

Rapport d'expertise :

Estimation des températures de croissance des valves de cirripèdes fixés sur le flaperon du vol MH370 à partir de l'analyse de leur composition isotopique ¹⁸O/¹⁶O.

co	URRIER ARRIVE
Le	2 3 JUIN 2016
	CABINET 122

Auteurs.

Dominique Blamart, Dr, (HDR)

Equipe Paléocéan, Géochimiste des isotopes stables et étude de la biominéralisation Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, Campus du CNRS 91198 Gif-sur-Yvette CEDEX

Dominique.Blamart@lsce.ipsl.fr

Tél: 33 (0) 1.69.82.43.25

Et

Franck Bassinot, Dr, (HDR) Equipe Paléocéan, Paléocéanographe, spécialiste de l'Océan Indien Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, Campus du CNRS 91198 Gif-sur-Yvette CEDEX Franck.Bassinot@lsce.ipsl.fr

Tél: 33 (0)1.69.82.43.55

Suite à une première prise de contact de Mme le juge d'instruction Carole Ramet avec le Dr Dominique Blamart, le LSCE a été mandaté par le Tribunal de Grande Instance de Paris (TGI) pour effectuer l'analyse isotopique des valves de cirripèdes trouvées sur le flaperon, afin d'estimer l'évolution de leurs températures de croissance.

APPENDIX 2.6B MARINE BIOLOGIST REPORT 2



Plan du rapport

Résumé

1- Contexte de l'étude et objectifs

- 2 Matériel et méthode
 - 2.1 Réception des cirripèdes du flaperon et description
 - 2.2 Cirripèdes destinés à la calibration ¹⁸O/¹⁶O-T
 - 2.3 Stratégie d'échantillonnage
 - 2.4 Méthodes analytiques

3 - Résultats

3.1 Imagerie et données minéralogiques

3.2 Calibration de la relation entre le rapport $^{18}\mathrm{O}/^{16}$ des valves et leur température de formation

3.3 Variabilité des rapports ¹⁸O/¹⁶ et températures de formation des valves analysées

4 - Conclusions

Références bibliographiques

Annexes :

Personnes ayant participé à l'acquisition des données Personnes contactées dans le cadre de l'étude Tableaux des données

APPENDIX 2.6B MARINE BIOLOGIST REPORT 2

4

Résumé

Le LSCE a été mandaté par le TGI de Paris pour tenter de reconstruire les températures de surface des eaux océaniques à travers lesquelles a transité le débris de flaperon du vol MH 370 retrouvé sur l'île de la Réunion en juillet 2015. A cet effet, nous avons mesuré le rapport isotopique ¹⁸O/¹⁶O des valves calcitiques des cirripèdes de l'espèce *Lepas anatifera* qui se sont fixés et développés sur le flaperon lors de son trajet dans l'Océan Indien. Pour cette expertise, 252 ont été effectuées par spectrométrie de masse au LSCE : 34 pour calibration, 198 mesures isotopiques sur 5 valves de cirripèdes adultes et 20 sur des valves de formes juvéniles.

Ne disposant d'aucune calibration de la relation ¹⁸O/¹⁶O – température pour la calcite de *Lepas anatifera*, nous avons dû établir cette calibration à l'aide de spécimens récents pour lesquels les conditions environnementales (température, salinité) étaient connues. Les spécimens australiens ont été fournis par le Dr Jones du Muséum d'Histoire Naturelle de Perth (Australie). Pour cette calibration, 34 analyses isotopiques ont été réalisées sur 6 valves provenant de 5 zones de prélèvements différentes dans l'Est de l'Océan Indien et autour de l'Australie. Cette base de données a été complétée par l'analyse de 20 petites valves d'individus juvéniles provenant du flaperon MH370 récupéré à la Réunion. Les résultats obtenus nous permettent de conclure que la composition isotopique de oxygène de la calcite sécrétée par *Lepas anatifera* reflète bien la température des eaux de surface.

Sur la base de cette calibration, nous avons ainsi converti en température les rapports ¹⁸O/¹⁶O obtenus sur les valves de cirripèdes du flaperon. Les différentes sources d'incertitudes ne nous permettent pas d'estimer les températures à mieux que \pm 1°C.

Les deux résultats principaux sont les suivants :

- 1 les températures de croissance enregistrées par les valves les plus petites (juvéniles) et par la frange terminale (ie. la plus récente) des grosses valves adultes (25,4 \pm 1°C) sont cohérentes avec les températures observées au large de la Réunion. Ces résultats suggèrent que les cirripèdes ont fini de se développer dans des masses d'eaux dont les caractéristiques thermiques étaient similaires à celles des eaux proches de l'île de la Réunion, avant que le flaperon ne soit découvert ;
- 2 au début de leur croissance, les cirripèdes les plus grands étaient baignés par des eaux dont la température était voisine de 28,5 ± 1°C. Les cartes de distribution des températures dans les mois qui précèdent la découverte du flaperon suggèrent que celui-ci a dérivé dans des masses d'eau situées à E-NE de l'île de la Réunion.

Nous n'avons toutefois aucun élément permettant de déterminer avec certitude la durée de croissance des valves recueillies et donc la période couverte par les valves les plus développées. Néanmoins, d'après deux études expérimentales portant sur les vitesses de croissance des anatifes pélagiques (Evans, 1958, Inatsuchi et al., 2010), les valves (scutum) les plus grandes (20-25 mm) auraient pu se former sur une période de quelques mois seulement.



1 - Contexte de l'étude et objectifs

Le boeing 777 du vol MH370 de la Malaysia Airlines reliant Kuala Lumpur à Pékin et transportant 239 personnes est porté disparu depuis le 8 mars 2014. Jusqu'ici, aucun élément robuste n'a permis de définir avec précision la zone de disparition de l'appareil.

En juillet 2015, un débris de flaperon du vol MH370 a été découvert sur une plage de l'île de La Réunion. De nombreux cirripèdes se sont fixés sur ce flaperon lors de son séjour dans l'eau de mer. Une identification conduite par le Dr Poupin a montré qu'il s'agit de l'espèce *Lepas anatifera* (Linnée, 1758), cirripède pélagique (se développant sur des corps flottants). Cette espèce est présente au large de l'Australie et dans une large partie de l'Océan Indien.

Les cirripèdes sont des arthropodes qui vivent fixés sur un substrat dur ; leur corps est protégé par deux valves constituées d'éléments carbonatés articulés entre eux par des charnières organiques. La littérature scientifique est extrêmement pauvre en ce qui concerne la biologie et la géochimie des cirripèdes.

A notre connaissance, une seule étude a été publiée établissant un lien entre le rapport ¹⁸O/¹⁶O de la calcite et la température de croissance de cirripèdes. Ce travail porte sur une autre espèce que celle trouvée sur le flaperon : *Balanus aquila*, une espèce qui vit fixée sur les rochers dans la zone de battement des marées de l'océan Pacifique Est (Killingley & Newman, 1982). Les résultats de cette étude montrent que, comme pour les autres carbonates marins couramment étudiés dans notre laboratoire, le fractionnement isotopique lors des processus de calcification est bien dépendant de la température selon une équation du second degré de la forme :

$$T^{o} = C + B * (\delta^{18}O_{c} - \delta^{18}O_{sw}) + A^{*} ((\delta^{18}O_{c} - \delta^{18}O_{sw})^{2}$$
(1)

où δ^{18} Oc représente l'écart relatif (en ‰) entre le rapport isotopique ¹⁸O/¹⁶O de la calcite biogène et un standard international (appelé PDB), et δ^{18} Osw représente le rapport isotopique ¹⁸O/¹⁶O de l'eau de mer, exprimé lui aussi en écart relatif (‰) par rapport à un standard d'eau de mer (appelé SMOW). Cette calibration peut être approximée par une relation linéaire entre la composition isotopique de l'oxygène et la température dans une gamme comprise entre 20 et 30°C.

Les résultats de Killingley et Newman (1982) sont tout à fait classiques en géochimie isotopique. Ils indiquent que le rapport ¹⁸O/¹⁶O des balanes dépend effectivement de la température des eaux de surface dans lesquelles ces cirripèdes ont vécu. La relation dépend étroitement de l'espèce considérée. Ils ne sont donc pas directement transposables à l'espèce *Lepas anatifera* qui s'est développée sur le flaperon.

Il était donc nécessaire d'établir directement l'existence d'une relation liant le rapport isotopique ¹⁸O/¹⁶O des valves calcitiques de *Lepas anatifera* à la température des eaux dans lesquelles ces animaux se sont développés et de la déterminer avec autant de justesse que possible.

La mission du LSCE comportait donc deux volets principaux :

- établir une calibration de la relation ¹⁸O/¹⁶O température de croissance pour la calcite de Lepas anatifera ;
- déterminer la composition isotopique ¹⁸O/¹⁶O des valves trouvées sur le flaperon du vol MH370 et, à l'aide de la calibration établie expérimentalement, estimer l'évolution des températures des eaux de surface lors de la croissance des cirripèdes pour tenter d'apporter des éléments nouveaux sur la zone de disparition de l'avion et/ou le trajet suivi par le flaperon, porté par les courants de surface.

