

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN

FACULTEIT WETENSCHAPPEN

DEPARTEMENT AARD- EN OMGEVINGSWETENSCHAPPEN

AFDELING GEOLOGIE, GROEP BIOGEOLOGIE



STABIELE ISOTOPENGEOCHEMIE VAN VIS-OTOLIETEN

EEN METHODE VOOR HET ONTRAFELLEN VAN

PALEOGENE TEMPERATUURSCHOMMELINGEN EN SEIZOENALE

KLIMAATSVARIATIES IN HET ZUIDELIJKE

NOORDZEEBEKKEN

door

Daan Vanhove

Promotor: prof. dr. Etienne Steurbaut

Proefschrift ingediend tot het
behalen van de graad van
Master of Science in de Geologie
(optie Biogeologie, optie
onderzoek)

2008-2009

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN

FACULTEIT WETENSCHAPPEN

DEPARTEMENT AARD- EN OMGEVINGSWETENSCHAPPEN

AFDELING GEOLOGIE, GROEP BIOGEOLOGIE



STABIELE ISOTOPENGEOCHEMIE VAN VIS-OTOLIETEN

EEN METHODE VOOR HET ONTRAFELLEN VAN

PALEOGENE TEMPERATUURSCHOMMELINGEN EN SEIZOENALE

KLIMAATSVARIATIES IN HET ZUIDELIJKE

NOORDZEEBEKKEN

door

Daan Vanhove

Promotor: prof. dr. Etienne Steurbaut

Proefschrift ingediend tot het
behalen van de graad van
Master of Science in de Geologie
(optie Biogeologie, optie
onderzoek)

2008-2009

► PROMOTOR EN LECTOREN



Promotor

Prof. Dr. **Etienne Steurbaut**

Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen (KBIN)

Departement Paleontologie

Vautierstraat 29

B-1000 BRUSSEL

etienne.steurbaut@naturalsciences.be

Lectoren



Prof. Dr. **Robert Speijer**

Katholieke Universiteit Leuven (KUL)

Onderzoeksgroep Biogeologie

Departement Aard- en Omgevingswetenschappen

Celestijnenlaan 200E

B-3001 HEVERLEE

robert.speijer@ees.kuleuven.be



Prof. Dr. **Philippe Claeys**

Vrije Universiteit Brussel (VUB)

Departement Geologie

Pleinlaan 2

B-1050 BRUSSEL

phclaeys@vub.ac.be

► REFERENTIE NAAR DEZE THESIS

VANHOVE, D. (2009) Stabiele isotopengeochemie van vis-otolieten. Een methode voor het ontrafelen van Paleogene temperatuurschommelingen en seizoenale klimaatsvariatiën in het zuidelijke Noordzeebekken. Niet gepubliceerde Master of Science thesis. Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, 118 pp.

► DANKBETUIGINGEN

Het uitvoeren van een wetenschappelijk onderzoek en daar verslag over uitbrengen onder de vorm van een thesis, kan vandaag de dag slechts slagen wanneer de onderzoeker kan terugvallen op een vlotte organisatie en een motiverende omgeving. Ik wens dan ook een aantal personen te bedanken die deze twee voorwaarden voor mij hebben gerealiseerd. Mijn promotor, prof. Steurbaut, ben ik dankbaar voor zijn interessante voorstel om een pilootstudie aangevangen door Ellen De Man, verder uit te bouwen – en om mij vervolgens te voorzien van de nodige stalen en aanwijzingen voor het op punt stellen van de tekst. Prof. Speijer ben ik dankbaar voor de aanvullende begeleiding en ondersteuning. Prof. Claeys ben ik dankbaar voor de mogelijkheid om gebruik te maken van de vereiste faciliteiten voor de analyses. Kortom, ik wens alle drie de promotoren te bedanken voor de praktische organisatie van de thesis, maar daarnaast ook voor hun kritische ingesteldheid en raad, met enkele nuttige en vervolledigende bijsturingen tot gevolg. Dr. Ellen De Man vervolgens, was zo vriendelijk en welwillend om mij vanuit de andere kant van de wereld bij te staan bij de methodiek, en om mij te voorzien van enkele nuttige tips. Aan drie doctoraatsstudenten ben ik bijzondere dank verschuldigd. Vooreerst Rémy Mas (VUB), voor de intensieve en tijdslopende begeleiding bij enerzijds het boren, maar vooral het leren werken met de analyseapparatuur voor stabiele isotopen, alsook het verwerken van de gegevens. Ten tweede Peter Stassen (KUL), voor zijn wijze van begaan zijn met mij en andere studenten; deze bestaat uit een nuttige portie kritiek, maar steeds ondersteund door goede raad en vooral motivatie. Ten derde Veerle Beelaerts (VUB), voor het willen toepassen van haar correctiemethodes op mijn gegevens. Voorts kon ik rekenen op de hulp van Herman Nijs (KUL) bij het voorbereiden van de stalen, Eva De Boever (KUL) bij het uitvoeren van kathodeluminiscentie, Ruben Snellings (KUL) bij het uitvoeren van de XRD-analyses en Antoine Van De Maele (VUB) voor bijkomende assistentie bij de isotopenanalyses.

Krisje en Simon, het was fijn om met jullie twee jaar lang hard te werken. Binnenkort komt de kroon op alle werk, want dan zijn wij officieel de eerste lichting Vlaamse biogeologen! Simon, bedankt ook voor je programmaatje. Beste vrienden uit Brugge, dank jullie wel voor alle ontspannende en vaak ‘hilarische’ momenten, we blijven allemaal een beetje Frères! Deze thesis zou echter niet hebben bestaan zonder de onvoorwaardelijke steun van mijn familie, en vooral mijn ouders en zus. Dank je wel voor alle logistieke en emotionele support dit jaar en alle vorige. Tot slot, liefste Klaartje, wil ik je bedanken voor elk moment, lastig of niet, dat je naast me liep. Dat het zo mag blijven.

VEREISCHTEN BIJ GEOLOGISCHE STUDIEN.

Het volkomen juist begrijpen der feiten en verschijnselen, welke zich voor het oog van den geoloog vertoonen, is dikwijls hopeloos, veeltijds hoogst moeilijk, en vereischt altijd zeer vele nasporingen en bijkomende onderzoekingen. Om rekenschap te geven van de zamenvoeging en ligging van onderscheidene gesteenten, moet hij bekend zijn met de beginselen der werktuigkunde; om hunne zamensstelling en wording te behandelen, moet hij zeer dikwijls de hulp der scheikunde inroepen; om de overblijfselen van planten en dieren te rangschikken en te beschrijven, kan hij de planten- en dierkunde niet ontberen, terwijl over het algemeen er vele vragen voorkomen, tot wier volkomen oplossing bijna elke afdeeling der natuurkundige wetenschappen te hulp geroepen moet worden. Daaruit volgt echter in het minste niet, dat hij-zelf de naauwkeurige onderzoekingen in het werk moet stellen, tot welke deze verschillende wetenschappen aanleiding geven. Voor zijn doel is het voldoende, dat hij de bekwaamheid heeft, om de uitkomsten, door den scheikundige, den plantenkenner en den dierkundige verkregen, toe te passen op die bepaalde gevallen welke hij voor zich heeft; of, in andere woorden, dat hij het geologisch gewigt van die uitkomsten weet te vatten en door deze tot de regte verklaring komt van de verschijnselen waarvan zij een deel uitmaken. Door dit te doen, zal hij, die zich met ernst op de geologie toelegt, meer dan voldoening vinden voor de moeite, welke hij genomen heeft, en, zoowel wanneer hij feiten verzamelt op bergen en in rotsspleten, langs klippen of duinen aan den oever der zee, in diepe mijnen of op ijsvelden der sneeuwgebergten, als wanneer hij deze feiten rangschikt en daaruit besluiten trekt, steeds zal hij in de geologie eene van de gezondste en meest opwekkende, en tevens eene van de boeiendste en den geest 't meest verrijkende mensche-lijke bezigheden aantreffen. S.

(PAGE, *Advanced Text-Book of Geology.*)

► INHOUDSOPGAVE

| | |
|------------------------------------|---|
| ► PROMOTOR EN LECTOREN..... | 1 |
| ► REFERENTIE NAAR DEZE THESIS..... | 1 |
| ► DANKBETUIGINGEN..... | 2 |
| ► MOTIVATIE..... | 3 |
| ► INHOUDSOPGAVE..... | 4 |

DEEL A. OTOLIETEN ALS PROXY VOOR PALEOGENE KLIMAATSAGENTIA IN HET ZUIDELIJKE NOORDZEEBEKKEN **6**

| | |
|---|----|
| 1. CONTEXT VAN HET ONDERZOEK..... | 7 |
| 2. DE PALEOGENE BROEIKASWERELD..... | 10 |
| 2.1. Waarom het Paleogeen? | 10 |
| 2.2. Het Vroeg-Eocene klimaatoptimum (EECO) | 12 |
| 2.2.1. Bewijzen voor het EECO (Niet-exhaustief) | 12 |
| 2.2.2. Oorzaken van het EECO | 15 |
| 3. STRATIGRAFIE EN PALEO GEOGRAFIE VAN HET ONDERZOEKSGBIED..... | 18 |
| 3.1. Vroeg-Eocene paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken | 18 |
| 3.1.1. Algemene paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken | 18 |
| 3.1.2. Paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken tijdens het Ypresiaan | 19 |
| 3.2. Vroeg-Eocene stratigrafie van het zuidelijke Noordzeebekken | 21 |
| 3.2.1. Algemene stratigrafie van het zuidelijke Noordzeebekken | 21 |
| 3.2.2. Ypresiaansedimenten van het Belgische Bekken | 21 |
| 4. OTOLIETEN ALS KLIMAATSPROXY..... | 28 |
| 4.1. Otolieten... | 28 |
| 4.1.1. Anatomie en functie | 28 |
| 4.1.2. Samenstelling en structuur | 29 |
| 4.2. ...als proxy? | 32 |
| 4.3. Situering in het onderzoeksveld | 35 |
| 4.3.1. Stabiele isotopen op otolieten | 35 |
| 4.3.2. Isotopenstudies op otolieten van de Noord-Atlantische regio | 35 |
| ► DOELSTELLINGEN VAN DEZE THESIS..... | 37 |

DEEL B. UITGEBREIDE METHODIEK VAN HET ONDERZOEK **38**

| | |
|---|----|
| 5. STAALNAME..... | 39 |
| 5.1. Staalnamecriteria | 39 |
| 5.1.1. Keuze van de gebruikte taxa | 39 |
| 5.1.2. Overige criteria | 43 |
| 5.2. Locaties en stratigrafische niveau's | 44 |
| 5.3. Schematisch overzicht | 45 |
| 6. PRESERVATIE VAN DE STALEN EN STAALVOORBEREIDING..... | 47 |
| 6.1. Visuele microscopische survey van de volledige staalname | 48 |
| 6.2. XRD-analyses | 50 |
| 6.3. Staalvoorbereiding | 52 |
| 6.3.1. Uit de literatuur... | 52 |
| 6.3.2. De procedure in deze thesis gevolgd | 53 |
| 6.4. Kathodeluminiscentie | 54 |
| 6.5. Vateriet in otolieten | 56 |

| | |
|--|-----------|
| 7. MICROBORINGEN..... | 57 |
| 7.1. Apparatuur | 57 |
| 7.2. Boormethode | 58 |
| 7.2.1. <i>Incrementboringen</i> | 58 |
| 7.2.2. <i>Bulkboringen</i> | 59 |
| 7.3. Implicaties van de boormethode voor de interpretatie van de gegevens | 60 |
| 8. STABIELE ISOTOPENANALYSES..... | 63 |
| 8.1. Apparatuur | 63 |
| 8.1.1. <i>Kiel</i> | 63 |
| 8.2.2. <i>Massaspectrometer</i> | 64 |
| 8.2. Nauwkeurigheid van de analyses | 66 |
| 9. BEREKENING VAN DE KLIMAATSPARAMETERS EN STATISTIEK..... | 68 |
| 9.1. Temperatuursberekeningen | 68 |
| 9.1.1. <i>Paleotemperatuursvergelijkingen (zuurstof)</i> | 68 |
| 9.1.2. <i>Berekening van de klimaatparameters</i> | 70 |
| 9.2. Verwerking van de gegevens | 71 |
| | |
| DEEL C. RESULTATEN EN INTERPRETATIE: SEIZOENALITEIT IN EEN BROEIKASWERELD | 72 |
| 10. BULKANALYSES..... | 73 |
| 10.1. Resultaten | 73 |
| 10.2. Discussie | 75 |
| 10.2.1. $\delta^{18}O$ -waarden | 75 |
| 10.2.2. $\delta^{13}C$ -waarden | 78 |
| 11. INCREMENTANALYSES..... | 80 |
| 11.1. Resultaten | 80 |
| 11.2. Discussie | 81 |
| 11.2.1. $\delta^{18}O$ -waarden | 81 |
| 11.2.2. $\delta^{13}C$ -waarden | 84 |
| 12. INFORMATIE UIT CROSSPLOTS..... | 85 |
| 12.1. Een testcase voor intertaxonconsistentie van de proxy | 85 |
| 12.2. Algemene crossplots | 92 |
| 13. CORRECTIES VOOR UITMIDDELING EN NIET-LINEAIRE GROEISNELHEID..... | 93 |
| 13.1. Correctie van de data voor uitmiding bij het boren | 93 |
| 13.2. Correctie van de data voor niet-lineaire groeisnelheid | 96 |
| | |
| ► CONCLUSIES..... | 98 |
| ► CONCLUSIONS..... | 100 |
| ► REFERENTIES..... | 102 |
| ► APPENDICES..... | 107 |
| A.1. Verantwoording met betrekking tot operationele problemen gedurende deze studie | 107 |
| A.2. Basisinformatie en stratigrafische informatie van de otolieten gebruikt in deze thesis | 109 |
| A.2. Tabel van alle isotopendata en temperatuursberekening | 110 |
| A.2. Inner en total bulk data, met een temperatuursberekening van de total bulkdata | 115 |
| A.2. Grafisch overzicht van de otolieten gebruikt voor de berekening van seizoenale parameters | 116 |

DEEL A

OTOLIETEN ALS PROXY VOOR PALEOGENE KLIMAATSAGENTIA IN HET ZUIDELIJKE NOORDZEEBEKKEN

- ▶ CONTEXT VAN HET ONDERZOEK
- ▶ DE PALEOGENE BROEIKASWERELD
- ▶ OTOLIETEN ALS KLIMAATSPROXY
- ▶ STRATIGRAFIE EN PALEOGEografie VAN HET ONDERZOEKSGBIED

Dit eerste deel handelt vooral over ‘het waarom’ van deze thesis. Het gaat op zoek naar de context waarin het hier voorgestelde onderzoek plaats grijpt. Die context is de recente belangstelling voor ‘global change’, onder meer gegroeid vanuit het besef dat de menselijke maatschappij onderhevig is aan, en zonder twijfel participeert in, klimaatsveranderingen. Nu het omzeggens zeker is dat er een klimaatsopwarming aan de gang is, die op zijn minst een aantal decennia dreigt door te gaan, stellen er zich een aantal fundamentele onderzoeksvragen. Eén ervan is hoe het zou zijn om te leven in een broeikasklimaat, een klimaat met hogere globale gemiddelde jaartemperaturen dan in ons huidige ijskasklimaat. De studie van een vroegere broeikaswereld, zoals deze tijdens het Paleogeen, kan ons ongetwijfeld een schat aan informatie verstrekken. Stabiele isotopen van vis-otolieten verlenen zich mogelijk tot een betrouwbare informatieverstrekker, of proxy, hiervoor. Het is het hoofddoel van deze thesis om dit na te gaan, toegepast op otolieten afkomstig van sedimenten uit het zuidelijke Noordzeebekken.

