Fig. 4.9.A), jusqu'à une profondeur de 70 cm; mais ils sont le plus abondants dans les 40 premiers centimètres du profil de sol. Leur structure apparente semble être constituée de nanosphères de calcite dont la taille moyenne avoisine 200 nm (Fig. 4.9.B, C). Les sphères sont coalescentes entre elles laissant une nanoporosité à

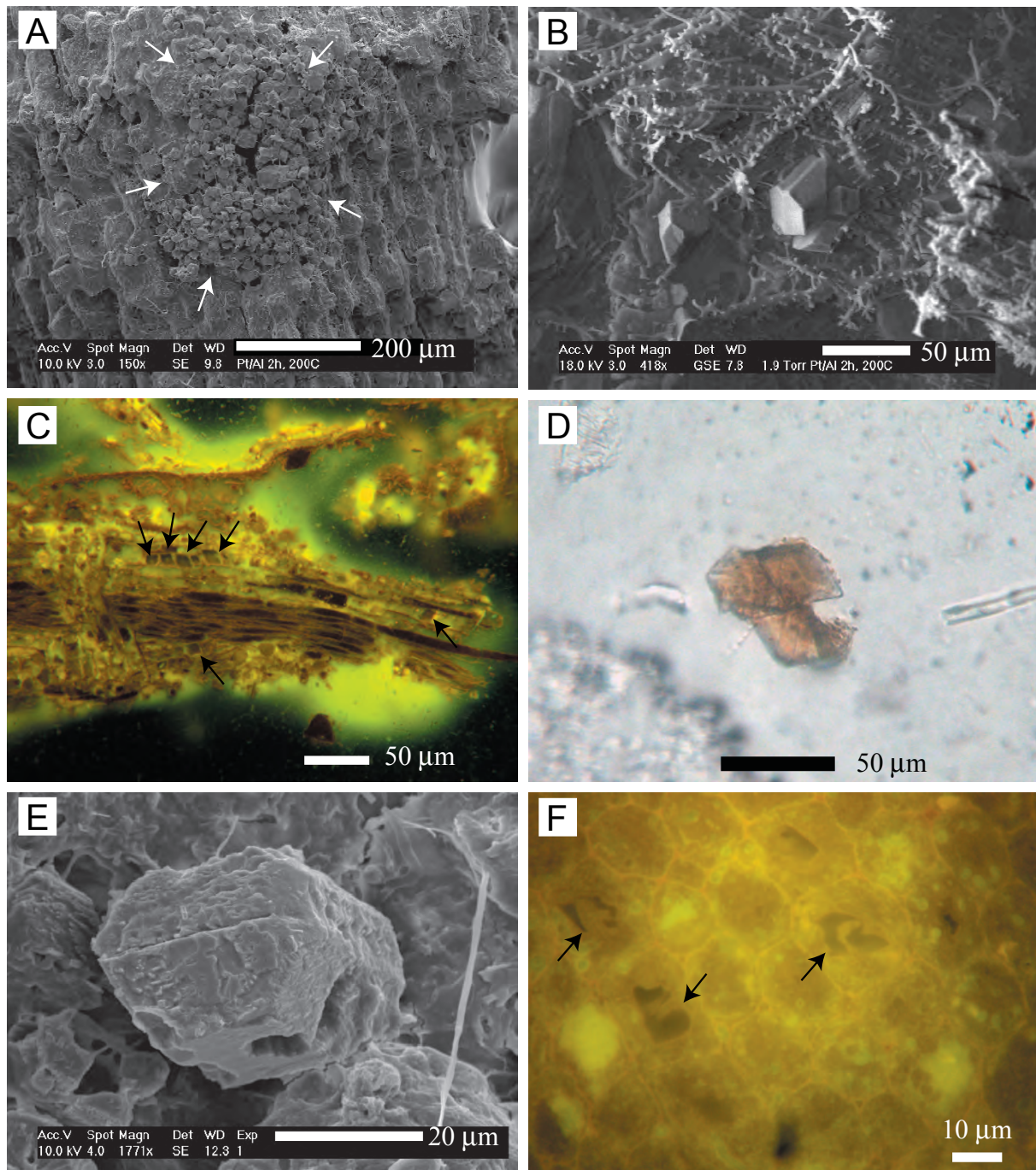


Fig. 4.6 : A, B et E: Images de racines minéralisées réalisées au MEB. A: Restes de racines déjà décrites macroscopiquement dans la figure (4.2.D), montrant des cristaux de whewellite. B: Cristaux d'oxalate présents dans un fragment de bois échantillonné dans le profil A (Biga), à 60 cm de profondeur. C et F: Observation d'une lame mince en microscopie optique sous fluorescence UV. C: On voit nettement les tissus de bois en cours de dégradation, peu avant la libération de l'oxalate dans le sol. D: Photographie en lumière normale de cristaux de weddellite trouvés associés aux cristaux de calcite à structure atypique dans les 15 premiers centimètres du profil A (Biga). E: Vue au MEB d'un cristal d'oxalate de calcium trouvé sur une racine montrant des figures de dissolution. D: Tissus de bois prélevés près d'une blessure montrant des cristaux d'oxalate présentant des golfes de dissolution (flèches).

A, B and E: Scanning electron microscope (SEM) micrographs of a mineralized root. A: Remains of root as macroscopically described in the Figure 4.2.D, showing whewellite crystals. B: Oxalate crystals found in a wood fragment of the Profile A of the Biga site, at 60 cm in depth. C: Optical UV fluorescence microscopic observation of a thin section of a decaying wood fragment slightly before the release the oxalate crystals (arrows) in soil pores.

l'ensemble. C'est l'empilement apparent de ces nanosphères qui forme les "faces" des cristaux. Leur observation au microscope optique montre une texture micritique pour l'ensemble, néanmoins, la microdiffraction au MET semble montrer que les nanosphères ont toutes la même orientation cristallographique (l'étude a été réalisée sur des cristaux partiellement brisés pour atteindre une épaisseur permettant l'observation en transmission). On observe également associé à ces cristaux, des cristaux dont les faces sont lisses (Fig. 4.9.D), mais dont la structure interne observée semble similaire (Cailleau et al., 2005). Ces cristaux atypiques ou lisses sont souvent observés recouverts de nanofibres flexibles (Fig. 4.9.D ; flèches) dont l'origine est discutée dans le chapitre 9.

Suivant la technique de Canti (2003), des brûlis expérimentaux d'écorce et de bois ont été réalisés par chauffage à 500 °C pendant une heure puis refroidissement à l'atmosphère ambiante. Il est connu que l'oxalate se transforme selon ces conditions en carbonate de calcium Canti (2003). L'observation du charbon de bois produit, avec le mode basse température du MEB (Fig. 4.9.E), a permis de comparer les structures internes des cristaux naturels et des cristaux expérimentaux. Lors de la transformation thermique des cristaux d'oxalate, la transition de phase mène à la formation de nanosphères certes un peu plus petites que celles observées sur les cristaux naturels (Fig. 4.9.F), mais dont la similarité de la structure ne fait aucun doute.

La silice

La présence de silice amorphe dans les tissus de l'iroko a été détectée dans l'écorce (Fig. 4.4.A). Aucun autre tissu n'en présente, que se soit dans les racines ou dans le bois du tronc. Elle est observée piégeant les cristaux d'oxalate (Fig. 4.8.C); elle est abondante dans les zones où les rayons phloémiens sont abondants et resserrés (Fig. 4.8.D).

4.3 Discussion

L'origine de la silice amorphe ne sera pas discutée dans ce travail. On peut toutefois avancer que celle-ci est découplée de celle de la carbonatation, car jamais rencontrées dans les mêmes tissus. On peut de même suspecter un rôle joué par les rayons phloémiens, car la silice est présente dans les zones de l'écorce montrant les plus fortes concentrations de ces rayons. Pour l'origine des carbonates, si l'hypothèse du "moteur" est démontrée expérimentalement, c'est-à-dire par la transformation oxalate-carbonate les données de terrain posent problème. En effet, on trouve quasi systématiquement les cristaux d'oxalate intacts alors que de la calcite est au contact. Or, suivant le processus invoqué, l'oxalate devrait être au moins partiellement consommé; il faut en conclure que l'oxalate n'est pas consommé dans les tissus du bois (hormis peut être quand des blessures touchant les tissus du bois sont présentes). Toutefois, les bactéries oxalotrophes se trouvant dans le sol et, sachant que la contamination de l'arbre

D: PPL micrograph under binocular: weddellite crystals found associated with atypical crystals of calcite in the upper 15 cm of Profile A (Biga). E: Calcium oxalate crystal found on a root, showing dissolution features. F: Optical UV fluorescence microscopy observation of a thin section of wood tissues sampled close to a wound. Oxalate crystals show dissolution gulf (arrows).

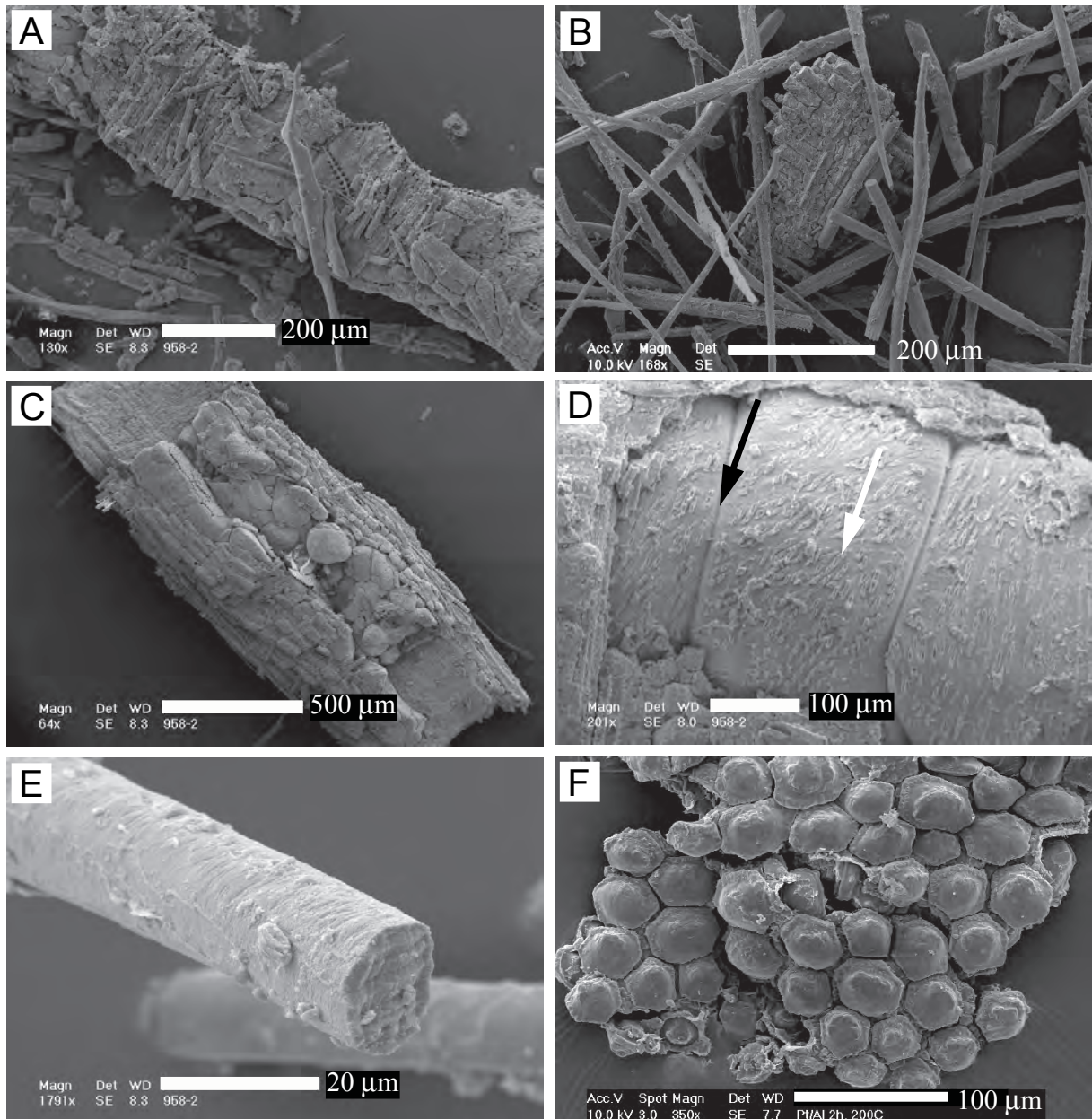


Fig. 4.7 : Images de structures de bois minéralisées réalisées au MEB, sur des échantillons provenant du site de Biga. A: Bois calcitisé avec des parois cellulaires très bien conservées. B: Amas de fibres de cellulose calcitisée trouvé dans un échantillon de sol. C: Remplissage calcitique partiel des vaisseaux conducteurs montrant des morphologies de cristaux variables. Ces remplissages de vaisseaux peuvent également être trouvés dispersés dans le sol. D: Détail d'un remplissage de vaisseau conducteur. L'empreinte pariétale (flèche blanche) aussi bien que les tyloses (flèches noires) sont clairement visibles. E: Les tissus de bois minéralisés peuvent être trouvés sous forme de grands fragments, aussi bien que de fibres de cellulose isolées. Notez la préservation extrêmement fine des structures du bois lors de la pseudomorphose calcitique. F: Cellules du parenchyme calcitisées filtrées d'une sécrétion active s'écoulant d'une blessure de l'arbre.

Scanning electron microscope (SEM) micrographs of mineralized wood structures principally found in Profile B of the Biga site. A: Calcified wood with well preserved cell walls. B: Mesh of calcified cellulose fibers found in the soil. C: Partially calcified vessel infillings showing various crystal morphologies. These vessel infillings can also be found dispersed in the soil. D: Close-up of a conductive vessel infilling. The parietal imprint (white arrow) as well as tyloses (black arrow) are clearly visible. E: Mineralized wood tissues can be found as large pieces, as well as isolated cellulose fibers. Note the extremely fine preservation of the wood structure during calcite mineralization. F: Mineralized parenchyma cells found in an active secretion flowing from a wound.

est peu probable sans la présence de blessure, le processus doit être imaginé ailleurs. Si la transformation oxalate-carbonate n'a pas lieu dans l'arbre, il semble aisé d'imaginer que celle-ci prend place dans le sol, là où on trouve des bactéries oxalotrophes. Le scénario suivant peut alors être avancé et synthétisé dans la figure (4.10).

Un iroko au stade juvénile ne présente pas de carbonatation de ses tissus; néanmoins il synthétise de l'oxalate lors de la photosynthèse. Comme nous l'avons vu précédemment, on retrouve l'oxalate dans les feuilles, mais également dans l'ensemble des tissus (écorce, racine, etc.), sous forme d'oxalate de calcium monohydraté (whewellite). Le produit initial nécessaire à la fois à la transformation des propriétés du sol initialement acide, mais également à la calcitisation ultérieure de l'arbre et du sol, est donc présent dès les premières années de l'iroko. Les feuilles sessiles de l'iroko, les desquamations observées de l'écorce, l'abandon des racines, les excréctions possibles au niveau des racines, en résumé tout fragment de tissus de l'iroko va donc fournir de l'oxalate au sol (Fig. 4.5.A-B ; Fig. 4.8.C).

Dans le sol, ces fragments de l'iroko vont être dégradés (en partie par les champignons saprophytiques) et libérer les cristaux d'oxalate (Fig. 4.6.A-C). Les cristaux d'oxalate sont ainsi exposés aux bactéries du sol et vont pouvoir être consommés par les oxalotrophes. Ainsi on observe des cristaux d'oxalate présentant des figures de dissolution (Fig. 4.6.E) preuves de la transformation oxalate-carbonate. A ce stade, l'alcalinisation du sol peut commencer. Néanmoins, les conditions de pH ne permettent pas encore l'accumulation de carbonate dans le sol. Les ions carbonates en solution peuvent alors être pompés par les racines de l'iroko. Comme cela a été mentionné, le carbonate de calcium représente 1.4 % de la masse totale de la sève (17 % à 24 % du matériel sec ; Harris, 1933). Ceci est illustré par la présence de carbonate dans les tissus conducteurs de la sève minérale que sont les vaisseaux conducteurs. Localement, dans ces vaisseaux, des conditions particulières peuvent permettre la précipitation de carbonate. Ces conditions sont difficiles à appréhender, mais on peut imaginer qu'elles prennent place durant la saison sèche quand le manque en eau est le plus important, pouvant entraîner localement la sursaturation. On peut également penser que la présence de tyloses (parois de cellule irrégulière dans les vaisseaux) a son importance; ils sont des connus pour ne pas faciliter les circulations des fluides.

La calcitisation, comme on l'a vue, peut affecter des zones préférentielles (Fig. 4.8.C) qui peuvent expliquer la présence de dalles. En effet, les dalles sont liées à l'attaque de termites qui probablement vont éviter ces zones fortement minéralisées. Consommant le bois alentour la dalle peut se former, dalle qui sera partiellement calcitisée, mais renfermant également de l'oxalate. Ces dalles sont encore formées en grande partie de bois qui poursuit sa dégradation dans le sol. Cette dégradation va permettre la libération à la fois de l'oxalate mais également des cristaux de calcite (dont des pseudomorphoses calcitiques des divers tissus du bois). On voit donc que l'intervention des termites facilite la libération de l'oxalate dans le sol; on peut donc interpréter leur action comme un processus venant catalyser le système global. La morphologie des cristaux composés de nanosphères est très similaire à ce que l'on peut reproduire d'après la méthode de Canti (2003). La transformation des cristaux d'oxalate en carbonate pendant une combustion est réalisée quand la température dépasse les 470 °C. La réalisation de combustion d'écorce d'iroko montre que la structure des cristaux de calcite néoformée est proche des produits échantillonnés sur le site de Biga. On peut donc conclure qu'une autre voie de transformation de l'oxalate en carbonate est décelée sur le site de Biga.

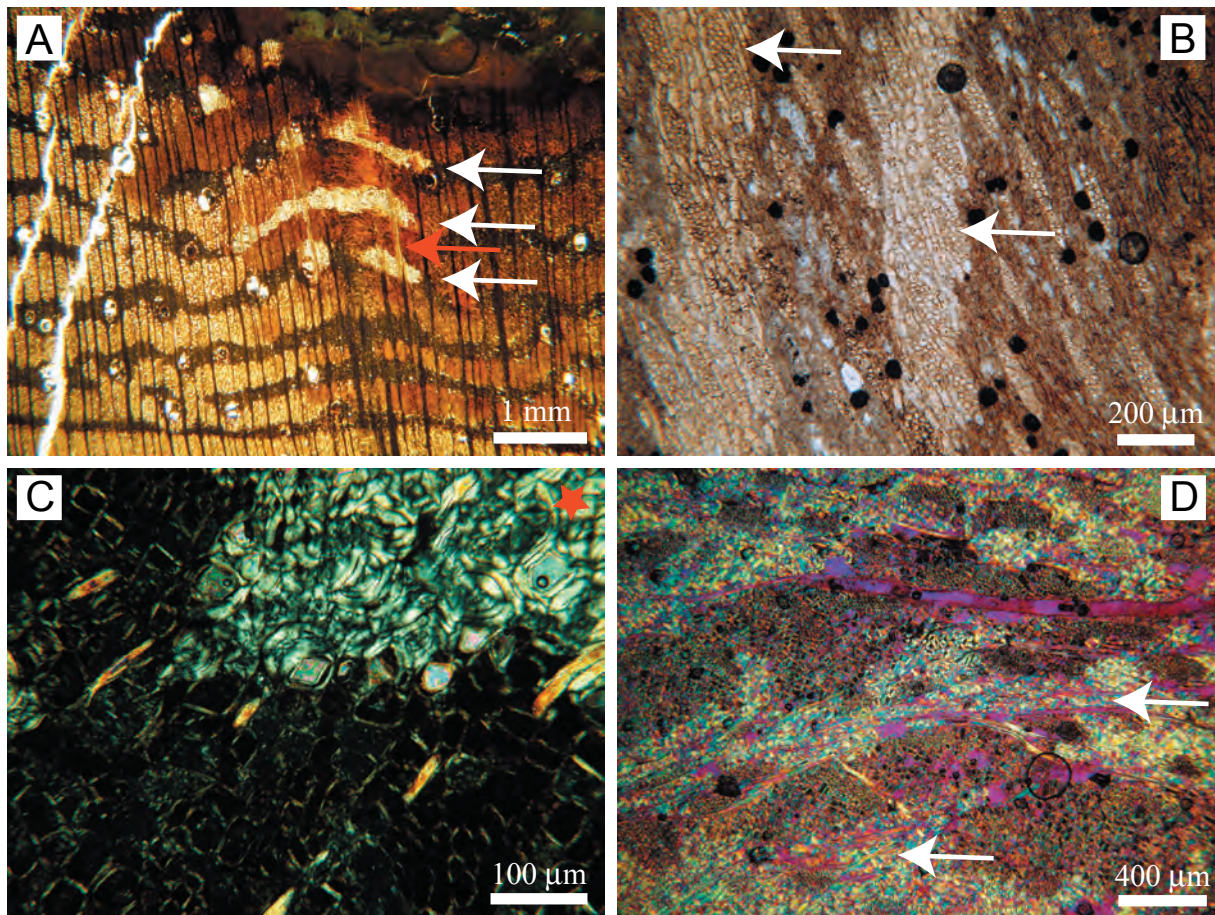
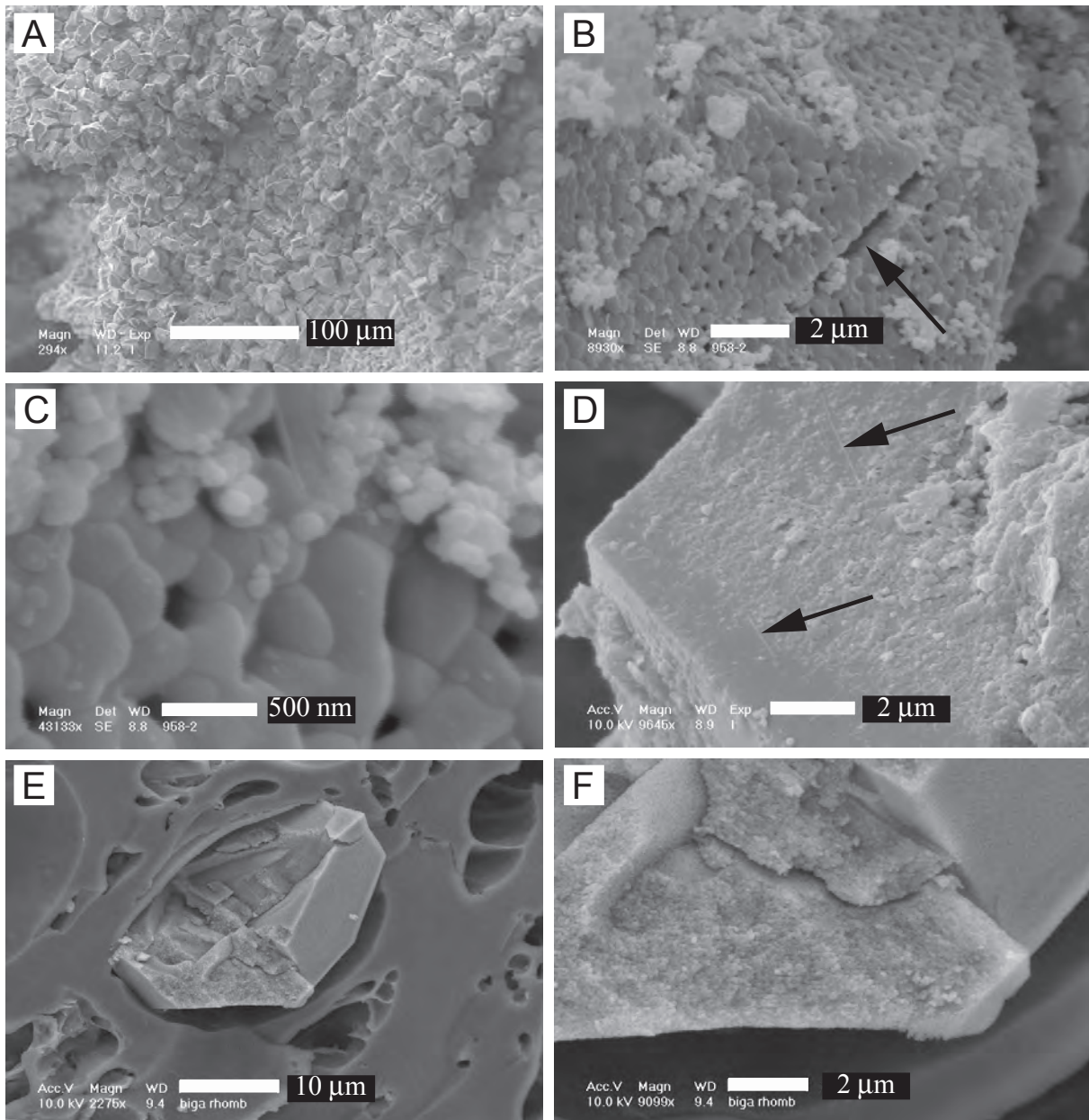


Fig. 4.8 : A: Observation en lumière normale de tissus du bois présentant des plages calcitisées. Coupe transversale des vaisseaux conducteurs calcitisés formant des zones (flèches blanches) sub-parallèles entre elles et “reliées” par les rayons du bois eux-mêmes calcitisés (flèche rouge). B: Même type d’observation de structures calcitisées (flèches) mais dans une coupe d’orientation quelconque. C: Observation en lumière polarisée analysée de tissus d’écorce. Les structures allongées orangées sont des rayons phloémiens silicifiés. Les cellules du parenchyme sont également silicifiées (étoile). D: Observation en lumière polarisée analysée de tissus d’écorce avec l’ajout d’une lame d’onde. Les rayons phloémiens sont silicifiés. Il est important de noter que les plages de cellules du parenchyme silicifiées sont préférentiellement localisées dans les zones de forte concentration de rayons phloémiens (flèches).

A: PPL observation of wood tissues showing calcitized area. Cross section of conductive vessels (white arrows) forming parallel area “linked” by xylem rays which are also calcitized (red arrow). B: Same kind of observation of calcitized area (arrows) but without specific orientation. C: XPL observation of the bark. Silicified phloemian rays (orange elongated structures) and silicified parenchyma cells (star) are visible. D: XPL with wave plate observation of bark tissues. Phloemian rays are silicified like some areas of parenchyma cells. Note that the latter occur preferentially where phloemian rays are abundant and close together (white arrows).

Fig. 4.9 : Images réalisées au MEB de différents cristaux à structure atypique. A-D: Cristaux trouvés dans la partie supérieure du profil A du site de Biga. A: Accumulation de cristaux formant une sorte d’enduit sur les grains dans les pores du sol. Ces cristaux ont des habitus variés. B: Détail de la surface d’un cristal: les faces et les arêtes sont bien développées en dépit de la structure atypique. On observe fréquemment des fractures dans les cristaux (flèche noire). C: Détail de la surface d’un cristal composé de nanosphères coalescentes (≈ 200 nm de diamètre). Noter la nanoporosité entre les nanosphères. D: Un type de rhomboèdre avec des faces lisses. Ce type de cristal coexiste avec les cristaux atypiques. Des nanofibres (flèches) sont quasi systématiquement associées avec les cristaux (présentés dans cette figure) dans le sol. E et F: Images réalisées avec le MEB en mode basse température de cristaux obtenus expérimentalement en brûlant de l’écorce de bois à 500 °C. E: Cristal de calcite (déterminé par diffraction X) brisé suivant une fracture durant la cryo-préparation ;



les fractures se forment durant la transformation oxalate-carbonate. F: Détail de la structure interne des pseudomorphoses calcitiques des cristaux d'oxalates. On voit nettement l'empilement de nanosphères.

SEM micrographs of crystal patterns. A-D: Crystals found in the upper part of Profile A of the Biga site. A: Accumulation of crystals with atypical structure in the form of grain coatings in soil vughs. These crystals have various habits. B: Close-up of a crystal surface: faces and edges are well developed despite its atypical texture. Frequently, crystals are fractured (black arrow). C: Close-up of a crystal face composed of coalescent nanospheres (≈ 200 nm in diameter). Note the nanopores between some coalescent nanospheres. D: A type of rhombohedron with smooth crystal faces, which coexist with the crystals composed of nanospheres. Arrows show thin long nanorods, quasi systematically associated with these types of crystals (shown in this figure) inside the soil. E and F: Cryo-SEM micrographs of calcite crystals obtained experimentally by burning iroko bark at 500 °C. E: Calcite crystal (determined by X-ray diffraction) broken along fractures during cryo-preparation; the fractures appear during oxalate-carbonate transformation. F: Close-up of the internal structure of calcitic pseudomorphic crystal of oxalate composed of stacked nanospheres.

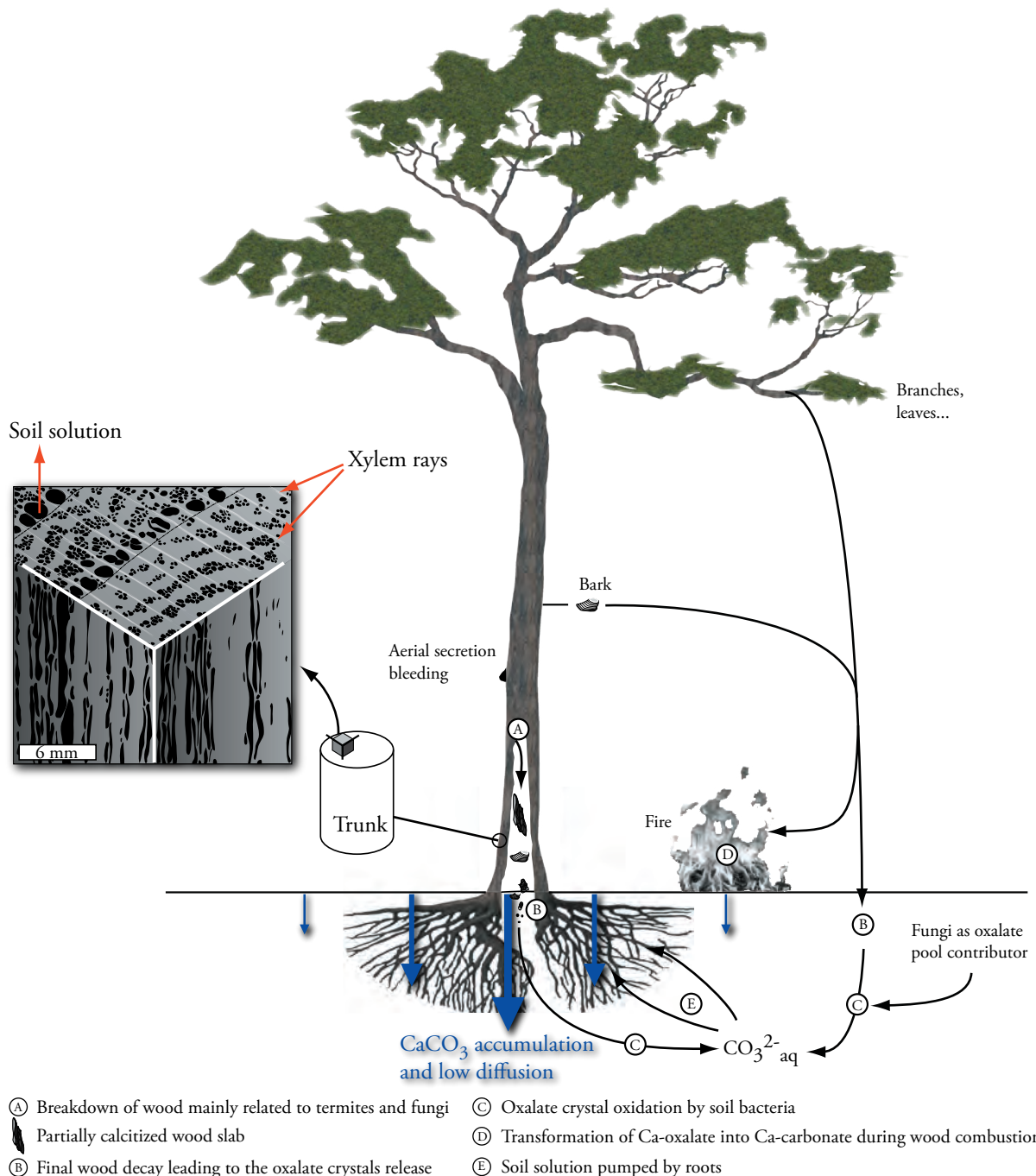


Fig. 4.10 : Schéma de synthèse décrivant à la fois les processus, les agents impliqués, et les flux de matière dans l'écosystème iroko.

Synthetic sketch describing the processes, the agents implied and the fluxes of matter in the iroko ecosystem.

Les cristaux lisses en apparence mais ayant la même structure interne sont considérés comme le résultat d'une précipitation ultérieure sur des cristaux d'oxalate transformés en carbonate. L'épitaixie exprime la cristallinité de la calcite en réalisant des faces parfaites.

Relativement proche de ce que l'on appelle une stratigraphie de la diagenèse pour les séries marines, une séquence temporelle des événements survenant dans la vie de l'iroko du site de Biga est synthétisée dans la figure (4.11), fondée sur les précédentes interprétations.

4.4 Conclusion

En conclusion, l'écosystème iroko menant à sa calcitisation fonctionne par une sorte de symbiose parfaite entre l'arbre (même si l'on peut considérer que c'est à ses dépens) qui produit de l'oxalate et d'autres agents tels que les termites, les champignons saprophytes, les bactéries oxalotrophes. Le feu, le vent, et même des animaux de la jungle, peuvent être des intervenants menant à la biominéralisation de l'iroko.

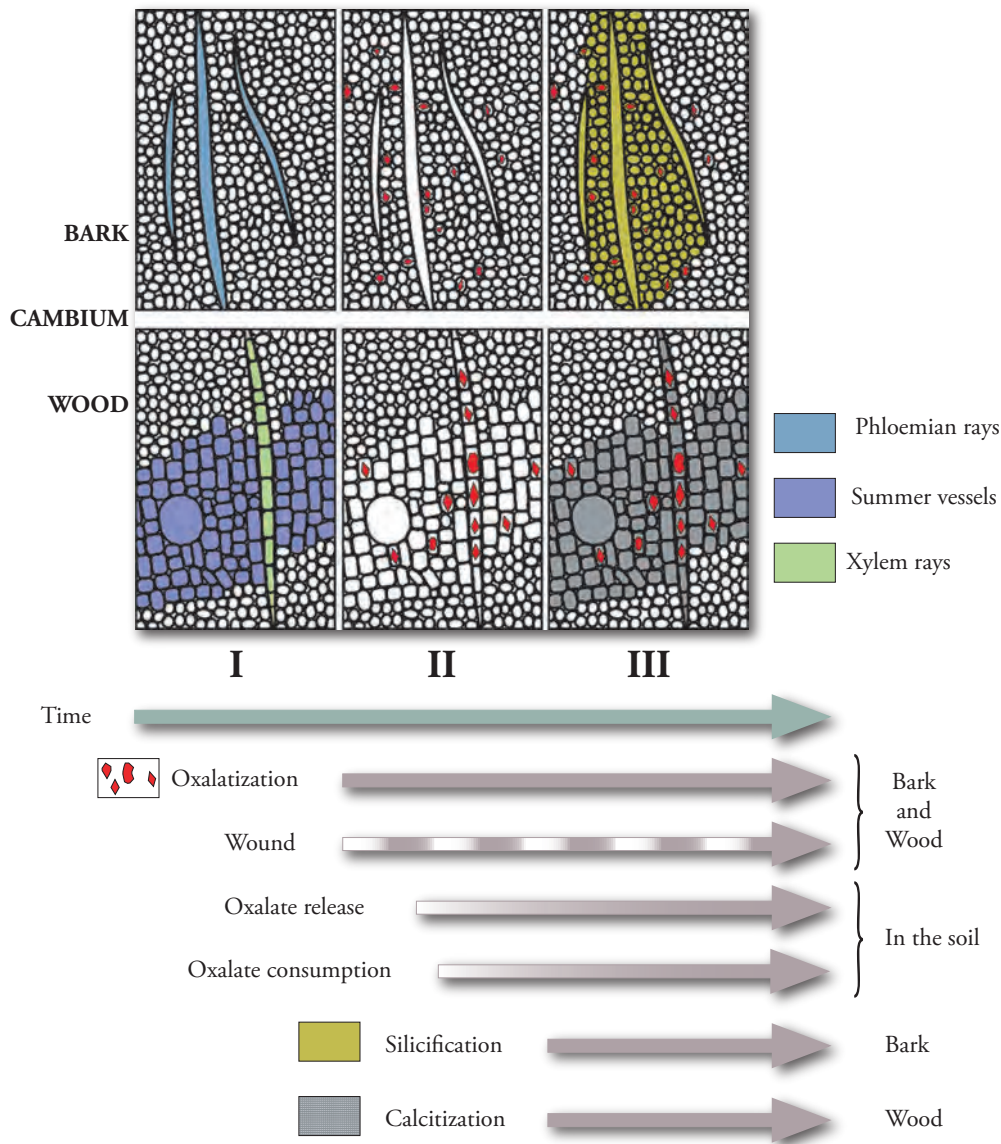


Fig. 4.11 : Séquence événementielle montrant les étapes importantes menant à la carbonatation de l'arbre. Lors de la croissance de l'arbre, l'oxalatisation des tissus est la première étape. La whewellite apparaît à la fois dans l'écorce et dans les tissus du bois. Si des blessures affectant l'arbre apparaissent, la consommation de l'oxalate débute, mais celle-ci ne sera vraiment effective en grande proportion qu'après la libération des cristaux d'oxalate dans le sol. Cette étape semble grandement "catalysée" par la présence de termites attaquant les tissus du bois. L'intervention des champignons saprophytes dans le sol doit aussi être importante. Dans le sol, l'oxalate est oxydé par les bactéries oxalotrophes présentes dans le sol. Cette consommation s'accompagne de la libération d'ions carbonate en solution. Pompée par les racines de l'arbre, la solution du sol, riche en ions carbonate permet la calcitisation des tissus du bois de l'iroko avec localement un remplissage complet des vaisseaux conducteurs de la sève montante. La silicification est interprétée comme synchronique de la calcitisation, mais si elle est clairement postérieure à l'oxalatisation, sa datation reste problématique.

Sequence of significant steps that lead to the calcitisation of the tree. Oxalate is the first main step observed. Whewellite is formed in the bark and the wood tissues. If wounds are inflicted to the tree, oxalate consumption can start, but it is really efficient only after the release of a large quantity of oxalate crystals in the soil. This step is "catalyzed" in the presence of termites attacking the iroko tree. Saprophytic fungi intervention might be important. In the soil, oxidation of calcium oxalate by soil oxalotrophic bacteria starts, and leads to the release of carbonate ions. These ions, present in soil parent solution are pumped by the roots and can locally precipitate as calcium carbonate in the wood tissues (e.g. conductive vessels). Silicification is interpreted as synchronous of calcitisation but if the amorphous silica appears after oxalate, its timing remains unclear.

Partie II L'écosystème iroko et les isotopes du carbone

Dans la partie précédente, un modèle présentant les différents processus, les agents intervenant, et les flux de matière, a été construit au sein de ce que l'on qualifie d'écosystème iroko. L'objet de cette partie est de tester la validité de ce modèle élaboré d'après l'étude pétrographique et les observations de terrain. Ce test est fondé sur l'étude des isotopes des différentes phases carbonatées identifiées ainsi que l'oxalate de calcium présent dans les tissus du bois. Ces dernières sont-elles en accord avec le modèle? Un inventaire le plus complet possible des différentes phases est donc entrepris ici. Ce dernier est essentiellement fondé sur des données de Côte d'Ivoire; néanmoins, certaines données proviennent également du Cameroun. Leur provenance sera alors mentionnée.

4.5 Dans l'arbre

4.5.1 La matière organique

Six échantillons de tissus d'iroko ont été analysés pour déterminer leur $\delta^{13}\text{C}$. Une moyenne de -25.9 ± 1.4 ‰ a été mesurée. Ceci est typique des plantes C3 dont on attend une signature $\delta^{13}\text{C}$ proche de -26 ‰.

4.5.2 L'oxalate de calcium

L'oxalate de calcium présent dans les racines et dans l'écorce de trois irokos a été analysé. Les échantillons proviennent de l'écorce d'un iroko de Biga (Côte d'Ivoire; $\delta^{13}\text{C} = -19.0$ ‰), de l'écorce d'un iroko du Cameroun ($\delta^{13}\text{C} = -17.2$ ‰) et enfin d'un échantillon provenant d'une racine d'iroko de Kani (Côte d'Ivoire; $\delta^{13}\text{C} = -19.8$ ‰). La valeur moyenne du $\delta^{13}\text{C}$ est de -18.7 ± 1.3 ‰. Ceci donne donc une différence entre l'oxalate et la matière organique de 7.2 ‰. Cette différence entre ces signatures est tout à fait comparable à la différence de 6.5 ‰ mesurée par Beazley et al. (2002) entre l'oxalate produit par les lichens et les tissus organiques de ces derniers.

4.5.3 Le carbonate de calcium

Dans les fragments de bois minéralisés prélevés dans le profil à l'intérieur du tronc creux de l'iroko (profil B), des cristaux de calcite ayant rempli les vaisseaux conducteurs ont été isolés. Ces échantillons, exclusivement ivoiriens, ont une valeur moyenne pour le $\delta^{13}\text{C}$ de -7.02 ± 2.86 ‰. Dans ces mêmes fragments, des fibres de celluloses pseudomorphosées par la calcite, liées ou non à des cellules du parenchyme, elles-mêmes calcitisées, ont été prélevées. La valeur moyenne du $\delta^{13}\text{C}$ mesuré est de -7.05 ± 1.64 ‰. Enfin, diverses sécrétions ont été prélevées sur des troncs d'irokos. Exclusivement camerounais, ces échantillons ont une valeur moyenne pour le $\delta^{13}\text{C}$ de -5.43 ± 2.17 ‰.

4.6 Dans le sol

Premièrement, une analyse systématique du $\delta^{13}\text{C}$ a été entreprise pour les échantillons de sol ayant une teneur suffisante en CaCO_3 dans les divers profils réalisés en Côte d'Ivoire et au Cameroun. Ces résultats sont compilés dans la figure (4.12).

Les échantillons du profil (B), sous le tronc du site de Biga, qui sont un mélange de la matrice originelle du sol avec des débris de bois calcifiés, montrent une faible variabilité, avec une valeur moyenne de -7.86 ± 1.06 ‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$. Dans le profil (A), seuls les quatre premiers échantillons ont une teneur suffisante en carbonate pour être analysés. Comparés au profil (B), les valeurs obtenues ont une moyenne de -11.74 ± 2.06 ‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$. Le profil effectué sous le tronc de l'iroko du site de Mankaré au Cameroun montre des valeurs plus négatives, le $\delta^{13}\text{C}$ ayant une moyenne de -10.69 ± 1.6 ‰. Comme il a été démontré (Cailleau et al. 2005), des cristaux de calcite à structures atypiques ont été décrits dans le profil (A) et ont été reproduits en laboratoire par combustion de fragments de bois. Les trois mêmes échantillons qui ont servi pour la caractérisation de la signature isotopique du C ont été dans un premier temps brûlé, puis le charbon de bois renfermant le carbonate néoformé, analysé. Le carbonate présent dans l'échantillon brûlé provenant de l'écorce d'un iroko de Biga (Côte d'Ivoire) a un $\delta^{13}\text{C} = -17.12$ ‰, et celui du Cameroun un $\delta^{13}\text{C} = -14.62$ ‰. Le carbonate d'un échantillon brûlé provenant d'une racine de Kani (Côte d'Ivoire) montre un $\delta^{13}\text{C} = -18.28$ ‰. La valeur moyenne du $\delta^{13}\text{C}$ des ces carbonate issus de la transformation de l'oxalate en carbonate par combustion à 500°C , est de -16.67 ± 1.87 ‰. On en déduit des fractionnements de -1.9 ‰, -2.6 ‰ et -1.5 ‰ (pour l'écorce du site de Biga, celle du Cameroun et la racine du site de Kani respectivement), ce qui donne une moyenne pour ce fractionnement, un $\delta^{13}\text{C} = -2.0 \pm 0.5$ ‰.

Un bloc de carbonate a très clairement été identifié comme étant les restes d'une racine partiellement minéralisées (Cailleau et al. 2005, cf Chapitre précédent). Cet échantillon a un $\delta^{13}\text{C}$ égal à -6.68 ‰. Le $\delta^{13}\text{C}$ moyen de tous les échantillons de carbonate échantillonnés autour de l'iroko de Biga est de -6.71 ± 5.03 ‰. Néanmoins, il faut bien considérer qu'un biais est créé lors de l'échantillonnage car certaines phases ont été plus échantillonnées que d'autres, de même que du fait de leur faible teneur en carbonate, certains échantillons n'ont pu être analysés.

4.7 Discussion

En se fondant sur le modèle pétrographique proposé dans la première partie de ce chapitre, et en tenant compte des différentes voies mises en évidence, on peut définir son équivalent pour les isotopes (Fig. 4.13). Cette synthèse est-elle cohérente ?

La signature isotopique du carbonate présent dans la sève et déduite à partir des remplissages calcitiques des vaisseaux conducteurs est tout à fait similaire de celles des pseudomorphoses calcitiques des tissus du bois. Ceci est cohérent avec l'hypothèse selon laquelle c'est la sève circulant dans les vaisseaux conducteurs qui est le vecteur de la minéralisation calcitique. De même, le $\delta^{13}\text{C}$ moyen des échantillons du profil (B) est relativement proche (-7.86 ± 1.06 ‰) car constitué par le démantèlement des dalles de bois partiellement minéralisées tombant

Sample n°	$\delta^{13}\text{C}$	Depth (in m)	Sample n°	$\delta^{13}\text{C}$	Depth (in m)
Cameroon			MAS_43	-11.34	1.00
Profile below the trunk			MAS_42	-11.79	1.05
MAS_63	-8.63	0.00	MAS_41	-11.55	1.10
MAS_62	-9.10	0.05	MAS_40	-12.08	1.15
MAS_61	-8.20	0.10	MAS_39	-12.55	1.20
MAS_60	-10.14	0.15	MAS_38	-10.85	1.25
MAS_59	-11.46	0.20	Ivory Coast		
MAS_58	-10.07	0.25	Profile near the trunk		
MAS_57	-10.64	0.30	CIC 037	-12.56	0.00
MAS_56	-6.86	0.35	CIC 038	-10.45	0.05
MAS_55	-7.99	0.40	CIC 039	-14.23	0.10
MAS_54	-10.54	0.45	CIC 041	-9.70	0.20
MAS_53	-9.33	0.50	Profile below the trunk		
MAS_52	-9.78	0.55	CIC 059	-8.93	0.20
MAS_51	-10.88	0.60	CIC 060	-8.39	0.30
MAS_50	-10.61	0.65	CIC 061	-7.91	0.40
MAS_49	-11.34	0.70	CIC 062	-8.93	0.50
MAS_48	-12.4	0.75	CIC 063	-6.46	0.60
MAS_47	-13.55	0.80	CIC 064	-6.96	0.70
MAS_46	-12.00	0.85	CIC 065	-6.53	0.80
MAS_45	-11.77	0.90	CIC 066	-8.74	0.90
MAS_44	-12.38	0.95			

Fig. 4.12 : Compilation des résultats des analyses isotopiques des trois profils où la teneur en carbonate était suffisante pour les analyses.

Summary of isotopic analyses of the three profiles in which the carbonate content is sufficient for the analyses.

sur le sol à l'intérieur du tronc creux. La variation peut sans doute être imputée à un début de diagenèse de l'oxalate abondant, se transformant en carbonate, ou à des processus de dissolution-reprécipitation avec un mélange du CO_2 de l'atmosphère du sol dans la solution intermédiaire. Pour rappel, le CO_2 de l'atmosphère du sol a un $\delta^{13}\text{C}$ logiquement plus négatif car en partie issu de la dégradation de la matière organique ayant un $\delta^{13}\text{C}$ moyen de -25.9 ± 1.4 ‰.

Les sécrétions trouvées sur les troncs sont moins négatives qu'attendues d'après les remplissages des vaisseaux conducteurs. Le $\delta^{13}\text{C}$ est plus élevé de 1.6 ‰ environ. On peut envisager qu'un dégazage de CO_2 de la sève puisse légèrement favoriser une concentration en isotope lourd, ou qu'un mélange avec le CO_2 atmosphérique, aérien cette fois ait les mêmes conséquences ; la sève s'écoulant sur le tronc induirait alors de telles valeurs.

Les valeurs très négatives mesurées dans le profil (A), à côté de l'iroko, comparées à celles du profil (B), tous deux sur le site de Biga, peuvent s'expliquer par la présence des cristaux à structures atypiques. Ces derniers, recréés expérimentalement, ont des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ très négatives, en moyenne de -16.67 ± 1.87 ‰. Dans le profil (A), on observe des valeurs variant dans les premiers centimètres de -12.56 ‰ à -10.45 ‰. Sachant que la signature globale des carbonates est en moyenne de -6.71 ± 5.03 ‰, l'influence de ce type de carbonate néoformé (par combustion de bois et transformation de l'oxalate) incorporé dans les premiers centimètres du sol est fortement suspectée.

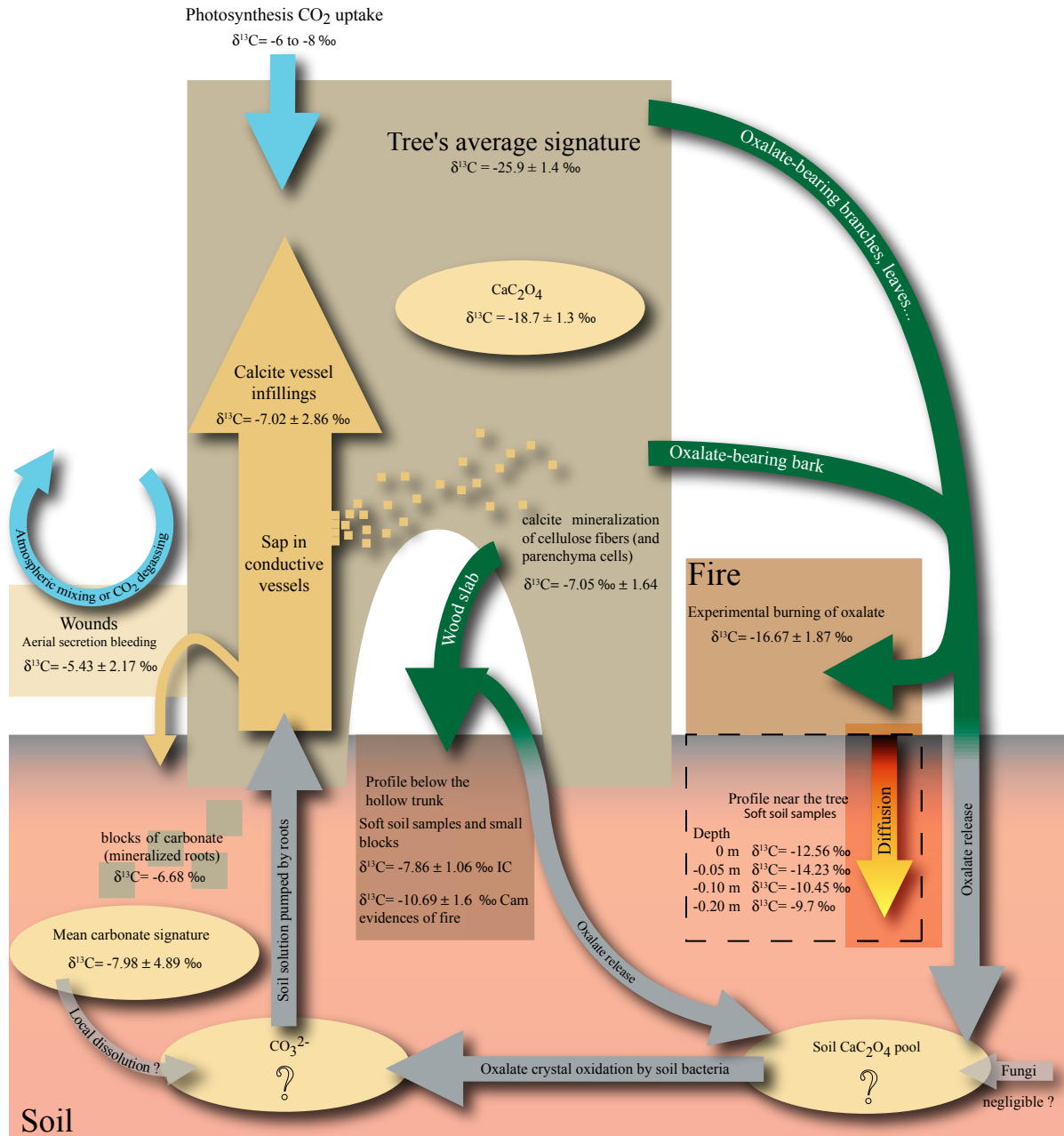


Fig. 4.13 : Schéma de synthèse décrivant les divers flux et relations entre les réservoirs de carbone. La signature isotopique des différentes phases de carbonate ainsi que de l'oxalate de calcium est replacée dans le contexte global, à la fois des processus, des agents impliqués, et les flux de matière dans l'écosystème iroko déterminé d'après l'étude pétrographique. (IC: Côte d'Ivoire; Cam: Cameroun).

Synthetic sketch describing the diverse fluxes and relationships between the different pools of carbon. The isotopic signature of the different carbonate phases and the calcium oxalate is replaced in the global context of the processes, the agents, and the fluxes determined in the iroko ecosystem from the petrographic study. (IC: Ivory Coast; Cam: Cameroon).

Quantification du puits de carbone

Chapitre 5 Essai de quantification du puits de carbone “iroko”

La recherche sur les changements climatiques se focalise sur l'étude du cycle du carbone sur la Terre et particulièrement sur les teneurs en CO₂ de l'atmosphère, responsable de l'effet de serre et du réchauffement de notre planète. Si dans le monde marin, les puits de carbone lié aux océans sont relativement bien compris, le domaine continental lui, reste très mal connu. On résume ce dernier quasi exclusivement par le puits de carbone que constitue la matière organique produite ou enfouie. L'une des problématiques de ce travail est de définir et quantifier les accumulations de carbonate de calcium autour de l'iroko. Reprenant les travaux de Cailleau et al. (2004) au regard de données nouvelles, cette étude ne cherche pas à prendre en compte les différents facteurs intrinsèques du sol tels qu'ils ont été décrits dans le chapitre 3. La discussion de la pertinence de ces résultats sera faite dans le chapitre de discussion générale.

5.1 Qu'est ce qu'un puits de carbone ?

Il s'agit d'un terme à sens multiple, et il faut ici définir sous quel sens il sera utilisé. Le terme puits de carbone est défini suivant les auteurs comme : **soit** un flux au sens strict à savoir, l'action de consommer du carbone présent dans un réservoir pour le transférer dans un autre quelle que soit sa source initiale, **soit** l'action de consommer du carbone présent dans un réservoir pour le transformer sous une forme différente qui s'accumule (e.g. source initiale: du CO₂ atmosphérique; forme finale: du carbonate); ce nouveau réservoir présente un bilan entrées/sorties supérieur à 1 (Elbersen et al. 1999) contrairement à la première définition. C'est cette deuxième définition qui sera utilisée.

Un exemple type est le problème des accumulations de carbonate dans les sols. Savoir si ces accumulations de carbonate sont des puits de carbone est une question souvent rencontrée dans la littérature scientifique. Le carbone piégé dans le sol, sous forme de carbonate (donc sous forme minérale) peut avoir diverses origines: organique, minérale (roche mère) ou atmosphérique (CO₂). C'est en traçant le calcium que l'on peut déterminer si l'origine de ce dernier est une forme carbonatée initiale et donc si l'accumulation piège réellement un carbone non hérité. La figure (5.1) illustre cette définition.

5.2 Quantification des accumulations de carbonate autour d'un Iroko.

Site de Côte d'Ivoire

Situé dans environnement de savane arborée, le village de Biga compte de nombreuses plantations dans lesquelles on trouve encore des irokos. L'arbre étudié avait été coupé un

an auparavant, ce qui a permis de creuser une fosse pédologique depuis l'extérieur du tronc vers l'intérieur.

Le site étudié se situe à moins de 5 km à l'Est du site étudié par Carozzi (1967), plus précisément à 1.5 km au Sud du village de Biga, 6°29'W, 6°36'N (Fig. localisation, chapitre méthodologies). Nos observations préliminaires montrent que dans la région, la roche mère des sols est un granite calco-alcalin (Carozzi, 1967). Le test à l'acide chlorhydrique montre une effervescence du sol jusqu'à 4.5 m du centre du tronc. On en déduit une auréole de présence de carbonate sur un disque de 9 m de diamètre ; au-delà de cette auréole il n'y a plus de carbonate détectable.

5.3 Résultats

5.3.1 Description des deux profils

Le profil A, un sol ferrallitique modifié due aux accumulations de carbonate, est décrit dans la figure (5.2). Le profil B (Fig. 5.3) est le résultat de l'activité des termites sous le tronc mais également dans le tronc et montre l'importante incorporation de résidus de bois minéralisés. Les caractéristiques d'un sol ferrallitique ne sont visibles que dans les derniers centimètres du profil.

5.3.2 Méthode d'échantillonnage

Deux profils ont été réalisés dans une fosse pédologique de 1 m de profondeur (profondeur qui est approximativement la limite entre la roche-mère et l'horizon d'altération de celle-ci). Le profil A se situe à 1.30 m du centre du tronc (à environ une trentaine de centimètres de l'extérieur du tronc) ; le profil B se situe quant à lui au centre du tronc. Une stratégie d'échantillonnage tous les 5 cm a été réalisée sur le profil A au regard des tests à l'acide pratiqués le long de la fosse pédologique. Pour le profil à l'intérieur du tronc, un échantillonnage tous les 10 cm a été pratiqué, excepté pour les 15 premiers centimètres clairement anthropiques (sciure de tronçonneuse, début de formation de litière, etc.).

Dans le but de pouvoir déterminer l'apport en calcium par les précipitations de pluies locales ont été échantillonnées ainsi que les eaux marécageuses, image du lessivage des sols locaux.

5.3.3 Méthode de dosage du calcaire total

L'importante différence de teneur en carbonate entre les deux profils implique l'utilisation de deux méthodes de dosage différentes. Pour les échantillons dont la teneur en carbonate est inférieure à 20 % (% massique), le protocole suivant a été appliqué :

1 g d'échantillon broyé (pesé sur une balance de précision 0.001 g) a été dissous par un mélange de 25 ml de H₂SO₄ 0.5 N et 125 ml d'eau déionisée. L'échantillon est alors placé au bain-marie à 90°C pendant 1 heure. On détermine ensuite la teneur en carbonate par dosage en retour avec une solution de NaOH 0.5 N.

La deuxième méthode de détermination de la teneur en carbonate pour les échantillons ayant plus de 20 % de carbonate est un dosage par perte de masse :

Equation of the system

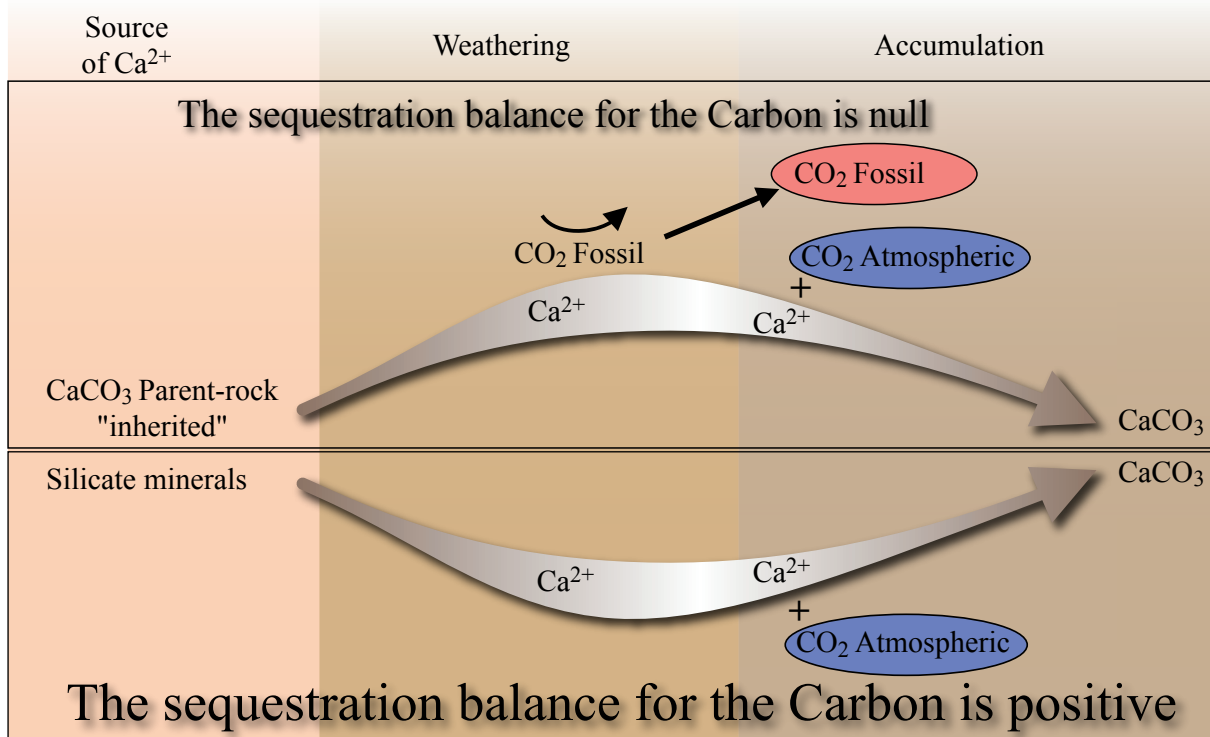
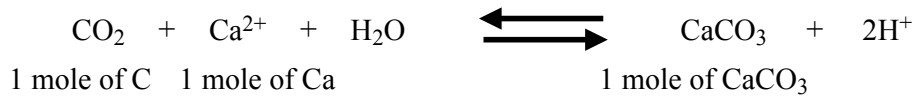


Fig. 5.1 : Schéma synthétique illustrant la définition d'un puits de carbone. Une accumulation secondaire carbonatée ne peut constituer un puits de carbone si sa source initiale de calcium est déjà un carbonate. Si le calcium est fourni sous forme aqueuse par les précipitations, ou provient de l'altération de minéraux silicatés comme les plagioclases par exemple, on peut parler de puits de carbone.

Synthetic sketch illustrating the definition of a carbon sink. If the initial source of calcium is a carbonate, a secondary accumulation of carbonate cannot constitute a carbon sink. If the calcium is provided in aqueous solution by precipitations, or comes from the weathering of silicate minerals such as plagioclases, we are in the presence of a carbon sink.

1 g d'échantillon broyé, pesé sur une balance de précision 0.0001 g et séché à 80 °C pendant 48 h) est dissous dans 50 ml d'HCl 10 % pendant une heure. L'échantillon est alors filtré sur un filtre millipore® 0.45 µm préalablement séché et pesé. Séché dans les mêmes conditions que précédemment, l'échantillon est de nouveau pesé pour déterminer la masse de carbonate disparu (en tenant compte de la masse du filtre).

Les résultats sont donnés dans la figure (5.4). Le profil A montre des valeurs de teneur en carbonate variant de 0 à 16.5 % (masse de carbonate/masse de sol). Dans la partie supérieure du profil (0-20 cm) la teneur est supérieure à 11 %. De 20 à 60 cm de profondeur, on voit une décroissance de 16.5 % à moins de 1 % de la teneur en carbonate. De 60 cm à 1 m de profondeur, la teneur en carbonate est très faible (toujours inférieure à 1 %) et tend franchement vers 0 à partir de 90 cm de profondeur. Le profil B est quant à lui riche en carbonate, hormis l'échantillon à 1 m de profondeur, la teneur en carbonate est toujours supérieure à 31 %. L'échantillon le plus profond ne présente que 2.7 % de carbonate.

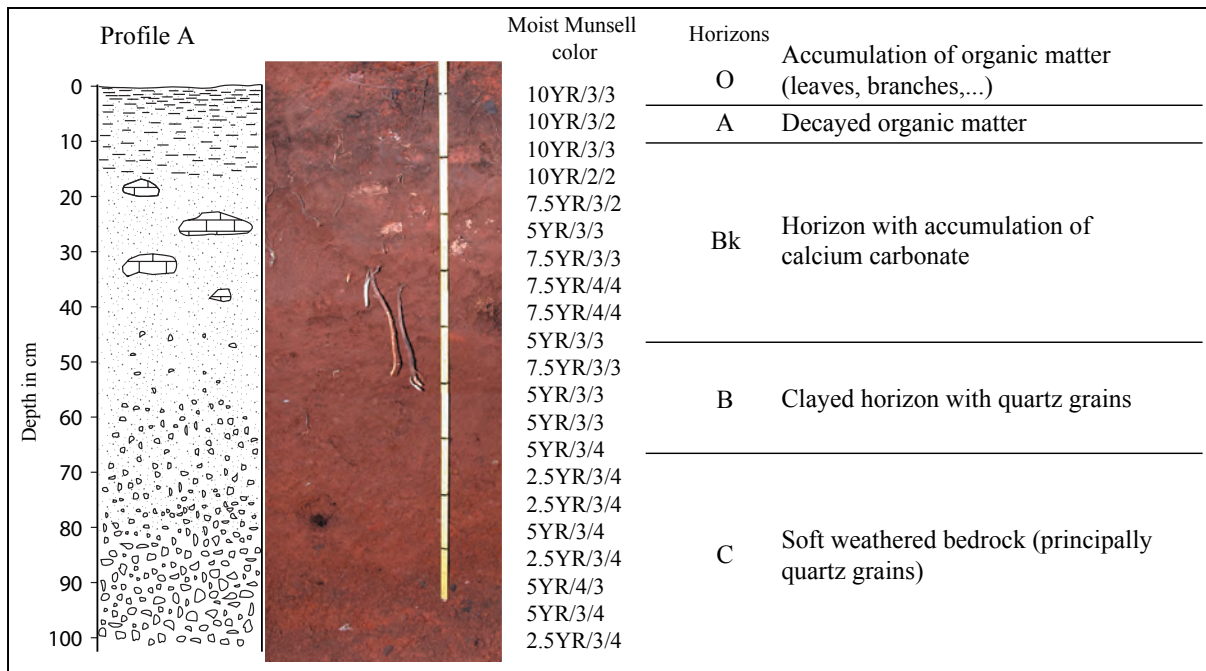


Fig. 5.2 : Situé à 1.20 m du centre du tronc, il s'agit d'un sol ferrallitique modifié suite à l'accumulation de carbonate de calcium, soit sous forme de blocs pluri-centimétriques soit sous forme de grains millimétriques.

At 1.2 m from the centre of the trunk, the soil can be defined as a ferrallitic soil modified by the accumulation of carbonate, either as pluri-centimeter blocks or as millimetric grains.

5.4 Quantification

5.4.1 Quantification de la masse de carbonate autour de l'arbre

Deux ensembles sont considérés ici : le profil B caractérisé par un cylindre (rayon=0.5m et hauteur=1m) et le profil A caractérisé par un tore (rayon interne=0.5m, rayon externe=4.5m et hauteur=1m). On estimera ici que pour une profondeur x, la teneur en carbonate est constante au sein de chaque ensemble. De plus, pour une simplification des calculs, une moyenne est réalisée pour des sous-ensembles de 20 cm d'épaisseur comme cela est indiqué dans la figure (5.5).

Après avoir déterminé la masse volumique des différents profils (profil A : 2449.796 kg/m³, profil B : 2185.091 kg/m³) et le volume de chaque sous-ensemble (tore et cylindre de 20 cm de hauteur), on est en mesure de calculer la masse de carbonate accumulé dans le sol. Sachant qu'une mole de carbone présente dans une mole de carbonate représente 12 % de la masse de cette dernière, on peut déduire la masse de carbone piégée sous forme minérale dans le sol. La figure (5.6) résume les valeurs obtenues par couche de 20 cm.

On estime donc une masse totale de carbonate de 8164.22 kg accumulée dans le sol autour de l'arbre ce qui représente 979.71 kg de carbone minéral. Par volonté de sous-estimer le stock de carbonate plutôt que de le surestimer (pour des calculs ultérieurs), cette étude ne tient pas compte des blocs de carbonates épars, difficiles à prendre en compte et pouvant atteindre 2 kg, ni de la souche partiellement minéralisée.

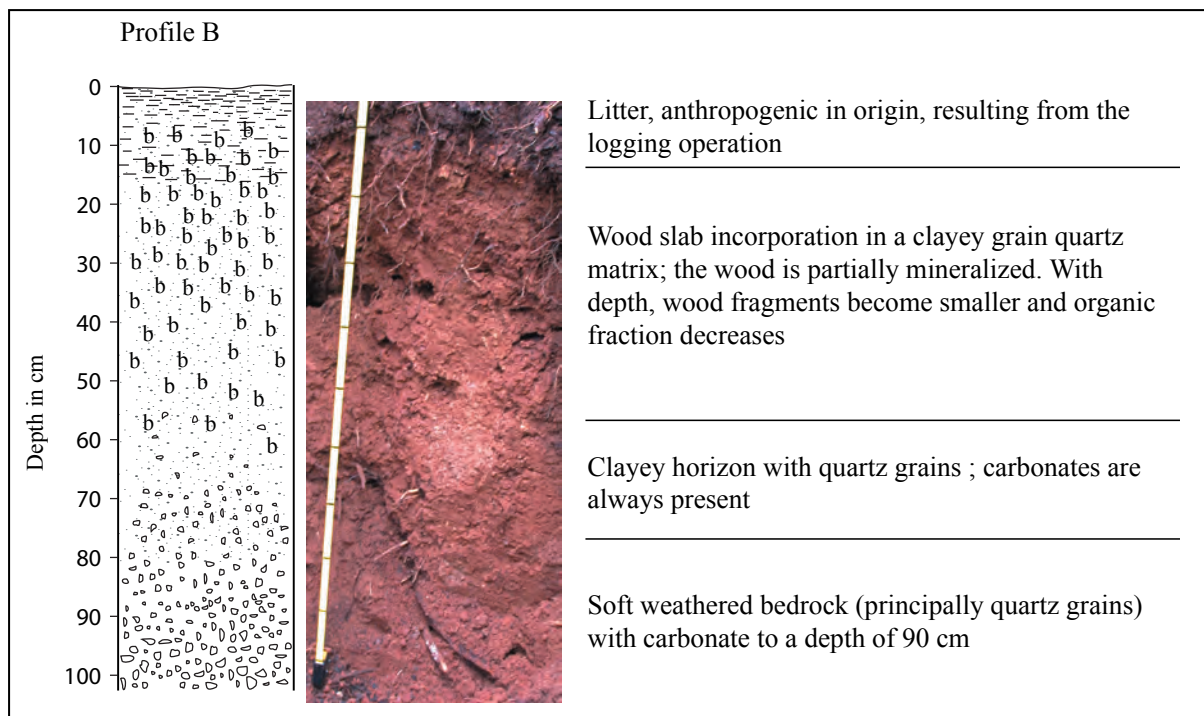


Fig. 5.3 : Situé au centre du tronc de l'iroko, ce profil, anthropique sur ses 15 premiers centimètres, montre une forte incorporation de débris de bois. Les observations préliminaires permettaient de définir une teneur en carbonate bien plus importante que pour le profil A. A la limite entre la zone clairement anthropique et la zone sous-jacente, des dalles de bois partiellement minéralisées (pluri-centimétriques) sont présentes et laissent place à de plus petits fragments en profondeur. b : fragments de bois.

In the center of the hollow trunk, the profile, anthropogenic in its first 15 cm, contains many wood decaying fragments. Preliminary observations allowed the measurement of a higher carbonate content than in the A profile. At the limit of anthropogenic soil (created since the logging of the tree) several wood slab have been found, whereas smaller ones are found deeper. b : wood fragments.

5.4.2 Les accumulations de carbonate de calcium autour de l'iroko constituent-elles un puits de carbone?

Pour répondre à cette question nous devons déterminer l'origine du calcium présent dans les carbonates. Trois sources de calcium ont été identifiées dans l'écosystème iroko : 1/ la roche-mère granitique, et plus particulièrement les plagioclases qui la composent (oligoclases, mais potentiellement certains pyroxènes et amphiboles). Au regard des taux d'altérations mentionnés dans la littérature et de la teneur moyenne en calcium de cette roche mère, celle-ci peut fournir entre 0.03 et 1.43 kg/ha/an de calcium ; 2/ les poussières apportées par l'Harmattan, un vent du nord-est soufflant de Décembre à Janvier. L'analyse aux rayons X de ces poussières n'a révélé que la présence de quartz et de kaolinite (Stoorvogel et al. 1997). Ces minéraux ne comportant pas de calcium dans leur structure et la kaolinite n'étant pas capable d'adsorber le Ca^{2+} , le calcium doit être apporté par un autre support. Il est fort probable que le calcium soit piégé dans la matière organique transportée par les vents. On estime l'apport de cette source à 3.5 kg/ha/an de calcium ; 3/ les précipitations. Le calcium fournit par les pluies (2500 mm/an) est sous forme dissoute, donc à l'état ionique. L'analyse de 2 échantillons de pluies permet de déterminer que 5.4 à 4.8 kg/ha/an de calcium sont fournis au sol. Ces valeurs sont en accord avec la moyenne de 6.5 kg/ha/an de calcium déterminée

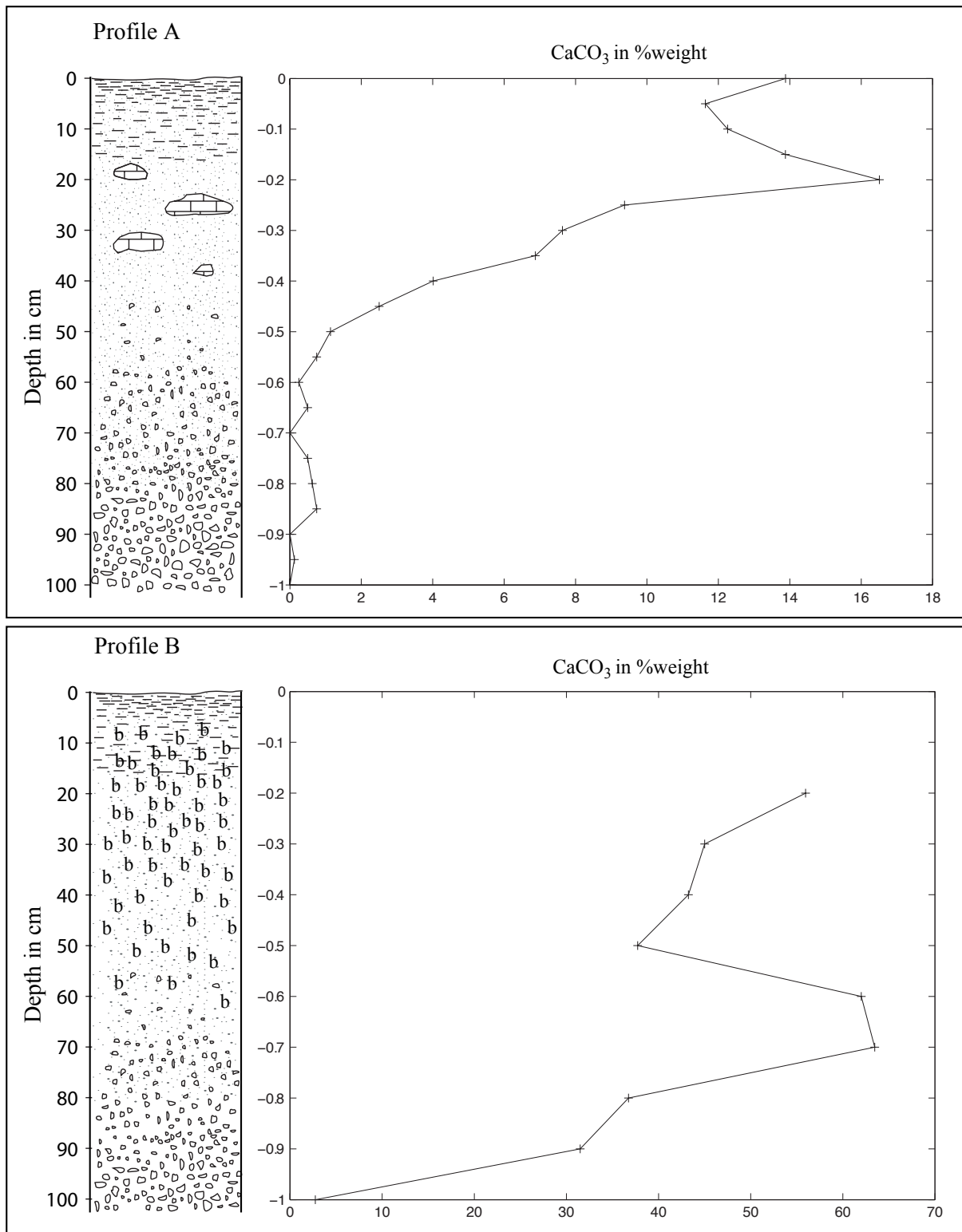


Fig. 5.4 : Courbes décrivant l'évolution des teneurs en carbonate en fonction de la profondeur pour les deux profils étudiés. b : fragments de bois.

Curves describing the carbonate content evolution in function of depth for the two profiles. b : wood fragments.

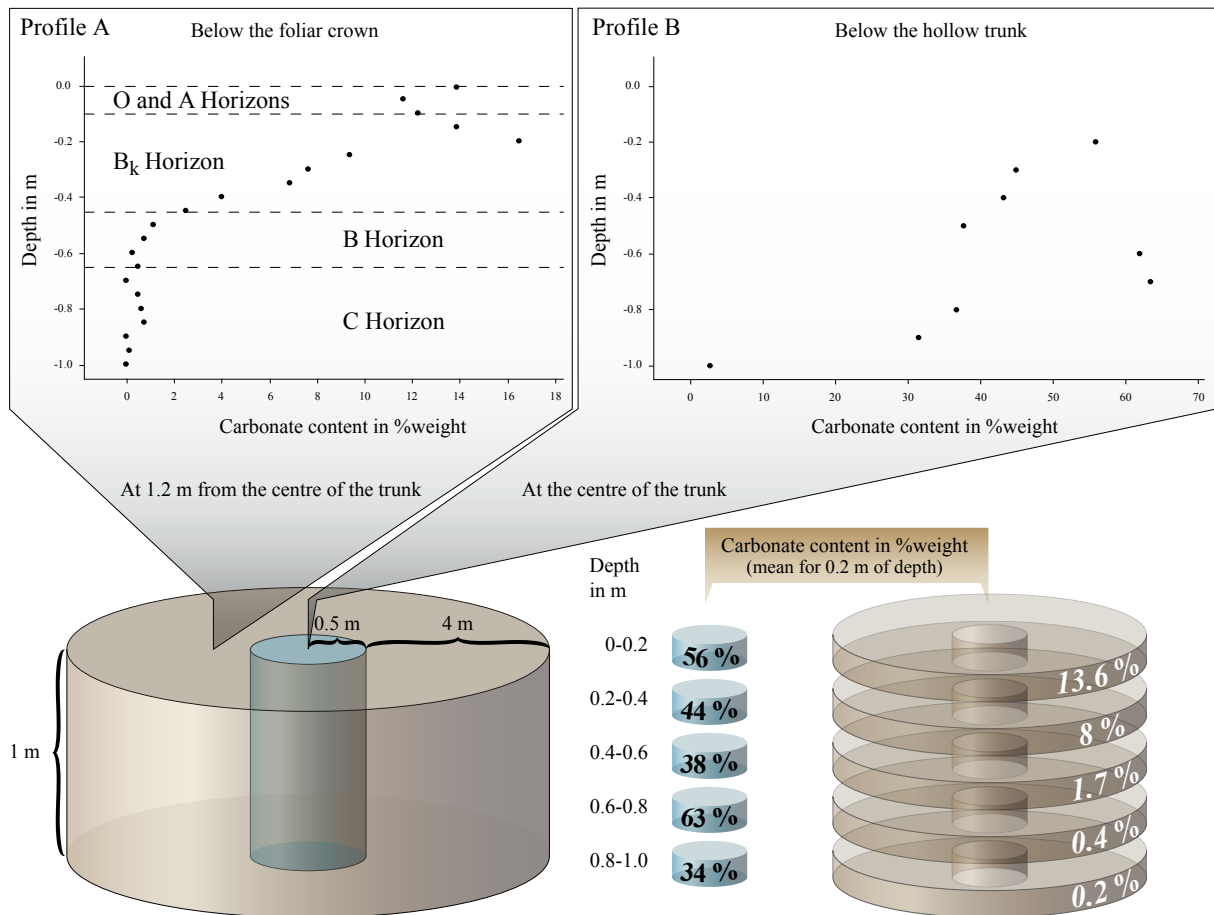


Fig. 5.5 : Pour quantifier la teneur en carbonate présent autour de l'iroko du site de Biga, dix volumes de différentes profondeurs dont la teneur en carbonate est connue sont définis.

In order to quantify the carbonate content present around the iroko tree of the Biga site, 10 volumes at different depths with known carbonate content have been defined.

à partir de 19 échantillons de pluie par Stoorvogel et al. (1997).

En l'absence d'apport de calcium sous forme de carbonate, et en nous fondant sur la définition du puits de carbone de Elbersen et al. (1999), nous pouvons affirmer que **les accumulations de carbonate dans le sol autour de l'iroko constituent un puits de carbone.**

5.4.3 Dynamique du système

En vue d'estimer les flux et connaissant la masse de carbonate piégée tout au long de la vie de l'arbre, une datation a été entreprise. La datation n'a pas pu être effectuée sur l'iroko de Biga, car le cœur du tronc de l'arbre, partie la plus âgée de l'arbre, était manquant. L'estimation de l'âge a donc été effectuée sur un arbre de diamètre similaire étudié au Cameroun. Les datations au carbone 14 ont donné un âge de 170 ± 30 ans BP pour le cœur de l'arbre. Cette donnée corrige les estimations fondées sur les témoignages des prospecteurs de bois locaux qui donnaient un âge de 80 ans pour un arbre de même gabarit (Cailleau et al., 2004). On peut donc déduire que sur 170 ans **un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an** (calcul ne prenant pas en compte les blocs de carbonate ainsi que la souche partiellement minéralisée).

Torus (profile A)

Depth (in cm)	%CaCO ₃	Mass of CaCO ₃	Mass of C
0-20	13.6	4186.8	502.4
20-40	8	2462.8	295.5
40-60	1.7	523.4	62.8
60-80	0.4	123.1	14.8
80-100	0.2	61.6	7.4

Cylinder (profile B)

Depth (in cm)	%CaCO ₃	Mass of CaCO ₃	Mass of C
0-20	56	192.2	23.1
20-40	44	151.0	18.1
40-60	38	130.4	15.7
60-80	63	216.2	26.0
80-100	34	116.7	14.0

Fig. 5.6 : Masses de carbonate (en kg) déduites pour les différentes tranches de profondeur, pour le tore et pour le cylindre central.

Masses of carbonate (in kg) calculated at different depths, for the torus and the central cylinder.