2 - Matériel et Méthodes

2.1 Réception des cirripèdes du flaperon et description

De très nombreux cirripèdes de l'espèce *Lepas anatifera* se sont développés sur le flaperon du vol MH370 lors de son séjour dans l'océan (Figure 1a). Ces cirripèdes ont été prélevés par le Dr Poupin et placés dans le scellé n°5 (Figure 1b et 1c). Ce matériel a été réceptionné au LSCE le 24 novembre 2015.

Le transport s'est effectué à température contrôlée (4°C). Les échantillons ont été placés immédiatement dans un réfrigérateur dont la température est également de 4°C. Les sacs d'échantillons n'ont été sortis du réfrigérateur que lors des échantillonnages ou pour les prises de photographies.

Les spécimens les plus grands se trouvaient dans les sachets des zones A1, A2, E1 et F1 du flaperon. La taille des valves les plus grandes (scutum) était de 25 mm, alors que les plus petits ne dépassaient pas 3 mm.

2.2 Cirripèdes destinés à la calibration $^{18}O/^{16}O - T$

Pour déterminer la relation liant le rapport ¹⁸O/¹⁶O des valves à leur température de croissance, il était nécessaire de mesurer la composition isotopique de spécimens de *Lepas anatifera* dont les conditions de vie (température, salinité des eaux dans lesquelles ils ont vécu) étaient connues. A cette fin, nous avons contacté plusieurs



biologistes, dont le Dr Poupin qui avait conduit, en août 2015, l'expertise des cirripèdes du flaperon du vol MH370.

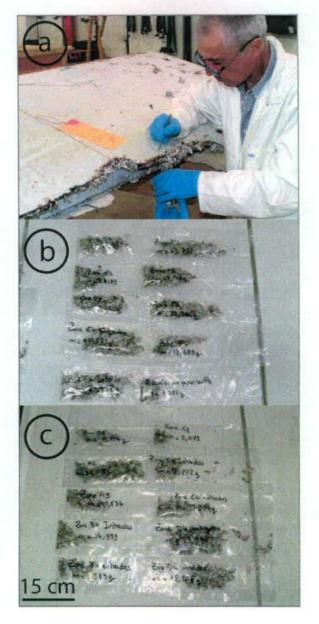


Figure 1: a) collecte, par le Dr J. Poupin, des colonies de cirripèdes sur le flaperon du vol MH 370 de la Malaysia Airlines le 09 août 2015 à Toulouse; b) et c) photographies des différents sachets contenant les échantillons de cirripèdes, constitutifs du scellé n°5 et annotés suivant la zone de collecte sur le flaperon. Une seule collection a pu nous permettre d'obtenir des spécimens provenant de plusieurs zones géographiques de l'Est de l'Océan Indien, couvrant une gamme de température assez large pour les besoins de la calibration et comportant des chroniques de température et de salinité bien documentées. Cette collection provient du Muséum d'Histoire Naturelle de Perth (Western Australian Museum, Australie), sous la direction du Dr. Jones.

Nous avons contacté le Dr Jones le 10 décembre 2015 pour obtenir des renseignements sur la collection et la disponibilité des spécimens. Malheureusement, en plein déménagement des collections, le Dr Jones n'a pu répondre favorablement à notre demande qu'à partir de février 2016. Une série d'échanges par courriels nous a permis de préciser les spécimens nécessaires à notre calibration.

En raison des règles contraignantes régissant les échanges de matériel biologique au niveau international, nous avons recherché un laboratoire agréé CITES (Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction) pour réceptionner les cirripèdes envoyés par le Dr Jones.

Les échantillons ont finalement été envoyés par le Dr Jones au Dr Laure Corbari du Muséum d'Histoire Naturelle (Paris) qui les a réceptionnés le 7 mars 2016. Dominique Blamart a pris en charge ces échantillons de calibration le 10 mars 2016 (Tableau 1, Figure 2). Les premières observations, le choix des spécimens et la mise au point du protocole expérimental ont commencé immédiatement. Les premières analyses isotopiques ont débuté à la fin du mois de mars et se sont terminées fin avril 2016.

2.3 Stratégie d'échantillonnage

Les analyses ont porté sur l'élément carbonaté principal (appelé scutum) de plusieurs valves de cirripèdes. La figure 3 présente les différentes pièces carbonatées constitutives de *Lepas anatifera* (photographie extraite du rapport de J. Poupin). De manière systématique nous avons choisi la valve droite pour réaliser les mesures isotopiques afin de rester cohérent dans le protocole d'échantillonnage.

Pour la population issue du flaperon, deux types de cirripèdes ont été sélectionnés :

- les plus petits, dont la taille maximale du scutum était < 10mm ; comme ils contiennent encore leurs parties molles, ils représentent des individus juvéniles dont l'arrimage sur le flaperon a été le plus tardif (c'est à dire le plus proche du moment de la découverte du débris),
- <u>les plus grands</u>, dont le scutum pouvait atteindre 25 mm ; ils représentent les individus les plus âgés, susceptibles de fournir les reconstructions

temporelles de température les plus longues au cours de la dérive du flaperon.

O WESTERN AUSTRALIAN MUSEUM Lepadidae Lepas anatifere WAM C33134 NSW. Gorim Bay, Batemans Bay 35'43'5, 160'11' Stats, 160'11' Edector: Brearley, A. Date: 60/01/1985 Det. by: Jones, D.S.	WESTERN AUSTRALIAN MUBEUM Lepositidae Lepos analitare WAM C19435 Docto Koeling Islands, Prison L 12°07 s, 96'542 Station: 30 Collector: Jones, D.S. Date: 21/02/1969 Det. by: Jooes, D.S. Date: 21/02/1969
	1 2 1 3 4 @ 5 max 6 @
\odot	WESTERN AUSTRALIAN MUSEUM Lupadidae Lapas enactiens WAM C18200
VESTERA AUSTRALIAN MARELA Lapitica Lapitica Mare australia Mar Crass VAR Cra	31'975, 115'20'E Cellector : Jones, D.S. Date 02/09/1985
4 5 5 - 6 40 7 10 8 9 9	
e	1
WEDTERN AUSTRALIAN MUDELM Lipse aneather With Ancados With Ancados Mita Satas Mita Satas	WESTERN AUSTRALIAH MUSEUM Lepasition Lepasition Lepasition WAR Handerson, fran weakt Pacific Made in dry dock 2015 473, 116745 2872 Det by: Hork, A. Dans Det, Bits Det by: Hork, A. Dans Det, Bits

Figure 2: Photographies (a à f) des échantillons provenant de la collection du Muséum d'Histoire Naturelle de Perth (Western Australian Museum, Australie) utilisés dans la calibration de la relation entre le rapport ¹⁸O/¹⁶O des valves de cirripèdes et leur température de formation.

APPENDIX 2.6B MARINE BIOLOGIST REPORT 2

Pour la sélection des plus petits individus, dans chaque sachet (sauf celui libellé « récupéré sur papier bulle »), nous avons procédé à un tirage au hasard de 3 petits spécimens parmi lesquels nous avons ensuite choisi un individu à analyser. Des mesures morphologiques ont été réalisées afin de détecter éventuellement une relation entre les valeurs de compositions isotopiques et la taille des spécimens. La longueur (L) du capitulum (correspondant au scutum plus le tergum, voir Figure 3) ainsi que sa largeur (l) ont été mesurées au pied-à-coulisse (Tableau 2).

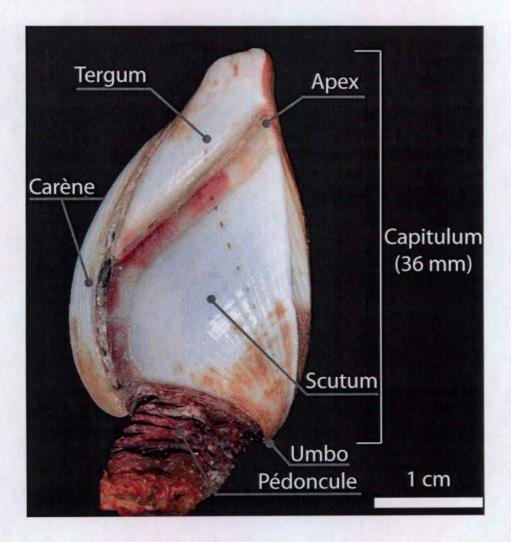


Figure 3 : Planche photographique de *Lepas anatifera* (photographie tirée du rapport du Dr J. Poupin) présentant les différentes pièces carbonatées constitutives de l'animal.

Pour les échantillons destinés à la calibration (spécimens envoyés par le Dr Jones) un à trois individus avaient été envoyés pour chaque site de prélèvement. Après observation macroscopique, référencement et prise de photographies (Figure 2), les analyses ont débuté le 30 mars 2016.