1. CONTEXT VAN HET ONDERZOEK

De Aarde warmt op, daar kan niemand nog om heen. Althans, dat is een statement dat de laatste jaren te pas en wellicht te onpas, zijn intrede heeft gemaakt in onze maatschappij. Het is een menselijke maatstaf geworden: een norm, een must om er zich bewust van te zijn en ernaar te leven – al blijft het meestal bij het eerste. De reden daarvoor is onze maatschappij zelf. Door het massale verbranden van fossiele brandstoffen is er op een tijdschaal van niet veel meer dan twee eeuwen een gigantische hoeveelheid van het broeikasgas CO₂ in de atmosfeer van de Aarde terechtgekomen; wat nu ook elke doorsnee-burger zou moeten vernemen hebben, bijvoorbeeld van ex-vice-president Al Gore in zijn ‘An Inconvenient Truth’. Een grootser ‘experiment’ had geen enkele klimatoloog, geoloog of andere wetenschapper begaan met de rol van CO₂ op de werking van Aardse systemen, ooit durven dromen. Al heeft deze grote ‘par hazard’, of misschien beter ‘roekeloosheid’, zij het geschied in alle onwetendheid, wel consequenties. Namelijk dat de consequenties niet gekend zijn. Dat het klimaat met enige zekerheid zal opwarmen, dat wel. En dat de zeespiegel wellicht wat zal stijgen, dat ook (Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC, 2007). So what? Maar daar zit net de adder, want onze menselijke maatschappij is fragiel. Robuust tegen grote catastrofes, zeker in termen van populatieaantal, maar zeer kwetsbaar, door onze ethische waarden; door de generositeit waarmee mensen ten opzichte van elkaar zijn gaan leven; door onze rechten, zoals het recht op een menswaardig bestaan. En op dat vlak zouden ongekende consequenties onaanvaardbare gevolgen kunnen hebben. Het is niet voor niets dat de nobelprijs voor de vrede anno 2007 naar het IPCC en naar Al Gore is gegaan. Het streefdoel van Al Gore is om de aan de gang zijnde klimaatsopwarming een halt toe te roepen, en één van de hoofdtaken van het IPCC is om na te gaan hoe dat zou kunnen. ‘Mitigation’ heet het sleutelwoord tegen de angst voor een onbekende toekomst. Alleen leert een zeker relativisme en een zekere zin voor realisme, dat het tegengaan van een klimaatsopwarming een grote en snelle ommekeer zou vergen van het maatschappelijk landschap wereldwijd. Naast deze ‘common sense’-bevinding zijn er bovendien ook wetenschappelijke gronden die dit specifieke probleem in een breder, meer genuanceerd perspectief plaatsen dan gewoonlijk het geval is. Om dit laatste te begrijpen gaat de volgende alinea dieper op de gedachtegang daarvan in.

Eigenlijk zou het preciezer zijn te zeggen dat het niet de Aarde is die opwarmt, maar het globale klimaat van de Aarde. En het zou iets genuanceerder zijn, om te zeggen dat niet alleen

het klimaat verandert, maar eigenlijk het hele omgevingssysteem van de Aarde. ‘Global Environmental Change’ is wellicht een meer bedachtzame term om de grootschalige veranderingen die er momenteel op Aarde plaatsvinden te beschrijven, dan slechts ‘Climate Change’. Wij mensen hebben immers veel méér impact op onze planeet, dan slechts het toevoegen van een hoeveelheid CO₂. Nooit voorheen in de hele geschiedenis is het landschap van de Aarde zo snel ingrijpend veranderd, nooit voorheen zijn op zo’n korte tijd zoveel elementen en grondstoffen verplaatst, plaatselijk en wereldwijd. Een steeds toenemend aantal wetenschappers concentreren tegenwoordig hun onderzoek op die grootschalige milieuveranderingen. Ze willen vooral een zicht krijgen op hoe ze werken, wat de ‘drivers’ zijn, en speculeren vervolgens over de mogelijke gevolgen. Hoewel veel takken van de wetenschap daaraan deelnemen, speelt geologie daarbij een prominente rol. Geologen weten immers de Aarde te lezen en te vertalen naar maatschappelijk relevante informatie. Zij proberen te begrijpen hoe het ‘Systeem Aarde’ werkt, en putten daarvoor uit het geologisch archief van de Aarde. Daarbij is vaak het verleden de sleutel tot het begrijpen van de wereld zoals we die vandaag waarnemen.

Dat geldt ook voor het klimaat van de Aarde. Kennis over vroegere klimaten op Aarde helpt ons om het huidige klimaat en de klimaatsverandering in een ‘geologisch perspectief’ te plaatsen (Fookes and Mark Lee, 2007). Dat perspectief is samen te vatten in een oneliner: het klimaat heeft altijd veranderd, en zal dat ook blijven doen. Wij weten immers nu dat het klimaat op Aarde steeds de weergave is van vele op elkaar gesuperponeerde processen, met uiteenlopende oorzaken (vb. Ruddiman, 2001; Fookes and Mark Lee, 2007; Vaughan, 2007). Sommige processen zijn van korte duur, zoals de om de enkele jaren terugkerende El Niño; andere van langere duur, zoals glacialen en interglacialen; en nog andere van zeer lange duur, zoals ijskastijden en broeikasperioden, ten gevolge van plaattektonische veranderingen. Sommige zijn éénmalig, zoals zware meteorietinslagen en andere dan weer cyclisch, zoals variaties in de orbitaalparameters van de Aarde die de positie ten opzichte van de zon en zo de sterkte van seizoenaliteit bepalen.

Ook weten wij nu, dat gedurende de hele geschiedenis van de Aarde, het klimaat over het algemeen een stuk warmer was dan het nu is (vb. Vaughan, 2007). Hoewel wij ons in een interglaciaal bevinden, leven we wel nog steeds in een ijskasperiode, terwijl eigenlijk broeikasperiodes altijd het overwicht hebben gehad in het verleden – waarbij de concentratie CO₂ in de atmosfeer vaak enkele veelvoudigen hoger was dan nu, inclusief de menselijke uitstoot aan CO₂ (zie ook Hoofdstuk 2). Het spreekt voor zichzelf dat zo’n broeikasperiodes uiterst leerrijk zijn voor de interpretatie van de huidige klimaatsveranderingen. Spijtig

genoeg, wordt dit gegeven ondergewaardeerd. Zeker als je kijkt naar het aantal pagina's van het Fourth Assessment Report van het IPCC dat aan paleoklimatologie is gewijd: slechts 63 van de 3000 bladzijden, waarvan nauwelijks 3 aan het klimaat vóór het Kwartair (Jansen et al., 2007). Nochtans is het voor een goed begrip van het verband tussen CO₂ en het klimaat noodzakelijk om ook naar de werking klimaatsveranderingen te kijken in een broeikaswereld, en niet alleen naar deze in een ijskaswereld (cfr. Zachos et al., 2008).

Dit alles maakt dat er eigenlijk een aantal belangrijke wetenschappelijke vragen tot nog toe slechts in beperkte mate zijn beantwoord. Wat is de leefbaarheid van een broeikaswereld? Hoe warm is het in zo'n periode in vergelijking met nu? Zijn er dan ook seizoenen? Hoe stabiel was het klimaat in zo'n periode? In deze vragen schuilt immers het genuanceerde perspectief van de vorige alinea, dat enigszins verschilt van het perspectief van de IPCC-rapporten, die zich vooral baseren op kennis van het recente tot sub-recente klimaat om strategieën op stellen om met de klimaatsopwarming om te gaan.

Deze thesis presenteert een onderzoek dat aan dit perspectief helpt mee te bouwen, door een relatief nieuwe klimaatsproxy verder uit te werken om zo de kennis van het gedrag van het klimaat tijdens een hoge-CO₂-broeikaswereld te kunnen verruimen. Op basis van stabiele zuurstof- en koolstofisotopen van het carbonaat van vis-otolieten werd een temperatuurs- en seizoenaliteitsreconstructie gemaakt van het Vroeg-Eoceen van het zuidelijke Noordzeebekken. Het uitwerken van de methode zit hier vervat in een uitgebreide beschrijving van de methodiek ervan (Deel B), enkele suggesties ter verbetering (vb. paragraaf 7.3), en een vergelijking met reeds gekende data voor het Vroeg-Eoceen uit de literatuur ter evaluatie (Deel C). De reconstructie zelf concentreert zich op het Vroeg-Eocene klimaatoptimum (Hoofdstuk 2). De resultaten ervan dienen enerzijds als een analoog voor een eventuele toekomstige warme wereld, en kunnen anderzijds gebruikt worden als basisdata voor het toetsen van klimaatsmodellen.

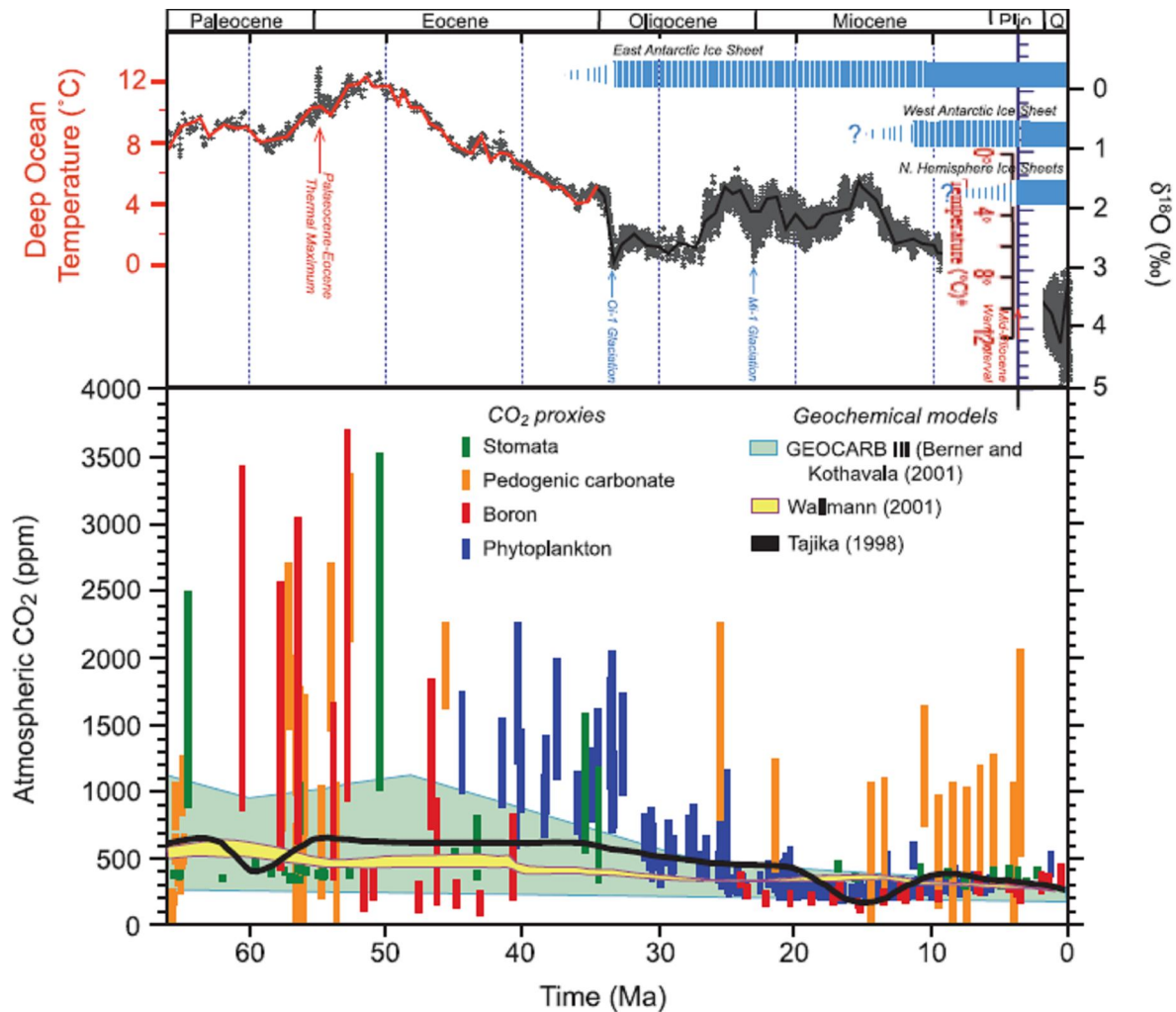
2. DE PALEOGENE BROEIKASWERELD

2.1. Waarom het Paleogeen?

Zoals vermeld in het vorige hoofdstuk, focust deze thesis zich op het Vroeg-Eoceen (55,8-48,6 Ma). Eigenlijk is deze focus een specifieke testcase voor de ontwikkeling van een betrouwbare reconstructietool voor het Paleogeen (65,5-23,03 Ma) in zijn geheel. Wat de reden is om het klimaat van het Paleogeen te willen reconstrueren, komt in dit hoofdstuk aan bod.

Het Paleogeen is een typisch voorbeeld van een broeikaswereld, met veel hogere globale gemiddelde jaartemperaturen dan nu, een veel grotere concentratie broeikasgassen in de atmosfeer, en het bijna of helemaal ontbreken van ijskappen op de polen (Zachos et al., 2008). Het is meteen ook de jongste broeikastijd die we kennen, naast deze van het Laat-Krijt (die in het Paleogeen overgaat), deze van het Laat-Perm tot Midden-Jura, en deze van het Laat-Siluur tot Midden-Carboon; oudere broeikasperiodes niet meegerekend (Vaughan, 2007). Deze context biedt het grote voordeel dat het de beste broeikaswereld is om te bestuderen, aangezien de onzekerheid op de gebruikte rechtstreekse metingen of proxies, van en respectievelijk voor klimaatparameters, het kleinst is. Ook zijn er voor die periode de meeste reconstructietools beschikbaar in vergelijking met andere broeikaswerelden. Het aantal proxies gebaseerd op fossielen bijvoorbeeld, zoals in deze thesis, neemt af naar het verleden toe omdat de link tussen recente en fossiele soorten vervaagt, en interpretaties moeilijker worden.

De Paleogene broeikastijd bevat ook een aantal interessante aspecten voor paleoklimatologische studies. Zie daarvoor de curve in het bovenste deel van Figuur 2.1, die de data van Zachos et al. (2001) bevat. Die data zijn de gemiddelde bodemtemperaturen van de oceaan tijdens het Cenozoïcum, gebaseerd op $\delta^{18}\text{O}$ -waarden van benthische foraminiferen. Omdat de temperatuur van het oceaanbodemwater slechts aan grootschalige en langdurige klimaatsvariaties onderhevig is, geven ze een vrij betrouwbaar overzicht van de globale klimaatsveranderingen tijdens die periode. Een eerste interessant aspect aan de Paleogene broeikasperiode is dan ook het globale gemiddelde temperatuursverloop. Het is reeds warm ten opzichte van nu wanneer het Paleogeen aanvangt, maar deze warmte neemt nog toe en culmineert in een periode van langdurige extreem hoge temperaturen, van ca. 50-52 Ma: het Vroeg-Eocene klimaatsoptimum, of Early Eocene Climatic Optimum (EECO, Zachos et al., 2001; 2008) (zie volgende paragraaf). Vervolgens neemt de temperatuur geleidelijk weer af.



Figuur 2.1: **boven**) Cenozoïsche zuurstofisotopencurve van benthische diepzee-foraminiferen, geïnterpreteerd volgens temperatuur, en met de verschillende glaciatiefasen aangeduid. De temperatuurschaal rechts is een grafische fout in het oorspronkelijk artikel en moet worden genegeerd; **onder**) schattingen van het gehalte aan atmosferische CO₂ tijdens het Cenozoïcum, gebaseerd op proxies en modellen (Jansen et al., 2007).

Een tweede interessant aspect is de herkenning van meerdere kortstondige klimaatsveranderingen in het Paleoceen: klimaatevents. Die zijn bijzonder aantrekkelijk om te bestuderen, gezien zij als analogen kunnen dienen voor een eventuele snelle toekomstige klimaatsverandering door de mens in de hand gewerkt. Het bekendste event in die context is het Paleoceen-Eoceen Thermale Maximum (PETM). Deze ‘hyperthermaal’ was een klimaatsanomalie met een duur van slechts ca. 200 kyr, herstelperiode inbegrepen, gekenmerkt door zeer hoge globale temperaturen (zie ook Figuur 2.1, bovenste deel) (Zachos et al., 2001). Naar schatting zou toen de globale temperatuur op Aarde op een tijdsperiode van amper 10 kyr met maar liefst 5° C zijn gestegen, en tegelijkertijd zou er ca. 2000 Gt koolstof onder de vorm van CO₂ in de atmosfeer terecht zijn gekomen (Zachos et al., 2001; 2008). Recent werden ook aanwijzingen gevonden voor andere hyperthermalen, zoals het ETM2 (ELMO, Lourens et al., 2005). De globaliteit ervan alsook de oorzaken zijn nog een

discussiepunt; zo is er mogelijk een link met variaties in de orbitaalparameters van de Aarde ten opzichte van de zon (excentriciteitscycli, Lourens et al., 2005). Zo'n hyperthermalen zijn een ideale testcase voor de sensitiviteit van het klimaat bij een hoge concentratie broeikasgassen, alsook voor het onderzoeken van welke feedbackmechanismen er speelden, zowel bij de opwarmingsfase als bij de herstelfase.