5.4.4 Essai de quantification globale

Une projection à une échelle plus globale de ce puits de carbone est entreprise. Cette voie doit s'affranchir des informations très fragmentaires liées: 1/ à la densité d'irokos à l'hectare; 2/ à la proportion d'irokos minéralisés (on ignore si tous le sont); 3/ à la superficie de forêt actuellement en Côte d'Ivoire (connaître la superficie de forêt originelle pourrait permettre de connaître l'impact de la déforestation).

La densité d'iroko à l'hectare

Nos observations personnelles lors des périodes de prospection en Côte d'Ivoire montrent des variations importantes de 0.4 à 2 pieds en moyenne à l'hectare (la plus forte densité n'a été observée que dans une forêt protégée dans la région de Kani, 6°36'W, 8°28'N). La dernière mission au Cameroun a permis l'acquisition auprès de la Société d'Exploitations Forestières du Noun de données sur la répartition des irokos sur de bien plus grandes superficies. La prospection effectuée sur deux parcelles différentes de 2500 ha chacune a révélé la présence de 0.1416 pieds/ha (parcelle Hazim) et 0.261 pieds/ha (parcelle Acio). Ces données sont beaucoup moindres que les 1 à 3 pieds à l'hectare (dont le diamètre est "de 80 cm à hauteur d'homme") cités par R.J.W. Aluma, maître de conférences en génie forestier à l'Université Makerere, Kampala, Ouganda (FAO, 2003).

La proportion d'irokos minéralisés

Les premières observations en Côte d'Ivoire nous fournissent des enseignements importants : Tous les arbres trouvés présentaient des minéralisations plus ou moins importantes. Le plus petit iroko étudié (diamètre de 40 cm) présentait une blessure d'où suintait une sécrétion réagissant à l'HCl. Les plus gros arbres étaient tous fortement minéralisés. La dernière

mission au Cameroun en liaison avec la SEFN a fourni des informations différentes. Sur 11 arbres 3 n'étaient pas minéralisées, et l'un d'eux avait un diamètre de 60 cm environ. D'après les informations obtenues auprès des exploitants forestiers de la SEFN, **1/3 des irokos rencontrés sont fortement minéralisés et leur posent un problème de sciage**. Ce qui ne signifie pas qu'ils soient dépourvus de minéralisation.

La superficie de la forêt en Côte d'Ivoire

Même s'il est intéressant de connaître la superficie de la forêt ivoirienne actuelle, connaître sa superficie originelle (avant la déforestation) permettrait de définir le déficit de séquestration due à cette dernière. Il est admis que la superficie de la forêt tropicale ivoirienne était de 16 millions d'hectares (EFI 2003) et que celle-ci ne représente plus actuellement que 3.5 millions d'hectares (Brou 1999, cité par EFI 2003).

Si le calcul initial de la masse de carbone piégé par an sous forme minérale par un arbre visait à empêcher une surestimation, la globalisation à la Côte d'Ivoire va être entreprise pour donnée une gamme de valeurs minimisant là encore la surestimation. Les résultats obtenus représentent le déficit de séquestration de carbone sous forme minérale entre une forêt originelle et la forêt actuelle de Côte d'Ivoire, par an (cette valeur représente l'impact de la déforestation).

La **valeur basse** prend en compte les critères suivants :

- un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an ;
- la densité d'irokos à l'hectare est de 0.1416 pieds/ha ;
- la proportion d'irokos minéralisés est estimée à 1/3.

Le déficit de séquestration de carbone sous forme de carbonate pour la forêt ivoirienne peut donc être estimé à **$3.4.10^{-6}$ PgC/an (ou GtC/an)**.

La **valeur haute** prend en compte les critères suivants :

- un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an ;
- la densité d'irokos à l'hectare est de 1 pieds/ha ;
- la proportion d'irokos minéralisés est estimée à 100 %.

Le déficit de séquestration de carbone sous forme de carbonate pour la forêt ivoirienne peut alors être estimé à **$7.2.10^{-5}$ PgC/an (ou GtC/an)**.

Ces valeurs ne prennent pas en compte la superficie de la savane (on y trouve aussi des irokos) car il n'y a pas de données sur la densité d'irokos dans ces domaines, le carbone organique associé, les blocs de carbonates de grandes tailles trouvés dans le sol ainsi l'intensité de la minéralisation des souches.

On peut également s'intéresser au puits de carbone sous forme minérale, piégé annuellement par les irokos pour la forêt originelle :

La **valeur basse** prend en compte les critères suivants :

- un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an ;
- la densité d'irokos à l'hectare est de 0.1416 pieds/ha ;
- la proportion d'irokos minéralisés est estimée à 1/3.

La séquestration de carbone sous forme minérale de la forêt ivoirienne originelle est estimée à $4.4.10^{-6}$ PgC/an (ou GtC/an).

La **valeur haute** prend en compte les critères suivants :

- un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an ;
- la densité d'iroko à l'hectare est de 1 pieds/ha ;
- la proportion d'irokos minéralisés est estimée à 100 %.

La séquestration de carbone sous forme minérale de la forêt ivoirienne originelle serait alors estimée à $9.2.10^{-5}$ PgC/an (ou GtC/an).

Dans la même optique, on peut s'intéresser à une évaluation à l'échelle de l'Afrique. Cette voie est contrainte par deux problèmes. Les données relatives à la superficie originelle et actuelle de la forêt humide d'Afrique tropicale sont rares. Il semble qu'un consensus autour d'une superficie originelle de 679.9 millions d'hectares soit établi, ainsi que pour une superficie actuelle de 230.2 millions d'hectares (<http://www.afrol.com/features/10278>; http://carpe.umd.edu/products/PDF_files/Report-WCS1997.pdf).

Le deuxième point discutable repose sur l'incertitude de la répartition de l'iroko sur cette superficie. Néanmoins, pour permettre une comparaison avec des données plus globales, comme celles qui sont fournies par Milliman (1993) pour les taux d'accumulation de carbonate dans les milieux marins, deux évaluations vont être proposées.

L'**évaluation basse** prend en compte les critères suivants:

- un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an ;
- la densité d'iroko à l'hectare est de 0.1416 pieds/ha ;
- la proportion d'irokos minéralisés est estimée à 1/3.

Le déficit de séquestration de carbone pour l'ensemble de la répartition de l'iroko peut être estimé à $1.2.10^{-4}$ PgC/an (ou GtC/an).

L'**évaluation haute** prend en compte les critères suivants :

- un iroko piège en moyenne 5.763 kg de carbone sous forme minérale par an ;
- la densité d'iroko à l'hectare est de 1 pieds/ha ;
- la proportion d'irokos minéralisés est estimée à 100 %.

Le déficit de séquestration de carbone pour l'ensemble de la répartition de l'iroko peut alors être estimé à $2.3. 10^{-3}$ PgC/an (ou GtC/an).

Ces divers calculs peuvent être comparés avec des données déjà compilées dans la littérature scientifique pour les environnements marins (Milliman, 1993). Ces données sont regroupées dans la figure (5.7).

	C accumulation PgC/yr
Coral reef complex	$8.4 \times 10^{-2} \dagger$
Banks/bays	$2.4 \times 10^{-2} \dagger$
Non carbonate shelves	$1.2 \times 10^{-2} \dagger$
Carbonates Shelves	$3.6 \times 10^{-2} \dagger$
<i>Halimeda</i> bioherms	$1.8 \times 10^{-2} \dagger$
Slopes	$4.6 \times 10^{-2} \dagger$
Slopes Imported	$2.4 \times 10^{-2} \dagger$
Enclosed basins	$1.2 \times 10^{-2} \dagger$
Deep sea	$1.3 \times 10^{-1} \dagger$
<i>† Data from Milliman (1993)</i>	
	C sequestration deficit PgC/yr
Due to deforestation and logging of iroko in Ivory Coast	3.4×10^{-6} to 7.2×10^{-5}
Due to deforestation and logging of iroko in all of Africa	1.2×10^{-4} to 2.6×10^{-3}

Fig. 5.7 : Masses de carbone accumulées sous forme de carbonate dans différents environnements marins (Milliman, 1993) comparées aux déficits de séquestration de carbone sous forme minérale calculés suite à la déforestation, à la fois en Côte d'Ivoire et pour l'ensemble de l'Afrique tropicale.

Masses of carbon accumulated for different marine environments (Milliman, 1993) compared to the mineral carbon sink deficit (i.e. as carbonate) due to deforestation for the Ivory Coast and for the whole of tropical Africa.

5.5 Discussion

L'étude des puits de carbone est devenu un centre d'intérêt très important ces dix dernières années car ils sont liés aux études relatives aux changements climatiques. L'IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*; Prentice et al., 2001) nous donne une vision globale des orientations de la recherche en ce domaine. Une particularité de la synthèse fournie par ce groupe de travail (Fig. 5.8), est qu'elle ne prend pas en compte le carbone piégé dans le sol sous forme minérale, i.e. les formations secondaires telles les calcrètes et caliches, accumulations de carbonate de calcium bien connues. Elles ne sont pas prises en compte car, en général, les processus les régissant sont mal connus. Mais également, on les interprète généralement comme une redistribution de carbonate déjà présent dans ces sols (ce qui signifie qu'elles ne constitueraient pas un puits de carbone). Selon les données compilées par Milliman (1993), hormis les carbonates s'accumulant dans les zones marines profondes, on estime que l'on piège dans les différents types d'environnements (récifs coralliens, plateaux continentaux, etc.), pour chacun de l'ordre de 1.10^{-2} PgC/an pour chacun d'entre eux. De même, même si les chiffres sont sujets à discussion, on estime que le volcanisme global (sub-aérien et sous-marin) émet entre $2.73.10^{-2}$ et 10^{-1} PgC par an (Le Cloarec et Marty 1991; Marty et Tolstikhin 1998; Sano et Williams 1996 dans Mörner et Etiope, 2002).

Le déficit de séquestration de carbone due à la déforestation en Côte d'Ivoire est estimé entre $3.4.10^{-6}$ et $7.2.10^{-5}$ PgC/an et la forêt ivoirienne originelle devait stocker de $4.4.10^{-6}$ à $9.2.10^{-5}$ PgC/an. On constate donc que l'estimation de ce puits de carbone lié à l'iroko,

Carbon cycling on land

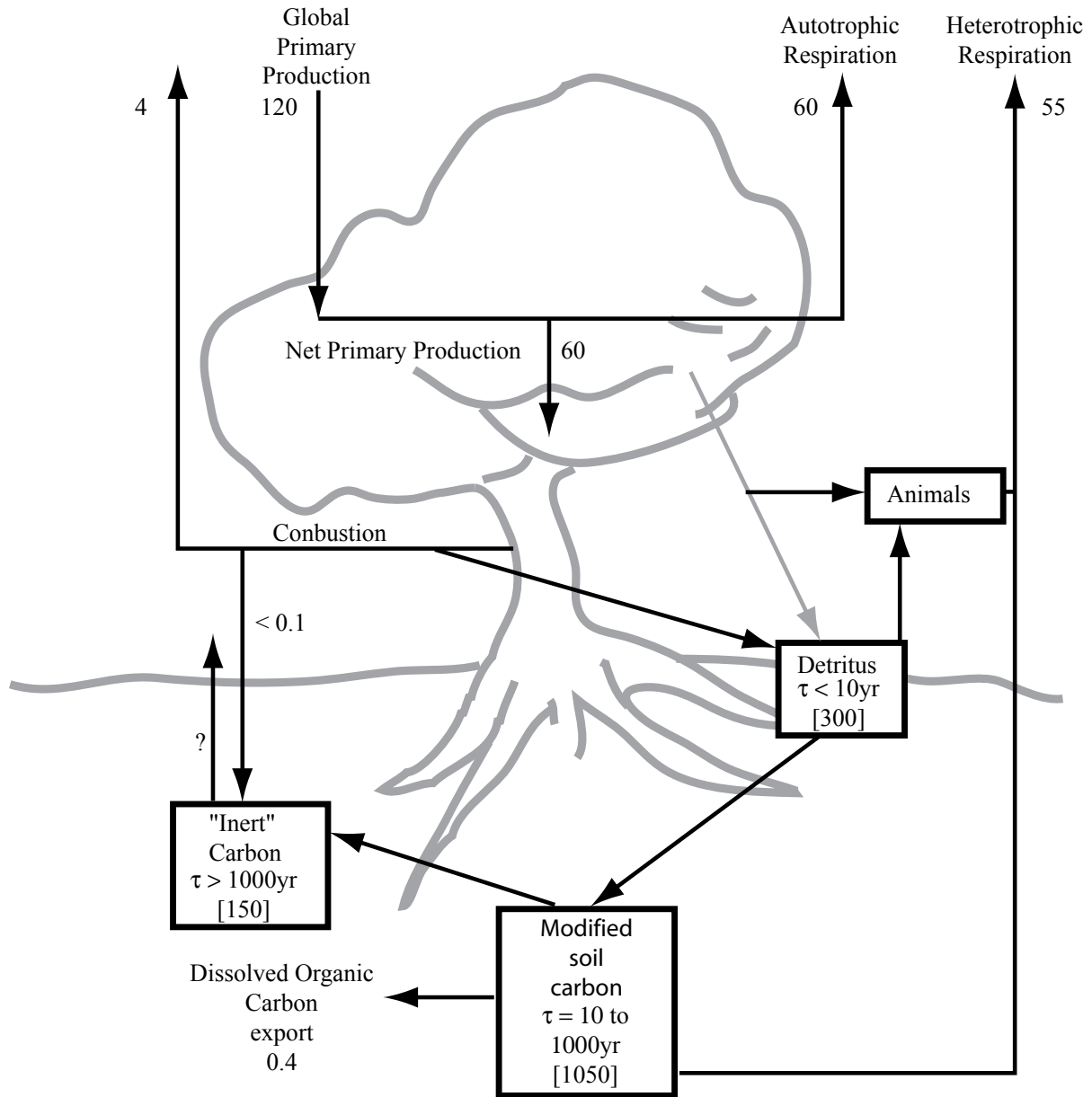


Fig. 5.8 : Cycle du carbone en domaine continental tel qu'il est pris en compte par l'IPCC (Prentice et al, 2001). Légende : inert carbon : carbone et matière organique résistante à la décomposition ; τ : turn over du réservoir ; Les données sont exprimées en GtC (gigatonnes de carbone).

Carbon cycle on the continents as it is described by the IPCC (Prentice et al., 2001). Caption : inert carbon : charcoal and decay-resistant organic matter ; τ : turnover of the pool ; Data are expressed in GtC (gigatons of carbon).

pour la seule Côte d'Ivoire est de 2 à 5 ordres de grandeur inférieure. L'iroko étant présent sur toute la ceinture intertropicale de l'Afrique et au regard de la superficie de cette forêt, il est clair que ce puits de carbone ne peut et ne doit pas être négligé. On peut estimer que sur l'entière superficie de la zone intertropicale africaine, entre une forêt originelle de 6.8 millions d'hectares et la forêt actuelle estimée à 2.3 millions d'hectares, le déficit de séquestration annuel est compris entre $1.2 \cdot 10^{-4}$ et $2.3 \cdot 10^{-3}$ PgC/an. Ce chiffre reste bien

évidemment sujet à caution au regard du peu de données disponibles à la fois sur la superficie originelle de la forêt tropicale africaine, mais également sur la répartition de l'iroko dans cette forêt tropicale. On peut toutefois noter que des carbonates ont été observés en République Centrafricaine, ainsi qu'en Ouganda, à l'est de l'Afrique. On trouve donc des carbonates sur toute la ceinture intertropicale.

Le puits de carbone défini par l'écosystème est donc important, avec une estimation globale à l'échelle du continent africain de seulement un ordre de grandeur inférieur à des réservoirs marins. Il doit d'autant plus être pris en considération que le temps de résidence du carbone minéral est 100000 fois supérieur à celui du carbone organique. Nous sommes donc en présence d'un puits de carbone non négligeable et efficace du fait de sa plus grande stabilité que la matière organique.

5.6 Conclusion

On peut donc conclure que la matière organique ne constitue pas l'unique puits de carbone que l'on doit prendre en compte dans les bilans en domaine continental. En première approximation, le potentiel de ce type de puits de carbone est considérable. On pourrait donc se poser la question suivante : les accumulations de carbonate dans les sols constituent-elles toujours de "simples" redistributions de matériel ?

Les cactus et le cycle oxalate-carbonate

Chapitre 6 Les cactus et le cycle oxalate-carbonate

Suite aux événements qui se sont déroulés en Côte d'Ivoire, six mois après notre mission (la guerre civile a éclaté en septembre 2002), une recherche d'un système pouvant présenter les mêmes phénomènes que ceux observés en relation avec l'iroko a été entreprise. Au regard du fort potentiel des cactus, dont certains peuvent avoir 85 % de leur masse sèche composée d'oxalate, un site présentant des *Opuntiae* (un cactus formant des édifices métriques) a donc été choisi. Un site espagnol, dans le désert de Tabernas, a donc été choisi et a fait l'objet d'une étude systématique telle que l'ont été les sites africains par la suite. Certains cacti sont connus pour présenter des biominéralisations carbonatées (Garvie, 2003) et sont donc potentiellement de bons candidats à l'observation de la transformation de l'oxalate en carbonate.

6.1 Aspects préliminaires

En premier lieu une description du type de cactus étudié sur le site de Tabernas (Fig. 6.1.A) est nécessaire pour comprendre les résultats présentés ci-après. L'*Opuntia* se présente sous la forme d'une tige segmentée (pour rappel, les aiguilles correspondent aux feuilles) se ramifiant comme cela est visible sur la figure (6.1.B). La base de la tige, quant à elle, perd la teinte verte et devient plus rugueuse, ressemblant par certains aspects à un tronc d'arbre (mais ce n'en est pas un). Certains segments de la tige n'étant plus viables pour diverses raisons, les tiges sèchent et tombent sur le sol. L'observation de ces fragments montre une armature fibreuse (Fig. 6.1.B-C) dans laquelle on observe une multitude de cristaux drusiques d'oxalate de calcium (whewellite ; Fig. 6.1.D-E) comme en atteste l'analyse aux rayons X (Fig. 6.2). L'étude de ce site se présentant sous la forme d'un transect de 5 profils de 35 cm de profondeur réparti sur 90 cm depuis le pied du cactus, on peut prendre en compte l'importance de l'influence de ces fragments de cactus tombant sur le sol. Le sol est de type colluviosol isohumique développé sur une roche-mère de type schiste ardoisier, qui en conséquence est totalement dépourvue de carbonate.

6.2 Résultats

La teneur en carbone pyrolysable (PC), en acide oxalique, en carbonate, ainsi que le pH ont été mesurés. Lorsque cela était possible, des cartes de distribution ont été réalisées pour permettre une comparaison visuelle de ces différents paramètres.

6.2.1 La carte de distribution du pH

La valeur moyenne du pH mesuré sur le site de Tabernas est de 5.35 ± 0.68 , mais les valeurs minimales avoisinent 4.52, tandis que les valeurs les plus alcalines avoisinent 7.39. Comme on peut le constater, les valeurs les plus élevées sont observées au pied du cactus (Fig. 6.3).

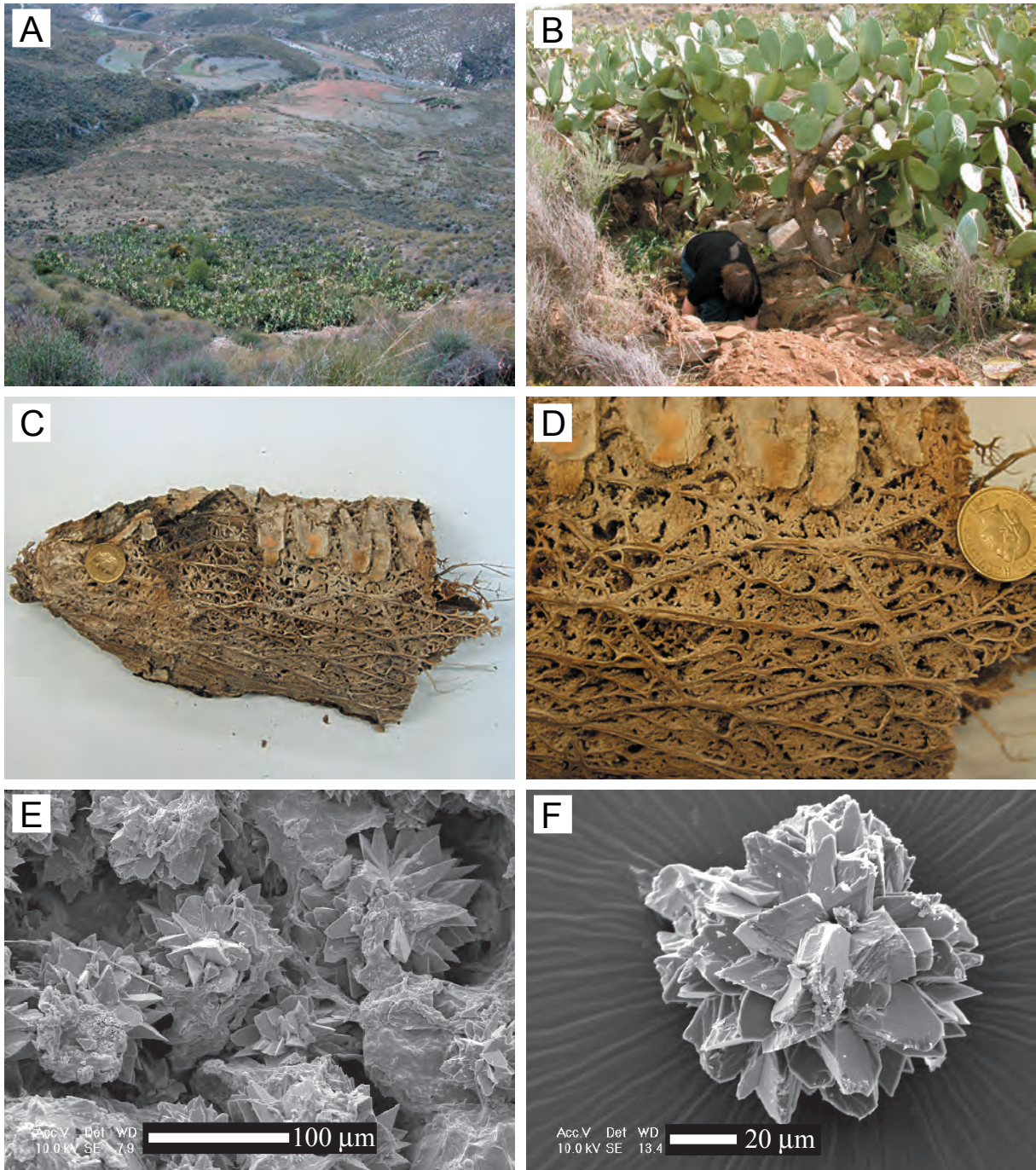


Fig. 6.1 : A : Sur le site étudié dans le désert de Tabernas, les *Opuntias* couvrent une superficie d'environ un hectare. B : Le sol étudié se situe sous des cacti ayant une taille avoisinant les 2 m. On voit nettement la différence d'aspect entre la "tige tronc" et la tige "normale" toujours verte. C : Fragment d'un segment de la tige se décomposant, on observe des restes de la cuticule recouvrant l'armature fibreuse. Dans les interstices, on trouve une multitude de cristaux drusiques d'oxalate de calcium. D : Détail de la tige se dégradant. E et F : Images réalisées au MEB des amas de cristaux présent entre les fibres, montrant les druses d'oxalate de calcium.

A : At the Tabernas Desert site, Opuntia covers approximately one hectare. B : The studied soil is under 2 m high cacti. A clear difference in appearance is visible between the "stem-trunk" and the "normal" stem which is always green. C : Fragment of a decaying stem part ; remains of the cuticle covering the fibrous frames are still visible. Between the fibrous frames, several druses of calcium oxalate are present. D : Close-up of the decaying stem. E and F : SEM images of calcium oxalate druse aggregates present between fibers.

Opuntia

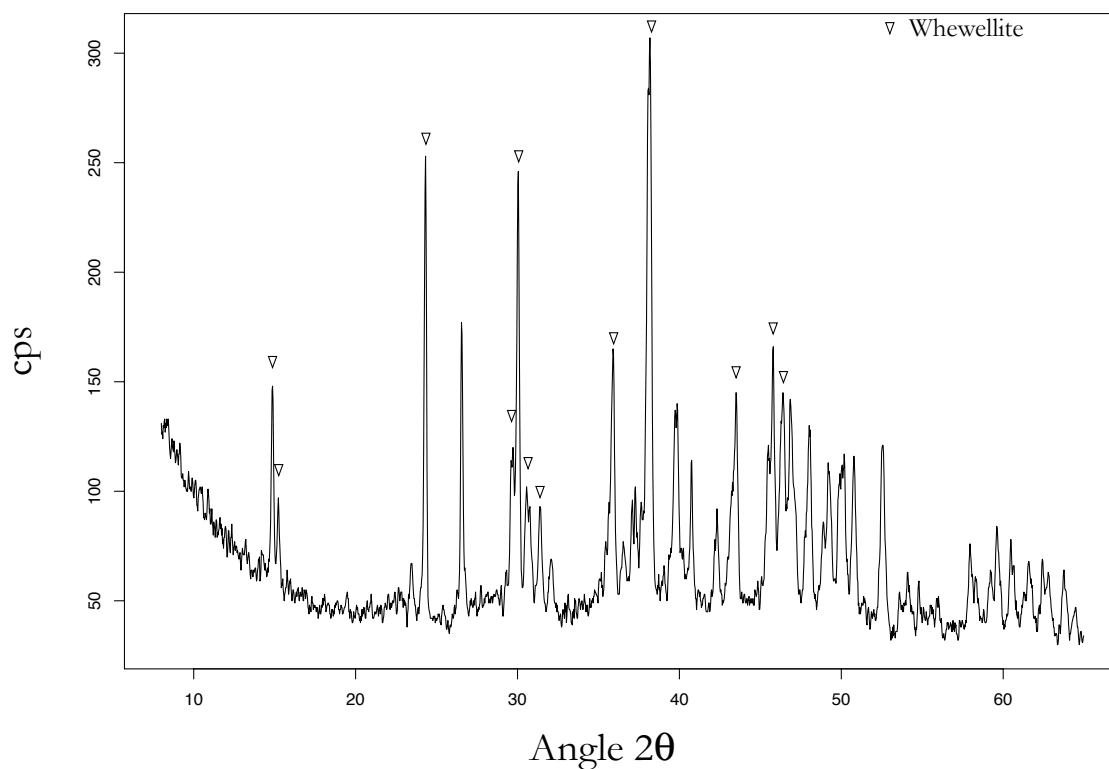


Fig. 6.2 : A : Diffractogramme aux rayons X d'un segment de tige d'*Opuntia* partiellement minéralisée se dégradant montrant la présence de Whewellite (oxalate de calcium monohydrate).

A : X-ray diffractogram of a partially mineralized segment of Opuntia stem showing the presence of whewellite (calcium oxalate monohydrate).

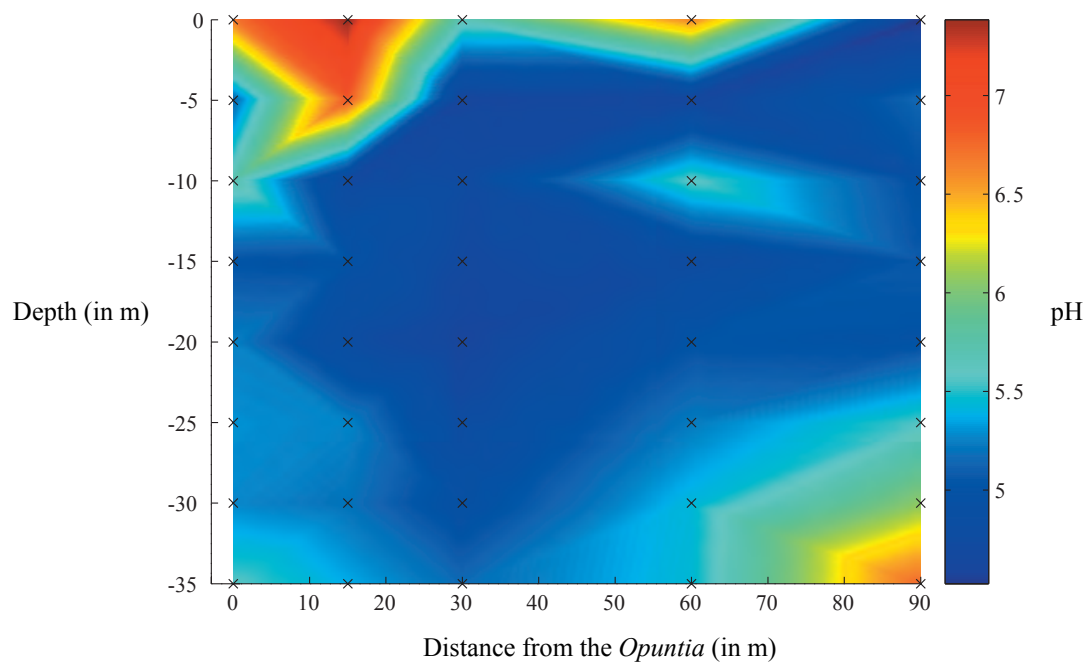


Fig. 6.3 : Cartes de distribution des pH dans les profils du site de Tabernas, sud de l'Espagne.
Distribution map of pH.

6.2.2 La carte de distribution de la teneur en PC

Sur le transect de profils étudiés, la valeur moyenne de la teneur en carbone pyrolysable est de $0.20\% \pm 0.32$. Les valeurs maximales, proches de 1.35% de la masse du sol sont observées au pied du cactus (Fig. 6.4). On note également que les teneurs en PC les plus élevées ($>0.80\%$) se distribuent dans les cinq premiers centimètres du sol.

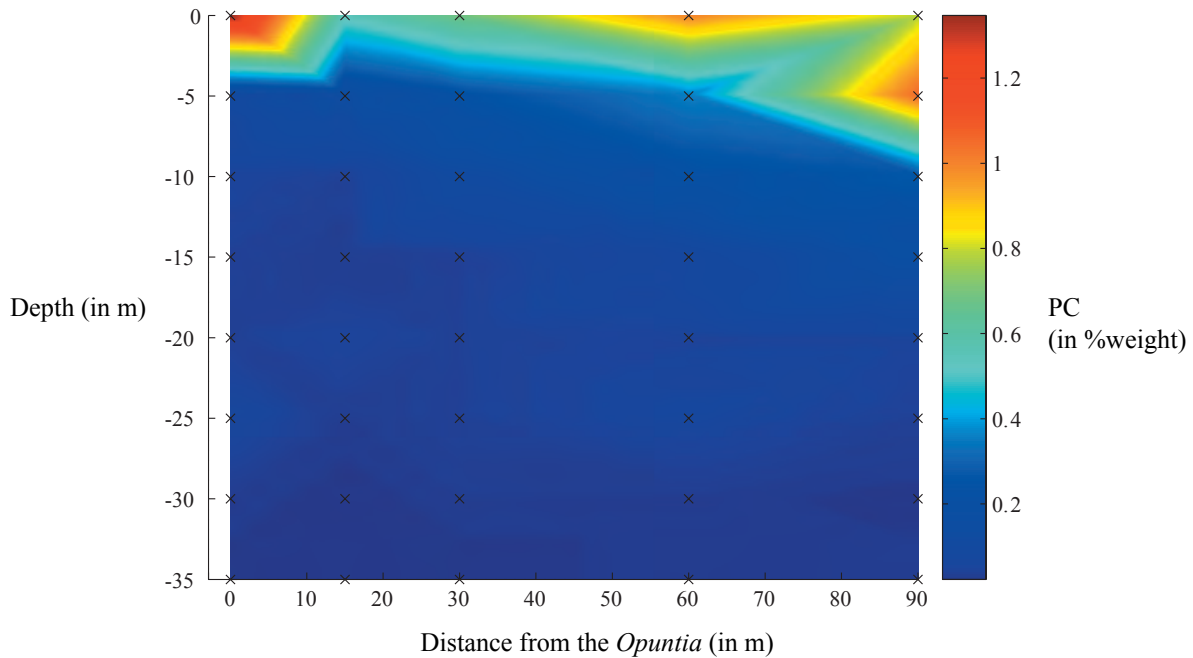


Fig. 6.4 : Cartes de distribution de la teneur en carbone pyrolysable dans les profils du site de Tabernas, sud de l'Espagne.

Distribution map of the pyrolysable carbon content.

6.2.3 La carte de distribution de la teneur en acide oxalique

Sur le site de Tabernas, la teneur moyenne en acide oxalique est de 182.5 ± 252.6 mg/kg (i.e. ppm). Les valeurs maximales, pouvant atteindre 1338.7 ppm, sont mesurées dans les échantillons situés au pied du cactus (Fig. 6.5).

6.2.4 La teneur en carbonate

Un dosage des carbonates de l'ensemble des échantillons récoltés sur le site de Tabernas a été entrepris. Les valeurs extrêmement basses (la moyenne est égale à 0.14% massique de CaCO_3) relevées sont inférieures à l'erreur sur la mesure (e.g. $1.1 \pm 1.4\%$ massique). On ne peut donc les considérer comme significatives. Néanmoins, des traces ont été observées en lame mince (Fig. 6.6), une goutte d'acide chlorhydrique 10% directement déposé sur la lame mince prouvent la nature calcitique par effervescence de ces structures.

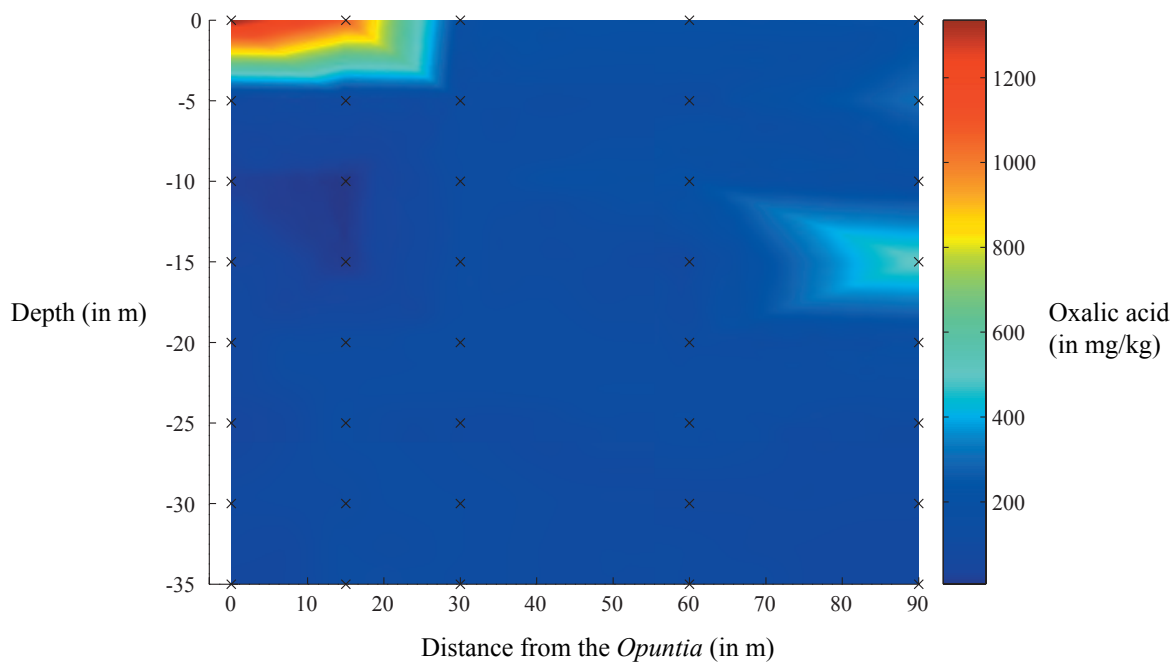


Fig. 6.5 : Cartes de distribution de la teneur en acide oxalique dans les profils du site de Tabernas, sud de l'Espagne.

Distribution map of the oxalic acid content.

6.3 Discussion

La discussion suivante est menée en comparaison avec l'écosystème iroko dont certains paramètres similaires sont connus. Un des faits importants est qu'il n'y a pas ou très peu de carbonate présent dans le sol autour de l'*Opuntia*, ce qui au regard de la masse de carbonate présente autour des irokos, est inattendu. La présence de teneur décelable dans le sol, même en petite quantité, était espérée. En effet, d'autres exemples sont connus. Autour de cactus comme les saguaros (*Carnegiea gigantea*), la présence de carbonate a été décelée. De la monohydrocalcite et de la calcite ont été observées dans le sol, mais également bien d'autres formes de carbonates magnésiens non identifiées (Garvie, 2003). Ces cacti pouvant atteindre 15 m de haut vivent plus de 200 ans. Le saguaro, de son vivant, présente exclusivement de la weddellite (forme dihydratée) dans ses tissus. L'*Opuntia* présente quant à lui de la whewellite (forme monohydratée) dans ses tissus. Dans le sol, des traces de carbonate ont été observées en lames minces, mais en l'absence de teneur suffisante en carbonate, aucune détermination de la nature de ce dernier n'a pu être menée à bien, que ce soit dans les fragments en cours de décomposition ou dans le sol.

Suivant la distribution de la teneur en acide oxalique, en carbone pyrolysable et du pH, une influence du cactus sur ces paramètres du sol semble évidente. Systématiquement, les valeurs les plus hautes de ces trois paramètres sont observées au pied du cactus. Au regard du système suggéré par Verrecchia (1990) et décrit par Braissant et al. (2002), ces données semblent être l'expression de la transformation de l'oxalate en carbonate. Le carbone pyrolysable est l'image de l'incorporation de la matière organique dans le sol, donc une image partielle de l'impact des cacti (et de l'incorporation de l'oxalate qu'il synthétise). Partielle, car les *Opuntiae* ne sont pas les seuls végétaux présents sur le site. La matière organique n'étant présente que dans

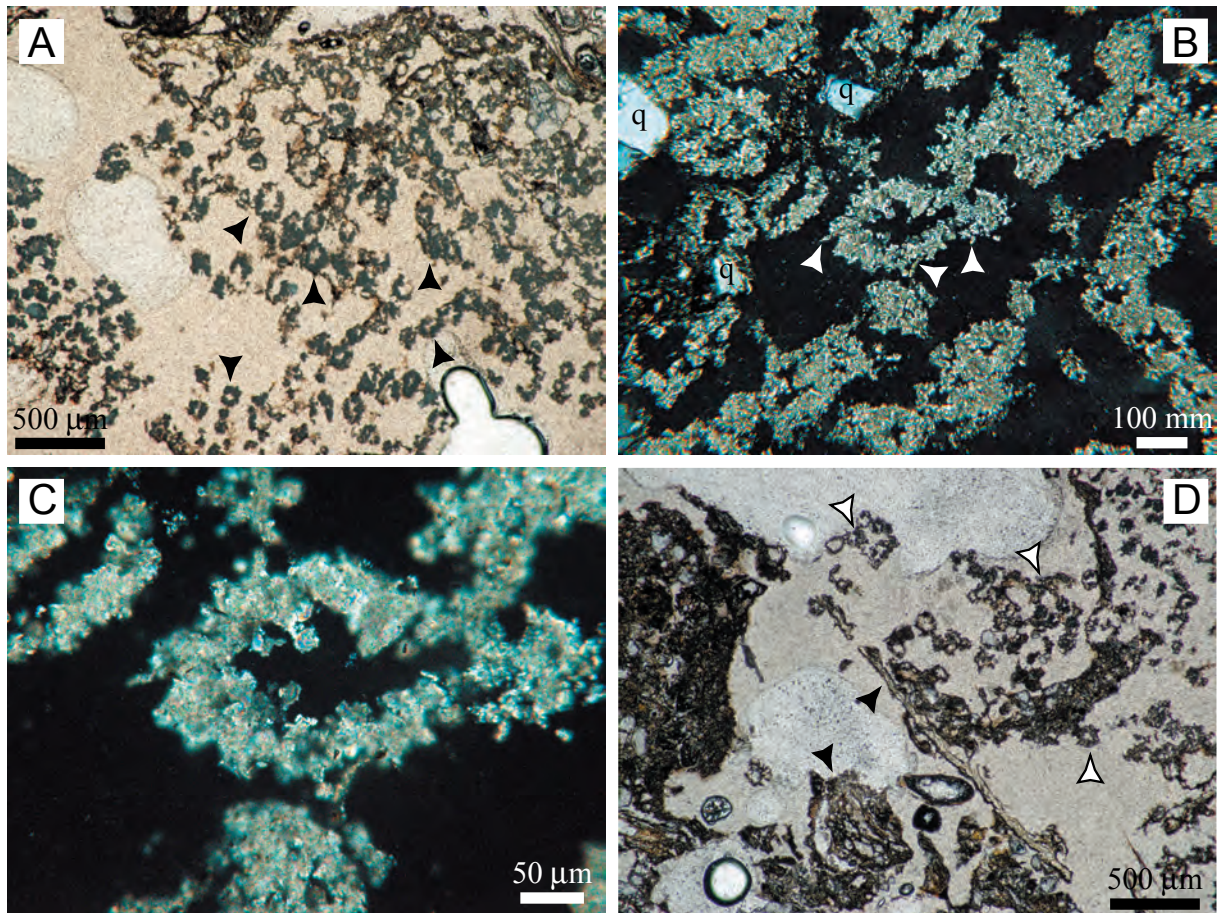


Fig. 6.6 : Photographies de lame mince de sol induré, réalisées au microscope optique ; A et D : en lumière normale ; B et C : en lumière polarisée analysée. A : Les carbonates présents dans le sol ont souvent une forme circulaire (flèches noires) semblant être composé par des masses cryptocristallines. B : La bordure des structures circulaires présente localement des cristaux aciculaires (flèches blanches). q : grain de quartz. C : Cette vue en fort grossissement montre que ces structures circulaires tout comme les autres structures carbonatées (non circulaires) sont composées à la fois par de la micrite mais aussi par de la microsparite. D : Ces structures carbonatées (flèches blanches à trait noir) sont trouvées en contact avec des structures organiques végétales (flèches noires).

Thin section photographs of indurated soil observed with an optical microscope ; A and D : plane-polarized light; B and C : cross-polarized light. A : Carbonate present in the soil are often observed as circular structures (black arrow) which seem composed of cryptocrystalline masses. B : Locally, the edge of the circular structures show acicular crystals (white arrows). q : quartz grain. C : High magnification view showing that these circular structures, as the other carbonate structures (not circular), are composed of micrite and microsparite. D : These carbonate structures (white arrows with black outline) are observed close to plant organic matter (black arrows).

les 5-10 premiers centimètres, il est clair que la distribution du carbone pyrolysable est la conséquence de la proximité de la litière. La teneur en acide oxalique dans le sol correspond vraisemblablement à l'influence unique du cactus au regard de la masse d'oxalate présente dans les tissus en dégradation. Sa distribution se résume à une présence relativement forte (au regard des valeurs observées dans les sols autour de l'iroko) au pied du cactus, dans les 5 premiers centimètres en profondeur mais pas au-delà de 25-30 cm. Il est intéressant de constater que la distribution du pH dans le sol suit partiellement celle de la teneur en carbone pyrolysable dans les premiers centimètres du sol. Les rares carbonates observés sont trouvés au contact de restes organiques dont la taille exclut qu'ils soient d'une autre origine

que celle des cacti (i.e. fines brindilles constituants des autres plantes présentes). La présence de cristaux aciculaires en bordure des structures carbonatées suggère qu'ils pourraient être des pseudomorphoses calcitiques des cristaux drusique d'oxalate. Le fait de trouver, bien qu'exceptionnellement, des carbonates dans le sol, prouve que la transformation de l'oxalate en carbonate est effective dans ces sols sous *Opuntia*.

L'absence de teneur de carbonate mesurable par dosage peut être expliquée comme le résultat d'un pH toujours inférieur au pH de stabilité de la calcite (8.4 en conditions normales de pression et de température). Pourquoi le pH reste-t-il si bas ? Premièrement, si des pH très alcalins ont été mesurés dans certains sites africains, ce n'est pas de façon systématique. Sur le site de Machatoum par exemple, le pH ne dépasse pas 8.14. Même si le pH ne dépassait pas 8.4, on a systématiquement mesuré des valeurs plus élevées au contact de l'iroko, comme c'est le cas pour le cactus. A Machatoum, aucun test à l'acide chlorhydrique sur le terrain n'a révélé de carbonate dans le sol alors que l'arbre était partiellement minéralisé, ce qui est similaire au cas du site de Tabernas. Un des points en commun entre ces deux sites est qu'ils se situent sur des pentes, celle de Tabernas étant estimée à une quinzaine de degrés. Le système semblant fonctionner en inféoflux, ce qui est courant dans ces systèmes désertiques en pente, on peut penser que le système *Opuntia* n'est pas clos, et que l'impact du cactus est ainsi atténué.

Il est également possible que le système soit en déficit d'eau pour réaliser la transformation oxalate-carbonate. En effet, l'*Opuntia* synthétise la forme monohydratée de l'oxalate et un apport en eau pourrait être nécessaire pour que les bactéries oxalotrophes consomment l'oxalate (cf Braissant 2005, discussion générale). Or, avec seulement 126 mm de pluie par an et un déficit hydrique sur la région d'Almería de 320 hectomètres cubes par an, le désert de Tabernas est une région très aride. On peut donc penser que ce facteur peut également influencer sur le système.

Enfin, la taille de l'*Opuntia* peut également jouer un rôle. Comparé à un saguaro pouvant atteindre 15 m de hauteur, l'*Opuntia*, du haut de ses 2 m, n'a certainement pas le même impact sur le sol, d'autant que les *Carnegiea* étudiés par Garvie (2003) semblent être situés dans des zones planes, donc plus stables en termes de flux.

6.4 Conclusion

Même si on ne trouve pas de carbonate en masse conséquente dans les sols sous *Opuntia*, les traces observées au contact de tissus organiques, interprétés comme provenant du cactus, prouvent l'existence de la transformation oxalate-carbonate dans cet écosystème. L'impact du cactus sur le sol s'observe principalement au pied de l'*Opuntia* aussi bien au niveau du pH, de la teneur en carbone pyrolysable, que de la teneur en acide oxalique. Des facteurs extérieurs peuvent jouer un rôle important sur la conservation des carbonates, comme la situation générale du site (la pente), mais également le déficit hydrique, ou même la taille du cactus (au regard des observations de Garvie, 2003).

Les phases carbonatées et leur relation avec la matière organique du sol

Chapitre 7 Les phases carbonatées et leur relation avec la matière organique du sol

Ce travail préliminaire est une étude pétrographique et géochimique des carbonates présents dans le sol du site de Biga. Ces carbonates montrent une grande variabilité morphologique. Ce chapitre ne présentera pas un inventaire exhaustif bien que de nombreuses textures soient présentées ci-après. D'éventuelles relations entre structures minérales et biologiques associées seront mentionnées. Enfin, une comparaison avec des homologues expérimentaux produits sur boîtes de Pétri sera également développée.

7.1 Résultats

7.1.1 Les blocs de carbonate

Si de grandes dalles de grès à ciment carbonaté ont été mentionnées par Carozzi (1967) sur le site de Zuzua, aucune n'a été observée sur le site voisin de Biga. Néanmoins, des blocs de carbonate pouvant dépasser les 2 kg ont été observés dans la moitié supérieure des divers profils. A l'intérieur de ces blocs subsiste souvent une importante porosité. Sur le site de Mankaré, au Cameroun, jusqu'à 48 kg de blocs de carbonate ont été trouvés dans une fosse d'environ 0.5 m³. Ces blocs (Fig. 7.1.A) peuvent atteindre plus de 30 cm dans leur direction d'extension principale ; ils présentent souvent une surface convexe de forme allongée. Cette dernière est criblée d'une multitude de "cicatrices" en forme de cupules empilées (Fig. 7.1.B, flèches). Ces formes sont remarquablement similaires aux racines observées sur le site de Kani (Fig. 7.1.C) qui présentent également cet aspect criblé. On observe également de plus petits blocs tubulaires dont la section (Fig. 7.1.D) montre qu'ils sont finement laminés. Sur la partie extérieure, on observe des restes de tissus de bois (Fig. 7.1.D, flèches). Un fait remarquable est la quasi-absence de grains de quartz dans ces blocs. On est en présence de blocs totalement différents de ceux décrits par Carozzi (1967), de grandes dalles de grès à ciment carbonaté.

La plupart des structures carbonatées qui seront décrites par la suite sont observées dans ces blocs de carbonates. On les trouve principalement en remplissage de la porosité présente dans ces blocs.

7.1.2 Les séquences texturales

Dans les pores de grandes tailles, on observe fréquemment des successions de textures systématiquement associées à des formes filamenteuses de teintes brunes (Fig. 7.2.A). Successivement on observe une couche où des filaments bruns et ramifiés semblent former un réseau plus ou moins dense sur lequel on observe une texture micritique. Progressivement la texture micritique devient plus dense laissant de moins en moins apparaître les filaments

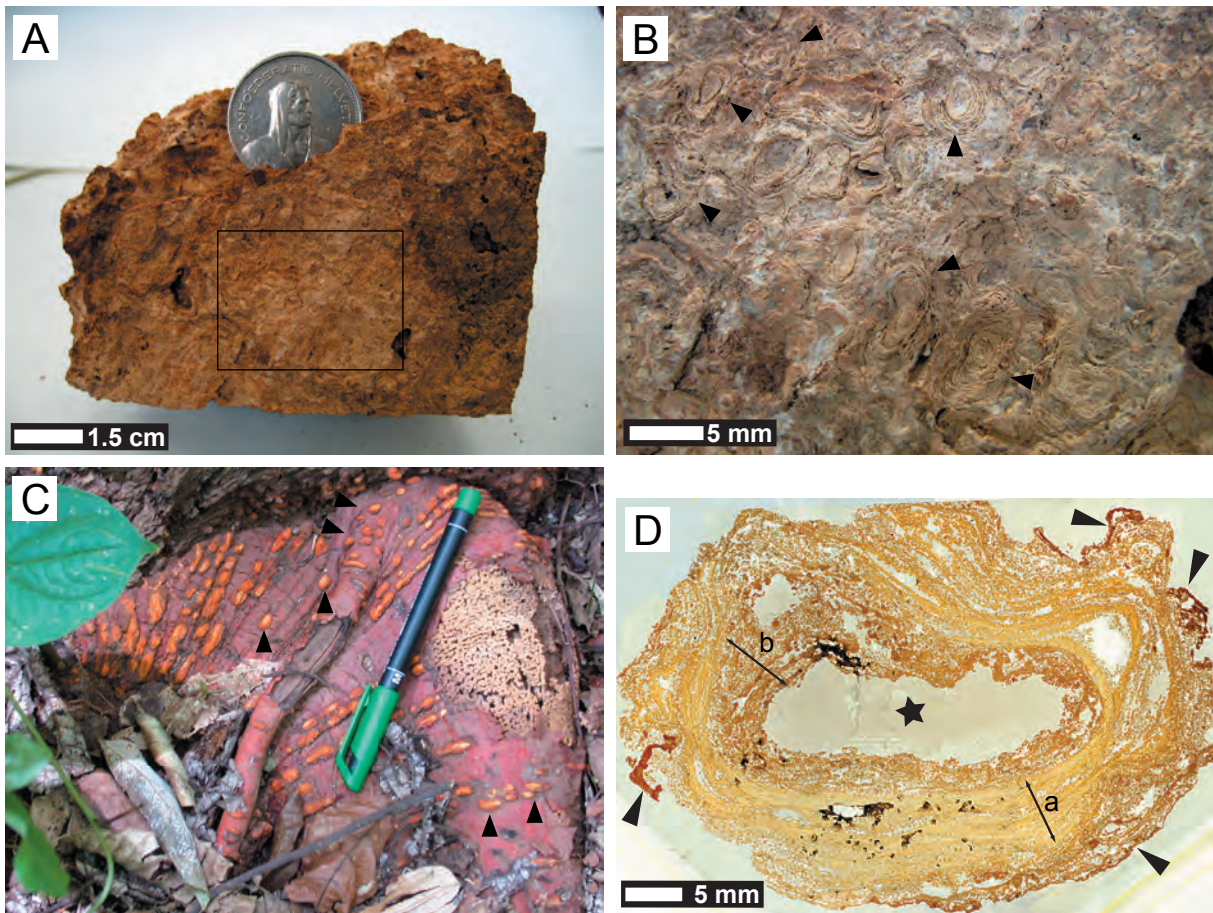


Fig. 7.1 : A : Fragment d'un bloc de carbonate présentant une surface convexe criblée. B : Détail de la surface convexe dont les cicatrices en forme de cupules sont nettement visibles (flèches). C : Racine d'un iroko observé sur le site de Kani (Côte d'Ivoire). Des marques similaires sur la surface convexe de celle-ci sont observées (flèches). D : Section transverse d'un bloc tubulaire. Des tissus de bois sont observés à la périphérie du bloc (flèche noire). Des laminations concentriques (petites flèches) partiellement calcifiées sont présentes dans la partie externe du bloc (flèche double et "a") et généralement en contact avec les tissus de bois ; ces tissus constituent la limite entre le bloc et la matrice ferralitique du sol. La partie interne du bloc montre une texture micritique de type clotted (flèche double et "b"). Etoile : vide central.

A : Fragment of a carbonate block showing a pocked convex surface. B : Close-up of the convex surface on which cupula scars are clearly visible (arrows). C : Iroko root at the Kani site (Ivory Coast). Marks on the convex surface of the root (arrows) appear similar to those on carbonate blocks. D : Transverse cross-section of a tubular block. Wood tissues are observed on the periphery of the block (black arrows). Concentric laminations (small arrows) are found in the partially calcified outer part of the sample (double headed arrow and a) and are generally in contact with wood tissues; these tissues constitute the boundary between the blocks and the orthox soil matrix (ferralitic soil). The inner part of the block has a clotted fabric with a micritic texture (double headed arrow and b). Star: central void.

bruns (ils restent cependant bien présents). La texture micritique passe progressivement à une couche localement microsparitique, celle-ci étant entièrement composée de sphérules de calcite (Fig. 7.2.B-D) dont la taille varie de 10 à 25 μm . On peut rencontrer cette texture sphérulitique parfois directement au contact des filaments bruns (Fig. 7.2.B) formant de grandes plages (Fig. 7.2.C). Enfin, cette texture sphérulitique est souvent suivie d'une texture sparitique laminée. On peut rencontrer cette séquence de textures calcitiques se répétant, parfois certains membres étant manquants. Le cas le plus fréquent est un développement important de la texture sparitique, pouvant être finement laminée.

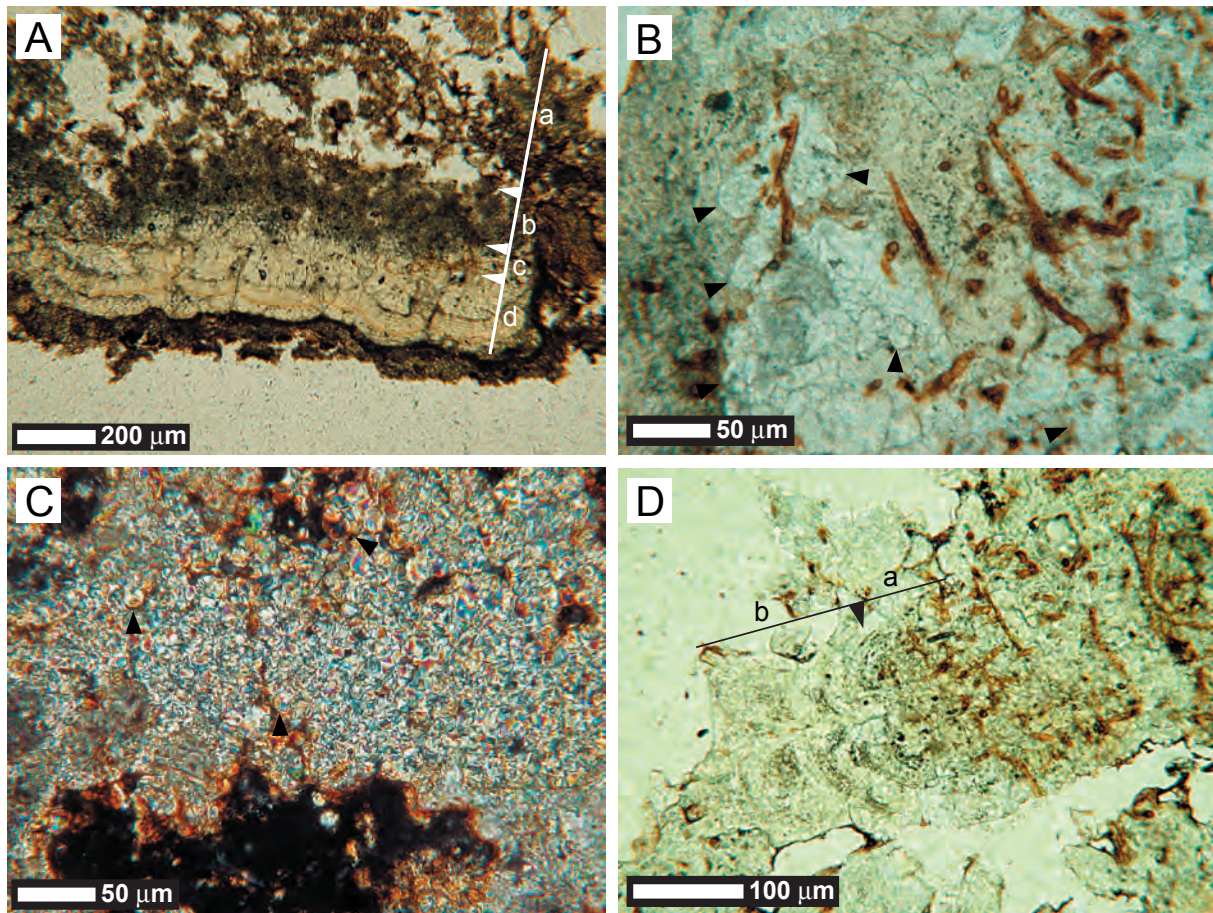


Fig. 7.2 : A : Séquence texturale débutant en (a) par une zone à filaments bruns plus ou moins riche en micrite. La proportion de micrite augmente en (b), les filaments bruns sont toujours présents, et progressivement la texture devient de plus en plus microsparitique parfois sphérulitique (c). En (d) une texture sparitique plus ou moins finement laminée est observée. B : La texture sphérulitique est ici limpide (flèches), elle est observée directement en contact avec les filaments bruns. C : La texture sphérulitique peut se développer sous forme de grandes plages où seules quelques sphères sont discernables (flèches). D : Succession texturale composée en (a) par une texture sphérulitique au contact de filaments bruns passant progressivement à une texture sparitique plus ou moins laminée (b).

A : Textural sequence beginning with an area in which brown filaments are observed with some micrite (a). In (b), the micrite content increases and filaments are still present. Progressively, the texture changes from micritic to microsparitic and sometimes spherulitic (c). In (d), a sparitic texture (often laminated) is observed. B : The spherulitic texture, here limpide (arrows), is observed close to the brown filaments. C : The spherulitic texture could be developed as large a area in which only some spheres are discernible (arrows). D : Textural succession composed in (a) by a spherulitic texture associated with brown filaments which progressively become a sparitic and laminated texture (b).

7.1.3 Les ciments sparitiques

De nombreux types de ciments sparitiques sont observés dans les sols étudiés. Un inventaire est ici entrepris.

Les ciments sparitiques limpides en forme de goutte

L'une des textures remarquables est caractérisée par de grands ciments sparitiques limpides (Fig. 7.3.A-B), dont la taille peut facilement dépasser les 500 μm. Ils sont caractérisés

par des bords lisses et arrondis qui leur donnent souvent l'aspect d'une goutte. Il possède une extinction roulante caractéristique (Fig. 7.3.B), et leur observation, que ce soit en cathodoluminescence ou en épifluorescence UV, ne permet pas de distinguer de zonation ou tout autre structure interne. Il semble toutefois que ces ciments se soient mis en place en plusieurs phases, des "limites" semblent visibles (Fig. 7.3.A ; flèches). Mais ce ne sont pas des limites de compromis au sens cristallin du terme. Ces ciments pourraient s'être mis en place sur/dans un autre support. On pourrait envisager une pseudomorphose calcitique d'un autre matériaux fluide (peut être visqueux), dont la nature est inconnue.

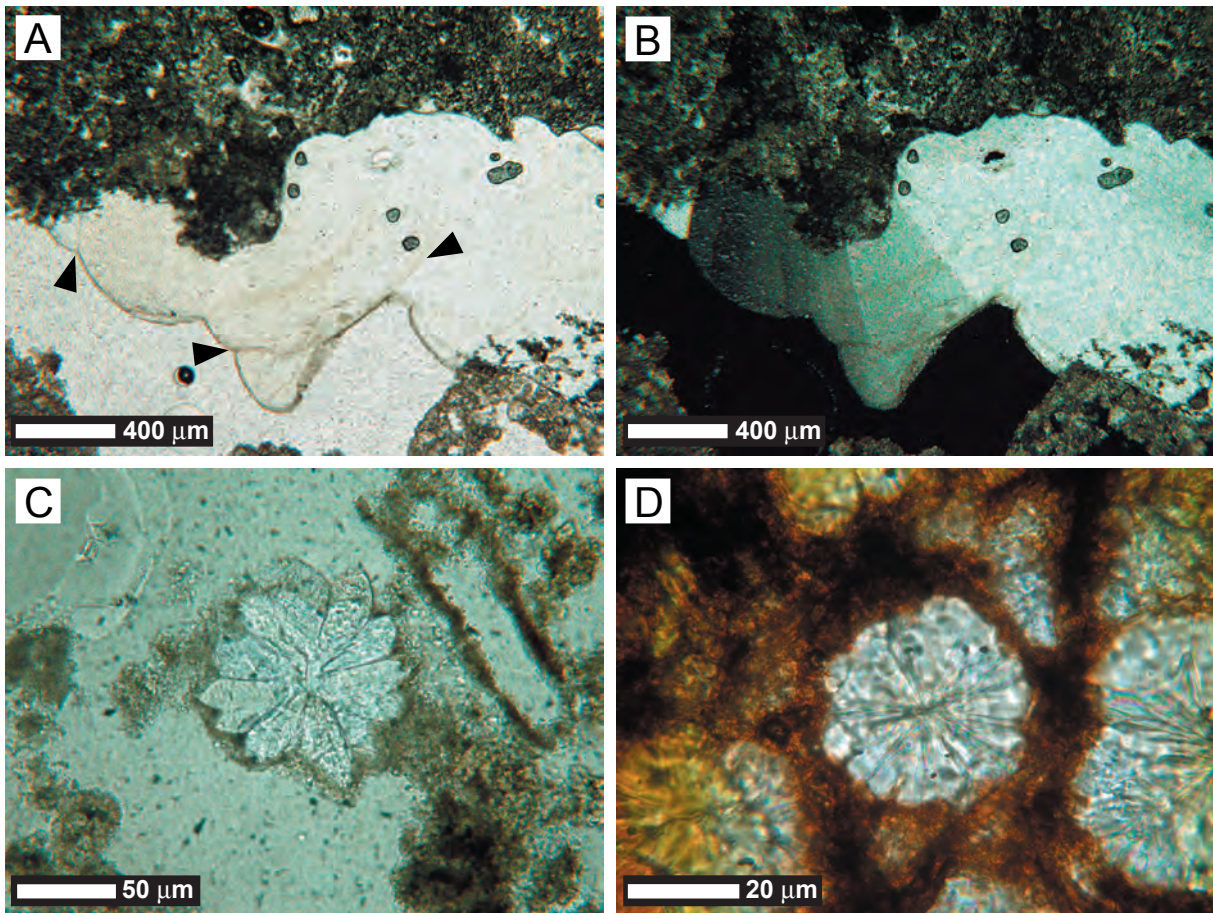


Fig. 7.3 : A-B : Grands ciments sparitiques limpides dont certains semblent avoir la forme de goutte. Ils sont caractérisés par une extinction roulante et par une absence de toute structure interne en épifluorescence UV. L'orientation donnée ici n'est que théorique. Flèches : limite. C-D : Cristaux en forme de fleur, sparite (C) et microsparite (D) que l'on observe couramment dans les blocs de carbonates. Certains (C) ne montrent aucune fluorescence en épifluorescence UV, tandis que certains autres réagissent (D). Il faut noter que (D) a été observé dans une texture à filaments bruns (décrite dans la figure 7.2) ; cette texture est interprétée comme contemporaine de la texture sparitique (cf. Fig. 7.2) car toutes deux présentent les mêmes zonations en épifluorescence UV.

A-B : Big limpid sparitic cement which some seems to have a droplet shape. They are characterized by a wavy extinction and the absence of internal structure in UV epifluorescence. The orientation given here is theoretical. Arrows : limit. C-D : Calcite flower-shaped crystals, spar (C) and microspar (D) commonly observed in the carbonate blocks. (C) does not exhibit fluorescence in UV epifluorescence whereas others such as (D) are zoned. (D) is observed in the texture with brown filaments (described in Fig. 7.2) ; this texture is interpreted as contemporaneous of the sparitic texture (cf. Fig. 7.2) because both present the same internal zonation in UV epifluorescence.

Les ciments de calcite limpide en forme de fleur

Une des textures les plus fréquemment rencontrées est une microsparite (mais également parfois une sparite) en forme de fleur. Elle est composée de lames rayonnantes de calcite limpide depuis un centre unique (Fig. 7.3.C-D). Elle est en cela proche de certaines sphérulites radiaires. L'observation en épifluorescence UV montre que certaines de ces textures peuvent être dépourvues de fluorescence, tandis que d'autres montrent clairement des zonations. La terminaison de ces lames de calcite peut être en forme de pointe aussi bien qu'arrondie. Les formes arrondies sont particulièrement présentes lorsque cette sparite est l'équivalent de la sparite observée comme étant le terme ultime de la séquence texturale décrite précédemment (cf. *Les séquences texturales*) ; elles sont présentes au contact des filaments bruns déjà cités. Elles sont interprétées comme contemporaines car montrant les mêmes zonations en épifluorescence UV.

Les ciments sparitiques plus ou moins riches en inclusions

Sans doute la phase carbonatée la plus souvent rencontrée, elle se présente sous la forme de ciments sparitiques ou microsparitiques qui peuvent avoir des variations morphologiques importantes. Des plages sparitiques "tachetées" (Fig. 7.4.A-B) par des inclusions sont extrêmement fréquentes, la structure de ces inclusions semblant être constituée de bâtonnets semblables à ceux décrits dans la section suivante. Des "variantes" de ces ciments ont des textures sphérulitiques dont le cœur est extrêmement riche en inclusions en tout point comparables à celles qui sont décrites ci-dessus (Fig. 7.4.C-D). Ces sphérulites peuvent atteindre 400 μm de diamètre, et le cœur à inclusions plus de 150 μm . L'auréole peut être composée de lames de sparite plus limpide pouvant avoir des terminaisons angulaires correspondant aux lames (Fig. 7.4.C), ou ne pas montrer de lame, formant une masse dont le pourtour arrondi et "lisse" (Fig. 7.4.D).

Les ciments sparitiques plus ou moins riches en inclusions laminées

Des ciments sparitiques et microsparitiques plus ou moins riches en inclusions, laminés en lumière naturelle (LN) ont également été observés. L'alternance de lamines est créée par l'absence ou l'abondance (grande parfois) d'inclusions (Fig. 7.5.A). L'observation de ces ciments en épifluorescence UV, montre des laminations liées aux lamines observées en LN (Fig. 7.5.B). L'observation de ces inclusions à fort grossissement (objectif x100 à immersion) montre que ces inclusions sont pour la plupart de petits bâtonnets dont on observe, soit la section, soit l'allongement (Fig. 7.5.C-D). Leur longueur peut atteindre 2.2 μm et leur diamètre 0.5 μm .

Un autre type de ciment laminé est observé, formant de grandes plages sparitiques dont l'extension est pluri-millimétrique. Les laminations ne sont plus cette fois liées à la présence d'inclusions telles qu'elles ont été décrites précédemment (Fig. 7.6.A). Les lamines sont très fines et aucune structure n'est observée. En lumière polarisée analysée, ces sparites sont caractérisées par une extinction roulante (Fig. 7.6.B). Les lamines observées en LN sont également observables en épifluorescence UV (Fig. 7.6.C) avec une toute aussi grande finesse. Ces ciments précipitent dans de grands pores présents dans les blocs de carbonate ;

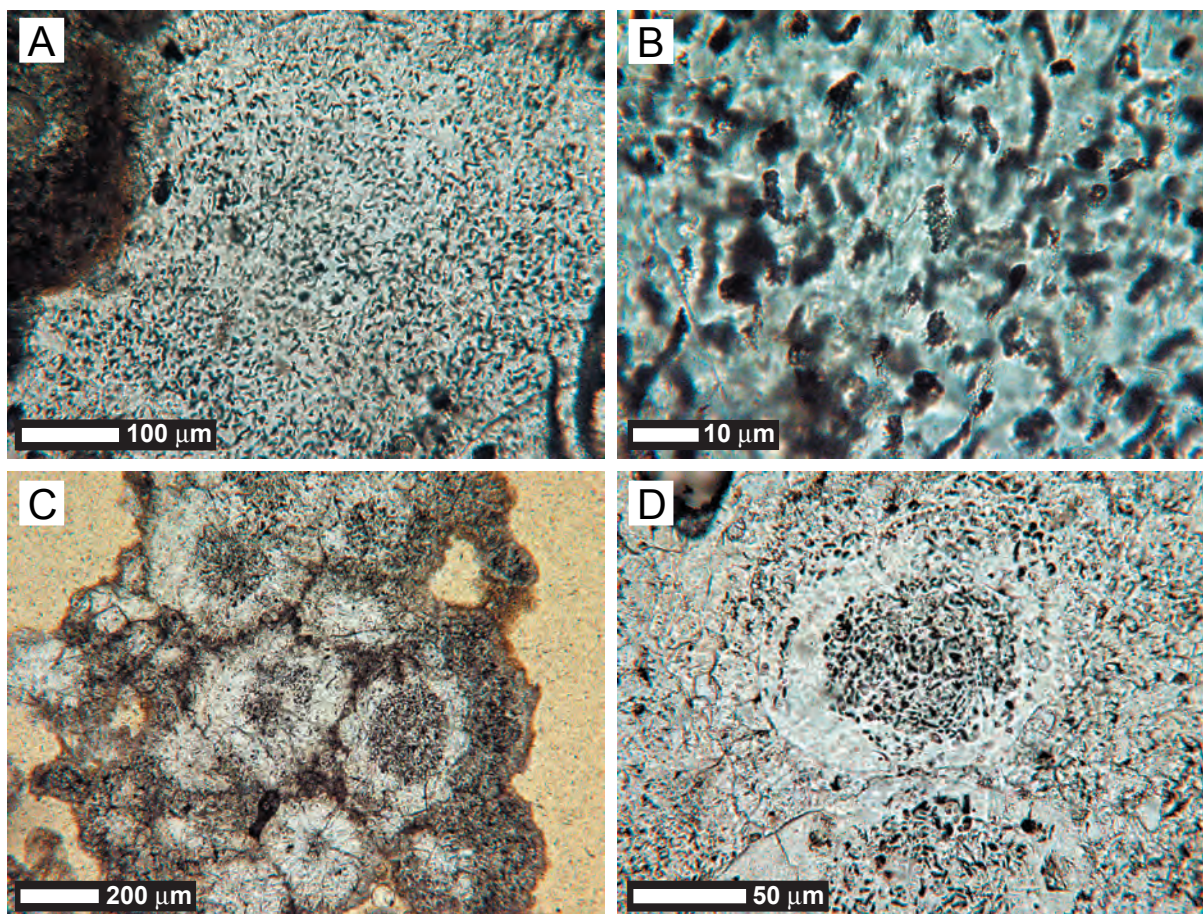


Fig. 7.4 : A : On observe également des plages sparitiques “tachetées” par les inclusions. B : Détail de la plage sparitique observée en (A), les inclusions laissent peu apparaître de structure, mais des bâtonnets semblent les constituer. C : Sphérulites de calcite dont le coeur est très riche en inclusions. L’auréole de sparite plus ou moins limpide a une périphérie localement indentée. D : Sphérulites dont le coeur est très riche en inclusions et dont l’auréole montre une périphérie lisse.

A : Sparitic cement “mottled” by inclusions. B : Close-up of the sparitic cement observed in (A), inclusions let few structures appear, but rods seem to constitute them. C : Calcite spherulites with inclusion rich core. A more or less transparent halo is observed with locally a serrated edge. D : Calcite spherulites with inclusion rich core and a smooth transparent halo.

toutefois, localement la porosité résiduelle reste encore importante (Fig.7.6.D). L’observation de ces ciments en cathodoluminescence (Fig. 7.6.E-F) révèle également une fine zonation (en apparence moins fine que celle qui est observée en LN ou en épifluorescence UV).

7.1.4 Les textures singulières

De nombreuses textures, singulières par leur morphologie, ou leur localisation ont également été observées (Fig. 7.7). L’une d’elles a été observée dans un bloc de carbonate formée suite au suintement d’une sécrétion depuis une blessure sur un tronc. La calcite est caractérisée par la présence de sphérules (de teinte souvent brunâtre) d’aspect rugueux, englobées dans une sparite limpide ou présentant des inclusions (Fig. 7.7.A). Ces sphérules ont une taille n’excédant que rarement 60 μm.

On peut également observer de petites sphères de calcite, au premier abord semblables à celles décrites dans la figure (7.2.B-D), hormis leur taille qui ne dépasse pas les 5-6 μm.

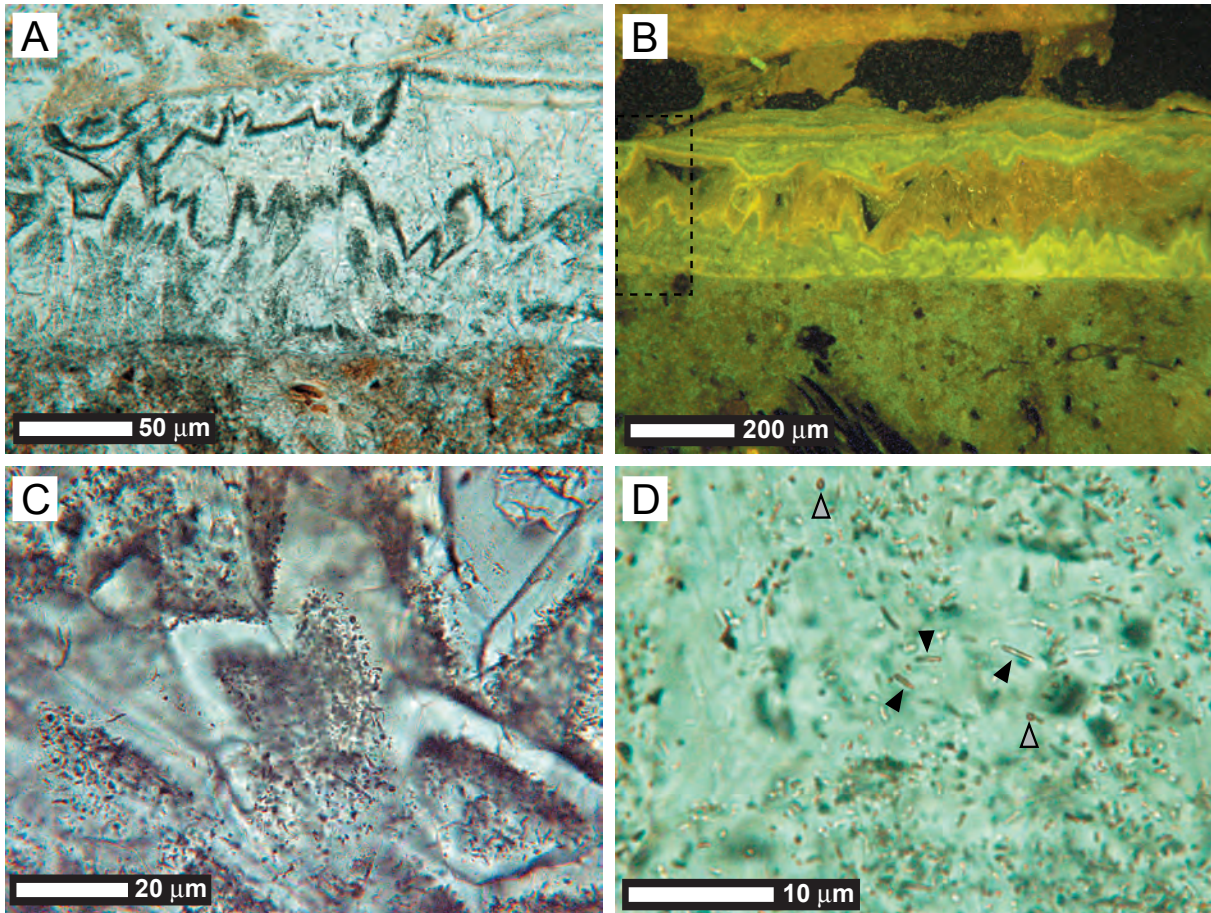


Fig. 7.5 : A : Ciments microsparitique à sparitique dont les lamines grossières sont constituées par des successions de plages limpides et de plages très riches en inclusions. B : Zone mitoyenne de (A), (partiellement localisée par le cadre en pointillé) observée en épifluorescence UV. Les zones riches en inclusion ont une teinte vert-jaune clair qui alterne avec les zones limpides de teinte verte. Le “ciment de blocage” présente une teinte orange. C : Détail des lamines ; on voit nettement que les laminations sombres sont le résultat de l’incorporation d’une multitude d’inclusions. D : Les inclusions sont parfois identifiables en tant que petits bâtonnets dont la longueur peut atteindre $2.2\ \mu\text{m}$ et le diamètre $0.5\ \mu\text{m}$; mais le plus souvent, aucune structure n’est clairement identifiable.

A : Microsparitic to sparitic cement in which thick laminae are constituted by a succession of transparent areas and inclusion-rich areas. B : Contiguous area to (A), (partially localized by the dashed framework) observed by UV epifluorescence. Inclusion-rich area has a yellow-green color, which alternates with transparent area (green color). “Blocky cement” has an orange color. C : Close-up of laminae ; Darker laminations are the result of the incorporation of numerous inclusions. D : Sometimes the inclusions are identified as small rods with a length of $2.2\ \mu\text{m}$ and a width of $0.5\ \mu\text{m}$; But most frequently, no structure is clearly identified.

Néanmoins, ces sphères de calcite ont une autre particularité ; certaines possèdent pour nucleus, un bâtonnet (Fig. 7.7.B), similaire à ceux précédemment décrits (Fig. 7.5.C-D). Ils ont une longueur proche de $2\ \mu\text{m}$ et un diamètre également proche de $0.5\ \mu\text{m}$. Si elles peuvent parfois constituer localement l’essentiel des structures carbonatées, on peut également les observer de manière éparse, incluses dans une texture sparitique plus ou moins riche en inclusions (Fig. 7.7.C).

Une texture formée dans de grands pores se compose d’un agencement de cristaux de calcite formant des chapelets. Ces chapelets peuvent être courbes, ramifiés, et être reliés à d’autres chapelets (Fig. 7.7.D). L’aspect trapu des cristaux composant les chapelets semble indiquer un habitus rhomboédrique mais en l’absence d’observation au MEB, il n’est pas possible de

confirmer cette hypothèse.

Un autre de type de sphérulites relativement similaire à celui décrit dans la figure (7.3.E) est observé. Il se caractérise par une absence de grosse inclusion et par une taille plus réduite n'excédant pas 60 μm (ce qui le différencie nettement des sphérulites décrites dans la figure 7.4.C-D). On observe en revanche des bâtonnets isolés piégés dans la calcite. Il est à noter qu'ils ont été observés en l'absence totale de filaments bruns. Ces sphérulites sont incluses dans une sparite plus ou moins limpide.

Enfin, une autre forme de texture allongée a été observée, mais sa nature cristallographique reste indéterminée (aucun test à l'acide n'a été possible au regard de la taille de l'objet). Une segmentation est apparente (Fig. 7.7.F ; flèches). La surface de ce filament apparaît finement rugueuse.

7.1.5 Les formes organiques

Dans le sol, diverses structures organiques ont été observées, comme des filaments bruns ramifiés de 5 μm de diamètre (qui sont en fait ceux précédemment cités dans la figure 7.2.A) dont on observe le "canal interne" (Fig. 7.8.A). Ces formes dont on peut avancer leur appartenance au règne fongique sont, ici encore, observées en présence d'une texture composée de sphérules de calcite.

On observe également dans les pores encore présents dans les blocs de carbonates des enchevêtrements très denses de filaments (Fig. 7.8.B). L'observation de ses filaments à fort grossissement montre qu'ils sont extrêmement ramifiés (Fig. 7.8.C). On peut également distinguer des spores typiques de champignons directement à leur contact, spores dont on différencie deux ou trois couches de la paroi ainsi que le pore de germination tout à fait caractéristique (Fig. 7.8.D, flèche).

7.1.6 Les sécrétions des blessures de l'arbre

Dans les sécrétions récoltées au niveau des blessures du tronc de l'iroko, des formes minérales autres que de simples pseudomorphoses calcitiques de tissus de bois ont été observées. Des amas de sphères sont présents dans ces sécrétions (Fig. 7.9.A). Leur observation au MEB après leur extraction densimétrique dans du bromoforme, montre que ces amas sont constitués de calcite micritique s'amalgamant en sphères, et se soudant entre elles (Fig. 7.9.B).

Des formes organiques comparables (du point de vue morphologique) à celles déjà mentionnées dans le sol ont été observées. Observée au microscope optique en contraste de phase, à l'aide de l'objectif x100 à immersion, cette sécrétion révèle la présence de nombreux bâtonnets dont la longueur avoisine 4 μm et le diamètre 0.5 μm (Fig. 7.9.C). Leur taille, mais également leur aspect en contraste de phase, permet de proposer une nature bactérienne pour ses bâtonnets. Néanmoins, aucune tentative de mise en culture n'a abouti. Des formes organiques filamenteuses de couleur brunâtre sont également présentes dans les sécrétions. Ces filaments ont un diamètre proche de 3 μm et apparaissent segmentés (Fig. 7.9.D, flèches). Ces caractéristiques permettent de fortement suspecter une origine fongique pour ces filaments.