Pour chaque spécimen, les valves de cirripèdes ont été séparées et les parties molles de l'animal précautionneusement enlevées à l'aide d'un scalpel. La valve droite a ensuite été brossée délicatement sous l'eau pour enlever toute trace de résidu organique. En fin d'opération, chaque valve a été contrôlée pour sa propreté et nettoyée une seconde fois si nécessaire. Les valves n'ont été soumises à aucun traitement particulier (ni chimique, ni thermique) avant analyse isotopique.

La calcite qui constitue le scutum a ensuite été échantillonnée de deux manières :

(i) Pour les plus petites valves, nous avons broyé l'intégralité du scutum et homogénéisé la poudre obtenue afin d'obtenir une valeur isotopique représentative de l'ensemble de la valve ;

(ii) Pour les plus grands individus, nous avons procédé à un échantillonnage très précautionneux le long de l'axe principal du scutum, perpendiculairement aux stries de croissance, depuis, le crochet (appelé l'umbo) qui correspond à la partie la plus ancienne de la coquille, jusqu'à sa pointe la plus récente (appelée apex). Un tel échantillonnage était destiné à obtenir plusieurs points de mesure correspondant aux différentes étapes de croissance de la valve.

Une première grande valve a été échantillonnée à basse résolution spatiale (A1-2, Figure 4) à l'aide d'une micro-fraise de dentiste ainsi qu'avec une mini-disqueuse équipée d'un disque de 300µm d'épaisseur. Cet échantillonnage a été entrepris dans le but de déterminer la gamme de composition isotopique de la calcite et sa variabilité à l'échelle millimétrique.

Nous avons ensuite effectué un échantillonnage à haute résolution (entre 160 et 500 microns) sur plusieurs valves à l'aide d'un micro-échantillonneur de type Micromill (Newave-ESI Corporation). Cet échantillonneur, couplé à une loupe binoculaire, permet d'abraser la surface de l'échantillon à l'aide d'une pointe tournant à grande vitesse tout en connaissant la localisation précise du prélèvement. Cette technique d'échantillonnage très précise nécessite d'opérer le prélèvement perpendiculairement à une surface plane de l'échantillon. Pour échantillonner les plus grosses valves incurvées, nous avons développé un système de cales réglables pour permettre les prélèvements représentatifs dans la zone de l'umbo où la concavité de la valve est très forte. Cette approche nous a permis d'obtenir une succession d'échantillons tout au long de l'axe principal de croissance, reflétant la formation progressive de la valve au cours du temps. Dans des conditions favorables, la meilleure résolution que nous ayons obtenue entre chaque prélèvement est comprise entre 160 et 180µm pour une extension latérale (le long d'un même ensemble de stries de croissance) comprise entre 1500 et 2500um. La profondeur d'abrasion a fait l'objet de vérifications répétées; d'une manière générale elle était comprise entre 50 et 150µm. Enfin un système de prélèvement par aspiration de la poudre de carbonate de calcium émise lors de l'abrasion nous a



apex

permis de collecter des échantillons de 50 à 100µg, sans contamination extérieure, en vue des analyses au spectromètre de masse.

Figure 4 : Echantillonnage basse résolution du spécimen A1-2 dans le contexte de l'étude exploratoire de la variabilité de la composition isotopique de l'oxygène. Les zones a à s correspondent aux zones échantillonnées.

2.4 Méthodes analytiques

2.4.1. Analyse minéralogique

Préalablement aux analyses isotopiques, des analyses par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier ont été réalisées sur les poudres obtenues par broyage de quelques-uns des scutums échantillonnés. Ces analyses étaient destinées à déterminer la nature minéralogique des valves de *Lepas anatifera*. Nous avons ainsi vérifié que le carbonate de calcium était bien constitué de calcite (un carbonate de calcium rhomboédrique) sans présence d'aragonite (carbonate de calcium orthorhombique) qui présente un fractionnement isotopique pour l'oxygène différent de celui de la calcite.

L'appareil utilisé est un Spectro-Frontier Perkin-Elmer du Laboratoire Géosciences Paris-Sud (GEOPS). Après broyage de la totalité du scutum dans un mortier en agate et homogénéisation de la poudre obtenue, 1 à 2 milligrammes de matériel sont disposés sur la cellule d'illumination infrarouge. La déconvolution des spectres d'absorption qui permet de caractériser la nature minéralogique de l'échantillon a été réalisée à l'aide du logiciel Spectrum 10. Un exemple de spectre est présenté dans la figure 5.

2.4.2. Analyses au Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Afin de visualiser l'agencement des couches successives de calcite déposées lors de la croissance des valves de *Lepas anatifera*, deux séances de microscopie électronique à balayage ont été programmées à GEOPS. Ces images ont été réalisées sur un microscope Phenom Prox permettant un grossissement de 80.000. Ce MEB possède aussi une sonde EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) avec laquelle nous avons réalisé quelques spectres d'analyses chimiques confirmant la nature calcitique pure des valves de *Lepas anatifera*. Les stries de croissance sont bien visibles, ce qui a permis un échantillonnage représentatif des couches déposées au cours de la vie de l'animal.

2.4.3 Analyses des isotopes de l'oxygène par sonde ionique

Des processus biologiques complexes au moment de la cristallisation sont susceptibles de provoquer des variations importantes de composition isotopique indépendamment des conditions environnementales. Ils se traduisent par une grande variabilité des compositions isotopiques à l'échelle micronique. Pour s'assurer de l'absence de telles variations au sein de la valve de *Lepas anatifera*, des mesures *in situ* ont été réalisées à la sonde ionique au Centre de Recherche Pétrographique et Géochimique ((CRPG, UMR CNRS/UL 7358, Vandoeuvre-les-Nancy). La précision (proche de 1‰) des mesures réalisées par cet équipement ne permet pas une paléothermométrie fine. Les mesures effectuées sur la sonde ionique les 22, 23 et 24 février 2016 ont porté sur trois scutums des spécimens E1-G2, F1-G1 et E1-P1 ainsi qu'un targum du spécimen F1-G1. Tous confirment l'absence d'une grande variabilité à l'échelle micronique.

2.4.4 Analyses du rapport ¹⁸O/¹⁶O par spectrométrie de masse en phase gazeuse

Toutes les analyses isotopiques ont été réalisées au LSCE. Ces analyses ont été réparties en plusieurs séances, de décembre 2015 (travail exploratoire, basse résolution) à mi-mai 2016. Les dernières séances d'analyse ont porté à la fois sur les scutums échantillonnés à résolution micrométrique (Microdrill) ainsi que sur les cirripèdes reçus en mars 2016 et destinés à la calibration de la relation liant le rapport ¹⁸O/¹⁶O à la température des eaux dans lesquelles les valves de *Lepas* anatifera se sont développées.

Les deux spectromètres de masse utilisés sont un Optima VG-ISOTECH et un ISOPRIME 100 Elementar. Ces deux spectromètres sont rigoureusement intercalibrés. Ils permettent d'analyser des quantités de carbonate de calcium d'environ 100 microgrammes au minimum pour le premier et 50 microgrammes pour le second.

Les échantillons de calcite réagissent avec de l'acide phosphorique, dans une enceinte thermostatée. Le CO_2 produit est injecté dans le spectromètre de masse, en alternance avec un gaz CO_2 de référence. Les rapports ¹⁸O/¹⁶O sont exprimés en écarts relatifs (notation δ en ‰) par rapport à un standard calé sur l'échelle internationale PDB pour les carbonates (PeeDee Belemnite standard) et SMOW (Standard Mean Ocean Water) pour les compositions isotopiques de l'eau de mer. La reproductibilité externe du δ^{18} O estimée à l'aide de nombreuses mesures d'un standard CaCO₃ homogène, est de $\pm 0.05\%$ (1 sigma), ce qui, exprimé en terme de température, correspond à une incertitude de $0,2^{\circ}C$.

3 - Résultats

3.1 Imagerie et données minéralogiques

Les mesures par FTIR confirment que les parties minérales des valves de *Lepas* anatifera trouvées sur le flaperon du vol MH370 sont constituées de carbonate de calcium (CaCO₃), sous sa forme calcite exclusivement (Figure 5). Ce résultat nous permet de poursuivre les analyses isotopiques en vue d'obtenir des estimations fiables de température.

Les données de microscopie électronique suggèrent que la croissance des valves de Lepas anatifera se réalise par dépôt successif de fines couches de calcite (Figure 6). Plusieurs échelles de structures et microstructures coexistent, allant du millimètre à la dizaine de microns. Les parties les plus marginales, qui correspondent latéralement à l'apex de la valve, sont les plus récentes et les plus fines. La croissance s'accompagne aussi d'un épaississement progressif de la coquille, par dépôt de carbonate sur la face interne des valves, plus marqué du côté de l'umbo (crochet initial marquant la partie la plus ancienne de la valve). Ces observations nous ont ainsi conduit à choisir un mode d'échantillonnage à haute résolution utilisant le Micromill, afin de collecter les couches les plus superficielles des spécimens. Cette stratégie permet de prélever la calcite déposée au cours du temps et de suivre l'évolution des températures de l'eau de mer au cours de la croissance de chaque individu.