De (geologisch) plotse afkoeling in het vroegste Oligoceen dan weer (Figuur 2.1, bovenste deel), met het verschijnen van glaciaties op Antarctica, kan aanwijzingen geven over welke oorzaken, mechanismen en feedbacks kunnen leiden tot een overgang van een broeikasklimaat naar de aanzet tot een ijskasklimaat.

Een bijkomende reden wat het Paleoceen zo interessant maakt, in het bijzonder voor het zuidelijke Noordzeebekken, is dat de sedimenten uit die periode over het algemeen goed ontsloten zijn in de verschillende deelbekkens van het Noordzeebekken. Die zijn reeds zeer lang gekend en intensief bestudeerd op vlak van stratigrafie, waardoor het zuidelijke Noordzeebekken een goed gedateerde context biedt (zie Hoofdstuk 3 voor meer detail). Hoewel ze vaak niet continu zijn, en in vele gevallen ontkalkt, zijn de sedimenten ook goed bewaard en beschikken ze over een waardevolle paleontologische inhoud. Het is die inhoud die heeft bijgedragen, en dat nog altijd doet, tot de beschikbare hoge-resolutiestratigrafie (vb. Steurbaut, 1998), en die een groot aantal proxies aanlevert om aan paleoklimatologisch en ander geologisch onderzoek te doen.

2.2. Het Vroeg-Eocene klimaatoptimum (EECO)?

2.2.1. Bewijzen voor het EECO (Niet-exhaustief)

► Bewijzen voor hoge globale gemiddelde temperaturen

Aanwijzingen voor een warm Vroeg-Eoceen klimaat zijn reeds lang gekend en abundant. In zijn *Principles of Geology* schreef Charles Lyell het volgende over de Onder-Eocene sedimenten van de bekkens van London en Parijs (Lyell, 1830): “*In these strata, whether they were formed in seas or lakes, we find the remains of many animals, analogous to those of hot climates, such as the crocodile, turtle, and tortoise, and many large shells of the genus nautilus, and plants indicating such a temperature as is now found along the borders of the Mediterranean.*”. Een subtropisch tot tropisch klimaat ter hoogte van de hogere breedtegraden blijkt inderdaad overduidelijk uit faunale en floristische paleobiogeografische patronen. Dit geldt niet alleen voor West-Europa (Roche, 1991), maar bijvoorbeeld ook voor Noord-Amerika, waar palmbomen (Wing and Greenwood, 1993) en krokodillen (Markwick,

1994) tot aan de huidige grens met Canada voorkwamen. Meer recente bewijslast dan die van Lyell, specifiek voor het Belgische Bekken binnen het zuidelijke Noordzeebekken, zijn sporen-, pollen- en dinoflagellatenassociaties. De sporopollinische assemblages van het bovenste deel van het Onder-Eoceen, wat overeenkomt met de formaties van Gentbrugge en Aalter, duiden op de aanwezigheid van *Nipa*-palmen en andere tropische soorten (Roche, 1991). Diezelfde sedimenten vertonen een relatief hoog percentage aan *Apectodinium spp.* dinoflagellaten, die Van Simaey et al. (2003) correleren met het EECO. Dat is gebaseerd op de vaststelling dat ook tijdens het hogerop vernoemde PETM, een piek in *Apectodinium* voorkwam (Steurbaut et al., 2003). Ook de mariene visfauna wijst op uitzonderlijk hoge gemiddelde temperaturen in het zuidelijke Noordzeebekken tijdens het Vroeg-Eoceen; de gevonden otolietenassociaties bestaan uit tropische tot subtropische soorten (Steurbaut and Nolf, 1991) (zie ook paragraaf 5.1.1).

Naast deze paleobiogeografische patronen zijn er ook andere argumenten voor het EECO. Zo is er gedurende het Vroeg-Eoceen een verandering merkbaar in kleimineralenassociaties, op zijn minst in het hele Atlantische gebied (Robert and Chamley, 1991). Op lagere breedtegraden is de verhoogde abundantie aan palygorskiet opvallend; op hogere breedtegraden geldt hetzelfde voor kaoliniet. Kleimineralenassemblages zijn sterk verweringsgerelateerd, en dus afhankelijk van de verhouding tussen de mate van evaporatie, humiditeit en temperatuur. Kaoliniet wijst op een toegenomen vochtigheid tijdens het Vroeg-Eoceen, palygorskiet op toegenomen contrasten in vochtgehalte; en beide wijzen ze op een warm klimaat. Een ander argument, dat hiermee verband houdt, is het voorkomen van bepaalde types smectiet in functie van het klimaat. Vroeg-Eocene smectieten van het Belgische Bekken hebben een ijzerige beidellitsamenstelling, typerend voor warm klimaat met contrasterende seizoenale vochtigheid (Mercier-Castiaux and Dupuis, 1991).

Een volgend argument zijn de Vroeg-Eocene zuurstofisotopenwaardes van organische precipitaten, naast deze van de in paragraaf 2.1 vermelde benthische diepzee-foraminiferen. Een voorbeeld daarvan is de intrajaarlijkse variabiliteit in zuurstofisotopendata van *Venericardia*-bivalven van de Amerikaanse Gulf Coast (Ivany et al., 2004b). Deze blijkt zeer klein te zijn: nauwelijks enkele graden boven en onder een jaargemiddelde van 26 °C. Dit is een kenmerkende eigenschap van een tropisch klimaat, zoals het tegenwoordig voorkomt op minder dan 19° noorderbreedte. Een ander voorbeeld, toegepast op het Eocene Noordzeebekken, zijn zuurstofisotopen van het apatiet van haaiantanden (Zacke et al., in press). Die vertonen een stijging van bodem- en/of wintertemperaturen van ca. 9-13 °C in het Daniaan naar 20-24 °C in het Selandiaan en Ypresiaan.

Zo'n isotopenstudie, inclusief deze gepresenteerd in deze thesis, hebben als nadeel dat het isotopensignaal meestal niet direct in functie van de temperatuur is te interpreteren. Ook de samenstelling van het oceaانwater bepaalt mee de geprecipiteerde isotopenwaarde (paragraaf 4.2). Meer absolute proxies kunnen bij die interpretatie helpen, waaronder de Mg/Ca-verhouding in mariene carbonaten, en de recent ontwikkelde TEX₈₆, gebaseerd op organische moleculen van crenarcheota (Huber, 2008). Die zijn weinig tot niet afhankelijk van de samenstelling van het oceaانwater, en ook deze wijzen consistent op een warm Vroeg-Eoceen klimaat. Hoewel de TEX₈₆-methode nog in de kinderschoenen staat, lijkt ze aan te tonen dat ook in de tropen – een reeds lang betwist onderwerp – een Vroeg-Eocene klimaatsopwarming plaatsvond, met tropische zeewateroppervlaktetemperaturen van ca. 35-40 °C (Huber, 2008).

► Bewijzen voor een hoge CO₂-concentratie in de toenmalige atmosfeer

De argumenten voor de aanwezigheid van een grotere tot veel grotere hoeveelheid CO₂ in de Vroeg-Eocene atmosfeer ten opzichte van nu, komen enerzijds van proxies en anderzijds van modelleringen (zie Figuur 2.1, onderste deel). Proxydata geven daarbij vaak hogere waarden aan dan gegevens uit modellen, hoewel beide over het algemeen consistent hogere concentraties van het broeikasgas opleveren tijdens het Laat-Krijt en eerste deel van het Cenozoïcum, dan de huidige.

Een voorbeeld van een bruikbare proxy (die niet vermeld staat op Figuur 2.1) is de afleiding van de hoeveelheid atmosferisch CO₂ op basis van pedogeen goethiet (Yapp, 2004). Uit de helling van de mixing line tussen atmosferisch CO₂ en CO₂ vanwege de oxidatie van organisch materiaal, van een Vroeg-Eocene goethietbevattende oxisol, volgt dat er ongeveer 2700 ppm (parts per million) van het gas aanwezig moet geweest zijn in de toenmalige atmosfeer – en dat zou nog een onderschatting kunnen zijn. Dat is ongeveer acht keer de hoeveelheid van de huidige concentratie in de atmosfeer. Een tweede voorbeeld is de analyse van boorisotopen van planktonische foraminiferen (Pearson and Palmer, 2000). De δ¹¹B van hun carbonaat is een proxy voor de paleo-pH van oceanisch oppervlaktewater – op voorwaarde van de afwezigheid van de invloed van zoetwaterinflux en diepwateropwelling. De paleo-pH is op zijn beurt een maat voor de toenmalige hoeveelheid CO₂ in het oceaانwater, en dus ook de concentratie CO₂ in de atmosfeer. De redenering achter deze geochemische methode is dat de verhouding tussen de concentraties van de twee voorkomende Boor-species in een waterige oplossing, B(OH)₃ en B(OH)₄⁻, sterk pH-afhankelijk is, en er bovendien een uitgesproken isotopische fractionatie optreedt tussen de beide. De geschatte atmosferische CO₂-concentraties voor het Laat-Paleoceen tot en met

Vroeg-Eoceen lopen op basis van deze proxy op tot meer dan 3000 ppm, met over het algemeen waarden boven 2000 ppm (Figuur 2.1, onderste deel, Pearson and Palmer, 2000). Vanaf het laatste Vroeg-Eoceen is er een duidelijke daling waarneembaar. Een derde voorbeeld is de CO₂-concentratie-reconstructie aan de hand van stomata (huidmondjes) op de bladeren van fossiele C₃-planten. Het percentage aan epidermale cellen op een blad, die deel uitmaken van een stomataal complex (de stomatale index), is invers gerelateerd met de partiële druk van atmosferisch CO₂ (Royer, 2003). De gepubliceerde studies die deze methode hebben toegepast verschillen onderling sterk qua resultaten. Terwijl Retallack (2001) schattingen van 1000 tot meer dan 3000 ppm CO₂ bekamt omstreeks het EECO en andere tijdsperiodes, blijven de waarden van Royer (2003) beperkt tot waarden in de buurt van de huidige concentraties CO₂ in de atmosfeer.

Voorbeelden van modellen zijn die van Tajika (1998) en Wallmann (2001). Dergelijke modellen proberen steeds de globale koolstofcyclus na te bootsen, en houden onder meer rekening met veranderingen in hydrothermale fluxen, alteratie van de oceaانبodem, chemische verwerking, en metamorfisme van carbonaten (Wallmann, 2001). De output van de modellen hoeft niet alleen een hoeveelheid CO₂ te zijn, maar kan ook informatie geven over de zee-water-pH en concentraties van elementen. Ook deze modellen leveren abundanties op van CO₂, die hoger tot veel hoger zijn dan deze nu in de atmosfeer (range 500-1000 ppm).

2.2.2. Oorzaken van het EECO

Zoals in paragraaf 2.1 aangegeven is het EECO de culminatie van naar Cenozoïsche normen zeer warme gemiddelde globale temperaturen op Aarde, en maakt het een wezenlijk onderdeel uit van de Cenozoïsche langetermijntrend qua temperatuur (Figuur 2.1, bovenste deel). De oorzaken ervan zijn dan ook te zoeken in de factoren die deze langetermijntrend hebben gestuurd. Van belang zijn vooral veranderingen in de hoeveelheid vulkanische emissies, met een hoger aantal emissies tijdens het Paleoceen en Eoceen en een lager aantal daarna; en veranderingen in de hoeveelheid chemische verwerking van silicaatgesteenten (Zachos et al., 2008). Deze hebben gevolgen voor de CO₂-huishouding in de atmosfeer, met respectievelijk een toename in concentratie en een langetermijnstabilisatie onder de vorm van een negatieve feedback. De chemische verwerking van silicaatgesteenten onttrekt immers CO₂ aan de atmosfeer, waardoor de temperatuur en hoeveelheid precipitatie op Aarde afnemen. Daardoor neemt op zijn beurt echter ook de hoeveelheid verwerking af. Deze twee factoren, vulkanisme

en verwerking, zijn het gevolg van de algemene plaattektonische gesteldheid van de Aarde. Hieronder volgt daarvan een schets specifiek in de context van het EECO.

► Het vulkanisme van de Noord-Atlantische Magmatische Provincie

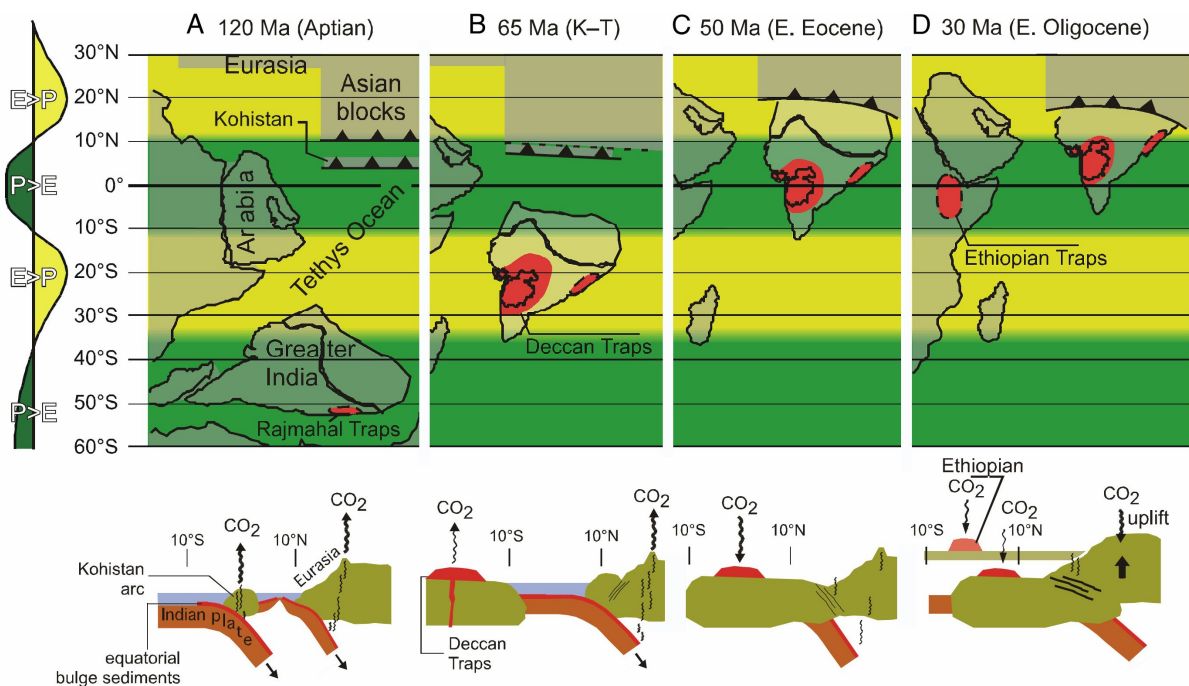
Omstreeks het vroege Paleogeen (Daniaan) resulteerde de activiteit van een mantelpluim onder de lithosfeer van het toenmalige Groenland en Noordwest-Europa in de wijd verbreide afzetting van basalten, (Eng. flood basalts) (Jolley and Bell, 2002; Jolley and Widdowson, 2005). De vulkanische activiteit nam sterk toe tegen het einde van het Paleoceen, wat leidde tot de opening van die lithosfeer met het ontstaan van het Noord-Atlantische riftsysteem als gevolg. Dit vulkanisme is een mogelijke oorzaak voor het PETM (paragraaf 2.1), via het vrijkomen van methaangas door massale sill-intrusies en contactmetamorfisme (Storey et al., 2007). Na het PETM, tijdens het vroegste Eoceen, nam de hoeveelheid vulkanische activiteit af, maar veranderde van een uitvloeiingstype naar een explosief freatomagmatisch type (Jolley and Widdowson, 2005). Daarmee ging de ejectie van stofdeeltjes en aërosolen gepaard (Egger, 2006), waarvan bewijzen terug te vinden zijn onder de vorm van de vulkanische assen in de Onder-Eocene Balder Formation in het Noordzeebekken (Jolley and Widdowson, 2005). Synchron met deze afzettingen zijn er op basis van stabiele isotopen van foraminiferen en pollenanalyses aanwijzingen voor een kortstondige afkoelingsperiode, het ‘Balder Event’ genoemd (Egger, 2006, Jolley and Widdowson, 2005). Waarschijnlijk is die afkoeling dus te wijten aan de aanwezigheid van het stof en de aërosolen in de atmosfeer, waardoor toen minder zonnestraling de Aarde kon bereiken (Egger, 2006). De explosieve fase van het vulkanisme duurde ongeveer een half miljoen jaar, en het is de afname ervan die een belangrijke factor was bij het opnieuw opwarmen van het klimaat naar het EECO toe (Jolley and Widdowson, 2005).