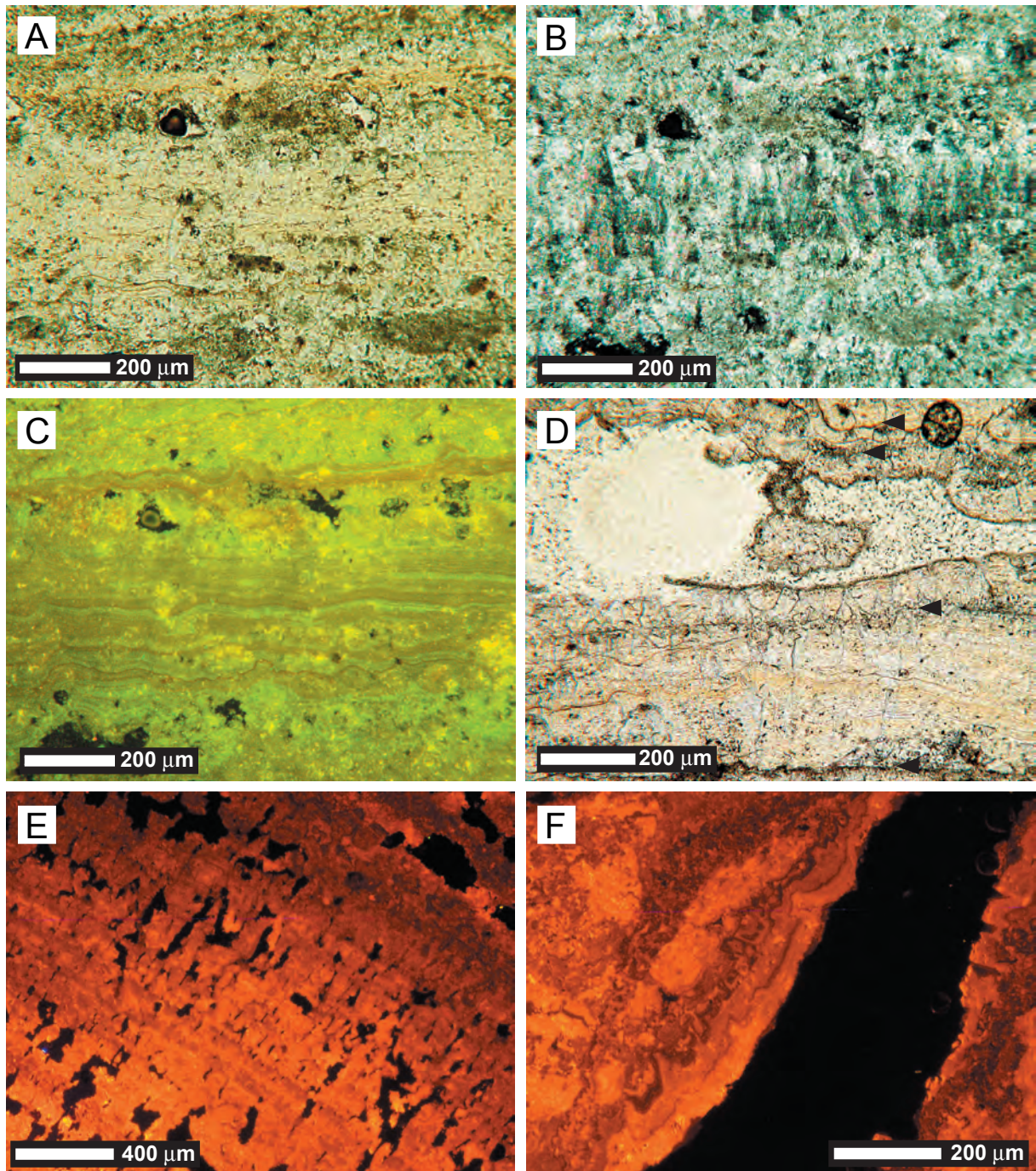


Fig. 7.6 : A-B-C : Photographies de plages sparitiques laminées présentant quelques îlots de micrite. A : Les ciments sont finement laminés, les laminations ne sont pas formées par des inclusions discernables en microscopie optique. Ces ciments peuvent avoir une extension pluri-millimétrique. B : Ces plages sparitiques sont caractérisées par une extinction roulante caractéristique. C : L'observation de ces ciments en épifluorescence UV montre une très grande finesse des lamines. Les zones à fort potentiel en micrite ont une fluorescence "nuageuse". D : Des successions de phases de cimentation sont nettement visibles même sans les intercalations micritiques (flèches). E-F : L'observation de ces ciments en cathodoluminescence met également en évidence leur aspect laminé avec des zones de luminescence variable.

A-B-C : Photographs of laminated spars with some intercalated micrite areas. A : The cements are thinly laminated; laminations seem inclusion-free, no inclusions are observable in optic microscopy. These cements can be > 2 millimeters thick. B : These spar cements are characterized by a typical wavy extinction. C : UV épifluorescence observation of these cements shows the extremely thin laminations. Areas with high micrite content have a cloudy luminescence. D : Cementation stage successions are clearly visible, even without micrite intercalations (arrows).

7.1.7 Les productions expérimentales

Dans un but de comparer avec les produits naturels décrits précédemment, une étude préliminaire de cristaux précipités sur boîte de Pétri à partir de diverses souches bactériennes échantillonnées dans les sol d'Afrique a été entreprise. Cette comparaison morphologique est développée sur un type de texture, les héli-sphérulites (cristaux de calcite en forme de fleur) et les formes apparentées. Observé en LN, un cristal de petite taille présente en son centre une zone sombre riche en inclusion (Fig. 7.10.A). Durant leur développement (ces cristaux peuvent atteindre plus de 200 μm), les lames sparitiques limpides forment des terminaisons indentées sur le pourtour du cristal (Fig. 7.10.B) donnant son aspect de fleur au cristal. L'obtention de sections de ces cristaux par cryo-fracturation lors de la préparation de l'échantillon au MEB en mode basse température permet une description précise de ce cristal. Se développant sur de l'agar, les cristaux prennent ici une forme concave vers l'atmosphère (Fig. 7.10.C). Quand deux cristaux croissent l'un près de l'autre, on note la présence d'une limite de compromis très nette (Fig. 7.10.C, flèches). Ce même cristal (d'un diamètre d'environ 400 μm), observé à l'opposé montre le développement de terminaisons indentées (Fig. 7.10.D, flèches). Certaines sections, celles qui n'ont pas développé de limite de compromis montrent systématiquement le même aspect. Le cristal semble rugueux au centre, tandis que la partie la plus externe semble lisse (Fig. 7.10.E). L'observation détaillée de ce type de sections révèle que le centre est composé de bactéries incluses dans un ciment calcitique (Fig. 7.10.C, étoile), tandis que la partie externe elle, est totalement dépourvue de bactérie (Fig. 7.10.C, plus). La zone sombre riche en inclusions observée en lame mince en LN correspondrait donc à un ciment calcitique riche en bactéries.

7.1.8 Analyses isotopiques

Quelques échantillonnages ciblés sur deux textures bien particulières de carbonate présent dans le sol ont pu être réalisés en vue d'une analyse de leur signature isotopique du carbone et de l'oxygène. Si on ne peut exclure de contamination par d'autres types de texture, les textures ciblées sont grandement prépondérantes dans le signal mesuré (un contrôle direct sur lame mince était possible). La première de ces textures correspond aux grandes plages sparitiques (cf. Fig. 7.4. A-B, Fig. 7.5) plus ou moins riches en inclusions. La seconde texture correspond en fait à un mélange de deux textures. Elles sont toutes deux liées à la présence de filaments bruns. Il s'agit de la micrite ainsi que de la texture microsparitique composée de sphérules de calcite décrites dans la figure (7.2. A-C).

La texture sparitique plus ou moins riche en inclusions présente un $\delta^{13}\text{C}$ et un $\delta^{18}\text{O}$ variant respectivement de - 3.26 ‰ à - 1.04 ‰ et de - 6.68 ‰ à - 1.98 ‰. Le groupe de deux textures liées aux filaments bruns a quant à lui, un $\delta^{13}\text{C}$ et un $\delta^{18}\text{O}$ variant respectivement de - 2.63 ‰ à - 0.16 ‰ et de - 10.44 ‰ à - 5.35 ‰. Les données mesurées sont reportées dans la figure (7.11.A). On constate une assez nette distinction entre les signatures isotopiques du carbone de ces deux textures (Fig. 7.11.B).

E-F : Cathodoluminescence observation of this type of cement also highlights the laminated morphology of these spars with various luminescences.

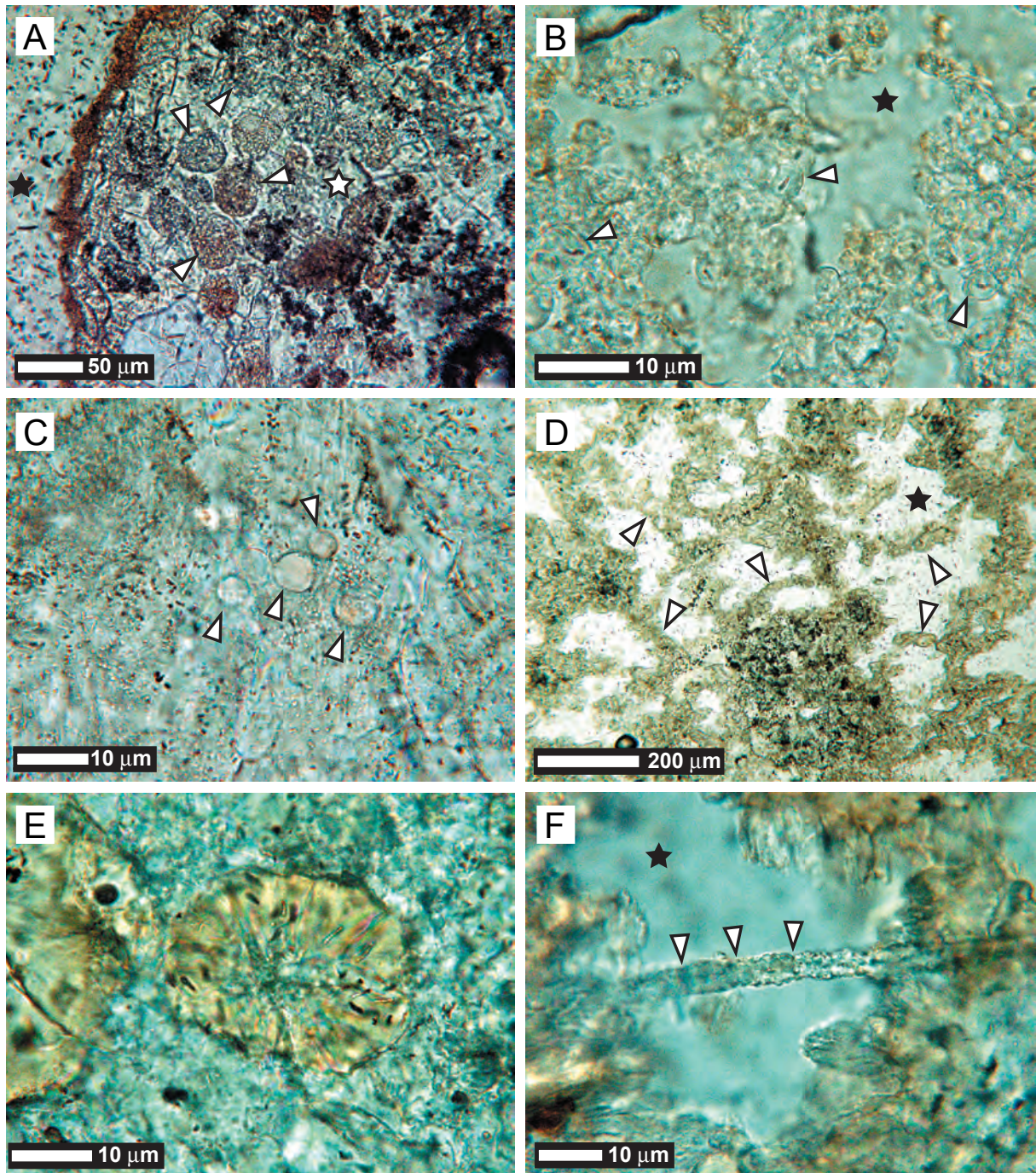


Fig. 7.7 : A : Texture sparitique (étoile) assez fréquente dans les sécrétions durcies suintant des blessures sur le tronc. La sparite englobe des sphérules d'aspect rugueux (flèches) dont la taille varie ici de 20 à 40 μm . B : Texture composée de sphère de calcite dont la taille avoisine 5-6 μm . Certaines de ces sphères renferment un nucléus en forme de bâtonnet (flèches). Comparables à celles précédemment citées (Fig. 7.5), elles s'en différencient par l'absence de filaments bruns ainsi que par la présence de nucléi. Etoile : porosité. C : Un autre type de sphère a été observé (flèches) englobé dans une sparite riche en petits bâtonnets. Ces sphères ont une taille pouvant atteindre 7-8 μm . On les observe en l'absence de filaments bruns et elles ne comportent jamais de structure interne. D : Texture en chapelet de cristaux de calcite trapus formant des filaments courbes et ramifiés (flèches). E : Sphérulithe dont la taille n'excède jamais 60 μm et dépourvu d'un cœur riche en inclusions, englobé dans une sparite limpide. Quelques bâtonnets sont visibles dans ces sphérulithes. F : Filament cristallin segmenté (flèches) dont la nature cristallographique reste indéterminée.

A : Sparitic texture (star) relatively frequent in hardened secretion oozing from trunk wounds. Rough spherules which vary in size from 20 to 40 μm are embedded in a transparent spar cement. B : Texture composed

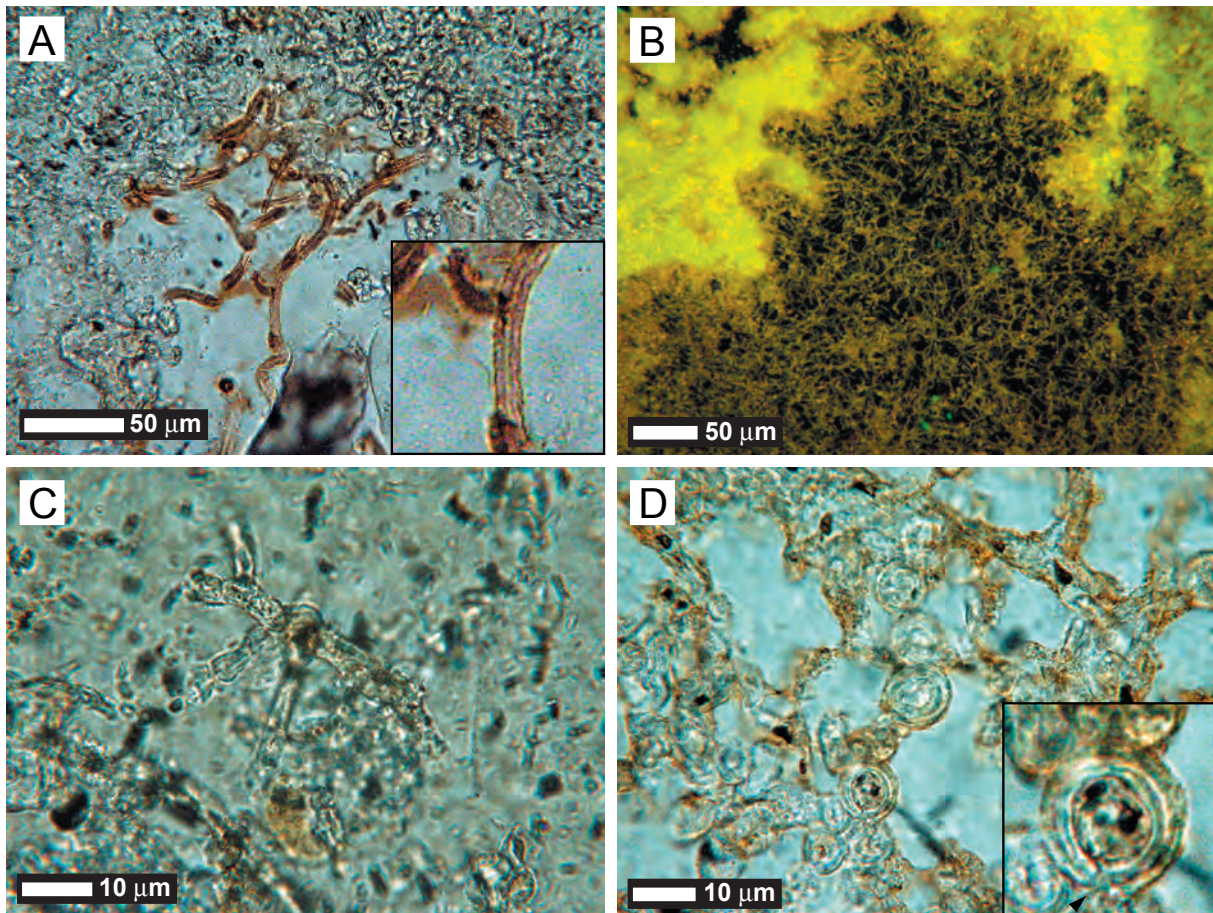


Fig. 7.8 : A : Les filaments bruns de 5 µm de diamètre, précédemment mentionnés, sont ramifiés ; le détail de l'un d'eux montre la présence d'une sorte de canal interne. Leur nature fongique est fortement suspectée de par ces caractéristiques. On les observe ici encore au contact d'une texture calcitique composée de sphères. B : Treillis organique composé de nombreux filaments observés en épifluorescence UV. C : Détail de la précédente structure (B) montrant que les filaments la composant sont extrêmement ramifiés. Ces filaments ont une taille d'environ 5 µm de diamètre. D : Directement au contact des filaments décrits en (C), on observe des spores de champignon tout à fait caractéristiques de par leur morphologie à 2 ou 3 couches constituant paroi ainsi que le pore de germination (flèche).

A : Brown filaments with a diameter of 5 µm previously described ; The close-up of one of them shows the presence of an internal canal. Their fungal nature is strongly suspected regarding these characteristics. They are observed directly in contact with the calcitic texture composed of spheres. B : UV epifluorescence of an organic mesh composed of numerous filaments. C : Close-up of the previous texture (B) showing that the filaments are extremely ramified. These filaments have a diameter of 5 µm. D : Directly in contact with the filament described in (C), fungal spores are observed. They are identified regarding their morphology with 2 or 3 cell walls and their germination pore (arrow).

of calcitic spheres up to 5-6 µm in diameter. Some of these spheres have a small rod as a nucleus (arrows). Almost similar to a previously described texture (Fig. 7.5), it is different from the latter by the absence of brown filaments and the presence of nuclei. Star : porosity. C : Another type of sphere observed (arrows) embedded in a rod inclusion-rich sparitic phase. The size of these spheres can reach 7-8 µm. They are never observed in the presence of brown filaments and showing an internal canal. D : Rosary texture of stubby crystals constituting curved and ramified filaments (arrows). E : Spherulites not exceeding 60 µm and without inclusion-rich cores are found embedded in a transparent cement. Some rods are present in these spherulites. F : Crystalline segmented filament (arrows) of which the crystallographic nature remains undetermined.

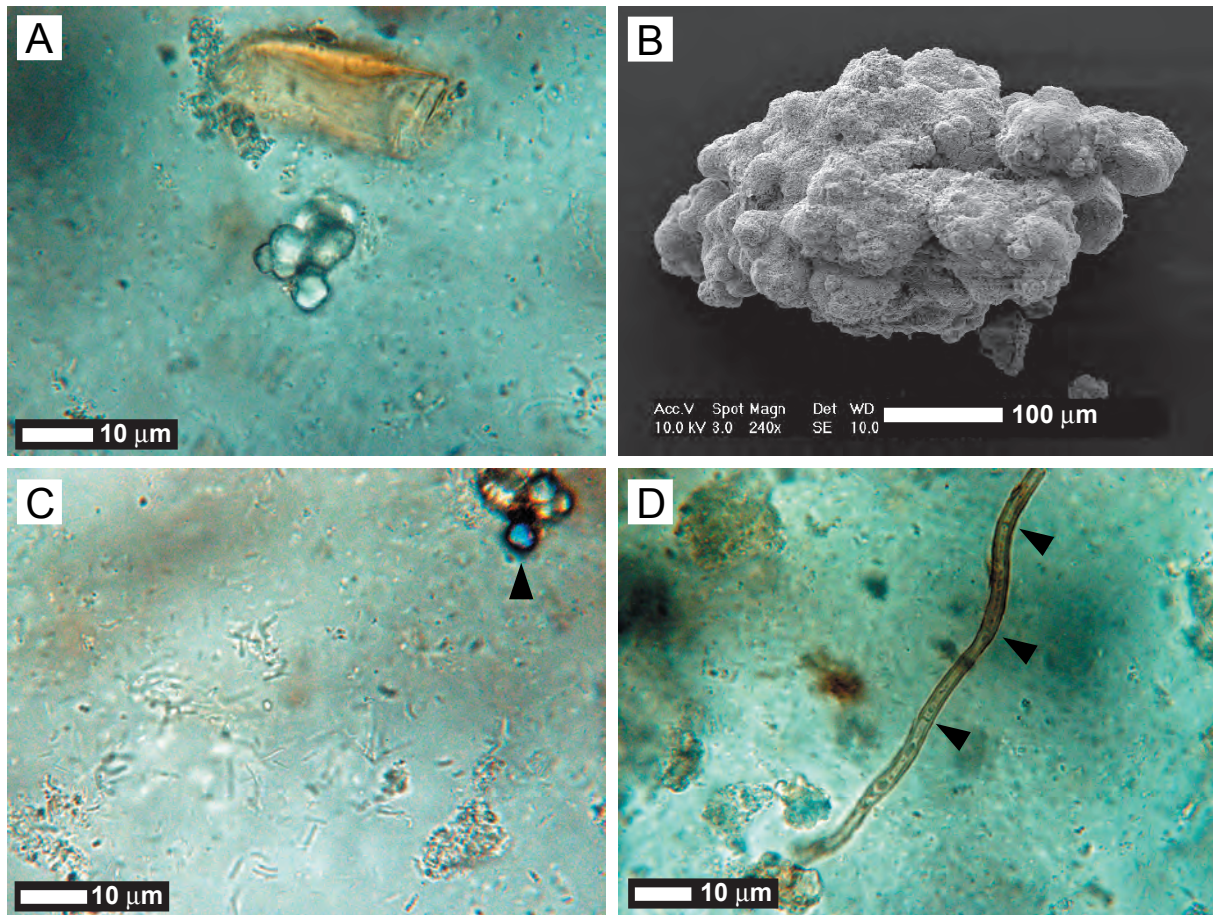


Fig. 7.9 : A-D : observation des constituants composant une sécrétion récoltée sur un iroko de Côte d'Ivoire
 A : Amas composé de sphères de calcite observé en LN dans la sécrétion. B : Un amas extrait de la sécrétion observée au MEB. On constate que les sphères sont composées de micrite. C : Observation au microscope optique en contraste de phase, à l'aide de l'objectif x100 à immersion de la sécrétion. On peut noter la présence de nombreux bâtonnets, dont l'aspect en contraste de phase ainsi que leur dimension (longueur $\approx 4 \mu\text{m}$ et diamètre $\approx 0.5 \mu\text{m}$) permettent de postuler leur nature bactérienne. Flèche : Amas micritique. D : Filament brun observé dans la sécrétion. D'un diamètre de $3 \mu\text{m}$, le filament est clairement segmenté (flèches). L'ensemble de ses caractéristiques suggère une origine fongique pour ce type de structure.

A-D : Observation of the constituents present in a secretion sampled from an iroko of Ivory Coast. A : Aggregate of calcitic spheres in the secretion observed in plane polarized light (PPL). B : SEM photograph of an aggregate extracted from the secretion. The entire aggregate is composed of micrite. C : Optical microscopic observation in phase contrast of the secretion using the x 100 oil immersion objective. Note the presence of numerous rods, whose appearance in phase contrast and size (length $\approx 4 \mu\text{m}$ and diameter $\approx 0.5 \mu\text{m}$) suggest a bacterial origin. Arrow: micritique aggregate. D : Brown filament observed in the secretion. With a diameter of $3 \mu\text{m}$, the filament is clearly segmented (arrow). These characteristics suggest a fungal nature for these structures.

7.1.9 Analyse chimique ponctuelle

Une séquence texturale

La WDS a été utilisée pour analyser ponctuellement, sur des transects particuliers d'éventuelles variations. Lors de ces analyses certains éléments ont été ciblés : le calcium (Ca, exprimé sous forme d'oxyde CaO) ; le magnésium (Mg, exprimé sous forme d'oxyde MgO) ; le strontium (Sr, exprimé sous forme d'oxyde SrO) ; le manganèse (Mn, exprimé sous forme

d'oxyde MnO) ; le baryum (Ba, exprimé sous forme d'oxyde BaO) ; le sodium (Na, exprimé sous forme d'oxyde NaO) ; et enfin le fer, mesuré sous sa forme Fe^{2+} et Fe^{3+} respectivement exprimés sous forme d'oxydes FeO et Fe_2O_3 . L'ensemble est normalisé à 100, et dans un souci de représentation, les données sont centrées réduites.

Les transects étudiés sont des successions de textures telles que l'on en observe dans la figure (petro1.D). On constate une différence de comportement (sur trois principaux éléments, MgO, SrO et BaO) entre les deux textures. La première texture analysée sur le transect est une sparite riche en inclusions, grossièrement laminée (Fig. 7.12.A) ; la seconde est une texture composée de sphérules de calcite à filaments bruns (Fig. 7.12.B). Du point de vue de la datation relative, la texture (B) est plus ancienne que la texture (A), cette dernière venant se développer autour de la texture (B). Donc du point de vue de la stratigraphie de la diagenèse, on observe un appauvrissement en Mg, Sr ainsi qu'en Ba au niveau de la transition entre les deux textures. Il faut noter toutefois que les valeurs élevées en Mg, Sr, et Ba semblent préférentiellement présentes au contact des filaments bruns. Les autres éléments ne présentent pas de comportement tranché suivant les textures.

Les ciments laminés

L'étude d'un ciment laminé, observé dans un échantillon de sécrétion durcie, a été menée. La comparaison entre les intensités relatives de la luminescence des laminations en cathodoluminescence (qui est en quelque sorte une image de la composition chimique du ciment) et un transect réalisé en WDS sur une grande plage de ciment a été effectuée. L'intensité de la luminescence est obtenue après transformation de l'image en niveaux de gris, et l'intensité est mesurée au niveau de chaque point de mesure du transect de la WDS. Arbitrairement, la moyenne d'intensité est choisie pour délimiter des zones du transect en termes de haute ou basse intensité de luminescence.

La luminescence (ainsi que la teinte) issue de l'observation en cathodoluminescence est liée à la présence d'éléments en traces dans la maille de la calcite. Certains de ces éléments sont activateurs, d'autres inhibiteurs de luminescence. Des éléments comme le fer et le magnésium sont par exemple connus pour inhiber l'émission radiative photonique, tandis que le manganèse lui est un activateur. Il faut noter que les effets des uns peuvent contrebalancer l'effet des autres, induisant alors une luminescence moyenne ou nulle selon les cas.

On détermine globalement sur la figure (7.13) deux zones de luminescence de forte intensité, (A) et (B). Le signal fourni par la WDS montre que la calcite analysée en (A) est en moyenne plus riche en Mn et appauvri en Mg. Pour la zone (B), c'est également vrai pour le Mg, mais ce comportement est moins net pour le Mn. Les comportements du Ba et du Sr sont moins clairs ; dans la zone (A), le Sr est plutôt peu présent, mais en (B) ce comportement est moins tranché. Le Ba n'a semble-t-il pas de comportement identifiable lié aux zones mises en évidence par la cathodoluminescence.

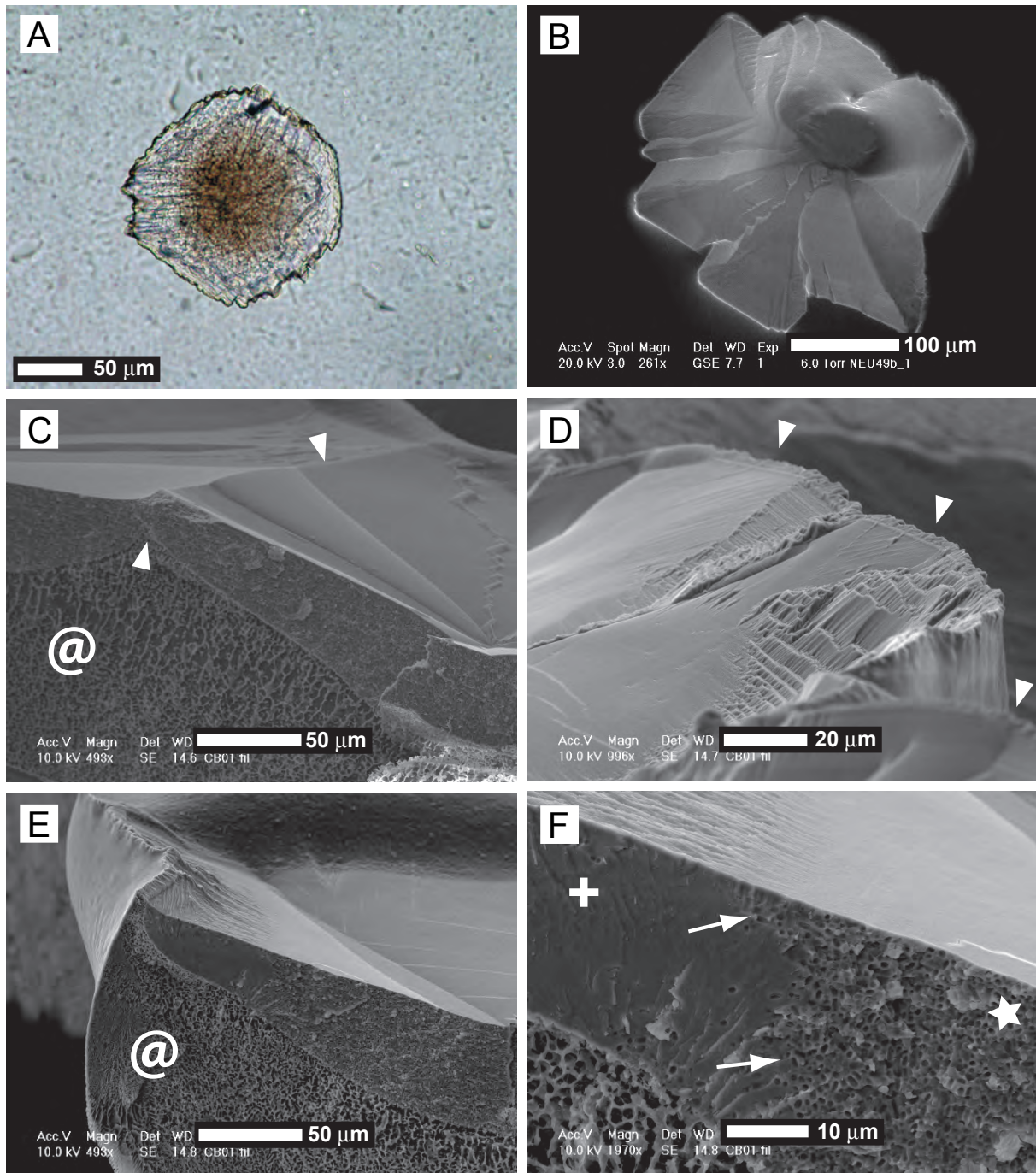


Fig. 7.10 : A : Cristal produit sur boîte de Pétri observé en LN. Stade précoce de la formation d'un cristal de calcite en forme de fleur, on voit très nettement le cœur sombre, riche en inclusions de très petite taille. Le pourtour n'est pas encore indenté. B : Calcite en forme de fleur produit sur boîte de Pétri observé au MEB. C-F : Cristal produit sur boîte de Pétri observé au MEB en mode basse température. @ : Agar. C : Le cristal se développe à l'interface agar atmosphère. Quand deux germes se développent à peu de distance, une limite de compromis se crée (flèches). Ce type de cristal à une morphologie concave orientée vers l'atmosphère. La bordure cassée lors de la préparation de l'échantillon montre un aspect rugueux. D : Détail d'une bordure de cristal où les indentations commence à se former (flèches). E : Sur la section de plus grands cristaux, le cœur est rugueux tandis que la périphérie semble plus homogène et lisse. F : Détail de la transition entre la zone "rugueuse" qui est en fait due à la cimentation de bactéries (de la colonie ; étoile) et la partie externe où les bactéries ne sont plus présentes dans le ciment (plus). Flèches : limite entre la zone à bactérie et le ciment limpide.

A : Crystal produced in Petri dish observed in PPL. Early stage of a calcite flower-shaped crystal, the

7.2 Discussion

7.2.1 La genèse de la porosité dans le sol

La genèse de la porosité dans les sols étudiés en Côte d'Ivoire est un des facteurs permettant la formation des grandes plages sparitiques ou des diverses successions texturales précédemment décrites. Il est important de noter que ces textures sont quasi systématiquement observées dans de grands blocs de carbonate présents dans les sols. La quasi absence de grains de quartz dans les gros blocs observés ainsi que l'aspect de certaines surfaces et morphologies de blocs, permet d'avancer une explication pour la formation de grands pores dans le sol propice à la genèse de grands ciments. Ces blocs sont d'anciennes racines abandonnées, puis minéralisées. Le processus de genèse est interprété comme suit : le fragment de bois se calcitise dans un premier temps sur sa périphérie, ensuite, la dégradation de la matière organique se produit. Ceci permet d'expliquer la préservation de grands pores dans le sol. La périphérie minéralisée de la racine permet de résister à l'écrasement lors de la dégradation de la matière organique. Elle explique également l'absence de contamination par la matrice quartzifère de ces blocs. La calcitisation peut être soit caractérisée par des pseudomorphoses, soit par de la précipitation de ciment sur un support organique. En résumé, on peut interpréter la formation de ces blocs de carbonate comme le résultat d'une calcitisation centripète, associée à une dégradation plus ou moins centrifuge de la matière organique.

7.2.2 Les textures laminées

Dans cet environnement continental avec saison des pluies et saison sèche, les conditions physiques et chimiques de ses sols devraient être variable. L'existence de ciments laminés peu permettre de tester cette hypothèse. Ils sont la preuve de l'enregistrement du temps et donc d'éventuelles variations des conditions physico-chimiques locales. Une étude couplée *observation en cathodoluminescence / analyse WDS* d'un ciment formé à partir d'une sécrétion durcie prélevée à Kani (Côte d'Ivoire) a été réalisée. La sécrétion suintant des blessures de l'arbre peut être considérée comme une approximation de la solution du sol.

Il est connu que la luminescence des carbonates est souvent activée par la présence de manganèse (Amieux, 1982). A l'inverse, le fer (spécialement le Fe^{3+} mais également Fe^{2+} ;

darker core, rich in tiny inclusions is clearly visible. The edge of the crystal is not serrated yet. B : SEM photograph of a calcite flower-shaped crystal produced in a Petri dish. C-F : Low temperature SEM photograph of a calcite flower-shaped crystal produced in a Petri dish. @ : Agar. C : The crystal grows at the interface between the agar and the atmosphere. When 2 crystals grow in close vicinity, a compromise limit is created (arrow). This kind of crystal has a concave morphology oriented towards the atmosphere. The broken edge created during sample preparation has a rough appearance. D : Close-up of the edge of the crystal where indentations start to develop (arrows). E : On a section of more developed crystals, the core is rough whereas the periphery seems homogenous and smooth. F : Close-up of the transition between the rough part of the crystal (the core part) due to the inclusion of bacteria embedded in calcite (star) and the outer part where the bacteria are absent in the cement (plus). Arrow : limit between the zones with bacteria and transparent cement.

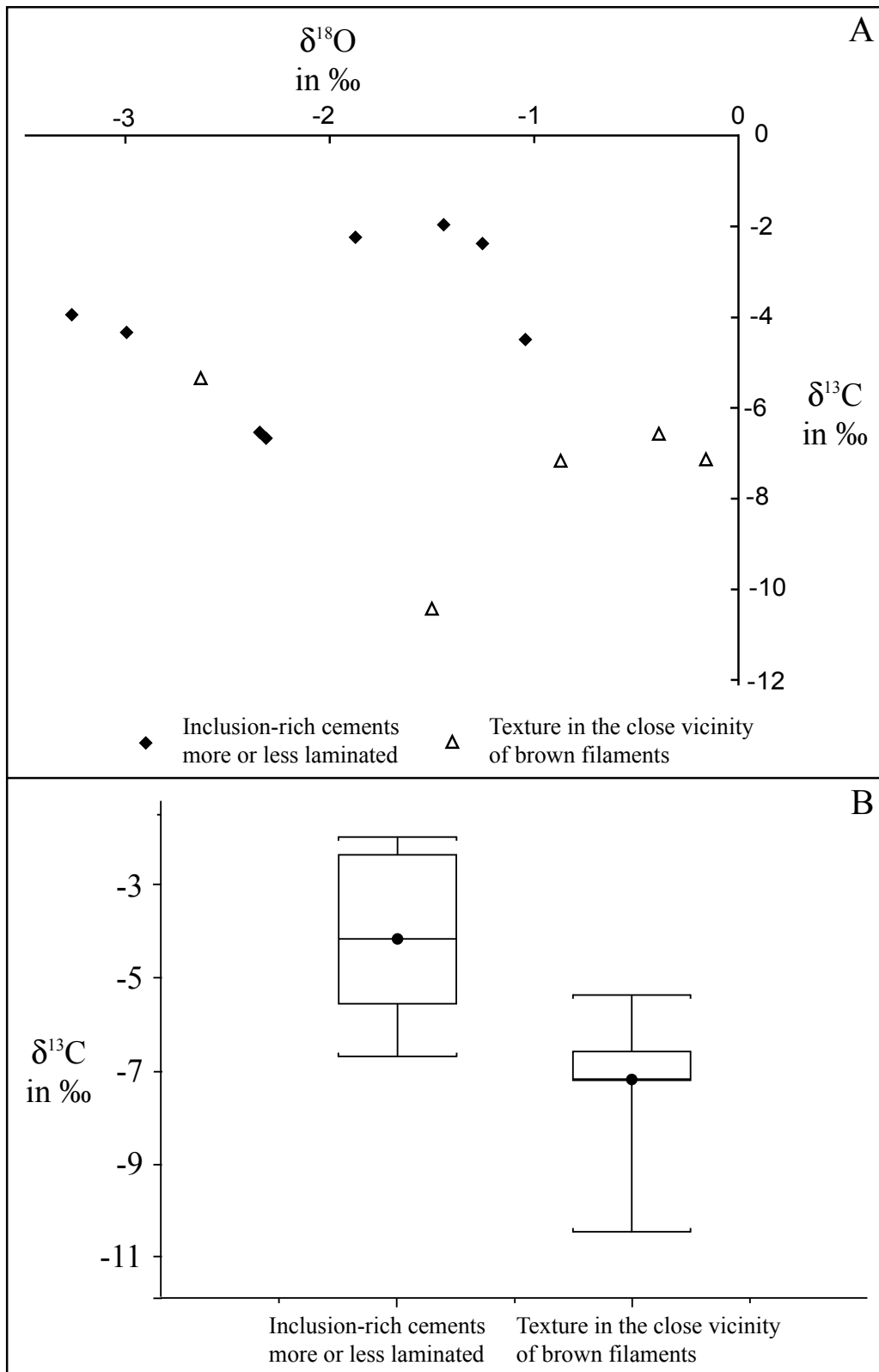


Fig. 7.11 : A : Graphique représentant la signature isotopique du carbone et de l'oxygène des ciments plus ou moins riches en inclusions ainsi que les textures micritiques et microsparitiques présentes au contact des filaments bruns. B : Les *box plots* des deux distributions montrant qu'elles sont nettement distinctes.

A : Scatter plot of the carbon and oxygen isotopic signatures of the inclusion rich-cements (more or less laminated) and the textures (micrite and microspar) present close to the brown filaments. B : Box plots of the 2 distributions showing that they are clearly different.

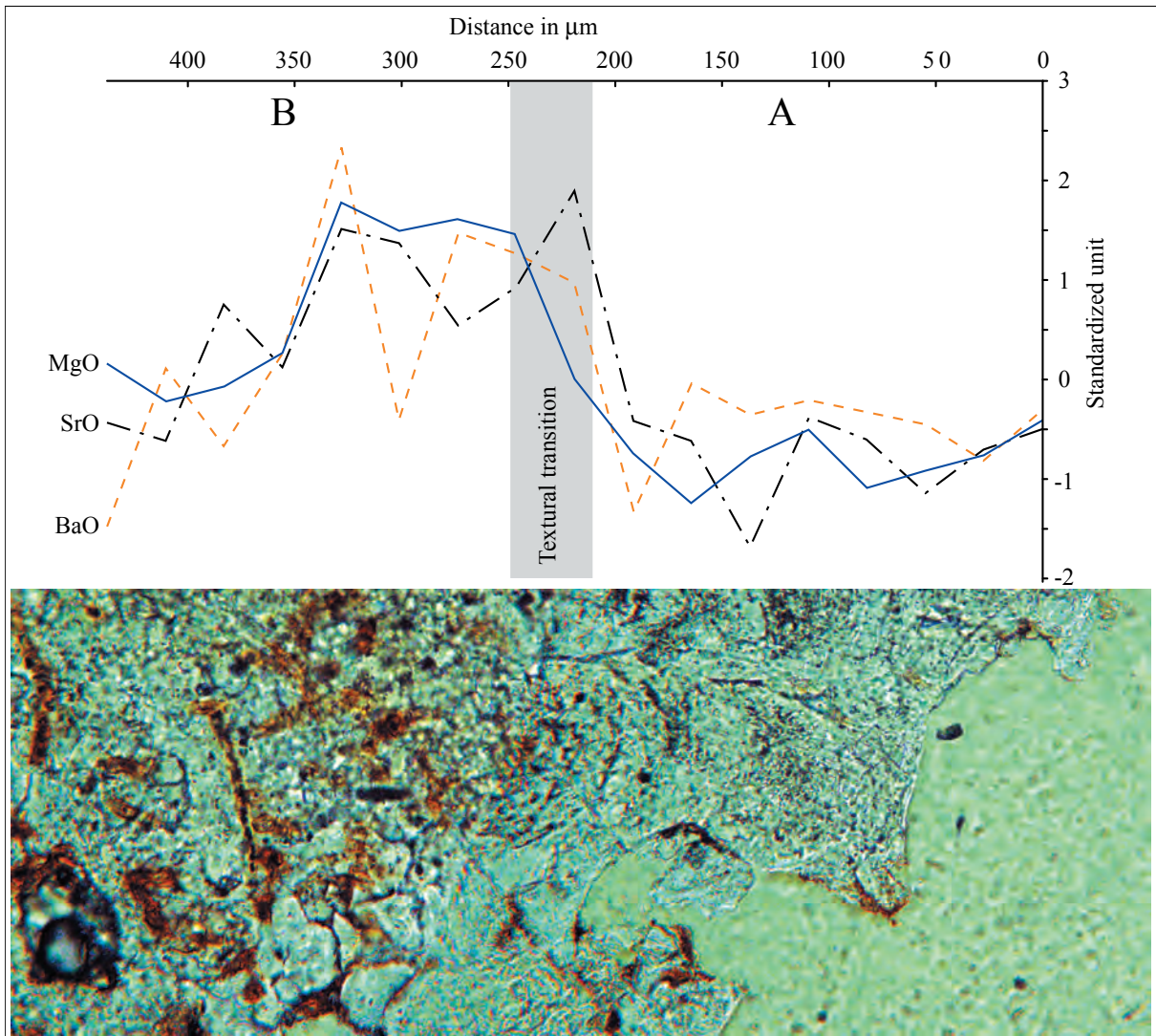
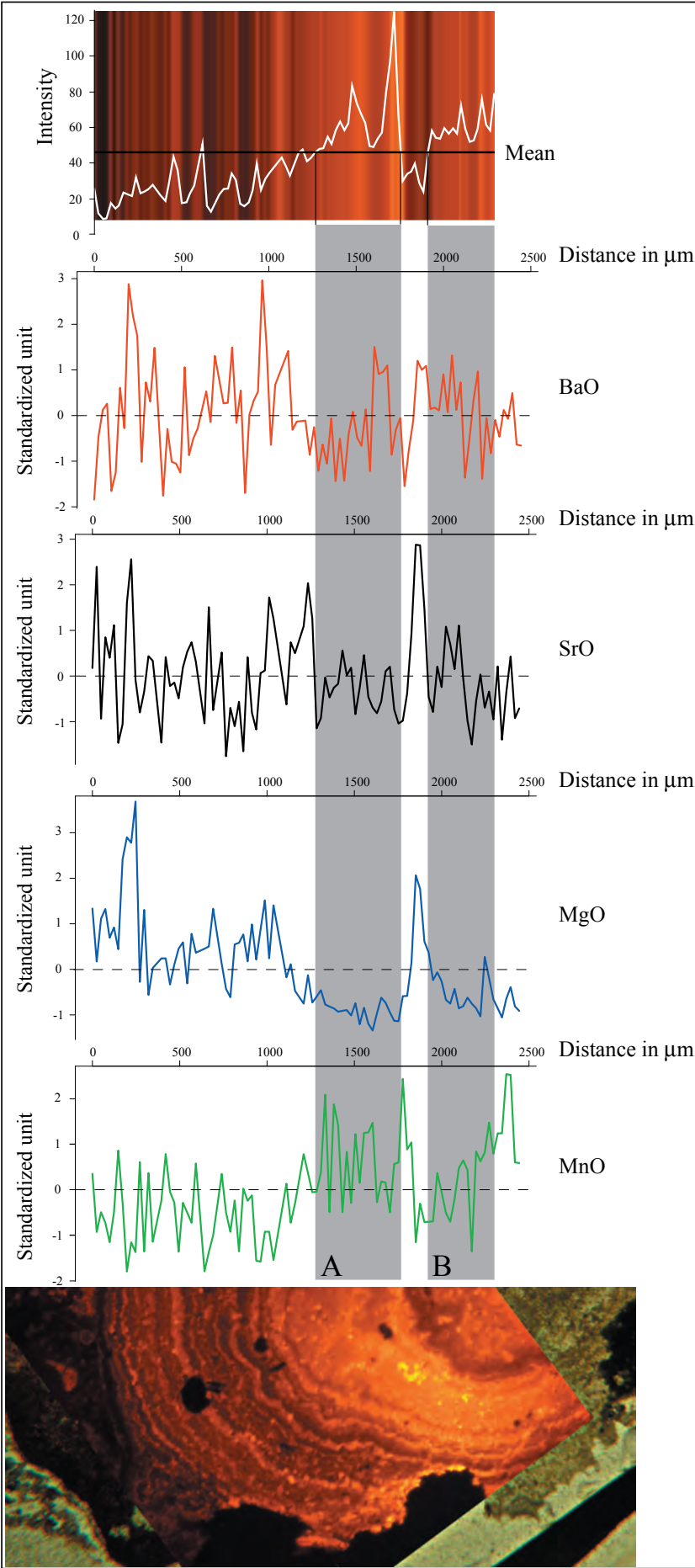


Fig. 7.12 : Succession de deux textures ; la texture (B) apparaît avant la texture (A) qui croît sur (B). (B) est une texture calcitique constituée par des sphérules au contact de filaments bruns. Directement au contact se développe ensuite une texture sparitique riche en inclusions (A). La transition entre les deux textures (zone grisée) est exclusivement fondée sur l'étude optique des phases. La texture (A) est caractérisée par les plus faibles teneurs, que ce soit en Mg, Sr ou Ba. La texture (B) montre des valeurs plus élevées, mais aussi moins régulières, toutefois, les valeurs les plus hautes semblent au contact des filaments bruns.

Succession of 2 textures ; the B texture appears before the A texture which grows on B. B is a calcitic texture composed of spherules in contact with brown filaments. Directly in contact, an inclusion-rich sparitic texture is developed (A). The transition between the 2 textures (gray zone) is exclusively defined by the optical study of the phases. The A texture is characterized by a lower content in Mg, Sr and Ba. The B texture shows higher contents, but they are fairly irregular, although the highest values seem to be in the phase in close vicinity to the brown filaments.

Meyers, 1978) est un inhibiteur de luminescence, tout comme le magnésium (élément moins documenté dans la littérature). Il est communément admis que les teintes en cathodoluminescence (CL) sont le reflet des conditions oxydantes ou réductrices du milieu durant la précipitation du ciment. Le Mn^{2+} s'incorporerait dans le réseau de la calcite (donnant une teinte CL jaune) en milieu réducteur, tandis que le Fe^{3+} lui s'incorporerait en milieu oxydant (plus les conditions sont oxydantes, plus les teintes sont rouges voire noires).



Les deux zones définies dans la figure (7.13) comme nettement luminescentes (intensité supérieure à la moyenne) sont toutes deux caractérisées par une faible teneur en Mg ; ce sont les valeurs les plus faibles détectées sur le transect. Ceci est conforme à ce que la théorie en CL prédit. Le Mn, l'activateur principal, est présent en teneur élevée (relative) dans la zone de luminescence (A), tandis que dans la zone (B), sa présence n'est pas totalement homogène, même si elle est tout de même haute. Il semble donc qu'en première approximation, la luminescence soit bien liée aux teneurs en Mn et Mg, mais il faut toutefois noter que le rôle du fer n'a pas pu être réellement mise en évidence. Néanmoins, on peut postuler que les conditions d'oxydation ou réductrice du sol, via la "pompe" que constitue l'iroko, influencent les fluides présents dans l'arbre et donc les sécrétions suintant des blessures de ce dernier. Les ciments précipitant à partir de ces solutions doivent donc enregistrer les variations de la solution du sol et ses conditions oxydo-réductrices.

Les comportements du Sr et du Ba restent quant à eux non interprétés dans la présente étude, mais au regard de leurs variations, on peut soupçonner qu'ils enregistrent également des variations de la solution du sol, dont les causes ne sont pas ici discutées.

7.2.3 La relation entre les différentes textures et les organismes identifiés

L'inventaire non exhaustif des textures présenté dans ce chapitre montre que certaines d'entre elles sont systématiquement observées en présence de structures organique. Les filaments bruns ramifiés et interprétés comme des filaments fongiques sont soit observés en présence de micrite, soit en présence de microsparite composée de sphérules dont la taille moyenne varie de 10 à 25 μm . Localement, des cristaux de calcite en forme de fleur sont également présents. Les bâtonnets si souvent présents dans les grandes plages sparitiques ont toutes les caractéristiques de bactéries observées dans la sécrétion prélevée sur le tronc. On les trouve en tant que nucleus de petites sphères de calcite ou créant des laminations lorsqu'ils sont extrêmement abondants par exemple.

Une comparaison géochimique de deux textures, l'une au contact de filaments bruns, l'autre riche en inclusions (bâtonnets) montre une différence notable des teneurs en Mg, Sr et Ba (Fig. 7.12). Si l'on considère les interprétations, sur la nature fongique des filaments et la nature bactérienne des bâtonnets, comme exactes une hypothèse peut être avancée pour expliquer une telle différence. Les champignons sont connus pour leur caractère métalophile, concentrant les métaux dans leurs tissus. Deux hypothèses peuvent être imaginées : soit les champignons concentrent ces métaux localement dans leurs résidus métaboliques, ou par un effet de "drain" via leur mucus, soit la solution parente est elle-même initialement plus riche en

Fig. 7.13 : Comparaison entre l'intensité de luminescence obtenue en cathodoluminescence et la teneur en certains éléments (en données centrées réduites) mesurée par WDS. L'intensité de la luminescence est obtenu pas mesure sur image cathodoluminescence passée en niveau de gris. La mesure est effectuée au niveau de chaque point de mesure de la WDS. Arbitrairement le signal est séparé par la moyenne en deux groupes, les intensités hautes et basses. On définit ainsi deux zones de haute intensité (A et B).

Comparison between the intensity of the luminescence observed in cathodoluminescence and some element contents (in standardized data) measured with WDS. The luminescence intensity is measured on the cathodoluminescence picture in grey mode. Measurements are performed at each point of WDS analyses. Arbitrarily, the signal is divided by the mean into 2 groups, the high and low intensities. In this way, 2 areas of high intensity (A and B) are defined.

métaux divers (comparée à la solution parente des sparites riches en inclusions bactériennes) et dans ce milieu favorable, les champignons se développeraieent préférentiellement.

De même, les signatures isotopiques du carbone des textures au contact des filaments bruns, ainsi que les sparites riches en inclusions, sont sensiblement différentes. Au contact des filaments, le $\delta^{13}\text{C}$ du carbonate est en moyenne de $-4.06 \pm 1.84 \text{ ‰}$, tandis que la sparite riche en inclusion possède un $\delta^{13}\text{C}$ moyen de $-7.33 \pm 1.87 \text{ ‰}$. Comment interpréter ces mesures isotopiques ? Si on postule que la solution parente est initialement identique pour la formation des deux textures, quel contrôle biologique peut-on déduire, la signature de la calcite étant à l'image de la solution parente ? Le carbonate lié aux filaments étant plus riche en carbone lourd que celui lié à la présence de bactérie, il en va de même pour la solution parente au moment de la précipitation. On peut donc penser (dans l'hypothèse d'une solution initiale identique) qu'au contact des champignons, la solution est plus enrichie en ^{13}C sous leur contrôle (on serait donc être en présence d'un fractionnement différent entre les bactéries et les champignons).

En conclusion, une signature géochimique différente pour ces deux types de texture ou groupes de textures formés au contact et/ou sous l'influence d'organismes de nature différente est mise en évidence. Il est difficile de déterminer les processus à prendre en compte au regard de ces travaux préliminaires. Toutefois, il est indubitable que deux signatures géochimiques spécifiques (i.e. isotopes du carbone et éléments en traces) différencient les textures.

Si un certain contrôle géochimique semble établi, le contrôle de la morphologie des cristaux est également possible. L'exemple pris en compte ici est l'exemple de sphères de calcite. Si la genèse de sphères de calcite n'est pas fréquente dans des conditions purement physico-chimiques, en conditions normales de température et de pression, une voie de formation autre est connue. Il est connu que dans des mucus microbiens (EPS : *Extracellular Polymeric Substance*) des germes de calcite ayant des habitus sphériques précipitent (Verrecchia et al. 1995 ; Dupraz et al. 2004). Ces EPS sont composés de sucres et d'acides aminés ; ils sont spécialement connus chez les cyanobactéries, mais également chez les bactéries et certains champignons. Il a été démontré expérimentalement par Braissant et al. (2004), que plus un EPS est riche en acides aminés et en sucres, plus la morphologie sphérique est privilégiée. On peut donc proposer l'hypothèse de l'influence d'un EPS pouvant contrôler la morphologie sphérique au contact des champignons.

7.2.4 La genèse d'hémi-sphérulites expérimentaux : comparaison avec des homologues naturels

L'observation des hémi-sphérulites expérimentaux au MEB en mode basse température, permet d'avancer à la fois une hypothèse sur leur genèse, mais également une identification de l'origine de certaines textures présente dans les sols de Côte d'Ivoire. Les textures sphérulitiques présentant des inclusions dans leur cœur sont très présentes dans les sols étudiés (Fig. 7.4.C-D). Les cristaux sont observés ici en coupe, suite à la confection de la lame mince, mais ils sont malgré tout fortement similaires aux hémi-sphérulites expérimentaux. Ces cristaux possèdent un cœur riche en inclusions qui dans le cas des produits de laboratoire, sont identifiées comme étant des bactéries. Ce cœur est entouré d'un ciment limpide (i.e. dépourvu de bactéries piégées).

La genèse des héli-sphérulites est discutée d'un point de vue chronologique d'après l'observation directe sur les boîtes de Pétri. Une interprétation sur cette genèse est proposée dans la figure (7.14). Dans un premier temps, une colonie bactérienne se développe sur le milieu, un dégazage de CO_2 métabolique se produit. Suite à cette émission de dioxyde de carbone, en présence de calcium, du CaCO_3 précipite au centre de la colonie, là où le dégazage est le plus intense. La précipitation de carbonate se développant, elle piège des bactéries, mais induit également une réduction des émissions de CO_2 au centre de la colonie. Le dégazage se trouve alors contraint au pourtour induisant la précipitation de calcite en périphérie du cœur de la colonie. Les émissions de CO_2 migrent de plus en plus loin du cœur suite à la diffusion des résidus métaboliques dans le milieu. La précipitation de calcite dépasse alors les limites de la colonie, ne piégeant plus de bactéries. C'est ainsi

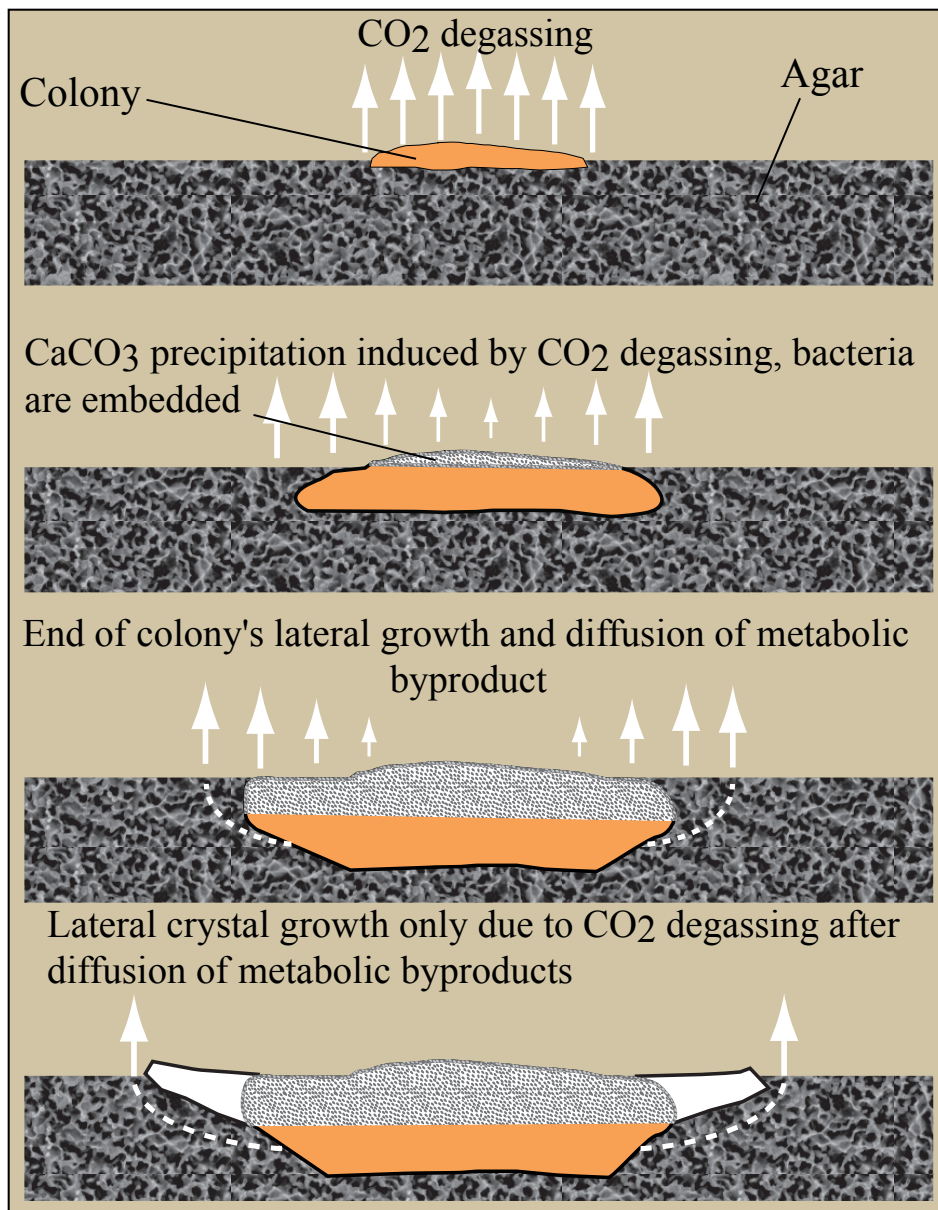


Fig. 7.14 : Schéma interprétatif des processus menant à la formation d'héli-sphérulites avec des bactéries piégés au cœur par le ciment calcitique.

Interpretative sketch of processes leading to the hemi-spherulites with embedded bacteria.

que l'auréole de ciment limpide peut se développer sur une première génération constituée par un "cœur" cristallin, riche en inclusions (i.e. les bactéries). Si l'on considère que dans les sols un processus relativement similaire se met en place, en l'absence d'un support plan (i.e. le milieu dans la boîte de Pétri), une sphérulite peut se former ainsi. On peut imaginer une croissance de la colonie en concurrence avec la croissance du ciment, la précipitation de calcite englobant la colonie jusqu'à la rendre non viable ; ensuite une simple épitaxie peut alors former l'auréole de ciment limpide.

Si nous généralisons l'interprétation de la nature bactérienne à l'ensemble des inclusions observées dans les textures présentées dans les figures (7.4 ; 7.5), leur influence sur la genèse de ces textures doit sérieusement être prise en considération.

7.2.5 Des textures ou structures non identifiées ?

Une interprétation quant à l'origine de certaines textures présentées dans ce chapitre peut être avancée en prenant en compte le contexte dans lequel elles sont observées. Par exemple, les chapelets de cristaux trapus présentés dans la figure (7.7.D) peuvent être rapprochés de la présence de réseaux de filaments fongiques. L'existence de manchons carbonatés se développant sur les filaments fongiques est un cas fréquent (Klappa 1979). Une diagenèse épitactique peut tout à fait se développer sur ces formes donnant un aspect trapu de l'ensemble. Seule l'observation et la comparaison avec d'autres structures permet d'étayer cette proposition d'interprétation. Pour le cas de la texture présentée dans la figure (7.7.A), du fait que la texture est observée dans une sécrétion durcie, au regard de la taille des sphères rugueuses, il est possible que ces dernières soient des pollens piégés par la sécrétion. Ici encore, seul le contexte global permet d'avancer une hypothèse sur la nature de cet objet.

7.3 Conclusion

L'étude pétrographique préliminaire présentée ici met en évidence plusieurs processus menant à la minéralisation carbonatée. Un contrôle ou une induction biologique, bactérien et fongique, en termes de géochimie, isotopique ou élémentaire, semble évident. La morphologie est selon les cas induite (c'est le cas de sphérulites avec un cœur riche en bactéries incluses) ou sous l'influence d'un EPS (morphologie de certains cristaux comme les sphérules de calcite) ou sur support organique se minéralisant (origine des chapelets de cristaux trapus).

L'origine de la calcite en aiguille

Chapitre 8 L'origine de la calcite en aiguille

L'accumulation secondaire de carbonate dans les sols est un thème largement étudié à la fois par les pédologues mais également par les géologues qui ont une optique plus globale sur le cycle du carbone. Les milieux arides sont les plus étudiés, car de véritables croûtes calcaires peuvent s'y former, mais les carbonates secondaires sont ubiquistes. L'une des questions le plus souvent évoquée quant à l'origine de ces carbonates est relative à provenance du matériel, simple dissolution–reprécipitation (redistribution) ou puits de carbone. Une forme de carbonate, la calcite en aiguille, est un des habitus les plus ubiquistes des environnements vadoses continentaux. Présente sous toutes les latitudes, des tropiques au cercle polaire, cette forme de calcite également appelée *Needle Fiber Calcite* (NFC) reste un sujet de controverse quant à son origine. Suivant les auteurs, une origine purement physico-chimique, biologique indirecte, ou biologique directe, est privilégiée. Une approche pétrographique et géochimique est entreprise pour tenter de déterminer l'origine de cette forme de calcite. Quels processus mènent à la formation de ces aiguilles? Quelle est la part du physico-chimique et/ou du facteur biologique? Y-a-t-il surimposition de plusieurs facteurs? Cette étude fondée sur des échantillons de nombreux sites d'Afrique intertropicale, d'Amérique centrale, et d'Europe procure une vision large sur ce thème.

Décrit pour la première fois au début de ce siècle (Lacroix, 1901), la calcite en aiguille est un habitus ubiquiste dans les accumulations secondaires de carbonate en milieu vadose. Elle est également peu comprise. Beaucoup de termes différents gravitent autour de cet habitus; une petite synthèse est donc nécessaire. Il faut bien différencier par exemple le terme *moonmilk* (*mondmilch*; Gessner, 1555) qui est un terme relatif à des dépôts de grotte à deux phases, l'une aqueuse, l'autre solide, qui bien que renfermant de la NFC, n'est pas exclusivement constitué par cette dernière. Le terme lublinitite (Iwanoff, 1906), correspond quant à lui à la phase minérale du *moonmilk*, constituée d'aiguilles, qui d'après certains auteurs serait le résultat de l'élongation d'un rhomboèdre de calcite selon son axe C. Ces deux termes ne sont quasiment plus utilisés. Le terme lublinitite a été dans un premier temps utilisé pour désigner un minéral bien distinct ayant des caractéristiques propres comme par exemple un angle d'extinction compris entre 30° et 50°. Avec le terme calcite en échelon (polycristalline), Stoops (1976) inclut la lublinitite dans une définition plus détaillée où l'aiguille est définie comme un empilement de cristaux de calcite dont les axes C restent parallèles les uns aux autres. L'angle d'extinction est compris entre 32° et 39°. Le terme *whisker crystals* (Supko, 1971) correspond à un cristal fin (2-4 µm de large) et très long (50-60 µm en moyenne, et pouvant atteindre 120 µm). Le terme *needle fibre of calcite* (James, 1972) est utilisé pour désigner des amas d'aiguilles remplissant des pores présents dans des croûtes calcaires. Ces aiguilles sont longues de 30 à 125 µm et larges de 1.5 à 4 µm. Enfin le terme *rhomb chains* (Jones et Ng, 1988) désigne un empilement de rhomboèdres subautomorphes à xénomorphes, parfois bien arrondis (nature polycristalline). Le terme "chaines polycristallines" (*polycrystalline chains*; Jones et Khale, 1993) pourrait correspondre à celui de lublinitite ou davantage à celui de *whisker crystal* qui ne serait pas monocristallin.

Dans la littérature scientifique, les aiguilles de calcite sont décrites (i) par leur taille et (ii) par leur morphologie. Une synthèse sur les données disponibles dans la littérature est entreprise ici, fondée sur les travaux de Verrecchia et Verrecchia (1994). Trois grandes catégories d'aiguilles sont distinguées d'après leur taille: 1) les micro-aiguilles (*Micro-rods*) qui mesurent moins de 0.5 μm de largeur et moins de 2 μm de longueur; 2) la deuxième catégorie correspond à la classe la plus souvent décrite et se réfère à des cristaux de 0.5-2 μm de large et d'une longueur pouvant atteindre 100 μm ; 3) la troisième catégorie regroupe les aiguilles larges de 2-20 μm et longues de 30-1000 μm . Deux morphologies principales sont identifiées; les aiguilles monocristallines et les polycristallines. Les aiguilles monocristallines, qu'elles soient lisses ou en dents de scie, regroupent les micro-aiguilles lisses (M), les aiguilles lisses regroupées de manière paire (MA) et les aiguilles à dents de scie regroupées de manière paire (MB). Il existe également la forme intermédiaire entre les types MA et MB, le type MAB, qui décrit l'apparition des dents de scie sur les baguettes de type MA. Les chaînes polycristallines regroupent la lublinité (Iwanoff, 1906), les *whiskers crystals* de Supko (1971), la calcite en échelon de Stoops (1976) et les *rhomb chains* de Jones et Ng (1988).

L'origine de la calcite en aiguille est un sujet débattu depuis de nombreuses années. Trois hypothèses s'affrontent: 1) l'origine purement physico-chimique, 2) l'origine biologique indirecte, et 3) l'origine biologique directe. L'origine purement physico-chimique est fondée sur le principe que dans des conditions de très forte sursaturation, la formation d'aiguilles de calcite est possible. Cette solution fortement saturée serait obtenue lors d'une évaporation très rapide (Jones et Ng, 1988; Jones et Khale, 1993). Dans ces conditions des cristaux dendritiques, en aiguilles et des *whiskers crystals* peuvent se former (James, 1972; Riche et al, 1982). Cette interprétation est également fondée sur le fait que les aiguilles de calcite sont systématiquement trouvées dans la zone vadose du sol.

L'origine biologique indirecte est invoquée suivant deux principes; premièrement, les microorganismes dissolvent le matériel parent qui fournit les ions carbonate pour une précipitation ultérieure (Borsato et al, 2000); dans un deuxième temps, sous l'action des racines, un haut degré de saturation de la solution du sol peut être atteinte permettant la précipitation des cristaux ayant des formes allongées (Harrison, 1977).

L'origine biologique directe de la calcite en aiguilles est discutée par Callot et al. (1985a; 1985b), Jones (1988), Verrecchia (2000) relayées par Verrecchia et Verrecchia (1994), Becze-Deák et al. (1997) et Loisy et al. (1999). Les aiguilles sont supposées précipiter dans les parois bactériennes ou fongiques et être libérées dans le sol par la dégradation de la matière organique durant les périodes de déficit d'humidité.

De nombreux problèmes subsistent, l'un des plus important étant le fait que l'allongement de l'aiguille ne corresponde pas à l'axe C de la calcite, axe de croissance préférentielle (Fig. 8.1). Un angle relativement constant de 40°-50° (Iwanoff, 1906), 30°-40° (Mügge, 1914), 32°-39° (Stoops, 1976), et 45° (Vergès et al. 1982) est mesuré entre ces deux directions. Existe-t-il une relation entre tous les types de baguette comme cela est suggéré par Jones et Khale (1993) ou Verrecchia et Verrecchia (1994) ?

Une revue des arguments soutenant les différentes hypothèses est ici entreprise et discutée au regard de nouvelles données récoltées. L'étude se fonde sur deux voies d'investigations

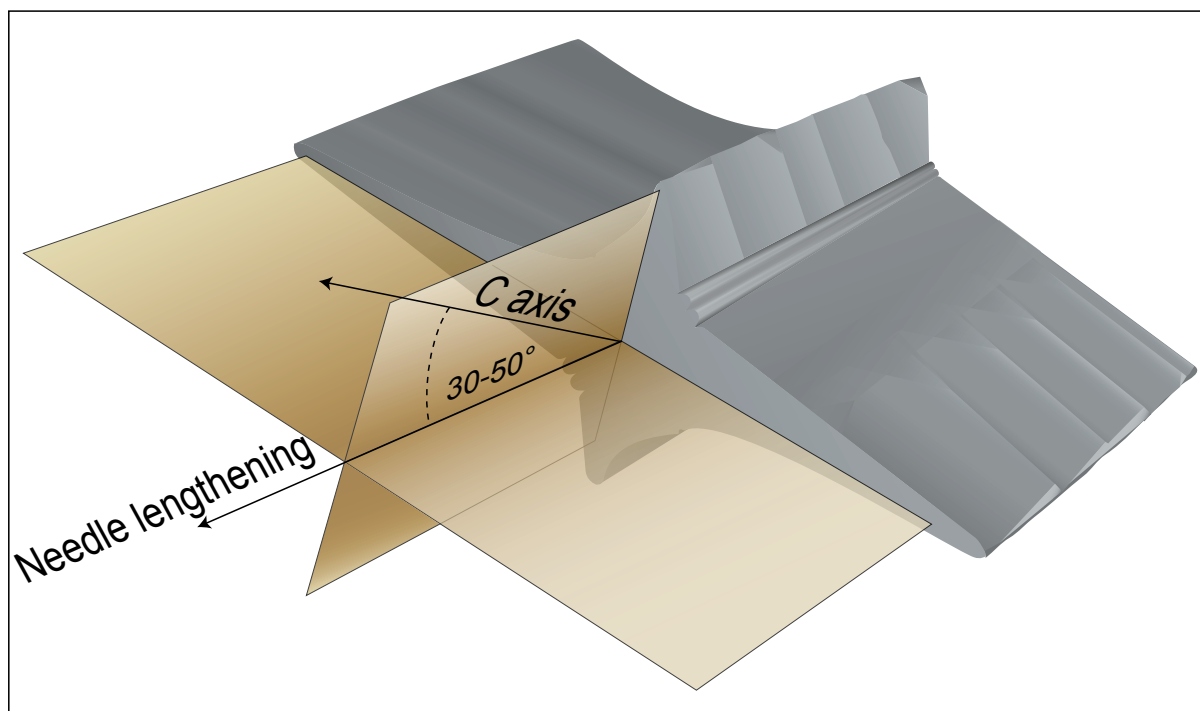


Fig. 8.1 : La mesure de l'angle formé par l'orientation de l'axe c (axe de croissance préférentielle de la calcite) et de l'allongement de l'aiguille montre une valeur comprise entre 30° et 50° .

The angle between the c axis (preferential growth axis for calcite) and the direction of needle lengthening is between 30° and 50° .

principales, l'observation en microscopie électronique et l'analyse isotopique du carbone et de l'oxygène de la calcite en aiguille. L'observation a été pratiquée à l'aide d'un MEB (le mode basse température a été utilisé) et d'un MET à la fois sur du matériel brut et sur des coupes préparées au microtome. Les analyses isotopiques ont été réalisées sur une chaîne d'extraction à 50°C au Laboratoire de Géologie des Bassins Sédimentaires de l'Université Pierre et Marie Curie à Paris.

8.1 Localisation des sites étudiés

Pour comparer les caractéristiques de la calcite en aiguille et obtenir un spectre assez large, 11 sites ont été étudiés en Europe, en Afrique, et en Amérique. En Europe, la calcite en aiguille a été échantillonnée près de Reims (Nord de la France, $49^\circ14'\text{N}$, $4^\circ12'\text{E}$; données de Loisy, 1997), près de Dijon (Bourgogne, $47^\circ20'\text{N}$, $4^\circ59'\text{E}$), dans les Gorges de la Loue (Jura Français, $47^\circ04'\text{N}$, $6^\circ11'\text{E}$), près de Villiers, (Jura Suisse, $47^\circ04'\text{N}$, $6^\circ59'\text{E}$), dans une grotte près des Cornettes de Bises (Alpes Suisses, $46^\circ19'\text{N}$, $16^\circ48'\text{E}$), dans le Périgord (sud-ouest de la France, $44^\circ29'\text{N}$, $0^\circ58'\text{E}$), à Montpellier (sud de la France, $43^\circ39'\text{N}$, $3^\circ52'\text{E}$) et près d'Almería (sud-est de l'Espagne, $36^\circ51'\text{N}$, $2^\circ22'\text{W}$). En Afrique, deux sites d'étude ont permis d'échantillonner de la calcite en aiguilles : en Côte d'Ivoire près du village de Biga (district de Daloa, $6^\circ39'\text{N}$, $6^\circ23'\text{W}$) et au Cameroun, près du village de pêcheurs de Mankaré (district de Foubot, arrondissement de Massangam, $5^\circ27'\text{N}$, $11^\circ03'\text{E}$). En Amérique Centrale, la NFC a été échantillonnée dans les sols indurés que l'on appelle Tepetate dans la vallée de Mexico ($20^\circ05'\text{N}$ $102^\circ25'\text{W}$).

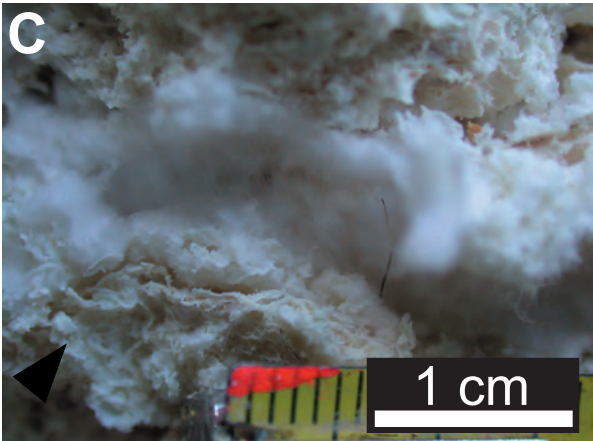
8.2 Résultats

8.2.1 Type de roche parente

La calcite en aiguille a été échantillonnée sur roche-mère variables: les échantillons de Reims ont été prélevés dans des sols calcimagnésiens développés sur de la craie du Crétacé. Les échantillons du Jura suisse, du Jura français, du Périgord et de Bourgogne proviennent de sols développés sur des pierriers cryoclastiques (grèzes) constitués par des calcaires marins du Jurassique (Fig. 8.2.A). La porosité dans ces sols est variable. Dans le Jura suisse, les pores sont larges à petits (pluricentimétriques à millimétriques), tandis que pour les autres sites, ils sont plutôt petits (seulement millimétriques). La calcite en aiguille se présente sous deux aspects: soit sous forme de boule d'aiguilles formant un amas semblable à une boule de coton (Fig. 8.2.B); soit en très fines couches formant une sorte de croûte (Fig. 8.2.C) ou d'enduit autour des grains (graviers, sables, etc). La calcite en aiguille du site de Montpellier a été extraite de la porosité centimétrique à millimétrique d'un travertin Quaternaire. Sur ce site, la calcite est principalement sous forme de boules. En Espagne, la calcite en aiguille est présente dans un sol développé sur des conglomérats Plio-Pléistocène. La calcite en aiguille n'était présente qu'à l'état de croûtes extrêmement minces, ce qui n'a permis que des observations. En Afrique, les échantillons ont été trouvés dans des sols ferrallitiques variés. En Côte d'Ivoire, le sol est développé sur un granite calco-alcalin. Au Cameroun, le sol s'est développé sur des alluvions du fleuve Mbam. Les sols d'Afrique ont la particularité d'avoir été modifiés par l'accumulation de carbonates biogéniques liés à l'iroko (Carozzi, 1967; Braissant et al., 2004, Cailleau et al., 2004, 2005). La calcite en aiguille n'a été observée que sous forme d'amas en boules de petite taille. Au Mexique, les échantillons ont été récoltés dans des sols indurés développés sur des cendres volcaniques dans lesquelles sont présentes de nombreuses formes de carbonates. La calcite en aiguille est soit en forme de croûte, soit sous forme d'amas. Le site des Alpes est un site à part car la calcite en aiguille n'est pas présente dans un sol, mais dans un remplissage de karst, un puits vertical de 25 mètres environ. La calcite en aiguille est présente dans ce qu'on appelle du *moonmilk*, qui décrit une structure initialement minérale et aqueuse qui peut être poisseuse quand elle est humide et pulvérulente si elle est sèche. Le *moonmilk* est présent sur un mur du puits, sur toute sa longueur, sur une épaisseur minimale de 25 cm (une épaisseur de plus de 50 cm est observable localement; Fig. 8.2.D).

8.2.2 Relations entre structures organiques et aiguilles de calcite

Une analyse systématique a été réalisée sur des organismes filamenteux présents dans un amas d'aiguilles d'un échantillon "frais" de Bourgogne. La comparaison entre l'observation en lumière normale et en lumière polarisée analysée à l'objectif X100 à immersion montre des fibres polarisantes à l'intérieur du matériel organique (Fig. 8.3.A-B). L'analyse aux rayons X ainsi que l'attaque à l'acide chlorhydrique confirment la présence de matériel carbonaté, interprété comme de la calcite. Ceci exclut donc la possibilité que ces fibres polarisantes soient des macromolécules telles que la cellulose. L'observation de cet échantillon au MEB montre des aiguilles de calcite (le type MB de Verrecchia and Verrecchia, 1994) à l'intérieur d'un



microtubes de matière organique d'un diamètre proche de 1.5 μm (Fig. 8.3.C). On trouve également des microtubes sans aiguilles (Fig. 8.3.D). On rencontre parfois des aiguilles de calcite perçant la membrane des filaments du même type que ceux observés dans la figure (8.3.E), qu'il est objectivement possible d'interpréter comme d'origine fongique.

Des observations complémentaires sur des échantillons de Montpellier et des Gorges de la Loue, montrent également une relation étroite avec des structures à l'origine indubitablement organique. Par exemple, une aiguille de calcite peut être recouverte d'un manchon organique (Fig. 8.4.A) retroussé par une autre baguette. On rencontre également des structures ramifiées qui doivent être interprétées comme organiques (Fig. 8.4.B-C). Le manque de préparation spécifique pour préserver le matériel organique permet localement de voir ce dernier craqueler, ce qui est un bon moyen de le différencier du matériel minéral (Fig. 8.4.C). On peut remarquer (Fig. 8.4.B) que les traits typiques de la calcite en aiguilles (les indentations de petites tailles) sont visibles même à travers le matériel organique qui est littéralement plaqué sur le minéral en l'absence de préparation de l'échantillon.

Même si les traces organiques dans les amas de calcite en aiguilles sont rares, ce type d'observation montre souvent les mêmes grandes structures (Fig. 8.4.D), constituées de longs microtubes (Fig. 8.4.E-F-G). Il est intéressant de remarquer la présence quasi systématique de nanobaguettes (les microbaguettes de Verrecchia and Verrecchia, 1994) sur la calcite en aiguilles quand celles-ci forment des faisceaux (voir section mésostructures). Ces nanobaguettes sont l'objet d'une étude dans le chapitre 9. Néanmoins, elles semblent partiellement d'origine organique, résultat de la dégradation des parois des filaments organiques (Fig. 8.4.H). On ne peut toutefois pas exclure une pseudomorphose calcitique, ou la présence d'un enduit calcitique sur une fibre organique si l'on se fonde sur leur résistance (toute relative) au faisceau d'électrons du MET et les figures observées en microdiffraction.

Fig. 8.2 : A: Affleurement de la carrière de Villiers (Jura suisse). L'accumulation de carbonate est présente dans un sol qui s'est développé sur un pierrier cryoclastique Quaternaire (grèze). L'horizon d'accumulation de carbonate de calcium (2) directement sous les horizons d'accumulation de matière organique (1), est la zone de présence de la calcite en aiguilles. B: Amas de calcite en aiguilles provenant d'un site du Jura français. C: Un amas de calcite passant à une structure en croûte (flèche) en direction du grain (carrière de Villiers, Jura suisse). D: Photographie de l'entrée d'une grotte valaisanne dans laquelle du *moonmilk* a été échantillonné. L'aspect mamelonné de ce faciès est courant; il s'étend ici sur les 25 m du puits vertical en ayant une épaisseur variable de 10 à 50 cm d'épaisseur. Notez la pince plantée dans le matériel poisseux et mou.

A: Calcimagnesian soil developed on periglacial scree in the quarry of Villier (Swiss Jura). The extent of NFC is shown by the (2) and underlies the horizon in which organic matter accumulates. B: Cotton-ball aggregate of NFC found in the French Jura. C: Cotton-ball aggregate of NFC becoming a small crust (arrow) at the grain contact, quarry of Villiers. D: Moonmilk wall coating near the gate of the cave of the Swiss Alps site (Valais). Note the tweezers planted in the soft and slimy structure.