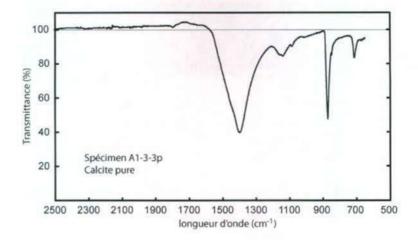


Figure 5 : Détermination de la nature minéralogique du spécimen A1-3-3p par spectrométrie infra rouge à transformée de Fourier (IRTF). Ce spectre est caractérisé par les bandes de vibration de la calcite (870 et 712 cm⁻¹). Il indique que l'échantillon est constitué de calcite pure.

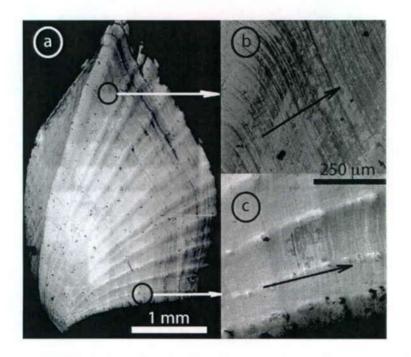


Figure 6 : Images MEB de la valve droite d'un specimen *Lepas anatifera* juvénile (échantillon E1-P1) avec a) une vue d'ensemble du spéciment, b) et c) vues correspondant respectivement à un agrandissement de la zone de l'apex et de la partie latérale de l'umbo. Les fléches noires indiquent le sens de la croissance. Ces photographies illustrent les différentes échelles d'organisation structurale de *Lepas anatifera*.

<u>3.2 Calibration de la relation entre le rapport ¹⁸O/¹⁶O des valves et leur température de formation</u>

3.2.1 Calibration de la relation $\delta^{18}O_{SW}$ – salinité

Comme le montre l'équation des paléotempératures isotopiques (1), la composition isotopique ¹⁸O/¹⁶O de la calcite de *Lepas anatifera* dépend à la fois de la température de l'eau dans laquelle l'animal se développe, mais également de la composition isotopique de cette eau ($\delta^{18}O_{SW}$).

La composition isotopique de l'eau de mer de surface est régie par des processus de fractionnement isotopique associés aux différentes étapes du cycle hydrologique (évaporation, transport, précipitation). Il en résulte des relations linéaires régionales qui lient composition hydrologique et salinité de l'eau de mer en surface.

Le Dr Patrick de Deckker (Australian National University, Canberra) nous a fourni un ensemble de données de mesures du δ^{18} O des eaux de surface (Tableau 3) au large de l'Australie qui, associées aux données de salinité mesurées lors des campagnes de prélèvements, nous ont permis de déterminer empiriquement la relation linéaire liant δ^{18} Osw et la salinité dans cette partie de l'Océan Indien (Figure 7).

$$\delta^{18}O_{SW}$$
 (‰) = 0,31 * salinité – 11.1 (2)

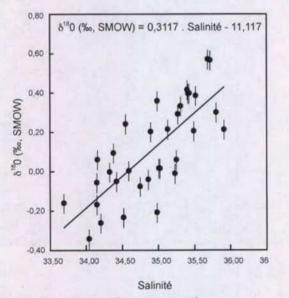


Figure 7 : Relation Salinité – $\delta^{18}O$ (‰, SMOW) pour des échantillons d'eau de surface de l'Océan Indien Est, collectés lors de la campagne océanographiques Francklin 02 (données non publiées, courtoisie du Pr P. de Deckker, Australian National University, Canberra).

Cette relation permet d'estimer le rapport ${}^{18}O/{}^{16}O$ de l'eau de mer avec un écart type de $\pm 0,1\%$ (à 1 sigma).

3.2.2 Calibration de la relation ¹⁸O/¹⁶O – température

Munis de la relation (2), et en utilisant les salinités mesurées aux sites de prélèvement des échantillons de *Lepas anatifera* destinés à la calibration, nous avons pu estimer le rapport isotopique des eaux dans lesquelles ces organismes s'étaient développés (Tableau 4) et d'établir une relation empirique entre le rapport ¹⁸O/¹⁶O de la calcite des valves et la température à laquelle elle se sont formées (Figure 8).

La relation linéaire obtenue est la suivante

$$T (^{\circ}C) = -4,327 * (\delta^{18}O_{calcite} - \delta^{18}O_{SW} + 0,27) + 21,684$$
(3)

où $\delta^{18}O_{\text{calcite}}$ représente la composition isotopique de la calcite (exprimé en ‰ dans l'échelle PDB), $\delta^{18}O_{\text{SW}}$ représente la composition isotopique de l'eau de mer (exprimé en ‰ dans l'échelle SMOW).

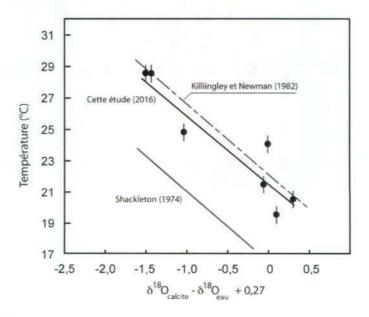
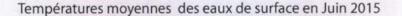


Figure 8: Calibration des valeurs de composition isotopiques des valves de cirripèdes en fonction de la température de formation. Les points noirs représentent les valeurs que nous avons déterminées expérimentalement.

Pour comparaison, ont été ajoutées (i) la courbe de calibration de Shackelton (1974) utilisée classiquement en paléocéanographie pour les études portant sur les foraminifères, (ii) celle de Killingley et Newman (1982) obtenue sur l'espèce de cirripède *Balanus aquila*.

APPENDIX 2.6B D257 X8 MARINE BIOLOGIST REPORT 2

Nous avons utilisé cette relation pour calculer les températures de formation des valves de cirripèdes. Compte tenu des incertitudes analytiques sur la composition isotopique des valves et sur l'estimation de la composition isotopique de l'eau de mer, l'incertitude sur la reconstruction de la température de calcification des cirripèdes est d'environ ±1°C. Comme la température des eaux de surface de l'océan Indien présente des variations supérieures à 10°C (Figure 9), la précision des estimations de température permet d'apporter des informations significatives et de contraindre la zone dans laquelle le flaperon a dérivé pendant que les cirripèdes se développaient.



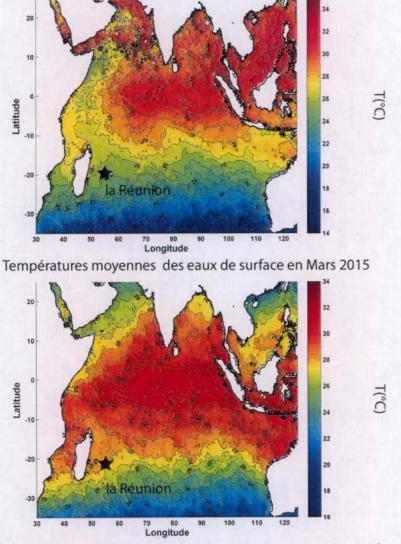


Figure 9 : Distribution des températures moyennes des eaux de surface de l'Océan Indien durant le mois de juin et de mars 2015. L'étoile noire représente l'ile de la Réunion.

3.3 ¹⁸O/¹⁶O des cirripèdes du flaperon : estimation des températures

3.31 Vérification de la cohérence des compositions isotopiques des cirripèdes collectés sur le flaperon

-Les données exploratoires ; spécimen A1-2.

Avant de commencer un échantillonnage haute résolution long et fastidieux, nous avons testé si effectivement les valves de cirripèdes enregistraient bien une variabilité isotopique susceptible de correspondre à un signal interprétable en terme de température. Nous avons donc échantillonné le spécimen A1-2 manuellement (Figure 4, Tableau 5). Les résultats des mesures isotopiques montrent que la gamme de variation est de l'ordre de 0,9‰, entre -1,92 et -1,08 ‰ vs PDB (Figure 10). Les valeurs isotopiques les plus positives (-1,08 ‰) correspondent aux zones périphériques de la valve, les plus récentes. Les valeurs les plus négatives ont été mesurées dans les zones plus anciennes contigües à la zone de l'umbo (la plus vieille). D'une manière globale, les valeurs de δ^{18} O montrent une tendance nette à l'augmentation depuis la zone contigües à l'umbo jusqu'à la périphérie.

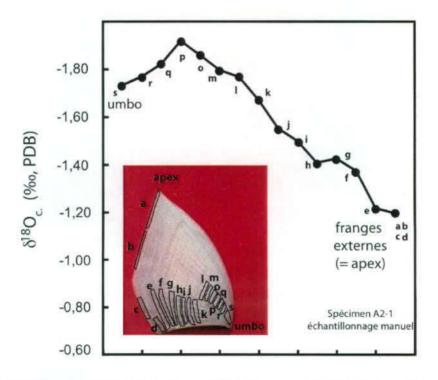


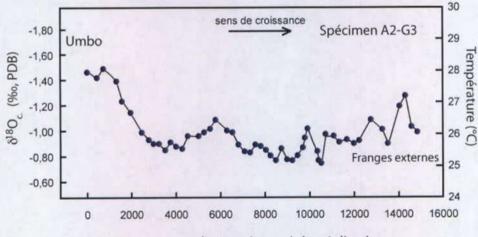
Figure 10 : Profil isotopique ($\delta^{18}O$, ∞ vs PDB) basse résolution du spécimen A1-2. A noter que la partie correspondant à l'umbo présente des valeurs $\delta^{18}O$ de plus négatives que celles correspondantes aux bords externes. Par convention l'échelle des ordonnées a été inversée dans toutes les figures avec $\delta^{18}O$ en ordonnées, ce qui permet de représenter un axe de température croissant vers le haut.