► De rol van het Indiase continent

De waarschijnlijke hoofdmotor achter de klimaathuishouding omstreeks het EECO is de plaattektonische en geografische positie van het continent India op dat moment (Figuur 2.2, Irving, 2008; Kent and Muttoni, 2008). Dit maakte een noordwaartse beweging richting het Euraziatische continent, om daar tegen het Vroeg-Eoceen, omstreeks 50 Ma, mee in contact te komen met de vorming van de Himalaya als suturezone. In de periode vóór het aanmeren van India, passeerde het plaatgedeelte noordelijk van India – de oceanische korst van de Tethys – doorheen de tropische klimaatgordel (Figuur 2.2B). Het werd beladen met carbonaatsedimenten, die dan vervolgens via subductiegerelateerd metamorfisme en

vulkanisme werden gerecycleerd waarbij grote hoeveelheden CO₂ vrijkwamen in de atmosfeer. Kent and Muttoni (2008) zien dit als verklaring voor de hoge concentraties CO₂ tijdens het EECO, en dus, via het broeikas effect, voor de hoge temperaturen toen. Dit eerder dan het vrijkomen van meer CO₂ door de toename van de globale productie aan oceaankorst. Ook het vrijkomen van CO₂ door het metamorfisme verbonden aan de vorming van de Himalaya zelf zou weinig hebben bijgedragen (Kerrick and Caldeira, 1999).

Na het aanmeren van India nam het vulkanisme af en werd het onttrekken van CO₂ aan de atmosfeer door verwerking een belangrijke factor. Niet zozeer door de verwerking van de Himalaya (Kerrick and Caldeira, 1999), maar wel door de verwerking van de Deccan Traps op India. Die zijn gevormd gedurende het Laat-Krijt, en kwamen omstreeks het Vroeg-Eoceen in de tropische gordel te liggen, waardoor de verwerking ervan pas vanaf dan echt van start ging (Figuur 2.2B en 2.2C, Kent and Muttoni, 2008). Ze zijn volgens Kent and Muttoni (2008) de hoofdoorzaak voor het beëindigen van het EECO en samen met de latere Ethiopian Traps (Figuur 2.2D) ook voor de verder afnemende temperatuurstrend tijdens het latere Paleoceen.



Figuur 2.2: **boven**) positie van het Indiase continent van het Vroeg-Krijt tot het Laat-Paleoceen, met aanduiding van de klimaatgordels; **onder**) plaattektonische configuratie van het Indiase en Euraziatische continent overeenkomstig het bovenste deel van de figuur (Jansen et al., 2007).

3. STRATIGRAFIE EN PALEOGEOGRAFIE VAN HET ONDERZOEKSGBIED

3.1. Vroeg-Eocene paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken

3.1.1. Algemene paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken

Om te begrijpen hoe het zuidelijke Noordzeebekken er uit zag tijdens het Paleogeen, in het bijzonder het Vroeg-Eoceen, is een gedetailleerde kennis nodig van de plaattektonische context van West-Europa. Twee globale factoren speelden een belangrijke rol voor dit gebied, dat toen enkele graden meer naar de evenaar toe lag dan vandaag de dag (Groot-Brittannië op 40° NB, King, 2006). Enerzijds was West-Europa onderhevig aan een tensionele regime ten gevolge van de plaatspreiding van het Noord-Atlantisch en Arctisch gebied west- en noordwaarts, en anderzijds aan een compressioneel regime vanwege de botsing van de Afrikaanse plaat met de Euraziatische vanuit het zuiden (Alpiene tektoniek) (King, 2006).

Door het eerst vernoemde regime ontstonden bekkenstructuren, waaronder het intracratonische Noordzeebekken, die terug gaan tot de van oorsprong Mesozoïsche riftbekkenstructuren bovenop Variscische structuren (King, 2006; Steurbaut, 2006). Het Noordzeebekken strekte zich globaal NW-ZO (Centrale Graben) tot N-Z (Viking Graben) uit, en had zijn zuidelijke grenzen in het gebied overeenkomstig het huidige zuidoost-Engeland – Frankrijk – België. Dat zuidelijk randgebied bestaat uit meerdere deelbekkens, die elk een deels verschillende geschiedenis hebben ondergaan. Dat zijn het London Bekken en Hampshire(-Dieppe) bekken in zuidoost-Engeland, het Bekken van Parijs in Noord-Frankrijk en het Belgisch Bekken (vb. Mercier-Castiaux and Dupuis, 1991; Murray, 1992; King, 2006; Steurbaut, 2006, Figuur 3.2). Die deelbekkens zijn omgeven door oude massieven: het Welsh-Anglische Hoog in het westen, het Armoricaanse massief in het zuiden, en de Ardennen in het zuidoosten (Mercier-Castiaux and Dupuis, 1991 fig. 1; Steurbaut, 2006). Bijkomende effecten van het tensionele regime zijn lokale inversies en het effect van veranderingen in de snelheid van zeevloerspreiding (King, 2006). Dit regime was dominant gedurende het vroege Paleoceen, en kreeg in het vroegste Eoceen nog een laatste grote boost omwille van het scheiden van de korst tussen Noorwegen en Groenland (zie ook paragraaf 2.2.2, Murray, 1992; King, 2006).

Vanaf het Eoceen werd echter het compressioneel regime belangrijker. De effecten van de beginnende Alpiene orogenese, met in het voorland daarvan de ontwikkeling van het Europese Cenozoïsche Riftsysteem (Dèzes et al., 2004), leidden vooral tot verticale bewegingen van de verschillende bekkens. Deze bekkeninversies zijn deels de reden waarom het zuidelijke Noordzeebekken eigenlijk uit een aantal deelbekkens bestaat. De belangrijkste

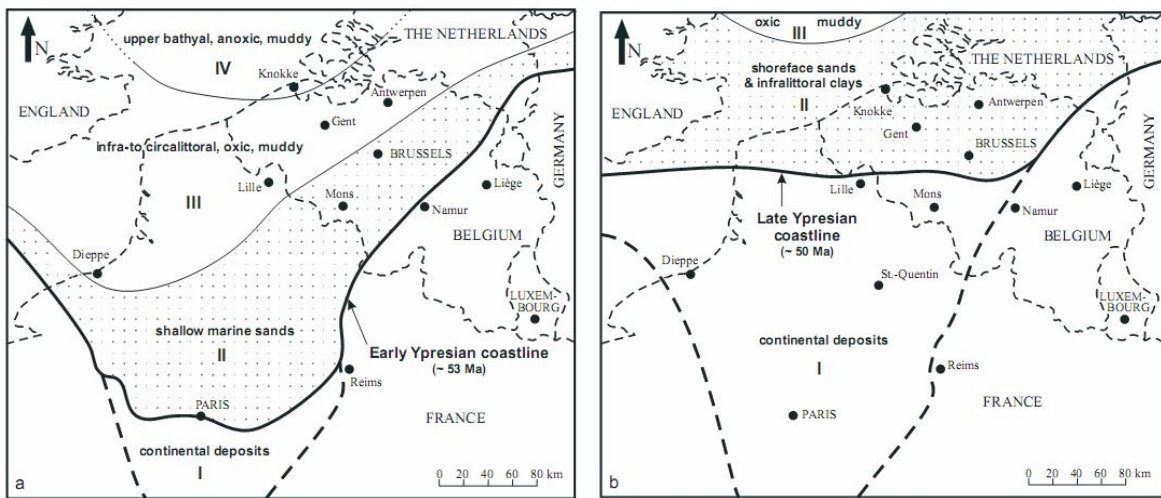
inversie-as in dit opzicht is de as Weald-Artois (Figuur 3.2), en in mindere mate ook het London-Brabant Massief. Het London-Brabant massief maakte verticale opwaartse bewegingen gedurende het laatste Thanetiaan en vroegste Ypresiaan, en tijdens het Laat-Ypresiaan (Vandenberghe et al., 2004). De timing en de hoeveelheid blootliggend land van de Weald-Artois is echter minder duidelijk (King, 2006). Dat is wel belangrijk, aangezien de Noordzee bij het ontbreken van die as, eventueel verbinding kon maken met de Noord-Atlantische oceaan (cfr. het huidige Kanaal), en zo invloed hebben gehad op de zeewatersamenstelling.

3.1.2. Paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken tijdens het Ypresiaan

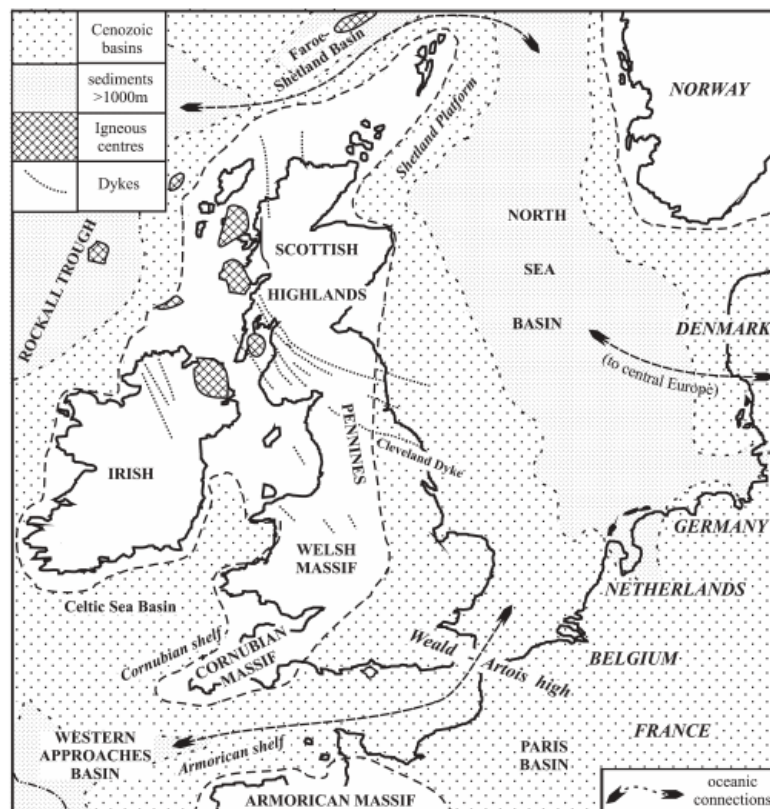
Samen met bovenstaande aspecten, bepalen eustatische zeespiegelvariaties uiteindelijk de kustlijnen van een regio op een bepaald moment. Specifiek voor het Ypresiaan geldt het volgende: het wordt gekenmerkt door een algemene tektonische relaxatieperiode waardoor er bekkensubsidentie optrad, samenvallend met een eustatische zeespiegelstijging. Dat leidde ertoe dat de relatieve zeespiegelstand tijdens het Midden-Ypresiaan de hoogste was van het hele Paleogeen in het zuidelijke Noordzeebekken (King, 2006), en dat de kustlijn op dat moment zich tot Parijs moet hebben uitgestrekt (Steurbaut, 2006, Figuur 3.1). De afzetting van kleien domineerde de verschillende deelbekkens. Het is zo goed als zeker dat de rug van Weald-Artois geen beperkende rol speelde, en dat deze toen onder de zeespiegel lag (King, 2006). Een opening van het Kanaal en een zuiderse verbinding met de Noord-Atlantische oceaan wordt ook bevestigd in kleimineralenassociaties en de aankomst van *Nummulites* foraminiferen in het Belgische Bekken (Mercier-Castiaux and Dupuis, 1991). Een argument daartegen zou kunnen zijn dat de otolietenassociaties van het Bekken van Aquitaine (Zuid-Frankrijk) van het Ypresiaan sterk verschillen van deze in de zuidelijke Noordzee, maar dat zou ook kunnen te wijten zijn aan het verschil in mate van connectiviteit met de oceaan (Bekken van Aquitaine meer rechtstreeks) (Steurbaut and Nolf, 1991).

Naar het eind van het Ypresiaan toe daalde de zeespiegel opnieuw, waardoor de kustlijn ca. 200 tot 250 km naar het noorden opschoof (Steurbaut, 2006, Figuur 3.1). Bovendien maakte op dat moment het London-Brabant Massief een opwaartse beweging (Vandenberghe et al., 2004). Boven-Ypresiaan sedimentenpakketten bestaan dan ook hoofdzakelijk uit zanden. Bewijzen voor die opwaartse beweging van het London-Brabant Massief zijn onder meer de paleoseismieten uit de Zanden van Egem (Vandenberghe et al, 2004), die wijzen op zware aardbevingen tijdens het Laat-Ypresiaan. Samengevat was het zuidelijke Noordzeebekken

tijdens het Ypresiaan een brede baai onderhevig aan sterke zeespiegelveranderingen. Die baai was omgeven door oude massieven, en net als vandaag de dag mondden er, gezien het tropische en vochtige klimaat (zie Hoofdstuk 2), grote rivieren in uit (King, 2006). Die baai was omgeven door subtropische vegetatie en naar het eind van het Ypresiaan toe tropische bossen (met het lage percentage aan kaoliniet in de sedimenten als extra argument, wegens de bescherming van het substraat) (Roche, 1991). Die paleogeografie is belangrijk voor de uiteindelijke interpretatie van de isotopendata (Deel C), omdat de aard van het bekken een sterke invloed heeft op de saliniteit van het bekken.



Figuur 3.1: links, de paleogeografie van het zuidelijke Noordzeebekken tijdens het Vroeg-Ypresiaan; rechts, tijdens het Laat-Ypresiaan (Steurbaut, 2006)



Figuur 3.2: algemene Cenozoïsche paleogeografie van het Noordzeebekken, met de meeste deelbekkens en omliggende massieven aangeduid (King, 2006).

3.2. Vroeg-Eocene stratigrafie van het zuidelijke Noordzeebekken

3.2.1. Algemene stratigrafie van het zuidelijke Noordzeebekken

De stratigrafie van het zuidelijke Noordzeebekken is reeds in de beginjaren van de geologie intensief bestudeerd. Charles Lyell, een belangrijke grondlegger van de moderne geologie, beschreef reeds uitgebreid de Paleogene stratigrafie van België en Frans-Vlaanderen, inclusief correlaties van deze sedimenten met die van de bekkens van Hampshire, London en Parijs (Lyell, 1852). Dat heeft ertoe geleid dat er vandaag de dag extensieve beschrijvingen beschikbaar zijn van deze sedimenten, in het bijzonder van de Paleogene sedimenten uit het Belgische Bekken (zie volgende paragraaf) (vb. Steurbaut, 1998). Dit stuk tekst kan dan ook slechts een minimale samenvatting zijn van wat al is verschenen in de literatuur.

De algemene stratigrafie kenmerkt zich in alle bekkens door de afzetting van siliciklastische sedimenten; in het Onder- en Midden-Ypresiaan vooral kleien en siltige kleien, uitgezonderd de kustzones; in het Boven-Ypresiaan vooral zanden (King, 2006). Die globale faciëssen zijn over de verschillende bekkens vervolgbaar of correleerbaar (vb. op basis van phytoplankton, De Coninck, 1991), en zijn in alle bekkens de uiting van de factoren die in de vorige paragrafen zijn beschreven. Zo komt de London Clay van de London en Hampshire bekkens bijvoorbeeld deels overeen met de Belgische Formatie van Kortrijk. Voorts kenmerken de sedimenten in alle bekkens zich door het voorkomen van goed herkenbare sequenties, die zeer duidelijk aanwezig zijn wegens het ondiepe karakter van de bekkens (vb. King, 2006; Vandenberghe et al., 1998, 2004). Tot slot zijn alle bekkens vrij onaangetast bewaard gebleven, wegens de afwezigheid van noemenswaardige vervormingsprocessen.