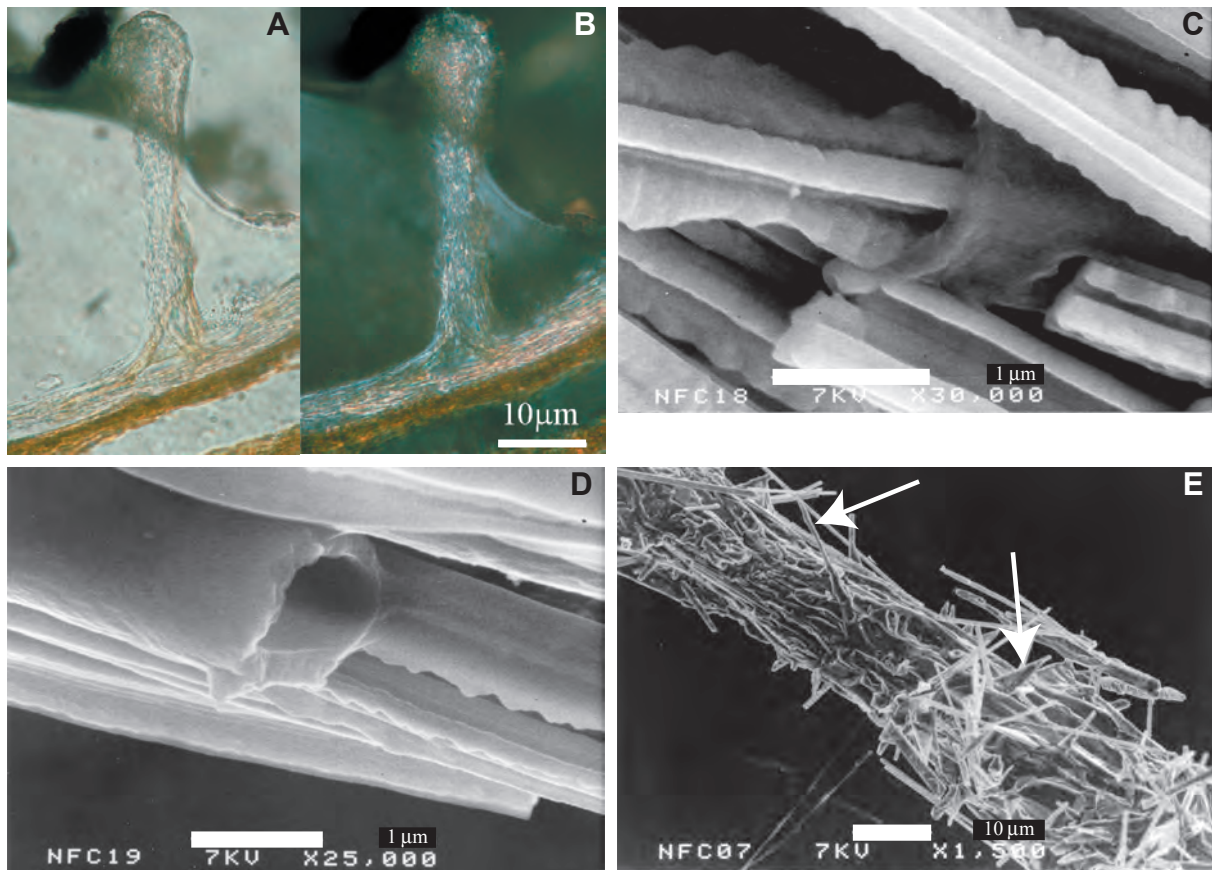


Fig. 8.3 : A et B: Photographies au microscope optique (objectif X100 à immersion) d'un filament fongique vivant (A: lumière normale; B: lumière polarisée analysée). On distingue nettement des fibres qui polarisent individuellement sur la photographie B. C: Une aiguille de calcite de type MB présente dans un microtube organique observée au MEB. D: Un manchon organique vide (la nature organique est révélée par observation au MEB en mode back scattered electrons et analyse en microdiffraction). E: Même type de structure observé que celle présentée dans les photographies A et B ; on voit très nettement (flèches) les aiguilles de calcite perforant la membrane organique.

A and B: Optical photographs of a living fungal filament. Cross polarized light observations (B) show rods of calcite inside the organic matter and fungal wall. C: SEM photograph showing a serrated-edged needle (MB) inside an organic microtube. D: SEM photograph of an empty organic microtube. The non-calcitic nature of these microtubules has been revealed by back scattered electron analysis and microdiffraction. E: SEM photograph of organic filament similar to those shown in A and B. This wide angle view shows needles popping out of the organic matter (white arrows).

8.2.3 La morphologie des aiguilles de calcite

Les observations au MEB d'amas de calcite en aiguilles ont été menées dans l'optique de décrire la variabilité de morphologies de ces baguettes. Il existe une multitude de formes due à de petites variations entre les baguettes qui à première vue semblent similaires. Il n'est donc pas possible de faire un inventaire exhaustif de toutes les morphologies d'aiguilles de calcite que l'on peut rencontrer. Etablir une nomenclature de la *NFC* ne pourra donc être réalisable qu'en tenant compte des morphologies les plus fréquemment rencontrées dans nos échantillons (Fig. 8.5). Les morphologies les plus complexes sont quant à elle présentées dans la figure (8.6).

La nomenclature établie par Verrecchia et Verrecchia (1994) est utilisée pour les dessins schématiques en 2D et 3D de la figure (8.5). Bien que les microbaguettes M des ces derniers aient été trouvées dans la plupart des échantillons, elles seront traitées dans un chapitre ultérieur.

Dans l'ensemble des sites, au moins une baguette du groupe MA est présente. Au Mexique, des aiguilles lisses d'un diamètre de 0.4-0.6 μm et longues de 20-120 μm que l'on définit ici comme le type MA0 (différent du type M) représentent le premier stade du groupe MA (Fig. 8.5.3). Un autre type d'aiguille appartenant à ce groupe a été observé dans le Sud-ouest de la France; il est composé d'une double rangée de 5 aiguilles de différents diamètres (Fig. 8.5.10). Dans les deux sites africains, une morphologie bien particulière composée de 5 à 9 baguettes relativement lisses (non indentées) accolées ensemble mais de façon non unidirectionnelle (ne formant donc pas un plan) se définissent dans le groupe MA (Fig. 8.5.2 ; Fig. 8.6.A). Ce dernier n'est représenté que par un seul type d'aiguille dans chacun des sites africains.

Le groupe MB (aiguilles avec des ornements en dents de scie), quand il est présent, est d'après les observations le groupe dominant dans les sites de Montpellier, du Périgord, du Jura (français et suisse), et de Bourgogne. Ce groupe est celui qui montre le plus de variabilité. Néanmoins, des questions se posent suite aux observations: 1) les aiguilles lisses sensées être une sorte de "brique" élémentaire (un cylindre simple du point de vue géométrie) dans un assemblage (Verrecchia et Verrecchia, 1994) ne sont pas clairement visibles quand l'aiguille de type MB est formée de moins de trois cylindres successifs coalescents (disposés sur un même plan perpendiculaire au plan des ornements en dents de scie); 2) les plans en dents de scie, quand ils sont tangentiels ou sub-tangentiels, ne présentent pas toujours individuellement une position symétrique par rapport à l'aiguille ou au plan que forme un groupe d'aiguilles lisses (Fig. 8.5.21, 33). En d'autres termes, il faut considérer un petit plan ornemental, initialement en position symétrique, venant à avoir un développement plus important dans une direction que dans son opposée (le développement se faisant perpendiculairement à l'allongement de l'aiguille de calcite); 3) comme cela est schématiquement représenté dans la figure (8.5.11), dans le cas de 4 plans ornementaux perpendiculaires (en alternance) mais de directions d'allongement parallèles, l'hyper-développement (croissance) de deux plans opposés, ne présentant pas de contour en dents de scie, peuvent finalement former une sorte de lame; les deux autres plans très peu développés subsistent (un faible contour en dents de scie peut être visible).

En résumé, excepté pour les types 2, 5, 6 et 10 de la figure (8.5), tous les type MA ont une forme dérivée de type MB (avec des plans en dents de scie). D'autres morphologies assez simples sont présentées dans la figure (8.5), telles que des formes lisses mais dissymétriques (type 8) ou des morphologies ayant des formes proches de lames (types 12 et 20).

La plupart des morphologies que l'on peut qualifier de complexes a été observée dans les échantillons des sites du Périgord et du Mexique. Ces morphologies présentent deux directions de surcroissance sur l'aiguille principale. Parfois des formes cristallines plus grandes sont présentes à l'extrémité de fines surcroissances (Fig. 8.6.B). Certaines de ces épitaxies sont parfois ramifiées. Un autre type de baguettes montre des épitaxies ayant pour origine de petites irrégularités allongées crénelant la surface plane de ces baguettes. Les surcroissances se développent suivant l'orientation de ces mêmes irrégularités formant une famille de droites

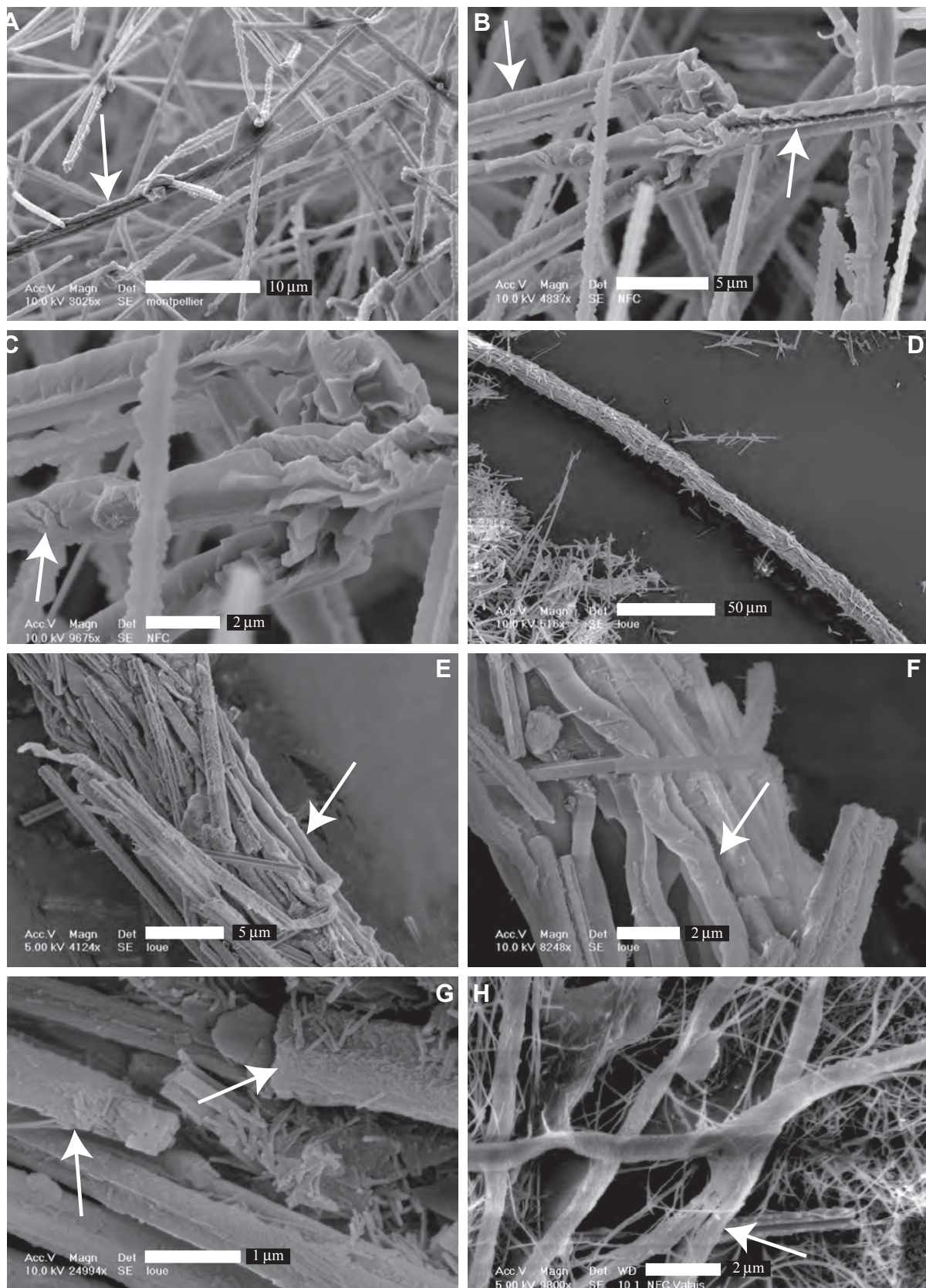


Fig. 8.4 : A : Image MEB d'un manchon organique altéré couvrant des aiguilles. La silhouette dentelée des aiguilles est visible (flèche), même couverte par le matériel organique. Ceci est dû à l'absence de préparation spécifique pour la matière organique. On peut estimer la présence de 2 à 3 aiguilles dans le manchon organique. B : Image MEB d'une structure organique ramifiée composée par un manchon organique dans lequel on peut observer des aiguilles. Il faut noter que la silhouette dentelée est là encore visible (flèche).

de même direction (Fig. 8.6.C, D ; flèches). Un autre type de morphologie complexe peut être décrit comme la combinaison de deux composants, une baguette (de type MA0, MA3 ou une des complexes décrites précédemment) et un cristal de calcite de grande taille (parfois plus de 20 μm de long). Ces gros cristaux peuvent être des scalénoèdres, des rhomboèdres, ou une chaîne de cristaux coalescents de type subhédraux (Fig. 8.5.16-17 ; Fig. 8.6.E-F). Ces cristaux sont portés par l'aiguille formant une sorte de brochette, mais c'est bien la baguette qui est antérieure à l'apparition des gros cristaux. Il y a bien recouvrement des fines épitaxies par les grands cristaux (Fig. 8.6. F). Les analyses en microdiffraction au MET ont montré que l'aiguille et les cristaux épitactiques avaient les mêmes figures de diffraction donc les mêmes orientations cristallographiques. On peut donc dire que ces cristaux sont syntaxiques. Une autre morphologie recensée dans la littérature a également été observée. Il s'agit des *rhomb chains* (Jones and Ng, 1998). Ces dernières ont été observées dans les croûtes plaquées sur des grains dans les sites de Bourgogne et du Jura suisse (Fig. 8.7.A). Ces morphologies particulières n'ont pas été observées dans les amas d'aiguille de calcite, et sont principalement rencontrées quand la quasi-totalité des aiguilles sont de type MB, avec la morphologie en dents de scie très fortement développée (Fig. 8.7.B-C). Ceci semble en conformité avec les observations fournies par Jones and Ng (1998). Il faut noter enfin des formes hybrides (Fig. 8.7.D), ayant quelques caractéristiques de *rhomb chains* (faces s'arrangeant en quinconce) mais également des aiguilles de type MB à fort développement des dents de scie (présence d'une baguette simple).

8.2.4 Les mésostructures

Si le réseau totalement anarchique d'aiguilles de calcite est la texture la plus souvent observée, des faisceaux d'aiguilles accolées sont également rencontrés (Fig. 8.8.A) avec un diamètre moyen apparent de 8 μm (la variabilité est très faible). Dans ces structures, la morphologie des aiguilles varie des type MA à MB. Parfois on peut observer que deux aiguilles juxtaposées semblent avoir une morphologie s'emboîtant parfaitement l'une dans l'autre (Fig. 8.8.B). Les observations au MEB en mode basse température de *moonmilk* ont montré que ce dernier est composé de quatre composants majeurs : 1) des champignons ; 2) un réseau

C : Craquelures présentes dans le matériel organique dû à l'absence de préparation spécifique (fixation) pour résister à la mise sous vide. D, E, F, et G: L'observation d'une structure organique. E et F: La structure est composée de nombreux microtubes (flèches) similaires à ceux décrits dans la figure (8.3.C-D). G : Détail de la structure organique montrant des nano-fibres sur les aiguilles de calcite (flèches). H : Détail d'une structure organique observée dans un échantillon de *moonmilk* avec le mode basse température du MEB. La matière organique semble se décomposer en relâchant des nano-fibres (flèches).

A: SEM photograph of an altered organic sleeve covering needles. Serrated outlines of the rod are visible (arrow) even when covered by the organic layer due to the lack of sample preparation (i.e. fixation). It can be estimated that there are 2 or 3 rods in the muff. B: SEM photograph of a ramified structure composed of an organic sleeve with rods inside. Note the serrated rod outline still visible despite the muff thickness (white arrows). C: Cracks of the organic muff due to the absence of sample fixation (white arrow with black outline) during SEM vacuum. D, E, F, and G: observations of an organic structure. E and F: The structure is composed of several microtubes (arrows) similar to those previously described in figure (8.3.C-D). G: Close-up of the organic structure showing nano-fibers on the needles (arrows). H: detail of an organic structure observed in a moonmilk sample with the low temperature mode or the SEM. The organic matter decay seems to lead to the release of nano-fibers (arrow).

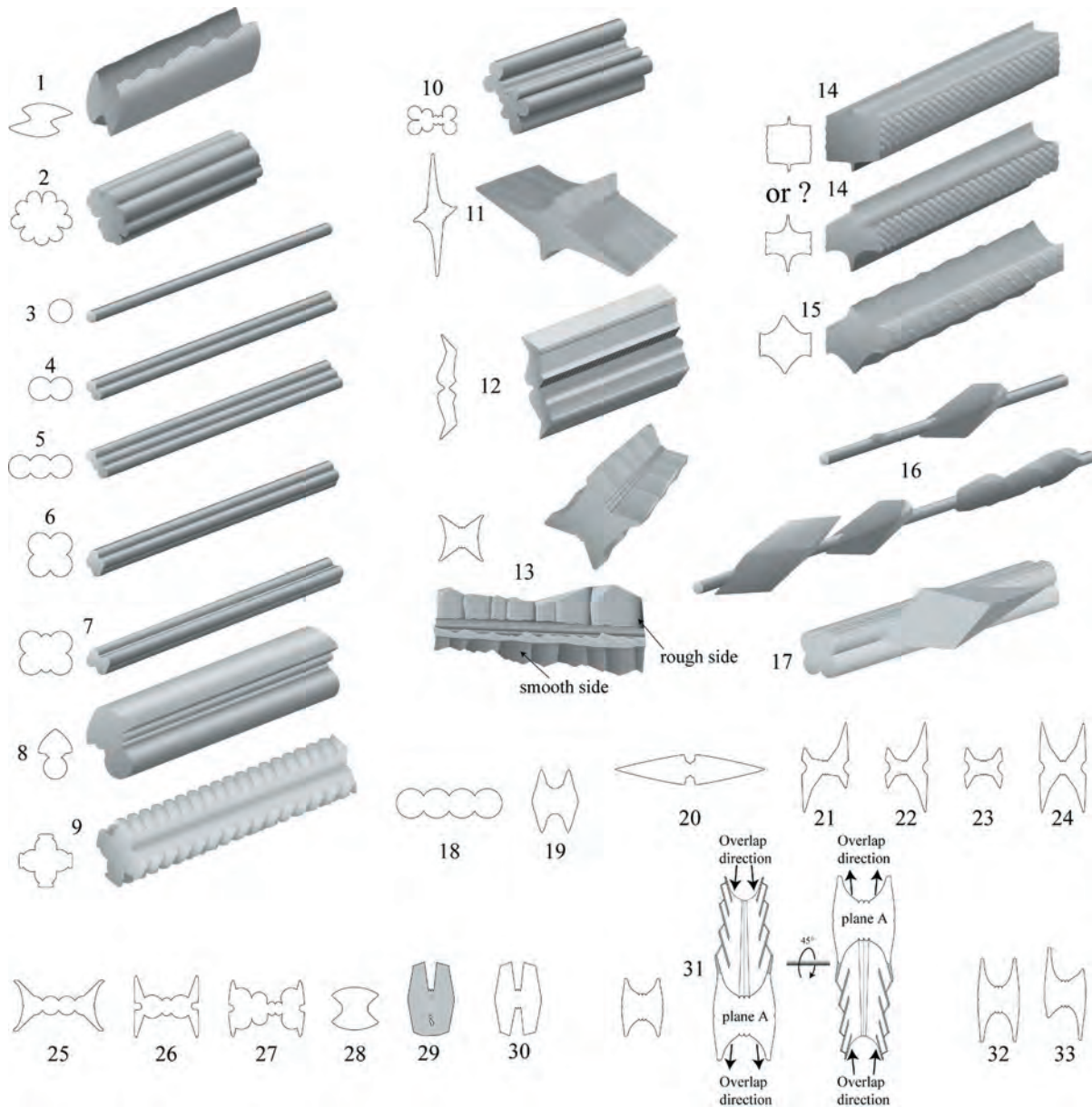
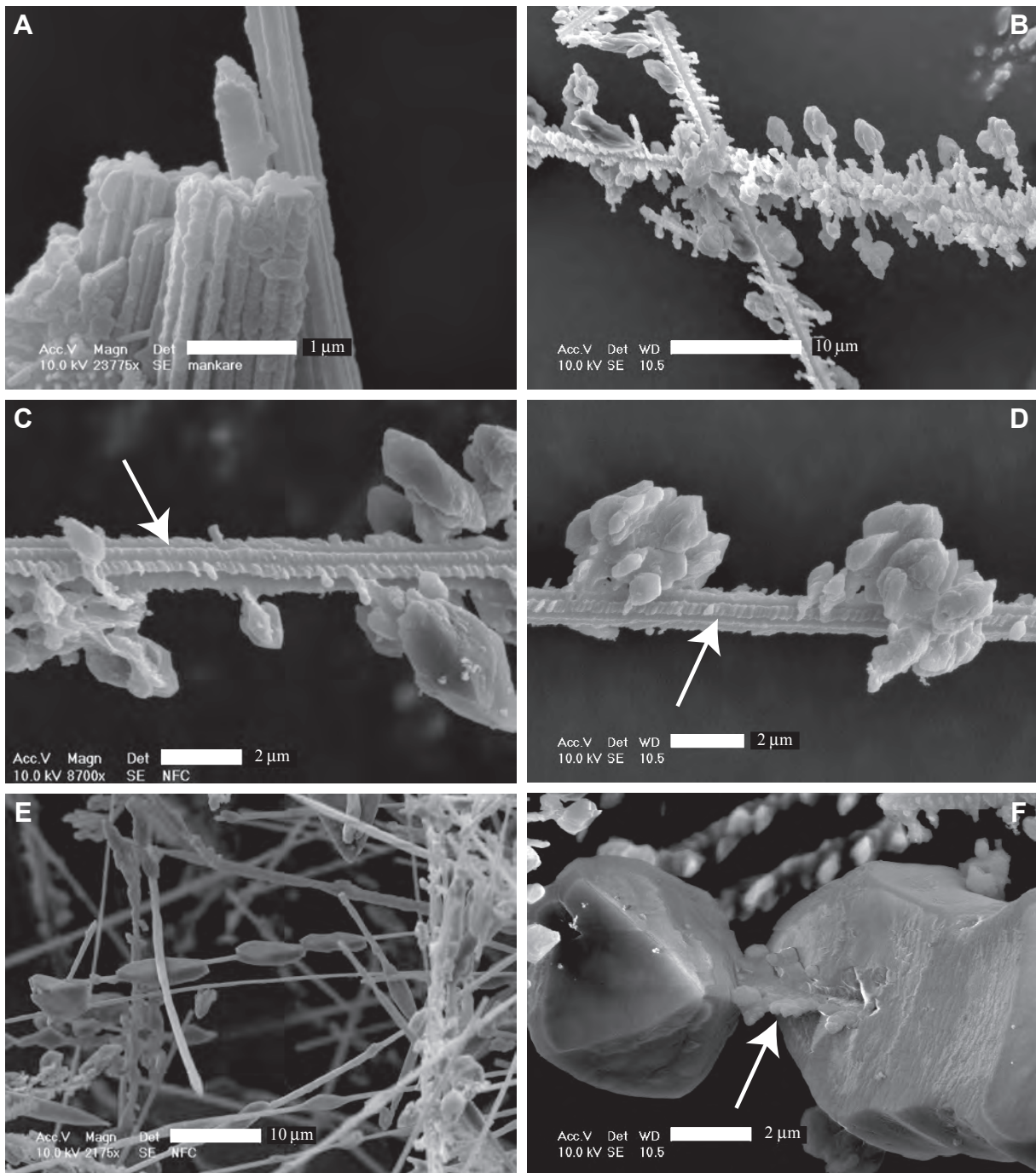


Fig. 8.5 : Représentations synthétique, mais non exhaustive de la variabilité morphologique des aiguilles de calcite. La numérotation des aiguilles correspond aux différents types de baguette qui sont représentées soit uniquement par leur section, soit par leur représentation schématique en trois dimensions et leur section. Le type 31 a été plus détaillé pour mieux comprendre la morphologie d'une aiguille et ses plans dentelés. Les types 1-11-(12)-13-19-(20)-21 à 27-(28)-29 à 33 sont des aiguilles é plans en dent de scie. Les types (2)-3 à 8-10-18 sont des types lisses. Les types 9-14 à 17 sont des types complexes.

Synthetic sketch showing a representative, but non-exhaustive sampling of morphologic needle variability. Numbering corresponds to the different types of rods represented by their section or/and their synthetic 3D morphology. Type 31 is illustrated in more detail in order to understand the exact morphology and the relationship between the planes shaping the serrated-edge morphology. Types 1-11-(12)-13-19-(20)-21 to 27-(28)-29 to 33: serrated-edge types. Types (2)-3 to 8-10-18: smooth types. Types 9-14 to 17: complex types.

Fig. 8.6 : A à F: Images MEB de quelques formes rares ou complexes. A: Morphologie typique des aiguilles trouvées sur les sites africains. Elles sont composées de plus de 4 cylindres de calcite coalescents, et ne présentent jamais de plan dentelé. B: Aiguilles trouvées sur le site mexicain. La morphologie en "râteau à 3 dimensions" est typique. Il est intéressant de noter la constance de l'angle formé entre la direction d'allongement et les fines et très allongées surcroissances. C et D: Détails des petites irrégularités crénelant



la baguette. Il y a parfois une ou deux rangées de petites irrégularités. Les fines et très allongées surcroissances se développent à partir des petites irrégularités avec un angle constant vis-à-vis de l'allongement de l'aiguille. Ces aiguilles correspondent respectivement aux types 15 et 14. E: Scalénoèdres portés par une aiguille lisse de type 3 (MA). F: Observation d'un gros rhomboèdre ayant cristallisé autour d'une aiguille complexe (flèche).

A to F: SEM photographs of some complex needle shapes. A: Typical needle shapes from Africa, composed of more than 4 coalescent needles (without serrated edges). B: 3D rake needle from the Tepetates site. Note the constant angle between the principal direction and the small and long excrescences. C and D: Close-up of the small irregularities crenelating this type of rod. There are 1 or 2 lines of bites on each side plane of these needles. Small long excrescences and bigger crystals show a growth direction parallel to the small bites. These photographs correspond to types 15 and 14, respectively. E: Scalenohedra growing on a MA type needle (type 3). F: View of a big rhombohedron growing on a complex rod (white arrow).

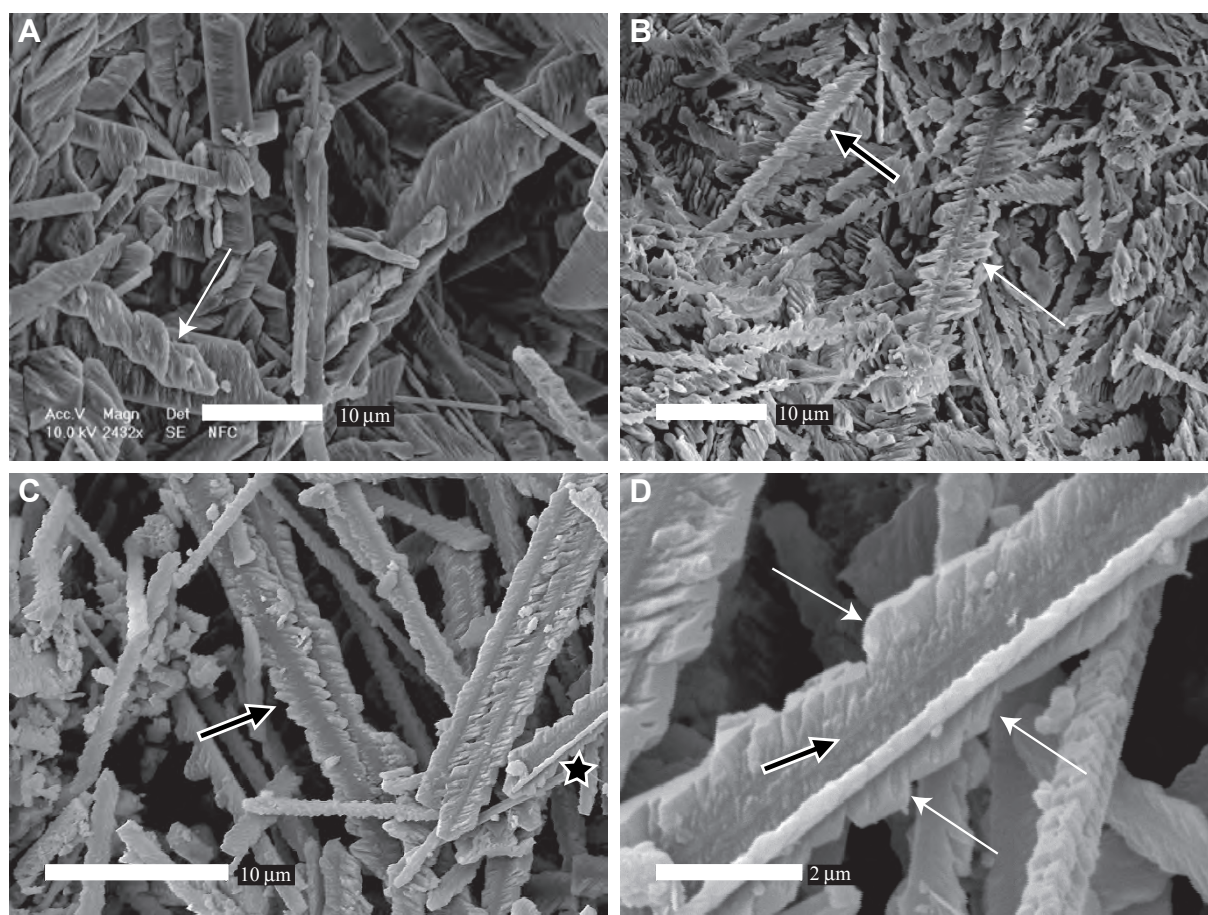


Fig. 8.7 : A à D: Images MEB d'un fine croûte composé d'aiguilles de calcite. A: Rhomb chain (flèche) observée dans un échantillon du Jura Suisse. B: Un autre type d'aiguille trouvée sur ce site ; elles montrent des excroissances bien séparées (flèche blanche), mais également des excroissances coalescentes (flèche noire à contour blanc) sur les aiguilles. C: Autre exemple d'excroissances coalescentes (flèche noire à contour blanc) se développant sur les aiguilles. La coalescence semble mener à la formation d'un autre type d'aiguille particulier (étoile) qui est détaillé sur l'image D. D: Détail d'une aiguille dont la morphologie originelle (flèche noire à contour blanc) est encore partiellement visible. Il faut noter que le bord de l'aiguille semble développer la morphologie des Rhomb chains (flèche blanche).

A to D: SEM photographs of thin crust developed on soil grains. A: Rhomb chain (white arrow) observed in Swiss Jura sample. B: Other examples of the needle found in these crust showing well developed separated excrescences (white arrow), and coalescent excrescences (black arrow with white outline) on rods. C: Another example of coalescent excrescences (black arrow with white outline) on rod. Coalescence of excrescences can lead to a peculiar type of rod (star) which is shown in detail in D. D: Close-up of a needle whose primary shape (black arrow with white outline) is still visible. Note the shape of the edge that seems to develop a rhomb chain shape (white arrow).

très compact de nanofibres très contournées (fortement similaires au type M de Verrecchia et Verrecchia, 1994) ; 3) des aiguilles de calcite de type MA et plus rarement de type MB, avec parfois même des formes complexes à gros cristaux subhédraux ; 4) des amas de micrite supportés par le fin réseau de nanofibres. Il est à noter que la NFC ne représente pas plus d'un tiers du contenu carbonaté du *moonmilk*. On peut donc voir ici, l'impossibilité d'échantillonner la calcite en aiguille dans ce faciès pour des analyses isotopiques exclusives de la NFC.

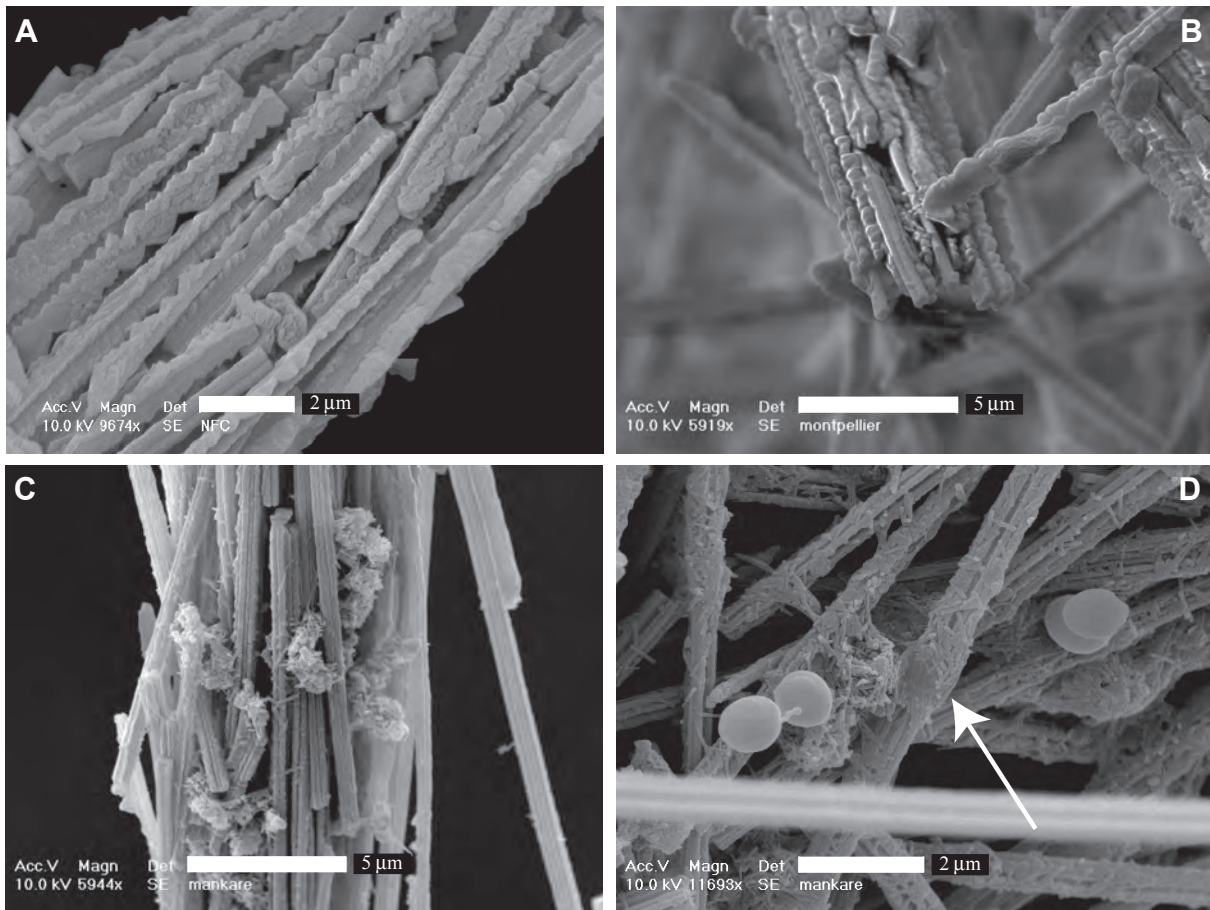


Fig. 8.8 : A: Image MEB montrant le détail d'un faisceau échantillonné sur le site de Montpellier. Notez que la plupart des aiguilles sont de type dentelé. B: Un autre faisceau d'aiguille du même site, dans lequel, les aiguilles semblent parfaitement s'emboîter ensemble. C: observation typique d'un faisceau d'aiguilles montrant une grande abondance de nano-fibres. D: Détail des ces nano-fibres qui semblent parfois envelopper les aiguilles.

A: SEM photograph of a bundle from Montpellier (France). Note that most of the needles are serrated-edge types. B: SEM photograph of a bundle in which rods seem to fit together. C: Typical bundle showing abundant nano-fibers. D: Close-up of these nano-fibers, which sometimes sheathe the needle.

8.2.5 Observation des aiguilles au MET

L'observation en mode fond noir (*dark field*) montre que les plans ornementaux des aiguilles de type MB ont les mêmes orientations cristallographiques (Fig. 8.9.A). De plus, l'analyse en microdiffraction de ce type de baguette ne détecte la présence que d'un cristal unique. La possibilité d'observer ces aiguilles de calcite permet de comprendre comment sont formés les plans ornements en dents de scie. L'observation en détail de ces plans montre qu'ils sont formés par de plus petits plans (des nano-plans) se superposant et formant la limite irrégulière (Fig. 8.9.B, flèches noires). Ces limites de recouvrement de nano-plans sont exactement celles qui sont suggérées dans la figure (8.5.13). C'est la prolongation de ces pseudo-limites de compromis qui forme la structure en dents de scie typique du type MB (Fig. 8.9.C-F). Ces nano-plans sont également visibles sur des sections perpendiculaires à l'allongement de l'aiguille, comme observé sur sections réalisées au microtome (Fig. 8.9.G). Le fait que ces nano-plans soient absents sur d'autres sections suggère que ces dernières ne sont pas des aiguilles de type MB (Fig. 8.9.H-I).

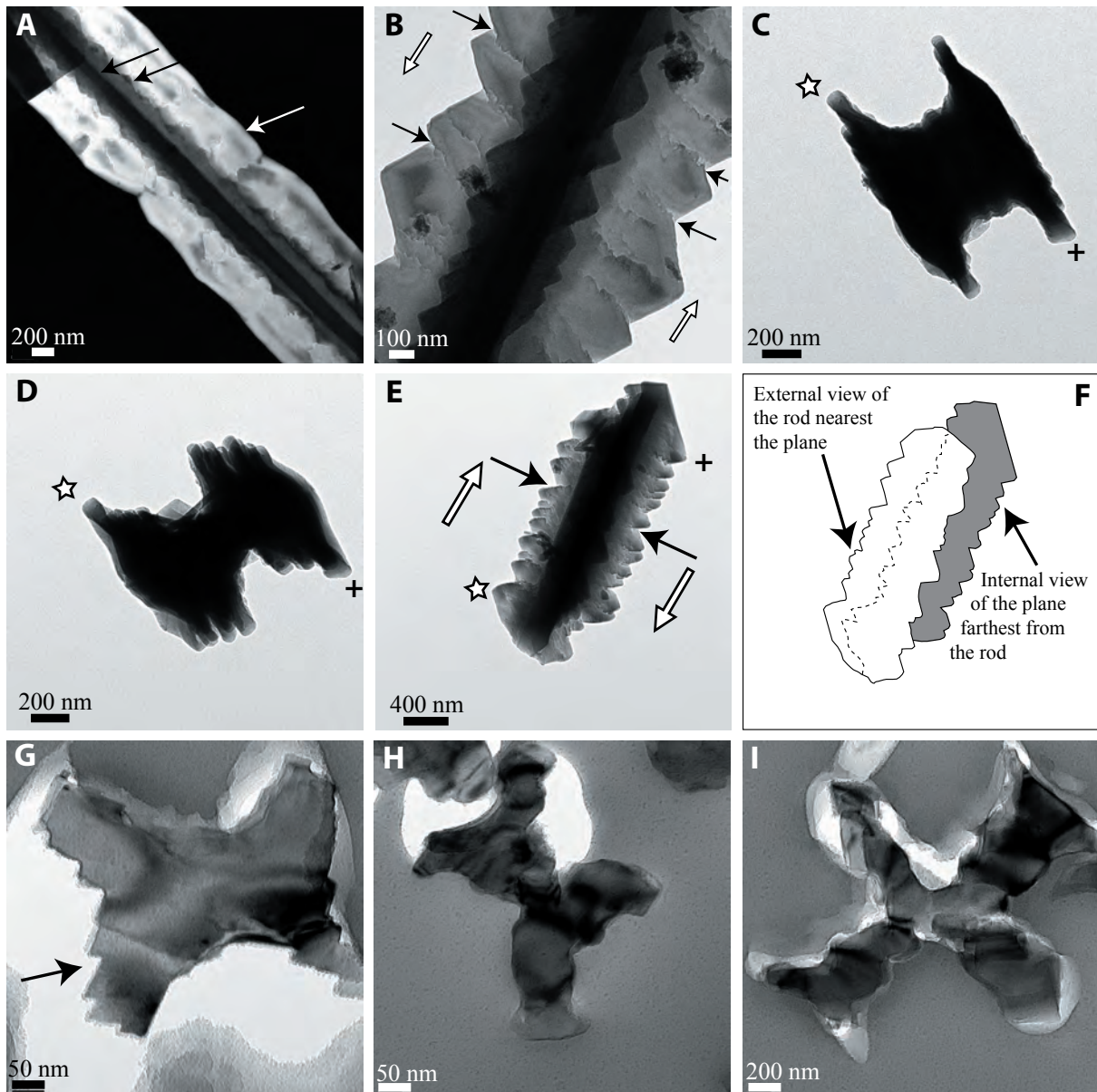


Fig. 8.9 : A: Image réalisée au MET en mode fond noir d'une aiguille dont le plan non dentelé montre une teinte homogène (flèche blanche ; la section est du type 33 ou 21 de la figure 8.5). Cette homogénéité implique que les deux plans (visuellement séparés par la zone sombre centrale) ont la même orientation cristallographique. L'épaisseur plus importante de matériel calcitique au niveau de la jonction entre les deux plans induit une figure de transmission différente, révélée par la zone plus sombre (flèches noires). Ceci ne doit pas être interprété comme une orientation cristallographique différente dans ces zones, mais plutôt comme une perte d'électron transmis dans les zones plus épaisses. B, C, D et E: Images réalisées au MET en mode fond clair d'une aiguille à plans dentelés (l'étoile ☆ et le plus + servent à identifier les deux plans lors de la rotation). B: Vue à fort grossissement de l'aiguille montrant la superposition des nano-plans (flèche noire). Noter la divergence apparente entre les directions de superposition des nano-plans. C, D et E: Relation entre vue de la section et vue perpendiculaire à l'allongement de l'aiguille donnée par la succession d'image durant la rotation de l'échantillon. Noter que l'apparente divergence de superposition des nano-plans est seulement due au fait que l'on observe, d'une part, la partie externe du plan le plus proche (☆), mais également la partie interne du plan le plus éloigné (+). Ceci est schématiquement expliqué en F. G, H et I: Images réalisées au MET en mode fond clair de coupes ultrafines (120-150 nm) réalisées au microtome. Les aiguilles sont indurées dans une résine époxy. Comme on peut le voir, il n'y a pas d'artefact lors de la coupe, l'exemple de l'image F montre la colle (sous forme de petites billes) directement au contact du cristal (flèche), même décollé de la masse générale. L'apparence rugueuse du cristal est dû au dépôt d'un film de

8.2.6 Les données isotopiques du carbone et de l'oxygène

La calcite en aiguille n'a jamais fait l'objet, jusqu'à présent, d'une étude systématique de la signature isotopique de l'oxygène et du carbone qui sont associés à sa composition chimique. Dans cette optique, un échantillonnage de la roche mère carbonatée ainsi que des amas de calcite en aiguilles a été réalisé sur tous les sites où cela était possible. Il faut noter que pour les sites africains, la calcite en aiguilles a été échantillonnée dans des sols ferrallitiques autour des irokos. Originellement, ces sols sont dépourvus de carbonates, néanmoins, comme nous l'avons vu, une accumulation de carbonate sous le contrôle de l'iroko se produit (Cailleau et al. 2004). Pour ces sites bien spécifiques, la signature isotopique des carbonates biogènes liés à l'arbre sera considérée comme celle de "la roche mère". Les tepetates sont des sols formés sur du matériel volcanique induré dans lesquels une multitude de formes carbonatées sont présentes. Le broyage de ce sol formé de nombreuses phases minérales sera considéré comme "la roche mère". Les résultats des analyses isotopiques sont données dans la figure (8.10).

La signature isotopique du carbone

La signature $\delta^{13}\text{C}$ globale de la calcite en aiguilles varie de -16.63 ‰ à $+1.10\text{ ‰}$ tandis que celle du $\delta^{18}\text{O}$ est comprise entre -8.63 ‰ et -2.25 ‰ . Dans les trois sites où plus de deux analyses ont pu être réalisées (car le matériel était suffisant), la variance pour chaque site est comprise entre 0.18 ‰ et 7.11 ‰ pour le $\delta^{13}\text{C}$ et entre 0.08 ‰ et 0.38 ‰ pour le $\delta^{18}\text{O}$. La comparaison entre le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite en aiguille: le $\delta^{13}\text{C}$ de la calcite en aiguilles est plus négatif que celui de la roche mère exceptée pour le site du Cameroun et du Mexique où les valeurs sont très semblables. Cette variation est comprise entre $+1.33\text{ ‰}$ et $+12.58\text{ ‰}$ pour les échantillons prélevés sur des roches mère de type carbonates marins. Pour les sites africains, le comportement du $\delta^{13}\text{C}$ est différent entre le Cameroun et la Côte d'Ivoire. Sur le site ivoirien, la différence entre la roche mère (un calcaire biogène) et la calcite en aiguilles est de 5.31 ‰ . Au Cameroun, le $\delta^{13}\text{C}$ de la NFC est proche de la valeur moyenne

carbone. G : Détail d'une aiguille proche du type 13 (ou 23); noter l'indentation (flèche) due aux nano-plans. H : Section transversale d'une aiguille de type 25 (ou 26, ou 27). I : Section transversale d'une aiguille de type 15 (ou 9, ou 14) formant une croix de Malte.

A: TEM dark field photograph of a calcite needle whose non-serrated edge planes have a homogenous white color (white arrow; note that section is a type 33 or 21 see figure 8.5). This homogeneity implies that these 2 planes have the same crystallographic orientation. The greater thickness of calcitic material at the junction of the 2 planes induces a different transmission pattern revealed by a darker area (black arrows). This must not be interpreted as a different crystallographic orientation in these areas, but rather as the loss of diffracted electrons in a thicker area. B, C, D, and E: TEM bright field observations of a serrated-edged needle (the star and the plus identify the same plane). B: closer view of serrated planes showing the overlapping of sub-planes (black arrows). Note the apparent divergence of overlapping directions between the opposite sub-planes. C, D, and E: Relationship between sections and perpendicular views is given by this succession of single tilt observations. Note that the apparent divergence of overlapping directions between the opposite sub-planes is due to the observation of external (star) and internal (plus) sides of planes as explained in F, G, H, and I TEM bright field observations of an ultrathin section (120-150 nm) of resin-embedded needles in transverse section. The rough appearance of all material present is due to the carbon coating. G: Detail of a rod close to type 13 (or 23), note the superposition of sub-planes (arrow). H: cross section of a type 25 (or 26 or 27) needle. I: Malta cross-like needle section, very similar to a rod of type 15 (or 9 or 14).

Sampling area	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	$\delta^{18}\text{O}$ ‰	$\delta^{13}\text{C}$ parent rock ‰	$\delta^{18}\text{O}$ parent rock ‰
Cameroon	-12.08	-2.62	-12.00	-2.90
	-11.99	-2.85	-13.55	-1.23
	-11.19	-2.67	-12.40	-3.27
	-9.86	-2.25	-11.34	-3.12
	-10.82	-2.90	-10.61	-3.35
	-10.63	-2.90	-10.88	-2.95
	-10.03	-2.63	-9.78	-6.54
			-9.33	-3.75
			-10.54	-3.67
			-7.99	-3.29
			-6.86	-2.77
			-6.69	-3.02
			Mean	-10.16
Swiss Alps	-5.70	-5.32		
Swiss Jura	-7.12	-8.63	+1.02	-5.96
	-6.31	-7.85		
	-6.91	-7.80		
	-6.29	-7.13		
Ivory Coast	-16.63	-8.02	-11.32*	-2.53*
			-8.93*	-1.95*
			-6.46*	-2.17*
			-6.96*	-1.87*
			-6.53*	-2.60*
			-8.74*	-2.19*
		Mean	-8.16	-2.22
French Jura	-11.45	-7.17	+1.13 1 to 2.5†	-4.39 -2 to -4†
Mexico	-1.53	-8.6	-1.51	-7.71
Montpellier	-10.14	-4.99	-9.72	-4.52
	-9.91	-4.89	-9.70	-4.85
Burgundy	-10.79	-5.88	-7.16	-6.36
Périgord	-8.54	-4.27	+1.09	-4.07
Reims	-7.57	-5.17	+2.43	-2.89
	-8.51	-4.81		
Loisy, 1997	+1.10	-2.82		
Unpublished data	-1.80	-4.20		
	-4.10	-4.10		
	-5.00	-4.70		
	-1.90	-4.20		
	-3.00	-4.00		
	-2.20	-3.60		
	-3.60	-4.10		
	-7.20	-4.80		
-3.60	-4.30			
-2.80	-4.20			

* Bulk carbonate signature at the same depth +/- 30cm

† data from Mouchet, 1998

Fig. 8.10 : Signature isotopique du carbone et de l'oxygène de la calcite en aiguille et de la roche mère carbonatée pour chaque site (ou carbonate de calcium biogène présent sur les sites).

*C and O isotopic signature of NFC sampling at each site, and their carbonate parent rock (*or other bio-induced calcium carbonate present at the site).*

des carbonates biogènes considérés comme “la roche mère” (Fig. 8.11), même si les aiguilles sont légèrement plus négatives que cette moyenne. Les échantillons de Montpellier montrer un cas de figure très similaire au Cameroun. Les valeurs très négatives du $\delta^{13}\text{C}$ du travertin sont très proches de la NFC parente même si celle-ci est légèrement plus négative. La NFC de Bourgogne a été échantillonnée dans un pierrier cryoclastique (grèze) dont le matériel principal est un calcaire bathonien, le Calcaire de Comblanchien. Le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{18}\text{O}$ de ces cryoclastes sont respectivement de -7.16‰ et de -6.36‰ . Ces valeurs sont très nettement décalées par rapport aux valeurs attendues pour un calcaire marin de cet âge (entre $+1.80\text{‰}$ et $+3.20\text{‰}$ pour le $\delta^{13}\text{C}$, et -1.14‰ et -5.1‰ pour le $\delta^{18}\text{O}$). Une forte empreinte de la diagenèse Quaternaire est connue sur ces dépôts.

La signature isotopique de l'oxygène

La comparaison entre la signature de l' ^{18}O des différentes calcites en aiguilles et des roches parentes montre une tendance vers des valeurs plus négatives, exceptée pour le Cameroun, le Périgord et la Bourgogne. Dans les deux premiers sites, le $\delta^{18}\text{O}$ de la NFC et de la roche mère sont similaires, mais en Bourgogne, un faible enrichissement des aiguilles en ^{18}O a été trouvé. Toutefois, cet enrichissement doit être nuancé suivant que l'on considère la signature des cryoclastes ou du calcaire bathonien.

8.3 Discussion

L'analyse de nombreuses morphologies d'aiguille de calcite mène à la conclusion que, comme il est suggéré par Jones et Kahle (1993) et Verrecchia et Verrecchia (1994), la grande variabilité de morphologies ne peut être que le résultat d'une évolution graduelle issue du type le plus simple, le type 3 (Fig. 8.5.3). Comme précédemment mentionné, ce type n'est pas le type M de Verrecchia et Verrecchia (1994), mais le type M0 (équivalent à leur MA1 divisée en deux) qui est plus convainquant au regard de la très petite taille du type M vis-à-vis des autres types d'aiguille. L'évolution depuis l'aiguille M0 peut être résumée le long de deux axes comme le montre la figure (8.12). Cette reconstitution est déduite de la présence de formes très proches, dont la plus simple pourrait dériver vers la plus compliquée par une fusion de deux formes simples (comme cela est montré sur l'axe vertical de la figure synthèse morpho), ou par une petite croissance (petite variation de la forme comme cela est montré sur l'axe horizontal). L'exemple type, le type 4, montre une “filiation” le long de l'axe horizontal (Fig. 8.12). Si l'évolution morphologique “pas à pas” ou graduelle n'a pas été décrite pour tous les types de baguettes lisses (axe vertical) comme pour le type 4, la plupart des aiguilles lisses montre au moins un équivalent avec des ornements en dents de scie. Il y a un point important et pourtant toujours négligé quand on décrit la NFC : les aiguilles se soudent en position juxtaposée; or il y a une absence totale d'aiguilles composites se soudant en formant un angle. Il est souvent interprété que les aiguilles de type MA se soudent suite à la diagenèse dans les pores du sol ; or, comme nous l'avons vu, l'amas d'aiguilles disposées aléatoirement est la forme la plus couramment rencontrée et malgré tout, aucune fusion telle qu'on en décrit selon l'axe vertical de la figure (8.12), n'a jamais été observée formant des angles aléatoirement. La formation de ces aiguilles de type

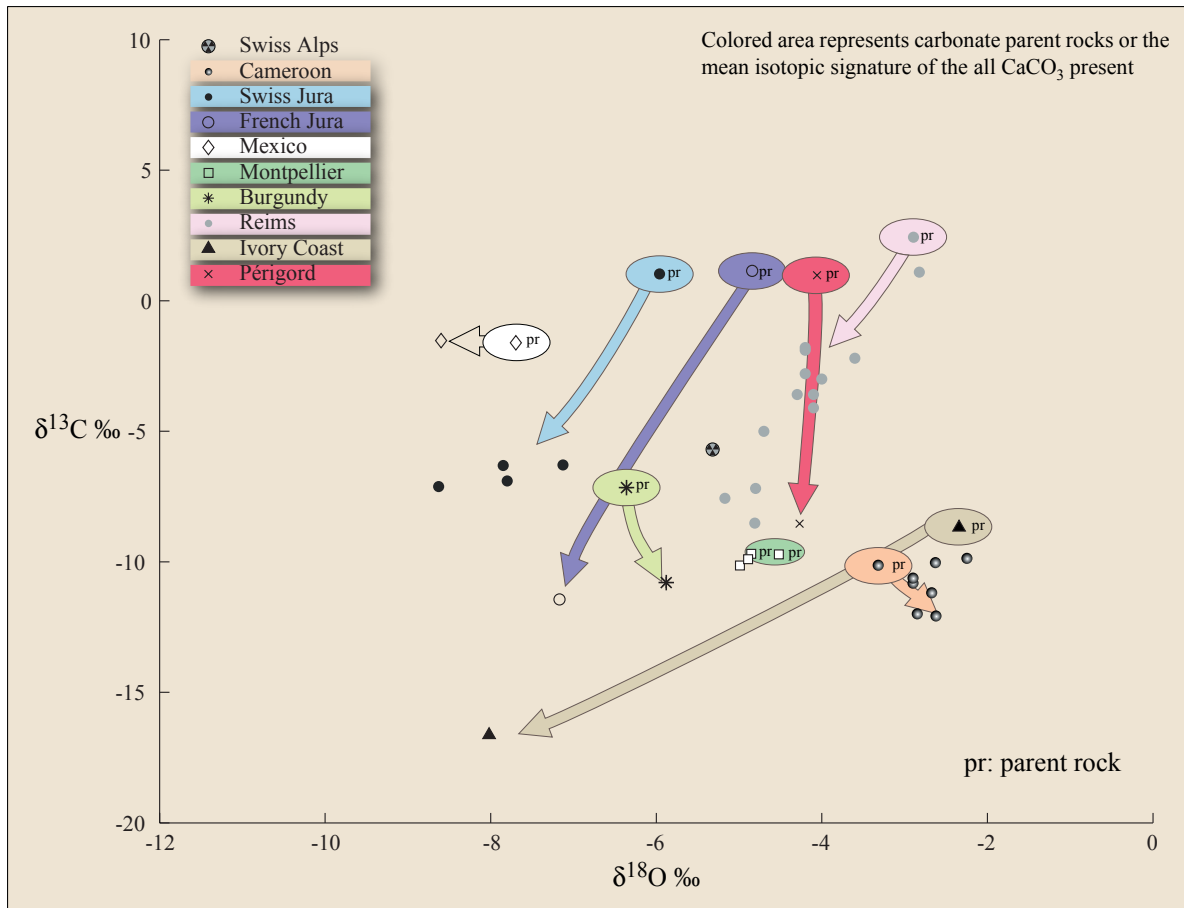


Fig. 8.11 : Comparaison des signatures $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{18}\text{O}$ de la calcite en aiguille et la roche mère carbonatée.
Comparison of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ signatures between NFC and parent rock.

MA, formées par agrégation parallèle, ne peut se faire que dans un moule contraignant l'orientation. Cet argument plaide pour l'implication d'un moule organique longiligne tel qu'on en a décrit dans les figures (8.3.C-D ; 8.4.E-F) permettant la formation de tous les types de baguettes simples avant leur libération dans le sol suite à la dégradation du moule organique.

La morphologie de la calcite en aiguille n'exprime pas ou très peu ses propriétés cristallographiques. Seuls les plans dentelés sembleraient en être l'expression partielle. Ces derniers sont eux-mêmes composés de nano-plans (Fig. 8.5.31 et 8.9.B, G). Les observations perpendiculaires à l'allongement et aux plans dentelés (Fig. 8.9.B) montrent les deux plans opposés parallèles qui caractérisent le type MB. Le sens de recouvrement des nano-plans forme des chevrons dans l'espace concave que forment les nano-plans (Fig. 8.9). Ces structures en chevrons (en fait les plans) se propagent à travers l'épaisseur de la baguette et sont visibles à l'opposée (l'autre concavité symétrique suivant l'allongement). La nature monocristalline de la baguette de calcite suggère que si les plans dentelés ne se sont pas dans leur intégralité formés à l'intérieur du moule organique, une partie de leur développement est syntaxique. Les aiguilles de type MB sont généralement interprétées comme le résultat de l'évolution secondaire d'aiguilles lisses suite à la diagenèse depuis les travaux de Verrecchia et Verrecchia (1994). L'existence de baguette de type MB dans un manchon organique (Fig. 8.3.C-D ; 8.4.A-C) met cette interprétation en défaut. Les plans dentelés pouvant être

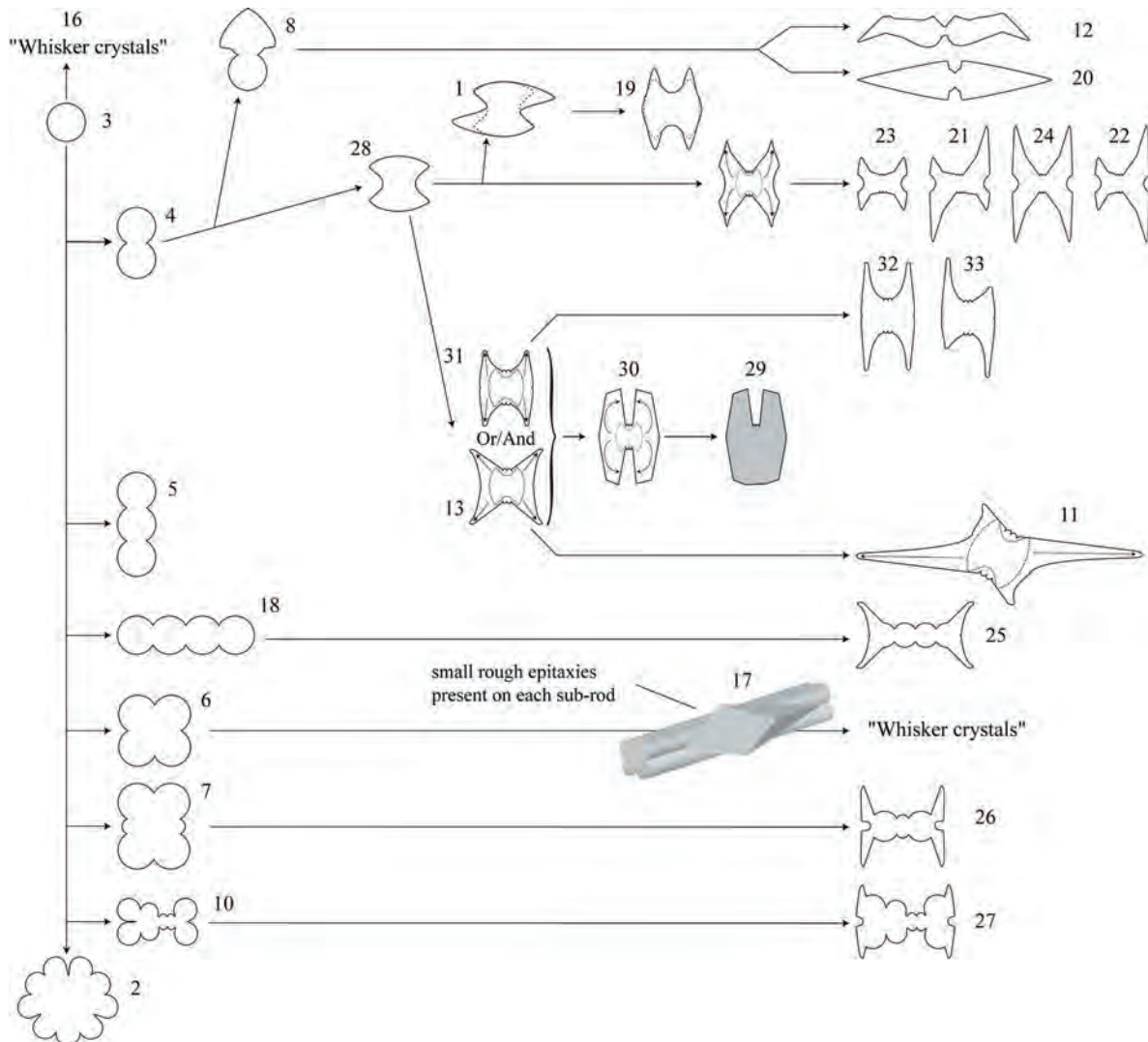


Fig. 8.12 : Schéma synthétique montrant les relations apparentes entre les différents types d'aiguilles. Deux axes d'évolution sont visibles : l'axe vertical débute par la forme la plus simple, le type (3) et montre une évolution graduelle par simple agrégation longitudinale de baguettes simples, lisses et paires menant à la forme la plus complexe, le type (2). Il faut noter que le type (16) peut directement découler du type (3). L'axe horizontal peut être interprété comme une "filiation" du type (4). Chaque type est issu du type (4) suite à une évolution morphologique graduelle menant aux formes les plus complexes en dents de scie.

Synthetic drawing showing the apparent relationship between the different types of needles. Two axes of evolution are apparent: the vertical axis begins with the simplest type (3) and shows an incremental aggregation of a simple rod (generally smooth and paired) to the most complex type 2 (the most complex on this axis). Note that the simplest type of rod can lead to the type 16. The horizontal axis can be interpreted from the filiation of the type 4. Each type originates as a type 4 and the 4 represents a step by step evolution to the most complex morphology (i.e. the serrated-edged shape).

extrêmement développés (Fig. 8.7.B), et ne pouvant pas se former dans le moule, il semble certain que leur origine soit mixte. On peut dire qu'ils sont à la fois formés dans le manchon organique, mais aussi par la diagenèse précoce dans les pores du sol suite à la dégradation de la matière organique. L'existence du type 11 (Fig. 8.5), qui est composé de plans ayant un développement différent suivant deux directions perpendiculaires, montre pour les plans les plus développés, un contour rectiligne. Cet aspect rectiligne peut être interprété comme le résultat de la contrainte due au moule organique qui, rectiligne, imprime une forme

rectiligne au plan lors de la croissance. Une interprétation similaire peut s'appliquer pour les types 12 et 20 (Fig. 8.5). Les morphologies complexes (Fig. 8.6) quant à elles, ne peuvent se former uniquement dans le moule organique. Les longues et fines ramifications, ainsi que les gros cristaux subhédraux ne peuvent pas avoir été formés dans le microtube organique qui a un diamètre 3 à 10 fois plus petit.

8.3.1 L'origine des *rhomb chains* et des *whisker crystals*

Comme il a été décrit, les *whisker crystals* sont le résultat de la croissance de cristaux subhédraux à euhédraux (scalénoèdres ou/et rhomboèdres) sur une aiguille de calcite (lisse ou non). Ces rhomboèdres subhédraux ne peuvent pas être le résultat des mêmes conditions de croissance que celles attendues pour les *whisker crystals*. Il est établi que ces deux types d'aiguilles ont une baguette plus ou moins simple comme support à leur genèse. Les cristaux euhédraux sont communément interprétés comme le résultat d'une croissance lente issue d'une solution parente faiblement sursaturée. Les cristaux subhédraux des *rhomb chains* sont le résultat de croissances syntaxiques successives de nano-plans, qui avec le temps vont exprimer l'habitus rhomboédrique. Dans un premier temps, une croissance rapide favorisant une croissance anhédrale, induit le grand développement des nano-plans. La formation de ce type d'habitus liée à une croissance rapide est généralement associée à une forte sursaturation de la solution parente. L'apparition des faces cristallines des *rhomb chains* serait alors due à un ralentissement de la vitesse de cristallisation liée à une solution parente plus faiblement saturée. À l'opposée, les petits cristaux syntaxiques et ramifiés observés principalement dans le site du Mexique peuvent être interprétés comme le résultat d'une croissance très rapide liée à une solution parente fortement sursaturée.

8.3.2 Les conditions de genèse d'une aiguille

L'aspect géochimique

La croissance d'une aiguille de calcite est fréquemment expliquée par les défenseurs d'une origine purement physico-chimique via un fort taux de croissance lié à une forte évaporation (Jones et Ng 1988; Jones et Khale, 1993). Un autre argument pourrait concorder avec cette affirmation. La calcite en aiguille est un carbonate de calcium faiblement magnésien ($\ll 1\%$). Un faible rapport Mg/Ca dans la phase carbonatée est généralement lié à un faible rapport Mg/Ca dans la solution parente d'après les travaux expérimentaux de Mucci et Morse (1983) et de Zhang et Dawe (2000). Dans le cas de faible concentration de Mg dans une solution, une croissance rapide est possible, le Mg n'empoisonnant pas les sites de croissance. Donc, le fait que la NFC soit faiblement magnésienne n'exclut nullement une croissance rapide, mais cela ne constitue pour autant pas une preuve de croissance rapide. Inversement, si l'on considère les conditions nécessaires pour obtenir les solutions de fortes sursaturations, la signature isotopique de la solution devrait être enrichie en oxygène lourd (^{18}O). La phase carbonatée précipitant à partir de cette solution devrait avoir un $\delta^{18}\text{O}$ ayant des valeurs fortes. Ce n'est pas le cas, pour rappel, le $\delta^{18}\text{O}$ de la NFC analysée varie de -8.63‰ à -2.25‰ . L'hypothèse de la forte sursaturation liée à une forte évaporation ne peut donc pas être retenue. D'autres études mettaient déjà en cause cette interprétation, telle celle

de Strong et al. (1992).

L'aspect cristallographique

L'un des problèmes que l'hypothèse d'une origine purement physico-chimique ne peut résoudre est d'ordre cristallographique. La calcite est connue pour avoir une croissance préférentielle suivant la direction [104], direction de l'axe C. Il est donc attendu que l'allongement de l'aiguille de calcite corresponde avec l'axe C; or ce n'est pas le cas. Comme nous l'avons vu précédemment un angle compris entre 30° et 50° est systématiquement mesuré.

Une autre voie pour produire des cristaux allongés peut être proposée suivant nos observations. Les aiguilles ont été observées dans un microtube organique (Fig. 8.3.C-D ; 8.4.A-C) ayant un diamètre proche d'1 µm. Souvent rectilignes, ces manchons organiques peuvent se comporter comme des moules pour les aiguilles et contraindre leur allongement. Les parois organiques sont composées de molécules possédant des groupements carboxyles souvent impliqués dans la germination des cristaux de calcite. On peut supposer que lors de la germination, le cristal prend une orientation définie, qui conditionne l'orientation cristallographique de l'aiguille. Ceci permettrait d'expliquer la relative constance de l'angle formé par l'axe C et l'allongement de la baguette. Si l'hypothèse de la solution parente faiblement magnésienne est vraie, il a été démontré que les cristaux de calcite pouvaient avoir des habitus allongés sous l'influence d'acides organiques (Meldrum et Hyde, 2001). On pourrait discuter sur le fait que l'on doit atteindre la sursaturation par rapport à la calcite dans un milieu pourtant régulé ; mais comme l'a démontré Wollast (1971), la précipitation peut prendre place dans de très petites cavités même si "*the concentrations are lower than those given by equilibrium constants*".

8.3.3 L'origine des faisceaux d'aiguilles

Les faisceaux d'aiguilles de calcite (parfois parfaitement juxtaposées les unes aux autres), dont la taille est très proche de structures organiques attribuées à des champignons ne peuvent être expliqués par un simple remaniement d'aiguilles dans les pores du sol. On ne peut que déduire qu'elles se sont créées ainsi. La genèse purement physico-chimique est d'emblée exclue; quelle règle pourrait l'expliquer? Il est plus aisé d'imaginer la décomposition de l'enveloppe organique laissant l'arrangement des aiguilles intacte. Un argument supplémentaire pour cette interprétation est le fait systématique de retrouver des nano-fibres sur les aiguilles composant les faisceaux (Fig. 8.8.C-D). Ces nano-fibres peuvent être interprétées comme le résultat de la dégradation du matériel organique comme le suggère la figure (8.4.H).

8.3.4 La signature isotopique du carbone

Pour bien comprendre le fractionnement isotopique de la NFC, il est nécessaire de définir les différentes sources de carbone potentielles. Deux sources principales potentielles sont identifiées : la roche mère carbonatée, et le CO₂ de l'atmosphère du sol. Concernant la signature de la roche mère, elle dépend de la nature du carbonate d'origine et de l'évolution diagénétique qu'elle soit marine, d'eau douce, d'enfouissement, ou d'exhumation entre

autres. CO_2 du sol quant à lui à pour origine la respiration du sol (la dégradation de la matière organique et la respiration racinaire). Cette source de CO_2 induit une signature spécifique au carbonate pédogénétiques comme cela a été démontré par Cerling (1984, 1999). De même, la nature de la couverture végétale influence la signature isotopique de la matière organique elle-même et donc celle des carbonates pédogénique se formant sous ce control. Sous une couverture végétale C_4 pure, la signature de la matière organique a un $\delta^{13}\text{C}$ d'environ - 12 ‰. Cette source de carbone induit un $\delta^{13}\text{C}$ d'environ + 2 ‰ pour les carbonates pédogéniques en résultants. Concernant la signature de la matière organique sous une couverture végétale pure C_3 , la valeur moyenne de son $\delta^{13}\text{C}$ est environ de - 26 ‰. Les carbonates pédogénétiques sous leur contrôle ont un $\delta^{13}\text{C}$ d'environ - 12 ‰. La source potentielle de carbone pour la calcite en aiguille est un mélange des deux sources que sont la roche parente et le CO_2 de l'atmosphère du sol. Comme nous l'avons vu précédemment, l'origine de la NFC suite à une forte évaporation est exclue. Donc, soit la calcite en aiguille est directement précipitée de manière purement physico-chimique à partir des deux sources que sont la roche mère et la CO_2 du sol, soit il subit un fractionnement isotopique supplémentaire du à des processus biologiques.

Supposons dans un premier temps que l'origine de la NFC est purement physico-chimique. Si le CO_2 du sol est la source dominante, la signature isotopique de la NFC serait principalement influencée par la matière organique en décomposition. Si la roche mère est la source principale de carbone pour la calcite en aiguille, la signature isotopique de cette dernière est contrôlée par la signature isotopique de la roche parente car il n'y a pas de fractionnement. D'après nos données (Fig. 8.12), sept des neuf sites pris en compte ici (le *moonmilk* des Alpes Suisses est exclu de la démonstration car aucun échantillonnage sélectif n'est possible) montrent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ pour la NFC beaucoup plus négatives que celles de la roche mère. Donc, comme la roche parente ne peut être la source principale de carbone, cela ne peut être que le CO_2 du sol et donc la matière organique en cours de dégradation. Le modèle de Cerling (1999) prédit qu'à une profondeur donnée, le $\delta^{13}\text{C}$ du CO_2 du sol est constant et détermine une signature constante pour les carbonates pédogénétiques. Néanmoins, en Côte d'Ivoire, les échantillons ne peuvent pas s'expliquer de la sorte. Sur le site de Biga, Côte d'Ivoire, la source de carbone provenant de la roche parente est un carbonate bio-induit (Braissant et al. 2004; Cailleau et al. 2005) déjà appauvri en ^{13}C . La calcite en aiguille a été échantillonné à la même profondeur que des blocs de carbonate biogène secondaire (80 cm). Selon le modèle de Cerling (1999), il est attendu que la signature de la NFC soit la même que celle des blocs trouvés à la même profondeur. Ces blocs de carbonate sont clairement biogènes (Cailleau et al. 2005) et donc sont caractérisés en théorie par des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus négatives que des carbonates pédogénique précipités sous contrôle purement physico-chimique. Bien que les blocs parents de carbonate biogène soient déjà appauvris en ^{13}C , la NFC sur ce site à une signature encore plus négative (environ 5.3 ‰). En conséquence, une telle différence avec des valeurs > 5 ‰ ne peut pas être expliquée par la seule influence de du CO_2 du sol. Le même type de raisonnement peut être appliqué pour le site du Cameroun, même si la différence entre la NFC et la roche parente est moins prononcée. Ces résultats induisent un doute quant à la validité de l'hypothèse purement physicochimique de la NFC.

Les sites du Cameroun, de la Côte d'Ivoire et de Montpellier ont des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ similaires pour leur roche mère. Néanmoins, la NFC de Montpellier n'a pas de valeur plus négative que sa roche mère, contrairement à ce qu'on observe pour les deux autres sites. Les sites de Montpellier et du Mexique ont la particularité d'avoir des aiguilles de morphologie complexes, tel des "whisker crystals", et des formes à fines et très développées surcroissances (Fig. 8.6.B-D) interprétées comme le résultat d'une croissance cristalline dans les pores du sol (i.e. pas dans une structure organique). Les croissances épitactiques se mettent en place dans des conditions purement physico-chimiques, i.e. pas en relation avec une structure organique ou une influence biogène directe comme cela a été mentionné précédemment dans cette discussion. Basée sur cette interprétation, l'absence d'un décalage des valeurs de la NFC vers de plus négatives (par rapport à la roche parente) peut être expliquée par la perturbation du signal originel de la NFC par les épitaxies physico-chimiques. Au Mexique, le même raisonnement mène à la même conclusion : les croissances épitactiques ont une influence directe sur la signature isotopique de la NFC induisant l'absence de décalage négatif des valeurs pour cette dernière. Le fait que les échantillons mexicains aient des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ si haute peut être expliqué par l'influence des plantes C4.

Bien que l'hypothèse d'une origine purement physico-chimique de la NFC ne puisse être totalement écartée pour toutes les aiguilles des étudiées, beaucoup de nos résultats contestent cette hypothèse. L'origine biogène de la calcite en aiguille est elle une alternative plausible ? Le décalage négatif de la NFC par rapport à la roche mère peut facilement être expliqué par un fractionnement biogène quelle que soit la source de carbone. Le fractionnement peut se dérouler pendant le catabolisme des microorganismes, i.e. durant la précipitation de la NFC tel un produit dérivé à l'intérieur d'un microtube organique (Fig. 8.3.C). Par exemple, en Côte d'Ivoire, la signature isotopique du carbone de la NFC est plus négative que celle des carbonates biogènes déjà très négatives, échantillonnés à la même profondeur. Une conclusion identique peut être avancée pour les échantillons du Cameroun, même si le décalage négatif de la NFC est moins prononcé. L'absence de décalage négatif pour les échantillons du Mexique et de Montpellier, est également expliquée par la présence d'aiguilles à morphologies complexes interprétées comme des épitaxies. Ces épitaxies sont le résultat de précipitation que l'on considère comme abiotique dans des conditions différentes de celles existantes dans la matrice organique (i.e. le microtube). En conséquence, ces épitaxies sont capables de perturber le signal originel de la calcite en aiguille, annulant le décalage négatif observé dans les sept autres sites.

Un fractionnement est hautement probable durant la croissance de la NFC, aboutissant à des signatures plus négatives pour leur $\delta^{13}\text{C}$ que celles attendues sous une influence combinée des deux sources de carbone, i.e. le CO_2 de l'atmosphère du sol et la roche mère carbonatée. Bien qu'il soit difficile de discriminer entre les sources de carbone, il est clair que le fractionnement impliqué pour la signature isotopique de la NFC est d'origine biologique. La calcite en aiguille ne peut plus être considéré comme un produit purement physico-chimique.

Une classification ascendante hiérarchique fondée sur les caractéristiques environnementales des différents sites montre une nette ségrégation entre les groupes (Fig. 8.13). Celle-ci implique que les facteurs environnementaux (l'altitude du site, la signature isotopique

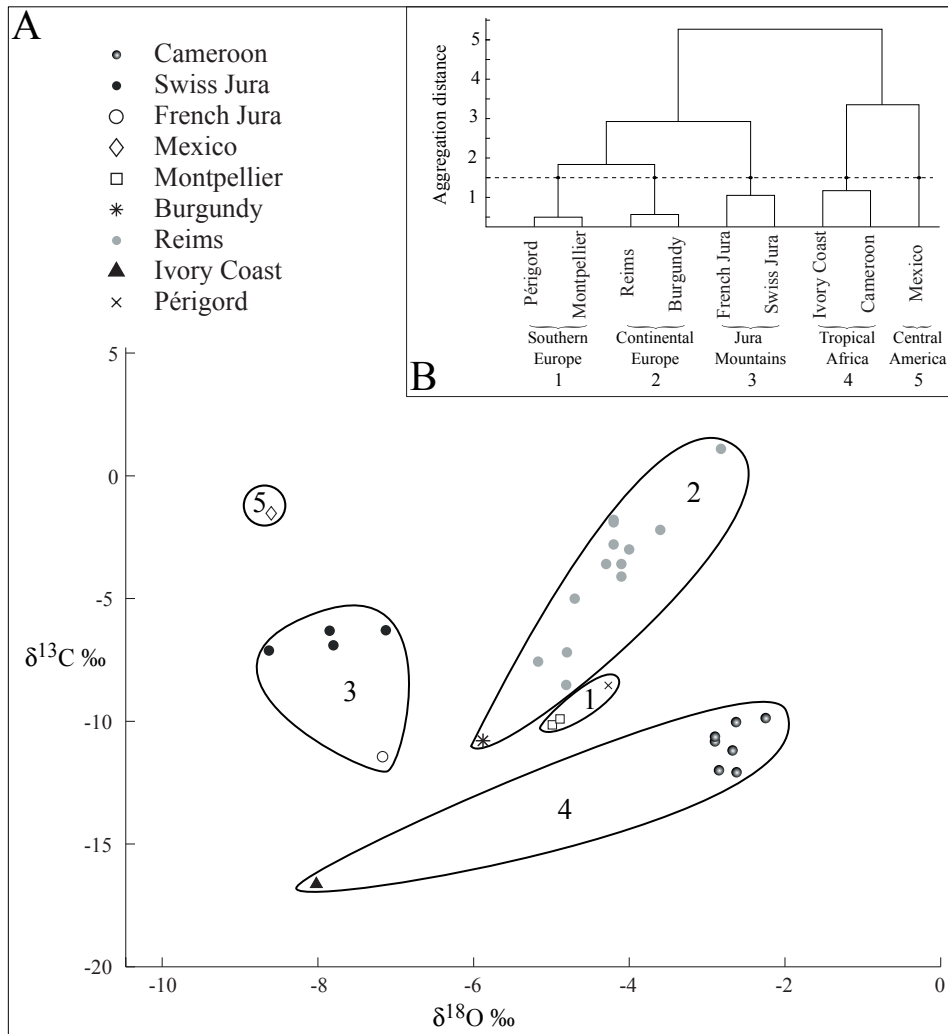


Fig. 8.13 : A: Classification ascendante hiérarchique montrant le regroupement par type environnemental. Elle est fondée sur l'altitude du site, la signature isotopique de l'oxygène des précipitations, la moyenne annuelle des précipitations, la moyenne des températures pendant la saison chaude, la moyenne des températures pendant la saison froide, et le nombre de jour de gel par année. B: Graphique montrant le non-recouvrement des différents groupes définis par la classification ascendante hiérarchique.

A: Cluster analysis based on the altitude, local isotopic signatures of rains, mean annual precipitations, mean hot season temperatures, mean cold season temperatures, and number of frost days per year. B: Clusters determined from this analysis have been drawn on the scatter plot of NFC isotopic signature. These stable isotopic signatures are clearly differentiated by the environmental characterization illustrated above.

de l'oxygène des précipitations, la moyenne annuelle des précipitations, la moyenne des températures pendant la saison chaude, la moyenne des températures pendant la saison froide, et le nombre de jour de gel par année) doivent influencer la signature des isotopes stables de la NFC. Néanmoins, les sites où le taux d'évaporation est le plus élevé (i.e. les sites d'Afrique tropicale avec leurs hautes températures ou les sites relativement froids tels que les montagnes jurassiennes, sujets au cryo-fractionnement) ne montrent pas des valeurs de $\delta^{18}\text{O}$ élevées. Ce point et les valeurs globales de $\delta^{18}\text{O}$ mesurées contredisent l'hypothèse selon laquelle la morphologie en aiguille résulterait d'une croissance rapide due à une évaporation elle-même rapide. De plus, cette classification ascendante hiérarchique ne contredit en rien l'interprétation du fractionnement du ^{13}C car : 1) les deux isotopes sont utilisés ici comme

variable et dispersent les données ; 2) La vie est l'image du climax et donc intègre l'influence de tous les paramètres environnementaux.

8.4 Conclusions

8.4.1 L'origine de la calcite en aiguille

Ce qui plaide ou ne plaide pas pour une origine purement physico-chimique :

1/ *la NFC se situe toujours au dessus de la zone phréatique; cela plaide pour une genèse due à une très forte évaporation menant à une croissance cristalline très rapide apte à former des cristaux allongés:*

- l'hypothèse d'une évaporation très forte est exclue dans les 10 sites étudiés. La calcite en aiguille ne montre jamais un $\delta^{18}\text{O}$ élevé comme cela devrait être le cas. Ceci concorde avec les travaux de Strong et al. (1992).

2/ On ne sait pas reproduire ce type d'aiguille expérimentalement.

3/ La NFC est une calcite faiblement magnésienne, donc issue d'une solution parente faiblement magnésienne. Les solutions faiblement magnésiennes n'inhibent pas les croissances rapides, ce qui ne veut pas dire qu'elles les favorisent.

4/ On ne peut expliquer la divergence entre l'allongement de l'aiguille et l'axe C.

Ce qui plaide ou ne plaide pas pour une origine biologique :

1/ L'origine fongique de la calcite en aiguille est souvent avancée, mais malgré tout, on n'est pas actuellement en mesure de la reproduire en culture. On pourrait rétorquer que les organismes du sol sont cultivables sur des milieux différents, le milieu approprié n'a peut être pas été défini.

2/ On a observé de la NFC dans des microtubes organiques, ainsi que dans de grandes structures dont tailles et architecture sont typiques des champignons.

3/ La présence de NFC dans des microtubes fournit une explication possible pour la divergence entre l'allongement de l'aiguille et l'axe C. La relative constance de l'angle (30° - 50°) implique qu'une direction sélective de la germination existe. Il est connu que les groupes carboxyles des molécules organiques sont des sites de nucléations préférentiels. Leur présence au niveau des parois organiques en fait des candidats comme support pour les germes de calcite qui pourraient ainsi avoir une orientation relativement constante. Contrainte par le moule organique, l'aiguille de calcite pourrait avoir une croissance unidirectionnelle quelque soit la contrainte "normale" implicite à l'axe C.

4/ La signature isotopique du carbone de la NFC est relativement négative, et toujours inférieure à la signature de la roche mère carbonatée. On peut interpréter ce décalage vers des valeurs négatives par un fractionnement biologique. On exclut l'argumentaire d'une influence du CO₂ atmosphérique du sol, car pour le site de la Côte d'Ivoire un carbonate pourtant biogène prélevé à la même profondeur montre une valeur plus haute de 5.3 ‰.

5/ Les faisceaux d'aiguilles dont certaines semblent s'emboîter parfaitement, ont une taille tout à fait similaire aux structures organique. Leur formation est très difficilement explicable par une autre voie que la dégradation d'un matériel organique contraignant à la fois la forme des aiguilles, mais également celle du faisceau et de sa taille.

8.4.2 Synthèse sur la nomenclature

A ce stade, une clarification des termes de la nomenclature de la calcite en aiguille peut être définie:

- le terme *moonmilk* correspond à une structure organo-cristalline pouvant être saturée en eau. Les phases cristallines présentes sont variables: amas de calcite cryptocristallins, nanofibres cristallines dont l'origine sera discutée dans le chapitre suivant, et calcite en aiguilles. Les aiguilles de calcite ne représentent qu'un tiers de la masse de carbonate dans les échantillons observés.