-Les petits spécimens

Nous avons analysé 20 petits spécimens (tableau 2 et tableau 4) provenant des différentes zones du flaperon. Les vitesses de croissance estimées par des études de biologistes (Evans 1958; Inatsuchi et al., 2010) nous conduisent à attribuer à ces spécimens juvéniles un âge pratiquement contemporain de l'échouage du flaperon. Si l'on considère la courbe de croissance proposée par le Dr. Poupin, alors ces spécimens auraient moins de 2 semaines d'existence. Les travaux expérimentaux d'Inatsuchi et al. (2010), qui portent sur la relation entre température de l'eau, nutriments et croissance des anatifes, sont également en accord avec cette estimation. La moyenne des compositions isotopiques $\delta^{18}O$ de ces échantillons est -1,06 ‰ avec un écart type de 0,15‰. Il n'y a pas de relation entre la taille des spécimens ou leur rapport longueur sur largeur et leurs compositions isotopiques δ^{18} O. Nous considérerons donc que cette valeur moyenne de δ^{18} O correspond aux conditions thermiques des eaux de surface qui ont prévalues au large de l'ile de la Réunion le mois précédent la découverte du flaperon. En conséquence, les franges les plus externes de chaque individu analysé, trouvé vivant, quelle que soit sa taille, devraient avoir une valeur de δ^{18} O proche de -1,06 ± 0,15‰ (PDB). Nous avons systématiquement effectué cette vérification.

·Les spécimens de taille intermédiaires A2·G3 et A2·G4.

Ces deux échantillons ont une taille du scutum de 19 mm pour A2-G3 et de 16 mm pour A2-G4. Tous deux proviennent du sachet A et ont été analysés pour, d'une part tester la reproductibilité des profils isotopiques d'échantillons de taille comparable et, d'autre part, obtenir un enregistrement de δ^{18} O des valves couvrant une période plus longue que celle obtenue sur les petites valves.



Le spécimen A2-G3 a été analysé à haute résolution (Tableau 6, Figure 11).

distance (en µm) depuis l'umbo

Figure 11 : Profil isotopique (δ^{18} O, ∞ vs PDB) haute résolution et température de formation de la valve du spécimen A2-G3. On note que la partie correspondant à l'umbo s'est développée dans de eaux plus chaudes que les franges externes.

Les valeurs de δ^{18} O de ce spécimen sont comprises entre -1,50 et -0,78‰ (PDB). Les valeurs les plus négatives ont été mesurées dans les zones les plus anciennes contigües à la zone de l'umbo (la plus vieille). Les valeurs les plus élevées sont présentes dans les parties externes (les plus récentes) de la valve. Les valeurs augmentent de 0,7 ‰ entre la zone de l'umbo (~-1,45 ‰) vers la périphérie. Cette augmentation se réalise sur environ 1500µm de distance à proximité de l'umbo.

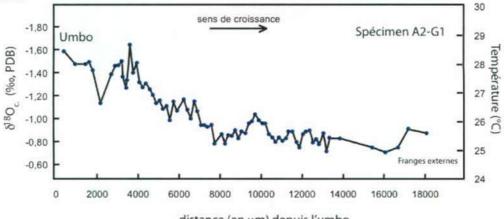
Le spécimen A2-G4 présente des valeurs de δ^{18} O (Tableau 7) comprises entre -1,43‰ et -0,96‰ (PDB). La valeur la plus négative se situe en position intermédiaire dans la valve. Ces valeurs se situent entre 3120 et 7380 µm de l'umbo dont la zone contigüe présente une valeur proche de -1,20‰ (PDB). Les valeurs isotopiques des bords les plus externes, les derniers 1000 µm, oscillent entre -1,13 et -0,96‰ (PDB) pour une moyenne de -1,04‰ (PDB) avec un écart type de 0.1‰. Ces valeurs sont similaires à celles obtenues pour les petits échantillons de cirripèdes et peuvent donc être considérées comme reflétant les conditions thermiques lorsque le flaperon a dérivé dans les eaux proches de l'ile de la Réunion.

La cohérence de l'ensemble de ces résultats isotopiques nous autorise à les exprimer en termes de température des eaux dans lesquelles les valves se sont développées (Figures 11, 12 et 13).

3.3.2 Obtention de profils longs sur grands spécimens

-A2-G1, échantillonnage haute résolution

Cet échantillon a été analysé à très haute résolution ; avec 77 échantillons (Figure 12, Tableau 8), il constitue la chronique isotopique la mieux documentée de cette expertise.



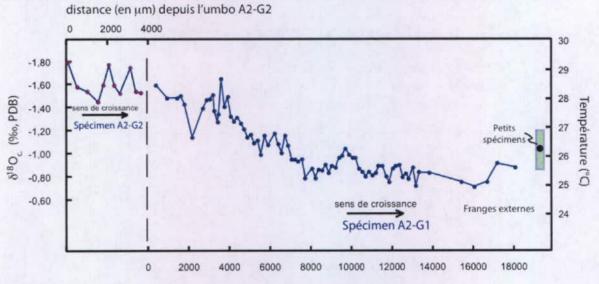
distance (en µm) depuis l'umbo

Figure 12 : Profil isotopique (δ^{18} O, ∞ vs PDB) haute résolution et température de formation de la valve du spécimen A2-G1. A noter que la partie correspondant à l'umbo s'est développée dans des eaux significativement plus chaudes que les franges externes.

Les valeurs de δ^{18} O varient de -0,72 et -1,60 ‰ (PDB). Comme pour les échantillons précédents, nous observons que les valeurs les plus négatives correspondent aux zones proches de l'umbo, alors que les valeurs les plus positives correspondent aux zones les plus externes du spécimen. Entre l'umbo et 7850 µm, le profil obtenu, interprété en terme de température des eaux de surface de l'eau de mer (Figure 12) témoigne d'un refroidissement progressif d'environ 3°C au cours de la vie de l'animal. Cette diminution de température est significative compte tenu de l'incertitude expérimentale de ±1°C. Nos résultats montrent qu'au cours de la vie de l'animal, les températures ont diminue de manière plus ou moins régulière, passant d'environ 28,5 ± 1°C à 25,4 ± 1°C. Dans la seconde partie du profil, entre 7500 et 18180µm, les températures restent sensiblement constante (25,4 ± 1°C), dans la gamme des valeurs précédemment estimées pour les juvéniles qui se sont développés dans des eaux proches de l'île de la Réunion.

·Les valeurs δ¹⁸O de la zone de l'umbo ; spécimen A2·G2

Afin de nous assurer de la bonne représentativité des températures élevées obtenues au voisinage de l'umbo de l'échantillon A2-G1, nous avons effectué une série d'analyses isotopiques sur le spécimen A2-G2 (Figure 13), de taille comparable à A2-G1.



distance (en µm) depuis l'umbo A2-G1

Figure 13: Synthèse des gammes de température déterminées à l'aide des différents profils isotopiques. Le profil isotopique haute résolution du spécimen A2-G1 constitue une référence de la variabilité des températures des eaux de surface à travers lesquelles a transité le flaperon. A titre de comparaison, sont représentés : (i) le profil de la partie proche de l'umbo du spécimen A2-G2 (ii) la gamme de variabilité enregistrée par les cirripédes juvéniles (boîte colorée). On notera que les deux plus grands spécimens (A1-G1 et A2-G2) ont commencé leur croissance dans des eaux dont les températures étaient proches de 28,5±1°C. Le profil isotopique couvre une distance d'environ $3500 \ \mu\text{m}$ à partir de l'umbo. Les valeurs de compositions isotopiques de l'oxygène (Tableau 9) et de températures sont comparables à celles obtenues au voisinage de l'umbo de l'échantillon A2-G1 (Figure 13).

Ces résultats indiquent que dans les quelques mois qui ont précédé l'échouage, le flaperon a dérivé progressivement depuis des eaux chaudes ($29 \pm 1^{\circ}$ C) vers des eaux sensiblement plus froides ($25,4 \pm 1^{\circ}$ C) présentes près de l'île de la Réunion.