3.2.2. Ypresiaansedimenten uit het Belgische Bekken

Omdat de staalname van deze thesis (Hoofdstuk 5) enkel uit sedimenten van het Belgisch Bekken afkomstig is, concentreert de stratigrafische beschrijving zich hier enkel op deze sedimenten. De functie van enige stratigrafische kennis voor deze thesis, is vooral het voorzien van een tijdsframe voor de klimaatsreconstructie, maar ook om een controle te kunnen hebben op eventuele diagenetische effecten of herwerking. Onderstaande puntjes vatten deze stratigrafische kennis beknopt samen. De Figuren 3.3, 3.4 en 3.5 synthetiseren deze elementen; zie ook Appendix 2 voor stratigrafische informatie per otoliet.

► Geochronologie

De basis van het Ypresiaan is gedefinieerd volgens de GSSP in Dababiya (Egypte), en gedateerd op 55.8 Ma. Voor de basis van het Lutetiaan is nog geen GSSP vastgelegd; de ouderdom ervan wordt geschat op ca. 48.6 Ma (Steurbaut, 2006).

► Magnetostratigrafie

Op basis van gedetailleerde studies in het hele zuidelijke Noordzeebekken en latere aanvullingen, is de standaard geomagnetische polariteit van het Ypresiaan deels gekoppeld aan de polariteit van de Ypresiaansedimenten uit het Belgische Bekken (Steurbaut, 1998). Dit biedt een stevige chronostratigrafische omkadering van die sedimenten. Het Ypresiaan omvat de magnetochrons C24r tot en met C22n. Deze laatste is echter niet herkend in België, evenals het onderste deel van C24r (Steurbaut, 1998). In degene die wel zijn geïdentificeerd, zijn ook meer kleinschalige ompolingen merkbaar, die een hogere correlatieresolutie toelaten.

► Lithostratigrafie, lithologie en lithofaciës

Het algemene laagverloop van de sedimenten is zacht naar het noordoosten hellend (Steurbaut, 2006), met een afwisseling tussen zandige en kleiige pakketten. Op Figuur 3.3 staan de meeste lithostratigrafische eenheden van het Ypresiaan van het Belgische Bekken weergegeven. Hieronder volgt een beknopte beschrijving van de voor deze thesis belangrijkste eenheden en hun kenmerken, dat tenzij anders vermeld gebaseerd is op Steurbaut (2006).

► Formatie van Tienen (Groep van Landen)

De Formatie van Tienen is zeer heterogeen en omvat zowel fluviatiele afzettingen, met in Oost-België een zandig faciës met lokaal lignieten, mergels, en grint met vertebratenresten, lacustriene afzettingen (omgeving van Mons), als lagunaire afzettingen (Noord-West-België) (Steurbaut, 1998). Paleontologisch zijn deze afzettingen uiterst waardevol, zeker gezien hun positie rond de Paleoceen-Eoceenovergang. Deze thesis concentreert zich echter op otolieten uit bovenliggende sedimenten, dus wordt op deze formatie niet verder ingegaan.

► Formatie van Kortrijk (Groep van Ieper)

Deze formatie bevat neritische mariene kleiige sedimenten, en is correleerbaar met de London Clay Formation van zuidelijk Engeland. De dikte van het pakket is ca. 100 m in het noorden van België. Het *Lid van Zoute* komt enkel voor in de boring van Knokke, en is samengesteld uit enkele meters dikke glauconiëtsilten met houtfragmenten en partikels van vulkanische oorsprong. Het *Lid van Mont-Héribu* volgt dit op en bestaat uit een eerste pakket ontkalkte kleien met een dikte tot 9 meter. Daarboven ligt een tweede dikker (tot 25 m) ontkalkt

kleipakket: het *Lid van Orchies*. Het *Lid van Roubaix* is een derde kleipakket, maar ditmaal kalkhoudend, met af en toe ook laagjes silt of zeer fijn zand. Het komt lateraal overeen met het middenste deel van de London Clay Formation, en in zuidelijk België met de *Formatie van Mons-en-Pévèle*. Dit is een zandig kustnabij faciës. Het is niet ontkalkt, maar Fobe (1991) vermeldt wel sporen van diagenese. De nummuliethoudende kalksteenbanken, afgezet tijdens stormen, zouden het resultaat zijn van het oplossen en terug neerslaan van onstabiel aragoniet en magnesiumcaliet. Het tot 20 meter dikke secundair ontkalkte *Lid van Aalbeke* sluit het pakket zware kleien van de *Formatie van Kortrijk* af.

► *Formatie van Tielt* (Groep van Ieper)

Dit is een meer heterogene formatie dan de vorige. Het vangt aan met een siltpakket (*Lid van Kortemark*), dat tot 40 meter dik kan zijn; het is slechts licht kalkhoudend. Daarop volgt een enkele meters dikke kleilaag (*Lid van Egemkapel*) waarvan de basis rijk is aan fossielen. Het derde lid, het *Lid van Egem*, bestaat uit een ca. 20 m dik pakket van zanden, met hier en daar kleilaagjes en ook enkele nummulietrijke schelpenlagen.

► *Formatie van de Zanden van Hyon* (Groep van Ieper)

De eenheden die in deze formatie vervat zijn waren traditioneel onduidelijk gedefinieerd, en verkeerdelijk gecorreleerd (vb. De Geyter et al., 2006; Steurbaut, 1991). De glauconietzanden van het *Lid van Bois-la-Haut* zijn sterk gebioturbeerd maar relatief goed gesorteerd; deze van het *Lid van Panisel* zijn slecht gesorteerd, met lokaal eventuele slecht gecementeerde zandstenen. De ganse formatie is ca. 25 m dik.

► *Formatie van Gentbrugge* (Groep van Ieper)

Kenmerkend voor deze formatie zijn twee klei- tot siltpakketten in het onderste deel (*Lid van Merelbeke* en *Lid van Pittem*). Dat van Merelbeke is ontkalkt; in dat van Pittem komen zandsteen- en siltsteenbanken voor. Boven dit kleilig faciës liggen de zanden van het *Lid van Vlierzele* en het *Lid van Aalterbrugge*. Dit laatste zand is wit van kleur en bevat lignietrijke lenzen.

► *Formatie van Aalter* (Groep van Zenne)

Dit laatste glauconietrijke zandpakket vertegenwoordigt de top van de Belgische Ypresiaansedimenten. Deze formatie, die bedekt wordt door de Zanden van Brussel, kenmerkt zich door de grote hoeveelheid bivalven die erin voorkomen. De Ypresiaan-Lutetiaangrens bevindt zich midden in de Zanden van Aalter.

Steurbaut (2006) vat bovenstaande gegevens (behalve de *Formatie van Aalter*) samen in vier lithofaciësgroepen. Een eerste zijn de zware kleien (*Leden van Orchies*, *Aalbeke* en

Merelbeke). Die vertegenwoordigen de diepste faciëssen en ze zijn ontkalkt in een vroege diagenetische fase. De siltige kleien of kleiige silten van de Leden van Roubaix, Kortemark, Egemkapel en Pittem ten tweede, zijn niet ontkalkt (behalve in slechts enkele ontsluitingen door post-diagenetische ontkalking) en voor het merendeel afgezet onder de normale golfbasis. Deze eerste twee faciëssen zijn sedimentologisch minder goed gekend dan de volgende twee. Het derde faciës is een heterogeniteit van kalkige zandige silten, zeer fijne (soms kleiige) zanden met verschillende sub-faciëssen (in de eenheden van Mons-en-Pévèle, Egem en Hyon). Ze zijn afgezet onder de normale golfbasis, maar bepaalde types gekruiste gelaagdheid wijzen op de invloed van stormen. Het vierde faciës bestaat uit fijne tot medium zanden qua korrelgrootte. Het zijn de zandlichamen van onder meer de Zanden van Vlierzele, die te interpreteren zijn als series van stormgegenereerde megaribbels.

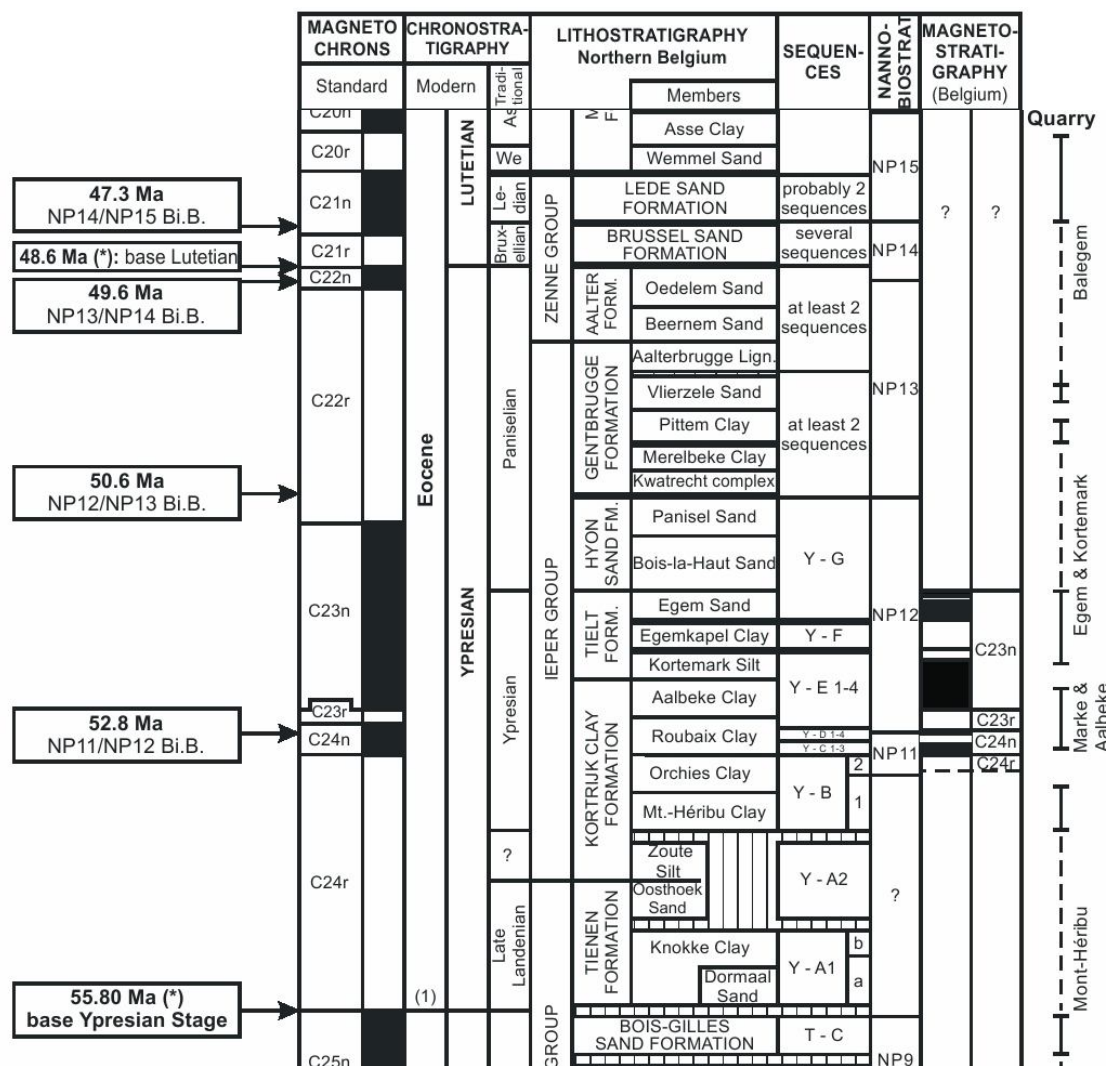
► Biostratigrafie

Hoewel de eerste correlaties van de sedimenten van het zuidelijke Noordzeebekken op basis van macrofossielen (vooral mollusken) werden opgesteld (vb. Lyell, 1852), zijn er tegenwoordig veel fijnere correlaties mogelijk door intensieve bestudering van microfossielassociaties. Vandaag de dag is er dan ook een zeer gedetailleerde biostratigrafie beschikbaar voor het Ypresiaan, zeker wat betreft sedimenten uit het Belgische Bekken (Figuur 3.5). Een overzicht van de belangrijkste studies staat in (Steurbaut, 2006, p. 81). Vooral kalkig nannoplankton biedt wegens de aard van de tool zelf, een hoge biostratigrafische en correlatieresolutie (Steurbaut, 1991; 1998). In de sedimenten zijn de zones NP11, NP12 en NP13 niet alleen duidelijk herkenbaar, maar ook nog eens te onderscheiden in verschillende subzones (Figuur 3.5). In sedimenten die ontkalkt zijn, dienen dinoflagellaten als belangrijkste biostratigrafische tool (De Coninck, 1991; Steurbaut, 1998). Voorts zijn ook foraminiferen samen met bivalven en ostracoden als biostratigrafische waarden intensief bestudeerd (King, 1991).