- Le terme *whisker crystals* se réfère initialement à des cristaux allongés. Néanmoins, il est interprété comme une chaîne de cristaux euhédraux à subhédraux se recouvrant partiellement depuis Verrecchia et Verrecchia (1994). Ce terme a été interprété, comme se référant au terme "lubinite" (initialement, il décrivait un minéral, mais des travaux ultérieurs ont montré qu'il s'agissait d'un habitus de la calcite) ou *rhomb chains* comme cela est mentionné par ces auteurs. De nouvelles observations tendent à interpréter les *whisker crystals* comme des croissances syntaxiques lentes (sur des aiguilles de calcite) dues à des solutions parentes faiblement sursaturées vis-à-vis de la calcite. Les caractéristiques des *rhomb chains* et de la "lubinite" sont vraiment très similaires mais différent de celles des *whisker crystals*. L'habitus cristallin n'est jamais euhedral mais subhedral et semble résulter d'une croissance syntaxique en plusieurs étapes, à partir d'une solution fortement sursaturée dans un premier temps.

Une question reste encore en suspend. Quelle est l'origine du carbone ?

**Une hypothèse pour
la formation
des nano-baguettes
de carbonate**

Chapitre 9 Une hypothèse pour la formation des nano-baguettes de carbonate

Au cours des diverses études menées dans le cadre de cette thèse, des nano-baguettes ont été rencontrées aussi bien dans les sites africains, qu'européens. Mentionnées dans la littérature scientifique sur le *moonmilk* et interprétées comme cristallines, leur origine reste toutefois incertaine car peu étudiée. Leur taille nanoscopique est le principal frein à l'investigation, ce qui a impliqué l'utilisation de méthodes plus perfectionnées.

9.1 Aspect préliminaire

Les nano-baguettes ont souvent été observées au MEB, accompagnant (1) des pseudomorphoses calcitiques de cristaux de whewellite issus de la combustion de fragment de bois d'iroko, (2) ainsi que la calcite en aiguille (NFC de James, 1972), principalement quand celle-ci forme des faisceaux ; ces nano-fibres sont très petites et courbes semblant "se mouler sur le substrat" sur lequel elles sont posées ce qui les différencie de la NFC sens strict (Fig. 9.1.A-B). Si la NFC peut être observée courbée quand on la soumet à des contraintes autres que son propre poids, les nanofibres, elles, semblent courbes lorsqu'elles sont plaquées sur le substrat qui les porte avec aucune autre contrainte que leur propre poids. On les observe dans le *moonmilk* formant un véritable treillis. Dans ce faciès de remplissage karstique, on rencontre également des structures qui, au premier aspect, sont des tubes ramifiés et imbriqués entre eux (Fig. 9.1.C). L'observation détaillée de ces structures montre qu'elles sont composées d'un treillis bien ordonné de nano-baguettes ayant des directions d'arrangement préférentiel les unes par rapport aux autres parfaitement visible (Fig. 9.1.D-E). Ces structures sont en tout point similaires à celle déjà observées par Borsato et al. (2000). De nouveau, dans le *moonmilk*, on observe une relation étroite entre NFC et nano-baguettes (Fig. 9.1.F). Si on devait les comparer à celles déjà observées et mentionnées dans la littérature scientifique, elles correspondraient aux:

- "*needles*" de Jones et Ng (1988) dont la taille (largeur 200 nm et longueur 4 mm) est comparable. Le caractère flexible n'est pas mentionné, mais les images réalisées au MEB montre de fortes courbures lorsqu'elles sont disposées en réseaux très denses;
- "*micro-rods*" (M) de Verrecchia et Verrecchia (1994) car elles sont similaires en taille (largeur <500 nm et longueur <2 mm) même si elles ne sont pas mentionnées comme flexibles;
- "*micro-rods*" de Loisy et al. (1999) grâce à leur taille (2-3 mm de longueur et 0.15-0.20 mm de largeur) et qui sont interprétées comme le résultat de la minéralisation de bactéries filamenteuses.
- "*nanofibers*" de Borsato et al (2000) en termes de taille (largeur 50-150 nm et longueur 1 à >10 mm) et le caractère flexible est également mentionné. Elles sont interprétées comme des germes de cristaux calcitiques par ces auteurs.

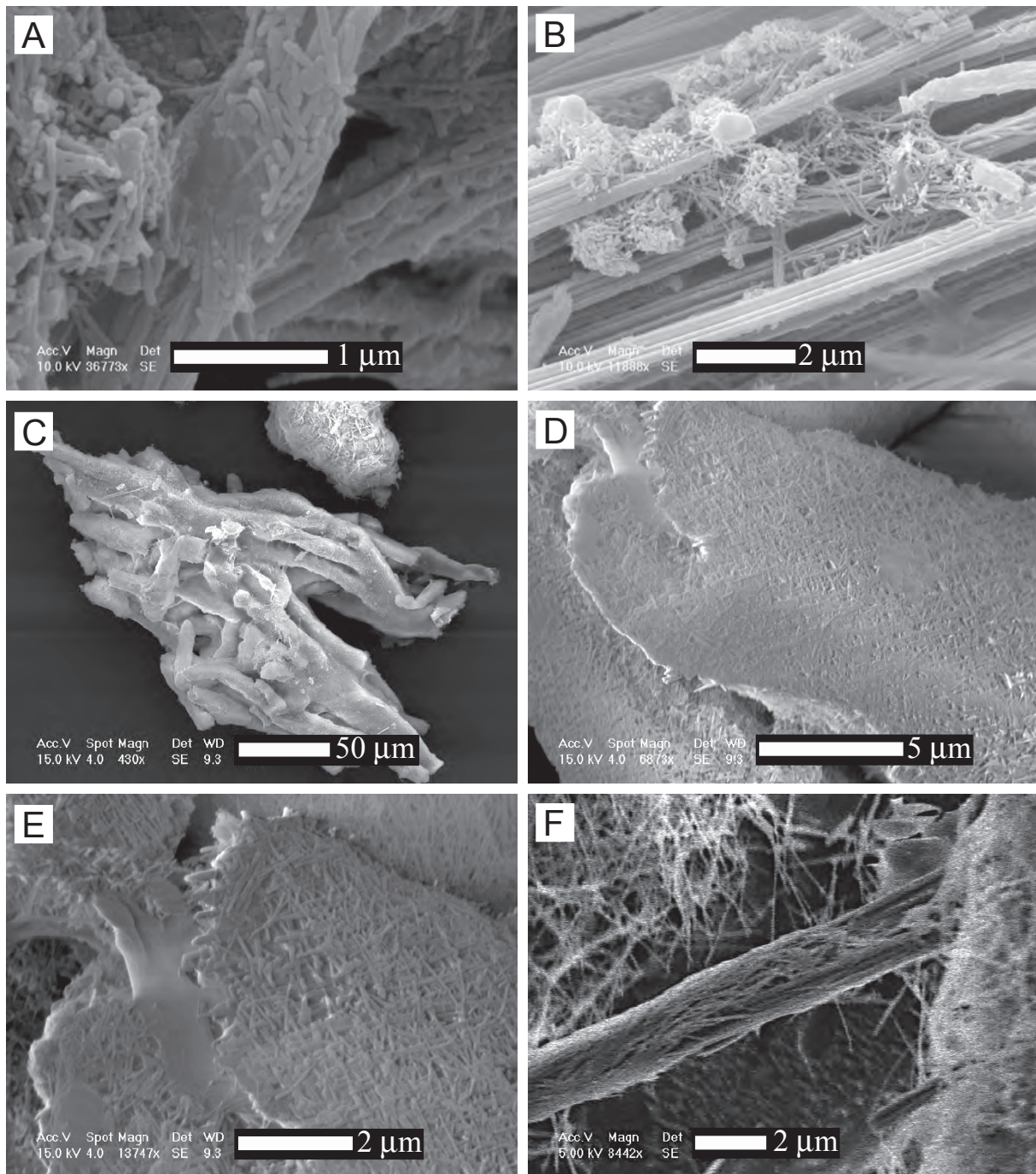


Fig. 9.1 : A-B: Images réalisées au MEB de NFC présente dans les échantillons du Cameroun. A: Les nano-baguettes peuvent être observées telle une sorte d'enduit sur les aiguilles de calcite. B: Elles sont quasiment toujours présentes en grand nombre sur les aiguilles de calcite quand celles-ci forment des faisceaux. C-F: Echantillon de *moonmilk* observé au MEB; l'image F a été produite en mode basse température. C-E: Structures tubulaires ramifiées qui, en détail, sont composées par un arrangement très ordonné de nano-baguettes (D-E). F: Aiguille de calcite recouverte pas un ensemble très dense de nano-fibres.

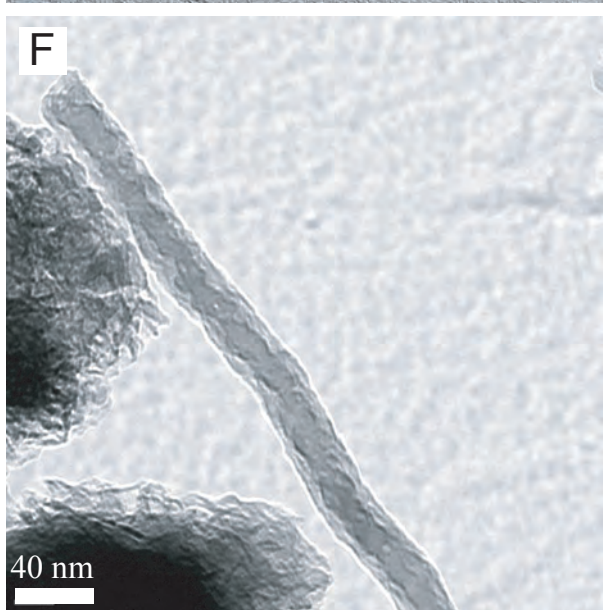
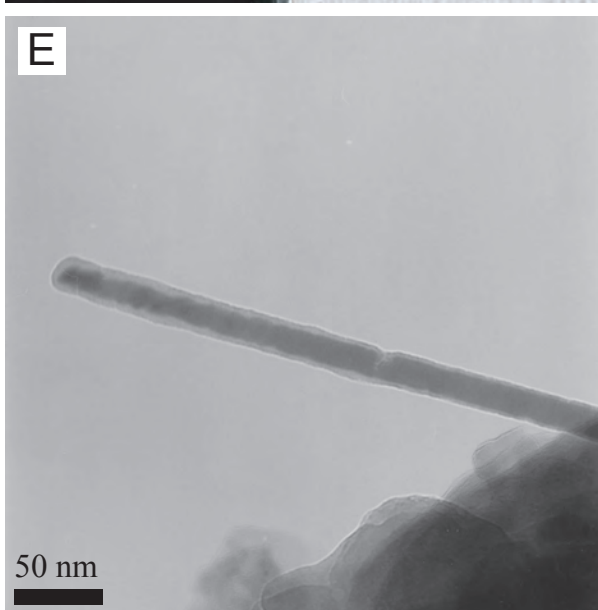
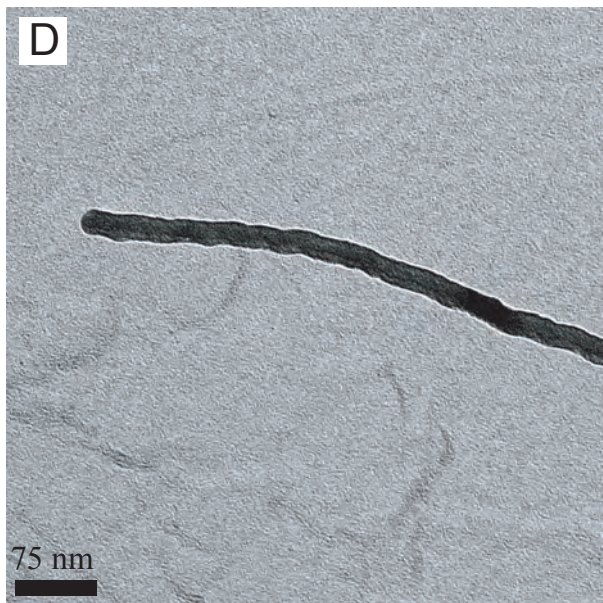
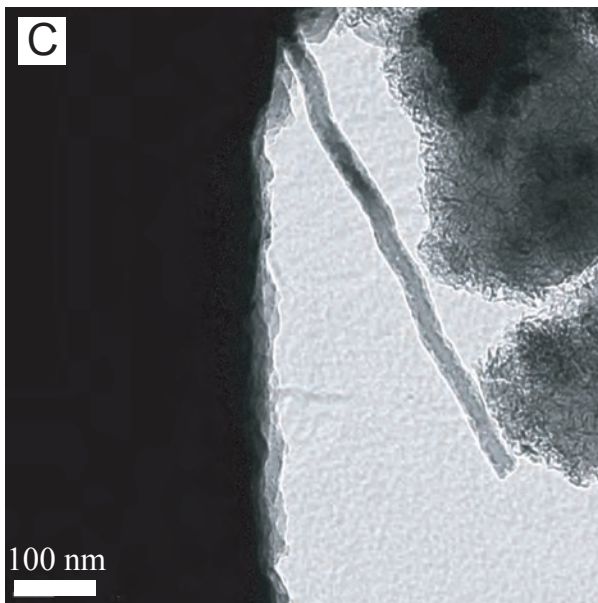
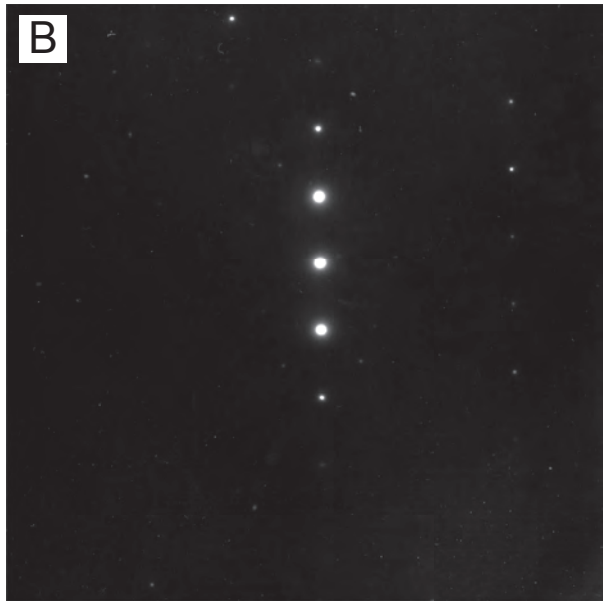
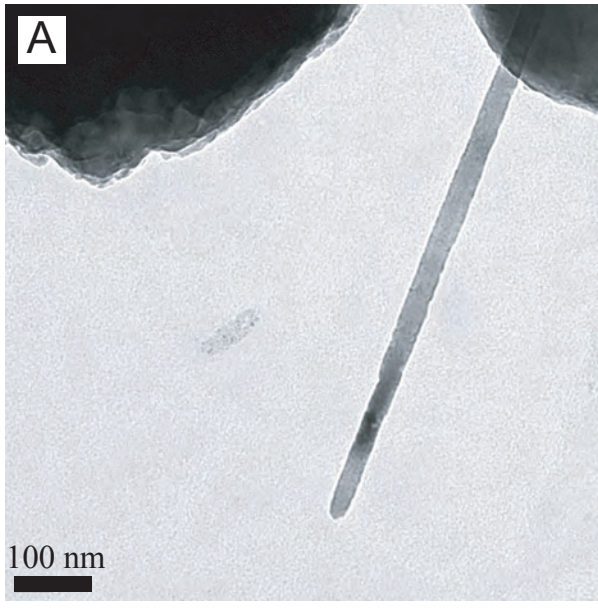
A-B: SEM images showing NFC in a sample from Cameroon. A: These nano-rods can be observed as a kind of coating on the calcite needles. B: They are almost always present in great numbers on the calcite needles when the latter form a bundle. C-F: Moonmilk sample observed with the SEM, F has been observed using the low temperature mode. C-E: Tubular and ramified structures which in detail are composed by a well organised network of nano-rods (D-E). F: Calcite needle covered by a dense layer of nano-rods.

9.2 Description

Deux types de nano-baguettes peuvent être définis d'après leur diamètre. Le premier type (I) qui représente plus de 98 % des fibres est caractérisé par un diamètre de 19-27 nm et un allongement pouvant atteindre 1.6 μm . L'observation au MET révèle que celles-ci sont lisses (Fig. 9.2.A), monocristallines (Fig. 9.2.B) et planes voir plus ou moins rectilignes d'après nos observations avec le porte-objet à double rotation. Néanmoins, certaines sont faiblement ondulantes longitudinalement, semblant être enroulées autour d'un axe immatériel (Fig. 9.2.C-D). La plupart de ces baguettes paraissent simples (Fig. 9.2.A), mais on observe également des structures internes. Un volume qui semble enroulé sur lui-même et recouvert par un matériel n'ayant pas le même contraste a été observé (Fig. 9.2.E). Il semble que cela ne soit pas un artefact d'observation dû à une épaisseur moins importante, ce qui rendrait la structure plus transparente au faisceau d'électron. En effet, si on compare avec la figure (9.2.A), on voit bien que l'homogénéité est bien nette que ce soit au bord de l'aiguille ou au niveau de la plus forte épaisseur. La structure enroulée semble donner la morphologie enroulée à la nano-baguettes. Certaines nano-baguettes peuvent montrer des structures internes paraissant vides. Le "support" présenté ci-dessus, ne semble toutefois pas systématiquement préservé, dans plus d'un cas sur deux (d'après l'observation de baguettes à structure interne), le "moule" reste seul visible (Fig. 9.2.F). Cet enduit présente en moyenne une épaisseur de 6.5-7.3 nm. Localement quand la structure interne n'est pas centrée, l'enduit peut atteindre 9.5 nm induisant en contre-partie une épaisseur plus faible à l'opposé (3.5 nm). Le second type de nano-baguettes (II) montre une longueur moindre (200-300 nm) tandis que la largeur avoisine 33-35 nm. Elles semblent construites par un empilement de volumes (dont la taille est d'environ 15 nm d'épaisseur et de 33-35 nm de long, cette dernière correspondant au diamètre de la nano-baguettes ; Fig. 9.3.A-B) créant l'allongement de la fibre. La nature cristalline est établie, mais n'est pas formellement identifiée en l'absence d'analyse en microdiffraction aux rayons X. Ces deux types de nano-baguettes sont observées formant des sortes de réseaux plus ou moins organisés où se côtoient les deux types de nano-baguettes (Fig. 9.3.C-E).

Fig. 9.2 : A, C-F: images réalisées au MET en *bright field* de nano-baguettes de type (I) trouvées sur le site de Biga. A: Nano-baguettes lisses que l'on trouve isolées ou en amas. B: Microdiffractogramme aux rayons X de cette même baguette montre le caractère monocristallin de la nano-baguettes. C-D: Nano-baguettes semblant être légèrement enroulées sur elles-mêmes. E: Une nano-baguettes montrant une structure interne (celle-ci disparaît suite à l'instabilité globale de la nano-baguettes sous le faisceau d'électron). F: Nano-baguettes dont le centre semble vide et formant ainsi une sorte de canal légèrement ondulant sur lui-même.

A, C-F: TEM bright field images of type (I) nano-rods found at the Biga site. A: Smooth nano-rod which can be observed alone or in a mesh. B: X-ray microdiffractogram of this nano-rod showing its monocrystalline nature. C-D: Weakly undulating nano-rod due to longitudinal rolling up. E: One of the nano-rods showing an internal structure (the latter disappears because of the instability of the rod under the electron beam). F: Some rods show undulating longitudinal voids inside them.



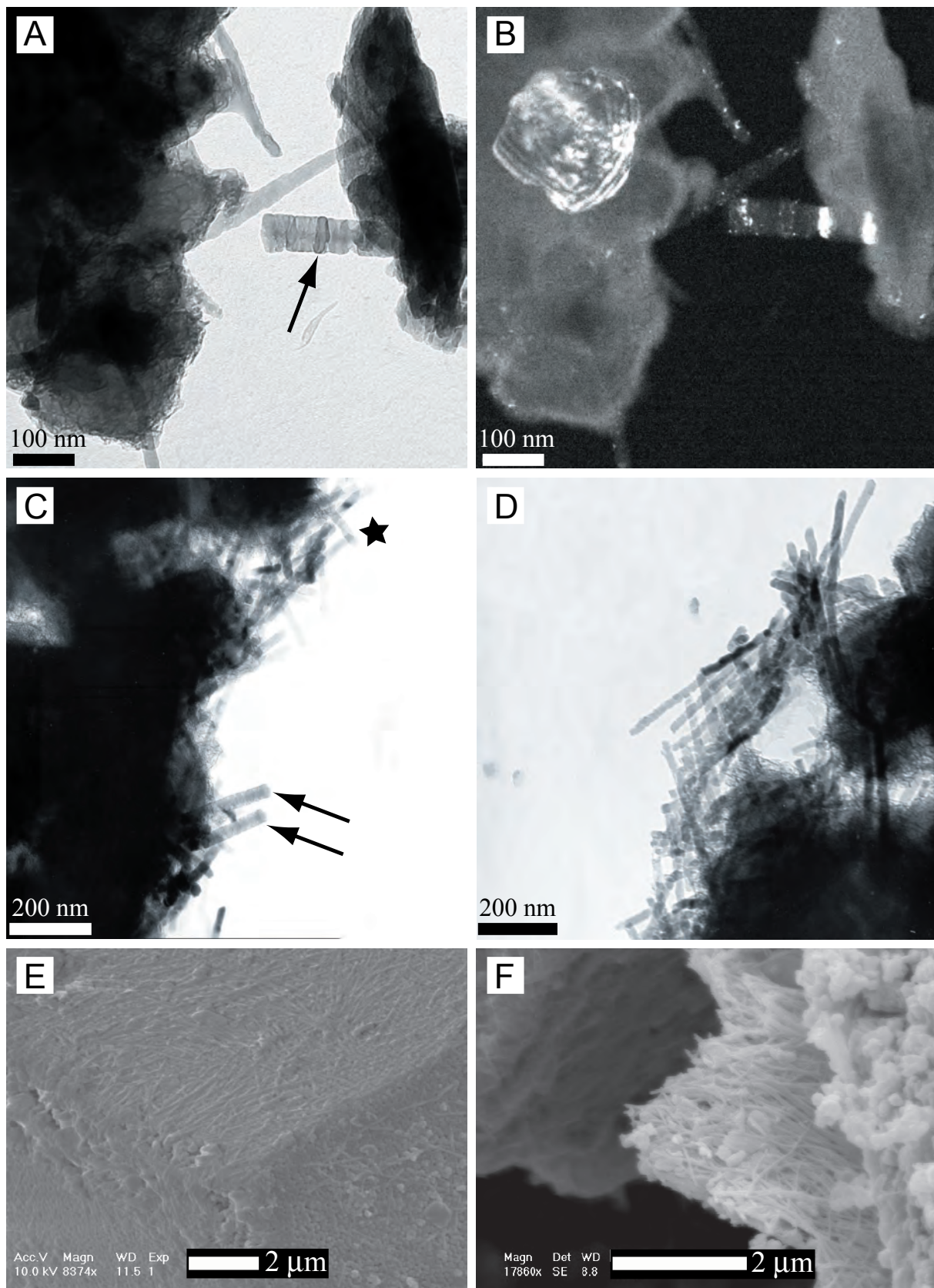


Fig. 9.3 : A-D: Images réalisées au MET de nano-baguettes trouvées sur le site de Biga. A-B: Nano-baguettes de type (II) qui ne représentent pas plus de 2 % des baguettes observées (flèche). L'observation en *bright field* (A) montre nettement que ce type de nano-baguettes est constitué par l'empilement de petits volumes formant l'allongement de la fibre. L'observation en *dark field* montre bien que ces volumes sont cristallins et bien individualisés. C-D: Amas de nano-baguettes observées sur des cristaux à structures atypiques, brisés

9.3 Les problèmes liés à l'analyse des nano-baguettes

Ces nano-baguettes ont été observées à la fois au MEB, en conditions normales ainsi qu'en mode basse température et particulièrement au MET ce qui a permis des observations détaillées de ces fibres. La nature même de ces fibres reste sujette à caution, car si on les décrit comme des cristaux de calcite (Borsato et al, 2000), leur nature n'a jamais été réellement étudiée. Comme il est impossible de les isoler, toute détermination de la structure cristallographique par diffraction aux rayons X ne peut qu'être hypothétique. En présence d'amas denses, une analyse EDS révèle la présence de calcium, ce qui dans les contextes dans lesquelles elles sont observées tend à conclure à une nature calcitique de ces objets. Si l'observation de ces nano-baguettes au MET (à 200 kV) ne pose globalement pas de problème, les analyses *in situ* comme la micro-diffraction ou l'EDS engendrent des problèmes de stabilité du matériel (Fig. 9.4.A-D) ou de faisabilité (Fig. 9.5.A-B). En effet, durant ces types d'analyses, le faisceau d'électrons est focalisé induisant une très forte déformation thermique du matériel. Ceci induit au mieux un simple déplacement de la fibre, mais dans la plupart des cas conduit à la destruction plus ou moins complète de la nanofibre. Ceci rend impossible l'obtention d'une analyse fiable, et cela quelle que soit l'intensité de l'effet dû au faisceau. L'analyse en microdiffraction est soumise à l'aléa de l'instabilité du matériau. Pour qu'une analyse en microdiffraction soit complète et non équivoque, on doit pouvoir réaliser cette analyse suivant différents axes de zone (Fig. 9.5.A). Malheureusement, cela est impossible car cette analyse nécessite la focalisation du faisceau d'électrons et une grande rapidité d'exécution pour obtenir ne serait-ce qu'un résultat avant la destruction partielle de la fibre (réalisé systématiquement par le Dr Dadras de l'IMT, Neuchâtel). Dans ces conditions, se placer dans l'orientation de divers axes de zone et analyser de manière systématique est impossible. De même l'analyse *in situ* de la composition chimique du matériel est problématique avec une méthode simple comme l'EDS. En effet, la poire d'interaction est bien supérieure en taille à une nano-baguette (Fig. 9.5.B).

9.4 Conclusions partielles sur la nature de ces nano-baguettes

Les nano-baguettes ont été interprétées comme des germes calcitiques par Borsato et al. (2000), cette interprétation restant toutefois non étayée par des analyses claires. La nature

entre deux lames de verre pour permettre l'observation en transmission. On observe ensemble les deux types de baguettes mentionnées précédemment (C, étoile: type I; flèches: type II) sur des débris du cristal, ces amas peuvent être relativement denses localement (D). E-F: Images réalisées au MEB montrant la densité de nano-baguettes pouvant être observées sur un cristal à structure atypique (E) ou formant une véritable couche dense (F).

A-D: TEM images of nano-rods found at the Biga site. A-B: Type (II) nano-rods (arrow) that represent only 2 % of all the rods observed. Bright field observation (A) clearly shows that this type of nano-rod is composed of stacked volumes which create the elongation of the fiber. Dark field observation shows that all volumes are crystalline and individual. C-D: Mesh of nano-rods observed on atypical crystals, which have been powdered to allow transmission observations. The two types of nano-rods are found together on the crystal fragment (C, Star: type I; Arrows: type II), and this type of mesh can be really dense locally. E-F: SEM image showing the high density of nano-rods, which can be observed on an atypical crystal (E). F: The mesh can form a dense layer locally.

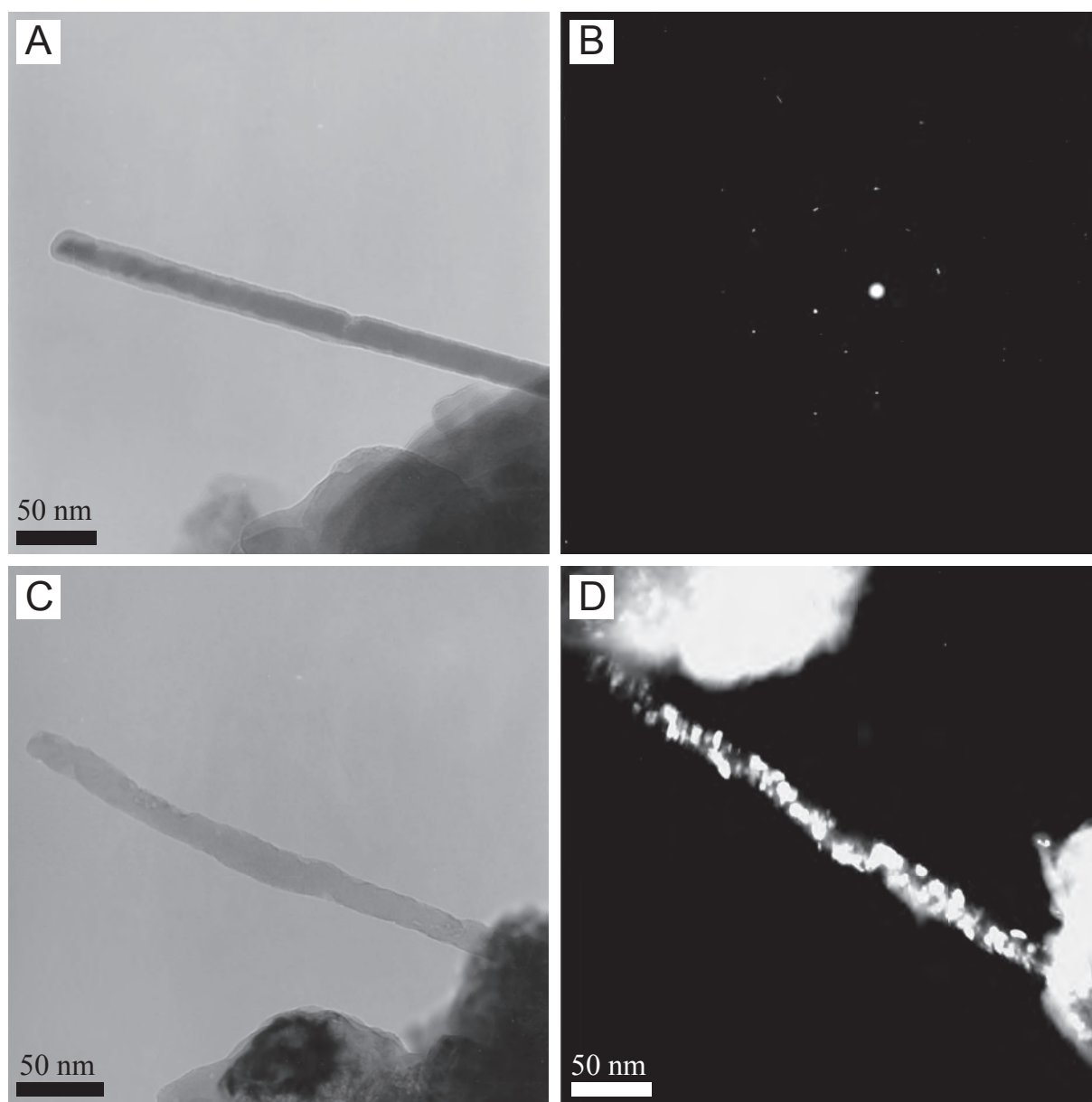


Fig. 9.4 : A-D: Images réalisées au MET montrant les problèmes d'analyse des nano-baguettes liés à l'instabilité de celles-ci sous le faisceau incident. A: Une nano-baguettes dans son aspect initial observée en *bright field*, avant toute analyse et concentration du faisceau lors de ces dernières. B: Micro-diffractogramme de cette même baguette montrant sa nature monocristalline. C: La même baguette observée en *bright field* après l'analyse en micro-diffraction, on constate le changement d'aspect, une nouvelle analyse de cette baguette ne montrerait plus la même figure de diffraction que celle montrée en (B). D: Observation en *dark field* d'une autre baguette ayant été analysée de la même façon, une homogénéité de teinte prouverait la nature monocristalline de la baguette; ce n'est plus le cas ici, on voit plutôt une multitude de nano-cristaux.

A-D: TEM images showing analytical problems of nano-rods related to their instability under the electron beam. A: Initial appearance of a nano-rod in bright field before any analysis and beam focusing. B: Micro-diffractogram of this nano-rod showing its monocrystalline nature. C: The same nano-rod in bright field after the micro-diffraction analysis : note the difference in appearance. Another micro-diffraction analysis will not show the same micro-diffraction pattern as shown in (B). D: Dark field observation of another rod which has been analyzed before. A homogenous shade of the rod indicate the monocrystalline nature but here, there are many nano-crystals.

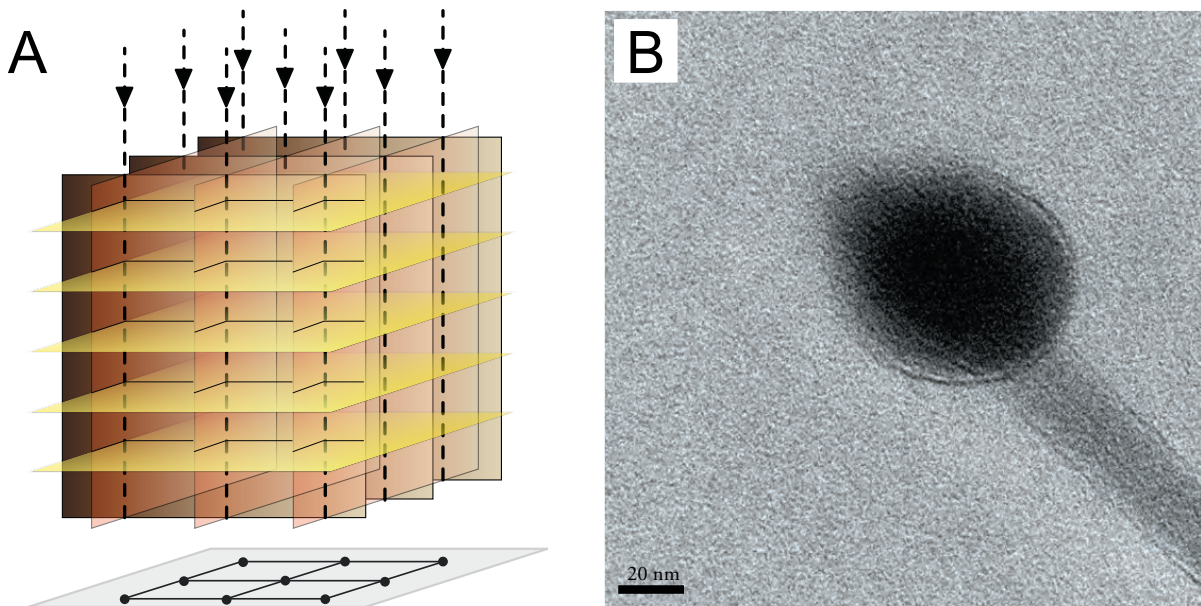


Fig. 9.5 : A: Les plans qui diffractent le faisceau incident possèdent une droite d'intersection commune que l'on nomme axe de zone. Une analyse en diffraction suivant une direction parallèle à cet axe de zone produit un diffractogramme (un réseau de points) caractéristique du réseau cristallin. A partir de cette figure, des paramètres de la maille du cristal peuvent être déterminés, connaissant certaines caractéristiques du MET utilisé. Ici, trois directions de droites issues des intersections entre plans de diffraction permettent en théorie des mesures des paramètres de la maille. Toutefois, dans le cas des nano-baguettes, l'obtention d'une micro-diffraction analysable est exceptionnelle du fait de leur instabilité sous le faisceau focalisé. B: Image réalisée au MET montrant l'intersection de la poire d'interaction de l'analyse EDS avec le film de carbone de la grille du TEM. L'analyse d'une seule baguette et surtout de son enduit (que l'on suspecte d'être carbonaté) ne peut donner un signal suffisant et discriminant pour la détermination des éléments présents.

A: The plane which diffract the incident electron beam have common straight lines which are called "zone axes". Diffraction analysis along these axes provide a diffractogram (a network of points) characteristic of the crystal lattice. From this figure, crystal lattice parameters can be determined from the characteristics of the TEM used. The intersection of 3 diffraction's planes allow (in theory) the unit cell parameter to be measured. However, for the nano-rods, it is exceptional to obtain a single diffractogram suitable for analysis because of their instability under the focused electron beam. B: TEM image showing the intersection of the interaction volume and the carbon film of the TEM grid. The analysis of an only one rod and particularly of its coating (suspected to be a carbonate) cannot provide a sufficient signal for the determination of elements present.

de ces nano-baguettes est difficile à établir du fait de leur taille extrêmement faible rendant leur analyse problématique avec des outils courants. L'origine de ces nano-structures est assez énigmatique, on les observe en grande quantité dans le *moonmilk* (Fig. 9.6. A-B), en présence de filaments organiques qui parfois semblent se décomposer en fibres (Fig. 9.6. C-D). Mais elles semblent également être des constituants de structures tubulaires ramifiées bien organisées (9.1.C-E).

Il est établi qu'elles diffractent et que leur aspect en *dark field* permet de les interpréter comme cristallines car elles présentent toutes les caractéristiques de cristaux; certaines comme le type (I) semblent monocristallines mais on ne peut pas exclure une nature polycristalline également. L'existence d'une multitude de nano-cristaux (Fig. 9.4.D) dont la taille avoisine les 16 nm peut être suspectée, mais il est difficile d'exclure que ce type d'observation n'est pas un artefact. En effet, cette structure est tout à fait typique du résultat d'une instabilité sous le faisceau. Le type (II) quant à lui semble clairement polycristallin. L'observation

en *dark field* montre très clairement que les nano-cristaux empilés sont des cristaux bien individualisés. En résumé, le *moonmilk* qui est en grande partie constitué par ces nano-fibres, a une signature calcitique en diffraction. Ces nano-baguettes sont détruites par l'HCl dans des conditions normales de température, ce qui semble éliminer une nature organique, par exemple la cellulose. Cependant on ne peut exclure que des fibres initialement organiques aient pu être pseudomorphosées en calcite (nous avons vu précédemment le cas des divers tissus du bois dont de grosses fibres de cellulose): là réside le point crucial. De plus, la cellulose peut également diffracter (Müller et al, 1999).

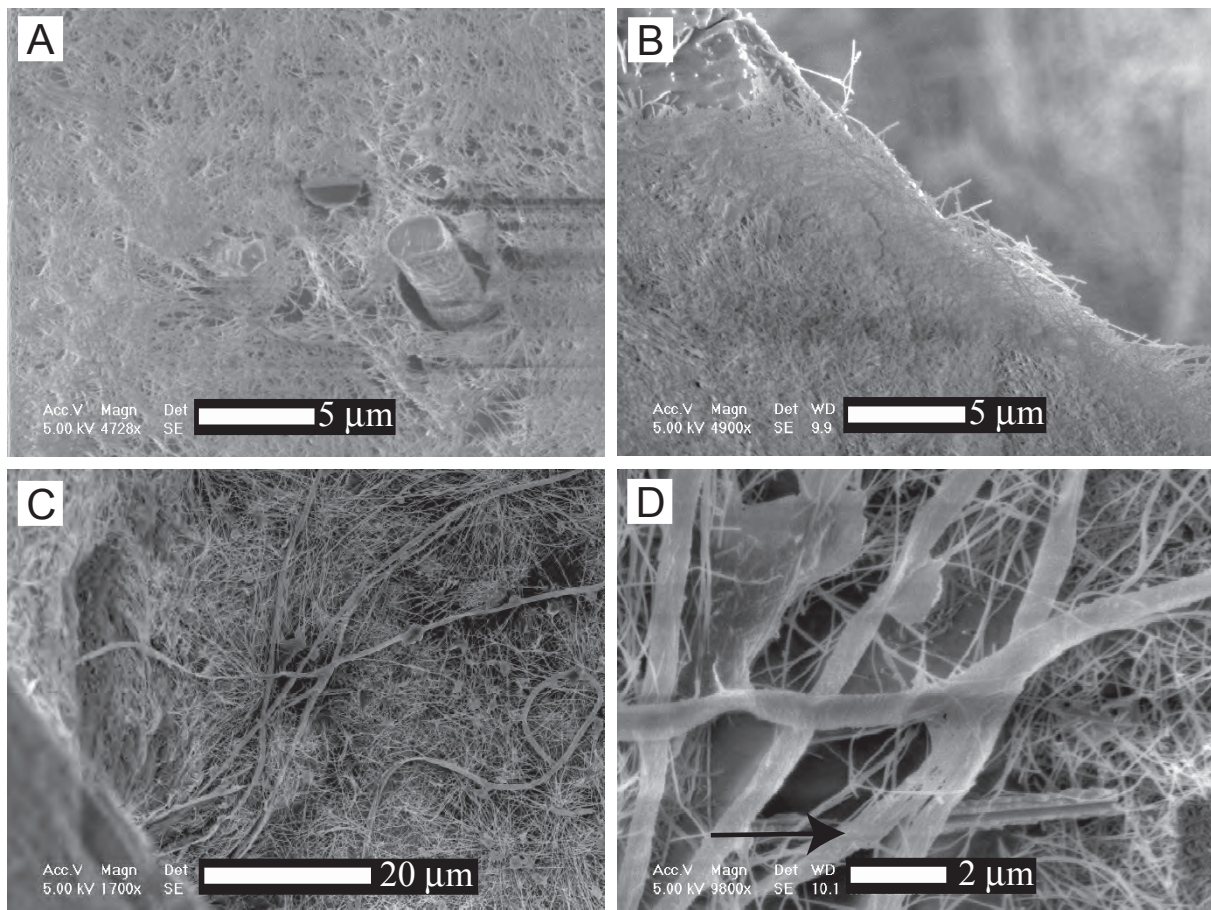


Fig. 9.6 : A-D: Images réalisées au MEB en mode base température d'un échantillon de *moonmilk* provenant de la grotte des Cornettes de Bises (Valais, Suisse). A-B: Noter la remarquable densité que peut représenter les nano-baguettes dans ce type particulier de faciès. C-D: Hormis la NFC, dans le *moonmilk*, on trouve des filaments organiques (champignons ?), dont certains semblent se dégrader sous forme de nano-fibres (D, flèche). On ne peut pas exclure ici que la cryo-préparation ait dégradé le filament, mais le fait est que la dégradation produit des nano-fibres.

A-D: Low Temperature Scanning Electron Microscope (LTSEM) images of a moonmilk sample from a Cornettes de Bises cave (Valais, Switzerland). A-B: Note the high density of the mesh composed by a nano-rod in this facies. C-D: In addition to NFC, in the moonmilk some organic filaments (fungi ?) are found, and some of them seem to decay into nano-rods (D, arrow). We cannot exclude the fact that cryo-preparation of the sample might have partially decayed the filament but it is a fact that decaying has produced nano-rods.

9.5 Protocole de reproduction expérimentale

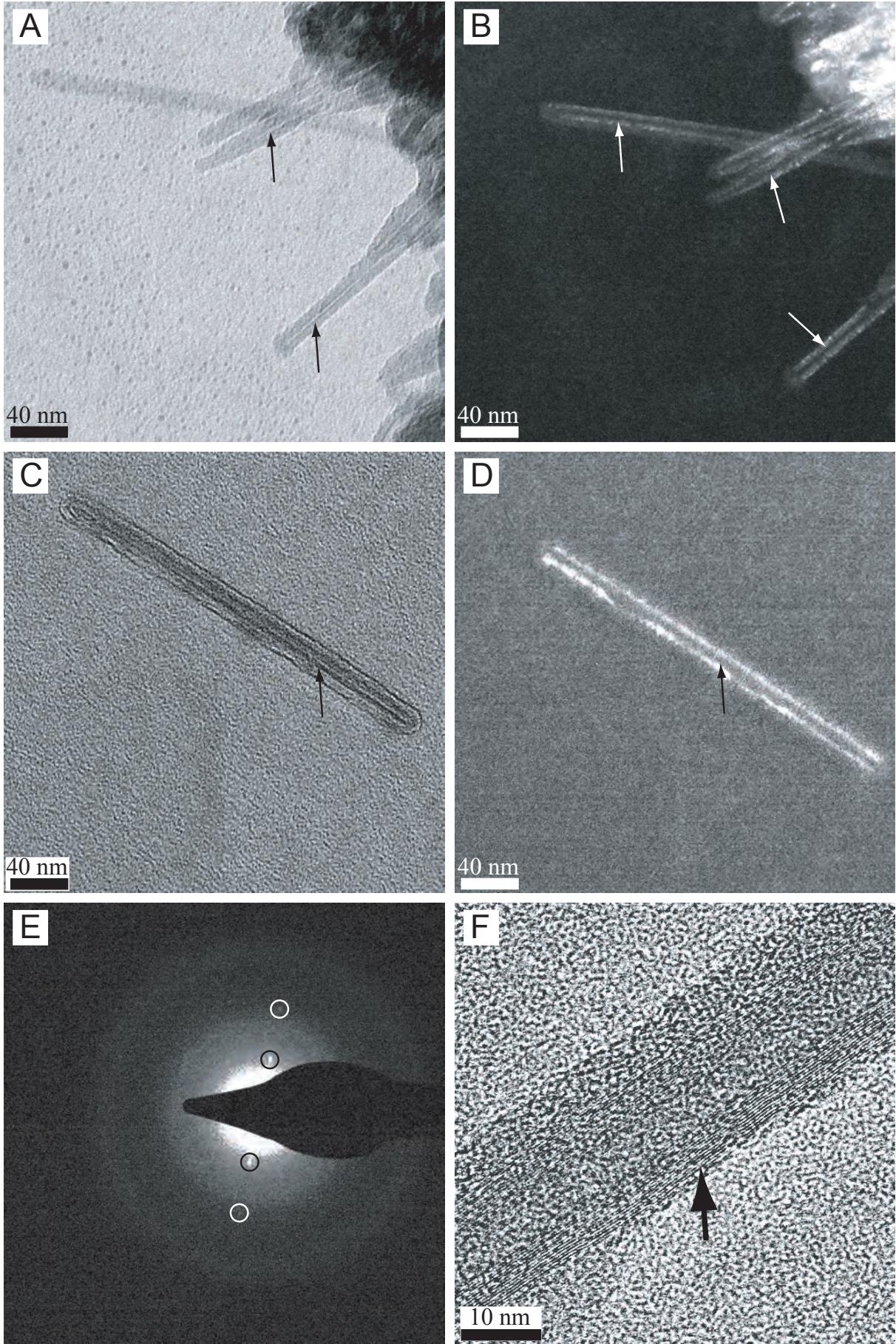
A partir de ce constat et en se fondant sur l'hypothèse que des fibres organiques sont peut-être initialement le support d'une cristallisation carbonatée, un recensement des différentes fibres organiques naturelles les plus répandues et pouvant être présentes à la fois dans le *moonmilk* et dans les sols africains, a été opéré. Composants des parois cellulaires des plantes et des différents organismes filamenteux, ces fibres peuvent être de la cellulose, de la chitine et du chitosane, essentiellement.

Une solution de carbonate de calcium saturée à 50 % vis-à-vis de la calcite est préparée en utilisant des réactifs connus (CaCO_3 Merck pour analyse et eau ultra-pure ayant une conductivité $>18\text{M}\Omega$); quelques millilitres de cette solution sont ajoutés aux différentes fibres dans des eppendorfs. Ensuite, quelques microlitres de ces différents mélanges sont déposés sur des grilles de MET protégées de toute contamination aérienne pendant l'évaporation de la solution. Ainsi différents types de grilles où ont été déposés 5, 15, 20 et 30 μl de ces préparations (en plusieurs étapes pour les quantités les plus importantes car les grilles ne peuvent pas recevoir plus de 10 μl à la fois) ont pu être étudiés. Une comparaison systématique entre les produits naturels et expérimentaux est présentée dans la figure (9.7).

Sur les trois types de nano-baguettes utilisées lors de la tentative de reproduction expérimentale (la cellulose, la chitine et le chitosane), la cellulose est la fibre qui reste la plus comparable au produit naturel. Son *bright field* et son *dark field* sont très similaires à certaines nano-baguettes naturelles. Néanmoins, la chitine et le chitosane restent relativement similaires; on observe bien une structure interne allongée en *bright field*, la chitine seule présentant un *dark field* relativement proche de celui de la cellulose (ceci est moins net pour le chitosane). Toutefois, les longueurs observées correspondent moins au produit naturel, la cellulose étant plus dans la gamme des tailles naturelles observées.

9.6 Conclusions partielles sur la reproduction expérimentale

L'observation montre que certaines nano-baguettes produites expérimentalement ne peuvent virtuellement pas être différenciées des naturelles. Elles possèdent un aspect tout à fait similaire, aussi bien en *bright field* qu'en *dark field*. Néanmoins, les formes dont le *dark field* était homogène n'ont pas été observées expérimentalement, de même que les nano-baguettes de type II. La présence de plans atomiques ordonnés sur les baguettes expérimentales peut être interprétée comme la présence d'un enduit calcitique, mais on ne peut pas non plus exclure la présence de sucres (même si la stabilité sous une accélération de 200 kV ne semble pas possible). Pour tenter de clarifier ce point, et du fait des problèmes d'analyse *in situ*, la EELS a été utilisée dans un premier temps pour définir les éléments présents. Dans un second temps, en fonction des éléments interprétés comme présents, des bornes d'énergies ont été définies pour réaliser une carte du calcium avec la ESI.



9.7 Résultats de la EELS et de la ESI

Le spectre EELS détecte la présence de C, de K ainsi que de Ca (son signal est assez faible) sur un amas de nano-baguettes (Fig. 9.8 ; Fig. 9.9.A). Le carbone est en partie issu du film de la grille du MET, en partie de la baguette. En travaillant avec les bornes d'énergie adéquates, le K et le Ca étant superposés, on peut différencier ces deux éléments et obtenir une carte élémentaire du Ca et du K. La carte du Ca montre nettement que celui-ci se situe en périphérie des nano-baguettes (9.9.B-C), tandis que le K se situe préférentiellement en partie centrale de la baguette (9.9.D). Ces deux cartes ne se superposent pas, donc les deux éléments n'ont pas la même distribution au sein du matériel. De plus, on peut exclure une présence initiale du Ca dans la fibre de cellulose, avant l'apport par la solution car sinon, on s'attendrait à le détecter partout dans la fibre. On peut donc conclure que les fibres de cellulose ont été le support de la précipitation calcitique. Même si les fibres de chitine et de chitosane n'ont pas été analysées, on peut supposer que leur comportement vis-à-vis de la solution saturée de carbonate de calcium est similaire et qu'elles peuvent servir de support à la précipitation d'un enduit calcitique.

9.8 L'analyse du produit naturel

L'analyse des nano-baguettes naturelles avec la EELS et la ESI s'est révélée plus délicate du fait de la difficulté à trouver des amas (assez important en taille) sans présence de poudre de carbonate à proximité (l'échantillon déposé sur les grilles étant le résultat du "broyage" de cristaux de calcite portant ces nano-baguettes). De même que pour les nano-baguettes

Fig. 9.7 : A-E: Images réalisées au MET de nano-baguettes naturelles et expérimentales. A-B: Nano-baguettes naturelles provenant du site de Biga (Côte d'Ivoire). On voit très nettement que ces dernières présentent une structure interne (A, flèches noires ; B, flèches blanches) donnant un aspect tout à fait caractéristique à ces baguettes que ce soit en *bright field* ou en *dark field*. C-D: Nano-baguettes produites expérimentalement par ajout de 50 μl (5 fois 10 μl) du mélange cellulose/solution saturée à 50 % par rapport à CaCO_3 sur une grille de MET. On trouve sur ce type de grille des nano-baguettes tout à fait similaires aux fibres naturelles décrites en (A-B). Elles montrent le même type de structure interne en *bright field* (C, flèches) et en *dark field* (D, flèches) que celle présentées précédemment en A et B. E: Micro-diffractogramme d'une de ces baguettes montrant le caractère diffractant de ces dernières. Il est à noter qu'il est beaucoup plus difficile de réaliser un micro-diffractogramme interprétable pour les nano-baguettes expérimentales. F: Image réalisée au METHR (haute résolution) d'une baguette produite lors de l'expérience montrant des plans atomiques bien ordonnés.

A-E: TEM images showing natural and experimental nano-rods. A-B: Natural nano-rods from the Biga site (Ivory Coast). These rods have internal structures (A, white arrows; B, black arrows) giving a typical pattern to these rods in bright field and dark field. C-D: Experimental nano-rod produced by addition of 50 μl (5 times 10 μl) of the mix of cellulose/solution 50 % saturated in CaCO_3 on a TEM grid. On this type of grid, nano-rods similar to natural ones (A-B) are found. They show the same kind of internal structure in bright field (C, arrows) and dark field (D, arrow) to ones previously presented in A and B. E: Micro-diffractogram of one of these rods showing the fact that these rods can diffract. Note that it is more difficult to obtain an interpretable micro-diffractogram with this kind of rod compared to natural ones. F: HRTEM (high resolution) image of a rod produced during the experiment and showing well organized atomic planes.

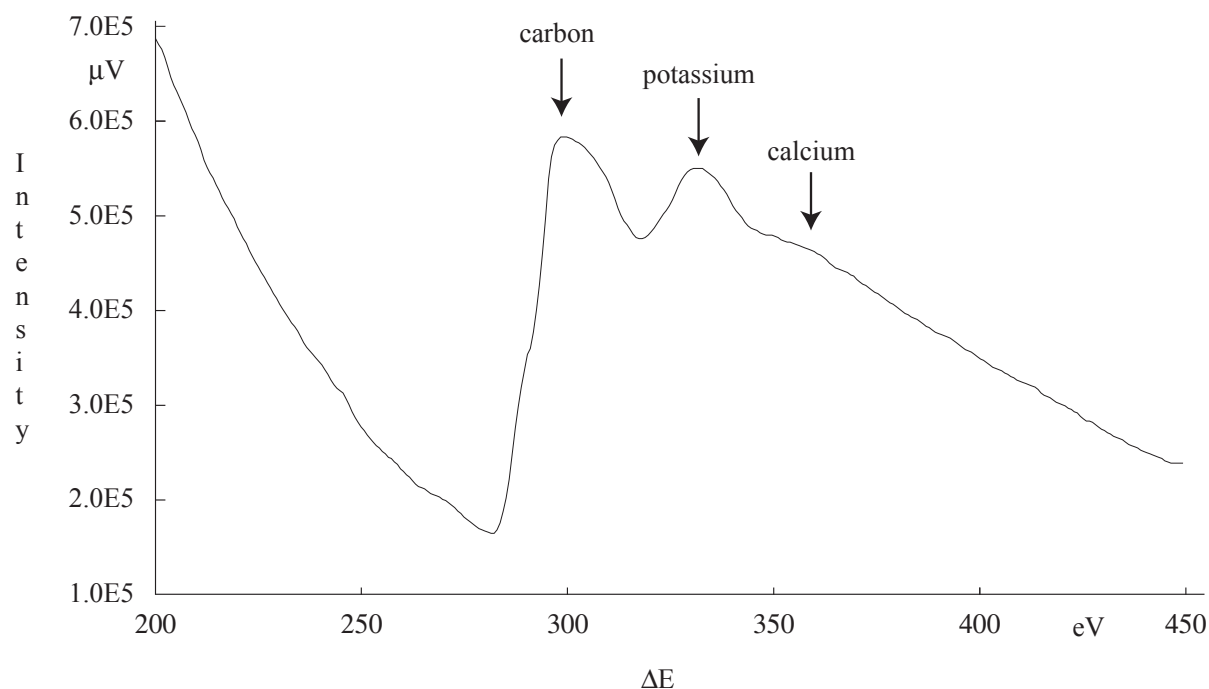


Fig. 9.8 : Spectre EELS d'un amas de baguettes produites expérimentalement montrant trois pics interprétés comme ceux du carbone, du potassium et du calcium. Les pics du K et du Ca sont théoriquement chevauchants et donc sur ce spectre se surimposent, y compris avec celui du C. Une déconvolution des pics permet de définir l'intervalle d'énergie exclusivement représentatif du signal du calcium en excluant celui du potassium.

EELS spectrum of a nano-rod pile produced during experiment showing 3 peaks interpreted as those of carbon, potassium and calcium. K and Ca peaks are theoretically overlapping and so, seem to be added to the C background spectrum. Peak deconvolution allows the definition of a range of energy exclusively related to Ca, excluding those of K.

expérimentales un problème de superposition de pics correspondant à divers éléments a été observé sur les spectres EELS. Si la présence de calcium semble avoir été détectée sur ces nano-fibres, dans l'impossibilité de déterminer les autres éléments présents, nous n'avons pas été en mesure de déconvoluer le signal brut. Nous ne pouvons affirmer sans ambiguïté la présence du calcium dans ces nano-baguettes et par conséquent aucune carte de présence n'a pu être réalisée. Des analyses supplémentaires devront être réalisées pour clore cette étude.

9.9 Discussion

La reproduction expérimentale des nano-baguettes offre une hypothèse fondée sur la nature de ces fibres. Certaines baguettes naturelles et expérimentales ne peuvent virtuellement pas être différenciées d'après nos observations au MET. On peut donc supposer que ces fibres extrêmement flexibles sont initialement des fibres organiques sur lesquelles précipite la calcite. Néanmoins, nous n'avons pas observé de nano-baguettes dont le caractère pétrographique coïncide avec certaines autres fibres naturelles telles que présentées dans la figure (9.2.A). Les analyses réalisées par la EELS et la ESI ont permis de montrer la présence de calcium en périphérie des baguettes expérimentales ce qui permet de postuler la précipitation de calcite sur ce support. Les mêmes types d'analyses réalisées sur des nano-baguettes naturelles

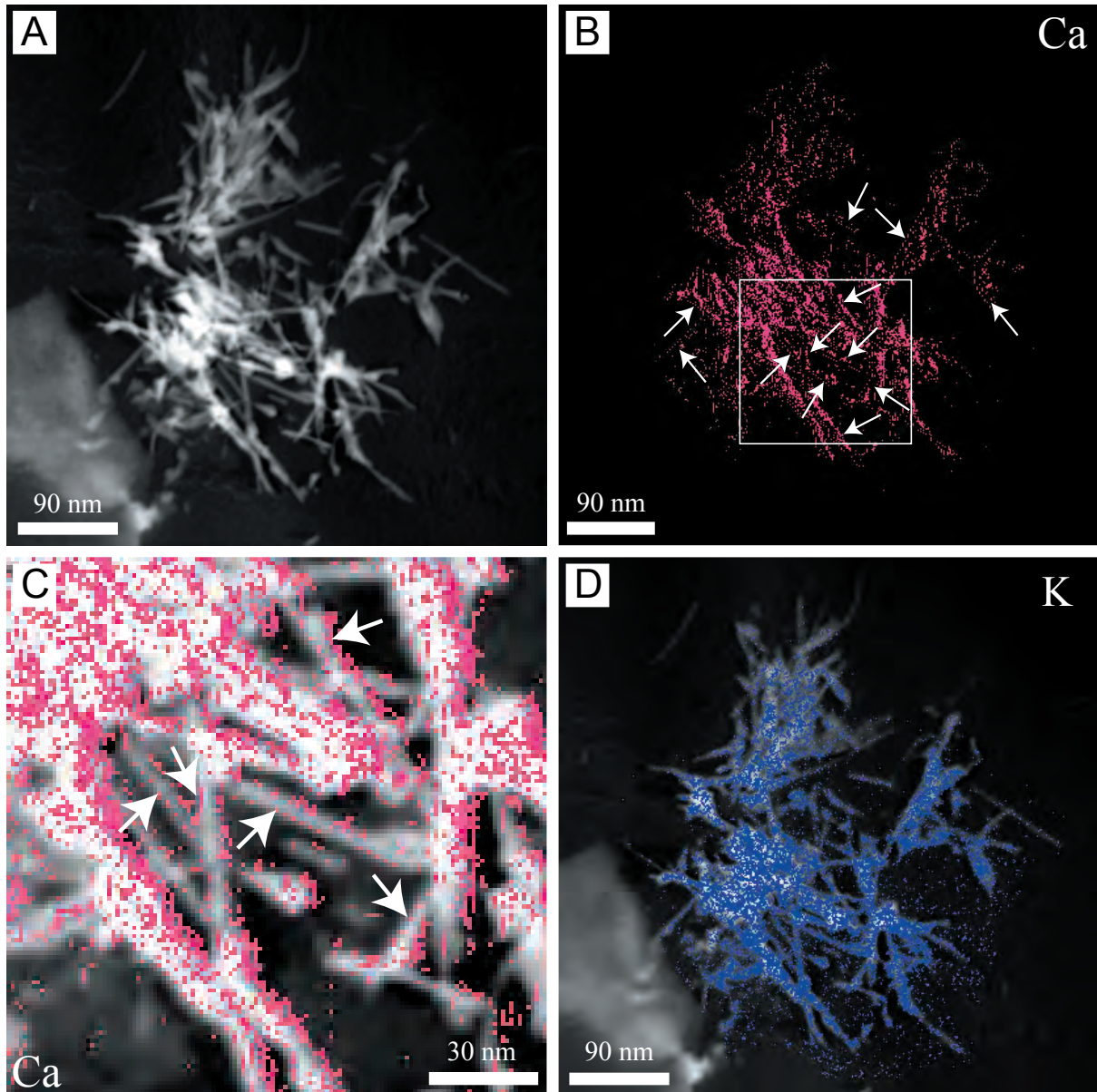


Fig. 9.9 : A: Image réalisée au MET en mode inélastique de l'amas de nano-baguettes dont le spectre EELS est présenté dans la figure (9.8). B: Carte élémentaire du Ca (couleur fuchsia) . Notez que le calcium est préférentiellement détecté en périphérie des baguettes, formant des alignements parallèles de points (flèches), plus ou moins rectilignes suivant la morphologie de la baguette. C: Détail de la carte précédente montrant clairement la présence du Ca en périphéries des nano-baguettes (flèches). D: La carte du K (couleur bleue) superposée sur l'image (A) montre que celui-ci a un comportement différent de celui du calcium, qui n'est pas corrélé. On peut donc conclure que la carte du Ca porte une information valide.

A: Inelastic scattering TEM image of a nano-rod pile whose EELS spectrum is presented in the figure (9.8). B: Ca elemental map (in fuchsia). Note that Ca is preferentially detected in nano-rod's edges forming alignment of parallel points (arrows) which are more or less straight, following the rod morphology. C: Close-up of the previous map showing the presence of Ca at the edge of nano-rods (arrows). D: K elemental map (in blue) superimposed on (A) image showing the different behaviors between K and Ca which are not correlated. We can conclude that Ca elemental map is valid.

n'ont pas permis d'aboutir à un résultat permettant une comparaison avec ses analogues expérimentaux.

Toutefois, le fait d'observer des baguettes avec des structures internes visibles ou disparues (en laissant un vide) permet d'avancer une hypothèse plus globale quant à la formation de l'ensemble des nano-baguettes de type I. Soit ces baguettes (Fig. 9.2.A) sont le résultat d'une pseudomorphose calcitique d'une fibre organique; soit elles sont dans un premier temps le support d'une précipitation de calcite, suivit par la dégradation de la cellulose, puis le "comblement" par une seconde phase de calcite. Ce scénario quant à leur genèse peut sans doute être généralisé pour d'autres types de fibre naturelle. Les nano-baguettes de type II sont quant à elles exclues de ce type d'interprétation et restent énigmatiques quant à leur origine.

Discussion générale

Chapitre 10 Discussion générale

Deux sujets seront ici abordés. Premièrement, la quantification du puits de carbone que constitue l'iroko sera discutée au regard des facteurs influençant le fonctionnement de cet écosystème. La quantification de cette accumulation réalisée initialement par Cailleau et al. (2004) après la campagne de terrain en Côte d'Ivoire (2002) et développé dans le Chapitre 5 sera examiné en fonction des propriétés intrinsèques des sols. Ces dernières ont été analysées suite à la fin des campagnes de terrain effectuées en Afrique (comprenant celle du Cameroun en 2004). Deuxièmement, une synthèse globale de l'impact du facteur biologique dans les différents contextes étudiés dans ce travail sera réalisée. Son impact en tant que moteur de la minéralisation dans le cas de la transformation de l'oxalate en carbonate ou induisant la précipitation de carbonate de calcium sera également discuté.

10.1 L'importance du puits de carbone "iroko" et les quantifications

Si l'écosystème iroko a clairement été défini comme un puits de carbone, son importance doit encore être discutée au regard de données nouvelles. La quantification de l'accumulation de carbonate dans le sol autour de l'iroko du site de Biga a permis de mettre en évidence qu'environ 998 kg de carbone sont piégés (Cailleau et al. 2004). Cette valeur a été calculée dans un souci de ne pas surestimer ce bilan. Dans cette optique, la souche de l'arbre en partie carbonatée, les blocs de carbonate trouvés dans les fosses pédologiques n'ont pas été pris en compte. Il en est de même de la matière organique qui n'est pas du tout prise en considération quels que soient les calculs. La quantification effectuée pour le site de Mankaré, qui elle, tient compte des blocs de carbonate, estime à 221 kg le carbone piégé sous forme de carbonate. On reste donc dans le même ordre de grandeur pour ces deux sites. En revanche, aucune accumulation significative de carbonate n'a été observée dans les sols du site de Machatoum. Sur ce dernier site, les carbonates induits par l'iroko sont présents mais uniquement observés sur le tronc (Fig. 4.1.A).

Une question se pose, l'iroko de Machatoum est-il un des arbres non minéralisés dont les forestiers soulignent l'existence ? Il faut prendre en compte à la fois le fait que ces derniers ne s'intéressent pas au sol, mais également qu'ils peuvent désigner comme non minéralisé un arbre en apparence sain, mais dont le sol lui, peut être minéralisé. Ceci est difficilement quantifiable ; en conséquence, par souci de ne pas faire de surestimation, la prise en compte d'une fourchette prenant en compte 100% d'arbres minéralisés à 1/3 des irokos minéralisés (et donc, image d'une accumulation conséquente de carbonate dans le sol) reste une précaution raisonnable.

Au regard de l'accumulation de carbonate quantifiée sur le site de Mankaré, un fait se dégage. Si le site de Mankaré présente des accumulations beaucoup moins importantes que celui de Biga, avec 4 à 5 fois moins de carbonate, on reste encore dans le même ordre de grandeur. De même, il faut mentionner une nouvelle fois que Carozzi (1967) a décrit de véritables dalles de grès à ciment carbonaté pouvant atteindre 1.5 m de long. Ce type d'objet

n'a pas été observé sur les sites étudiés, ce qui suggère que des arbres doivent être en mesure d'accumuler de plus grandes masses que celles observées à Biga. On peut donc conclure que fonder notre quantification sur les valeurs déduites du site de Biga ne devrait pas changer l'ordre de grandeur final.

La validité de la généralisation de notre estimation à l'ensemble de la forêt de Côte d'Ivoire comme de l'Afrique reste le point le plus difficile à estimer. A cela deux raisons :

- la répartition exacte de l'iroko n'est pas documentée. Nos estimations sur sa répartition reposent surtout sur le relevé des pays exportant du bois d'iroko, sur la présence d'iroko dans certains parcs nationaux et en croisant ces données avec l'habitat connu de l'iroko. Néanmoins, la répartition des irokos dépasse de loin les seules forêts tropicales (primaires ou non). Les savanes arborées, telles que celle explorée à Kani, en contiennent. On peut donc estimer qu'on ne prend pas en compte toute la répartition de ce genre. Ceci est donc encore en accord avec notre volonté de ne rien surestimer ;
- l'estimation du déficit de séquestration de C par an suite à la destruction de la forêt ivoirienne repose également sur des données fragmentaires à la fois pour les superficies originelles et actuelles de la forêt, mais aussi sur la répartition exacte de l'iroko.

Au regard des différences d'accumulation de carbonate observées sur les différents sites et des précautions prises pour ne rien surestimer, on peut conclure que nos calculs restent tout à fait valides. Nous pouvons donc conclure à l'existence d'**un puits de carbone non négligeable** autre que la matière organique sur les continents, contrairement aux synthèses de l'*IPCC* (Prentice et al. 2001) qui ne tenaient compte que de cette dernière. Le déficit de séquestration de carbone liée aux accumulations de carbonate dans les sols autour des iroko, en comparant la superficie de la forêt originelle et celle de la forêt actuelle, est estimé entre $1.2 \cdot 10^{-4}$ à $2.6 \cdot 10^{-3}$ PgC/an. Cette valeur est à comparer avec des équivalents marins (pris en compte par l'*IPCC*). Hormis les zones marines profondes où précipitent des carbonates, les différents types d'environnements (récifs coralliens, plateaux continentaux, etc.) pris en compte par Milliman (1993), accumuleraient chacun environ $1 \cdot 10^{-2}$ PgC/an. Le puits de carbone lié à l'iroko extrapolé à l'ensemble de l'Afrique tropicale, avec une valeur plus basse de seulement 1 à 2 ordres de grandeur doit donc nécessairement être pris en compte. Ceci est d'autant plus vrai qu'on n'a ici pris en compte qu'un genre (i.e. *Milicia*) alors que les plantes présentant des cristaux d'oxalate dans leur tissus sont légions (Braissant, 2005). On peut aisément penser que le cas de l'iroko, aussi exceptionnel soit-il par l'ampleur de l'accumulation de carbonate qu'il induit, ne doit pas être unique.

Dans cet ordre d'idée, l'étude des cactus menée ici a montré que, si de fortes accumulations n'avaient pas été décelées dans les sols sous *Opuntia*, la transformation de l'oxalate en carbonate était bien effective là encore. Des traces de carbonate ont été observées en lame mince (Fig. 6.6), confirmant les observations de Garvie (2003) dans les sols sous des *Carnegiea gigantea* en décomposition. Les mesures de pH et la teneur en acide oxalique montrent également l'influence du cactus et de la transformation de l'oxalate en carbonate sur les propriétés du sol.

Ce travail complémentaire confirme le potentiel de la transformation de l'oxalate en carbonate comme puits de carbone potentiel. Seules les conditions locales liées à l'apport du calcium

définissent donc l'existence d'un puits de carbone (Elbersen et al. 1999). L'importance de ce dernier varie suivant divers facteurs dont l'un des principaux est la nature de la plante fournissant l'oxalate, suivi des facteurs intrinsèques au sol qui peuvent venir inhiber ou favoriser l'accumulation de carbonate. Des agents peuvent ensuite accélérer le cycle de transformation, c'est le rôle déduit de l'action des termites pour le cas de l'iroko. Au regard des données apportées par ce travail, une investigation à plus large spectre devrait être menée pour rechercher, soit d'autres types de plantes susceptibles d'induire des accumulations de carbonate dans les sols, soit de trouver d'autres molécules que l'oxalate susceptibles d'être un moteur pour l'accumulation de carbonate, telles que citrate et acetate (Braissant, 2005).

10.2 L'importance de la biologie dans l'écosystème iroko, son impact sur les sols africains

Tout au long de ce travail nous avons utilisé le terme "d'écosystème iroko" en évoquant l'objet de notre étude. Mais a-t-on vraiment affaire à un écosystème au sens écologique du terme ?

Rappel sur la notion d'écosystème.

Un écosystème répond à l'intégration de nombreux concepts. Au début de ce siècle les botanistes faisaient intervenir la notion d'homogénéité spatiale, définissant des limites physiques à cet ensemble, tel un lac ou une forêt par exemple; pour les zoologues, ce sont les fonctions trophiques de ce système qui permettent de le définir. Chacun possède donc un critère permettant de caractériser un écosystème. Ces deux visions ont été finalement unifiées par Tansley (1935). Pour ce dernier, cette conception fondamentale peut se définir comme un système complet dans le sens physique du terme, avec une limite que l'on peut déterminer selon un critère défini par l'observateur. On y trouve des "objets" qui interagissent entre eux, des organismes, mais également des facteurs physiques qui font que l'on peut parler d'environnement. Dans ce système, il y a des échanges, des interactions, entre l'organique et l'inorganique, ainsi que des flux d'énergie et de matière à la fois dans le système mais également entrant et sortant de ce dernier. Enfin, ces écosystèmes peuvent avoir des tailles variées. C'est avec les travaux de Lindeman (1942) que cette notion d'écosystème définie par Tansley (1935) a vraiment été caractérisée par le vecteur énergie, c'est-à-dire telle qu'actuellement on la conçoit.

Alors peut-on considérer l'objet d'étude qu'est l'iroko comme un écosystème ?

Premièrement, nous lui avons attribué des limites. En effet, considérant "l'auréole" de carbonate dans les sols autour de l'iroko, celle-ci correspond globalement à la projection de la couronne foliaire au sol. En cela, on peut considérer notre définition de cette limite comme pertinente vis-à-vis de ce système. La dimension de ce système est certes petite à l'échelle d'une mer par exemple, mais comme on l'a vu, la taille n'est pas un critère restrictif. Les fonctions trophiques sont bien présentes dans ce système via l'iroko et sa photosynthèse, l'action des termites, des champignons saprophytiques ou des bactéries oxalotrophes. Ces organismes pour certains interagissent entre eux (e.g. l'Iroko et les termites). Les flux de

matière ou d'énergie dans le système, entrant ou sortant de ce dernier, existent bien. On pourrait citer la lumière permettant la photosynthèse, que l'on considère comme entrant dans le système, ou les écoulements comme flux sortants, etc. Enfin, nous sommes bien en présence d'un système où intervient le facteur inorganique, car la roche-mère, et le sol dans sa partie minérale, en sont les représentants. En conclusion, comme on le voit, le système iroko est bien un écosystème au sens de la définition actuelle.

L'objet de cette section est de montrer que le facteur biologique est impliqué à tous les stades de fonctionnement du système que nous avons observé (Fig. 10.1). C'est la raison pour laquelle, nous parlons en termes "d'écosystème iroko". Impliquant les divers règnes du vivant, plantes, animaux, champignons et procaryotes, l'écosystème présenté dans cette étude ne peut exister, mais également modifier son environnement avec l'ampleur constatée localement, que par l'interaction des divers organismes ou acteurs de l'écosystème.

10.2.1 Le sol "hôte"

Avant de s'intéresser aux implications de la biologie dans le système étudié, il est important d'examiner l'implication du sol initialement présent avant la croissance de l'iroko. Des facteurs sont clairement limitants, voire totalement inhibiteurs, de l'accumulation de carbonate dans les sols.

Il existe une relation très nette entre la teneur en argiles et l'accumulation de CaCO_3 . Dans des sols tels que ceux de Biga, des mouvements *per descensum* ont été mis en évidence en étudiant le comportement entre la teneur en carbone pyrolysable (image du flux d'oxalate) et celle de la teneur en carbonate (Fig. 3.12). Dans ces sols, la teneur en argiles est peu élevée (environ 10 %). Ils ne présentent pas de barrière de perméabilité telle qu'on en voit sur le site de Machatoum où, dans les 30 premiers centimètres, une teneur en argiles de plus de 80 % a été mesurée (Fig. 3.3 ; Fig. 3.4). La teneur en oxalate mesurée sur ce site suggère qu'il n'y a pas ou très peu d'infiltration dans le sol, et qu'au regard de la morphologie du site, situé en rupture de pente, on est plutôt en présence de mouvements latéraux. Ce lessivage empêcherait toute accumulation locale de carbonate. Toutefois, l'influence de l'iroko est encore visible au niveau du pH, même si celui-ci n'est pas aussi élevé que sur d'autres sites. On peut donc en résumé dire qu'une teneur élevée en argiles est fortement inhibitrice ; la morphologie du site serait également un facteur limitant, les sites en pente permettant un lessivage plus ou moins important du système.

10.2.2 L'iroko

Premièrement, sans la présence de l'iroko, et donc d'un apport conséquent d'oxalate, aucune accumulation de carbonate n'est possible comme le démontrent les figures (3.1 ; 3.2). Il y a un net clivage entre les propriétés chimiques des sols sous l'influence de l'iroko et celles des sols proches, mais hors de leur influence.

Le facteur biologique dans l'accumulation de carbonate dans les sols étudiés est présent à tous les stades que nous avons observés. Premièrement, l'accumulation de carbonate de calcium dans ces sols n'est possible que par l'existence de l'iroko qui fournit une très grande quantité d'oxalate, élément indispensable à la transformation des conditions chimiques du

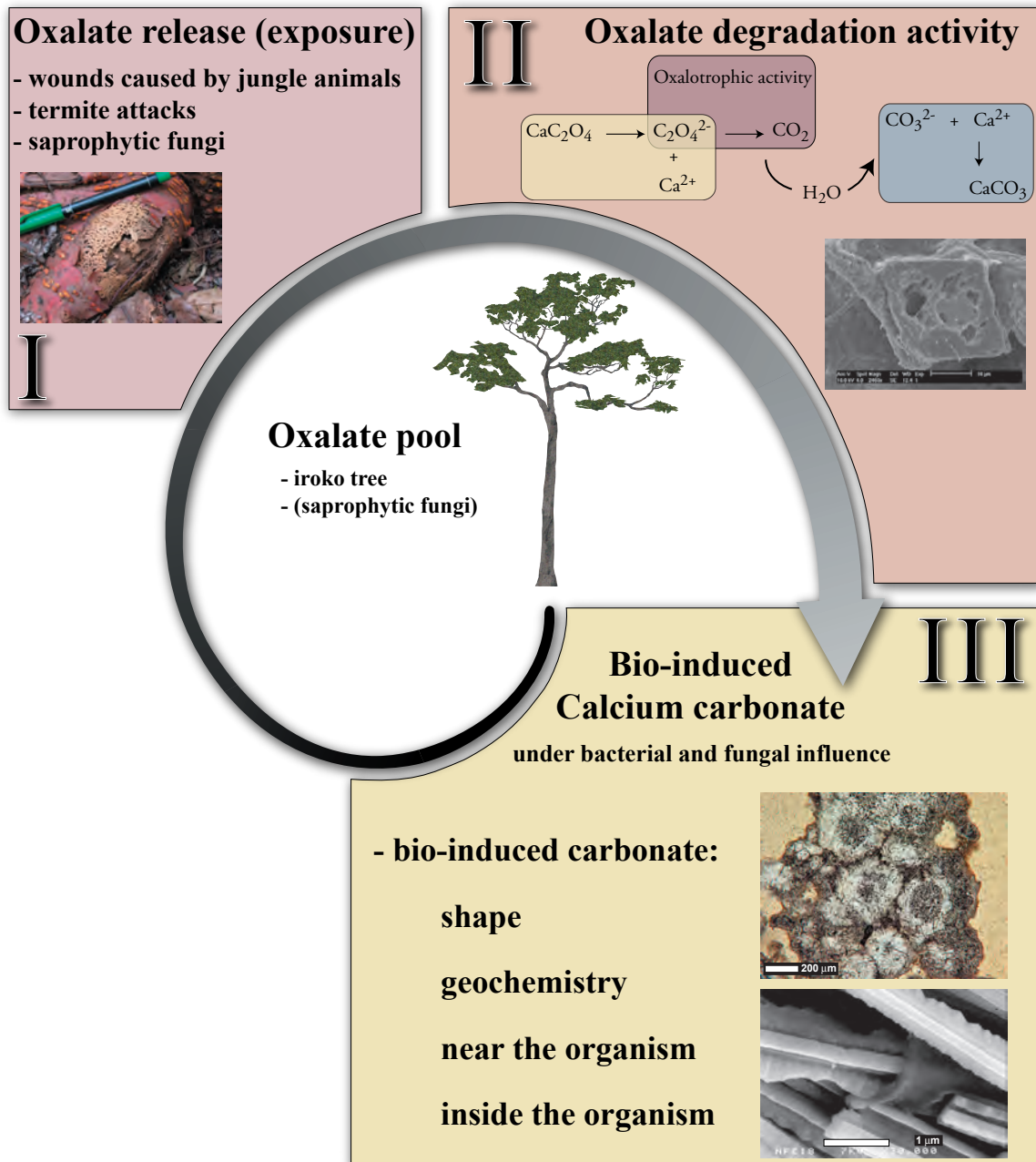


Fig. 10.1: Schéma synthétique montrant l'implication des agents biologiques à tous les stades du fonctionnement de l'écosystème iroko.

Sketch showing the different factors involved in the carbonate accumulation in the soils under iroko trees.

sol (pH essentiellement) mais également à la production d'ions carbonate.

10.2.3 La libération de l'oxalate

Avant d'être consommé, l'oxalate est libéré de son hôte, ou tout au moins exposé à une dégradation dans le milieu par l'intermédiaire de divers agents biologiques. Les blessures causées par des animaux de la jungle (buffles et éléphants ont été mentionnés par Carozzi, 1967) peuvent exposer les tissus porteurs de cristaux d'oxalate, et par conséquent les cristaux

eux-même. De même, les attaques de termites en présence de champignons saprophytiques permettent d'accélérer la libération des cristaux d'oxalate dans le sol.

10.2.4 La consommation de l'oxalate par les bactéries oxalotrophes

Considérant la transformation de l'oxalate en carbonate comme moteur de l'accumulation, la présence de bactéries oxalotrophes est nécessaire dans les sols (Verrecchia, 1990 ; Braissant et al., 2002). Leur présence dans les sols sous les irokos a clairement été établie (Braissant et al., 2004 ; Braissant, 2005). Les conséquences sont multiples pour la chimie du sol. On observe expérimentalement une hausse du pH, ce qui est conforme aux observations de terrain comme nous l'avons mentionné précédemment. La consommation de l'oxalate s'accompagne également de la formation d'ions carbonate dans le sol. Ces derniers sont soit pompés par l'arbre via son système racinaire, soit précipités sous forme de carbonate de calcium essentiellement.

Cette transformation de l'oxalate induit également une forte empreinte sur la signature isotopique des carbonates dans le sol. L'oxalate avec un $\delta^{13}\text{C}$ moyen de -18.7 ± 1.3 ‰ aboutit après transformation en carbonate à un $\delta^{13}\text{C}$ moyen de -7.05 ± 1.64 ‰. Si un certain rééquilibrage avec le dioxyde de carbone de l'atmosphère du sol ne doit pas être écarté durant le passage en phase aqueuse, un fractionnement d'environ 11 ‰ est constaté lors de la consommation de l'oxalate par les bactéries. L'appauvrissement en ^{13}C est probable dans l'écosystème iroko car les données expérimentales de la transformation oxalate/carbonate montrent un fractionnement de seulement 4.5 ‰ (Braissant, 2005). Toutefois, la signature isotopique de l'oxalate industriel utilisé pour ces expériences étant bien moins négative. Le fractionnement induit est peut-être moins fort que supposé, les règles du fractionnement par les bactéries n'étant pas connues ici.