4 Conclusions

L'ensemble de ces mesures, d'une grande cohérence, montre :

- 1 Les cirripèdes de l'espèce *Lepas anatifera* enregistrent fidèlement la température des eaux de surface dans lesquelles ils se sont développés et ont sécrété leurs valves.
- 2 les températures de croissance enregistrées par les valves les plus petites (juvéniles) et par la frange terminale (c'est à dire la plus récente) des grosses valves adultes (~ $25,4 \pm 1^{\circ}$ C) sont cohérentes avec les températures observées au large de la Réunion en mai juin 2015. Ces résultats indiquent que les cirripèdes ont achevé leur développement, avant que le flaperon ne soit découvert, dans des masses d'eaux dont les caractéristiques thermiques étaient similaires à celles des eaux proches de l'île de la Réunion.
- 3 au début de leur croissance, les cirripèdes les plus grands étaient baignés par des eaux dont la température était voisine de 28,5 ± 1°C (Figure 13). La distribution des courants et les variations de températures dans les mois qui précèdent la découverte du flaperon (Figure 9) suggèrent que celui-ci a dérivé dans des masses d'eau situées à E-NE de l'île de la Réunion.

Nous n'avons toutefois aucun élément permettant de déterminer avec certitude la durée de croissance des valves recueillies et donc la période couverte par les valves les plus développées. Néanmoins, d'après deux études expérimentales portant sur les vitesses de croissance des anatifes pélagiques 58s, 1966, Inatsuchi et al., 2010), les valves (scutum) les plus grandes (20-25 mm) auraient pu se former sur une période de quelques mois seulement ce qui ne permettrait que de retracer la fin du trajet de dérive du flaperon dans l'Océan Indien.

APPENDIX 2.6B MARINE BIOLOGIST REPORT 2 4

ł

ł

h



ANNEXES

- Tableaux de données
- Bibliographie
- Personnes impliquées dans l'acquisition des données.

2.5



Tableaux de données

APPENDIX 2.6B MARINE BIOLOGIST REPORT 2 

Lieu	Echantillon	Latitude	Longitude	Prélèvement
Batemans Bay	C33134	35°43'S	150°11'E	00/01/1986
Cocos Islands, Home I.	C19436	12°06'S	96°53'E	22/02/1989
Cocos Islands, Prison I.	C19438	12°06'S	96°53'E	21/02/1989
Houtman Abrolhos	C32565	28°44'S	113°46'E	19/10/1987
Lancelin	C14260	31°01'S	115°20'E	02/09/1984
Henderson	C52707	20°37'S	116°45'E	10/08/2013

Tableau 1 : Liste des échantillons de cirripèdes ayant servi à la calibration ¹⁸O/¹⁶O-T et fournis par le Dr Jones (Muséum d'Histoire Naturelle de Perth, Australie).

Zone	N° Echantillon	Longueur Capitulum (mm)	largeur capitulum (mm)	L/I
Zone A1	A1-1	6,93	4,24	1,63
Zone A2	A2-1	4,93	3,26	1,51
Zone A3	A3-1	5,04	3,90	1,29
Zone B4 extrados	B4 extrados -1	6,36	3,75	1,70
Zone B4 intrados	B4 intrados -1	7,61	4,26	1,79
Zone C2	C2-1	6,90	4,11	1,68
Zone C4 extrados	C4 extrados -1	7,31	4,44	1,65
Zone C4 intrados	C4 intrados -1	5,79	3,70	1,56
Zone D4 extrados	D4 extrados ·1	6,08	3,83	1,59
Zone D4 intrados	D4 intrados -1	5,79	3,70	1,56
Zone E1	E1-1	6,10	3,96	1,54
Zone E2	E2-1	6,76	3,94	1,72
Zone E3	E3-1	8,29	5,57	1,49
Zone E4 extrados	E4 extrados ·1	4,12	2,85	1,45
Zone E4 intrados	E4 intrados -1	3,71	2,47	1,50
Zone F1	F1-1	6,24	4,04	1,54
Zone F2	F2-1	6,62	4,41	1,50
Zone F3	F3-1	4,97	3,13	1,59
Zone F4	F4-1	4,55	3,34	1,36
			moyenne	1,56
			écartype	0,12

Tableau 2 : Longueur (L), largeur (l) données en millimètre et rapport L/l des petits cirripèdes provenant des différentes zones du flaperon du vol MH370.

Tableau 3 : Localisation, température, salinité et composition isotopique (δ^{18} O) des eaux de surface collectées lors de la campagne océanographique Francklin 2. (Données non publiées fournies par le Dr P. Dedecker, ANU).

stations	Lat. S	Long. E	Température	Salinité	δ ¹⁸ O (SMOW)
1	31,12	114,55	23,51	35,71	0,57
2	29,67	113,68	23,43	35,69	0,57
3	29,37	113,22	23,26	35,80	0,30
4	29,35	112,95	22,90	35,91	0,21
5	28,72	113,38	24,54	35,40	0,42
6	28,40	113,17	25,08	35,31	0,33
7	28,42	112,28	25,30	35,27	0,29
8	26,98	111,33	24,44	35,52	0,39
9	27,00	111,01	24,54	35,49	0,21
10	25,38	110,10	25,31	35,41	0,40
11	24,85	108,82	24,88	34,42	-0,05
13	24,48	108,51	24,85	35,43	0,40
15	23,73	108,53	25,39	35,23	-0,01
17	23,01	108,17	28,28	35,02	0,02
18	21,99	108,83	25,96	35,13	0,22
19	20,99	109,50	25,78	35,25	0,06
20	19,99	110,17	27,99	34,98	-0,21
21	19,42	110,51	28,13	35,01	0,02
22	18,00	110,50	28,55	34,75	-0,08
23	17,00	110,49	28,85	34,86	-0,04
25	15,00	110,48	29,07	34,15	-0,06
26	15,00	110,48	29,18	34,04	-0,35
27	13,00	110,47	29,55	34,20	-0,27
28	12,23	110,43	29,04	33,69	-0,17
29	12,18	111,51	28,95	34,55	0,24
31	12,25	112,73	29,08	34,59	0,01
32	12,08	114,45	28,93	34,16	0,06
34	13,02	114,07	29,53	34,38	0,10
35	14,60	113,51	29,50	34,52	-0,24
36	14,78	114,27	29,19	34,15	-0,17
38	16,92	113,33	29,53	34,99	0,36
39	16,92	114,83	29,87	34,89	0,20

Lieu		collection	Lat.	Long.	
	Batemans Bay	00/01/1986	35°43'S	150°11'E	
	Température= 22.4 ± 0.5 °C				
	δ ¹⁸ O SW estimé à 0,36 ‰				
1			<u>δ18O (PDB, ‰)</u> 0,01 0,06 0,05 0,09 -0,18		
	C33134-L1				
	C33134-L2				
	C33134·L3				
	C33134-L4	Sector And			
	C33134·L5				
	moyenne		0,	00	
	écartype		0,	11	
-	Cocos Islands Prison I.	22/02/1989	12°06'S	96°53'E	
-	Température= 28.5 ± 0.5 °C	22/02/1000	12 000	00 00 1	
	δ^{18} O SW estimé à -0,19‰		δ ¹⁸ Ο (P	DB, ‰)	
			004	22,700	
	C19438-L1-P1		•1	,76	
	C19438-L1-P1		-1	,90	
	C19438-L1-P1		-1	,96	
	moyenne		-1	-1,88	
	écartype		0,	10	
	Cocos Islands Home I.	22/02/1989			
	Température= $28,5 \pm 0,5$ °C				
1	δ ¹⁸ O SW estimé à -0,19‰				
-				DB, %)	
	C19436-L1		-2,23		
	C19436-L1			,96	
	C19436-L1		-1,78		
	C19436-L2			,73	
	C19436-L4			,09	
	moyenne	The Vent of the Part of the Part of the		-1,96	
	écartype	3 2 4 4 4 4 5	0,21		

Tableau 4 : Composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) des spécimens utilisés pour la calibration δ^{18} O carbonates (calcite) en fonction de la température.

		collection	Lat.	Long.	
Lieu	Houtman Abrolhos.	19/10/1987	28°44'S	113°46'E	
	Température = 20.5 ± 0.5 °C				
	δ ¹⁸ O SW estimé à 0,33‰				
			δ ¹⁸ O (PDB, ‰)		
	C32565 P1-3mm (bulk)		0,23		
_	C32565 P2- L4		0,44		
	C32565 P2-L4 (duplicate)		0,34		
	C32565 P2-L5		0,	50	
	C32565 P2-L5 (duplicate)		0,	54	
	C32565 P2-bord externe		0,	47	
	C32565 L-intermédiaire		0,	31	
	C32565 L1-intermédiaire		0,	30	
	C32565 intermédiaire		0	,2	
	moyenne	S. S. S. S. S. S.		35	
_	écartype			13	
	Lancelin	02/09/1984	31°01'S	115°20'E	
	Température = 19.8 ± 0.5 °C				
	δ ¹⁸ O SW estimé à 0,29‰				
			δ ¹⁸ O (PDB, ‰)		
	C14260 J3mm		0,10		
	C14260 J3mm (duplicate)		0,03		
	C14260 J1mm		0,	0,19 0,14	
	C14260 J5mm		0,		
	C14260 J5mm (duplicate)		0,	11	
	C14260 J5mm (triplicate)			,13	
	moyenne		0,12		
	écartype		0,05		
	Henderson	10/08/2013	20°37'S	116°45'E	
	Température = $24,2 \pm 0,5$ °C				
	δ ¹⁸ O SW estimé à 0,10‰				
_			δ ¹⁸ O (PDB, ‰)		
_	C52707-L1-2		-0,02		
	C52707-L2			-0,12	
	C52707-L2		-0,11		
	C52707-L2			-0,25	
	C52707-L3			,30	
	C52707-L4		-0,22		
	moyenne		-0,17		
_	écartype		0,10		