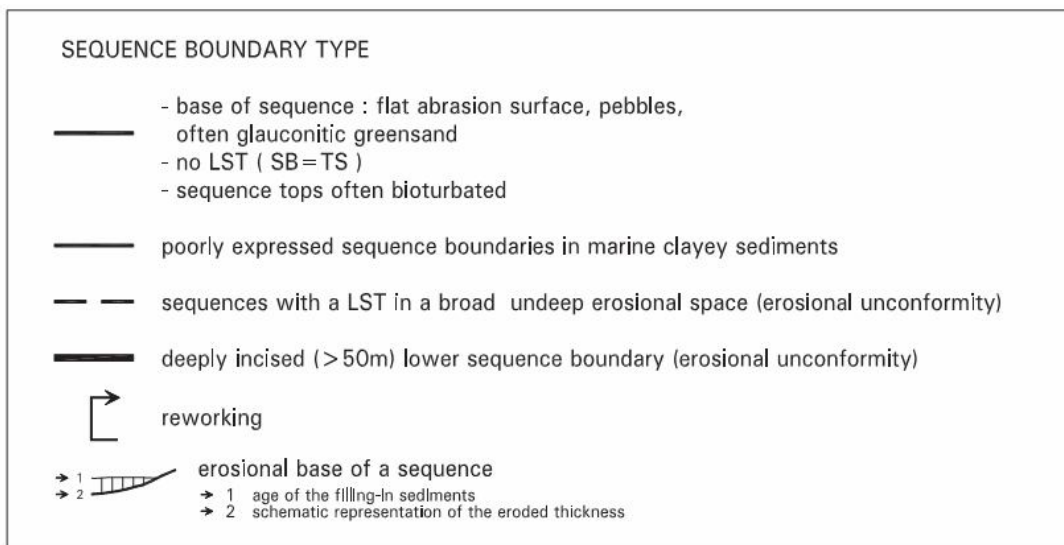
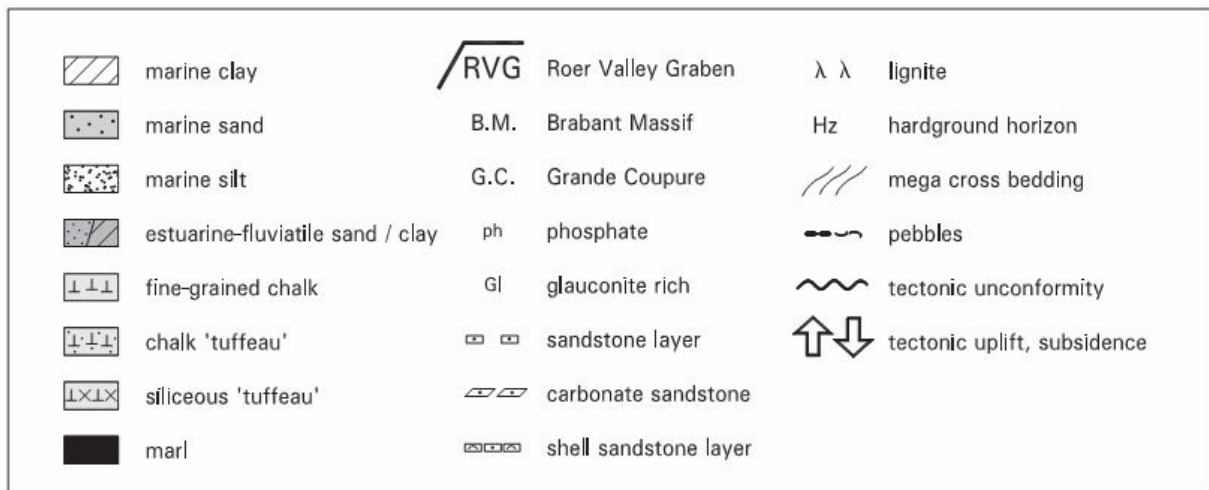
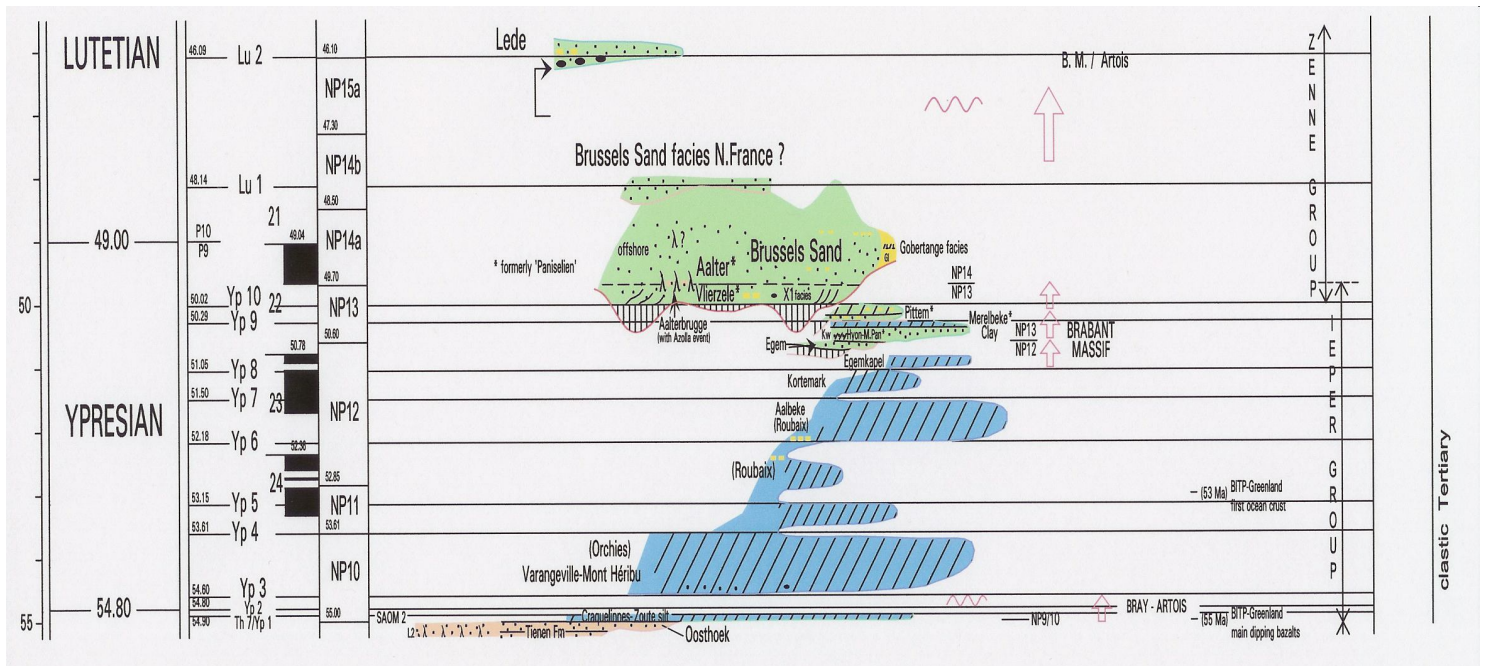
► Sequentiestratigrafie (Figuur 3.4)

Ook aan de sequentiestratigrafie van het de Ypresiaansedimenten uit het Belgisch Bekken is al ruime aandacht besteed (Steurbaut, 1998; Vandenberghe et al., 1998; 2004). De positie van het bekken aan de rand van de epicontinentale Noordzee, verleent zich dan ook uitstekend tot het vastleggen van duidelijke sequenties in het sedimentarchief, terwijl dat voor de diepere zee minder het geval is (rand: meer sedimentaanvoer, duidelijke veranderingen in type faciës). In de kleien van de formaties van Kortrijk en Tielt zijn zes derdeordesequenties identificeerbaar (Steurbaut, 1998; Vandenberghe et al., 2004). Dit is gebaseerd op

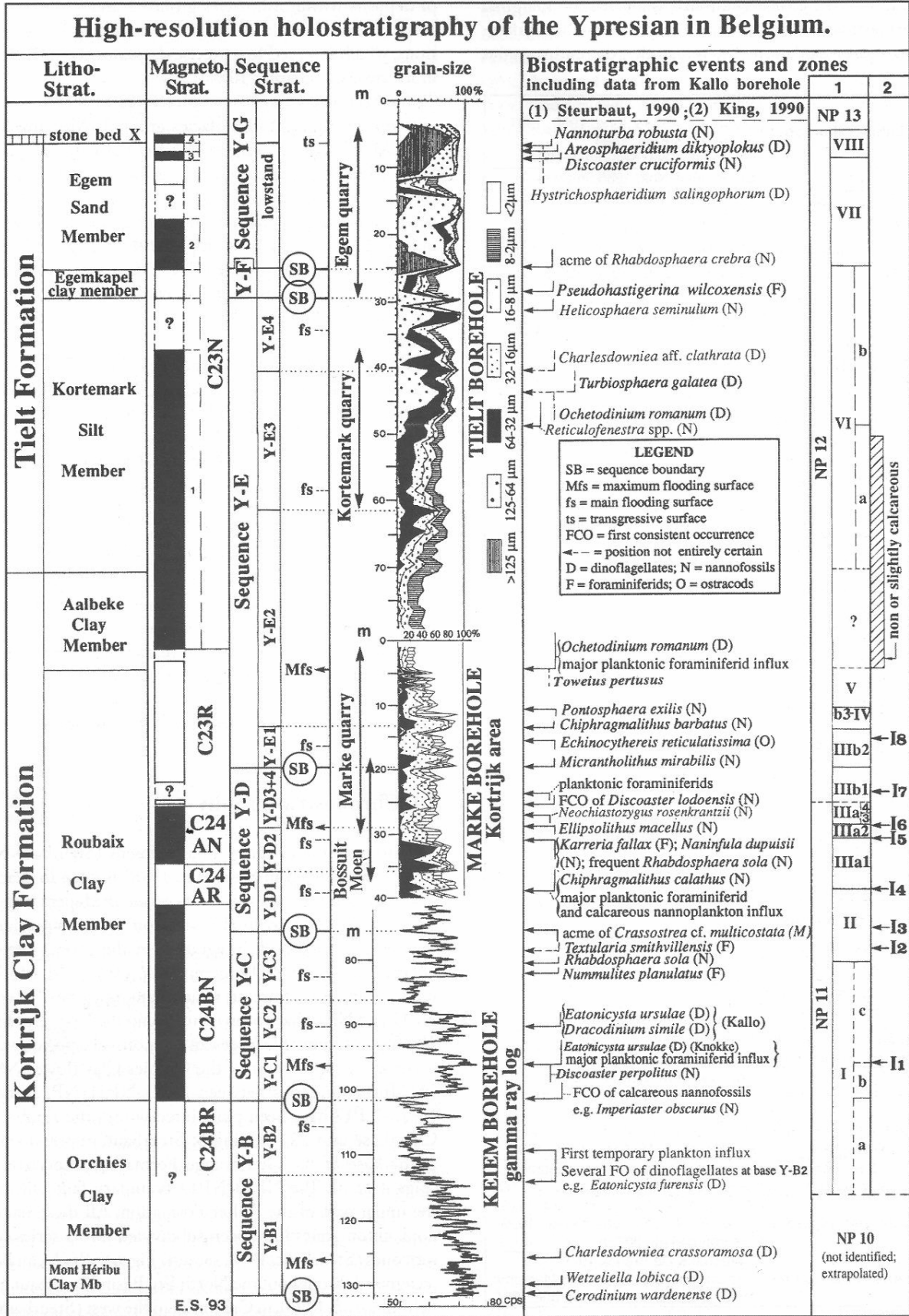
veranderingen in korrelgroottetrends (via gammastralenlogs), waarbij de sequentiegrenzen de zones zijn waar de korrelgroottetrends veranderen van richting (Vandenberghé et al., 1998; 2004). Binnen die zes komen ook nog hogere orde sequenties voor, maar de aard ervan is minder eenduidig (Steurbaut, 1998). De meer zandige faciës van het Boven-Ypresiaan zijn onder te brengen in een twee extra sequenties (Vandenberghé et al., 2004). De Zanden van Egem wordt daarbij geïnterpreteerd als een lowstand fill, met daarboven de transgressieve glauconietzanden van Mont Panisel en Hyon, en een main flooding surface in de klei van het lid van Merelbeke. Daarop ligt de tweede sequentie, met een main flooding surface in de kleien van het lid van Pittem. De insnijding van de Zanden van Brussel en Vlierzele vertegenwoordigt een belangrijke sequentiegrens. De opvulling van die insnijding is een lowstand afzetting, zijnde de Zanden van Vlierzele en het Aalterbrugge complex. De Zanden van Aalter ten slotte representeren het transgressieve en highstand stadium hierop volgend (Vandenberghé et al., 2004).



Figuur 3.3: geïntegreerde stratigrafie van het Ypresiaan van Noord-België, met de huidige toegankelijke secties aangeduid (Steurbaut, 2006).



Figuur 3.4: stratigrafische architectuur van het Ypresiaan en een deel van het Lutetiaan van het Belgische Bekken, met bijhorende legende (Vandenberghhe et al., 2004; 2005)



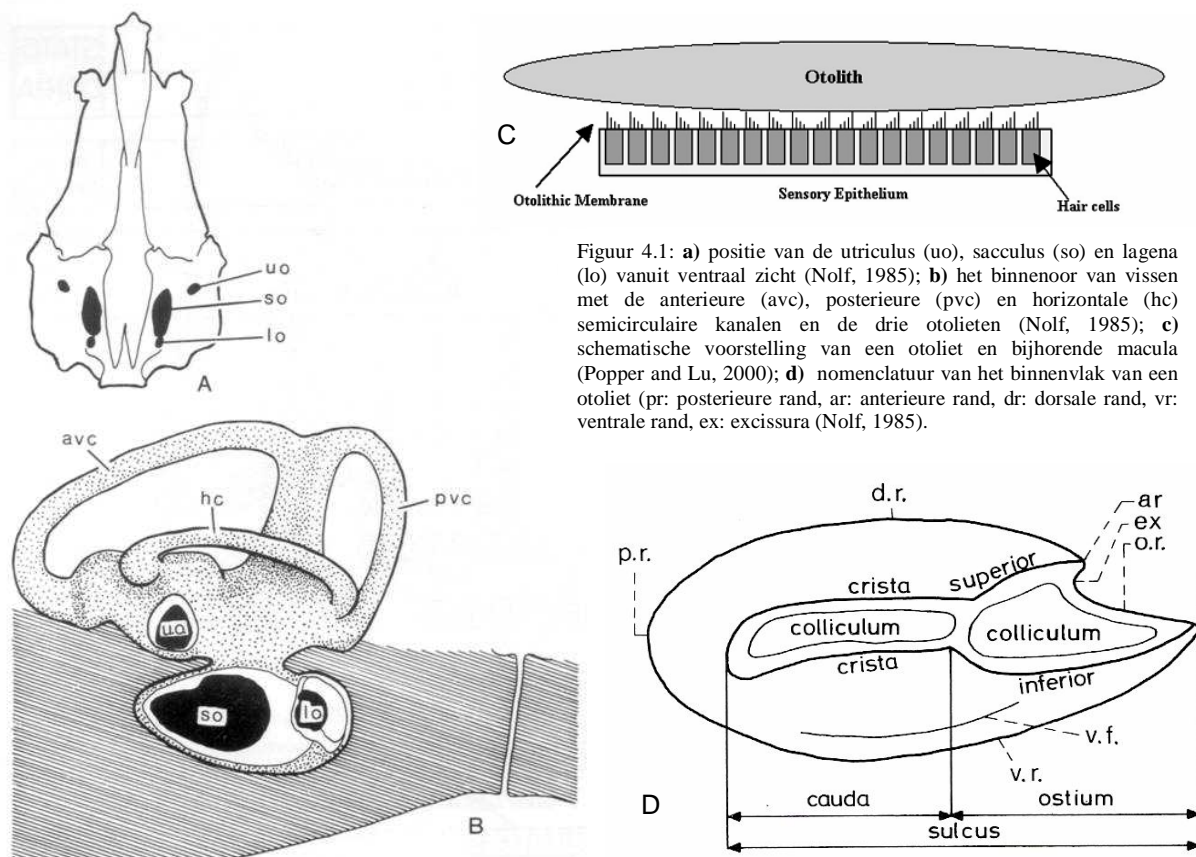
Figuur 3.5: hoge-resolutie holostratigrafie van het Ypresiaan sensu stricto volgens Steurbaut (1998; 2006).

4. OTOLIETEN ALS KLIMAATSPROXY

4.1. Otolieten...

4.1.1. Anatomie en functie

Vis-otolieten zijn biogene kalkconcreties die zich in het binnenoor van vissen bevinden. Kalkige kristallen (vaak otolieten, maar bijvoorbeeld ook statoconia in warmbloedige viervoeters) komen evenwel voor in alle vertebraten (Nolf, 1985). Bij vissen bevindt het binnenoor zich in de 'gehoorscapsule' van de schedel (Figuur 4.1a). Het is samengesteld uit drie semicirculaire kanalen met een aantal verdikkingen (ampullae) waaraan drie kamers zijn verbonden (Figuur 4.1b). In die kamers bevindt zich telkens een otoliet en sensorepitheel (macula). De grootste otoliet is de sacculus of saggitale otoliet; de lagena (of asteriscus) ligt dicht bij de sacculus; de utriculus (of lapillus) ligt dicht bij de semicirculaire kanalen. Het sensorepitheel staat in verbinding met de achtste craniale zenuw. De holtes van de kamers zijn verder opgevuld met endolymfatische vloeistof (Nolf, 1985; Popper and Lu, 2000).



Figuur 4.1: **a**) positie van de utriculus (uo), sacculus (so) en lagena (lo) vanuit ventraal zicht (Nolf, 1985); **b**) het binnenoor van vissen met de anterieure (avc), posterieure (pvc) en horizontale (hc) semicirculaire kanalen en de drie otolieten (Nolf, 1985); **c**) schematische voorstelling van een otoliet en bijhorende macula (Popper and Lu, 2000); **d**) nomenclatuur van het binnenvlak van een otoliet (pr: posterieure rand, ar: anterieure rand, dr: dorsale rand, vr: ventrale rand, ex: excissura (Nolf, 1985).

De werking van de otolieten berust op het gegeven dat otolieten zich eigenlijk los van alle structuren kunnen bewegen (geen of weinig contact met de macula) in de endolymfatische vloeistof. Door het verschil in densiteit tussen een otoliet en het overige van het lichaam van een vis, kan deze daardoor relatief ten opzichte van het sensorepitheel bewegen. Die relatieve bewegingen doen dan haarcellen op het sensorepitheel ombuigen, en sturen de mate daarvan door naar de craniale zenuw en zo de hersenen (Popper and Lu, 2000; Figuur 4.1c). Op die manier kan een vis omgaan met zwaartekracht, en zich een idee vormen van versnellingsbewegingen. Dit zijn dan ook meteen enkele van de belangrijkste functies van otolieten (Nolf, 1985). De andere hoofdfunctie is de receptie van geluid. Het is immers aangetoond dat de beschadiging van otolieten vissen doof maakt (Panella, 1980a). Hier geldt het zelfde werkingsprincipe (ombuigen van de haarcellen), maar hierbij moet worden opgemerkt dat dit niet de enige methode van geluidsreceptie is in vissen. Zo speelt de laterale lijn van vissen een rol, alsook de terugkaatsing van geluid via de gasblaas (Popper and Lu, 2000).