10.2.5 Les carbonates biologiquement induits

Les textures spécifiques à l'écosystème iroko

Ce point se fonde sur l'étude pétrographique et géochimique mené lors de la thèse. Premièrement, les phases carbonatées observées sur le site de Biga ont fait l'objet d'une étude préliminaire dont certains enseignements peuvent être tirés. La comparaison effectuée entre certaines textures calcitiques naturelles et expérimentales permet à la fois d'identifier l'influence de certains organismes sur la précipitation de carbonate mais également d'avancer une hypothèse sur le processus de genèse de ce dernier. Les nombreuses inclusions sombres parfois organisées en laminations grossières, dont certaines sont nettement composées de petits bâtonnets, sont interprétées comme d'origine bactérienne, de par leur taille (de 2 à 4 μm de long et 0.5 μm de diamètre) et la comparaison avec les bactéries observées dans les sécrétions suintant du tronc de l'iroko. Leur origine bactérienne établie, la comparaison avec la carbonatogenèse expérimentale d'hémisphérulites présentant un "cœur" riche en inclusions a permis d'établir d'un modèle de formation. L'observation de cette texture d'origine expérimentale a permis de définir que ce "cœur" riche en inclusion est le résultat de la précipitation de carbonate au sein de la colonie bactérienne. Cette précipitation est due au dégagement de CO_2 issue du métabolisme de la colonie. Si dans le cas des hémisphérulites,

l'apparition d'une auréole de calcite limpide est expliquée par une simple migration du flux de dioxyde de carbone sur le pourtour de la colonie suite à la cimentation centrale, dans le cas des sphérulites naturelles, du fait de leur morphologie en 3 dimensions, un autre processus peut être invoqué. Si la colonie tend à ne plus croître (ce qui est fréquent quand sa taille a dépassé une certaine limite), son métabolisme chute et le dégazage de CO₂ également. La cimentation rattrape ainsi la bordure de la colonie. Pour expliquer la formation de l'auréole de calcite limpide, on est obligé d'invoquer une simple épitaxie à partir des fluides du sol. Les formes indentées ou non observées pourraient être le résultat, soit d'une contrainte morphologique locale (moulage de la forme), soit d'une croissance libre plus ou moins rapide induisant des formes subautomorphes ou automorphes (terminaisons indentées).

D'autres types de texture ont été étudiés à la fois pétrographiquement et par analyses ponctuelles. Par le fait que certaines textures sont quasi systématiquement observées, associées à des formes organiques identifiées comme des champignons ou des bactéries, on peut postuler une certaine influence de ces derniers sur la précipitation de ces phases. Si on imagine une influence des organismes sur les morphologies des cristaux (sphérules au contact des filaments fongiques, ou grandes plages sparitiques riches en inclusions bactériennes), l'analyse chimique ponctuelle de ces textures montre également des différences au niveau des éléments en traces. On a ainsi pu observer une plus grande présence de certains métaux comme le Mg, Sr et Ba par exemple dans la texture dont on postule qu'elle subit l'influence des champignons. Au regard de l'affinité de ces derniers pour les métaux, notre hypothèse de départ n'en est que plus probable. L'aspect géochimique isotopique du carbone de ces deux textures n'est pas non plus sans intérêt au regard de la différence moyenne de 3 ‰ constatée (Fig. 7.12). Si aucune explication n'est ici avancée du fait du manque de données, on peut toutefois soupçonner une différence de processus durant la précipitation. Il est difficile toutefois d'exclure définitivement une simple variation de la composition des fluides et l'établissement d'organismes différents suite à l'influence d'un milieu changeant. Le cas de la texture sphérulitique au contact des champignons est typique. Les champignons se sont-ils développés dans un milieu qui leur est favorable (en terme de compétition) par rapport aux bactéries ou ont-ils modifié leur environnement direct ? Le fait que la morphologie puisse être induite par les organismes suggère tout de même qu'une influence sur la géochimie soit possible.

L'origine biogène de la NFC

Une autre forme de calcite observée sur les sites de Biga et de Mankaré a fait l'objet d'une étude approfondie. Il s'agit de la calcite en aiguilles ("*needle fiber calcite*" ou NFC), une des formes de la calcite les plus ubiquistes en milieu continental vadose. Sujet controversé depuis quelques décennies, son origine a tantôt été attribuée à des processus purement physicochimiques, tantôt biogènes.

L'idée selon laquelle la morphologie en aiguilles est le résultat d'une croissance rapide suite à un fort taux d'évaporation est rejetée par nos analyses isotopiques. Ceci est en accord avec les travaux de Strong et al. (1992) qui notaient une signature isotopique de l'oxygène avec un $\delta^{18}\text{O}$ négatif contraire à une origine évaporatoire. La formation d'aiguilles de calcite est

ici interprétée comme le résultat d'une croissance cristalline dans un manchon organique contraignant l'allongement (Fig. 8.3.D). Ceci permet d'expliquer un des points cruciaux de l'analyse de cette texture, i.e. la divergence entre l'axe c (axe de croissance préférentiel de la calcite) et l'allongement de l'aiguille. Si une direction est conditionnée pour un germe de calcite (e.g. par implication des groupes carboxyles de la paroi du manchon), la propagation de cette orientation pourrait créer la divergence systématique de 30 à 50 °, mesurée par de nombreux auteurs.

Cette étude, réalisée sur 11 sites différents a permis d'établir une large revue morphologique de la NFC. D'après cet inventaire, l'évolution morphologique depuis des formes simples vers de plus évoluées de ces aiguilles, suggérée par Jones et Kahle (1993) ainsi que Verrecchia et Verrecchia (1994) semble être confirmée. L'évolution se déroulerait suivant deux logiques : d'une part, une juxtaposition de formes simple (un simple cylindre de calcite, lisse) le plus souvent accolés deux à deux, et pouvant atteindre plus de dix formes simples ; d'autre part, une forme lisse, simple ou issue de juxtapositions plus ou moins nombreuses évoluant par épitaxie vers des formes en dents-de-scie typiques.

Il est également possible de reprendre la nomenclature de ces aiguilles de calcium, en unifiant certaines formes décrites tels que les *whisker crystals*, les *rhomb chains* par exemple, au sein d'une même voie de genèse. D'après nos observations, ces termes doivent s'appliquer à des aiguilles de calcite subissant une épitaxie "classique", i.e. en l'absence d'une contrainte morphologique. Ceci est corroboré par les analyses isotopiques du carbone, le signal originel de la signature isotopique étant masqué par la diagenèse.

La signature isotopique du carbone de la calcite est relativement négative, et toujours inférieure ou égale à la signature de la roche mère carbonatée. Sur les 9 sites où un échantillonnage sélectif et donc une analyse de la seule NFC a été possible, 7 d'entre eux montrent des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ pour la NFC beaucoup plus négatives que celles de la roche mère. On peut interpréter ce décalage vers des valeurs négatives par un fractionnement biologique. On exclut une possible influence du CO_2 atmosphérique du sol, car pour le site de la Côte d'Ivoire un carbonate pourtant biogène prélevé à la même profondeur montre une valeur plus haute de 5.3 ‰. Des deux hypothèses s'affrontant, seule celle de l'origine biogène ne souffre d'aucune exception, contrairement à l'hypothèse purement physicochimique. La calcite en aiguille est donc interprétée comme biogène, précipitant dans un manchon organique dont la nature fongique est suspectée mais non déterminée en l'absence de reproduction expérimentale.

Etude expérimentale de la genèse de nano-baguettes

La présence de nano-baguettes est récurrente au contact de la NFC seule, comme constituant principal du *moonmilk*, ou encore sur certains cristaux de calcite formés par transformation de l'oxalate par combustion de bois d'iroko à plus de 500 °C. Interprétée comme une forme de la NFC de petite taille par Verrecchia et Verrecchia (1994), sa nature a été reconsidérée suite à l'observation de filaments organiques sans doute d'origine fongique se dégradant sous forme de nanofibres dans un échantillon de *moonmilk*. La nature en partie cristalline (i.e. calcitique) des nanobaguettes étant établie, mais l'aspect uniquement cristallin ne l'étant

pas, un plan d'étude a été établi. A partir de nos observations, un essai de reproduction expérimentale a été réalisé en considérant des fibres organiques correspondantes en termes de taille. Nous postulons que ces fibres organiques (cellulose, chitine, chitosane essentiellement) serviraient de support à une épitaxie ou à une pseudomorphose calcitique. Placés en présence d'une solution saturée vis-à-vis des carbonates, puis déposés sur une grille MET, ces produits expérimentaux ont été comparés aux nanobaguettes naturelles. De grandes similitudes morphologiques ont été notées entre fibres expérimentales et naturelles. De tous les types de fibres, la cellulose est celle qui montre le plus de caractéristiques communes avec les nanobaguettes naturelles. Nous suggérons donc que ces nanobaguettes soient le résultat soit d'une pseudomorphose calcitique soit d'une épitaxie sur des fibres de cellulose.

Des analyses *in situ* réalisées par les méthodes EELS et ESI en vue de définir la localisation du calcium (indice de la présence de la calcite) permettent de conclure à la présence d'une sorte d'enduit de calcite (Fig. 9.9). Les mêmes méthodes d'analyses ponctuelles réalisées sur des nanobaguettes naturelles n'ont pas abouti en raison de la difficulté à distinguer la localisation du calcium à ce stade de l'étude.

10.2.6 En résumé

Pour conclure sur le fonctionnement de l'écosystème iroko, on peut synthétiquement définir que l'accumulation de carbonate est le résultat d'une interaction d'agents biologiques menant à la transformation de sources d'oxalate biogènes (i.e. principalement de l'iroko ; Fig. 10.2). Le réservoir d'oxalate est la condition première pour que l'accumulation de carbonate ait lieu, mais la présence de bactéries oxalotrophes est également nécessaire. Ensuite des agents biologiques peuvent "catalyser" les processus, si les termites et les champignons saprophytiques permettent d'accélérer la libération de l'oxalate dans le sol, on peut penser qu'ils favorisent l'accumulation de carbonate dans le sol. A l'opposé, des facteurs inhibiteurs de cette accumulation ont été mis en évidence comme, une forte teneur en argiles qui crée une barrière de perméabilité, ou une morphologie du site en pente qui permet un certain lessivage. Ces facteurs inhibiteurs, totalement intrinsèques au site, sont également dépendants des conditions climatiques locales ; mais l'impact de ces dernières n'a pas été quantifié.

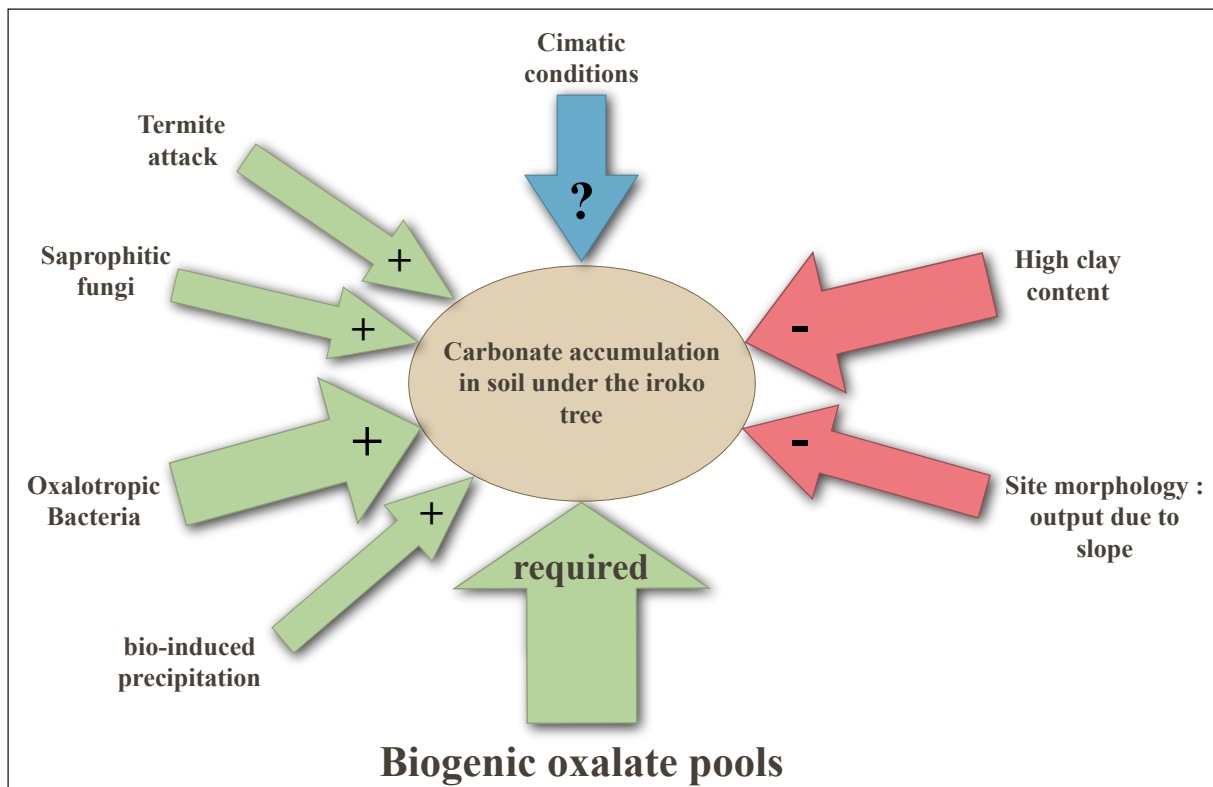


Fig. 10.2 : Schéma synthétique montrant les différents facteurs dont les variations d'intensité peuvent limiter l'accumulation de carbonate dans les sols sous irokos.

Sketch showing the factors limiting the carbonate accumulation in the soils under the iroko tree.

Conclusion

Chapitre 11 Conclusion

La présente étude s'est inscrite dans la thématique de recherche sur le cycle du carbone. Ce thème est en plein essor suite à la préoccupation croissante relative aux problèmes de changements climatiques. La synthèse de référence dans ce domaine (Prentice et al., 2001) ne prend pas en compte de puits de carbone sous la forme d'accumulations de carbonate dans les sols ; ces dernières sont souvent interprétées dans la littérature scientifique comme de simples redistributions de matériel carbonaté, ou sont négligeables par leur ampleur. Notre travail a mis en évidence l'existence d'un exemple de puits de carbone qui ne peut pas être négligé d'après les données recueillies. Sur les continents, on ne prend généralement en compte que la matière organique comme puits de carbone. Le puits de carbone "minéral" (carbonate) lié à l'iroko, au regard du temps de résidence dans le sol 100000 fois plus important pour les carbonates (Retallack, 1990) comparé à celui de la matière organique, est d'autant plus efficace. A l'échelle de l'Afrique, ce puits de carbone est d'un à deux ordres de grandeur plus faible que des puits de carbone marins tels que l'ensemble des récifs coralliens ou les plateaux continentaux (Milliman, 1993).

Ce puits de carbone est issu de la transformation de l'oxalate en carbonate. L'iroko produit l'oxalate durant la photosynthèse. L'oxalate est libéré dans le sol par divers processus, puis transformé en ions carbonate par les bactéries oxalotrophes. Cette transformation s'accompagne d'une élévation de pH permettant au carbonate de précipiter dans des sols initialement acides. Des pH pouvant atteindre 9 (Cailleau et al., 2005) sont mesurés dans des sols dont le pH initial était compris entre 4.3 et 6 (Leneuf, 1959).

Il a été montré que des facteurs pouvaient influencer l'importance des accumulations dans le sol. C'est le cas de la teneur en argiles, qui peuvent agir comme de véritables barrières de perméabilités, favorisant les mouvements latéraux au dépend des mouvements verticaux, et par conséquent de la diffusion en profondeur. Ceci est amplifié par la morphologie des sites. La conjugaison d'une forte teneur en argiles et d'une pente conduit à l'absence de carbonate dans le sol.

Dans l'écosystème "iroko" permettant l'accumulation de carbonate, l'impact du facteur biologique est visible à tous les stades de son fonctionnement. Au stade initial, car sans iroko, il n'y a pas de carbonate. La libération des cristaux d'oxalate est le résultat de la dégradation des tissus du bois, liée à l'action des termites et des champignons saprophytiques. A ce stade, sous l'action des bactéries oxalotrophes, l'oxalate de calcium est consommé. Il en résulte une augmentation de pH ainsi que la production d'ions carbonates en solution. A l'étape suivante, des carbonates sous influence biogène peuvent précipiter. Ces derniers sont identifiés par leur morphologie en analogie avec des carbonates produits en boîte de Pétri. Ces comparaisons semblent supportées par certaines analyses ponctuelles réalisées sur les phases naturelles. L'analyse isotopique, ou encore celle des éléments en traces de ces phases, suggèrent qu'une relation avec certains microorganismes, champignons ou bactéries

est probable. Les microorganismes peuvent en partie influencer la signature géochimique cette dernière étant à l'image des conditions du milieu de croissance. Elle pourrait donc être le paramètre reflétant la compétition entre les différents types d'organismes, permettant la croissance d'un type d'organisme plutôt qu'un autre.

Enfin, concernant l'origine de la calcite en aiguille que l'on trouve également sur les sites africains, une revue critique des arguments défendant, soit la thèse d'une origine purement physico-chimique, soit biologique, a été réalisée. Incapable d'expliquer la divergence entre la direction [104] (axe *c*), i.e. l'axe de croissance préférentielle de la calcite, et l'allongement de l'aiguille, l'hypothèse purement physicochimique est rejetée. De même la signature isotopique de l'oxygène contredit l'hypothèse avancée d'une forte évaporation menant à la formation de l'aiguille, ce qui est en accord avec les données de Strong et al. (1992). L'hypothèse biogène est alors privilégiée, car elle n'est jamais mise en défaut par les signatures isotopiques mesurées. De plus, nos observations ont permis de développer une hypothèse quant à la divergence entre l'axe *c* et l'allongement de l'aiguille et relative à la formation de la baguette elle-même. Une aiguille a été observée à l'intérieur d'un manchon organique. On peut donc penser que l'allongement du cristal de calcite serait le produit d'une contrainte morphologique due à ce moule organique. La divergence pourrait être le résultat de deux phénomènes: 1) la germination d'un cristal lié au groupe carboxyle présent dans les parois organiques; ces derniers sont connus pour se lier au calcium, si ce dernier se lie à un ion CO_3^{2-} , la molécule CaCO_3 aurait donc une polarité (i.e. une orientation préférentielle); 2) lors de la croissance du cristal, cette direction préférentielle se propagerait, mais le cristal contraint par le moule, pourrait avoir une direction d'allongement différente.

Cette étude interdisciplinaire menée en collaboration avec Olivier Braissant a clairement mis en avant l'interaction entre la biologie et la géologie. Elle ouvre une perspective de recherche importante dans la thématique du cycle du carbone en milieu continental. Suite à ce travail, diverses voies de recherche semblent intéressantes à suivre.

Si l'accumulation de carbonates dans les sols via les plantes et le cycle oxalate-carbonate est tout à fait exceptionnelle dans le cas de l'iroko, le système fonctionne également pour les cactacées, dans une moindre mesure certes. D'après nos observations, d'autres arbres tropicaux pourraient également se calcitiser tel l'Apa ou Doussié (*Afzelia pachyloba*) dont un arbre coupé présentait une petite veine de calcite. L'oxalate de calcium étant présent dans la quasi-totalité des plantes, on peut soupçonner qu'elle a une influence qui va bien au-delà des quelques exemples mentionnés dans cette étude. Ce domaine d'investigation est vaste et reste à explorer.

Les travaux exploratoires menés sur la quantification du puits de carbone lié à l'accumulation de carbonates dans les sols autour de l'iroko montrent certaines limites :

- la densité d'irokos à l'hectare est une donnée importante lors de l'extrapolation sur de grandes surfaces ; les données sont très limitées dans ce domaine et une investigation plus globale auprès des sociétés d'exploitations forestières et parc nationaux par exemple doit être entreprise;
- la proportion d'irokos minéralisés est également un point qu'il faut mieux connaître. En se

fondant sur les informations des exploitants forestiers, on se fie à leur interprétation qui ne se réfère qu'à leurs possibilités d'exploitation. Ceci ne coïncide pas forcément avec la vision scientifique. De même, comme ils ne s'intéressent qu'à l'arbre, on ne connaît rien des sols.

En essayant de répondre à ce dernier point, il serait intéressant de tester les facteurs limitants qui ont été mentionnés dans ce travail, i.e. l'influence du type de sol et tout particulièrement de sa granulométrie, de la morphologie des sites, mais également de tenir compte de l'influence du facteur climatique même s'il est difficilement quantifiable.

De même, comme mentionnée par Braissant (2005), une voie de recherche visant à mettre en évidence le rôle potentiel d'autres molécules organiques (acides) à faible poids moléculaire pouvant mener à un résultat similaire à celui du cycle oxalate-carbonate est intéressante à tester. L'étude de la dégradation des citrates ou d'acétates pourrait permettre de vérifier cette hypothèse.

Enfin, au regard du nombre important de textures calcitiques observées dans les sols autour des irokos, une méthode d'investigation plus systématique devrait être mise en œuvre en vue de partiellement quantifier l'impact de la précipitation bio-induite. L'effet "catalytique" des micro-organismes, champignons et bactéries du sol, sur la précipitation et donc sur la stabilité de ces accumulations de carbone dans le sol doit être étudiée. Leur rôle est difficile à établir ainsi qu'à quantifier, mais une approche systématique (pétrographique, géochimique incluant des analyses *in situ*, voire même la détection de bio-marqueurs spécifiques à tel ou tel organisme) couplée à une comparaison de la morphologie de cristaux produits en laboratoire sur boîte de Pétri, aiderait à mieux comprendre cet effet "catalytique" qui reste fondamental, à la fois en termes d'évolution du sol et en termes de piégeage de carbone.

Bibliographie

Bibliographie

Amieux, P., 1982, Cathodoluminescence : method of sedimentological study in carbonate : Bulletin du Centre Recherche Exploration Production. Elf Aquitaine, v. 6, p. 437-483.

Beazley, M.J., Rickman, R.D., Ingram, D.K. Boutton, T.W. et Russ, J., 2002, Natural abundances of carbon isotopes (^{14}C , ^{13}C) in lichens and calcium oxalate pruina: implications for archaeological and paleoenvironmental studies: Radiocarbon, v. 44, p. 675-683.

Becze-Deák, J., Langohr, R. et Verrecchia, E.P., 1997, Small scale secondary CaCO_3 accumulations in selected sections of the European loess belt. Morphological forms and potential for paleoenvironmental reconstruction: Geoderma, v. 76, p. 221-252.

Borsato, A., Frisia, S., Jones, B. et van der Borg, K., 2000, Calcite moonmilk : crystal morphology and environment of formation in caves in the Italian Alps: Journal of Sedimentary Research, v. 70, p. 1179-1190.

Braissant, O., Verrecchia, E.P. et Aragno, M., 2002, Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? Naturwissenschaften, v. 89, p. 366- 370.

Braissant, O., Cailleau, G., Aragno, M. et Verrecchia, E.P., 2004, Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment: Geobiology, v. 2, p. 59- 66.

Braissant, O., 2005, Carbonatogénèse bactérienne liée au cycle biogéochimique oxalate-carbonate: thèse de doctorat, institut de géologie, Université de Neuchâtel., 150 p.

Cailleau, G., Braissant, O. et Verrecchia, E.P., 2004, Biomineralization in plants as a long-term carbon sink: Naturwissenschaften, v. 91, p. 191-194.

Cailleau, G., Braissant, O., Dupraz, C., Aragno, M., et Verrecchia, E.P., 2005, Biologically induced accumulations of CaCO_3 in orthox soils of Biga, Ivory Coast: Catena, v. 59, p. 1-17.

Callot, G., Guyon, A. et Mousain, D., 1985a, Inter-relations entre aiguilles de calcite et hyphes mycéliens: Agronomie, v. 5, p. 209-216.

Callot, G., Mousain, D. et Plassard, C., 1985b, Concentrations de carbonate de calcium sur les parois des hyphes mycéliens: Agronomie, v. 5, p. 143-150.

Campbell W.G. et Fisher R.C., 1932, The composition and origin of “stone” in Iroko wood (*Chlorophora excelsa*, Benth. and Hook. f.): Empire Forestry Journal, v. 11, p. 244-245.

Canti, M.G., 2003, Aspect of the chemical and microscopic characteristics of plant ashes

- found in archaeological soils : *Catena*, v. 54, p. 339-361.
- Capo, R.C. et Chadwick, O.A., 1999, Sources of strontium and calcium in desert soil and calcrete: *Earth and Planetary Science Letters*, v. 170, p. 61-72.
- Carozzi A.V., 1967, Recent calcite-cemented sandstone generated by the equatorial tree iroko (*Chlorophora excelsa*), Daloa, Ivory Coast: *Journal of Sedimentary Petrology*, v. 37, 2, p. 597-600.
- Chalumeau, L., 2003, Etude stratigraphique de la séquence sédimentaire du site archéologique de Marin-Les Pécettes (NE) : Diplôme de l'université de Neuchâtel, données non publiées, 95 p.
- Chandra, T.S. et Shethna, Y.I., 1975, Isolation and characterization of some new oxalate-decomposing bacteria, v. 41, p. 101-111.
- Cerling, T., 1984, The stable isotope composition of modern soil carbonate and its relationship to climate: *Earth and Planetary Science Letters*, v. 71. p. 229-240.
- Cerling, T.E., 1999, Stable carbon isotopes in paleosol carbonates: Special Publication of the International Association of Sedimentologist, v. 27, p. 43-60.
- Dupraz, C., Visscher, P.T., Baumgartner, L.K. et Reid, R.P., 2004, Microbe-mineral interactions : early carbonate precipitation in a hypersaline lake (Eleuthera Island, Bahamas): *Sedimentology*, v. 51, p. 745-765.
- Elbersen, G.W.W., Davie, G., Van Reeuwijk, L.P. et Janssen R.P.T., 1999, The carbon sink function of calcic horizons quantified by means of stable isotopes of strontium. 6th International Meeting on Soils with Mediterranean Type of climate. Section II, soil chemistry, p. 105-107.
- E.F.I., 2003, European Forest Institute:
http://www.efi.fi/cis/english/creports/ivory_coast.php
- FAO, 2003, Food and Agriculture Organisation: [http:// www.fao.org / docrep / n6845f / n6845f03.htm](http://www.fao.org/docrep/n6845f/n6845f03.htm)
- Franceschi, V. et Horner H.T., 1980, Calcium oxalate crystals in plants : *Botanical Review*, v. 46, p. 361-427.
- Garvie, L.A.J., 2003, Decay-induced biomineralization of the saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*). *American Mineralogist*, v. 88, p. 1879-1888
- Gentile, A.C., 1954, Carbohydrate metabolism and oxalic acid synthesis by *Botrytis cinerea*. *Plant Physiology*, v.29, p. 257-261.

Gessner, K., 1555, Descriptio montis fracti sive Montis Pilat ut vulgo nominat, juxta Lucernam in Helvetia: Lucernae 1555.

Graustein, W.C., Cromack, K.Jr. et Sollins, P., 1977, Calcium oxalate: occurrence in soils and effect on nutrient and geochemical cycles: Science, v. 198, p.1252-1254.

Harris, C.M., 1933, Stone in *Chlorophora excelsa* B. and H. Iroko : Empire Forestry Journal, v. 12, p. 229-238.

Harrison, R.S., 1977, Caliches profiles: indicator of nearsurface subaerial diagenesis, Barbados West Indies: Bulletin of Canadian Petroleum Geology, v. 25, p. 123-173.

van Hees, P.A.W., Jones, D.L. et Godbold, D.L., 2002, Biodegradation of low molecular weight organic acids in coniferous forest podzolic soils: Soil Biology & Biochemistry, v. 34, p. 1261-1272.

Iwanoff, L.L., 1906, Ein Wasserhaltiges Calcium Carbonat Aussen Umgebungen von Nowo-Alexandria (gouv. Lublin): Annalen der Geologie und Mineralogie der Russland, v. 8, p. 2325

James, N.P., 1972, Holocene and Pleistocene calcareous crust (caliche) profiles: criteria for subaerial exposure: Journal of Sedimentary Petrology, v. 42, p. 817-836.

Jones, B., 1988, The influence of plants and micro-organisms on diagenesis in caliche: Example from the Pleistocene ironshore formation on Cayman Brac, British West Indies: Bulletin of Canadian Petroleum Geology, v. 36, p. 191-201.

Jones, B., et Kahle, C.F. 1993, Morphology, relationship, and origin of fiber and dendrite calcite crystals: Journal of Sedimentary Petrology, v. 63, p.1018-1031.

Jones, B., et Ng, K.-C., 1988, The structure and diagenesis of rhizoliths from Cayman Brac, British West Indies: Journal of Sedimentary Petrology, v. 58, p. 457-467.

Jones, D.L., 1998, Organic acids in the rhizosphere - a critical review: Plant and Soil, v. 205, p. 25-44.

Klappa, C.F., 1979, Calcified filaments in Quaternary calcretes : organo-mineral interactions in the subaerial vadose environment : Journal of Sedimentary Petrology, v. 49, p. 955-968.

Lacroix, A., 1901, Minéralogie de la France et de ses Anciens Territoires d'Outre-Mer, v. 3: Librairie A. Blanchard, Paris 816 p.

Leneuf, N., 1959, L'altération des granites calco-alcalins en Côte d'Ivoire forestière et les sols qui en sont dérivés: O.R.S.T.O.M, Paris 210 p.

Loisy, C., 1997, Les encroûtements carbonatés Quaternaires en substrat crayeux (Est du

- Bassin de Paris): rôle de la diagenèse et des actions biologiques: Thèse de l'Université de Reims Champagne-Ardennes, 387 p.
- Lindeman, R.L., 1942, The trophic-dynamic aspect of ecology: *Ecology*, v.23, p. 399-418.
- Loisy, C., Verrecchia, E.P. et Dufour, P., 1999, Microbial origin for pedogenic micrite associated with a carbonate paleosol (Champagne, France): *Sedimentary Geology*, v. 126, p. 193-204.
- Meldrum, F.C. et Hyde, S.T., 2001, Morphological influence of magnesium and organic additives on the precipitation of calcite: *Journal of Crystal Growth*, v. 231, p. 544-558.
- Meyers, W.J., 1978, Carbonate cements : their regional distribution and interpretation in Mississippian limestones of south western New Mexico : *Sedimentology*, v. 25, p. 371-400.
- Milliman, J.D., 1993, Production and accumulation of calcium carbonate in the ocean: budget of a non-steady state : *Global Biogeochemical Cycles*, v. 7, p. 927-957.
- Mouchet, P.O.J., 1998, Stratigraphy and mineralostratigraphy of the Kimmeridgian in the central Jura mountains of Switzerland and eastern France: *Eclogae Geologicae Helveticae*, v. 91, p. 53-68.
- Mörner, N.-A. et Etiope, G., 2002, Carbon degassing from the lithosphere: *Global and Planetary Change*, v. 33, p. 185–203.
- Mucci, A. et Morse, J.W., 1983, The incorporation of Mg^{2+} and Sr^{2+} into calcite overgrowths: influences of growth rate and solution composition: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 47, p. 217-233.
- Mügge, O., 1914, Über die lublinit genannte, angeblich neve modification des kohlemsavsen kalkes: *Zentralblatt für Mineralogie, Geologie, und Palaontologie*, p. 673-675.
- Müller, M., Burghammer, M. et Riekkel, C., 1999, Fiber Diffraction and Small-Angle Scattering on Single Cellulose Fibers: *European Synchrotron Radiation Facility Newsletter, Experiments reports*, v. 33, p. 12-13.
- Pauwels, J.M., Van Ranst, E., Verloo, M. et Mvondo Ze, A., 1992, Manuel de laboratoire de pédologie (Ministère de l'Enseignement Supérieur, de l'Informatique et de la recherche Scientifique de La République Du Cameroun, Administration Générale de la Coopération au Développement du Royaume de Belgique, eds.): *Publication agricoles*, v. 28, pp 265.
- Pobeguïn, T., 1943, Les oxalates de calcium chez quelques angiospermes. Etude physico-chimique. Formation. Destin: *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 11^e série, t. IV, p. 1-95.

Pobeguïn, T., 1954, Contribution à l'étude des carbonates de calcium. Précipitation du calcaire par les végétaux. Comparaison avec le monde animal: Annales des Sciences Naturelles, Botanique, 11^e série, t. XV, p. 32-109.

Prentice IC, Farquhar GD, Fasham MJR, Goulnden ML, Heimann M, Jaramillo VJ, Kheshgi HS, Le Quéré C, Scholes RJ, Wallace DWR (2001) The Carbon Cycle and Atmospheric Carbon Dioxide. In : *Climate Change 2001 : The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* [Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ, Noguer M, van der Linden PJ, Dai X, Maskell K, and Johnson CA, (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 881pp.

Prior, J., et Cutler, D., 1992, Trees to fuel Africa's fires. *New Scientist*, v. 135, p. 35-39.

Raven, P.H., Evert, R.F. et Eichhorn, S.E., 2000, Biologie végétale. De Boeck université, Bruxelles, 968 p.

Retallack, G.J., 1990, Soil of the past. An introduction to paleopedology. Unwin Hyman Ltd, London.

Riche, G., Rambaud, D. et Riera, M., 1982, Etude morphologique d'un encroûtement calcaire, Région d'Irecê, Bahia, Brésil: Cahiers Orstom, Série Pédologie, v. 19, p. 257-270.
Robert, D. et Roland, J.-C., 1989, Biologie végétale, Doin, Paris, 265 p.

Sahin, N., 2003. Oxalotrophic bacteria: *Research in Microbiology*, v. 154, p. 399-407.

Schneider, A., 1901, The probable function of calcium oxalate crystals in plants: *Botanical Gazette*, v. 32, issue 2, p. 142-144

Stoops, G.J., 1976, On the nature of « Lublinité » from Hollanta (Turkey): *American Mineralogist*, v. 61, p. 172.

Stoorvogel, J.J., Van Breemen, N. et Janssen, B.H., 1997, The nutrient input by Harmattan dust to a forest ecosystem in Côte d'Ivoire, Africa. *Biogeochemistry*, v. 37, p. 145–157.

Strong, G.E., Giles, J.R.A. et Wright, V.P., 1992, A Holocene calcrete from North Yorkshire, England: implications for interpreting paleoclimates using calcretes: *Sedimentology*, v. 39, p. 333-347.

Supko, P.R., 1971, "Whisker" crystal cement in a Bahamian rock, *in* Bricker, O.P., ed., *Carbonate Cements*: Johns Hopkins University Press, Studies in Geology, v. 19, Baltimore, MD, p. 143-146.

Tansley, A.G., 1935, The use and abuse of vegetational concepts and terms: *Ecology*, v.16, p. 284-307.

- Vergès, V., Madon, M., Bruand, A. et Bocquier, G., 1982, Morphologie et crystallogénèse de monocristaux supergènes de calcite en aiguilles: *Bulletin of Mineralogy*, v. 105, p. 351-356.
- Verrecchia, E.P., 1990, «Litho-Diagenetic Implications of the Calcium Oxalate-Carbonate Biogeochemical Cycle in Semiarid Calcretes, Nazareth, Israel.»: *Geomicrobiology journal*, v. 8, p. 87-99.
- Verrecchia, E.P. et Verrecchia, K.E., 1994, Needle-fiber calcite: a critical review and a proposed classification: *Journal of Sedimentary Research*, v. 64, p. 650-664.
- Verrecchia, E.P., Freytet, P., Verrecchia, K.E. et Dumont, J.-L., 1995, Spherulites in calcrete laminar crust : biogenic CaCO_3 precipitation as a major contributor to crust formation : *Journal of Sedimentary Research*, v. 4, p. 690-700.
- Verrecchia, E.P., 2000, Fungi and sediments, *in* Riding, R., and S Awramik, M., eds: *Microbial Sediments*: Springer Verlag, New York, p. 68-75.
- Wagner, G. et Loewus, F.A., 1973, The biosynthesis of (+) tartaric acid in *Pelargonium crispum*. *Plant Physiologie* v. 52, p. 651-654.
- Wollast, R., 1971, Kinetic aspect of the nucleation and growth of calcite from aqueous solutions, *in* Bricker, O.P., ed., *Carbonate Cements*: Johns Hopkins University Press, *Studies in Geology*, v. 19, Baltimore, MD, p. 264-273.
- Zhang, Y. et Dawe, R.A., 2000, Influence of Mg^{2+} on the kinetics of calcite precipitation and calcite crystal morphology: *Chemical Geology*, v. 163, p. 129-138.

ANNEXES

Biga Ivory Coast

Sample name	Distance to the iroko (m)	Profil name	Depth (in m)	pH	%Weight CaCO ₃	PC [%]	acide oxalique mg / kg
CIC 037	1.3	Profil A	0	8.2	13.9	0.33	25.02820554
CIC 038	1.3	Profil A	-0.05	8.87	11.6	0.38	32.17912141
CIC 039	1.3	Profil A	-0.1	7.9	12.3	1.01	68.44448047
CIC 040	1.3	Profil A	-0.15	8.16	13.9	0.58	54.65342843
CIC 041	1.3	Profil A	-0.2	8.2	16.5	0.43	70.99837899
CIC 042	1.3	Profil A	-0.25	8.6	9.4	0.29	105.2206192
CIC 043	1.3	Profil A	-0.3	8.45	7.6	0.18	22.98508672
CIC 044	1.3	Profil A	-0.35	8.99	6.9	0.21	78.66007457
CIC 045	1.3	Profil A	-0.4	8.57	4.0	0.17	255.3898525
CIC 047	1.3	Profil A	-0.45	8.66	2.5	0.07	116
CIC 046	1.3	Profil A	-0.5	8.54	1.1	0.12	147.104555
CIC 048	1.3	Profil A	-0.55	8.66	0.7	0.06	142.5075377
CIC 049	1.3	Profil A	-0.6	8.58	0.2	0.06	82.74631221
CIC 051	1.3	Profil A	-0.65	8.84	0.5	0.06	0
CIC 050	1.3	Profil A	-0.7	8.72	0.0	0.05	109.3068569
CIC 052	1.3	Profil A	-0.75	8.61	0.5	0.05	0
CIC 053	1.3	Profil A	-0.8	8.44	0.6	0.06	0
CIC 054	1.3	Profil A	-0.85	8.57	0.7	0.06	8.258299359
CIC 055	1.3	Profil A	-0.9	8.48	0.0	0.06	0.917588818
CIC 056	1.3	Profil A	-0.95	8.44	0.1	0.05	9.175888177
CIC 057	1.3	Profil A	-1	8.3	0.0	0.05	0
CIC059	0	Profil B	-0.2	8.48	56.0	0.52	29.35452641
CIC060	0	Profil B	-0.3	8.9	45.0	0.22	20.81384513
CIC061	0	Profil B	-0.4	9.17	43.2	0.31	14.94327343
CIC062	0	Profil B	-0.5	9.23	37.7	0.33	17.57266474
CIC063	0	Profil B	-0.6	9.38	62.0	0.35	12.52865912
CIC064	0	Profil B	-0.7	9.42	63.5	0.31	11.71510983
CIC065	0	Profil B	-0.8	9.37	36.7	0.23	12.36594926
CIC066	0	Profil B	-0.9	9.59	31.5	0.21	9.599881666
CIC067	0	Profil B	-1	9	2.7	0.10	0.976259152

Machatoum Cameroon

GEA name	Sample name	Distance to the iroko (cm)	Profile Name	depth (m)	pH	ac. oxal. Mg/kg
19919	MAS 109	0	Profil E	-0.8	7.84	3.796376186
19920	MAS 110	0	Profil E	-0.7	8.14	25.17238766
19921	MAS 111	0	Profil E	-60	7.81	2.761000863
19922	MAS 112	0	Profil E	-0.5	7.67	4.167613852
19923	MAS 113	0	Profil E	-0.4	7.95	2.588438309
19924	MAS 114	0	Profil E	-0.3	8.06	13.33636433
19925	MAS 115	0	Profil E	-0.2	7.45	3.106125971
19926	MAS 116	0	Profil E	-0.1	7.11	1.800409184
19927	MAS 117	0	Profil E	0	7.52	8.508600439
19928	MAS 118	50	Profil F	-0.8	7.46	0
19929	MAS 119	50	Profil F	-0.7	7.46	10.74910965
19930	MAS 120	50	Profil F	-60	7.55	6.90823672
19931	MAS 121	50	Profil F	-0.5	7.3	4.320982041
19932	MAS 122	50	Profil F	-0.4	7.2	14.1698871
19933	MAS 123	50	Profil F	-0.3	7.49	12.16943245
19934	MAS 124	50	Profil F	-0.2	7.7	9.335455028
19935	MAS 125	50	Profil F	-0.1	7.94	6.38145033
19940	MAS 130	50	Profil F	0	7.59	175.086459
19941	MAS 131	250	Profil G	-0.9	6.28	11.88270061
19942	MAS 132	250	Profil G	-0.8	5.88	6.068045768
19943	MAS 133	250	Profil G	-0.7	6.08	0.691049226
19944	MAS 134	250	Profil G	-60	6.19	4.44100932
19945	MAS 135	250	Profil G	-0.5	6.17	15.34348716
19946	MAS 136	250	Profil G	-0.4	6.07	8.888686823
19947	MAS 137	250	Profil G	-0.3	5.95	18.00409184
19948	MAS 138	250	Profil G	-0.2	6.16	15.67022808
19949	MAS 139	250	Profil G	-0.1	6.01	23.52534667
19950	MAS 140	250	Profil G	0	6.41	8.501932257

Mankaré Cameroon

GEA name	Sample name	Distance to the iroko (in cm)	Profile Name	depth (m)	pH	%weight CaCO ₃	PC [%]	ac. Ox mg/kg
19848	MAS 38	0	Profil A	-1.25	9.81	1.6	0.059005487	6.230763673
19849	MAS 39	0	Profil A	-1.2	9.92	1.6	0.061679382	2.933563417
19850	MAS 40	0	Profil A	-1.15	10	2.5	0.070897819	37.25106567
19851	MAS 41	0	Profil A	-1.1	10.08	2.7	0.076171025	29.08749368
19852	MAS 42	0	Profil A	-1.05	10.05	3.7	0.101611091	6.04002601
19853	MAS 43	0	Profil A	-1	10.12	9.2	0.148427895	17.25625539
19854	MAS 44	0	Profil A	-0.95	10.08	16.5	0.136855732	12.39794813
19855	MAS 45	0	Profil A	-0.9	10.2	24.1	0.207814957	18.75587024
19856	MAS 46	0	Profil A	-0.85	10.1	14.1	0.134824644	12.71584423
19857	MAS 47	0	Profil A	-0.8	10.04	12.1	0.093614544	51.94132873
19858	MAS 48	0	Profil A	-0.75	10.25	38.3	0.219346632	10.64951954
19859	MAS 49	0	Profil A	-0.7	10.31	55.3	0.347128064	24.31905209
19860	MAS 50	0	Profil A	-0.65	10.25	46.9	0.352739148	20.98114298
19861	MAS 51	0	Profil A	-0.6	10.28	38.1	0.257437768	55.0474547
19862	MAS 52	0	Profil A	-0.55	10.17	47.4	0.292602911	20.25633986
19863	MAS 53	0	Profil A	-0.5	10.28	66.0	0.061429203	14.30532476
19864	MAS 54	0	Profil A	-0.45	10.17	62.2	0.069262273	15.41796113
19865	MAS 55	0	Profil A	-0.4	10.13	69.5	0.076818461	46.59188956
19866	MAS 56	0	Profil A	-0.35	10.12	65.8	0.183148909	17.48428582
19867	MAS 57	0	Profil A	-0.3	9.97	52.1	0.188812718	19.55061051
19868	MAS 58	0	Profil A	-0.25	9.95	50.8	0.265739697	20.18640272
19869	MAS 59	0	Profil A	-0.2	10.12	72.9	0.274215576	70.73684211
19870	MAS 60	0	Profil A	-0.15	9.93	58.9	0.247739164	10.41343096
19871	MAS 61	0	Profil A	-0.1	10.1	62.8	0.260207376	10.2507211
19872	MAS 62	0	Profil A	-0.05	10.12	64.3	0.283401067	10.41343096
19873	MAS 63	0	Profil A	0	10.23	68.4	0.255661164	35.89301122
19874	MAS 64	50	Profil B	-1.05	8.91	2.9	0.27347597	11.24650544
19875	MAS 65	50	Profil B	-1	8.9	1.7	0.169026603	2.928777457
19876	MAS 66	50	Profil B	-0.95	8.86	1.5	0.229706373	3.579616892
19877	MAS 67	50	Profil B	-0.9	8.83	0.9	0.243042885	2.115228164
19878	MAS 68	50	Profil B	-0.85	9.01	1.2	0.423212924	0
19879	MAS 69	50	Profil B	-0.8	8.98	2.1	0.415379227	4.555876045
19880	MAS 70	50	Profil B	-0.75	8.88	4.4	0.427843621	4.217439538
19881	MAS 71	50	Profil B	-0.7	8.92	18.4	0.487215227	10.70388833
19882	MAS 72	50	Profil B	-0.65	8.92	18.6	0.386972682	12.66109364
19883	MAS 73	50	Profil B	-0.6	8.96	28.2	0.323889742	22.96004295
19884	MAS 74	50	Profil B	-0.55	8.84	22.7	0.417176318	18.05353171
19885	MAS 75	50	Profil B	-0.5	8.67	19.6	0.312709909	21.42802362
19886	MAS 76	50	Profil B	-0.45	8.79	30.6	0.5210155	14.34159061
19887	MAS 77	50	Profil B	-0.4	8.68	13.9	0.524424697	10.46092492
19888	MAS 78	50	Profil B	-0.35	8.69	8.9	0.600583091	14.17286602
19889	MAS 79	50	Profil B	-0.3	8.55	8.7	0.058980727	14.00414142
19890	MAS 80	50	Profil B	-0.25	8.78	4.4	0.052673182	8.436229772
19891	MAS 81	50	Profil B	-0.2	8.67	5.6	0.056236682	9.279852749
19892	MAS 82	50	Profil B	-0.15	8.69	4.6	0.0555515	7.930055986
19893	MAS 83	50	Profil B	-0.1	8.64	8.1	0.371809738	11.11557635
19894	MAS 84	50	Profil B	-0.05	8.73	6.2	0.30458551	10.62964951
19895	MAS 85	50	Profil B	0	8.35	48.1	0.493368771	8.321891339
19896	MAS 86	130	Profil C	-0.9	7.41	0.12	0.109239543	5.041145715
19897	MAS 87	130	Profil C	-0.8	7.35	0.06	0.076439829	3.278688525
19898	MAS 88	130	Profil C	-0.7	7.27	0.06	0.100059831	0
19899	MAS 89	130	Profil C	-0.6	7.4	0.00	0.109096604	3.451251079
19900	MAS 90	130	Profil C	-0.5	7.97	0.19	0.087991267	0
19901	MAS 91	130	Profil C	-0.4	7.83	0.19	0.124049219	2.933563417
19902	MAS 92	130	Profil C	-0.3	7.7	0.19	0.109693103	3.167386527
19903	MAS 93	130	Profil C	-0.2	7.83	0.44	0.13712362	3.106125971
19904	MAS 94	130	Profil C	-0.1	7.54	0.44	0.349569217	0
19905	MAS 95	130	Profil C	0	7.83	1.31	0.717119932	3.278688525
19906	MAS 96	410	Profil D	-0.6	7.36	0.12	0.052413177	1.333636433
19907	MAS 97	410	Profil D	-0.5	7.61	0.00	0.057181764	0
19908	MAS 98	410	Profil D	-0.4	8.06	0.25	0.070146318	0
19909	MAS 99	410	Profil D	-0.3	8.32	0.62	0.06796676	0
19910	MAS 100	410	Profil D	-0.2	8.11	0.12	0.042158159	0.180040918
19911	MAS 101	410	Profil D	-0.1	7.64	0.12	0.072464031	0
19912	MAS 102	410	Profil D	0	7.9	0.37	0.160742064	1.000227324

Environmental data for NFC cluster analysis

Site	mean cold season temp.	mean hot season temp.	Nb frost days/yr	accumulation of precipitation mm/yr	Mean annual O isotopic signature of rain	altitude m	$\delta^{18}O$ of NFC	$\delta^{13}C$ of NFC	Mean O isotopic signature of PR	Mean C isotopic signature of PR
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-5.17	-7.57	-2.89	2.43
Reims	5.1	604	67.5	604	-9.5	91	-8.51	-8.51	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-2.82	1.10	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.20	-1.80	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.10	-4.10	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.70	-5.00	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.20	-1.90	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.00	-3.00	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-3.60	-2.20	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.10	-3.60	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.80	-7.20	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.30	-3.60	-2.89	2.43
Reims	5.1	17.8	67.5	604	-9.5	91	-4.20	-2.80	-2.89	2.43
Reims	5.1	19.7	67.5	732	-9.5	219	-5.88	-10.79	-6.36	-7.16
Bourgogne Loue	-0.5	15.5	72	1470	-9.5	307	-7.17	-11.45	-4.39	1.13
Villier	-0.7	18.9	>81	1350	-9.5	760	-8.63	-7.12	-5.96	1.02
Villier	-0.7	18.9	>81	1350	-9.5	760	-7.85	-6.31	-5.96	1.02
Villier	-0.7	18.9	>81	1350	-9.5	760	-7.8	-6.91	-5.96	1.02
Villier	-0.7	18.9	>81	1350	-9.5	760	-7.13	-6.29	-5.96	1.02
Perigord	5.1	20.5	41	716	-6.5	59	-4.27	-8.54	-4.07	1.09
Montpellier	6.6	22.5	31.5	699	-6.5	3	-4.99	-10.14	-4.69	-9.71
Montpellier	6.6	22.5	31.5	699	-6.5	3	-4.89	-9.91	-4.69	-9.71
Ivory Coast	24.5	27.15	0	1200	-4.5	280	-8.02	-16.63	-2.22	-8.16
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.62	-12.08	-2.96	-10.69
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.85	-11.99	-2.96	-10.69
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.67	-11.19	-2.96	-10.69
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.25	-9.86	-2.96	-10.69
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.9	-10.82	-2.96	-10.69
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.9	-10.63	-2.96	-10.69
Cameroon	20.9	24.4	0	1700	-4.5	620	-2.63	-10.03	-2.96	-10.69
Mexico	12.1	19	6	750	-4	2600	-8.6	-1.53	-7.71	-1.51
Valais	+++++	+++++	+++++	+++++	-8 to -11	1800	-5.32	-5.7		

<http://fishis.iaea.org/userupdate/Waterco/index.html>

PR : Parent rock
 Reims : Champagne
 Loue : French Jura
 Villier : Swiss Jura

IAEA (2001). GNIP Maps and Animations, International Atomic Energy Agency, Vienna.

Accessible at <http://fishis.iaea.org>

Data relative to Fig. 7.12

distance in μm	Fe ₂ O ₃	FeO	MnO	MgO	CaO	SrO	BaO	Na ₂ O
0	0.02105928	0	0.04211856	1.05296409	54.0381173	0.410656	0.42118564	0.0526482
27.375	0.02128565	0	0.12771392	0.85142614	54.2890592	0.38314176	0.38314176	0.02128565
54.75	0	0	0.04208311	0.75749605	54.4765913	0.32614413	0.41031036	0.05260389
82.125	0.01072041	0.03216123	0.04288165	0.65394511	54.5668954	0.39665523	0.41809605	0
109.5	0.03198294	0	0	1.0021322	54.1044776	0.42643923	0.42643923	0.0533049
136.875	0	0	0.01068034	0.84374666	54.4804016	0.2563281	0.41653316	0.03204101
164.25	0.03212335	0	0.09637006	0.56751258	54.5775779	0.39618803	0.43901917	0.02141557
191.625	0.03246402	0	0.08657072	0.85488583	54.2690185	0.42203225	0.34628287	0.0541067
219	0	0	0.06395907	1.28984117	53.4164801	0.72486942	0.51167253	0.06395907
246.375	0.01065417	0	0.02130833	2.14148732	52.5783081	0.59663328	0.53270829	0.04261666
273.75	0.06839166	0	0.03419583	2.2272883	52.3880087	0.54713325	0.54713325	0.07979027
301.125	0.02116178	0	0.06348535	2.15850175	52.5129616	0.65601524	0.41265475	0.06348535
328.5	0	0	0	2.32378002	52.2850503	0.67500277	0.60860905	0.03319686
355.875	0	0	0.03140375	1.44457239	53.5224537	0.49199204	0.4605883	0.04187166
383.25	0.04258037	0	0.03193528	1.24547584	53.6938471	0.574835	0.39386843	0.04258037
410.625	0.03208213	0	0.01069404	1.16565073	53.8872848	0.39567961	0.44914982	0.06416426
438	0.06304508	0	0	1.3869917	53.7354208	0.42030051	0.33624041	0.02101503

Data relative to Fig. 7.13

distance in μm	MnO	MgO	CaO	SrO	BaO	Na2O	Fe2O3	FeO
0	0.113824503	1.490066225	53.78725166	0.362168874	0.14486755	0	0	0
24.687	0.052197515	1.075268817	54.06618645	0.563733166	0.219229565	0.041758012	0.0104395	0
49.374	0.07315289	1.410805727	53.90322918	0.26126032	0.250809907	0.010450413	0	0
74.061	0.061957869	1.486988848	53.62453532	0.423378769	0.258157786	0.020652623	0.05163156	0
98.748	0.041347943	1.26111226	54.08310937	0.382468472	0.155054786	0.020673971	0	0
123.435	0.072840791	1.342351717	53.81893861	0.447450572	0.176899063	0.031217482	0.05202914	0
148.122	0.138504155	1.171958236	54.11250799	0.213083316	0.27700831	0.031962497	0	0
172.809	0.083376759	1.875977071	53.39239187	0.250130276	0.229286087	0	0	0
197.496	0.010242753	2.04855065	52.9140633	0.491652156	0.399467377	0.020485507	0	0
222.183	0.041343669	2.005167959	52.81653747	0.57881137	0.361757106	0.051679587	0.04134367	0
246.87	0.030772387	2.328443943	52.65155401	0.338496256	0.338496256	0.051287312	0.04102985	0
271.557	0.126302494	0.915693085	54.48900116	0.273655405	0.189453742	0	0	0
296.244	0.031486146	1.479848866	53.77833753	0.314861461	0.283375315	0.010495382	0	0
320.931	0.114690856	0.813262434	54.39474507	0.385778334	0.260661036	0.062558649	0	0
345.618	0.041841004	1.025104603	54.19456067	0.376569038	0.324267782	0.041841004	0.0209205	0
394.992	0.0854427	1.100074762	54.34155719	0.21360675	0.149524725	0.032041012	0	0
419.679	0.134882756	1.099813239	54.12948745	0.383897074	0.228263125	0.010375597	0	0
444.366	0.094746815	0.894831035	54.42678177	0.326350142	0.189493631	0.05263712	0	0
469.053	0.0833073	1.05175466	54.26429241	0.333229199	0.187441425	0.010413412	0.02082682	0.03124024
493.74	0.031214234	1.175736136	54.20871918	0.301737592	0.176880658	0.020809489	0.01040474	0
518.427	0.083090985	1.225592023	53.96759452	0.363523058	0.301204819	0.031159119	0	0
543.114	0.072704612	0.903614458	54.39343581	0.394682177	0.197341088	0.041545492	0	0
567.801	0.062021914	1.292123217	53.92805458	0.413479429	0.2170767	0.041347943	0	0
592.488	0.124817974	1.14416476	54.01497816	0.374453921	0.228832952	0.041605991	0.03120449	0
641.862	0.010496484	1.175606172	54.24582765	0.251915608	0.272908576	0	0	0
666.549	0.030854674	1.193047413	54.02653502	0.4833899	0.236552504	0.010284891	0	0
691.236	0.048414427	1.488743646	53.60687485	0.278382958	0.314693779	0.084725248	0.08472525	0
740.61	0.11377741	1.055026893	54.13736036	0.393049235	0.258585023	0.041373604	0	0
765.297	0.07258399	0.860638739	54.62463708	0.186644546	0.259228536	0	0	0
789.984	0.052372473	0.79606159	54.50926993	0.282811354	0.324709333	0.031423484	0.05237247	0
814.671	0.085653105	1.209850107	54.11134904	0.246252677	0.235546039	0.042826552	0	0
839.358	0.031598905	1.22182431	54.10785759	0.294923109	0.273857173	0	0	0.0315989
864.045	0.098199673	1.287506819	54.10801964	0.196399345	0.152755046	0.032733224	0	0
888.732	0.085269665	1.076529525	54.08228523	0.383713494	0.245150288	0.063952249	0.04263483	0
913.419	0.091053949	1.365809242	53.81288413	0.273161848	0.261780105	0.091053949	0	0
938.106	0.021805495	1.090274749	54.30658526	0.239860445	0.272568687	0.021805495	0	0
962.793	0.020710366	1.325463394	53.81588485	0.352076214	0.403852128	0.051775914	0	0
987.48	0.052509977	1.554295316	53.58118042	0.357067843	0.325561857	0.042007982	0	0
1012.167	0.052377959	1.099937146	54.11690761	0.50282841	0.209511837	0.010475592	0	0
1036.854	0.022449209	1.515321585	53.60871029	0.460208778	0.280615108	0.033673813	0	0
1110.915	0.103391232	0.951199338	54.33209264	0.289495451	0.320512821	0.020678246	0	0
1135.602	0.062009095	1.054154609	54.18561389	0.413393964	0.22736668	0.041339396	0	0
1160.289	0.082457225	0.845186559	54.43207586	0.39167182	0.237064523	0.030921459	0	0
1209.663	0.134659209	0.745804848	54.49554589	0.445411229	0.238243215	0	0.0103584	0
1234.35	0.11453561	0.968346522	54.15451895	0.531028738	0.197834236	0.031236985	0.03123698	0
1259.037	0.094270451	0.754163612	54.43594847	0.460877763	0.230438881	0.031423484	0.05237247	0
1283.724	0.094736842	0.8	54.66315789	0.242105263	0.178947368	0	0	0.01052632
1308.411	0.115473441	0.85030443	54.53495696	0.262439639	0.209951711	0.020995171	0.01049759	0
1333.098	0.197690147	0.738736864	54.55207575	0.343356571	0.187285402	0.020809489	0	0
1357.785	0.073290755	0.722437441	54.64349283	0.303633127	0.24081248	0.031410324	0.02094022	0
1382.472	0.1875	0.708333333	54.51041667	0.322916667	0.166666667	0.052083333	0.07291667	0
1407.159	0.165374677	0.682170543	54.53229974	0.330749354	0.217054264	0.051679587	0.0620155	0
1431.846	0.073160535	0.689799331	54.69272575	0.397157191	0.16722408	0.010451505	0	0
1456.533	0.136957438	0.695322377	54.5617362	0.347661188	0.221238938	0.04214075	0.04214075	0
1481.22	0.08291874	0.652985075	54.68490879	0.362769486	0.248756219	0.020729685	0	0
1505.907	0.15595758	0.748596382	54.55396132	0.270326471	0.218340611	0.041588688	0.02079434	0
1530.594	0.104264415	0.583880722	54.81180273	0.323219685	0.208528829	0.020852883	0	0
1555.281	0.157249188	0.712862984	54.47111857	0.387881329	0.2515987	0.041933117	0.03144984	0
1579.968	0.157579578	0.58829709	54.81668242	0.30465385	0.178590188	0	0	0
1604.655	0.167890871	0.535152151	54.75341028	0.283315845	0.325288562	0.020986359	0	0
1629.342	0.083752094	0.67001675	54.67964824	0.272194305	0.293132328	0.020938023	0.03140704	0
1654.029	0.105641242	0.792309318	54.51088105	0.295795479	0.295795479	0.042256497	0	0
1678.716	0.10459157	0.753059303	54.5235854	0.355611338	0.303315553	0	0.01045916	0.01045916
1703.403	0.072954664	0.677436165	54.70557582	0.364773319	0.198019802	0.02084419	0	0
1728.09	0.124275062	0.611019056	54.75352113	0.27961889	0.227837614	0.010356255	0.04142502	0.01035626
1752.777	0.12579935	0.608030192	54.79610022	0.2515987	0.241115421	0.031449838	0	0
1777.464	0.214408233	0.804030875	54.47041166	0.25728988	0.160806175	0.075042882	0	0
1802.151	0.139664804	0.805758487	54.49076064	0.311559948	0.204125483	0.053717232	0	0
1826.838	0.147158705	1.064070636	54.02988454	0.430156215	0.237717908	0.056599502	0.0226398	0
1851.525	0.041194645	1.7507724	53.15139032	0.607621009	0.308959835	0.051493306	0.02059732	0

Data relative to Fig. 7.13

distance in μm	MnO	MgO	CaO	SrO	BaO	Na2O	Fe2O3	FeO
1876.212	0.082236842	1.644736842	53.28947368	0.606496711	0.298108553	0.030838816	0	0
1900.899	0.062663185	1.232375979	53.92167102	0.480417755	0.302872063	0.010443864	0	0
1925.586	0.062959077	1.143756558	54.0818468	0.304302204	0.251836306	0.062959077	0.0524659	0
1950.273	0.06339814	0.929839391	54.44843618	0.274725275	0.253592561	0.010566357	0.01056636	0
1974.96	0.114690856	0.990511938	54.25920133	0.364925451	0.250234595	0.010426441	0.02085288	0
1999.647	0.094142259	0.920502092	54.37238494	0.324267782	0.292887029	0.010460251	0	0
2024.334	0.072373863	0.775434243	54.50785773	0.444582299	0.248138958	0.010339123	0	0
2049.021	0.06301859	0.745719987	54.52158387	0.409620838	0.315092952	0.010503098	0	0
2073.708	0.087231491	0.861410969	54.35612256	0.359829899	0.250790535	0.076327554	0	0
2098.395	0.119877942	0.70836966	54.45727986	0.446817786	0.283347864	0.032693984	0.03269398	0
2123.082	0.128095645	0.72587532	54.54739539	0.341588386	0.170794193	0.064047822	0.03202391	0
2147.769	0.117861352	0.79288546	54.5590914	0.257152041	0.214293368	0.042858674	0.01071467	0
2172.456	0.031492757	0.745328574	54.76590384	0.209951711	0.262439639	0	0	0
2197.143	0.137624391	0.70929494	54.59453737	0.296421766	0.296421766	0.010586492	0.01058649	0
2221.83	0.127024452	0.645707632	54.72636816	0.349317244	0.169365936	0.031756113	0	0
2246.517	0.136339801	1.11169376	54.1688516	0.283167278	0.241216571	0.031463031	0	0
2271.204	0.168155544	0.945874934	54.30373095	0.315291645	0.199684708	0.042038886	0.02101944	0
2295.891	0.135064935	0.779220779	54.57662338	0.25974026	0.238961039	0.020779221	0	0
2320.578	0.156608895	0.709960326	54.54165797	0.365420756	0.219252454	0.041762372	0	0
2345.265	0.156772575	0.637541806	54.74498328	0.219481605	0.25083612	0.031354515	0	0
2369.952	0.219458669	0.783780959	54.40484899	0.313512384	0.240359494	0.062702477	0	0
2394.639	0.218681662	0.874726648	54.253879	0.385296262	0.270748724	0.020826825	0	0
2419.326	0.125918153	0.724029381	54.62749213	0.262329486	0.209863589	0.062959077	0.01049318	0
2444.013	0.125247886	0.688863375	54.67070243	0.281807744	0.208746477	0.031311972	0.02087465	0

Tabernas data

Wgt% CaCO ₃	dist/cactus		0 cm	15 cm	30 cm	60 cm	90 cm
	profile		TAB 0	TAB 1	TAB 2	TAB 4	TAB 6
	depth (cm)	0	0.0	1.1	0.3	0.4	0.3
		-5	0.0	0.5	0.0	0.1	0.1
		-10	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
		-15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		-20	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0
		-25	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
		-30	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1
-35	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
pH	dist/cactus		0 cm	15 cm	30 cm	60 cm	90 cm
	profile		TAB 0	TAB 1	TAB 2	TAB 4	TAB 6
	depth (cm)	0	6.69	7.39	5.66	6.61	4.52
		-5	5.17	6.83	4.63	4.67	5.15
		-10	5.70	4.73	4.77	5.58	5.01
		-15	5.03	5.01	4.70	4.80	5.07
		-20	5.26	4.81	4.61	5.03	5.01
		-25	5.30	5.27	4.78	5.24	5.56
		-30	5.28	5.21	4.94	5.43	6.07
-35	5.57	5.37	5.17	5.45	6.75		
Oxalic acid mg/kg	dist/cactus		0 cm	15 cm	30 cm	60 cm	90 cm
	profile		TAB 0	TAB 1	TAB 2	TAB 4	TAB 6
	depth (cm)	0	1338.7	1057.1	200.9	210.0	212.2
		-5	77.1	109.2	132.8	130.7	306.0
		-10	23.9	3.7	129.2	214.8	166.1
		-15	64.3	10.1	124.6	96.9	514.7
		-20	93.6	119.3	139.4	120.7	148.1
		-25	45.2	125.0	103.0	137.3	103.5
		-30	96.8	120.2	131.7	96.4	92.8
-35	56.4	128.3	123.0	118.8	77.0		
%PC	dist/cactus		0 cm	15 cm	30 cm	60 cm	90 cm
	profile		TAB 0	TAB 1	TAB 2	TAB 4	TAB 6
	depth (cm)	0	1.35	0.54	0.68	0.99	0.79
		-5	0.10	0.16	0.24	0.36	1.05
		-10	0.05	0.04	0.12	0.23	0.27
		-15	0.04	0.03	0.04	0.08	0.18
		-20	0.04	0.05	0.04	0.05	0.05
		-25	0.06	0.03	0.04	0.06	0.04
		-30	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02
-35	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03		

Guillaume Cailleau · Olivier Braissant ·
Eric P. Verrecchia

Biom mineralization in plants as a long-term carbon sink

Received: 16 October 2003 / Accepted: 8 February 2004 / Published online: 13 March 2004
© Springer-Verlag 2004

Abstract Carbon sequestration in the global carbon cycle is almost always attributed to organic carbon storage alone, while soil mineral carbon is generally neglected. However, due to the longer residence time of mineral carbon in soils (10^2 – 10^6 years), if stored in large quantities it represents a potentially more efficient sink. The aim of this study is to estimate the mineral carbon accumulation due to the tropical iroko tree (*Milicia excelsa*) in Ivory Coast. The iroko tree has the ability to accumulate mineral carbon as calcium carbonate (CaCO_3) in ferrallitic soils, where CaCO_3 is not expected to precipitate. An estimate of this accumulation was made by titrating carbonate from two characteristic soil profiles in the iroko environment and by identifying calcium (Ca) sources. The system is considered as a net carbon sink because carbonate accumulation involves only atmospheric CO_2 and Ca from Ca-carbonate-free sources. Around one ton of mineral carbon was found in and around an 80-year-old iroko stump, proving the existence of a mineral carbon sink related to the iroko ecosystem. Conservation of iroko trees and the many other biom mineralizing plant species is crucial to the maintenance of this mineral carbon sink.

Introduction

During the last decade, the carbon cycle has been extensively studied in connection with research on climate change. Although land carbon sequestration in the global carbon cycle is always taken into account (as soil organic matter; Prentice et al. 2001), soil mineral carbon trapping is generally neglected. Yet a soil mineral carbon sink is potentially of great interest for two reasons: (1) the residence times for mineral carbon (10^2 – 10^6 years; Retallack 1990) is up to 100,000 times longer than for soil

organic matter carbon (10^1 – 10^3 years; Prentice et al. 2001) and (2) hundreds of plant species are known to mineralize (Simkiss and Wilbur 1989). The tropical iroko tree *Milicia excelsa* from Ivory Coast is probably one of the most impressive examples of these mineralizing plants (Braissant et al. 2003). Not only does it have the capacity to mineralize a high percentage of its tissues (from trunk to roots; Campbell and Fisher 1932), but this process directly contributes to accumulations of CaCO_3 in the tree's surrounding ferrallitic soil (Carozzi 1967), in which (theoretically) carbonate should not be able to precipitate because of the acidic conditions. Thus, the iroko tree is an ideal example to use for studying a mineralizing plant's capacity to accumulate mineral carbon.

The second aim of this study is to evaluate the potential importance of irokos and similar mineralizing plants as a carbon sink. There are many definitions of the term "carbon sink". Elbersen et al. (1999) consider that there are two possible origins for the Ca in pedogenic CaCO_3 . Ca can be inherited from weathering of pre-existing CaCO_3 (e.g. dust or parent rock). Recrystallization of CaCO_3 allows atmospheric CO_2 catchment but, in contrast, fossil CO_2 has been released during weathering, leading to a zero net balance for the carbon cycle. Thus, this is only a molecular CO_2 substitution. A second possible origin of Ca is when it has been released from the weathering of non-carbonate minerals and precipitates as CaCO_3 . In this case, the catchment of atmospheric CO_2 by the released Ca into "authigenic CaCO_3 acts as a carbon sink" (Elbersen et al. 1999). The latter definition is the most appropriate for this study.

Materials and methods

During the last 50 years, deforestation in Ivory Coast has led to the disappearance of approximately three-quarters of the original rainforest. The iroko tree grows in the rainforest (southern part), as well as in the savanna (northern part) of Ivory Coast (Ministère du Plan de Côte d'Ivoire 1979). This valuable species has been extensively logged and is now almost entirely restricted to national parks and reserves. In Biga (Daloa County, Ivory Coast, $7^\circ 32' \text{E}$, $6^\circ 36' \text{N}$), two profiles have been studied, one at a distance of 0.50 m

G. Cailleau · O. Braissant · E. P. Verrecchia (✉)
Institut de Géologie, Université de Neuchâtel,
Rue Emile Argand 11, 2007 Neuchâtel, Switzerland
e-mail: eric.verrecchia@unine.ch
Fax: +41-32-7182601

from the remaining iroko trunk (Profile A) and the second in the hollow trunk and directly underneath (Profile B). In theory, ferralitic soils are acidic, the pH ranging from 4.3 to 6. Nevertheless, at the Biga site, the pH is between 7.9 and 9.0 (with an average of 8.5) around the tree.

Because of the totally different amounts of CaCO_3 in the two profiles, two methods have been used to determine the CaCO_3 content. In Profile A, in which carbonate content is <20% by weight, a titration using sulphuric acid (0.5 N) and sodium hydroxide (0.5 N) was performed on 1 g of crushed bulk sample. In Profile B, some samples contain >30% by weight of carbonate. Concentrations were determined by mass difference between 1 g of original crushed bulk sample before and after carbonate dissolution in 10% hot hydrochloric acid. The percentage by weight is determined by titration and a mean value is calculated for each 20-cm layer for both volumes (torus and cylinder). By knowing the soil density for both volumes, the total CaCO_3 content is then calculated with an underestimation to give an approximate magnitude of the mineral carbon pool.

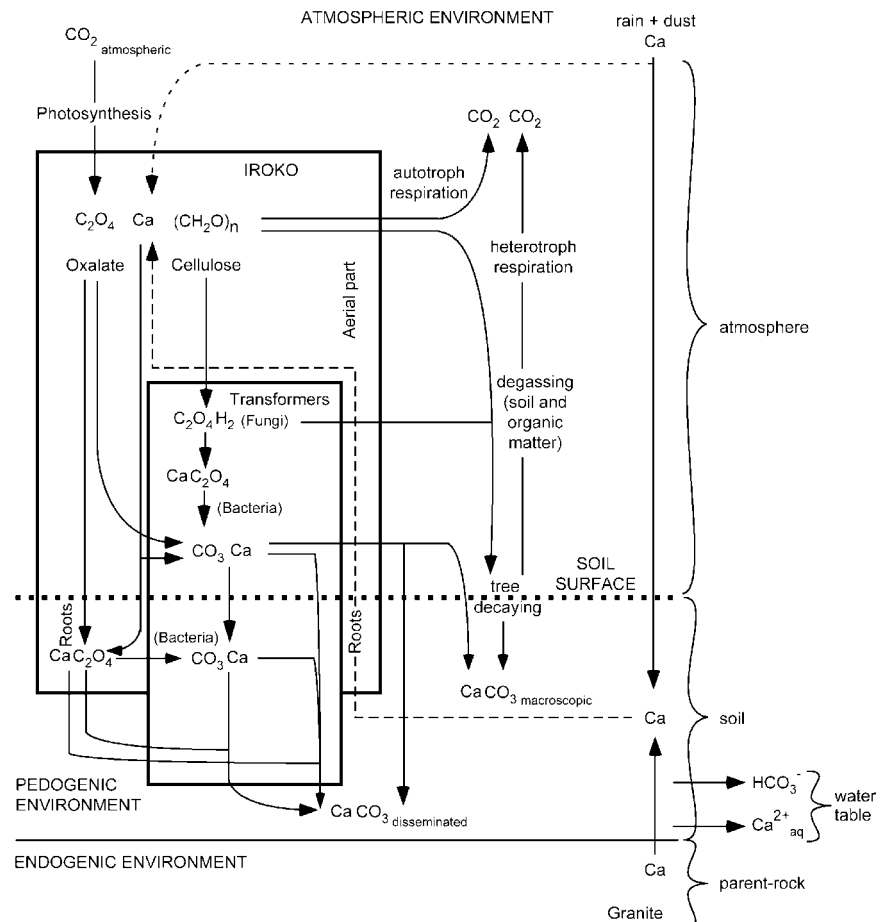
Results

In iroko trees, large accumulations of CaCO_3 are present, from blocks of 1.5 m wide to micro- and nano-scale forms, because of a peculiar oxalate-carbonate biogeochemical cycle (Fig. 1). This cycle demonstrates that calcium oxalate produced by both plants (Horner and Wagner 1995) and fungi (Cromack et al. 1977; Gadd 1999) can be transformed into CaCO_3 by bacteria

(Braissant et al. 2002). The pH increase induced by this cycle is favourable to CaCO_3 precipitation and accumulation, as carbonic acid is weaker ($\text{pK}_1=6.35$; $\text{pK}_2=10.33$) than oxalic acid ($\text{pK}_1=1.25$; $\text{pK}_2=4.27$). Moreover, as oxalate is a poor substrate for bacterial growth, only 5% of this carbon source is transformed into biomass, whereas 95% leads to carbonate ion formation, enhancing accumulation (Harder et al. 1974).

Three sources of Ca have been identified in the iroko ecosystem (see Fig. 1): (1) the granite parent rock, (2) dust, and (3) rain. The study of thin sections of the calcoalkaline granite parent rock shows that carbonate minerals are absent. Ca is mainly provided by the plagioclases, and to a lesser extent by amphiboles and pyroxenes. Ca present in the rain (rainfall of 2,500 mm per year) is in the ionic state (i.e. dissolved). Dust is provided to the system during the dry season (from December to January). The southwesterly wind responsible for this mass transport is the Harmattan. X-ray diffraction analyses have only revealed the presence of quartz and kaolinite (Stoorvogel et al. 1997). These minerals cannot explain the presence of calcium (kaolinite is not able to adsorb Ca^{2+}). It is likely that Ca is trapped in eolian organic matter. In the absence of Ca input from carbonate rocks, it is obvious that accumulations of secondary carbonate associated with iroko trees constitute a carbon sink. In summary, the iroko

Fig. 1 Carbon cycle associated with the iroko tree ecosystem, Ivory Coast. Atmospheric CO_2 is fixed by the tree, which produces biomass and oxalate. Another pool of oxalate is produced by fungi, which feed on the tree. This oxalate is used by bacteria to decay plant tissues (mainly cellulose and lignin). Finally, all the oxalate can be used by bacteria as a carbon source, resulting in carbonate ion production, and CaCO_3 precipitation



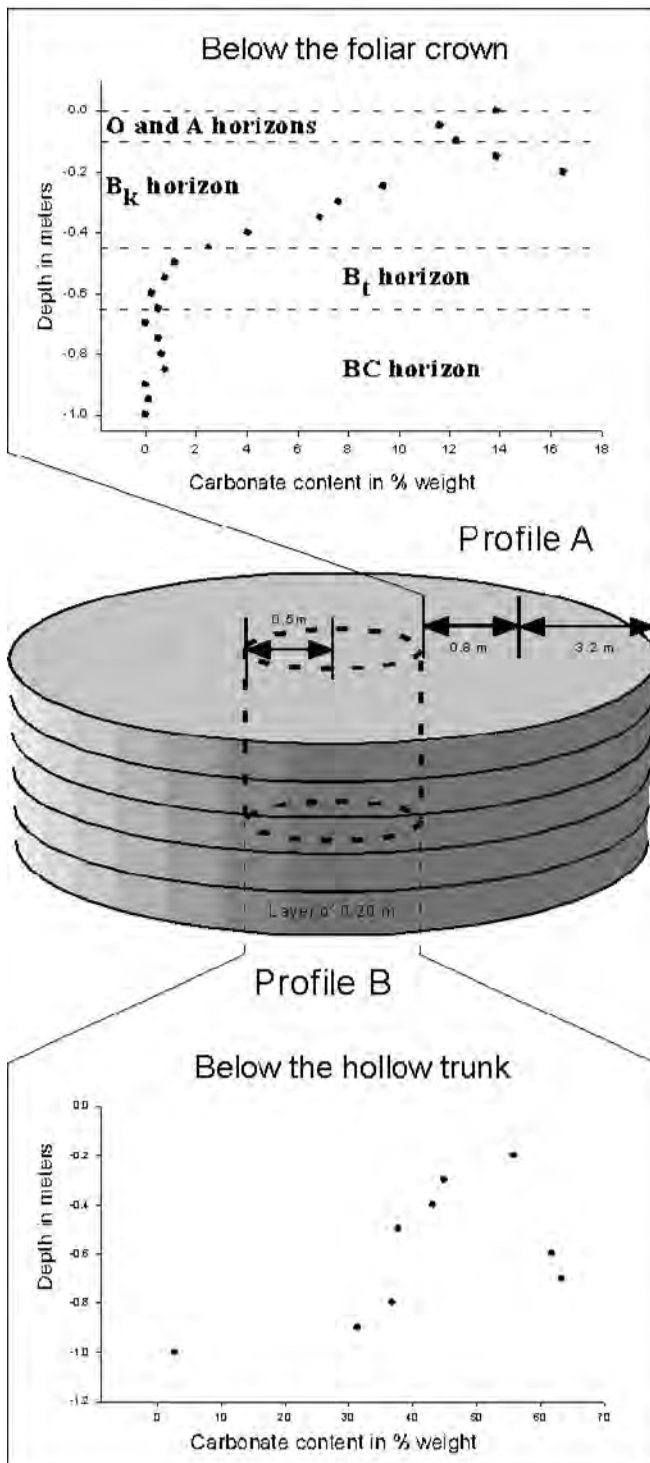


Fig. 2 Description of the method used to quantify CaCO_3 accumulation around an iroko tree. Overestimation for this quantification is excluded because the highly calcified stump, as well as the largest blocks of carbonate inside the torus, are not taken into account in the calculations. CaCO_3 content is determined for each 20-cm-thick layer. The carbonate content is assumed to be constant in each layer of the two soil volumes. For the torus, a decrease in carbonate content is obvious when moving away from the tree (compared with the high carbonate content below the trunk). CaCO_3 is considered to be absent out of the whole volume considered in the calculations. Nevertheless, this approximation remains the best average in the absence of more data

ecosystem represents a potential net positive balance for carbon sequestration.

Quantification of the potential mineral carbon sink given in this study is an *underestimation* of the mineral carbon content because the mineralized tissues of the tree itself are not taken into account (i.e. the tree above the ground level as well as living but partly mineralized tissues such as roots). The system is considered as a cylinder of 9 m in diameter, outside of which the carbonate content is considered as nil because the soil does not react with HCl beyond 4.5 m from the centre of the trunk. This cylinder is composed of two parts (Fig. 2), (1) a cylinder of 1 m in diameter corresponding to the projection of the hollow trunk, in which the CaCO_3 content is given by Profile B and (2) a torus, in which the amount of CaCO_3 is given by Profile A. The CaCO_3 content is first calculated using 0.20-m-thick layers, in which the concentration of CaCO_3 is considered to be approximately constant. The CaCO_3 content inside each individual layer is then totalled to give the amount of CaCO_3 around the tree. The total amount of mineral carbon trapped during the life of the 80-year-old tree is estimated at 979 kg, which is equivalent to 12.25 kg of C/year inside the soil. By comparing the extent of Ivory Coast's primary rainforest (16 million ha; EFI 2003) to the twentieth-century forest (3.5 million ha; Brou 1999, cited in EFI 2003), the mineral carbon sink deficit during 1 year can be calculated. Although, the density of irokos has been estimated as 1–3 specimens per hectare (FAO 2003), only 1 tree/ha is taken into account in this study in order to minimize the risk of overestimation. Moreover, this calculation was only made for the rainforest because of the lack of data for tree density in savannas. Therefore, the annual mineral carbon sink deficit due to the iroko system can be estimated as a minimum of 1.53×10^{-4} PgC for Ivory Coast. Associated organic carbon, i.e. the tree and the soil organic matter, is not taken into account in these calculations.

Discussion and conclusion

Secondary soil carbonate pools are well known (e.g. calcrete, caliche) but they are almost never considered in the global carbon balance, undoubtedly because: (1) processes involved in their formation are poorly understood and (2) they are mainly considered as CaCO_3 redistributions with a zero net balance for the terrestrial carbon cycle. Nevertheless, the existence of a mineral carbon sink (in the form of CaCO_3) due to the iroko tree ecosystem (via the oxalate-carbonate cycle; see Fig. 1) has demonstrated that carbon organic matter is not the only carbon trap that must be considered in the terrestrial carbon cycle. This mineral carbon sink can be compared to the global CO_2 emissions of volcanoes.

Global CO_2 emissions to the atmosphere by volcanoes (Williams et al. 1992) are a source of 2.94×10^{-2} to 5.18×10^{-3} PgC. The annual mineral carbon sink deficit due to deforestation in Ivory Coast is 1.53×10^{-4} PgC. This

result takes into account only one species (irokos) and only its distribution in the rainforest (savannas have been ignored). By comparing these figures, soil mineral carbon sequestration for one country and one tree species is only one to two orders of magnitude lower than global volcano CO₂ emissions. Therefore, particular attention should be paid to deforestation, and not only for reasons of biodiversity preservation. In addition, the difference in sustainability of soil organic matter versus mineral carbon (as carbonate) pools demonstrates that biomineralization, i.e. the transformation of atmospheric CO₂ into “geological” carbonate, must have had a considerable and longer impact on CO₂ concentration, in the present and past atmospheres. In conclusion, biologically-induced mineralization in the Plant Kingdom undoubtedly constitutes a more efficient and longer term carbon sink than carbon sequestration by soil organic matter.

Acknowledgements The authors thank the CSRS (Swiss Science Research Centre, Abidjan, Ivory Coast) and Mr. E. Bomisso, Université de Cocody, Abidjan, Ivory Coast. Two anonymous reviewers helped to improve the manuscript. This work is supported by the Swiss National Science Foundation, grant no 2153-065174.01.