Tableau 4 (suite) : Compositions isotopique de l'oxygène (‰, PDB) des spécimens utilisées pour calibration δ^{18} O carbonates (calcite) en fonction de la température.

		collection	Lat.	Long.
Lieu	La Réunion	00/08/2015	21°10'S	55°30'E
	Température = $24.8 \pm 1^{\circ}C$		1	
	δ ¹⁸ O SW estimé à 0,26‰		a state of the second	
			δ ¹⁸ O (P	DB, ‰)
	A1-P-0-B		-1,	07
	A2-P-0-B		-1,	00
	A3-P-0-B		-1,04	
	B4 extrados ·P·0·B		-1,	15
	B4 intrados -P-0-B		-1,	11
	С2-Р-0-В		·1,	05
	C4 extrados ·P·0·B		-1,	13
20	C4 intrados ·P·0·B		-1,20	
	D4 extrados ·P·0·B		·1,39	
	D4 intrados ·P·0·B		-1,	12
	E1-P-0-B		-0,96	
	E2-P-0-B		-0,99	
	E3-P-0-B		•1,21	
	E4 extrados ·P·0·B		-1,03	
	E4 intrados ·P-0-B		-1,	24
-	F1·P·0·B		-0,	94
	F2-P-0-B		-0,89	
	F3-P-0-B	12-11-22-11	-1,00	
	F4-P-0-B		-0,69	
	A1-P-0-B			07
	moyenne			06
	écartype	S Charles Martin	0,	15

Tableau 4 (suite) : composition isotopique de l'oxygène des spécimens utilisées pour la calibration δ^{18} O carbonates (calcite) en fonction de la température.

Tableau 5 : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A1-2. La colonne « moyenne »reporte la moyenne des résultats obtenus sur les prélèvements d'une même zone. L'échantillonnage a été réalisé manuellement à la fraise de dentiste et/ou par mini-disqueuse. Pour des raisons pratiques l'échantillonnage s'est réalisé des bords externes vers l'umbo (voir Figure 4 pour la localisation).

Spécimen	Ligne d'échantillon vers l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Moyenne δ ¹⁸ Ο
A1-2a	15	-1,29	0.00
A1-2b	15	-1,08	_
A1-2c	15	-1,15	
A1-2d	15	-1,26	-1,20
	14		1,20
A1-2e1 A1-2e2		-1,24 -1,27	-
	14		-1.99
A1-2e3	14	-1,15	-1,22
A1-2f1	13	-1,23	1.90
A1-2f2	13	-1,52	-1,38
A1-2g1	12	-1,32	
A1-2g2	12	-1,51	1.10
A1-2g3	12	-1,45	-1,43
A1-2h1	11	-1,42	
A1-2h2	11	-1,40	-1,41
A1-2i1	10	-1,40	
A1-2i1	10	-1,58	
A1-2i2	10	-1,58	
A1-2i2	10	-1,43	
A1-2i3	10	-1,51	-1,50
A1-2j1	9	-1,55	-1,55
A1-2k1	8	-1,79	
A1-2k2	8	-1,56	-1,67
A1-2l1	7	-1,78	
A1-212	7	-1,75	-1,77
A1-2m1	6	-1,80	
A1-2m2	6	-1,80	
A1-2m3	6	-1,79	-1,80
A1-201	5	-1,83	
A1-2o2	5	-1,89	-1,86
A1-2p1	4	-1,92	-1,92
A1-2q1	3	-1,77	
A1-2q2	3	-1,88	-1,82
A1-2r1	2	-1,77	-1,77
A1-2 U1	1	-1,72	
A1-2 U2	1	-1,78	
A1-2 U3	1	-1,70	-1,73

spécimen	Ligne d'échantillonnage	Distance en µm depuis l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Température estimée (°C)
A2-G3	A2G3-3L28	0	-1,47	28,00
	A2G3-3L27	350	-1,42	27,78
	A2G3-3L26	600	-1,50	28,13
1.	A2G3-3L25	950	-1,45	27,91
4.1.1.1	A2G3-3L24	1200	-1,40	27,70
	A2G3-3L23	1450	-1,25	27,05
100	A2G3-3L22	1800	-1,16	26,66
	A2G3-3L19	2300	-1,02	26,05
49	A2G3-3L18	2600	-0,96	25,79
States and	A2G3-3L17	2800	-0,93	25,66
5.000.00	A2G3-3L16	3000	-0,93	25,66
A. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1. 1.	A2G3-3L15	3300	-0,88	25,45
	A2G3-3L14	3550	-0,94	25,71
	A2G3-3L13	3800	-0,91	25,58
	A2G3-3L12	4050	-0,89	25,49
	A2G3-3L11	4300	-0,99	25,92
	A2-G3-3L10	4750	-0,98	25,88
	A2-G3-3L9	5000	-1,02	26,05
1.5	A2-G3-3L8	5250	-1,04	26,14
	A2-G3-3L7	5500	-1,11	26,44
	A2-G3-3L5	6000	-1,03	26,10
1. S. 11	A2-G3-3L4	6250	·1,01	26,01
	A2-G3-3L3	6500	-0,92	25,62
1.11.12.11	A2-G3-3L2	6750	-0,87	25,41
	A2-G3-3L1	7000	-0,86	25,36
	A2-G3-2L15	7050	-0,87	25,41
and the second	A2-G3-2L14	7230	-0,92	25,62
	A2-G3-2L13	7460	-0,91	25,58
1000	A2-G3-2L12	7690	-0,88	25,45
	A2-G3-2L11	7920	-0,83	25,23
17.15.45.5	A2-G3-2L10	8150	-0,80	25,10
	A2-G3-2L9	8380	-0,89	25,49
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	A2-G3-2L8	8610	-0,81	25,15
	A2-G3-2L7	8840	-0,80	25,10
" Chinese	A2-G3-2L6	9070	-0,84	25,28
	A2-G3-2L5	9300	-0,90	25,53
100000000	A2-G3-L18	9500	-1,05	26,18
A	A2-G3-2L4	9700	-0,95	25,75
-	A2-G3-2L3	9900	-0,87	25,41
	A2-G3-L17	10000	-0,80	25,10

Tableau 6 : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A2-G3 échantillonné à haute résolution au Micromill et température estimée.

spécimen	Ligne d'échantillonnage	Distance en µm depuis l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Température estimée (°C)
A2-G3	A2-G3-2L2	10100	-0,78	25,02
	A2-G3-L16	10300	-1,02	26,05
	A2-G3-2L1	10300	-0,98	25,88
	A2-G3-L15	10600	-0,98	25,88
	A2-G3-L14	10900	-0,94	25,71
	A2-G3-L13	11200	-0,96	25,79
	A2-G3-L12	11500	-0,93	25,66
	A2-G3-L9+10	11750	-0,95	25,75
	A2-G3-L7+L8	12250	-1,11	26,44
	A2-G3-L6	12750	-1,03	26,10
	A2-G3-L5+L4	13000	-0,92	25,62
	A2-G3-L3	13500	-1,21	26,88
	A2-G3-L2	13750	-1,29	27,22
	A2-G3-L1-2	14000	-1,06	26,23
	A2-G3-L27+28+29	14250	-1,02	26,05

Tableau 6 (suite) : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A2-G3 échantillonné à haute résolution au Micromill et température estimée.

spécimen	Ligne d'échantillonnage	Distance en µm depuis l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Température estimée (°C)
A2-G4	A2-G4-L22	300	·1,13	26,53
	A2-G4-L21	870	-1,19	26,79
	A2-G4-L20	1700	-1,24	27,01
	A2-G4-L19	2425	-0,96	25,79
	A2-G4-L18	3120	-1,40	27,70
	A2-G4-L17	4225	-1,31	27,31
	A2-G4-L16	5120	-1,23	26,96
	A2-G4-L15	5970	-1,33	27,40
	A2-G4-L13+ L14	7380	-1,43	27,83
	A2-G4-L12	8375	-1,17	26,70
	A2-G4-L11	9840	-1,19	26,79
	A2-G4-L9	10780	·1,16	26,66
	A2-G4-L8	11350	-1,16	26,66
	A2-G4-L7	12130	-1,27	27,14
	A2-G4-L6	12980	-1,11	26,44
	A2-G4-L3	13190	-0,96	25,79
	A2-G4-L2	13530	-1,00	25,97
	A2-G4-L4+L5	13620	-1,13	26,53
	A2-G4-L1	14040	-1,07	26,27

Tableau 7 : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A2-G4 au Micromill et température estimée.