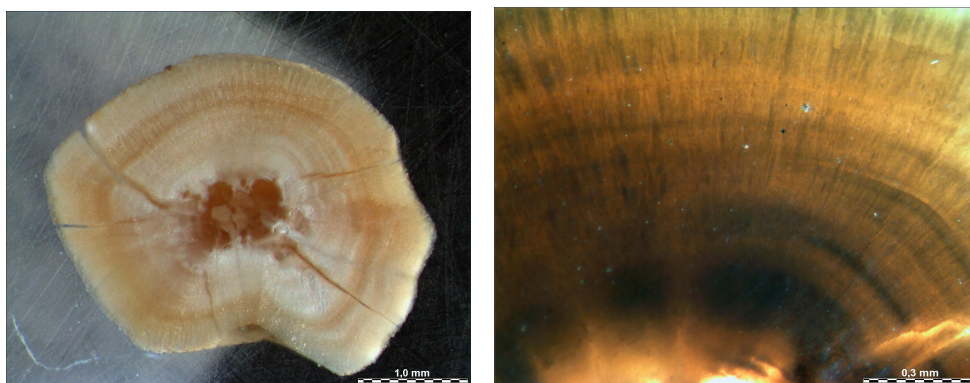
Figuur 4.1d (Nolf, 1985) geeft tot slot de belangrijkste anatomische termen van een otoliet weer. De sulcus is een holle groef en ligt steeds mediaal (naar het midden van de vis toe), volgens de posterior-anterior as. Deze as komt overeen met de zwemzin van de vis, en definieert ook de anterieure en posterieure zijde van een otoliet. De sulcus is verder opgedeeld in twee delen, of collicula: de cauda en het ostium. De excissura is de inkeping waar de sulcus in de anterieure zijde uitmondt. De rug en buik van de vis definiëren de dorsale respectievelijk de ventrale zijde van een otoliet. De zijde naar buiten toe heet de laterale zijde (tegenover mediaal). Bij een sectie doorheen een otoliet, is de distaal de rand van de sectie en proximaal de kern.

4.1.2. Samenstelling en structuur

Otolieten zijn opgebouwd uit radiale langwerpige aragonietkristallen (Panella, 1980a) en organisch materiaal (vb. Nolf, 1985). Uitzonderlijk kunnen de kristallen ook uit vateriet of calciet bestaan (vb. Falini et al., 2005; zie paragraaf 6.5). Het organisch materiaal, otoline genoemd, bevat zowel wateroplosbare als niet-wateroplosbare constituenten. Het percentage otoline in een otoliet is laag en kan variëren van 0,2 tot 10 % (Nolf, 1985). Glycoproteïnes en proteoglycanen zijn de belangrijkste groep van aanwezige macromoleculen (Söllner et al., 2003), samen met collageen (Campana, 1999; Tohse et al., 2008). Deze moleculen blijken belangrijk voor de calcificatie van de otolieten. Het organisch materiaal dient als framework voor kalkaangroei (Tohse et al., 2008), en anderzijds lijken specifieke organische moleculen

die kalkaangroei te sturen (Colantonio et al., 2009), al of niet op zijn beurt gestuurd door de mate van expressie van specifieke genen (vb. *starmaker*, Söllner et al., 2003). Aangezien de otoliet slechts in contact is met de endolymfatische vloeistof, zijn de samenstelling daarvan, en de pH en de temperatuur ervan, eveneens regulerende factoren.

De interne structuur van otolieten is zo, dat de aragonietkristallen gerangschikt zijn in concentrische laagjes met afwisselend opake en meer doorschijnende hyaline (donker bij reflecterend licht, licht bij doorvallend licht) zones (Figuur 4.2). Dit wegens een veranderlijke ratio van otoline ten opzichte van aragoniet, met in de winter minimale calcificatie (Panella, 1980a). Idealiter komen de opake laagjes overeen meteen met een periode van snelle groei en hoge temperaturen (lente en zomer), en de translucente laagjes met een periode van gereduceerde groei en koude temperaturen (Nolf, 1985, Van Neer et al., 2004). De groeiringen weerspiegelen dan ook seizoenen, en een set van een opake en translucente groeiringen een jaar. Het centrum van de otoliet wordt de kernel genoemd, en vormt samen met de eerste opake ring de nucleus (Panella, 1980).



Figuur 4.2: saggitale sectie van een *Glyptothidium polli* van de Formatie van Mons-en-Pévèle (Montroeil-au-Bois); links, de hele otoliet onder reflecterend licht; rechts een detailopname onder doorvallend licht (genomen met een Zeiss Discovery V.8 optische stereomicroscop van de KULeuven).

Opmerkelijk aan otolieten is echter, dat niet alleen seizoenale patronen maar ook tidale, dagelijkse en zelfs intra-dagelijkse patronen in het aragoniet zijn vastgelegd (Panella, 1980). Tidale patronen zijn vooral merkbaar bij vissen die hun voeding synchroniseren met de getijden; dagelijkse groeipatronen bij vissen die een uitgesproken dagnachtritme hebben (Panella, 1980). Recentelijk rapporteerden Dauphin and Dufour (2008) met behulp van Atomic Force Microscopy 32 nm dikke lijntjes, die gemiddeld gedurende een kwartier moeten zijn afgezet! Jammer genoeg blijft deze nanowereld tot nog toe ontoegankelijk voor zowel het meten van elementsamenstellingen als isotopenratio's.

In otolieten van tropische vissen komen omwille van een gebrek aan uitgesproken seizoenaliteit geen winterzones voor, maar er zijn wel annuli aanwezig – hoewel die niet met reële jaren overeen komen (Panella, 1980a). Seizoenaliteit is immers niet helemaal afwezig: natte en droge seizoenen en de invloed van seizoenale hurricanes met eventuele input van oppervlaktewater in bekkens kunnen effecten hebben op de groei van vissen (Henderson, 2006), en dus ook op de groeipatronen van hun otolieten.

Het is gepast om hierbij te vermelden dat de interpretatie van de groeiringen minder eenduidig is dan wat theoretisch wordt verondersteld. Hierover zijn al talloze artikels verschenen, vooral omdat de groeiringen gebruikt worden in de visserij voor het nagaan van de leeftijd van gevangen vispopulaties (vb. Campana, 2001). Er zijn echter veel complicaties. Vooreerst hebben een heel aantal factoren een invloed op het opaak-hyaline patroon: de duur van de fotoperiode, voeding, reproductie, metabolische activiteit en temperatuur (hoewel zonder een duidelijk verband, Pilling et al., 2007). De literatuur is bovendien vaak tegenstrijdig over de invloed van dergelijke factoren (Høie et al., 2009). Er blijken ook belangrijke geografische verschillen te bestaan: zo is er een verschil tot ongeveer vijf maanden qua tijdstip van aanmaak van translucente zones, tussen otolieten van recente vissen uit de Barentz Zee en de Noordzee (Høie et al., 2009). Van Neer et al. (2004) tot slot, tonen aan dat het randtype carbonaat (opaak of hyalien), dat als schatting zou kunnen dienen voor de periode waarin vissen werden gevangen, heel variabel is, van jaar tot jaar en afhankelijk van de leeftijd van de vissen. Slechts een grote hoeveelheid gegevens en vervolgens het opstellen van frequentiediagrammen, kunnen hiervan een beter beeld scheppen.

Dit alles kan gevolgen hebben bij de interpretatie van isotopendata. Bij een onduidelijk seizoenaal isotopenpatroon lijkt het een logische stap om dit te gaan vergelijken met de groeiringenstructuur van de otoliet in kwestie, om zo een zicht te krijgen op de evolutie van de temperatuur tijdens de verschillende seizoenen. Omwille van deze redenen, en omwille van het feit dat er op otolietenassociaties uit het fossiel archief nog nauwelijks groeibandpatronen zijn bestudeerd, kan deze methode verkeerde interpretaties opleveren. Het omgekeerde, namelijk dat stabiele isotopendata bruikbaar zijn voor het schatten van de timing van de groeiringen (Høie and Folkvord., 2006), alsook de leeftijd van vissen (Sei, 2005), is wel aangetoond.

4.2. ...als proxy

De specifieke vorm, structuur en samenstelling van otolieten maakt ze bijzonder geschikt als proxy, en zelfs multiproxy (vb. Nolf, 1995; Campana, 1999). Het grote voordeel voor elementen- en stabiele isotopenstudies is dat ze acellulair zijn, en dus enkel in contact staan met de endolymfatische vloeistof (zie paragraaf 4.1.1). Daardoor zijn ze metabolisch inert, en zal de chemische signatuur gedurende het leven van de vis behouden blijven (Ghosh et al., 2007). Panella (1980a) maakt echter wel melding van gevallen van gedeeltelijke resorptie van otolieten; ze zouden zelfs deel uitmaken van het calciummetabolisme van vissen. Een ander voordeel is hun relatieve grootte (ten opzichte van bv. foraminiferen en kalkig nannoplankton), en de lage verhouding van hun oppervlakte ten opzichte van hun volume, waardoor ze minder kwetsbaar zijn voor post-diagenetische omzetting. Nog andere (algemene) pluspunten zijn hun trage evolutie, waardoor het actualistische principe van toepassing is tot vrij ver terug in de tijd, en hun abundantie in veel sedimenten (paragraaf 5.1 gaat daar dieper op in).

De volgende eigenschappen van otolieten dienden reeds als proxy:

- ▶ otolieten in associatieverband (Nolf, 1995): als proxy voor paleobathymetrie, paleoecologie, paleoklimatologie en paleobiogeografie
- ▶ vormvariaties van otolieten: proxy voor geografische genetische differentiatie (vb. Reichenbacher et al., 2009)
- ▶ incrementen: leeftijd (cfr. Campana, 2001) en seizoen van sterfte (of vangst) van vissen (vb. Van Neer et al., 2004), en de groeihistoriek (vb. Fablet et al., 2009)
- ▶ chemische elementen (Campana, 1999): identificatie van visstocks, migratiehistoriek, omgevingshistoriek, verontreiniging en de leeftijd van vissen
- ▶ stabiele isotopen: proxy voor paleoklimatologie (vb. Price et al., 2009), habitatreconstructie (Dufour et al., 2008), migraties (Huxham et al., 2007) en de leeftijd van vissen (vb. Sei, 2005)
- ▶ radiogene isotopen (Campana, 1999): leeftijd van vissen en datering van (erg recente: ca. 40 jaar oud) otolieten.

De studie van stabiele isotopen op fossiele otolieten is slechts recente materie, maar wel in volle ontwikkeling (zie volgende paragraaf). Het is immers algemeen aanvaard dat de verhouding $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ in evenwicht precipiteert met de temperatuur van het omgevingswater; terwijl de verhouding van $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ iets kan leren over het metabolisme en de voedingswijze

van de vissen waarvan de otolieten afkomstig zijn (vb. Patterson et al., 1993; Thorrold et al., 1997). Omwille van de redenen hoger in deze paragraaf verlenen otolieten zich dan ook als uitstekende kandidaten om te dienen als proxy voor paleotemperaturen van zowel het continent (meren) als de zeeën en oceanen, tot ver terug in de tijd (vb. Price et al., 2009), en van zowel gemiddelde temperaturen (bulkanalyse) als seizoenale temperaturen (analyse van de incrementen). Het is deze specifieke proxy die van toepassing is op het hier gepresenteerde thesisonderzoek.

Voor een goed begrip is het nuttig hier dieper in te gaan op de reden waarom de verhoudingen van de stabiele isotopen van zuurstof en koolstof zo interessant zijn. Het lichtste isotoop van zuurstof, ^{16}O , is het meest voorkomende (99,763 %), maar toch is 0,1995 % van de zuurstofatomen vertegenwoordigd door het zwaardere isotoop ^{18}O (Hoefs, 1997). De verhouding tussen deze isotopen is veranderlijk door isotoopuitwisselingsreacties en afhankelijk van kinetische effecten, omdat de thermodynamische eigenschappen van de moleculen afhangen van de massa van de isotopen waaruit ze bestaan (Bickert, 2000). Dit proces heet fractionatie. Bijgevolg leren de verschillende verhoudingen iets over de mechanismen die deze hebben veroorzaakt. De fractionatie van het omgevingswater van een vis naar een geprecipiteerd aragoniet van een otoliet van die vis, is een functie van zowel de temperatuur als de isotopensamenstelling van het omgevingswater waarin de vis leefde (vb. Bickert, 2000).

Om bijgevolg op basis van een zuurstofisotopenverhouding van een otoliet iets te kunnen zeggen over de temperatuur waarbij het aragoniet is afgezet, is het de uitdaging om de bijdrage van de isotopensamenstelling van het oceaانwater te schatten (zie ook paragraaf 9.1.1). Die is op zijn beurt afhankelijk van meerdere factoren. Omdat door evaporatie verdampt oceaانwater aangerijkt is in ^{16}O (omdat dit isotoop het lichtste is), is neerslag isotopisch lichter, en daardoor ook zoetwater. Dit effect geldt des te sterker naar de polen toe; ijskappen zijn dus ook isotopisch lichter, en de aanwezigheid en grootte van globale continentale ijsvolumes bepaalt daardoor de mate waarin oceaانwater uitgelooft is aan ^{16}O en bijgevolg relatief aangerijkt in ^{18}O (vb. Hoefs, 1997). Het geldt echter niet voor zee-ijs, omdat dit niet gevormd is door neerslag, maar door het rechtstreeks bevrozen van het oceaانwater. Een tweede factor is de saliniteit van het omgevingswater van een mariene vis. Die is een functie van de evaporatie in een bekken (aanrijking in ^{18}O , hoge saliniteit) versus de precipitatie en rivierinput van isotopisch lichter water (aanrijking in ^{16}O , lage saliniteit) (Maslin and Swan, 2005). De saliniteit kan vervolgens samen met de temperatuur gezien worden als een derde factor: de densiteit van de oceaانwatermassa (Maslin and Swan, 2005).

Een hoge densiteit is het gevolg van een lage temperatuur en/of hoge saliniteit, en komt overeen met een aanrijking in ^{18}O (Maslin and Swan, 2005). Het omgekeerde is van toepassing voor een lage densiteit.

Indien bovenstaande factoren gekend zijn, kan de precipitatitemperatuur van een marien carbonaat worden achterhaald; waarbij lage ^{18}O -waarden overeenkomen met hoge temperaturen, en hoge ^{18}O -waarden met lage temperaturen. Op Figuur 4.3 is een samenvatting van alle factoren en hun effecten weergegeven.

| Environmental Factor | Increase | Decrease |
|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Temperature | $\delta^{18}\text{O}$ decrease | $\delta^{18}\text{O}$ increase |
| Global Ice Volume | $\delta^{18}\text{O}$ increase | $\delta^{18}\text{O}$ decrease |
| Salinity* | $\delta^{18}\text{O}$ increase | $\delta^{18}\text{O}$ decrease |
| Density* | $\delta^{18}\text{O}$ increase | $\delta^{18}\text{O}$ decrease |

Figuur 4.3: overzicht van de verschillende factoren die een invloed hebben op mariene zuurstofisotopen. Zie tekst voor meer uitleg. De sterretjes duiden erop dat het overeenkomstige effect andersom is bij oceaanwater onder zee-ijs (Maslin and Swan, 2005).