References

- Braissant O, Verrecchia EP, Aragno M (2002) Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? *Naturwissenschaften* 89:366–370
- Braissant O, Cailleau G, Dupraz C, Aragno M, Verrecchia EP (2003) Biomediated carbonate storage: a longer term carbon sink than organic matter. In: 4th Swiss Global Change Day, April 4, 2003, Bern, Switzerland
- Campbell WG, Fisher RC (1932) The composition and origin of “stone” in Iroko wood (*Chlorophora excelsa*, Benth. and Hook. f.). *Emp For J* 11:244–245
- Carozzi AV (1967) Recent calcite-cemented sandstone generated by the equatorial tree iroko (*Chlorophora excelsa*), Daloa, Ivory Coast. *J Sediment Petrol* 37:597–600
- Cromack K, Sollins P, Todd RL, Fogel R, Todd AW, Fender WM, Crosley ME, Crosley DA (1977) The role of oxalic acid and bicarbonate in calcium cycling by fungi and bacteria: some possible implications for soil animals. *Ecol Bull Stockholm* 25:246–252
- EFI (2003) European Forest Institute: http://www.efi.fi/cis/english/creports/ivory_coast.php
- Elbersen GWW, Davie G, Van Reeuwijk LP, Janssen RPT (1999) The carbon sink function of calcic horizons quantified by means of stable isotopes of strontium. In: 6th International Meeting on Soils with Mediterranean Type of Climate. Section II, Soil Chemistry, pp 105–107
- FAO (2003) Food and Agriculture Organisation <http://www.fao.org/docrep/n6845f/n6845f03.htm>
- Gadd GM (1999) Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal physiology and biochemical processes. *Adv Microb Physiol* 41:47–92
- Harder W, Wiersma M, Groen L (1974) Transport of substrates and energetics of growth of *Pseudomonas oxalaticus* during growth on formate or oxalate in continuous culture. *J Gen Microbiol* 81:ii–iii
- Horner HT, Wagner BL (1995) Calcium oxalate formation in higher plants. In: Khan SR (ed) Calcium oxalate in biological systems. CRC, Boca Raton, pp 53–72
- Ministère du Plan de Côte d’Ivoire (1979) Atlas de Côte d’Ivoire. Association de l’Atlas de Côte d’Ivoire, Abidjan, Côte d’Ivoire
- Prentice IC, Farquhar GD, Fasham MJR, Goulden ML, Heimann M, Jaramillo VJ, Kheshgi HS, Le Quéré C, Scholes RJ, Wallace DWR (2001) The carbon cycle and atmospheric carbon dioxide. In: Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ, Noguer M, Linden PJ van der, Dai X, Maskell K, Johnson CA (eds) Climate change 2001: the scientific basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, pp 183–237
- Retallack GJ (1990) Soils of the past: an introduction to paleopedology. Unwin-Hyman, London
- Simkiss K, Wilbur KM (1989) Biomineralization, cell biology and mineral deposition. Academic Press, San Diego
- Stoorvogel JJ, Van Breemen N, Janssen BH (1997) The nutrient input by Harmattan dust to a forest ecosystem in Côte d’Ivoire, Africa. *Biogeochemistry* 37:145–157
- Williams SN, Schaefer SJ, Calvache ML, Lopez D (1992) Global carbon dioxide emission to the atmosphere by volcanoes. *Geochim Cosmochim Acta* 56:1765–1770



Biologically induced accumulations of CaCO_3 in orthox soils of Biga, Ivory Coast

Guillaume Cailleau^a, Olivier Braissant^a, Christophe Dupraz^a,
Michel Aragno^b, Eric P. Verrecchia^{a,*}

^a*Institut de Géologie, Université de Neuchâtel, Rue Emile Argand 11, CH-2007, Neuchâtel, Switzerland*

^b*Laboratoire de Microbiologie, Institut de Botanique, Université de Neuchâtel, Rue Emile Argand 9, C.P. 2, CH-2007 Neuchâtel, Switzerland*

Received 15 July 2003; received in revised form 1 June 2004; accepted 1 June 2004

Abstract

Biologically induced accumulations of calcium carbonate have been found inside orthox soils, under and around the native iroko tree *Milicia excelsa* (Moraceae) in Biga (Ivory Coast). The nature of these accumulations and their origin were studied in two soil profiles, directly under the tree and at a distance of 30 cm from the trunk. Microscale forms of CaCO_3 include: (1) wood pseudomorphic structures such as parenchyma cells, cellulose fibers, and calcitic vessel infillings; (2) three types of rhombohedra; and (3) needle fiber calcite (NFC). In addition, large scale blocks exhibit three types of textures: (1) micritic calcite, which seems to be the original material; (2) light-colored sparite in moldic voids; and (3) asymmetrical radiaxial laminated fibrous cement. Some micritic aggregates and hemi-spherulites (vaterite) were found in the sap on the trunk as well as in soils on silica grains and the wood itself. The mineralogy of all these carbonate forms is mainly a stoichiometric calcite or a moderately enriched Mg calcite. However, some samples contain monohydrocalcite, as well as two polymorphs of calcium oxalate (weddellite and whewellite). Calcite precipitation is facilitated by the oxidation of oxalate by soil bacteria that contributes to the increase in pH in Biga soils. This is in contrast to conventional orthox soils. Therefore, three conditions are necessary for biologically induced precipitation of calcium carbonate in orthox soils associated with iroko trees: the presence of a large amount of oxalate (originating from the tree and fungi), the existence of an oxalotrophic flora for oxalate oxidation into carbonate, and a dry season.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Carbonate accumulations; Iroko tree; Orthox soils; Oxalate; Biomineral

* Corresponding author. Tel.: +41-32-7182600; fax: +41-32-7182601.

E-mail address: eric.verrecchia@unine.ch (E.P. Verrecchia).

1. Introduction

In Ivory Coast, the exotic iroko tree *Milicia excelsa* (Moraceae) grows on orthox soils, which normally have a pH between 4.3 and 6.0 (Leneuf, 1959). Unexpected accumulations of calcium carbonate have been found in, under, and around the trees even though the stable pH for calcite is ≈ 8.4 in these environmental conditions of pressure and temperature. Irokos observed in the study area (northern Ivory Coast, Daloa County) are the remains of a primary rainforest. Today, savanna dominates the region, where most of the observations have been conducted. The iroko trees observed are at least 100 years old and have trunk diameters measuring 2 m on average at 1 m from the ground. These trees are still alive or have been cut by lumberjacks at least at 1 m from the ground because they are extremely mineralized near the ground surface (Braissant et al., 2004). It is not uncommon for chainsaws to be broken during logging operations by “stones” present in the wood. This mineralization was described by Campbell and Fisher (1932), Harris (1933), and Carozzi (1967) who mentioned the presence of calcareous sap, which contributed to form calcite-cemented sandstone around *M. excelsa*. These sandstones are principally located near damaged roots where bicarbonate-bearing sap bleeding occurs. The purpose of this paper is to study: (1) the morphologies of the various calcium carbonate accumulations in the soil, (2) their associated crystallinity and mineralogy, and finally, (3) the relationships between the various types of CaCO_3 , the iroko, and their distribution under the tree.

2. Geological setting

Orthox soils in Biga (Ivory Coast) have developed on Precambrian calco-alkaline granite and heterogenous granitoides with biotite as parent rocks (Carozzi, 1967; Teeuw, 2002). The Quaternary erosion of the Tertiary peneplanation led to an uneven landscape with a mean elevation between 200 and 300 m asl. The average rainfall is 1500 mm/year and the dry season lasts from December to January. The mean annual temperature is 24.5 °C (FAO, 2001). Field investigations were carried out on two profiles located near the village of Biga (Fig. 1; perimeter 4360 of the “Compagnie Ivoirienne de Bois”). Profile A is located at 30 cm from a hollow iroko trunk of about 2.5 m in diameter, which has been recently cut down (Fig. 2). The profile is 100 cm deep, and has been sampled every 5 cm. Profile B is located below the hollow trunk, and is 100 cm deep. The first 20 cm have not been sampled because they are partially of anthropogenic origin. This profile has been sampled every 10 cm.

3. Materials and methods

Three types of samples have been taken: biomineralized wood on the rootstock, carbonate-rich sap on the trunk, and bulk soil samples from two profiles. In both profiles, two types of carbonate features have been studied: (i) disseminated calcium carbonate features found inside the soft soil, and (ii) mineralized wood fragments and large scale

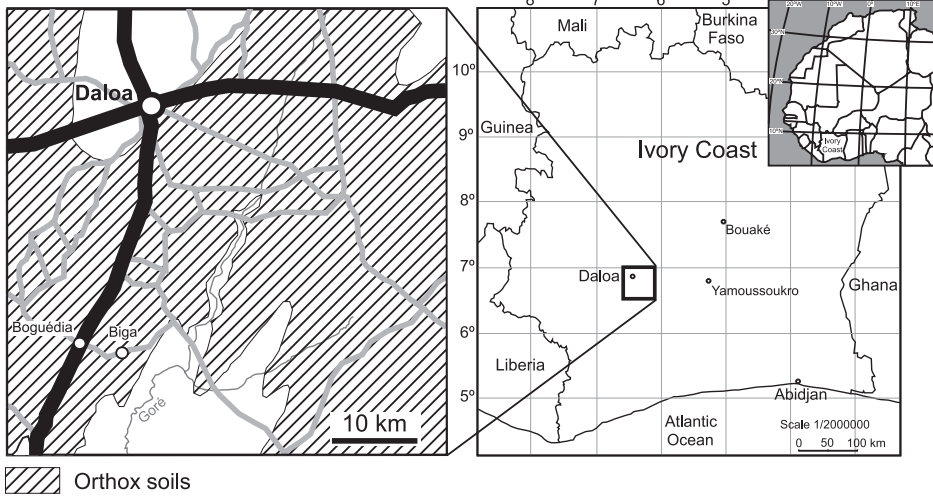


Fig. 1. Maps of the study area showing the extent of orthox soils in which calcium carbonate accumulations have been found.

blocks. Disseminated carbonates were titrated using sulfuric acid (0.5 N) and sodium hydroxide (0.5 N): 1 g of bulk sample has been used if it contained < 50% carbonate by weight. Only 0.5 g has been dissolved if the first titration indicated > 50% carbonate by weight. The carbonate content of the second type of feature has been measured by the

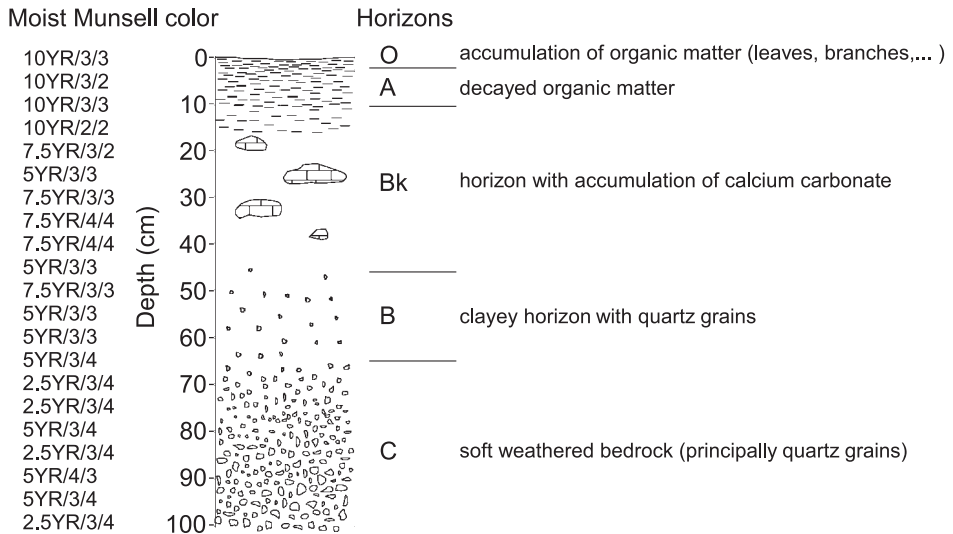


Fig. 2. Reference “pseudo-calciorthid” soil (Profile A at Biga site).

difference between 1 g of original material and the weight of the same material after dissolution in 10% hot hydrochloric acid during 1 h.

In addition, each sample was observed under a binocular microscope. Thin sections have been made of blocks and soft soil samples after resin induration. Observations on some particular features have been made using a Phillips XL30 scanning electron microscope (SEM) including the cryo-scan mode. Systematic X-ray diffraction analysis of carbonates from Profile A has been performed using a Scintag diffractometer. Soil $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ data have been obtained from a solution of 10 g of bulk soil dispersed in 25 ml of deionized water for 16 h. The pH of the resulting solution was measured using a Metrohm Titroprocessor. In order to explain some rhombohedral textures, iroko bark fragments have been burned at 500 °C during 1 h, removed from the oven and left at ambient air temperature for 2 days.

Two rainfalls have been sampled at the beginning of the wet season. Two soil extracts have been performed (1 kg soil/1 l water) to quantify the labile calcium ion content. Calcium content has been analyzed by liquid chromatography using a Dionex chromatograph with a conductivity detector.

4. Results

Various carbonate features have been found in the soil associated with the iroko tree. They include calcified wood microstructures such as parenchyma cells and cellulose fibers, different types of rhombohedra, needle fiber calcite, large blocks, micritic aggregates, and hemi-spherulites. These features are classified according to their nature and the environment in which they are found. Their mineralogy is discussed when it has been possible to sample them individually. In addition, their distribution along Profile A is presented.

4.1. Mineralized wood tissues

All the fine features have been preserved in the calcified wood pseudomorphic tissues in both profiles. These include mineralized parenchyma cells (Fig. 3A), cellulose fibers (Fig. 3B), and calcitic vessel infillings, (Fig. 3C,D). They are found either individually, dispersed in the soil, or in extremely well-preserved wood tissues (Fig. 3A). Some root samples (up to 1050 g) have a CaCO_3 content between 97% and 99%. In Profile A, there are less well-preserved CaCO_3 wood pseudomorphic tissues than in Profile B, in which the soil carbonate content can reach up to 63%.

4.2. Rhombohedra

Three types of rhombohedra are distinguished based on their texture. The first type of rhombohedron (Type I) is characterized by smooth crystal faces and has a size $\approx 100\text{--}120\ \mu\text{m}$ (Fig. 4A). These rhombohedra are found in a polysaccharide-rich medium interpreted as sap by Carozzi (1967). Sampled on the trunk itself, they can also be found in the upper 50 cm of the profile near the trunk or the tree roots, when wounds to the tree caused by wild animals release sap to the surroundings.

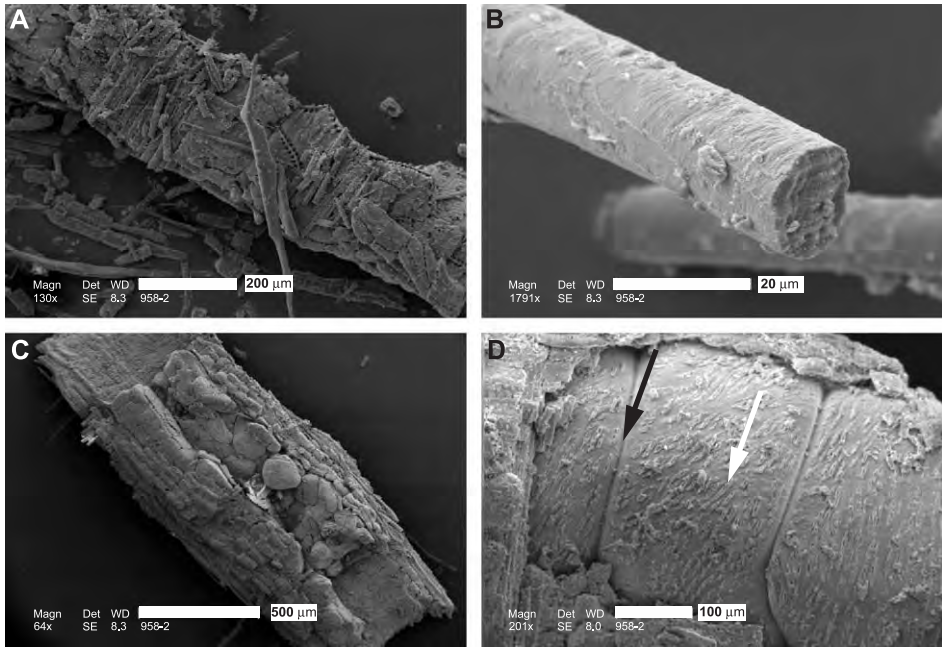


Fig. 3. Scanning electron microscope (SEM) micrographs of mineralized wood structures principally found in Profile B. The mineralized wood has a stoichiometric calcite mineralogic signature. (A) Calcified wood with well preserved cell walls. (B) Wood tissues can be found as large pieces, as well as isolated cellulose fibers. Note the extremely fine preservation of the wood structure during calcite mineralization. (C) Partial conductive vessel infillings showing various crystal morphologies. These vessel infillings can also be found dispersed in the soil. (D) Detail of a conductive vessel infillings. The parietal imprint (white arrow) as well as tyloses (black arrow) are clearly visible.

The second type of rhombohedron (Type II) has been found along Profile A, from the surface to a depth of 70 cm. The size of these rhombohedra ranges from 5 to 70 μm with a mean size of 15 μm (Fig. 4B). These rhombohedra are atypical compared to the more common texture of the Type I rhombohedron. SEM observations show stacking of nanospheres about 200 nm in diameter (Fig. 4C,D) with various stages of coalescence. This specific arrangement induces a significant nanoporosity. The distribution of these nanospheres follows oriented crystallographic planes, typical of the rhombohedral system. Under plane polarized light (PPL), these rhombohedra seem to be composed of micritic grains without showing full extinction under crossed polarized light (XPL).

The third type of rhombohedron (Type III) observed in Profile A occurs below 20-cm depth. The size of these rhombohedra ranges from 30 to 125 μm . SEM observations show crystals with smooth faces (Fig. 4E). Nevertheless, two structures appear under XPL (Fig. 4F): a micritic core, surrounded by a more lighter layer, composed of subhedral crystals ranging from 2.5 to 5 μm in size. SEM observations of a partially broken rhombohedron confirm that the micritic internal structure is composed of the same nanospheres (200 nm in diameter) as Type II crystals. Types II and III rhombohedra

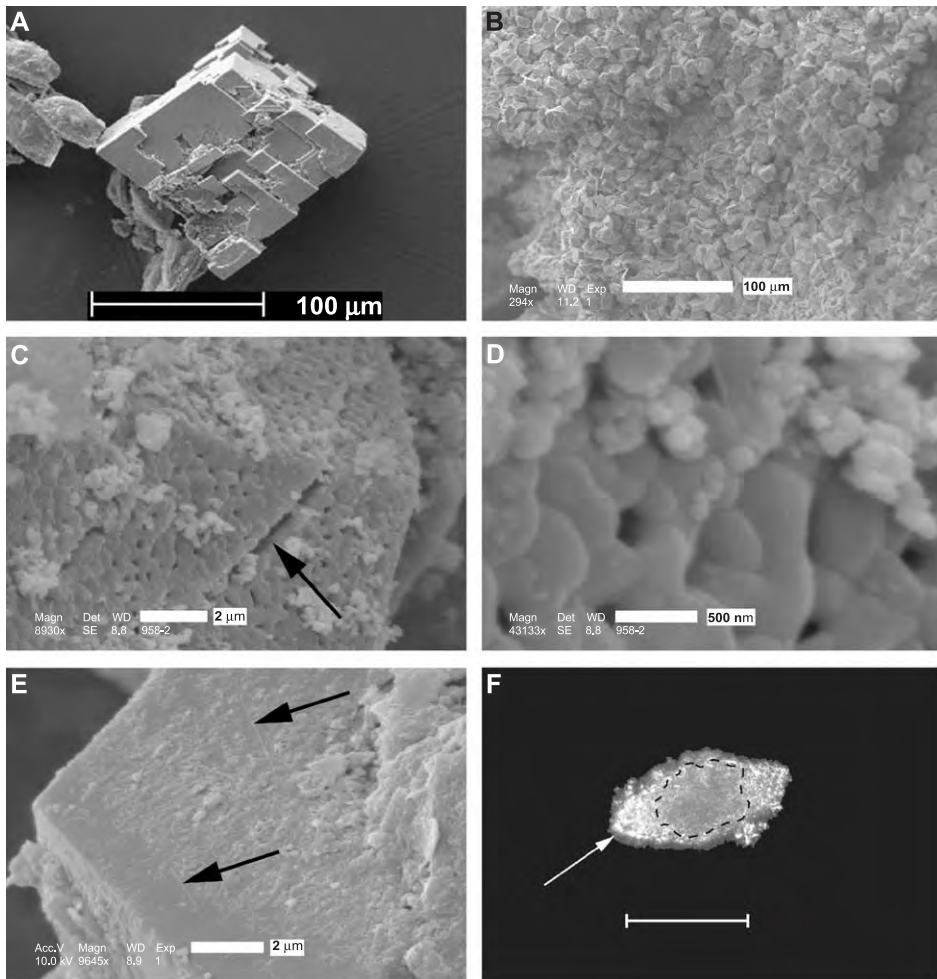


Fig. 4. SEM micrographs of rhombohedral crystal patterns. (A) Type I rhombohedron characterized by smooth faces, found in the sap sampled on the trunk. (B–F) Type II rhombohedra found in the upper part of Profile A. (B) Rhombohedra accumulation in the form of grain coatings in soil vughs. These rhombohedra have various habits. (C) Detail of a rhombohedron surface: faces and edges are well developed despite its atypical texture. Frequently, crystals are fractured (black arrow). (D) Detail of a crystal face composed of coalescent nanospheres (≈ 200 nm in diameter). Note the nanopores between some coalescent nanospheres. (E) Type III rhombohedron with smooth crystal faces, which coexist with Type II rhombohedra. Black arrows show fine long rods, systematically associated with these rhombohedra inside the soil. (F) Cross polarized light (XPL) micrograph: a micritic core (in the area inside the dashed line) composed of nanospheres is surrounded by a lighter layer, corresponding to the smooth and well crystallized faces (white arrow). Bar = 50 micrometers.

coexist at the same depth in the soil. The difference in shape between these three types of rhombohedron is illustrated in Fig. 5 and Table 1, which summarizes their size, structure, porosity, and location.

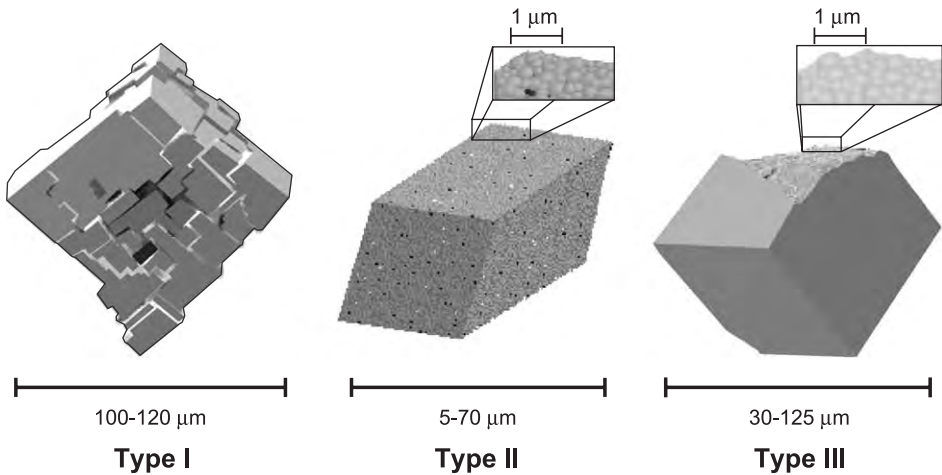


Fig. 5. Three different types of rhombohedra observed at the Biga site.

4.3. Needle fiber calcite

Needle fiber calcite (NFC) is only present in Profile A. NFC can be found in the soil from 30 to 80 cm in depth but is not the most important carbonate feature along the profile in terms of mass. It appears as a coating on quartz and iron oxide grains, sometimes associated to a soil-feeder termitary. At a depth of 80 cm, it is the only calcitic feature observed and consequently chemically titrated. According to the classification of Verrecchia and Verrecchia (1994), the needles (Fig. 6) are identified as: (i) the single M type, described as monocrystalline micro-rods (Fig. 6A, black arrow), is smooth to slightly irregular, with a length of 2–3 μm and a diameter of 100 nm; (ii) the MA type is composed of monocrystalline rods (Fig. 6A, white arrow). These needles are smooth, paired (MA3 and MA4 subtypes), 150–200 μm long and with an average width of 0.4 μm ; and (iii) the MAB type (Fig. 6B), which is an evolution of the MA type showing epitactic growth of CaCO_3 . The latter type starts to form the serrated edge, the structure typical of the MB

Table 1
Differences between the three types of rhombohedra

Rhombohedron type	Type I	Type II	Type II
Size	100–120 μm	5–70 μm	30–125 μm
Shape	Euhedral	Euhedral to subhedral	Euhedral
Structure	Monocrystalline	Stacked nanospheres	Stacked nanospheres with epitactic calcium carbonate infilling nanoporosity
Porosity	No porosity observed	Nanoporosity	No porosity observed
Location	In sap and in the upper 50 cm of soil	In the upper 70 cm of soil	Below 20 cm of soil

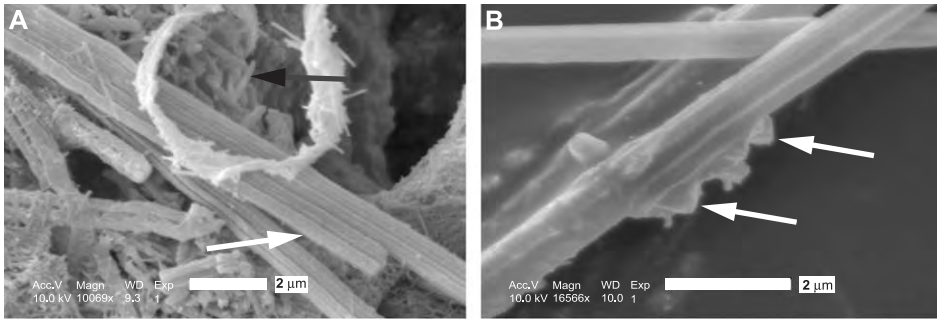


Fig. 6. SEM micrographs of needle fiber calcite at 35-cm depth in Profile A. (A) Cluster of needle fiber calcite in a soft sample. Black arrow: M type microrod; white arrow: paired needle fiber calcite of MA type. The white ring is an organic filament covered with crystals. (B) Needle fiber calcite of MAB type. White arrows: epitaxial calcite crystals forming the serrated-edged structure.

type. No MB type has been found in this profile. The least abundant type found in the profile is the MAB type, the two other types (M, MA) constitute most of the NFC found at the Biga site.

4.4. Large blocks of calcium carbonate

Some large scale irregularly shaped blocks of carbonate have been found around the trees. At first, they appear similar to those already observed by Carozzi (1967). The blocks found in this study are maximum 30 cm long and weigh up to 2.3 kg (Fig. 7A). However, Carozzi found hardened blocks “1–1.5 m in size” (Carozzi, 1967, p. 598).

Thin section observations allow three types of calcite textures to be distinguished: (i) a micritic calcite, which seems to be the original material compared to (ii) a light sparitic calcite. This latter phase is the only feature present in moldic voids (dissolved Gastropods shells) that are not systematically infilled. Nevertheless, both textures coexist irregularly in the matrix of the bulk samples. Except for the moldic voids, the coarse crystals (15–20 to 70 µm) are rich in inclusions, indicating replacement or growth in a pre-existing micrite; (iii) in addition, asymmetrical radiaxial laminated fibrous cement (which is inclusion-free) has also been observed on a matrix (Fig. 7B). An additional texture already described in this paper is the presence of rhombohedra, 80–100 µm in size (Fig. 7C) in some voids. The size, as well as the monocrystalline structure sometimes enriched in inclusions, seems to indicate a Type I rhombohedron.

The observed blocks are not similar to those described by Carozzi (1967), as no quartz grains have been observed in them and calcite is the essential component. In close vicinity to the carbonate blocks, typical orthox material includes some carbonate grains and clusters. This material has only been observed at the external surface and in the outer few first centimeters of the block. Locally, some fans of radiaxial fibrous cement grow from a straight micritic and/or organic line on which other inverted fans grow in the opposite direction. Several of these layers can be observed, always associated with wood features, which are found on the periphery of the sample. These

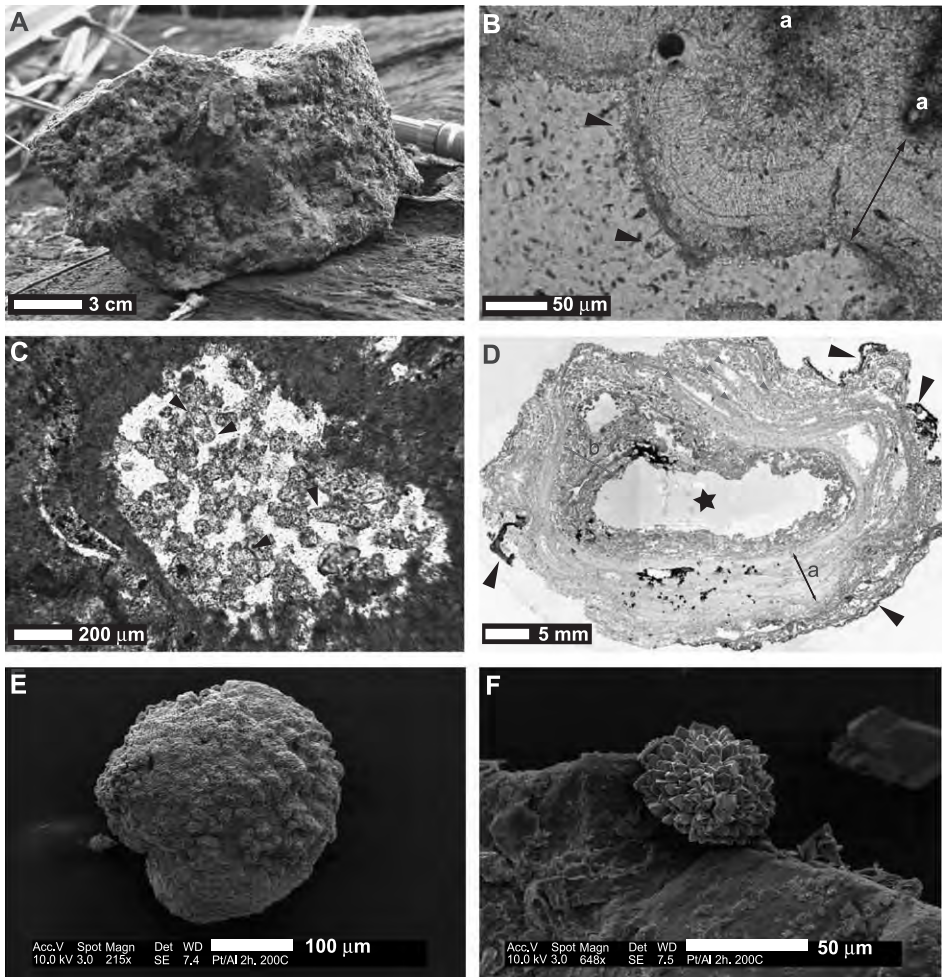


Fig. 7. Large carbonate block features (A–F). (A) Large block of calcium carbonate found in Profile A. (B) Plane polarized light (PPL) thin section micrograph showing three different calcitic textures: initial micrite (a); finely laminated radiaxial fibrous cement (double headed arrow); micro-sparitic to sparitic semi-translucent cement with a locally palisadic arrangement (black arrows). (C) Cluster of rhombohedra at 30-cm depth (black arrows). They are identified as Type 1 because of their translucent texture and size (approximately 100 μm). (D) Transverse cross-section of a large block. Wood tissues are observed in the periphery of the block (black arrows). Concentric laminations (small arrows) are found in the partially calcified outer part of the sample (double headed arrow and a) and are generally in contact with wood tissues; these tissues constitute the boundary between the blocks and the orthox soil matrix. The inner part of the block has a clotted fabric with a micritic texture (double headed arrow and b). Star: central void. (E, F) SEM micrographs: (E) micritic aggregate found in the top of Profile A as well as in the sap. (F) Vaterite hemi-spherulite growing on a silica substrate.

successive layers are concentric (Fig. 7D), disappearing from the external surface of the sample to its inner part, which exhibits a granular texture. The centre of the sample is hollow.

4.5. Micritic aggregates and hemi-spherulites

Micritic aggregates are found in the sap on the trunk as well as in the profile below the tree to a depth of 40 cm. These features consist of micrite grains agglomerated in irregular masses (Fig. 7E). They can also form porous micritic spherical aggregates, embedded in an exopolysaccharidic biofilm, which gives a soft cohesion to the whole mass.

In some wood fragments (60 cm deep), calcium carbonate hemi-spherulites were found developed on silica grains or on the wood (Fig. 7F). Their mineralogy has not been determined by X-ray diffraction analysis because of the technical impossibility of micro-sampling. These spherulites, 50 μm in size, are virtually identical to those produced by Braissant et al. (2003) in amino acid-enriched media. These spherulites have been identified as vaterite (CaCO_3) by the authors.

4.6. Mineralogy

X-ray diffraction has been used to determine the mineralogy of carbonate accumulations in Profile A, some selected samples of Profile B, and some fragments of buried mineralized wood samples (to a depth of 60 cm). Mineralized wood tissues such as calcitic cellulose fiber pseudomorphoses, bulk calcified wood tissues, and vessel infillings have a strictly stoichiometric calcitic signature. In one sample, monohydrocalcite has been detected (at 50 cm in depth; Fig. 8A). In Profile A, some samples exhibit a dissymmetric peak attesting to the presence of more than one type of calcite. The shoulder area, visible at the base of the peak, indicates the presence of a stoichiometric calcite and two other carbonate polymorphs variously enriched in magnesium. In addition, oxalate crystals identified as weddellite have been found in soil samples in the upper 20 cm of Profile A. X-ray diffraction analysis also indicates the presence of whewellite in wood fragments at a depth of 60 cm (Fig. 8B).

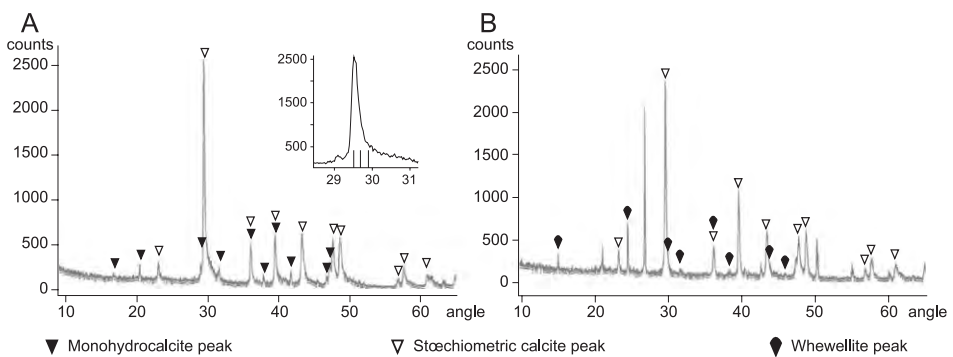


Fig. 8. (A) X-ray diffractogram of a mineralized wood sample (5-cm depth, Profile A) showing the presence of monohydrocalcite. The dissymmetric peak of calcite (104) has been treated by deconvolution, emphasizing the presence of three calcite polymorphs: a stoichiometric calcite (uncorrected peak at 29.50) and two Mg-calcites (uncorrected peaks at 29.68 and 29.89). (B) Whewellite in a partially mineralized wood fragment found at 60-cm depth in Profile A.

4.7. Calcium carbonate distribution in the soil

The O and A horizons are characterized by a 12% to 14% calcium carbonate content. In these horizons, two morphologies of CaCO_3 were observed: wood tissues and Types I and II rhombohedra. Wood tissues are the most important features to contribute to calcium carbonate accumulation, although the rhombohedra's contribution is not negligible. The B_k horizon is characterized by various calcium carbonate forms: large blocks are often composed of 90% to 96% of CaCO_3 , whereas soft soil samples have a CaCO_3 content between 2.5% and 16.5%. All the morphologies that are described in this study (Types II and III rhombohedra, needle fiber calcite and blocks) are mostly concentrated in this horizon. Wood tissues disappear progressively with depth. Below the B_k horizon, B and BC horizons are characterized by low amounts of CaCO_3 (between 0% and 2%). Below the decrease in carbonate content noted at the base of the B_k horizon, CaCO_3 totally disappears in the lower part of the B horizon. Nevertheless, between a depth of 75 and 85 cm, the calcium carbonate content is slightly $>0\%$, mainly due to the presence of Type III rhombohedra and locally, NFC. This distribution is summarized in Fig. 9.

4.8. Calcium input

Three sources of calcium have been identified: (i) the parent rock, a calco-alkaline granite, can provide between 0.03 and 1.43 kg/ha/year of calcium depending on weathering rate and calcium content; (ii) analysis of two Biga rain samples allowed us

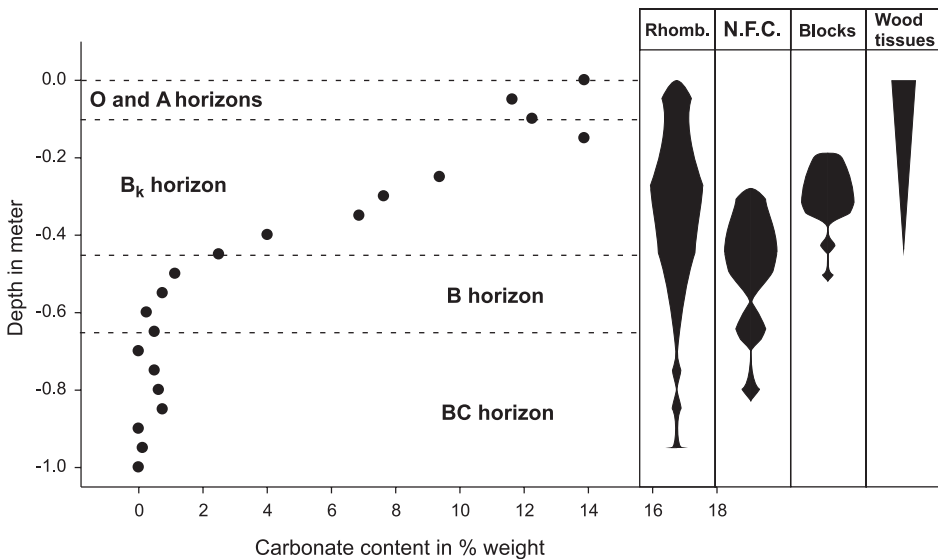


Fig. 9. Distribution of calcium carbonate content along Profile A and relative distribution of the most important CaCO_3 features. Comparison between feature concentrations is relative (thickness is not related to scale). Rhomb: rhombohedra; NFC: needle fiber calcite; Blocks: large CaCO_3 blocks; Wood tissues: CaCO_3 wood pseudomorphoses.

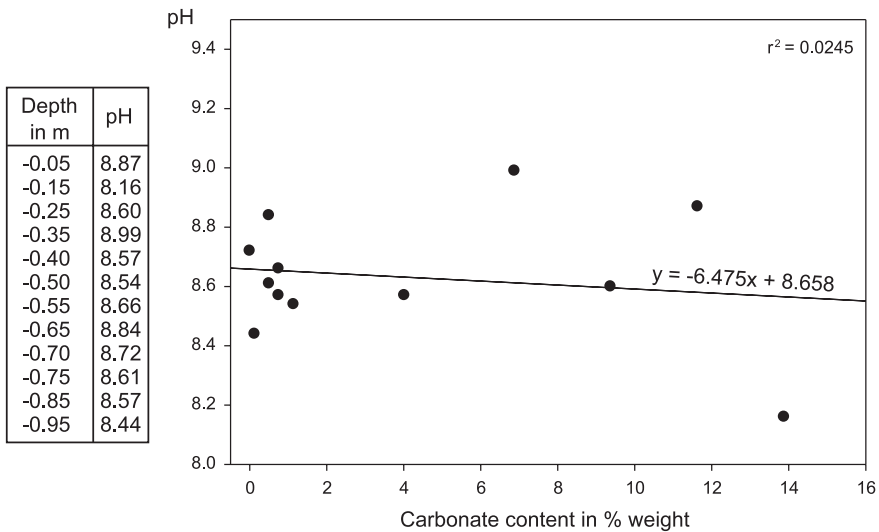


Fig. 10. Distribution of pH vs. depth. Scatterplot of carbonate content in % weight vs. pH. The regression line calculated using these data is characterized by a very low $r^2=0.0245$. There is no relationship between pH and carbonate content.

to determine that 5.4–4.8 kg/ha/year of calcium is provided to the soil. This value is in agreement with a previous average of 6.5 kg/ha/year of calcium determined from 19 rains (Stoorvogel et al., 1997); (iii) during the dry season, a large amount of dust from the Harmattan wind provides 3.5 kg/ha/year of calcium (Stoorvogel et al., 1997). In addition, soil extracts from two layers of Profile A (5- and 30-cm depth) contain 28 and 62 ppm of calcium, respectively.

4.9. Relationship between pH and calcium carbonate content

Soil pH ranges from 8.16 to 8.99 (Fig. 10). Except for one sample (15 cm deep), all measurements display a $\text{pH} > 8.4$ (stability pH of calcite at $p\text{CO}_2 = 3.43 \times 10^{-4}$ atm and $T = 25$ °C). The pH commonly measured in orthox soils from Ivory Coast developed on calco-alkaline granite parent rock is between 4.3 and 6 (Leneuf, 1959). In addition, rainwater sampled in the Daloa region had a $\text{pH} \approx 4.7$. The scatterplot of carbonate content in % weight vs. pH (Fig. 10) shows no relationship between pH and CaCO_3 content ($r^2 = 0.0245$).

5. Discussion

The pH of orthox soils in Ivory Coast has been measured to be between 4.3 and 6 (Leneuf, 1959). Surprisingly, calcium carbonate has been found in Biga soils where the pH is not supposed to be favorable for calcite precipitation. In addition, oxalate crystals have been detected in soil samples, wood tissues, and associated with Actinomycetes

(Fig. 11A–D). Is there a relationship between the presence of oxalate and CaCO_3 precipitation?

Some recent experimental work has emphasized the important role of soil bacteria in the consumption of oxalate, resulting in carbonate precipitation and increase in pH (Braissant et al., 2002). It has been shown that oxidation of oxalate by bacteria (such as

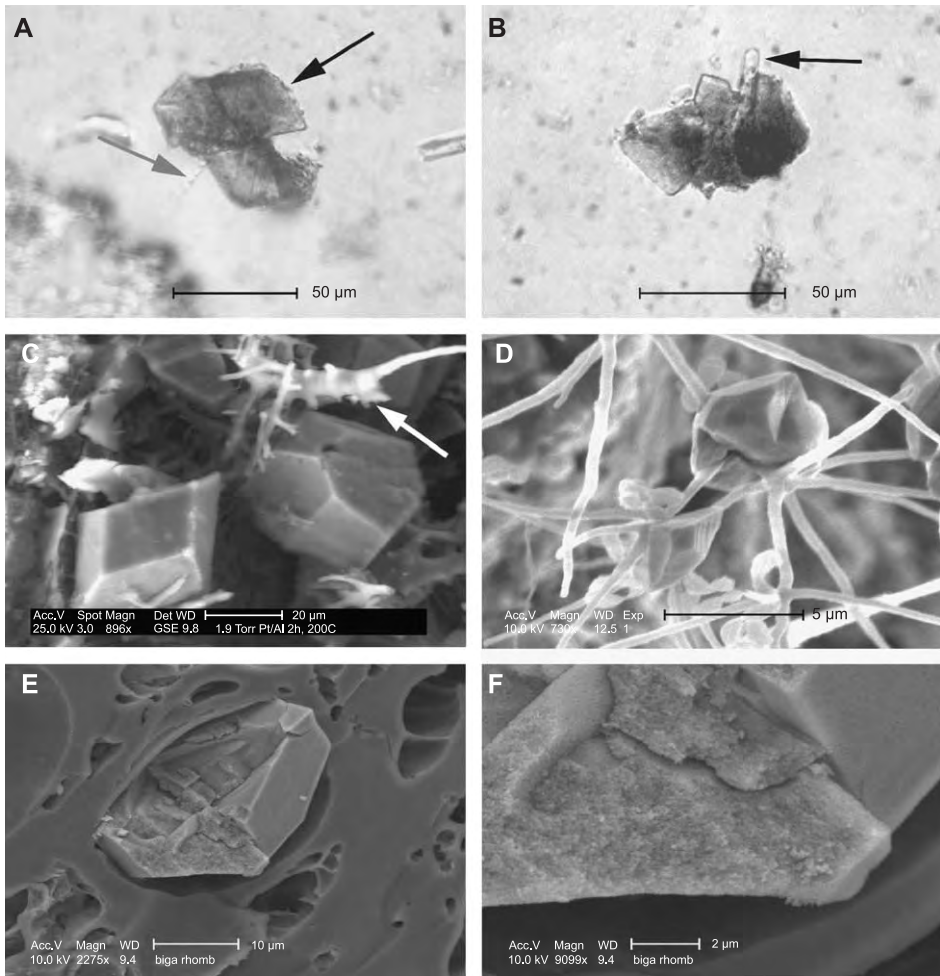


Fig. 11. (A, B) PPL micrographs under binocular: weddellite crystals found associated with rhombohedra in the upper 15 cm of Profile A. Black arrows show different weddellite habits; (A) bipyramidal habit, (B) rod habit. Grey arrow: microorganic filament. (C–F) SEM micrographs. (C) Oxalate crystals found in a wood fragment of the Profile A at 60 cm in depth (arrow: fungal filaments). (D) Oxalate crystal associated with nocardioform soil bacteria at 5 cm in depth (Profile A). (E, F) Cryo-SEM micrographs of calcite crystal obtained experimentally by burning iroko bark at 500 °C. (E) Calcite crystal broken along fractures during cryo-preparation; the fractures appear during oxalate–carbonate transformation. (F) Detail of the internal structure of calcitic pseudomorphic crystal of oxalate composed of stacked nanospheres.

Ralstonia eutropha and *Xanthobacter autotrophicus*) induced an increase in pH in the medium of up to 9.5, which is the value determined by theoretical calculations. This process probably strongly contributes to increase the pH in Biga soils, as well as calcite precipitation, iroko trees being an important source of oxalate (Braissant et al., 2004).

Regarding the calcium carbonate features, X-ray diffraction allowed the identification of various degrees of magnesium-enriched calcite in the CaCO_3 solid solution. The formula of three polymorphs have been calculated from peak deconvolution following Kübler's (1992) method: (i) CaCO_3 , (ii) $\text{Ca}_{0.94-0.93}\text{Mg}_{0.06-0.07}\text{CO}_3$, and (iii) $\text{Ca}_{0.87-0.85}\text{Mg}_{0.13-0.15}\text{CO}_3$ (Fig. 8A). In some samples, monohydrocalcite has also been detected associated with the calcite polymorphs (Fig. 8A). Individual magnesian-enriched calcite crystals have not been sampled because it is impossible to see a morphological difference between the various polymorphs. The origin of Mg-enriched calcite polymorphs is still unclear. Nevertheless, they can be linked to the presence of monohydrocalcite, which includes Mg-rich fluid inclusions. In addition, monohydrocalcite is assumed to be a precursor to magnesian-enriched calcite (Taylor, 1975; Skinner et al., 1977).

The atypical texture of Type II rhombohedra is similar to some of the crystals observed by Canti (2003) in plant ashes. This atypical texture is produced by the transformation of oxalate crystals into carbonate during burning. A temperature of 470 °C must be reached for the oxalate–carbonate transformation in a forest fire. Burning an iroko bark fragment produced crystals similar to soil rhombohedra (Fig. 11E–F). Type II rhombohedra must be interpreted as the result of natural or anthropic fires, which are common in Africa. Type III rhombohedra are the result of epitactic growth of calcite on Type II rhombohedra. The distribution of Types II and III rhombohedra in the soil is probably due to bioturbation by termites and/or ants.

Regarding needle-fiber calcite, its origin (inorganic or biological) has been discussed for a long time. Inorganic origin is possible when precipitation occurs from highly supersaturated solutions obtained during rapid evaporation, which leads to crystals with atypical shapes such as dendrites, needles, and whisker crystals (James, 1972; Riche et al., 1982; Jones and Ng, 1988; Jones and Kahle, 1993; Borsato et al., 2000). Nevertheless, highly supersaturated solutions can also be locally obtained during root activity and exchanges in the rhizosphere between root cells and soil solutions. This kind of supersaturation allows precipitation of calcite crystals with long habits (Harrison, 1977). A direct biologic origin for needle fiber calcite has also been proposed by Callot et al. (1985a,b), Verrecchia and Verrecchia (1994), Newman et al. (1996), Loisy et al. (1999), and Monger and Gallegos (2000). Needles are assumed to precipitate in fungal cell walls and to be released during biological decay or during soil moisture deficiency, leading to the hyphae bursting. M microrods similar to those described by Verrecchia and Verrecchia (1994) have been found in Profile A. They are probably microbial in origin, produced by threadlike and baciliform bacteria (Loisy et al., 1999).

Furthermore, the role of bacteria can also be emphasized for micritic aggregate genesis. Experimental work, in which oxalate consumption by *X. autotrophicus* was tested in a Biga soil-extract medium (Fig. 12A), produced micritic aggregates identical in shape and mineralogy to those found at the Biga site (compare Figs. 7E and 12A). Vaterite hemispherulites were also synthesized in amino acid-enriched media (Braissant et al., 2003). These synthetic hemi-spherulites (Fig. 12B) can be compared with natural hemi-spher-

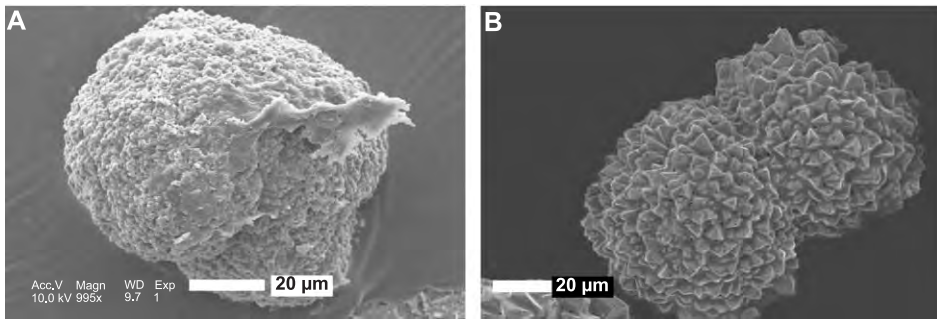


Fig. 12. SEM micrographs of spherulites. (A, B) Experimental CaCO_3 products. (A) Micritic aggregate produced on a Biga site soil-extract medium inoculated with *X. autotrophicus*. (B) Vaterite hemi-spherulites produced in the presence of L-aspartate (Braissant et al., 2003).

ulites found in sap (Fig. 7F), emphasizing the potential role of organic molecules in their genesis.

Two hypotheses can be proposed to explain why no quartz grains were found in the large blocks of calcium carbonate. (i) The silica and ferruginous phases have been dissolved when calcium carbonate accumulation occurred. This could explain the absence of a silica phase but in the samples found at >50-cm depth, quartz grains are plurimillimetric in size, and thus, it seems difficult to dissolve them. This hypothesis is unlikely and must be rejected. (ii) The calcium carbonate precipitates in a soil cavity, formed during wood fragment decay. The cavity can be enlarged posteriorly to the precipitation of the first calcite generation.

This hypothesis explains the preservation of the macro-void and the concentric and centripetal features. Organic material constitutes a framework for a first generation of cement, and after the disappearance of this framework, other generations can precipitate above and below the pre-existing calcitic fans. The numerous laminations, visible in the calcite cement, reveal a polyphased genesis. Therefore, large blocks found at the Biga site are likely to be the result of pre-mineralization of the outer wood structure, as has been described for the trunk itself (Braissant et al., 2004). When the inner wood tissues are decayed by soil organisms (in particular, termites), the mineralized outer structure can preserve a hollow space. A secondary centripetal calcium carbonate accumulation can plug this macro-porosity.

6. Conclusions

Calcium carbonate accumulations at the Biga site are found in many forms, ranging from euhedral crystals to large blocks with various textures. Different genetic factors have been inferred for these various forms. The presence of hemi-spherulites found in sap, and similar ones produced by experimental work (Braissant et al., 2003), stresses the role of exopolysaccharides and amino acids in calcium carbonate precipitation. Moreover, the link between micritic aggregates, oxalate, and soil bacteria seems established by experimental

work (Braissant et al., 2002). For example, the consumption of oxalate by soil bacteria on a Biga soil-extract medium has been observed and has led to micritic aggregate precipitations similar to those found at the natural Biga site. Moreover, some rhombohedra have been interpreted as the result of forest fire, natural or not, inducing oxalate–carbonate pseudomorphoses.

Even if very large blocks described by Carozzi (1967) have not been found at the Biga site, another type of block has been observed in this study. These large blocks of quartz-free carbonate are not the result of lithification of a pre-existing soil matrix like those found by Carozzi (1967). They are the remains of buried wood and root fragments, which underwent secondary calcium carbonate mineralization.

Calcium carbonate accumulation can occur in orthox acidic equatorial soils, showing that these soils can be locally alkaline. The presence of oxalate in the soil creates favorable conditions for CaCO_3 precipitation. During oxalate oxidation into carbonate by soil flora, the pH increases, allowing the reaction of carbonate species (HCO_3^- , CO_3^{2-}) with free Ca^{2+} , followed by the enhancement of calcium carbonate precipitation. It seems that a period of low rainfall is necessary to allow CaCO_3 accumulation in the upper soil. Moreover, the amount of CaCO_3 increases due to carbonate mineralization of the iroko tree itself. To summarize, three conditions seem necessary for calcium carbonate accumulations in orthox soils: (i) a large amount of oxalate, (ii) an oxalotrophic flora for oxalate oxidation into carbonate and (iii) a dry season.

Acknowledgements

The authors wish to thank the two reviewers, Professors G. Stoops and A. Yair, who greatly improved the first draft of this manuscript. CSRS (Swiss Science Research Centre, Abidjan, Ivory Coast) and Mr. E. Bomisso (Université de Cocody, Abidjan, Ivory Coast) provided help in the field. This work is supported by the Swiss National Science Foundation, grant no 2153-065174.01.

References

- Borsato, A., Frisia, S., Jones, B., Van Der Borg, K., 2000. Calcite moonmilk: crystal morphology and environment of formation in caves in the Italian Alps. *Journal of Sedimentary Research* 70, 1179–1190.
- Braissant, O., Verrecchia, E.P., Aragno, M., 2002. Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? *Naturwissenschaften* 89, 366–370.
- Braissant, O., Cailleau, G., Dupraz, C., Verrecchia, E.P., 2003. Bacterially induced mineralization of calcium carbonate in terrestrial environments: the role of exopolysaccharides and amino acids. *Journal of Sedimentary Research* 73, 485–490.
- Braissant, O., Cailleau, G., Aragno, M., Verrecchia, E.P., 2004. Biologically induced mineralization in the iroko *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment. *Geobiology* 2, 59–66.
- Callot, G., Guyon, A., Mousain, D., 1985a. Inter-relation entre les aiguilles de calcite et hyphes mycéliens. *Agronomie* 5, 209–216.
- Callot, G., Mousain, D., Plassard, C., 1985b. Concentrations de carbonate de calcium sur les parois des hyphes mycéliens. *Agronomie* 5, 143–150.
- Campbell, W.G., Fisher, R.C., 1932. The composition and origin of “stone” in Iroko wood (*Chlorophora excelsa* Benth. and Hook. f.). *Empire Forestry Journal* 11, 244–245.

- Canti, M.G., 2003. Aspects of the chemical and microscopic characteristics of plant ashes found in archaeological soils. *Catena* 54, 339–361.
- Carozzi, A.V., 1967. Recent calcite-cemented sandstone generated by the equatorial tree iroko (*Chlorophora excelsa*), Daloa, Ivory Coast. *Journal of Sedimentary Petrology* 37 (2), 597–600.
- FAO, 2001. <http://www.fao.org/giews/french/basedocs/ivc/ivcmet1f.stm>.
- Harris, C.M., 1933. Stone in *Chlorophora excelsa* B. and H. Iroko. *Empire Forestry Journal* 12, 229–238.
- Harrison, R.S., 1977. Caliches profiles: indicator of near-surface subaerial diagenesis, Barbados West Indies. *Bulletin of Canadian Petroleum Geology* 25, 123–173.
- James, N.P., 1972. Holocene and Pleistocene calcareous crust (caliche) profiles: criteria for subaerial exposure. *Journal of Sedimentary Petrology* 42, 817–836.
- Jones, B., Kahle, C.F., 1993. Morphology, relationship, and origin of fiber and dendrite calcite crystals. *Journal of Sedimentary Petrology* 63, 1018–1031.
- Jones, B., Ng, K.C., 1988. The structure and diagenesis of rhizoliths from Cayman Brac, British West Indies. *Journal of Sedimentary Petrology* 58, 457–467.
- Kübler, B., 1992. Calcites magnésiennes: identification et dosage par diffraction X de $MgCO_3$ dans la solution solide. Cahiers de l'Institut de Géologie, Laboratoire de Minéralogie, Pétrographie et Géochimie; Université de Neuchâtel, Institut de Géologie série AX, N.22, 15 pp.
- Leueuf, N., 1959. L'altération des granites calco-alcalins en Côte d'Ivoire forestière et les sols qui en sont dérivés O.R.S.T.O.M, Paris 210 p.
- Loisy, C., Verrecchia, E.P., Dufour, P., 1999. Microbial origin for pedogenic micrite associated with a carbonate paleosol (Champagne, France). *Sedimentary Geology* 126, 193–204.
- Monger, H.C., Gallegos, R.A., 2000. Biotic and abiotic processes and rates of pedogenic carbonate accumulation in the Southwestern United States—relationship to atmospheric CO_2 sequestration. In: Lal, R., Kimble, J.M., Eswaran, H., Stewart, B.A. (Eds.), *Global climate change and pedogenic carbonates*. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 273–289.
- Newman, B.D., Norman, D.I., Gundimeda, M., Levy, S.S., 1996. Understanding the genesis of nonmarine calcite deposits through quadrupole mass spectrometric analysis of fluid inclusion gases. *Chemical Geology* 132, 205–213.
- Riche, G., Rambaud, D., Riera, M., 1982. Etude morphologique d'un encroûtement calcaire, Région d'Irecê, Bahia, Brésil. *Cahiers Orstom. Série Pédologie* 19, 257–270.
- Skinner, H.C.W., Osbaldiston, G.W., Wilner, A.N., 1977. Monohydrocalcite in a guinea-pig bladder stone, a novel occurrence. *American Mineralogist* 62, 273–277.
- Stoorvogel, J.J., Van Breemen, N., Janssen, B.H., 1997. The nutrient budgets of a watershed and its forest ecosystem in the Taï National Park in Côte d'Ivoire. *Biogeochemistry* 37, 159–172.
- Taylor, G.F., 1975. The occurrence of monohydrocalcite in two small lakes in the southeast of South Australia. *American Mineralogist* 60, 690–697.
- Teeuw, R.M., 2002. Regolith and diamond deposits around Tortiya, Ivory Coast, West Africa. *Catena* 49, 111–127.
- Verrecchia, E.P., Verrecchia, K., 1994. Needle-fiber calcite: a critical review and a proposed classification. *Journal of Sedimentary Research* A64, 650–664.

Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment

OLIVIER BRAISSANT,¹ GUILLAUME CAILLEAU,¹ MICHEL ARAGNO² AND ERIC P. VERRECCHIA¹

¹*Institut de Géologie de l'Université de Neuchâtel, Laboratoire de Géodynamique de la Biosphère, Rue Emile Argand 11, 2007 Neuchâtel, Switzerland*

²*Institut de Botanique de l'Université de Neuchâtel, Laboratoire de Microbiologie, Rue Emile Argand, 9 Case Postale 2, 2007 Neuchâtel, Switzerland*

ABSTRACT

Iroko trees (*Milicia excelsa*) in Ivory Coast and Cameroon are unusual because of their highly biomineralized tissues, which can virtually transform the trunk into stone. Oxalic acid (C₂O₄H₂) and metal-oxalate play important roles in their ecosystems. In this study, the various forms of oxalate and carbonate mineralization reactions are investigated by using scanning electron microscopy and X-ray diffraction. Calcium oxalate monohydrate is associated with stem, bark and root tissues, whereas calcium oxalate dihydrate is found with wood rot fungi in soils, as well as in decaying wood. Laboratory cultures show that many soil bacteria are able to oxidize calcium oxalate rapidly, resulting in an increase in solution pH. In terms of *M. excelsa*, these transformations lead to the precipitation of calcium carbonate, not only within the wood tissue, but also within the litter and soil. We calculate that c. 500 kg of inorganic carbon is accumulated inside an 80-year-old tree, and c. 1000 kg is associated with its surrounding soil. Crucially, the fixation of atmospheric CO₂ during tree photosynthesis, and its ultimate transformation into calcite, potentially represents a long-term carbon sink, because inorganic carbon has a longer residence time than organic carbon. Considering that calcium oxalate biosynthesis is widespread in the plant and fungal kingdoms, the biomineralization displayed by *M. excelsa* may be an extremely common phenomena.

Received 11 July 2003; accepted 13 December 2003

Corresponding author: Dr Eric P. Verrecchia. Tel.: +41 (0)32 718 2579; fax: +41 (0)32 718 2601; e-mail: eric.verrecchia@unine.ch

INTRODUCTION

The African tree *Milicia excelsa* is a complex system, in which oxalic acid and metal oxalate play important roles. Calcium oxalate in plants has been reported to have many different functions. Oxalic acid is a low-molecular-weight organic acid, which is known to play a role in the regulation of free calcium ions in cytoplasm (Robert & Roland, 1989). In addition, calcium oxalate crystals in woody tissues are thought to render trees less palatable to termites and to act as a 'combustion-retarding agent' (Prior & Cutler, 1992). In leaves, calcium oxalate crystals provide physical protection against grazing animals. More recently, it was suggested that druse calcium oxalate crystals may help to distribute light evenly to the chloroplasts lining the radial walls and surrounding the vacuole in photosynthetic palisade cells of low-light-adapted plants (Franceschi, 2001). Calcium oxalate is particularly important because it is extremely common in plants and can

represent as much as 85% of a plant's dry weight (Robert & Roland, 1989).

No specific role has previously been proposed for oxalate in *M. excelsa*, because until now it has never been detected. Although its function remains unknown, metal-oxalate accumulation in *M. excelsa* must have important biogeochemical implications because oxalate minerals constitute a significant carbon source for oxalotrophic bacteria, which are numerous in both the tree and the surrounding litter. Moreover, wood-degrading fungi also influence the carbon (and some metal cation) cycles as a result of their production of large amounts of oxalic acid and other organic acids during the decay of cellulose and lignin (Cochrane, 1958; Dutton & Evans, 1996; Gadd, 1999).

The aim of this study is to investigate the role of bacteria and fungi in carbonate biomineralization within *M. excelsa*. Biomineralization (or mineralization) is defined in this study as the processes leading to inorganic mineral deposits

by living matter. In *M. excelsa*, we are particularly concerned with how the biogeochemical cycles of carbon, oxalate and calcium lead to the storage of inorganic carbon in the tree. The consequences of the transformation of oxalate into carbonate have already been studied with regard to soil fauna in temperate forests (Cromack *et al.*, 1977) and in Mediterranean to semi-arid calcrete environments (Verrecchia, 1990; Verrecchia & Dumont, 1996). Until now, however, no studies have been conducted in either a tropical environment or on the consequences of such processes in terms of carbon cycling and storage.

Discussions regarding the carbon sink in forests are predominantly focused on organic carbon storage, whereas soil mineral carbon is generally neglected. However, owing to the longer residence time of carbonate minerals in soils (10^2 – 10^6 years compared with 10 – 10^3 years for soil organic matter), storage of large quantities represents a potentially more efficient sink. *Milicia excelsa* is an excellent example of an ecosystem acting as a net carbon sink because carbonate accumulation involves only atmospheric CO_2 and Ca^{2+} from Ca-carbonate-free sources, i.e. calcium is not provided by the dissolution of primary (inherited) CaCO_3 . Considering the global distribution and the huge number of plants able to concentrate oxalate salts (Horner & Wagner, 1995), this potential source of carbon trapping should be clearly identified.

GEOLOGICAL SETTINGS

Samples were collected in Cameroon and Ivory Coast from trees having about the same diameter at a height of 1.20 m from the ground. In Cameroon, two sites were investigated: the first is situated 10 km west of Lolodorf ($10^\circ 47' \text{E}$, $3^\circ 13' \text{N}$) and the second is 15 km north of Yaounde, in the Leboudy region ($11^\circ 30' \text{E}$, $4^\circ 07' \text{N}$). At the first site, an evergreen forest grows on a yellowish brown lateritic (i.e. ferralitic) soil >3 m thick developed on a granitic bedrock (Tematio *et al.*, 2001). At the second site, the granite bedrock is overlain by a thin ferralitic soil (<1 m), covered by a semideciduous tropical forest. The climate at both Cameroon sites is equatorial with two wet seasons (April–July and September–December), a total precipitation 3000–5000 mm yr^{-1} and an annual mean temperature of around 25 °C.

In Ivory Coast, the study area is near the village of Biga ($7^\circ 32' \text{E}$, $6^\circ 36' \text{N}$), 30 km south from Daloa. This site is located on a reddish brown lateritic soil (i.e. a moderately desaturated ferralitic soil with 1–3 mEq/100 g of exchangeable bases and a mean pH of 5.5) developed on granitic parent material. This site was investigated for the first time by Carozzi (1967), who described a carbonate-cemented sandstone formed inside the lateritic soil and associated with *M. excelsa*. The vegetation at this site is a semideciduous tropical forest bordering a cleared forest (Ministère du plan, Côte d'Ivoire, 1979). The climate at the Ivory Coast site is tropical with two wet seasons (March–July and September–November), with a

total precipitation of about 2500 mm yr^{-1} . The mean annual temperature in Ivory Coast is 26.1 °C. *M. excelsa* is commonly logged in Ivorian forests.

MATERIALS AND METHODS

Milicia excelsa wood samples were tested for the presence of carbonate with 1 N hydrochloric acid. Wood, fractured bark and root samples were fixed with osmium tetroxide vapour and freeze-dried. Some of the samples were gold-coated, and then examined using Phillips XL20 and XL30 scanning electron microscopes with a 10 kV accelerating voltage to observe crystals formed in tissues and associated with wood-degrading fungi. Other parts of the samples were embedded in resin and prepared as thin sections (30 μm), and the remaining part of bark samples was crushed and analysed by X-ray diffraction (XRD) with a Scintag diffractometer.

The occurrence of oxalate-degrading bacteria in soils was monitored using soil inoculum in a 15 mL DSM 81 medium ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 9.0 g L^{-1} , KH_2PO_4 1.5 g L^{-1} , NH_4Cl 1.0 g L^{-1} , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g L^{-1} , ferric ammoniacal citrate 0.005 g L^{-1} , CaCl_2 0.01 g L^{-1} , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 15 $\mu\text{g L}^{-1}$, H_3BO_3 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15 $\mu\text{g L}^{-1}$) also containing 4.0 g L^{-1} potassium oxalate. After the medium turned cloudy, 500 μL of the enriched culture was transferred to 15 mL of the same fresh medium. After the second enrichment, 10 μL of the culture was plated onto a solid DSM 81 medium with a sterile plastic inoculating loop (Sigma, Buchs, Switzerland). Calcium oxalate was added to this medium. The oxalate consumption by the isolated strains was controlled by observing the calcium–oxalate 4 g L^{-1} dissolution on the DSM 81 medium as described by Tamer & Aragno (1980).

In order to monitor oxalate consumption in soils associated with *M. excelsa*, two common oxalate-degrading bacteria, *Ralstonia eutropha* (DSM 428, ATCC 17699) and *Xanthobacter autotrophicus* (DSM 432, ATCC 35674; Tamer & Aragno, 1980), were inoculated into soil extract media. One to one ratio soil extracts (1 kg soil per 1 L of water) were prepared according to the method described by Parraga *et al.* (1998). Major anions and cations of this extract were analysed by liquid chromatography using a Dionex chromatograph with a conductivity detector. Columns used for anions and cations were Dionex IonPac™ AS11-HC (4 × 250 mm) and Dionex IonPac™ CS12A (4 × 250 mm), respectively. Ionic composition of the soil extract was as follows: Na^+ 13 mg L^{-1} , NH_4^+ 6 mg L^{-1} , K^+ 23 mg L^{-1} , Mg^{2+} 10 mg L^{-1} , Ca^{2+} 45 mg L^{-1} , Cl^- 18 mg L^{-1} , NO_2^- 3 mg L^{-1} , NO_3^- 150 mg L^{-1} , SO_4^{2-} 32 mg L^{-1} , and PO_4^{3-} 21 mg L^{-1} . The first medium was obtained by adding 15 g L^{-1} agar to these extracts. A second type of medium was made by adding 4 g L^{-1} calcium oxalate. Crystals produced on the different media were collected with tweezers, gold coated and observed with a Phillips XL30 SEM.

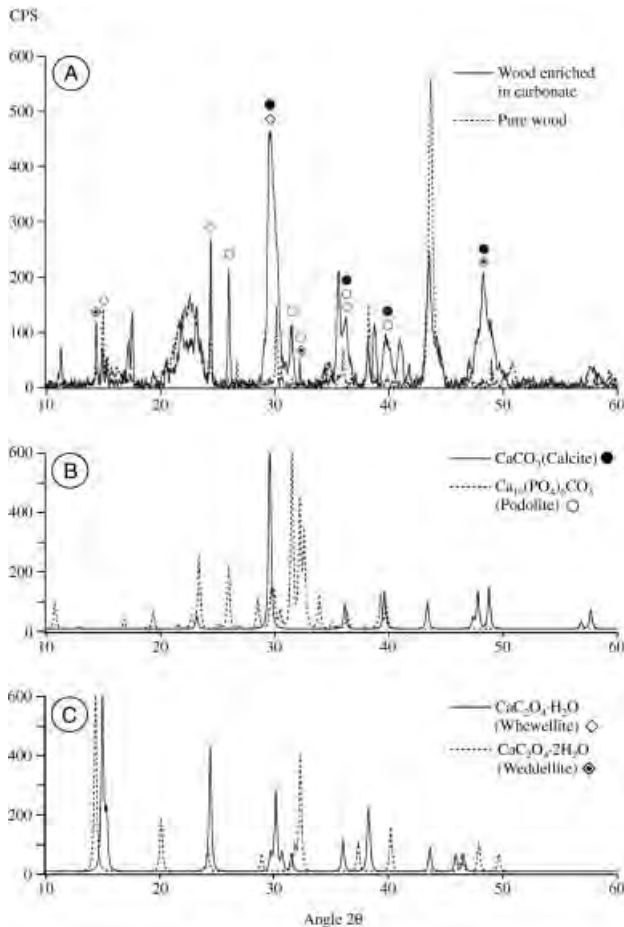


Fig. 1 X-ray diffractograms. A: wood samples enriched in carbonate and pure wood (symbols indicate characteristic peaks). B: reference calcite and calcium phosphate carbonate. C: reference calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate. Diffractogram A shows the strong differences between pure and carbonate-enriched wood.

RESULTS

X-ray diffraction analysis of *M. excelsa* wood and bark revealed the presence of calcium oxalate monohydrate [$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: whewellite], calcium oxalate dihydrate [$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: weddellite], calcium carbonate [CaCO_3], calcium phosphate carbonate [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$: podolite] and amorphous silica (Fig. 1). Scanning electron microscopy (SEM) showed the presence of euhedral whewellite crystals in the bark, as confirmed by X-ray analysis. These crystals, up to 50 μm in size, seem to be principally located near or in the conductive vessels of the wood (Fig. 2A,B). At the Ivory Coast site, large amounts of whewellite were also found forming a crust around *M. excelsa* roots (Fig. 2C,D).

On decayed or rotting wood, SEM indicated the presence of weddellite associated with the hyphae of some of the wood rot fungi (Fig. 2E,F). Monohydrate oxalate crystals were observed in stem tissues in both the Cameroon and Ivory Coast samples, whereas large amounts of monohydrate

oxalate associated with roots were only found in Ivory Coast *M. excelsa*. These roots do not form rhizoconcretions, but instead they are former living mineralized tissues that are found under the outer part of the root cuticle (Fig. 2C). In the latter case, it seems likely that whewellite is mainly associated with the living plant tissues, whereas weddellite is mainly related to decaying wood resulting from fungal activity. This is consistent with observations by Arnott (1995), who noted weddellite associated with wood rot fungi.

In both living and decaying wood, a large part of carbonate mineralized tissues is easily visible when thin sections of *M. excelsa* wood are observed by optical microscopy under polarized light (Fig. 3A,B). Moreover, anhedral to subhedral calcite crystals were observed filling conductive tissues using SEM (Fig. 3C,D). In addition, calcite rhombohedra and micritic aggregates were found in sap. Some of these micritic aggregates form spheres (Fig. 3E). Other carbonate features are found in sap and in decaying wood in the form of calcified tissues, including calcified cellulose fibres (Fig. 3F) and calcified cells (Fig. 3G), in which a calcified spheroid can be seen in the vacuole ghost (Fig. 3H). There is a striking difference between the Cameroon and Ivory Coast samples. In the former only traces of carbonate are found, whereas in the latter large parts of wood are replaced by carbonate.

More than 20 different morphotypes of oxalate-degrading bacteria were found in the soils surrounding *M. excelsa* (Fig. 2B). Some of these were identified as *Streptomyces* and other Actinomycetes, Pseudomonads and putative *Variovorax* (Sahin, 2003). All isolated strains quickly dissolved calcium-oxalate on the DSM 81 medium, and the resulting precipitation of calcium-phosphate-carbonate was identified by XRD, optical and electron microscopy, coupled with energy-dispersive X-ray (EDAX) analysis (Fig. 4A,B; Braissant *et al.*, 2002). For example, a rapid consumption of oxalate has been observed during the growth of a *R. eutropha* culture in a DSM 81 medium. After 48 h, oxalate is no longer present in the medium (Fig. 5). In addition, rapid dissolution of calcium oxalate was observed on a soil-extract medium to which calcium oxalate was added. On a 1 : 1 soil extract (with or without the addition of calcium oxalate) *R. eutropha* and *X. autotrophicus* show normal growth, demonstrating that an oxalate molecule is preferred to other carbon sources present in the soil extract. As the consumption of calcium oxalate by oxalotrophic bacteria progresses, the pH of the medium increases to a point at which calcium carbonate deposition is favourable. Spheroid micritic aggregates of calcite were also found in soil extract media associated with gypsum, showing that calcium oxalate associated with *M. excelsa* is rapidly consumed and transformed into carbonate (Fig. 4C,D). The precipitation of one or the other of the two minerals, calcite or podolite (a calcium-phosphate-carbonate), is mainly related to the concentration of phosphate in the different media (Stumm & Morgan, 1981). In DSM 81, phosphate is abundant because it is used as a buffer. Finally, one fungal strain was

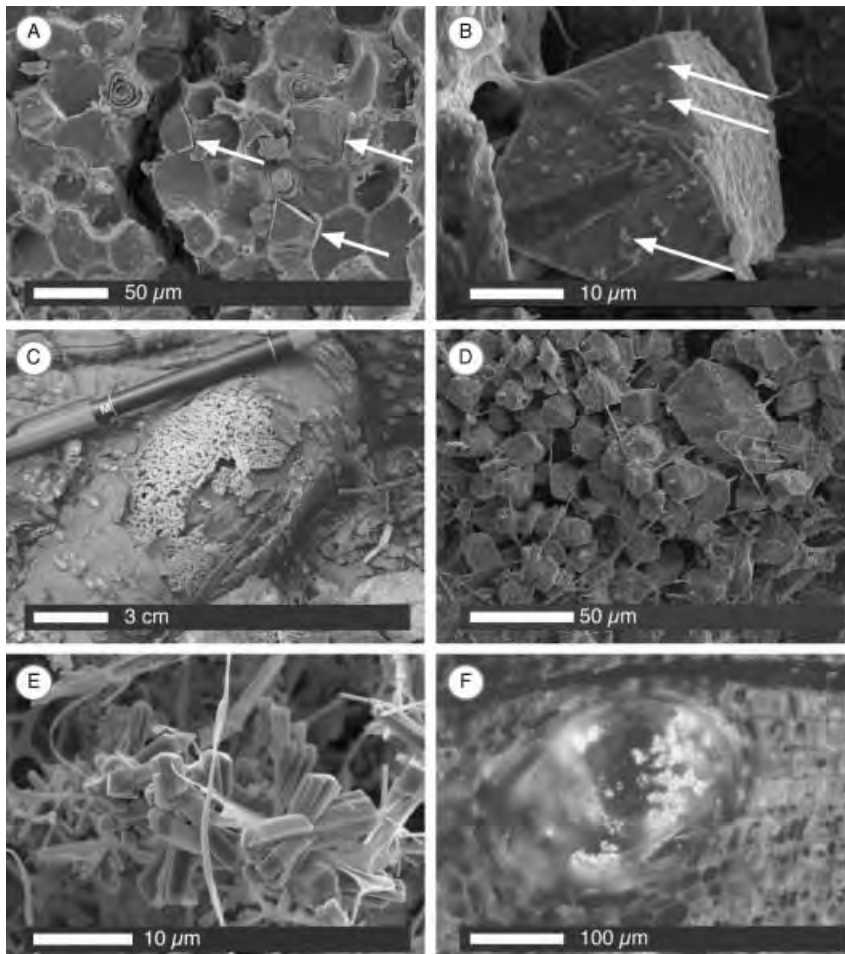


Fig. 2 SEM images of calcium oxalate crystals associated with *M. excelsa*. A: view of fractured bark showing calcium oxalate monohydrate encased in the wood tissues (arrows). B: bacteria (arrows) on a calcium oxalate monohydrate crystal. C: *M. excelsa* root encrusted with calcium oxalate monohydrate. D: details of C showing the whewellite crystals encrusting *M. excelsa* roots. E: weddellite associated with fungal hyphae on decayed wood. F: weddellite associated with fungi in *M. excelsa* conductive tissues.

co-isolated with bacteria on the DSM 81 medium. This strain is able to grow on oxalate as the sole carbon source, resulting in the dissolution of calcium oxalate and production of a mixed calcium-phosphate-carbonate phase.

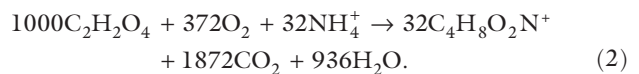
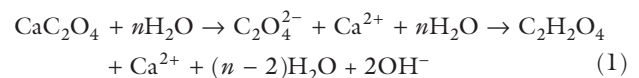
DISCUSSION

The presence of whewellite in the *M. excelsa* tissues, as well as weddellite associated with fungi, correlates well with previous studies that have documented oxalate biosynthesis and occurrence in plants and fungi (Pobeguín, 1943; Franceschi & Horner, 1980; Robert & Roland, 1989; Khan, 1995; Dutton & Evans, 1996; Gadd, 1999). In *M. excelsa*, whewellite is often found in conductive tissues and is able to encrust roots. It is likely that this form of calcium oxalate is a result of the mineral nutrition of *M. excelsa* (see Jones, 1998, for a review) or in aluminium detoxification, as suggested for bacteria by Hamel *et al.* (1999). The presence of whewellite and amorphous silica in *M. excelsa* bark could also be related to termite protection, as suggested for acacia trees (Prior & Cutler, 1992).

Weddellite is commonly associated with fungi in decaying wood. The role of oxalic acid in fungal pathogenicity is well

documented (see Dutton & Evans, 1996, for a review). However, wood rot fungi, which are not typically associated with calcium oxalate minerals, do appear to play a role in the oxalate cycle. During their consumption of cellulose, they probably help to release euhedral whewellite crystals encased in the wood tissues.

Both whewellite and weddellite are abundantly consumed by bacteria (see Eqs 1 and 2, modified from Harder *et al.*, 1974) and other micro-organisms because no macroscopic accumulation of calcium oxalate was observed in the soil and litter surrounding *M. excelsa*:



This is consistent with the rapid organic acid consumption observed for malate by Jones *et al.* (1996). Regarding *M. excelsa*, the results of bacterial growth on soil extract media indicate that such consumption is also true for oxalate. There are two

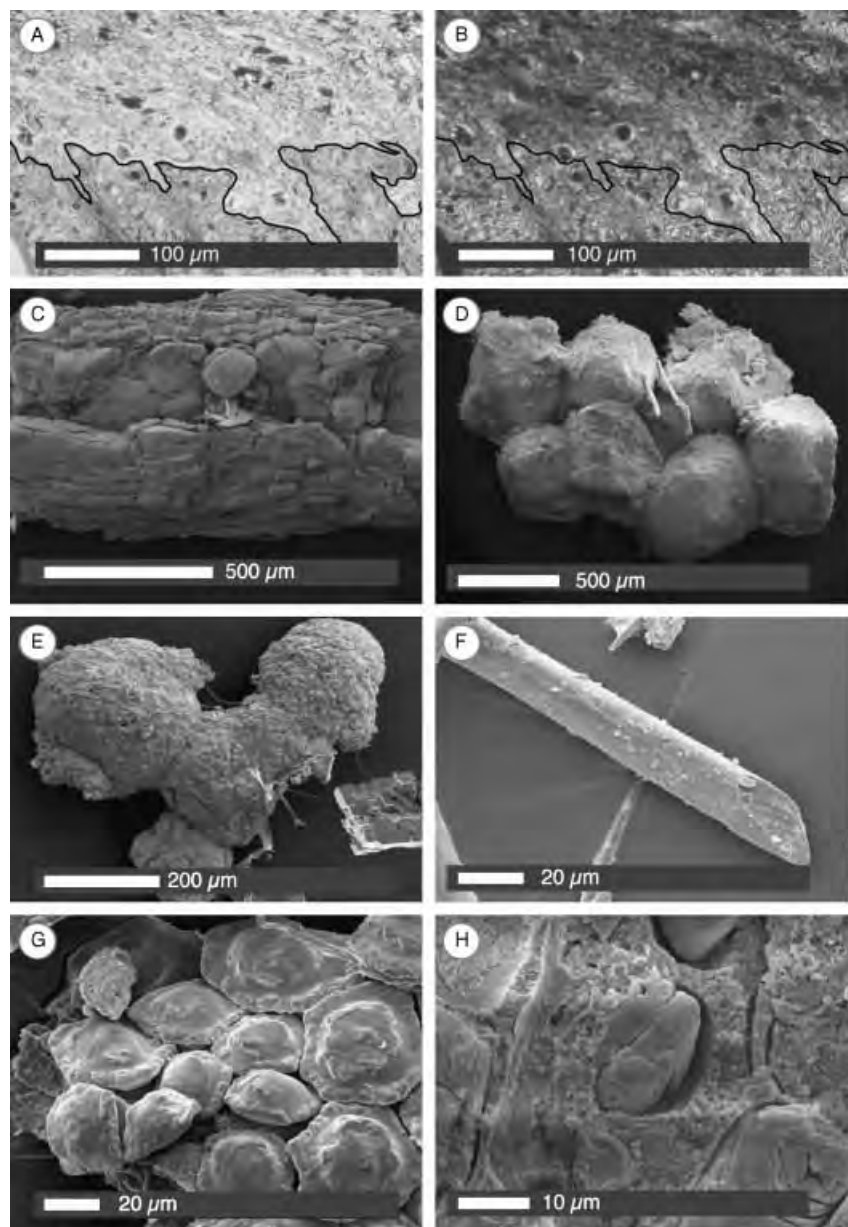
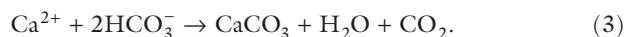


Fig. 3 Calcium carbonate crystals and carbonate-enriched tissues found in mineralized *M. excelsa*. A,B: thin section of *M. excelsa* woody tissues observed in plane (A) and cross-polarized light (B) showing large sections of carbonate mineral precipitation. Above black line, calcified woody tissues; below black line, non-mineralized woody tissues. C: SEM view of a conductive vessel infilled with anhedral to subhedral calcium carbonate crystals. D: SEM view of calcium carbonate crystals found in decaying wood. E: SEM view of calcium carbonate as micritic aggregates forming spheres and rhombohedron found in *M. excelsa* sap. F: SEM view of a cellulose fibre entirely replaced by calcium carbonate. G: SEM view of cells totally replaced carbonate. H: SEM view of carbonate-enriched tissues showing ghosts of the cell vacuole infilled by calcium carbonate and carbonate-mineralized cell walls.

principal consequences of oxalate consumption. First, metal ions are released in soils and are probably more available for other organisms, and particularly for plant and soil animals as proposed by Cromack *et al.* (1977). Second, there is a pH increase owing to the transformation of oxalate into bicarbonate, because oxalic acid ($\text{p}K_1 = 1.25, \text{p}K_2 = 4.27$) is 'stronger' than carbonic acid ($\text{p}K_1 = 6.35, \text{p}K_2 = 10.33$). This pH increase provides the required conditions for carbonate precipitation in *M. excelsa* environments (Eq. 3, with degassing of carbon dioxide):



During bacterial growth on DSM 81 and soil extract media, biologically induced changes in chemical conditions also

resulted in the precipitation of calcium-phosphate-carbonate (Braissant *et al.*, 2002), along with calcite. Therefore these experimental results seem to explain the relationship between the oxalotrophic bacteria and these minerals found in the natural environment (Fig. 1A). They might also help to explain some of the contributory factors leading to the precipitation of calcite-cemented sandstones that are observed in the tropical forested ecosystems of Ivory Coast (Carozzi, 1967; Cailleau *et al.*). Only gypsum has neither been detected in the tree nor in the soil, although it has been precipitated in laboratory experiments; the tropical conditions probably result in its dissolution.