spécimen	Ligne d'échantillonnage	Distance en µm depuis l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Température estimée (°C)
A2-G1	A2-G1-2L1	500	-1,60	28,56
AZ-GI	A2-G1-2L1 A2-G1-2L3	1030	-1,60	28,09
	A2·G1·2L3	1530	-1,49	28,09
		1710		28,09
	A2-G1-2L5		-1,51	
	A2-G1-2L6	1890	-1,44	27,87
	A2-G1-2L8	2290	-1,15	26,62
	A2-G1-2L11	2815	-1,40	27,70
	A2-G1-2L12	2990	-1,47	28,00
_	A2-G1-2L13	3140	-1,48	28,04
	A2-G1-2L14	3300	-1,52	28,22
	A2-G1-2L15	3360	-1,38	27,61
	A2-G1-2L16	3510	-1,28	27,18
	A2-G1-2L17	3560	-1,35	27,48
	A2-G1-2L18	3710	-1,66	28,82
	A2-G1-2L19	3860	-1,41	27,74
	A2-G1-2L20	4010	-1,50	28,13
	A2-G1-2L21	4175	-1,33	27,40
	A2-G1-2L22	4340	-1,29	27,22
	A2-G1-2L23	4505	-1,32	27,35
	A2-G1-2L24	4670	-1,27	27,14
	A2-G1-2L25	4835	-1,22	26,92
	A2-G1-2L26	5000	-1,15	26,62
	A2-G1-2L27	5165	-1,17	26,70
	A2-G1-2L28	5330	-1,10	26,40
	A2-G1-2L29	5495	-1,12	26,49
	A2-G1-2L30	5660	-1,00	25,97
	A2-G1-2L31	5831	-1,16	26,66
	A2-G1-2L32	5999	-1,08	26,31
	A2-G1-2L34	6336	-1,18	26,75
	A2-G1-2L35	6504	-1,09	26,36
	A2-G1-2L36	6672	-1,02	26,05
	A2-G1-2L37	6841	-1,17	26,70
	A2-G1-2L38	7009	-1,08	26,31
	A2-G1-2L39	7177	-0,96	25,79
	A2-G1-2L40	7345	-0,96	25,79
	A2-G1-2L41	7514	-0,94	25,71
	A2-G1-2L42	7682	-0,96	25,79
	A2-G1-2L43	7850	-0,80	25,10
	A2-G1-2L45	8180	-0,88	25,45
	A2-G1-2L46	8345	-0,80	25,10
	A2-G1-2L47	8510	-0,87	25,41
	A2-G1-2L48	8675	-0,86	25,36

Tableau 8 : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A2-G1 échantillonné à haute résolution au Micromill et température estimée.

ł

spécimen	Ligne d'échantillonnage	Distance en mm depuis l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Température estimée (°C)
A2-G1	A2-G1-2L49	8840	-0,91	25,58
	A2-G1-2L50	9005	-0,84	25,28
	A2-G1-2L51	9170	-0,90	25,53
	A2-G1-2L52	9335	-0,89	25,49
	A2-G1-2L53	9500	-0,97	25,84
	A2-G1-2L54	9665	-0,99	25,92
a state and a	A2-G1-2L55	9830	-1,05	26,18
	A2-G1-2L56	9995	-1,00	25,97
	A2-G1-2L57	10160	-0,97	25,84
and the story of	A2-G1-2L58	10325	-0,97	25,84
	A2-G1-2L59	10490	-0,88	25,45
	A2-G1-2L60	10655	-0,85	25,32
	A2-G1-2L61	10820	-0,81	25,15
	A2-G1-2L62	10985	-0,85	25,32
	A2-G1-2L63	11150	-0,82	25,19
0.000	A2-G1-2L64	11315	-0,84	25,28
	A2-G1-2L65	11480	-0,90	25,53
1.01151.0	A2-G1-2L66	11645	-0,90	25,53
	A2-G1-2L67	11810	-0,81	25,15
1000	A2-G1-2L68	11975	-0,76	24,93
1.525	A2-G1-2L69	12140	-0,88	25,45
S. S. Marthe	A2-G1-2L70	12305	-0,90	25,53
	A2-G1-2L71	12470	-0,91	25,58
	A2-G1-2L72	12635	-0,81	25,15
	A2-G1-2L73	12800	-0,83	25,23
1985 Lan 2	A2-G1-2L74	12965	-0,79	25,06
	A2-G1-2L75	13130	-0,89	25,49
	A2-G1-2L76	13295	-0,73	24,80
	A2-G1-2L77	13460	-0,84	25,28
	A2-G1-2L80	13955	-0,84	25,28
ALL PROPERTY.	A2-G1/L14+15	15530	-0,76	24,93
1 mar 1 m 1 m 1 m 1 m 1 m 1 m 1 m 1 m 1 m 1	A2-G1/L12+L13	16180	-0,72	24,76
	A2-G1/L10+L11	16780	-0,76	24,93
	A2-G1/L9	17290	-0,92	25,62
1 1 E 1 V - I	A2-G1/L7+L8	18180	-0,89	25,49

Tableau 8 (suite) : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A2-G1 échantillonné à haute résolution au Micromill et température estimée.

spécimen	Ligne d'échantillonnage	Distance en µm depuis l'umbo	δ ¹⁸ O (‰, PDB)	Température estimée (°C)
A2-G2	L21	250	-1,81	29,47
	L20+L19	750	-1,58	28,48
	L18+L17	1250	-1,54	28,30
	L16	1750	-1,44	27,87
	L15	2000	-1,60	28,56
	L14	2250	-1,78	29,34
	L13	2500	-1,59	28,52
	L12	2750	-1,52	28,22
	L11+L10	3250	-1,75	29,21
	L9	3500	-1,54	28,30
	L8->L3	3750	-1,52	28,22

Tableau 9 : composition isotopique de l'oxygène (‰, PDB) du spécimen A2-G2 échantillonné dans la zone de l'umbo au Micromill et température estimée.

APPENDIX 2.6B MARINE BIOLOGIST REPORT 2 

Bibliographie.

Evans F (1958): Growth and maturity of the barnacles Lepas hillii and Lepas anatifera. Nature 182:1245-1246

Epstein et al. (1953) : Revised carbonate-H2O isotopic temperature scale. Geol. Soc. Am., 64, 1316-1326.

Inatsuchi et al. (2010) : Effects of temperature and food availability on growth and reproduction in the neustonic pedunculate barnacle Lepas anserifera. Mar Biol, 157:899–905. DOI 10.1007/s00227-009-1373-0

Killingley J.S and Newman W. A. (1982) : ¹⁸O fractionation in banacle calcite : a plaleotemperature equation. Journal of Marine Research, 40, 893-902.

Linnaeus, Carolus (1758): Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum, characteribus, differentiis, synonymis, locis.

Shackleton, N.J. (1974) : Attainment of isotopic equilibrium between ocean water and the benthonic foraminifera genus Uvigerina: Isotopic changes in the ocean during the last glacial, Cent. Nat. Rech., Sci. Colloq. Int., 219, 203-209, 1974.

ľ

Ĩ

48

APPENDIX 2.6B D257 44 MARINE BIOLOGIST REPORT 2

Personnes impliquées dans l'acquisition des données

-Fatima Manssouri, assistant Ingénieur, Spectrométrie de masse (LSCE/UPS).

-Fabien Dewilde, Ingénieur d'Etudes, Spectrométrie de masse (LSCE/UPS).

-Julius Nouet, Ingénieur d'étude, mesure IRFT et MEB, à l'Université de Paris Saclay (Geops/UPS).

-Johan Villeneuve, Ingénieur de Recherche, analyses à la sonde ionique (CRPG/CNRS).

Personnes contactées dans le cadre des recherches

Laurence Miossec, Ifremer, Lab. Génétique et Pathologie, B.P. 133 17390 La Tremblade, France (Laurence.Miossec@ifremer.fr).

Chantal Compere, Ifremer, <u>Unité Recherches et Développements Technologiques</u> ZI de la Pointe du Diable, 29280 Plouzané, France <u>Chantal.Compere@ifremer.fr</u>).

Raphaëla Le Gouvello, Stermor-Kerfahler, 56760 Pénestin, France (raphaela.legouvello@wanadoo.fr).

Karine Potin, directrice de la réserve marine de la Réunion, 39 rue du Lagon, Dayot1, 97434, La Saline Les Bains, La Réunion. <u>info@reservemarinereunion.fr</u>



LABORATOIRE DES SCIENCES DU CLIMAT & DE L'ENVIRONNEMENT

Gif-sur-Yvette, le 20 juin 2016,

ATTESTATION SUR L'HONNEUR DE LA RÉALISATION DE l'ORDONNANCE DE COMMISSION D'EXPERT ORDONNÉ PAR LE TRIBUNAL DE GRANDE INSTANCE DE PARIS.

Nous, Dr. Dominique Blamart (HDR) et Dr. Franck Bassinot (HDR), chercheurs au Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement (LSCE) certifions sur l'honneur que nous avons réalisé l'intégralité de l'expertise demandée par le Tribunal de Grand Instance de Paris auprès du Centre National de la Recherche Scientifique dans le cadre de l'instruction portant sur la disparition du vol MH 370 de la Malaysian Airlines.

Dr. Dominique Blamart

Dr. Franck Bassinot