Based on our results, a model for the calcification of *M. excelsa* is as follows (Fig. 6):

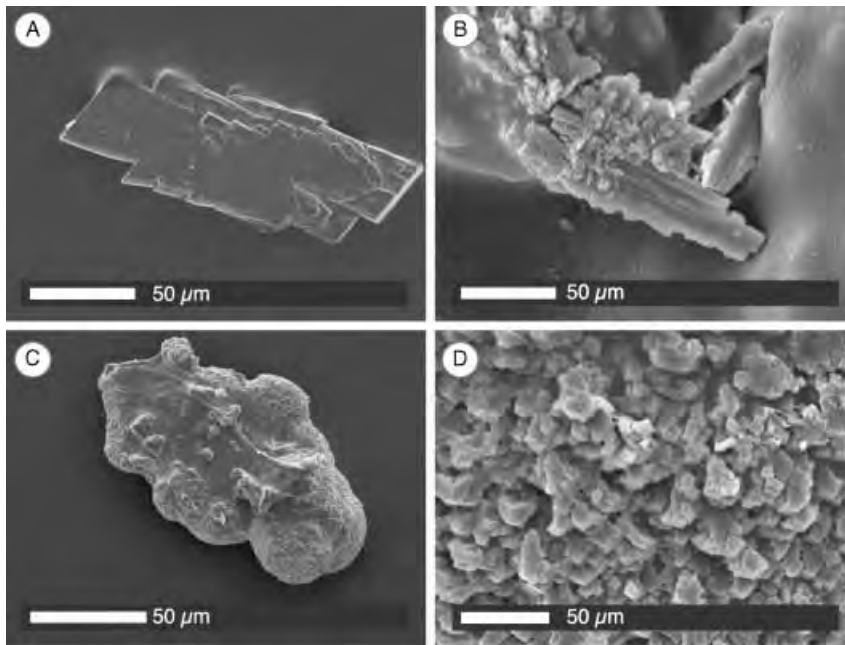


Fig. 4 SEM view of crystals resulting from calcium oxalate consumption by bacteria on Petri dishes. A: calcium-phosphate-carbonate crystal produced on DSM 81 medium. B: calcium-phosphate-carbonate crystal produced on soil extract media containing calcium oxalate. C: calcite micritic aggregates forming spherulites produced on soil extract media containing calcium oxalate. D: detail of a micritic aggregate showing the calcitic habit of individual crystals.

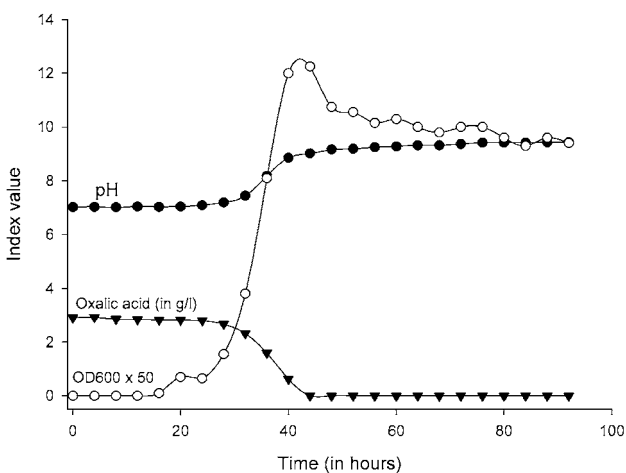


Fig. 5 Evolution of index values (cell density measured turbidimetrically at 600 nm, pH and oxalate concentration in g L^{-1}) during the culture of *R. eutropha* in a DSM 81 liquid medium.

1 Whewellite forms in the tree wood and bark because *M. excelsa* produces large amounts of oxalic acid as a metabolic product, which reacts with calcium ions (see 1 in Fig. 6).

2 Weddellite forms in rotting wood because, during cellulose and lignin degradation, oxalic acid is produced in large amounts by fungi. Weddellite formation results from calcium-ion chelation from the plant cell wall (Dutton & Evans, 1996; see 2 in Fig. 6).

3 Oxalotrophic bacteria present in the soil and the tree tissues (introduced through wounds) transform oxalates (Ca-oxalate and oxalic acid) into carbonate (see 3 in Fig. 6).

4 Other minerals, such as gypsum and podolite, also form as a result of local pH changes and carbonate ion production (see 4 in Fig. 6).

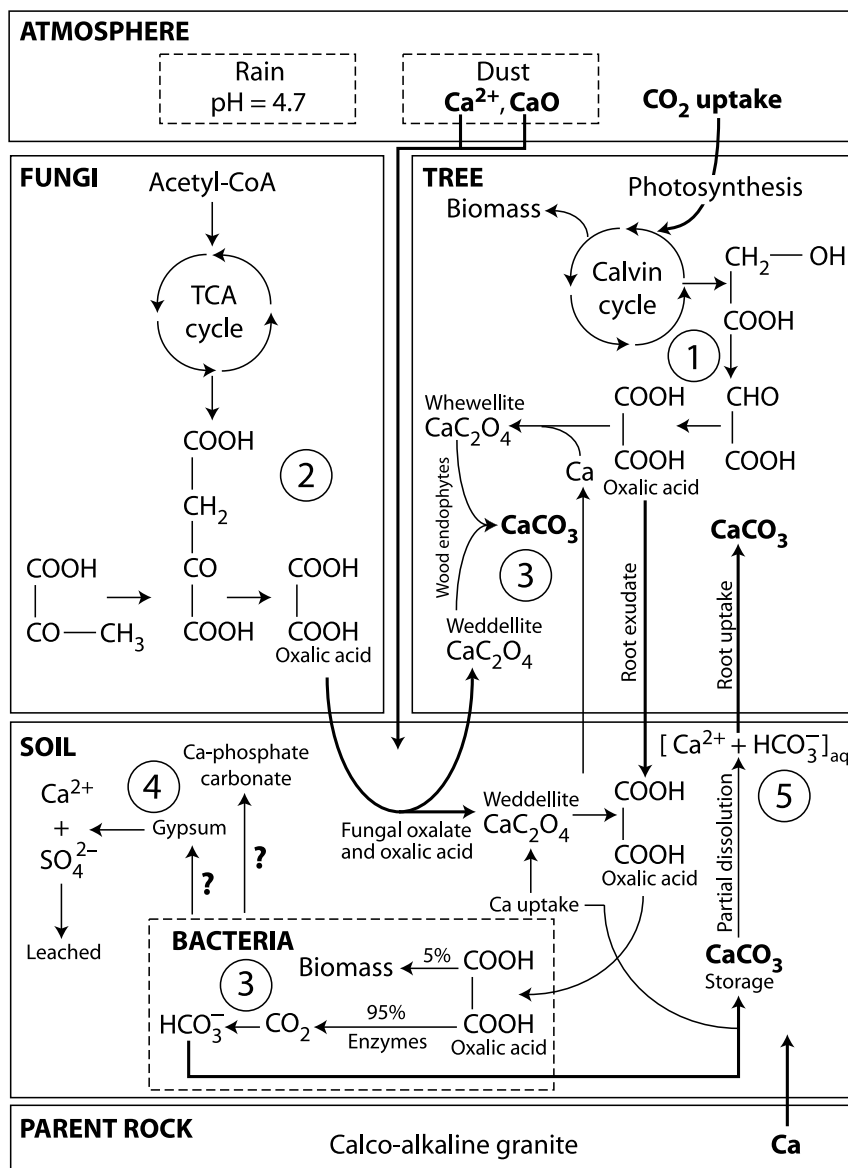
5 Calcite produced in the soil by bacteria (see 3 in Fig. 6) can be partially dissolved by rain (pH = 4.7). Bicarbonate ions can be pumped by the tree leading to CaCO_3 deposition, even in undersaturated conditions as described by Wollast (1971; see 5 in Fig. 6).

The differences in carbonatation between Cameroon and Ivory Coast samples are probably due to differences in hydrological conditions. It is possible that carbonate ions produced in Cameroon are leached and diluted as a result of the higher rainfall. Therefore, the accumulation of calcium carbonate inside the soil, as well as in the tree, is less likely to occur. However, all the processes described in Fig. 6 result in the accumulation of calcium carbonate in alkalized soils associated with *M. excelsa*. In summary, calcium carbonate is derived from the oxidation of carbon originally fixed during tree photosynthesis from atmospheric CO_2 through an oxalate step. This may constitute an important potential carbon sink.

During the last century, deforestation in Ivory Coast has led to the disappearance of 12.5 million hectares of the original rainforest. *Milicia excelsa* has been extensively logged and now it only remains in protected areas (Braissant *et al.*, 2003). Nevertheless, calculations using soil and tree carbonate titrations suggest that at least 1500 kg of $\text{C}_{\text{mineral}}$ is trapped during the life of a single *M. excelsa* tree (*c.* 500 kg inside the tree and *c.* 1000 kg in surrounding soils). This value is equivalent to a sequestration of $18.25 \text{ kgC yr}^{-1}$.

Typically, the forestry carbon sequestration component of the global carbon cycle is linked to soil organic matter, not to soil mineral carbon (Prentice *et al.*, 2001). However, as we

Fig. 6 Sketch showing possible mechanisms leading to the precipitation of carbonate in *M. excelsa* tissues; calcium ions are mainly provided by rain and dust and (to a much lesser extent) by granite. (1) Whewellite is produced inside the tree through atmospheric CO₂ uptake and the Calvin cycle. (2) Fungi also produce large amounts of weddellite through different pathways [including the tricarboxylic acid (TCA) cycle]. (3) Oxalic acid and both forms of calcium oxalate found in the tree and its litter can be transformed into calcite by the action of oxalate-degrading bacteria. Wood pathogens (fungi and bacteria) are able to release whewellite crystals, generating a pool of free oxalate crystals. Oxalate-degrading bacteria enter the tree through wounds, and also transform oxalate into carbonate inside the tree itself. In the *M. excelsa* rhizosphere and litter, oxalate-degrading bacteria can use fungal Ca-oxalate and oxalic acid excreted by the tree roots. This biological process leads to the formation of calcite concretions inside the wood and calcite accumulation in the *M. excelsa* rhizosphere. (4) Gypsum and calcium-phosphate-carbonate are produced as a result of a local pH increase and bicarbonate ion concentration. Gypsum is not stable in the *M. excelsa* environment and is easily leached. However, calcium-phosphate-carbonate is found in the soil but at lower concentration than calcite. (5) The acidity of the rain (pH = 4.7) allows some of the calcium carbonate formed in the soil to be dissolved. Bicarbonate ions may be reabsorbed by the tree during water absorption. These anions reprecipitate in the tree even from an undersaturated solution because of strong capillary action. This process probably leads to secondary calcium carbonate deposition inside the tree through vessels.



have shown, the abundance of carbonate minerals within *M. excelsa* testifies to the fact that the inorganic sink is of great significance to the terrestrial carbon cycle. As mentioned above, the sustainability of a carbon pool is also an important point: time residence for organic matter and mineral carbon in soil are at least 10¹–10³ years and 10²–10⁶ years, respectively (Retallack, 1990; Prentice *et al.*, 2001). Biologically induced mineral carbon sinks are undoubtedly more efficient for carbon sequestration than soil organic matter.

CONCLUSIONS

Milicia excelsa trees in Ivory Coast and Cameroon are unusual because of their highly biomineralized roots and trunk. Moreover, around these trees, calcium carbonate accumulations occur in acidic ferralitic soils, making these soils locally alkaline.

This change in pedochemical conditions is made possible by the presence of oxalate in the soil and tree, which creates favourable conditions for CaCO₃ precipitation. At least three sources of oxalate contribute to the budget: the *M. excelsa* tree, fungi and bacteria. The soil microflora includes bacteria that oxidize oxalate into carbonate, increasing the pH, and enhancing calcium carbonate accumulation. It seems that a period of low rainfall is necessary to allow CaCO₃ accumulation in the upper soil. To summarize, three conditions are necessary for calcium carbonate accumulations in ferralitic soils: (i) a large amount of oxalate, (ii) appropriate bacteria for oxalate oxidation into carbonate and (iii) a dry season. These conditions exist in many areas of tropical Africa. Consequently, carbon storage as inert calcium carbonate in soils from atmospheric CO₂ through a Ca-oxalate step constitutes a newly identified and neglected carbon sink.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank Dr T. Adatte for XRD analysis, and Dr M. Dadras, M. Leboeuf, N. Jeanneret and K. Verrecchia for their helpful advice during the work. Logistical help was provided by the Centre Suisse de la Recherche Scientifique in Abidjan, Ivory Coast, and by Dr Neree Onguene Awana, Institut pour la Recherche et le Développement, Yaoundé, Cameroon. Three anonymous reviewers and especially Dr Kurt Konhauser greatly improved the first draft of this manuscript. This work is supported by the Swiss National Science Foundation, grant no. 2153-065174.01.

REFERENCES

- Arnett HJ (1995) Calcium oxalate in fungi. In *Calcium Oxalate in Biology Systems* (ed. Khan SR). CRC Press, London, pp. 73–111.
- Braissant O, Cailleau G, Dupraz C, Aragno M, Verrecchia EP (2003) *Biomediated Carbonate Storage: a Longer Term Carbon Sink Than Organic Matter*. 4th Swiss Global Change Day 2003, 4 April 2003. Bern, Switzerland.
- Braissant O, Verrecchia EP, Aragno M (2002) Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? *Naturwissenschaften* **89**, 366–370.
- Carozzi AV (1967) Recent calcite-cemented sandstone generated by the equatorial tree iroko (*Chlorophora excelsa*), Daloa, Ivory Coast. *Journal of Sedimentary Petrology* **37**, 597–600.
- Cochrane VW (1958) *Physiology of Fungi*. John Wiley and Sons Inc, London.
- Cromack K, Sollins P, Todd RL, Fogel R, Todd AW, Fender WM, Crossley ME, Crossley DA (1977) The role of oxalic acid and bicarbonate in calcium cycling by fungi and bacteria: some possible implications for soils animals. *Ecological Bulletin (Stockholm)* **25**, 246–252.
- Dutton MV, Evans CS (1996) Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journal of Microbiology* **42**, 881–895.
- Franceschi V (2001) Calcium oxalate in plants. *Trends in Plant Science* **6**, 331.
- Franceschi V, Horner HT (1980) Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review* **46**, 361–427.
- Gadd GM (1999) Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in Microbial Physiology* **41**, 47–92.
- Hamel R, Lévassour R, Appanna VD (1999) Oxalic acid production and aluminium tolerance in *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Inorganic Biochemistry* **76**, 99–104.
- Harder W, Wiersma M, Groen L (1974) Transport of substrates and energetics of growth of *Pseudomonas oxalaticus* during growth on formate or oxalate in continuous culture. *Journal of General Microbiology* **81**, ii–iii.
- Horner HT, Wagner BL (1995) Calcium oxalate formation in higher plants). In *Calcium Oxalate in Biology Systems* (ed. Khan SR). CRC Press, London, pp. 53–72.
- Jones DL (1998) Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and Soil* **205**, 25–44.
- Jones DL, Prabowo AM, Kochian LV (1996) Kinetics of malate transport and decomposition in acid soils and isolated bacterial population – the effect of microorganisms on root exudation of malate under Al stress. *Plant and Soil* **182**, 239–247.
- Khan SR (1995) *Calcium Oxalate in Biological Systems*. CRC Press, London.
- Ministère du plan, Côte d'Ivoire (1979) *Atlas de Côte d'Ivoire*. Association de l'Atlas de Côte d'Ivoire, Abidjan.
- Parraga J, Rivadenneyra MA, Delgado R, Iniguez J, Soriano M, Delgado G (1998) Study of biomineral formation by bacteria from soil solution equilibria. *Reactive and Functional Polymers* **36**, 265–271.
- Pobeguain T (1943) Les oxalates de calcium chez quelques angiospermes: étude physico-chimique, formation, destin. *Annales Des Sciences Naturelles, Botanique* **IV**, 1–95.
- Prentice IC, Farquhar GD, Fasham MJR, Goulden ML, Heimann M, Jaramillo VJ, Khashgi HS, Le Quéré C, Scholes RJ, Wallace DWR (2001) The carbon cycle and atmospheric carbon dioxide. In *Climate Change 2001: the Scientific Basis*. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ, Noguer M, van der Linden PJ, Dai X, Maskell K, Johnson CA). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 185–237.
- Prior J, Cutler D (1992) Trees to fuel Africa's fires. *New Scientist* **135**, 35–39.
- Retallack GJ (1990) *Soil of the Past: An Introduction to Paleopedology*. Unwin-Hyman Ltd, London.
- Robert D, Roland J-C (1989) *Biologie Végétale*. Doin, Paris.
- Sahin N (2003) Oxalotrophic bacteria. *Research in Microbiology* **154**, 399–407.
- Stumm W, Morgan J (1981) *Aquatic Chemistry*, 2nd edn. John Wiley and Sons, New York.
- Tamer A, Aragno M (1980) Isolement, caractérisation et essai d'identification de bactéries capables d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* **103**, 91–104.
- Tematio P, Nyama AB, Kengni L, Bitom D (2001) Influence de la mise en culture sur la fertilité des sols en région forestière tropicale humide du Sud Cameroun. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* **87**, 321–335.
- Verrecchia EP (1990) Litho-diagenetic implications of the calcium oxalate-carbonate biogeochemical cycle in semiarid calcrete, Nazareth, Israel. *Geomicrobiology Journal* **8**, 87–99.
- Verrecchia EP, Dumont J-L (1996) A biogeochemical model for chalk alteration by fungi in semiarid environments. *Biogeochemistry* **35**, 447–470.
- Wollast R (1971) Kinetic aspects of the nucleation and growth of calcite from aqueous solutions. In *Carbonate Cements* (ed. Bricker PO). Johns Hopkins University Studies in Geology 19. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, pp. 264–273.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank Dr T. Adatte for XRD analysis, and Dr M. Dadras, M. Leboeuf, N. Jeanneret and K. Verrecchia for their helpful advice during the work. Logistical help was provided by the Centre Suisse de la Recherche Scientifique in Abidjan, Ivory Coast, and by Dr Neree Onguene Awana, Institut pour la Recherche et le Développement, Yaoundé, Cameroon. Three anonymous reviewers and especially Dr Kurt Konhauser greatly improved the first draft of this manuscript. This work is supported by the Swiss National Science Foundation, grant no. 2153-065174.01.

REFERENCES

- Arnett HJ (1995) Calcium oxalate in fungi. In *Calcium Oxalate in Biology Systems* (ed. Khan SR). CRC Press, London, pp. 73–111.
- Braissant O, Cailleau G, Dupraz C, Aragno M, Verrecchia EP (2003) *Biomediated Carbonate Storage: a Longer Term Carbon Sink Than Organic Matter*. 4th Swiss Global Change Day 2003, 4 April 2003. Bern, Switzerland.
- Braissant O, Verrecchia EP, Aragno M (2002) Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated? *Naturwissenschaften* **89**, 366–370.
- Carozzi AV (1967) Recent calcite-cemented sandstone generated by the equatorial tree iroko (*Chlorophora excelsa*), Daloa, Ivory Coast. *Journal of Sedimentary Petrology* **37**, 597–600.
- Cochrane VW (1958) *Physiology of Fungi*. John Wiley and Sons Inc, London.
- Cromack K, Sollins P, Todd RL, Fogel R, Todd AW, Fender WM, Crossley ME, Crossley DA (1977) The role of oxalic acid and bicarbonate in calcium cycling by fungi and bacteria: some possible implications for soils animals. *Ecological Bulletin (Stockholm)* **25**, 246–252.
- Dutton MV, Evans CS (1996) Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journal of Microbiology* **42**, 881–895.
- Franceschi V (2001) Calcium oxalate in plants. *Trends in Plant Science* **6**, 331.
- Franceschi V, Horner HT (1980) Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review* **46**, 361–427.
- Gadd GM (1999) Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in Microbial Physiology* **41**, 47–92.
- Hamel R, Levasseur R, Appanna VD (1999) Oxalic acid production and aluminium tolerance in *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Inorganic Biochemistry* **76**, 99–104.
- Harder W, Wiersma M, Groen L (1974) Transport of substrates and energetics of growth of *Pseudomonas oxalaticus* during growth on formate or oxalate in continuous culture. *Journal of General Microbiology* **81**, ii–iii.
- Horner HT, Wagner BL (1995) Calcium oxalate formation in higher plants). In *Calcium Oxalate in Biology Systems* (ed. Khan SR). CRC Press, London, pp. 53–72.
- Jones DL (1998) Organic acids in the rhizosphere – a critical review. *Plant and Soil* **205**, 25–44.
- Jones DL, Prabowo AM, Kochian LV (1996) Kinetics of malate transport and decomposition in acid soils and isolated bacterial population – the effect of microorganisms on root exudation of malate under Al stress. *Plant and Soil* **182**, 239–247.
- Khan SR (1995) *Calcium Oxalate in Biological Systems*. CRC Press, London.
- Ministère du plan, Côte d'Ivoire (1979) *Atlas de Côte d'Ivoire*. Association de l'Atlas de Côte d'Ivoire, Abidjan.
- Parraga J, Rivadenneyra MA, Delgado R, Iniguez J, Soriano M, Delgado G (1998) Study of biomineral formation by bacteria from soil solution equilibria. *Reactive and Functional Polymers* **36**, 265–271.
- Pobeguain T (1943) Les oxalates de calcium chez quelques angiospermes: étude physico-chimique, formation, destin. *Annales Des Sciences Naturelles, Botanique* **IV**, 1–95.
- Prentice IC, Farquhar GD, Fasham MJR, Goulden ML, Heimann M, Jaramillo VJ, Khashgi HS, Le Quéré C, Scholes RJ, Wallace DWR (2001) The carbon cycle and atmospheric carbon dioxide. In *Climate Change 2001: the Scientific Basis*. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds Houghton JT, Ding Y, Griggs DJ, Noguer M, van der Linden PJ, Dai X, Maskell K, Johnson CA). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 185–237.
- Prior J, Cutler D (1992) Trees to fuel Africa's fires. *New Scientist* **135**, 35–39.
- Retallack GJ (1990) *Soil of the Past: An Introduction to Paleopedology*. Unwin-Hyman Ltd, London.
- Robert D, Roland J-C (1989) *Biologie Végétale*. Doin, Paris.
- Sahin N (2003) Oxalotrophic bacteria. *Research in Microbiology* **154**, 399–407.
- Stumm W, Morgan J (1981) *Aquatic Chemistry*, 2nd edn. John Wiley and Sons, New York.
- Tamer A, Aragno M (1980) Isolement, caractérisation et essai d'identification de bactéries capables d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* **103**, 91–104.
- Tematio P, Nyama AB, Kengni L, Bitom D (2001) Influence de la mise en culture sur la fertilité des sols en région forestière tropicale humide du Sud Cameroun. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* **87**, 321–335.
- Verrecchia EP (1990) Litho-diagenetic implications of the calcium oxalate-carbonate biogeochemical cycle in semiarid calcrete, Nazareth, Israel. *Geomicrobiology Journal* **8**, 87–99.
- Verrecchia EP, Dumont J-L (1996) A biogeochemical model for chalk alteration by fungi in semiarid environments. *Biogeochemistry* **35**, 447–470.
- Wollast R (1971) Kinetic aspects of the nucleation and growth of calcite from aqueous solutions. In *Carbonate Cements* (ed. Bricker PO). Johns Hopkins University Studies in Geology **19**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, pp. 264–273.

Verrecchia EP, Braissant O, Cailleau G (in press) The oxalate-carbonate pathway in soil carbon storage: the role of fungi and oxalotrophic bacteria. In Gadd GM editor, «Fungi in biogeochemical cycles», Cambridge University Press, Cambridge.

The oxalate-carbonate pathway in soil carbon storage: the role of fungi and oxalotrophic bacteria

ERIC P. VERRECCHIA, OLIVIER BRAISSANT, GUILLAUME CAILLEAU

Introduction

Although fungi are generally disregarded in the biogeochemical literature, they undoubtedly constitute crucial biogeochemical factors in many elemental cycles. This fact, combined with their abundance in the soil warrants greater detailed study into their geoeological impact. The network formed by fungal filaments can represent 10'000 km of thread-like mycelia in 1 m² of fertile soil. Their mass is evaluated at 3500 kg.ha⁻¹ at a depth of 20 cm in an average continental soil, i.e. taking into account all the different terrestrial environments on the Earth (Gobat, Aragno & Matthey, 2004). In comparison, bacteria and algae would represent 1500 and 10-1000 kg.ha⁻¹ respectively, in the same virtual average soil. Fungi are not only biologically important actors as saprophytes in the recycling of organic matter. They also play a geological role by excreting notable amounts of organic acids, among which oxalic acid is particularly important (Gadd, 1999), contributing to continental weathering as well as to mineral neogenesis (Verrecchia & Dumont, 1996; Verrecchia, 2000; Burford, Fomina & Gadd, 2003; Burford, Kierans & Gadd, 2003).

The first fossil fungi have been identified in rocks dated from the Ordovician, i.e. 460 to 455 Ma ago (Redecker, Kodner & Graham, 2000). But molecular clock estimates for the evolution of fungi have suggested a Late Precambrian (600 Ma) colonization on land (Berbee & Taylor 2000). Recent molecular studies, based on protein sequence analysis, indicate that fungi were present on continents 1 billion years ago and possibly

affected (together with plants), the evolution of Earth's atmosphere and climate since 700 Ma (Heckman *et al.*, 2001). Therefore, if fungi have been present on the Earth's surface for such a long time, producing large amounts of oxalic acid able to precipitate as metal oxalates, why is there no evidence of oxalate accumulation in paleosols ? The question is also valid for present-day soils. The aim of this chapter is to demonstrate (1) that plants and fungi can produce high amounts of calcium oxalate polymorphs (weddelite $CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$ and whewellite $CaC_2O_4 \cdot H_2O$) by various processes, and (2) that oxalotrophic bacteria must have used these abundant oxalate crystals as carbon, electron, and energy sources by oxidizing them into calcium carbonate ($CaCO_3$), a common polymorphic mineral (in the form of calcite, vaterite, or aragonite) found in soils and surficial sediments. Thermodynamical approaches will show that spontaneous oxidation of oxalate is impossible and therefore necessitates a biomediated process, leading to secondary formation of calcium carbonate and *pH* increase in the soil solution. In addition, it can be demonstrated that the oxalate-carbonate pathway constitutes a carbon sink, as the carbon source is organic and not an inherited lithogenic mineral carbon (e.g. fossil limestones).

The oxalate pool

Plants, fungi, and oxalate

There are several ways by which plants modify the surrounding soil to their advantage. They may be biotic, like the accumulation of plant-protecting rhizobacteria increasing the soil's ability to fight against root disease, or the acclimation of mycorrhizal fungi. There may also be abiotic factors, like the precipitation of toxic cations and minerals. Accumulation of calcite in carbonate-poor soils may improve the soil structure and function. There is increasing evidence that the calcium oxalate cycle is a major pathway in calcite biomineralization. This was shown with different oxalate accumulating plants, such as iroko trees (Braissant *et al.*, 2004) and Cactaceae (Garvie, 2003). Nevertheless,

a question is still pending: how and why do plants form oxalate crystals ? In the plant metabolism, oxalic acid is produced in varying amounts, depending on plant taxon and external conditions. This oxalic acid may be either accumulated in the vacuome, or precipitated in the form of insoluble Ca-oxalate crystals in the cell, called crystal idioblasts (Fig. 1). Ca-oxalate crystal formation in plants appears to play a central role in a variety of important functions, including tissue calcium regulation, protection from herbivores, and metal detoxification (Nakata, 2003). It seems that ascorbic acid is the primary precursor to oxalate biosynthesis. The ascorbic acid for oxalate biosynthesis can be synthesized directly within the calcium oxalate crystal-accumulating cell (Nakata, 2003). Obviously, Ca-oxalate accumulated in the aerial parts of the plant can eventually be transferred to the litter after plant death, during organic matter oxidation.

As an example, iroko trees (*Milicia excelsa*, Moraceae), which are trees from the tropical African forest, can accumulate large amounts of oxalate crystals in their trunk as well as their roots (Cailleau *et al.*, 2005). In the wood, calcium oxalate occupies some idioblasts, forming euhedral crystals (Fig. 2A), often occurring as chains inside neighboring cells. In roots, calcium oxalate forms a mineral network of crystals between the inner root and the thin cuticle constituting the outer part of the root (Braissant *et al.*, 2004). When fungi decay parts of dead roots or rotting wood (Fig. 2B, C), they free oxalate crystals inside the soil or litter (Fig. 2D), increasing their proportion outside the living tissues. This plant oxalate pool is a widespread and abundant carbon source for oxalate consumers.

Contrary to plants, whose excretion of oxalate ions is generally considered as negligible, fungi (mycorrhizal as well as saprophytic) are essentially oxalate excreters. Metal oxalates, essentially calcium oxalates (Lapeyrie *et al.*, 1990; Tait *et al.*, 1999; Gadd, 1999), then crystallize at the mycelium surface or in the nearby soil, mainly as monohydrate (COM - calcium oxalate monohydrate, or whewellite) and dihydrate (COD -

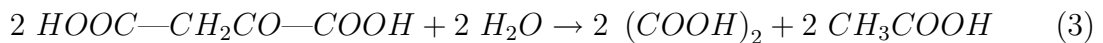
calcium oxalate dihydrate, or weddellite; Fig. 3A, B). Each of them belongs to a different crystallographic system, monoclinic and tetragonal, respectively (see synthesis in Verrecchia, Dumont & Verrecchia, 1993). An extensive review of oxalate biosynthesis in fungi has been proposed by Gadd (1999). Oxalic acid production by fungi appears to depend on whether glucose or citrate is used as the carbon source (Fig. 3C). When glucose is used, oxalate is produced through oxidation of glucose to pyruvate (Verrecchia, 1990; Wolschek & Kubicek, 1999):



Then, carboxylation of pyruvate yields oxaloacetate:



The hydrolysis of oxaloacetate allows the formation of oxalate and acetate:



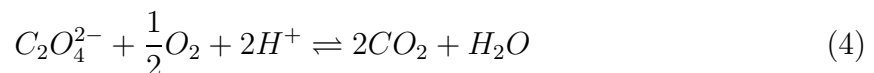
Oxalic acid reacts with calcium, forming calcium oxalate crystals, either COM or COD. Although Ca-oxalate crystals are easily observed associated with fungi, Ca-acetate or Ca-citrate crystals have never been identified. On the one hand, it is true that they constitute extremely soluble salts. But, on the other hand, organic substrates such as acetate or citrate can easily be used as carbon sources by bacteria. The culture of oxalotrophic bacteria (e.g. *Ralstonia eutropha* and *Xanthobacter autotrophicus*) for a few days on acetate-rich and citrate-rich media results in the production of calcite (calcium carbonate) crystals at the expense of the low molecular weight organic acids (Fig. 4; Braissant, Verrecchia & Aragno, 2002). Therefore, these by-products can also

be a source of secondary calcium carbonate in soils, even if they are highly soluble, and probably rapidly leached. In contrast, calcium oxalate crystals precipitate and may constitute almost 25% of soil hyphae and rhizomorphs dry weight in some ecosystems (Cromack *et al.*, 1977). When citrate is the source, oxalate is produced through the isocitrate and glyoxylate cycle involving glyoxylate hydrogenase (Dutton *et al.*, 1993).

The accumulation of oxalate crystals by fungi has also unexpected consequences: calcium oxalate can be disseminated inside the soil and the litter through oribatid mites. Such mites feed on Ca-oxalate crystals producing fungi and then reprecipitate the mineral in their cuticular hardened parts (Norton & Behan-Pelletier, 1991). They are thought to process a significant portion of the calcium pool in some ecosystems (Gist & Crossley, 1975). In conclusion, calcium oxalate is a common product of the biosphere-lithosphere interface, it can be found in numerous environments, and it results from biomineralization under the control of organisms. So why does it not accumulate in surficial environments and soils ?

Calcium oxalate stability

In order to solve the problem of missing calcium oxalate accumulation, the first question to ask is whether or not the mineral stable, i.e. is calcium oxalate able to spontaneously oxidize when in contact with the atmosphere ? If this is the case, the explanation is simple: all the oxalate produced is rapidly oxidized as CO_2 , and therefore can be neither accumulated in the surficial environment nor in the fossil record. This assumes that the transformation of oxalate into carbon dioxide must be complete and rapid in normal conditions, i.e. at 25°C (298.15 K) and a pressure of 1 atm. This complete oxalate oxidation *in solution* is given by the following reaction:



This equation can be divided into two redox equations:



For each of the redox couples, the potential can be calculated using the Nernst equation. This equation correlates Gibb's free energy, known as ΔG , and the electromotive force provided by an oxido-reduction reaction (such a reaction acts as a galvanic cell). Given the following equation due to a chemical reaction:



the reaction coefficient Q is calculated using the following ratio:

$$Q = \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b} \quad (8)$$

At equilibrium in the solution, $Q = K_{eq}$, K_{eq} being the equilibrium constant associated with the reaction. The Gibb's law is expressed as:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln Q \text{ and } \Delta G = -n\mathcal{F}\Delta E \quad (9)$$

This last equation gives the relationship between Gibb's free energy and the electromotive force, ΔE . Consequently, by replacing ΔG and ΔG^0 (standard free energy) with their expression in function of ΔE and ΔE^0 (standard electrode potential), the following

equation is obtained:

$$\begin{aligned}
 -n\mathcal{F}\Delta E &= -n\mathcal{F}\Delta E^0 + RT \ln Q \Leftrightarrow \\
 \Delta E &= \Delta E^0 - \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b}
 \end{aligned} \tag{10}$$

Equation (10) is known as the Nernst equation, where R is the gas constant (8.314 J.mol⁻¹.K⁻¹), T , the temperature in Kelvin, Q the reaction quotient as defined in equation (8), \mathcal{F} , the Faraday constant (96,500 C), and n being the number of electrons involved during the oxido-reduction reaction. By using a decimal logarithm instead of a Napierian logarithm, by replacing the variables with their numerical values, and fixing the temperature at 25°C (298 K), the Nernst equation becomes:

$$\Delta E = \Delta E^0 - \frac{0.059}{n} \log \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b} \tag{11}$$

Therefore, by using equation (11), the potential E_1 for equation (5) is given by:

$$E_1 = -0.49 + \frac{0.059}{2} \log \frac{(P_{CO_2})}{|C_2O_4^{2-}|} \tag{12}$$

$E_0 = -0.49$ being a measured value and not a calculated one. For equation (6), the Nernst equation is written as:

$$\begin{aligned}
 E_2 &= E_{water}^0 + \frac{0.059}{2} \log \left((P_{O_2})^{\frac{1}{2}} \cdot |H^+|^2 \right) \Leftrightarrow \\
 E_2 &= 1.23 - \frac{0.059}{2} \times 2 \times \underbrace{(-\log |H^+|)}_{pH} + \frac{0.059}{2} \log \sqrt{(P_{O_2})} \Leftrightarrow \\
 E_2 &= 1.23 - 0.059 \times pH + \frac{0.059}{2} \log \sqrt{(P_{O_2})}
 \end{aligned} \tag{13}$$

At equilibrium in the solution, $E_2 = E_1$. By combining equations (12) and (13) and by replacing variables with numerical values such as $P_{O_2} = 0.2095$ atm., $P_{CO_2} = 3.3 \times 10^{-4}$

atm., the equilibrium condition yields:

$$\begin{aligned}
 -0.49 + \frac{0.059}{2} \log \frac{(P_{CO_2})^2}{|C_2O_4^{2-}|} &= 1.23 - 0.059 \cdot pH + \frac{0.059}{2} \log \sqrt{(P_{O_2})} \iff \\
 \underbrace{\frac{-1.72 \times 2}{0.059}}_{-58.305} + 2 \cdot pH + \log \frac{(P_{CO_2})^2}{\sqrt{(P_{O_2})}} &= \log |C_2O_4^{2-}| \iff \\
 \underbrace{\hspace{10em}}_{-6.623} & \\
 -64.928 + 2 \cdot pH &= \log |C_2O_4^{2-}| \quad (14)
 \end{aligned}$$

By varying the pH between 7 and 14 in equation (14), the concentration of oxalate ions is:

$$7 < pH < 14 \Rightarrow 1.18 \times 10^{-51} < |C_2O_4^{2-}| < 1.18 \times 10^{-37}$$

From these calculations, it appears that there is no more $C_2O_4^{2-}$ in solution. But in fact, this reaction occurs in the solution at an infinitely low rate under normal conditions of pressure and temperature. Indeed, many oxalate salts have a low solubility index. But this point cannot explain why a solution of potassium oxalate, which is soluble, will not oxidize spontaneously into carbon dioxide. The problem is linked to a lack of *activation energy*. Such an oxydation needs a certain initial amount of energy to occur. If a solution of calcium oxalate is left in contact with the atmosphere, it will never be oxidized into CO_{2aq} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , and Ca^{2+} . Nevertheless, if oxalotrophic bacteria are in contact with the solution, they will provide energy to start the oxidation and feed on the oxalate carbon source.

In conclusion, any metal oxalate can be considered as a compound in a metastable equilibrium. The only sub-spontaneous diagenetic evolution of calcium oxalate is a possible transformation of weddellite into whewellite by dehydration (Frey-Wyssling, 1981; Verrecchia, Dumont & Verrecchia, 1993). Consequently, activation energy has to be provided for a complete oxidation of COM or COD, and life is the best and the most

obvious candidate. Therefore, biogenic activity could be the key explanation for the absence of oxalate in paleosols as well as in the geological sedimentary record.

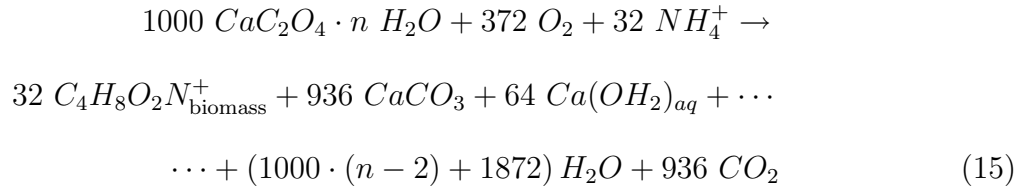
Oxalate oxidation

Oxalotrophic bacteria

The fate of oxalate in natural systems remains unclear, although oxalate catabolism by bacteria is a well recorded phenomenon (Tamer & Aragno, 1980; Allison, Daniel & Cornick, 1995). Oxalate is used as energy, electron, and carbon sources by bacteria belonging to diverse taxonomical groups (Tamer and Aragno, 1980; Jenni, Aragno & Wiegel, 1987; Jenni *et al.*, 1988; Sahin, 2003). These bacteria may occupy different oxalate-containing niches, like the rhizosphere (Knutson, Hutchins & Cromack, 1980), the litter, or the gut of soil animals (Cromack *et al.*, 1977). It seems that, after oxalate is transported into the bacterial cell, its fate is determined by following either the glyoxylate or formate pathway (Fig. 5). If reduced into glyoxylate by the enzyme oxalyl-CoA reductase, biosynthesis can take one of two routes: the glycolate pathway (Allison, Daniel & Cornick, 1995) and a variant of the serine pathway (Sahin, 2003). The glycolate pathway is common in soil oxalotrophic bacteria such as *Ralstonia oxalatica* or *Ralstonia eutropha*. The serine pathway is mainly used by oxalate-using pink pigmented facultatively methylotrophic bacteria, which contain L-serine glyoxylate aminotransferase and hydroxypyruvate reductase, key enzymes of the serine pathway (Sahin, 2003). If, however, oxalate is transformed into formate through oxalate decarboxylation, the formate is then used for cell energy and finally results in the production of carbon dioxide (Dijkhuizen, Wiermsa & Harder, 1977). Carbon dioxide is usually transported and excreted as hydrogeno-carbonate ions (HCO_3^-) through the bacterial membrane using permeases. Its combination with calcium ions leads to precipitation of calcium carbonate and concomitantly generates a proton motive force (Fig. 5). Therefore, oxalotrophic bacteria perform a complete oxidation of oxalate to CO_2 , leading to hydrogeno-carbonate ion ex-

cretion, and finally carbonate deposition. But are soil conditions favorable for calcium carbonate storage ?

The fact that protons are used as a motive force can participate to increase the pH of the soil solution, due to the H^+ bacterial uptake. Moreover, pH can also be increased due to the fact that reactions involve the transformation of oxalic acid into carbonic acid, i.e. of a strong ($pK_1 = 1.25$, $pK_2 = 4.27$) to a weak ($pK_1 = 6.35$, $pK_2 = 10.33$) acid (Braissant, Verrecchia & Aragno, 2002). This alkalization facilitates precipitation of calcium carbonate ($CaCO_3$). By modifying Harder, Wiermsa & Groen's (1974) general equation for oxalate metabolism by oxalotrophic bacteria, the following balanced equation can be proposed:



It is easy to see in this balanced equation that 93.6% of the organic carbon is transformed into mineral carbon (as precipitated $CaCO_3$ in addition to CO_2 , the latter being dispersed in the environment and eventually degassed towards the atmosphere), whereas the other part of the carbon (i.e. only 6.4%) is used to increase the biomass. These figures demonstrate the far-reaching impact of such processes on organic carbon utilization and sequestration.

Finally, it has to be noted that oxalate oxidation by oxalate oxidase is a different way of degrading oxalate. By this means, oxalate is completely oxidized into CO_2 with concomitant production of H_2O_2 . It has no trophic significance, and its importance in oxalate cycling is not known.

All these results are related to observations and measurements in the field as well

as in oxalotrophic bacteria cultures in the laboratory (Braissant *et al.*, 2004). There is no theoretical model available to explain the oxalate-carbonate transformation and its consequences on the soil solution properties, i.e. alkalization facilitating precipitation of calcium carbonate ($CaCO_3$) and CO_2 release into the atmosphere. This kind of model should be able to explain the process of oxido-reduction reactions, pH regulation, and the evolution of the various phase concentrations involved in the system, i.e. oxalate, carbonate, water, and carbon dioxide. This is the aim of the next paragraph.

A theoretical approach of oxalate-carbonate transformation

The objective of this theoretical approach is to try to compare the equilibrium diagrams of the $CaCO_3$ - CaC_2O_4 - CO_2 - H_2O system with the biogeochemical data available on the oxalate-carbonate transformation. The initial hypothesis is that the oxido-reduction reaction of oxalate-carbonate occurs biochemically, i.e. due to bacterial activity. In other words, the activation energy is present and high enough to start reactions. The theoretical system studied is defined by three different phases present:

1. The aqueous solution, which may or may not be associated with the two mineral species, calcium oxalate (CaC_2O_4) and calcium carbonate ($CaCO_3$). These two species are defined by their solubility products. Concentrations of the various chemical species in solution (including carbonates - HCO_3^- , CO_3^{2-} , oxalates - $C_2O_4^{2-}$, $C_2O_4H^-$, Ca^{2+} , and CO_2) can vary regarding the outside environment. Therefore, the system is considered as open.
2. Inside the system, the acido-basic equilibria are always reached. Nevertheless, solutions can be supersaturated regarding the two mineral species, calcite ($CaCO_3$) and Ca-oxalate (CaC_2O_4).
3. Gas exchange is assumed to be fast enough to reach equilibrium between $CO_{2(dissolved)}$ and $CO_{2(gas)}$.

The fact that the system is open is justified because atmospheric oxygen is needed for the transformation (oxidation) of oxalate into carbonate by bacteria. Also, the gas exchange with the atmosphere must be fast enough to meet the condition given in point 3. The system is described in figure 6. This system is supposed to evolve reversibly, i.e. the system is in permanent equilibrium. Therefore, at each moment, there is chemical equilibrium in the solution between the carbonate species (carbonates, hydrogeno-carbonates, dissolved carbon dioxide) and the two oxalate species (oxalate salt and oxalic acid). Nevertheless, equilibrium between solution and solids (i.e. minerals) could not be reached when the solution is supersaturated regarding one or the other of the minerals. Concerning the exchange kinetics between dissolved species inside the system and the exterior environment (Fig. 6), it is considered as extremely slow because equilibria between dissolved species inside the system are assumed to be continuously reached. Consequently, transformation of oxalate into carbonate is described as an exchange between dissolved species, the amount of oxalate and carbonate being variable. In other words, the transformation of oxalate into carbonate is an input of the model and considered to occur outside this theoretical system, i.e. through oxalotrophic bacterial activity (Fig. 6). Species activities inside the system will be considered as equal to concentrations to simplify calculations. Except for H^+ , the only cation present in the system is Ca^{2+} . This point is also only a means to simplify the calculations, but it is true in laboratory bacterial cultures. The anions are the carbonate and the oxalate species, as well as OH^- . Therefore, the alkalinity can be defined as:

$$|Alc| = 2 |Ca^{2+}| \quad (16)$$

The various limits of the variables in the system are given as follows. The values taken for the total quantity of oxalate $A = |C_2O_4^{2-}| + |C_2O_4H^-|$ are $0 < A < 10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$. The concentration of calcium ions in the model is $10^{-6} < |Ca^{2+}| < 10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$. The

partial pressure of carbon dioxide will vary between 0 and 1 atm. Finally, the pH ranges between 4 and 11. The equilibrium constants at 1 atm and 25 °C (298 K) are the following:

$$k = \frac{(C_2O_4^{2-})(H^+)}{(C_2O_4H^-)} = 10^{-4.3} \quad (17)$$

$$K_1 = \frac{(CO_3H^-)(H^+)}{(CO_2)} = 10^{-6.4} \quad (18)$$

$$K_2 = \frac{(CO_3^{2-})(H^+)}{(CO_3H^-)} = 10^{-10.2} \quad (19)$$

$$K_w = (H^+)(OH^-) = 10^{-14} \quad (20)$$

The mineral solid phases (calcium carbonate and calcium oxalate) are characterized by their solubility products:

$$\Pi_1 = (Ca^{2+})(CO_3^{2-}) = 10^{-8.3} \quad (21)$$

$$\Pi_2 = (Ca^{2+})(C_2O_4^{2-}) = 10^{-8.7} \quad (22)$$

The model is built using equations that follow two laws. The mass action law is applied to acido-basic reactions of carbonate and oxalate species with water. The equilibrium between the CO_2 concentrations in the gas and the solution is described by Henry's law:

$$|CO_3H_2| \text{ or } |CO_2| = k_H \cdot P_{CO_2} \quad (23)$$

Finally, the electro-neutrality of the solution is given by:

$$|C_2O_4H^-| + 2|C_2O_4^{2-}| + |CO_3H^-| + 2|CO_3^{2-}| + |OH^-| = 2|Ca^{2+}| + |H^+| \quad (24)$$

By applying these laws to the data given in equations (18) to (24), a general equation describing the relationship between the different variables of the system can be found.

The key equation describing the model is expressed as:

$$\begin{aligned} 2|Ca^{2+}| = -|H^+| + \frac{K_w}{|H^+|} + \dots \\ \dots + (|C_2O_4^{2-}| + |C_2O_4H^-|) \left\{ 1 + \frac{1}{1 + \frac{|H^+|}{k}} \right\} + K_1k_H \frac{P_{CO_2}}{|H^+|} \left\{ 1 + 2\frac{K_2}{|H^+|} \right\} \end{aligned} \quad (25)$$

In a two dimensional plot, only three variables can be put in relationship to one another. Therefore, in equation (25), three variables have to be chosen among $|H^+| = 10^{-pH}$, $|C_2O_4H^-| + |C_2O_4^{2-}|$, $|Ca^{2+}|$, and P_{CO_2} . For example, curves can be drawn for a variety of pH and concentration in $|Ca^{2+}|$. Let's take this example. Curves represent the function $pH = f(\log(|Ca^{2+}|), P_{CO_2})$ (Fig. 7). The next step consists of calculating the saturation curves related to the two mineral species: Ca-oxalate and Ca-carbonate. Let's consider that the oxalate concentration is known: the saturation curve (i.e. solution in the presence of solid Ca-oxalate) is represented by the following equation obtained by using equations (25), (22) (the solubility product), (18) (the value of k), and the concentration in oxalate species ($|C_2O_4H^-| + |C_2O_4^{2-}|$):

$$2|Ca^{2+}| = -|H^+| + \frac{\Pi_2}{|Ca^{2+}|} \left(2 + \frac{|H^+|}{k} \right) + K_1k_H \frac{P_{CO_2}}{|H^+|} \left(1 + \frac{2K_2}{|H^+|} \right) + \frac{k_W}{|H^+|} \quad (26)$$

The P_{CO_2} values are given by the intersection of the saturation curve with the isobar. The result is given in figure 7 when the only source of calcium is considered to be the oxalates, i.e. $|Ca^{2+}| = |C_2O_4H^-| + |C_2O_4^{2-}|$. The same approach can be used to calculate the saturation curve regarding calcite. By combining equations (19), (23), and (21), the following relationship is obtained:

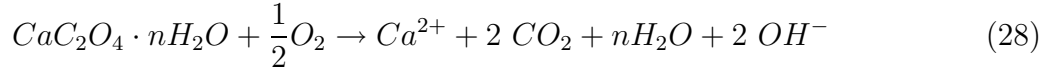
$$\begin{aligned} |Ca^{2+}| &= \frac{\Pi_1}{k_H K_1 K_2} \cdot \frac{|H^+|^2}{P_{CO_2}} \\ \Rightarrow pH &= -\frac{1}{2} \log(|Ca^{2+}|) - \frac{1}{2} \log(P_{CO_2}) + 4.86 \end{aligned} \quad (27)$$

Once again, the result given in figure 7 assumes that oxalates are the only source of calcium. To check this hypothesis, the model can be compared with an *in vitro* culture of oxalotrophic bacteria in the presence of calcium oxalate as the sole source of carbon, energy, and calcium. Such an experiment has been conducted by Braissant *et al.* (2004). They show that, in a liquid medium, calcium oxalate consumption is followed by an increase in pH in the solution, accompanied by precipitation of calcium carbonate. During the experiment, the initial pH of the solution was 6.9. At the end of the experiment, i.e. after total consumption of oxalate, the final pH was 9.6. The concentration of $|Ca^{2+}|$ does not change during the experiment: it can be used as a probe during the transformation of calcium oxalate into calcium carbonate. The initial concentration of calcium is around 10^{-2} mole.L⁻¹, i.e. $\log(|Ca^{2+}|) = -2$. Figure 7 (initial state) shows that, for such a concentration of calcium in the presence of calcium oxalate crystals and at a $P_{CO_2} = 3 \cdot 10^{-4}$ atm, the theoretical pH should be between 6.8 and 6.9, a range corroborated by the measurements. At the end of the experiment (Fig. 7, final state), there is no more oxalate. Calcium carbonate can precipitate because the intersection of the $P_{CO_2} = 3 \cdot 10^{-4}$ atm curve and a concentration of calcium around 10^{-2} mole.L⁻¹ is situated inside the area of supersaturation regarding $CaCO_3$. In addition, the pH should be between 9.5 and 9.6, which is also consistent with the experiment.

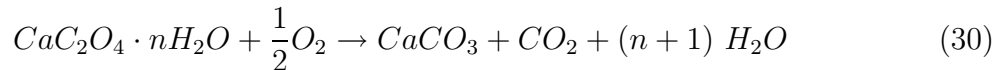
In conclusion, such a model is convenient to get an idea of the calcium oxalate concentration, carbon dioxide pressure, and conditions for potential precipitation of secondary calcium carbonate through oxalotrophic bacteria activity. It demonstrates that as long as calcium is available and oxalotrophic bacteria are present, transformation of oxalate into carbonate can occur under normal conditions found in soils and surficial sediments. Therefore, an oxalate-carbonate cycle, or at least pathway, must exist at the surface of continents (Verrecchia & Dumont, 1996), explaining the absence of calcium oxalate accumulation in soils and the fossil record.

The oxalate-carbonate pathway

A synthetic coupled cycle of calcium and carbon through the oxalate-carbonate pathway is shown in figure 8. Atmospheric CO_2 is fixed by the plants through photosynthesis to produce biomass. Inside the plant, oxalate crystals form. In addition, fungal filaments may also accumulate oxalate. Mainly in the form of Ca-oxalate (COM or COD), this carbon pool is used by oxalotrophic bacteria as carbon, energy, and electron sources. The transformation of oxalate can occur in the soil solution inside the pores, or in soil animal guts. The oxalate oxidation results in carbon dioxide production and calcium carbonate precipitation. Released carbon dioxide can be used for photosynthesis, forming a loop in the cycle. Calcium carbonate precipitation is enhanced by increasing pH during oxalotrophy, as observed by Jayasuriya (1955) and Braissant, Verrecchia & Aragno (2002), and demonstrated in this chapter. Now, let's suppose that all the oxalate available in the soil is oxidized in order to measure the potential occurrence of a carbon sink. The overall reactions can be summarized by the following two equations:



the first one describing the oxidation, the second taking advantage of alkalization to enhance calcium carbonate precipitation as stipulated above. Therefore, the final balance is the following:



The initial two moles of organic carbon are both transformed into inorganic carbon. One mole is precipitated as a mineral, with carbon being trapped inside the calcium carbonate crystals, i.e. stored on a long-term time scale. The other mole can be released

into the atmosphere and re-used for phototrophy. Therefore, the oxalate-carbonate pathway constitutes a true carbon sink because one out of two moles of organic carbon is stored in a mineral state with a long residence time, whereas the other one returns to the atmospheric reservoir.

Conclusions

Consequences of the oxalate-carbonate cycle have been investigated in different environments. In surficial formations, this cycle is believed to participate in the genesis of calcrete (indurated carbonate soils) in semiarid environments (Verrecchia 1990; Verrecchia and Dumont 1996). In temperate forests, it is related to mineral nutrient cycles including *Ca*, and more generally, other elements such as *Fe*, *Al* and *P* (Cromack et al. 1977). The possible oxidation of calcium oxalate pools by oxalotrophic bacteria probably means that a large amount of the secondary calcium carbonate found in soils and surficial sediments should originate in the transformation of low molecular weight organic acids (including citrate and acetate) into carbonates. Calcium carbonate (as various $CaCO_3$ polymorphs) may then accumulate, modifying the soil conditions. Theoretical studies have demonstrated that the soil solutions can be alkalized enough to enhance calcium carbonate accumulation and storage. Therefore, when associated with plant biomineralization, fungi and bacteria contribute to long-term carbon storage by potentially transforming half of the organic carbon from oxalate (or low molecular weight organic acids) into mineral carbon (carbonate), which has a much longer residence time in soils than organic substrates (Cailleau, Braissant & Verrecchia, 2004). The other half is released as carbon dioxide into the atmosphere. In conclusion, because oxalate salts are organic in origin, the oxalate-carbonate pathway represents a potentially major carbon sink (Cailleau *et al.*, 2005) and probably acts as a regulator of the atmospheric pCO_2 .

Acknowledgements

The authors would like to thank Prof. G. M. Gadd for his invitation to contribute and his never-ending patience, Prof. M. Aragno for his indispensable scientific input, and Dr. M. Dadras for his help operating the SEM. This work is supported by the Swiss National Science Foundation, grant no FNS-205320-101564.

References

- Allison, M., Daniel, S. L., Cornick, N. A. (1995) Oxalate-degrading bacteria. In *Calcium oxalate in biological systems*, ed. S. R. Khan, pp. 131-168. Boca Raton: CRC Press.
- Berbee, M. L., Taylor, J. W. (2000) Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. In *The Mycota, vol. 7B, Systematics and evolution*, ed. D. J. McLaughlin, E. G. McLaughlin, P.A. Lemke, pp 229-246. Berlin: Springer.
- Braissant, O., Verrecchia, E. P., Aragno, M. (2002) Is the contribution of bacteria to terrestrial carbon budget greatly underestimated ? *Naturwissenschaften*, **89**, 366-370.
- Braissant, O., Cailleau, G., Aragno, M., Verrecchia, E. P. (2004) Biologically induced mineralization in the tree *Milicia excelsa* (Moraceae): its causes and consequences to the environment. *Geobiology*, **2**, 59-66.
- Burford, E., Fomina, M., Gadd, G. M. (2003) Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rock and minerals. *Mineralogical Magazine*, **67**, 1127-1155.
- Burford, E., Kierans, M., Gadd, G. M. (2003) Geomycology: fungi in mineral substrata. *Mycologist*, **17**, 98-107.
- Cailleau G., Braissant O., Verrecchia E. P. (2004) Biomineralization in plants as long-term carbon sink. *Naturwissenschaften*, **91**, 191-194.
- Cailleau, G., Braissant, O., Dupraz, C., Aragno, M. & Verrecchia, E. P. (2005) Biologically induced accumulations of $CaCO_3$ in orthox soils of Biga, Ivory Coast. *Catena*, **59**, 1-17.
- Cromack K., Sollins P., Todd R. L., Fogel R., Todd A. W., Fender W. M., Crossley M. E., Crossley D. A. (1977) The role of oxalic acid and bicarbonate in calcium cycling by fungi and bacteria: some possible implications for soil animals. *Ecological Bulletin*, Stockholm, **25**, 246-252.
- Dijkhuizen, L., Wiermsa. M., Harder. W. (1977) Energy production and growth of *Pseudomonas oxalaticus* OX1 on oxalate and formate. *Archives in Microbiology*, **115**, 229-236.
- Dutton, M. V., Kathiara, N., Gallacher, I. M., Evans, C. S. (1993) Oxalate production by basidiomycetes, including the white-rot species *Coriolus versicolor* and *Phanerochaete chrysosporium*.

- Applied Microbiology and Biotechnology*, **39**, 5-10.
- Frey-Wyssling, A. (1981) Crystallography of the two hydrates of crystalline calcium oxalate in plants. *American Journal of Botany*, **68**, 130-141.
- Gadd, G. M. (1999) Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. *Advances in microbial physiology*, **41**, 47-92.
- Garvie, L. A. J. (2003) Decay-induced biomineralization of the saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*). *American Mineralogist*, **88**, 1879-1888.
- Gist, C. S., Crossley, D. A. Jr (1975) A model of mineral cycling for an arthropod foodweb in a southeastern hardwood forest litter community. In *Mineral cycling in southeastern ecosystems*, ed. F. G. Howell & M. H. Smith, pp. 84-106, ERDA Symposium Series, Conference 740513.
- Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W. (2004) *The living soil - Fundamentals of soil science and soil biology*. Enfield: Science Publishers.
- Harder W., Wiermsa M., Groen L. (1974) Transport of substrate and energetics of growth of *Pseudomonas oxalaticus* during growth on formate or oxalate in continuous culture. *Journal of General Microbiology*, **81**, ii-iii.
- Heckman, D. S., Geiser, D. M., Eidell, B. R., Stauffer, R. L., Kardos, N. L., Hedges, S. B. (2001) Molecular evidence for early colonization of land by fungi and plants. *Nature*, **293**, 1129-1133.
- Jayasuriya, G. C. N. (1955) The isolation and characteristics of an oxalate-decomposing organism. *Journal of General Microbiology*, **12**, 419-428.
- Jenni, B., Aragno, M., Wiegel, J. K. W. (1987) Numerical analysis and DNA-DNA hybridization studies on *Xanthobacter* and emendation of *Xanthobacter flavus*. *Systematic Applied Microbiology*, **9**, 247-253.
- Jenni, B., Realini, L., Aragno, M., Tamer, A. U. (1988) Taxonomy of non H₂-lithotrophic, oxalate-oxidizing bacteria related to *Alcaligenes eutrophus*. *Systematic and Applied Microbiology*, **10**, 126-130.
- Knutson, D. M., Hutchins, A. S., Cromack, K. J. (1980) The association of calcium oxalate-utilizing *Streptomyces* with conifer ectomycorrhizae. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology and Serology*, **46**, 611-619.
- Lapeyrie, F., Picatto, C., Gerard, J., Dexheimer, J. (1990) TEM study of intracellular and extracellular calcium oxalate accumulation of ectomycorrhizal fungi in pure culture or in association with *Eucalyptus* seedlings. *Symbiosis*, **9**, 163-166.

- Nakata, P. A. (2003) Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, **164**, 901-909.
- Norton, R. A., Behan-Pelletier, V. M. (1991) Calcium carbonate and calcium oxalate as cuticular hardening agents in oribatid mites (Acari: Oribatida). *Canadian Journal of Zoology*, **69**, 1504-1511.
- Redecker, D., Kodner, R., Graham L.E. (2000). Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, **289**, 1920-1921.
- Sahin, N. (2003) Oxalotrophic bacteria. *Research in Microbiology*, **154**, 399-407.
- Tait, K., Sayer, J.A., Gharieb, M.M., Gadd, G.M. (1999) Fungal production of calcium oxalate in leaf litter microcosms. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**, 1189-1192.
- Tamer, A.U. et Aragno, M. (1980) Isolement, caractérisation et essai d'identification de bactéries capables d'utiliser l'oxalate comme seule source de carbone et d'énergie. *Bulletin de la Société Neuchâtoise de Sciences Naturelles*, **103**, 91-104.
- Verrecchia, E. P. (1990) Litho-diagenetic implications of the calcium oxalate-carbonate biogeochemical cycle in semiarid calcretes, Nazareth, Israel. *Geomicrobiology Journal*, **8**, 87-99.
- Verrecchia, E. P. (2000) Fungi and Sediments. In *Microbial Sediments*, ed. R. Riding and S. M. Awramik, pp. 68-75. New York: Springer.
- Verrecchia, E. P., Dumont J.-L. (1996) A biogeochemical model for chalk alteration by fungi in semiarid environments. *Biogeochemistry*, **35**, 447-470.
- Verrecchia, E. P., Dumont J.-L., Verrecchia, K. E. (1993) Role of calcium oxalate biomineralization by fungi in the formation of calcretes: a case study from Nazareth, Israel. *Journal of Sedimentary Petrology*, **63**, 1000-1006.
- Wolscheck, M. F., Kubicek, C. P. (1999) Biochemistry of citric acid accumulation by *Aspergillus niger*. In *Citric acid biotechnology*, ed. B. Kristiansen, M. Mattey and J. Linden, pp. 11-31. London: Taylor and Francis.

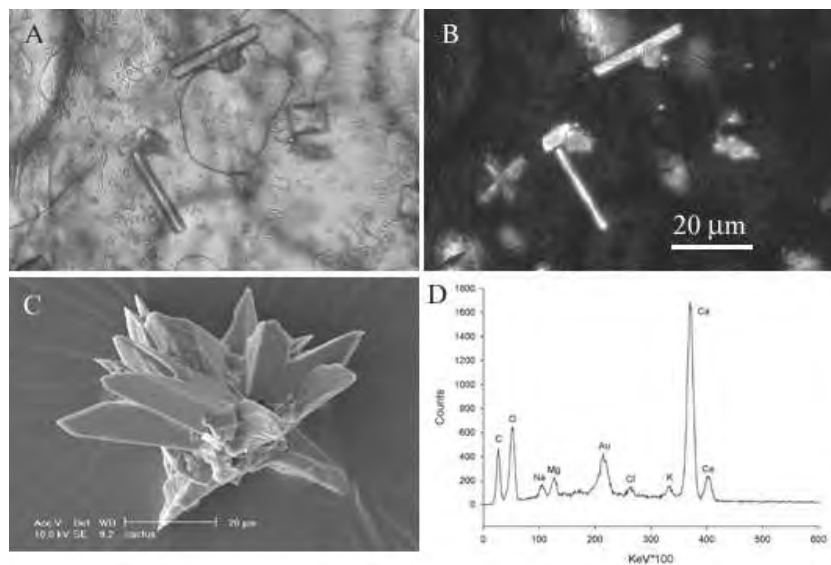


Figure 1: A) Plane polarized light microphotograph of a cross-section inside *Cereus sp.* succulent stem: prism and styloids of calcium oxalate are visible as crystal idioblasts. Scale on image B. B) Same view in cross-polarized light showing the mono-crystalline nature of the biominerals. C) Scanning electron micrograph showing the structure of a drusic agglomerate of calcium oxalate inside *Opuntia sp.* Scale on image. D) Electron dispersive energy spectrum on druse: elements found are mainly *C*, *O*, and *Ca* (for the *Ca*-oxalate), *Mg*, *K*, *Na*, and *Cl* as accessory salts, and traces of phosphorus. The gold peak is due to sample coating. The identification of the mineral (calcium oxalate monohydrate or COM) is confirmed by X-ray diffraction analysis.

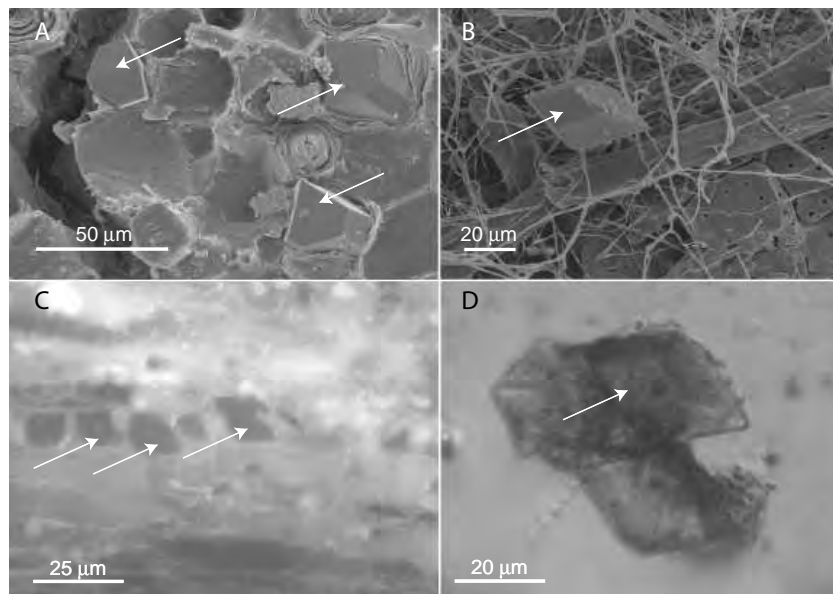


Figure 2: A) Scanning electron micrograph showing euohedral crystals (arrows) of COD (calcium oxalate dihydrate or weddellite): the other part of the photograph is mainly constituted by cellulose. Scale on image. B) COD crystal observed with scanning electron microscope. The crystal (arrow) is surrounded by fungi decaying iroko wood whose cellulose fibrous structure is still observable. Scale on image. C) UV fluorescent light microphotograph of a cross-section inside decaying wood. Between wood fibers (cellulose), a chain of dark euohedral crystals of COD almost freed in the medium. Scale on image. D) View with optical binoculars of free crystals of COD inside a soil aggregate. The shape (habitus) of the crystal shown with the arrow is exactly the same as the one of the crystal shown in B. Scale on image.

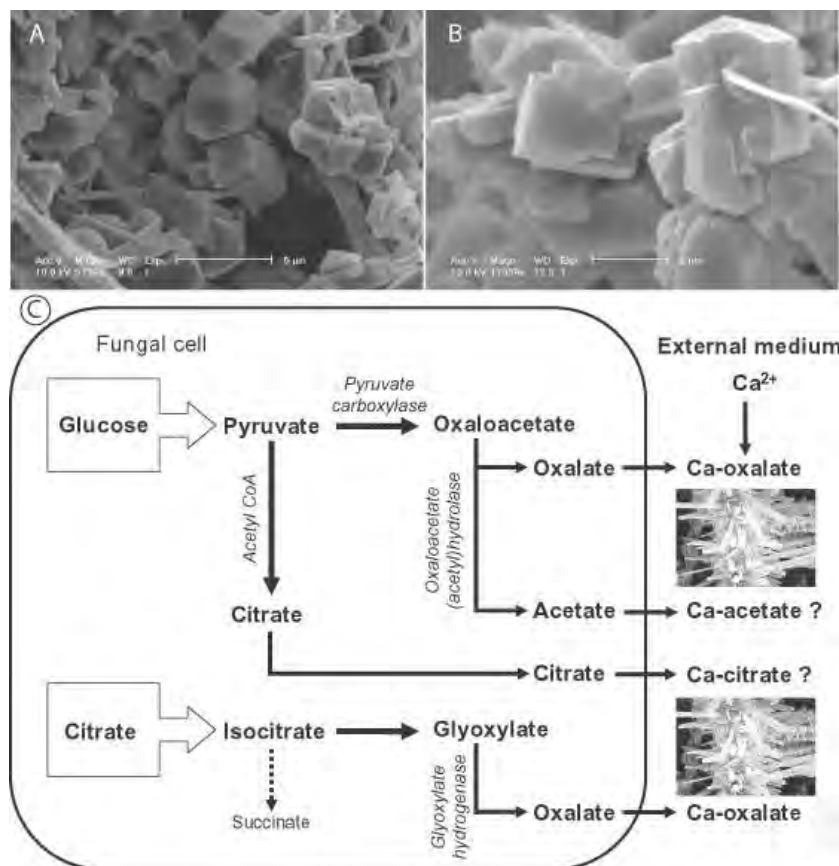


Figure 3: A) Scanning electron micrograph showing euohedral crystals of COD (calcium oxalate dihydrate or weddellite) associated with fungal filaments in decaying iroko wood (Ivory Coast). Scale on image. B) Detail of COD crystal shown in A. The COD crystals belong to the tetragonal system. Scanning electron microscope. Scale on image. C) Sketch of various pathways for Ca-oxalate production by fungi. Biosynthesis of Ca-oxalate is often accompanied by other low molecular weight organic acids, such as citrate or acetate.

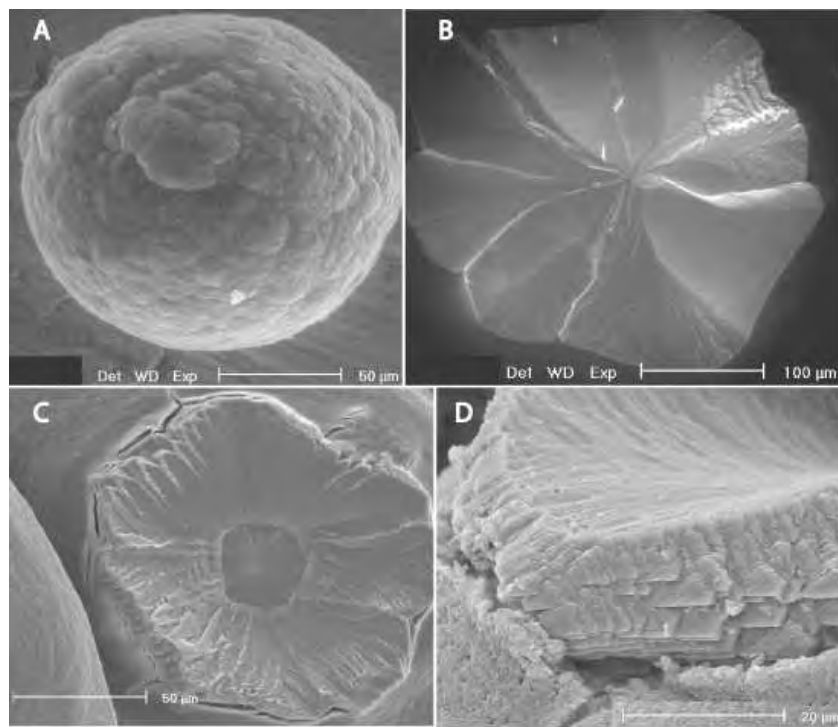


Figure 4: Scanning electron micrograph showing calcium carbonate crystals found A) associated to a *Xanthobacter autotrophicus* culture on an acetate-rich medium, B) on the same medium with *Ralstonia eutropha*, C) with the same bacteria on a citrate-rich medium, and D) on the same medium with *Xanthobacter autotrophicus*. Scale on image.

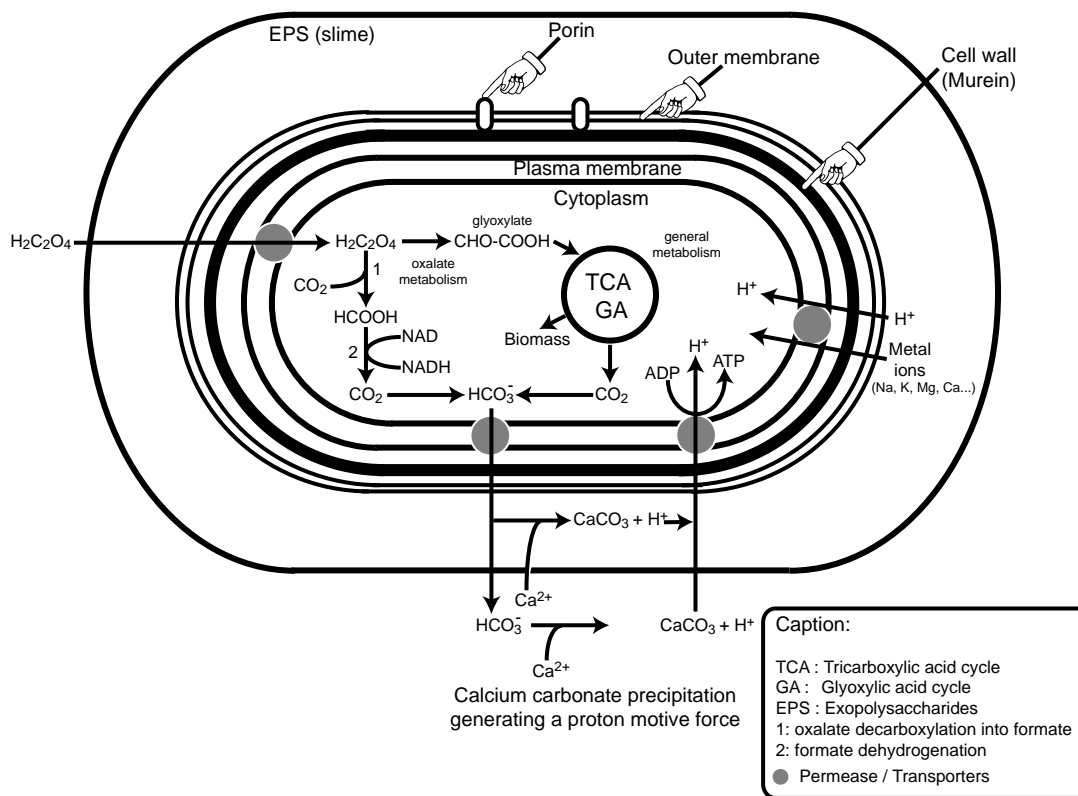


Figure 5: The two main processes identified that lead to the precipitation of calcium carbonate from an oxalate source in oxalotrophic bacteria, the formate and the glyoxylate pathways.

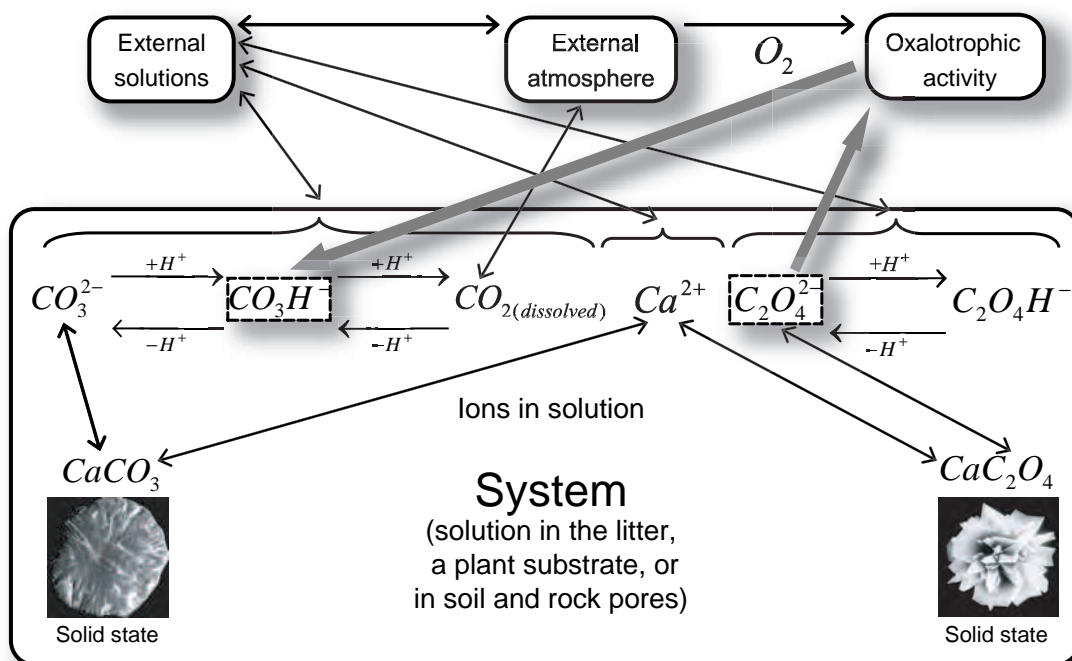


Figure 6: Sketch of the system upon which is based a theoretical model of oxalate transformation into carbonate through bacterial oxalotrophic activity. The system is defined as open and therefore, exchanges are possible with the external environment.

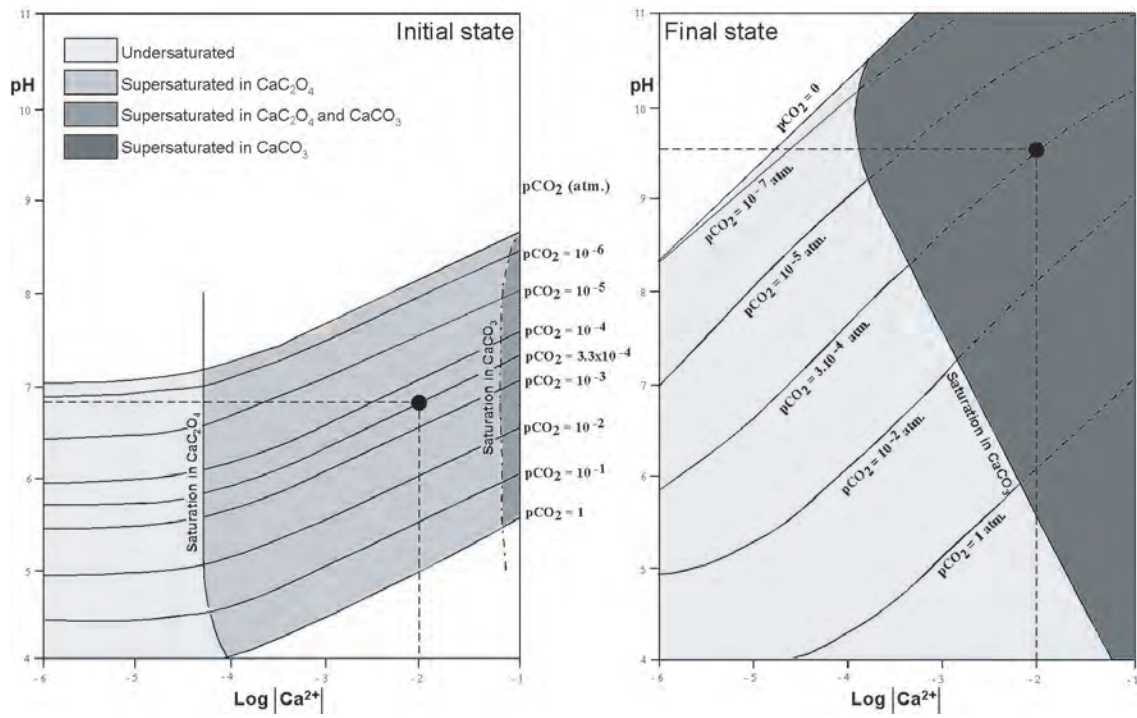


Figure 7: Curves of the function $pH = f([Ca^{2+}], pCO_2)$ obtained using the model given in figure 6. Two states are described: the initial state, in which oxalate is present and begins to be oxidized by oxalotrophic bacteria, and the final state, showing the evolution of pH and calcium concentration after total disappearance of oxalate. The dotted lines refer to observed conditions. Measurements are in agreement with the model. All the oxalate (intersection inside the area related to oxalate supersaturation in the initial state) has been transformed into carbonate (intersection inside the area corresponding to calcite supersaturation in the final state) accompanied by an increase in pH compared with the initial state.

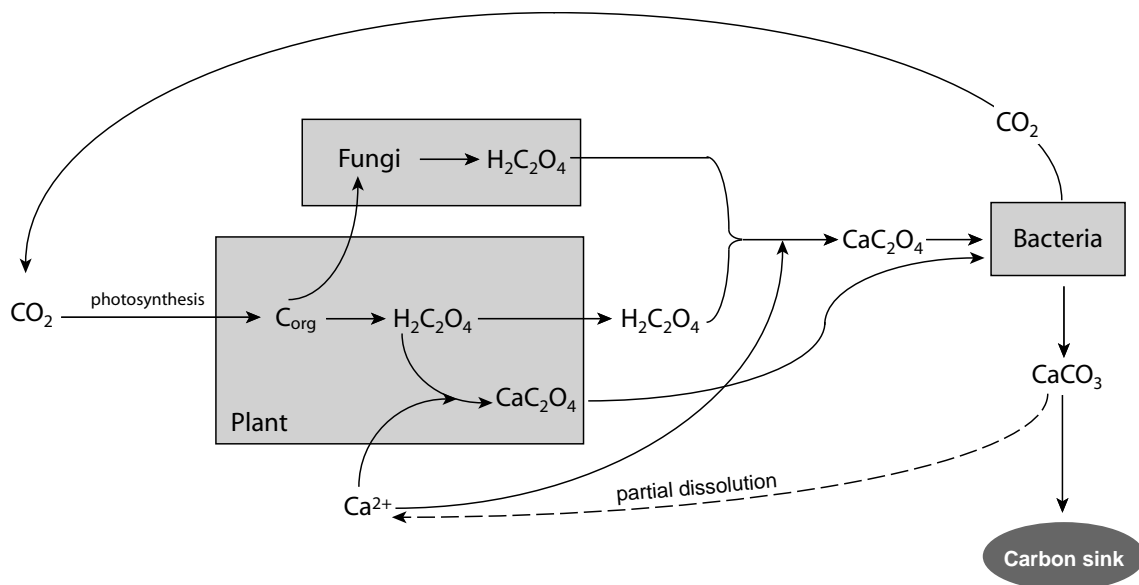


Figure 8: Simplified sketch showing main relationships inside the coupled calcium and carbon cycles of the oxalate-carbonate pathway in an hypothetical ecosystem. Plant and fungi are oxalate producers. Oxalotrophic bacteria (in the soil or animal guts) use oxalate as carbon, energy, and electron sources, leading to carbon dioxide and calcium carbonate production. Calcium carbonate can accumulate inside the soils. Because the carbon of the carbonate originates from organic carbon, its fossilization in the soil constitutes a carbon sink.