Voor de stabiele isotopen van koolstof (^{12}C : 98,89 %; ^{13}C : 1,11 %, Hoefs, 1997) is er een verschil in fractionatie ten opzichte van zuurstof. Vooreerst heeft de temperatuur slechts een zeer klein effect op de fractionatie tussen de opgeloste anorganische koolstof (DIC) van het zeewater, en het carbonaat van otolieten (ca. 0,035 ‰ per graad Celcius, Bickert, 2000). Daarnaast precipiteert in de meeste gevallen het carbonaat ook nog eens niet in evenwicht met het DIC (vb. Bickert, 2000). Dit tengevolge van vitale effecten van de vissen op de fractionatie. Dit maakt het moeilijk om een goed onderbouwde interpretatie te maken van koolstofisotopenwaardes. Weiner and Dove (2003) onderscheiden twee mogelijke vitale effecten: een kinetisch effect, dat vooral voorkomt bij precipitaten die snel zijn afgezet bij extreme temperaturen, en een taxonomisch effect. Dit laatste effect duidt eigenlijk op de verschillen tussen verschillende taxa in het al of niet in evenwicht precipiteren van carbonaten, en is in feite een metabolisch effect inherent aan sommige taxa. Algemeen wordt bij otolieten aanvaard dat ca. 10-30 % van de koolstof afkomstig is van metabolisch koolstof dat zich in het bloedplasma en bijgevolg de endolymfatische vloeistof bevindt (Campana, 1999). Daardoor kunnen koolstofisotopendata als proxy dienen voor de sterkte van het metabolisme, of voor veranderingen in dieet van vissen. Meer informatie omtrent stabiele isotopen is te vinden in hoofdstukken 8 en 9, en bij de interpretatie van de gegevens (Deel C).

Uit het bovenstaande volgt dat zuurstof-, en in mindere mate ook koolstofisotopen, goede schatters kunnen zijn voor het leefmilieu van vissen. Er zijn bovendien reeds aanwijzingen dat dit ook effectief zo is, omdat stabiele isotopendata van otolieten overeen lijken te komen met deze van foraminiferen en bivalven (De Man, 2006) en ammonieten (Price et al., 2009).

4.3. Situering in het onderzoeksveld

4.3.1. Stabiele isotopen op otolieten

Het analyseren van stabiele isotopen van otolieten gaat reeds terug tot 1967, toen Devereux voor het eerst bevond dat de zuurstofisotopen van het carbonaat van otolieten in evenwicht precipiteren met het omgevingswater, volgens de temperatuur (Iacumin et al., 1992). Het onderzoek kwam echter pas goed op gang tijdens de jaren '90 van de vorige eeuw (vb. Kalish, 1991; Iacumin et al., 1992; Patterson et al., 1993; Thorrold et al., 1997), met onder meer het opstellen van de eerste (paleo)temperatuursvergelijkingen. Gedurende het voorbije decennium dan, werden de meer theoretische bevindingen van voorheen toegepast voor verschillende doeleinden (zie vorige paragraaf). Dit zowel op recente als fossiele otolieten. Momenteel is de materie in volle expansie, met een steeds toenemende aandacht om ook otolieten als een belangrijke proxy voor paleoklimatologie te aanzien, terwijl dat tot voor kort nog niet het geval was (vb. Lea, 2007, table 1).

4.3.2. Isotopenstudies op otolieten van de Noord-Atlantische regio

De Man (2006) geeft een overzicht van Paleogene stabiele isotopenstudies in het zuidelijke Noordzeebekken en andere wereldwijde ondiepe en diepzeesettings. Het Noordzeebekken valt daarbij op door zijn schaarste aan stabiele isotopengegevens. Een reden daarvoor zijn niet-continue en vaak ontkalkte secties, die zo'n onderzoek bemoeilijken. Het onderzoek dat reeds uitgevoerd is, concentreerde zich vooral op mollusken en foraminiferen.

Qua fossiele otolieten zijn tot op vandaag van de noordoostelijke Atlantische regio de volgende studies bekend. Een thesisstudent van de VUB heeft in 1992 bulkstalen van Miocene otolieten van Bretagne en het Belgische Bekken geanalyseerd op beperkte schaal (Ooghe, 1992, ongepubliceerde thesis). Grimes et al. (2003) gebruiken onder andere otolieten van het Hampshire Bekken voor een multiproxyonderzoek van Laat-Eocene afzettingen. De Man et al. (2004) en De Man (2006) presenteren stabiele isotopengegevens van otolieten van het Midden-Eoceen tot Laat-Oligoceen, eveneens in multiproxyverband. Van het Jura van Zuid-Engeland tot slot, zijn twee studies gekend (Patterson, 1999; Price et al., 2009).

Qua recente otolieten van de noordoostelijke Atlantische regio zijn ook reeds enkele stabiele isotopenstudies bekend, maar dan wel van gekweekte vissen die normaal in dit gebied leven (vb. Høie and Folkvord., 2006). Dit echter niet van leden van de families Congridae en Ophidiidae (die voor deze thesis zijn gebruikt, zie Hoofdstuk 5).

► DOELSTELLINGEN VAN DEZE THESIS

In de vorige hoofdstukken kwam een uitgebreide algemene omkadering van het onderzoek hier in deze thesis naar voor gebracht, aan bod. Op dit punt is het gepast de hoofddoelstellingen van dit onderzoek te formuleren. Zoals vermeld in Hoofdstuk 1 vindt deze studie zijn oorsprong in de belangstelling voor het gedrag van het klimaat in een broeikaswereld, waarvan het Paleogeen met zijn hyperthermalen en EECO een ideaal voorbeeld is; alsook in de belangstelling voor het uitbouwen van nieuwe, meer verfijnde paleoklimaatproxies die een wetenschappelijke meerwaarde leveren. De doelstellingen van deze thesis zijn dan ook om:

► het stabiele isotopenonderzoek op fossiele otolieten verder te helpen uitwerken tot een volwaardige paleoklimaatproxy. Dit door het uittesten en evalueren van de methode in tijd en ruimte. De staalname (Hoofdstuk 5) omvat dan ook otolieten uit temporeel verschillende sedimenten, alsook uit laterale equivalenten van sedimenten, en concentreert zich op soorten afkomstig uit twee families. Een bijkomend element is het nauwkeurig beschrijven van de randvoorwaarden van de proxy; deze thesistekst poogt daarin te voorzien.

► de methode voor het eerst toe te passen op sedimenten van het Vroeg-Eoceen, omstreeks het EECO, van het zuidelijke Noordzeebekken, en zo de gegevens van De Man (2006) uit te breiden naar het verleden toe. Er zijn bovendien nauwelijks isotopendata afkomstig van andere proxies bekend van die periode en regio. Concreet is het de bedoeling om de gemiddelde jaartemperaturen en de mate van seizoenaliteit van deze zeer warme periode in het verleden van de Aarde, te reconstrueren. Daarbij steunt deze thesis wel op studies uit andere tijdsperiodes dan het Vroeg-Eoceen (vb. De Man (2006)); op andere gebieden (vb. Gulf Coast, Ivany et al., 2004b); of studies op andere proxies (vb. Andreasson and Schmitz, 1996) voor het maken van interpretaties.

► te voorzien in een (Nederlandstalige) basistekst over het onderzoek van stabiele isotopen op otolieten, met nadruk op de methodiek (Deel B).

DEEL B

UITGEBREIDE METHODIEK VAN HET ONDERZOEK

- ▶ STAALNAME
- ▶ PRESERVATIE VAN DE STALEN EN STAALVOORBEREIDING
- ▶ MICROBORINGEN
- ▶ STABIELE ISOTOPENANALYSES
- ▶ BEREKENING VAN DE KLIMAATSPARAMETERS EN STATISTIEK

Dit tweede deel bestaat integraal uit een extensieve beschrijving van de gebruikte methodes voor dit thesisonderzoek. Daar zijn twee redenen voor. Eén is dat het gros van de methodes specifiek op otolieten toegepast, nog niet eerder in het Nederlands werden beschreven. Een tweede is dat een aantal aspecten van de methodiek belangrijke implicaties hebben voor de interpretatie van de resultaten. De tekst in dit deel geeft vooreerst uitleg over de staalname en staalnamecriteria, alsook de voorbereiding van de stalen, gevolgd door enkele methodes om de bewaring en zo de kwaliteit ervan na te gaan. Daarna komt de techniek van het boren aan bod, vervolgens de belangrijkste principes van stabiele isotopenanalyses, en als laatste de manier waarop de klimaatparameters in Deel C gepresenteerd, werden berekend.

5. STAALNAME (collectie KBIN, Brussel)

5.1. Staalnamecriteria

5.1.1. Keuze van de gebruikte taxa

► De keuze voor vissen met een benthische of benthopelagische levenswijze

Om nauwkeurige klimaatsreconstructies te kunnen realiseren, is het van belang proxies te ontwikkelen met een hoge mate van betrouwbaarheid. Dit houdt in dat het aantal assumpties laag moet zijn en tegelijkertijd de mate van nauwkeurigheid hoog. Weloverwogen staalnamecriteria dragen daartoe bij. Een hoofddoel van deze thesis is om een nauwgezette temperatuursreconstructie te maken van het Vroeg-Ypresiaan, op basis van zuurstofisotopengegevens van otolieten uit sedimenten van het zuidelijke Noordzeebekken. Meer exact gaat het om een temperatuursreconstructie van het omgevingswater waarin de vissen waarvan de otolieten afkomstig zijn, leefden. Het is dan ook wenselijk om otolieten te selecteren van vissen die zoveel mogelijk hun habitat beperkten tot één enkele watermassa. De onderste watermassa van een zee of oceaan, net boven de bodem en weg van de kust, geniet dan de voorkeur. In het geval van de zuidelijke Noordzee komt deze watermassa overeen met de sublittorale (distale) neritische zone (voor een definitie van deze termen zie Pinet (2000), p. 287). Deze zone is stabielere dan bovenliggende watermassa's, door de afwezigheid van (storm)golfwerking, en ondervindt minder invloed van eventuele uitbreidingen van zoetwaterpluimen, die door hun lichtere samenstelling bovenop meer salien zeewater drijven. Variaties in zoet water veranderen immers de $\delta^{18}\text{O}_w$ van het leefwater van vissen, en dus ook de $\delta^{18}\text{O}_c$ van het carbonaat waarmee ze hun otolieten opbouwen. Een bijkomende voordelige eigenschap van de onderste watermassa is dat deze niet aan dagelijkse variaties in temperatuur onderhevig is, maar slechts aan lagere frequentieschommelingen, zijnde seizoensale en seculiere temperatuursvariaties. Benthische of benthopelagische taxa die weinig of niet migreren, zijn dan ook geschikt om (eventueel subtiele) veranderingen in bodemwatertemperatuur vast te leggen in hun otolieten – meer geschikt dan taxa die zich gedurende hun leven voortbewegen in verschillende watermassa's (De Man, 2006).

Bij de keuze van dergelijke geschikte taxa geldt natuurlijk de mate waarin het actualistische principe naar het Eoceen toe uitbreidbaar is, als een beperkende factor. De evolutie van de visfauna's bevond zich in het Eoceen al in een dergelijke fase, dat veel van de vandaag de dag voorkomende genera ook toen al voorkwamen, naast een minderheid aan genera die nu zijn uitgestorven. Dit in contrast met alle oudere periodes en tijdvakken: in het Paleoceen is de bulk van de toen levende genera nu uitgestorven, en fossiele vissen die ouder zijn dan het

Krijt vertonen zelfs geen verwantschappen met recente vissen op familieniveau (Nolf, 1985). Uit het bovenstaande volgt, dat Eocene otolieten afkomstig van tot op vandaag bestaande genera met een benthische of benthopelagische levenswijze, een goede keuze vormen om als klimaatsproxy te dienen. Toch zitten in deze redenering enkele assumpties vervat. Indien de levenswijze van deze recente genera gekend is, dan geldt enerzijds de assumptie dat genera een zelfde levenswijze doorheen de tijd hebben aanhouden, tientallen miljoenen jaren lang (het daarnet vermelde actualistische principe). Indien het specifiek gaat om een temperatuursproxy, zoals in de opbouw van de redenering op de vorige pagina aangebracht, geldt de assumptie dat de zeebodemwatermassa's stabiele lichamen zijn. Omwille van veranderingen in intensiteit van zoetwaterinflux, globale circulatiepatronen en trans- en regressies van de zee, kan aan deze assumptie vanaf een zekere tijdschaal nooit worden voldaan. Deze complicatie vormt een wezenlijk onderdeel van de interpretatie van de gegevens (zie Deel C).

► De keuze voor genera van de families Congridae en Ophidiidae

De taxonomie van otolietenvoorkomens in het zuidelijke Noordzeebekken is reeds intensief bestudeerd. Opeenvolgingen van associaties van het Midden-Paleoceen tot nu zijn verzameld en beschreven; in het bijzonder van het Belgische Bekken maar ook van het Bekken van Parijs en het London-Hampshire Bekken (Nolf, 1985; Nolf, 1995). De otolietencollectie van het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen (KBIN) te Brussel, met Dr. Dirk Nolf als huidige curator, is in belangrijke mate hierdoor dan ook uitgegroeid tot één van de grootste en beste gedocumenteerde wereldwijd. Het is uit deze collectie dat alle stalen gebruikt voor analyses in deze thesis genomen zijn, onder leiding van prof. Etienne Steurbaut (september 2008). De deelverzameling Vroeg-Eocene otolieten uit sedimenten van België en het Bekken van Parijs zijn beschreven in Steurbaut and Nolf (1991). Van een aantal taxa die aan het profiel uit bovenstaande paragraaf voldoen, is dan ook geweten dat er otolieten van terug te vinden zijn in Onder-Eocene sedimenten van het zuidelijke Noordzeebekken. Het gaat om genera van de families Congridae (Kaup, 1856) en Ophidiidae (Rafinesque, 1810). Beide families hebben een benthopelagische levenswijze (Smith and Heemstra, 1986): ze voeden zich met een variëteit aan invertebraten, en leven vaak in zelf geconstrueerde graafgangen of in holtes (Moyle and Cech, 2004). Congridae komen vooral voor in tropische en subtropische wateren, maar ook in gematigde wateren. Deze in gematigde wateren zijn vooral geassocieerd met rotsige zones, terwijl deze in tropische wateren meestal in zandige bodems foerageren. De diepte waarop ze voorkomen varieert van sublittoraal tot bathyaal

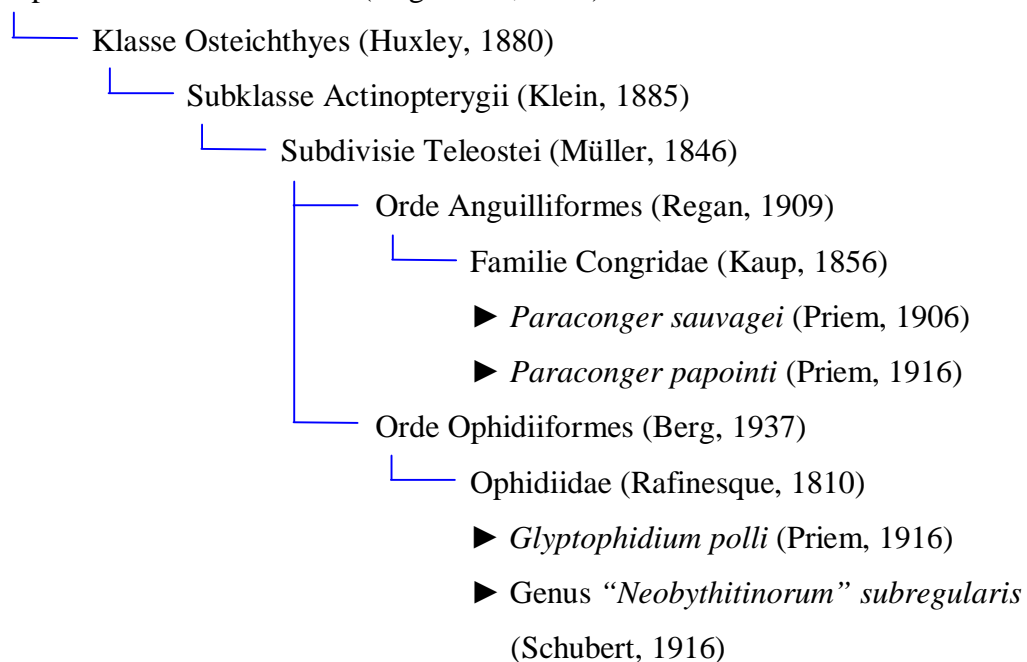
(Smith and Heemstra, 1986). Ophidiidae leven quasi uitsluitend in tropische en subtropische regio's, maar zijn aan meer diverse habitatten aangepast dan de Congridae, variërend van getijdenpoelen tot de diepste delen van de oceaan (Moyle and Cech, 2004).

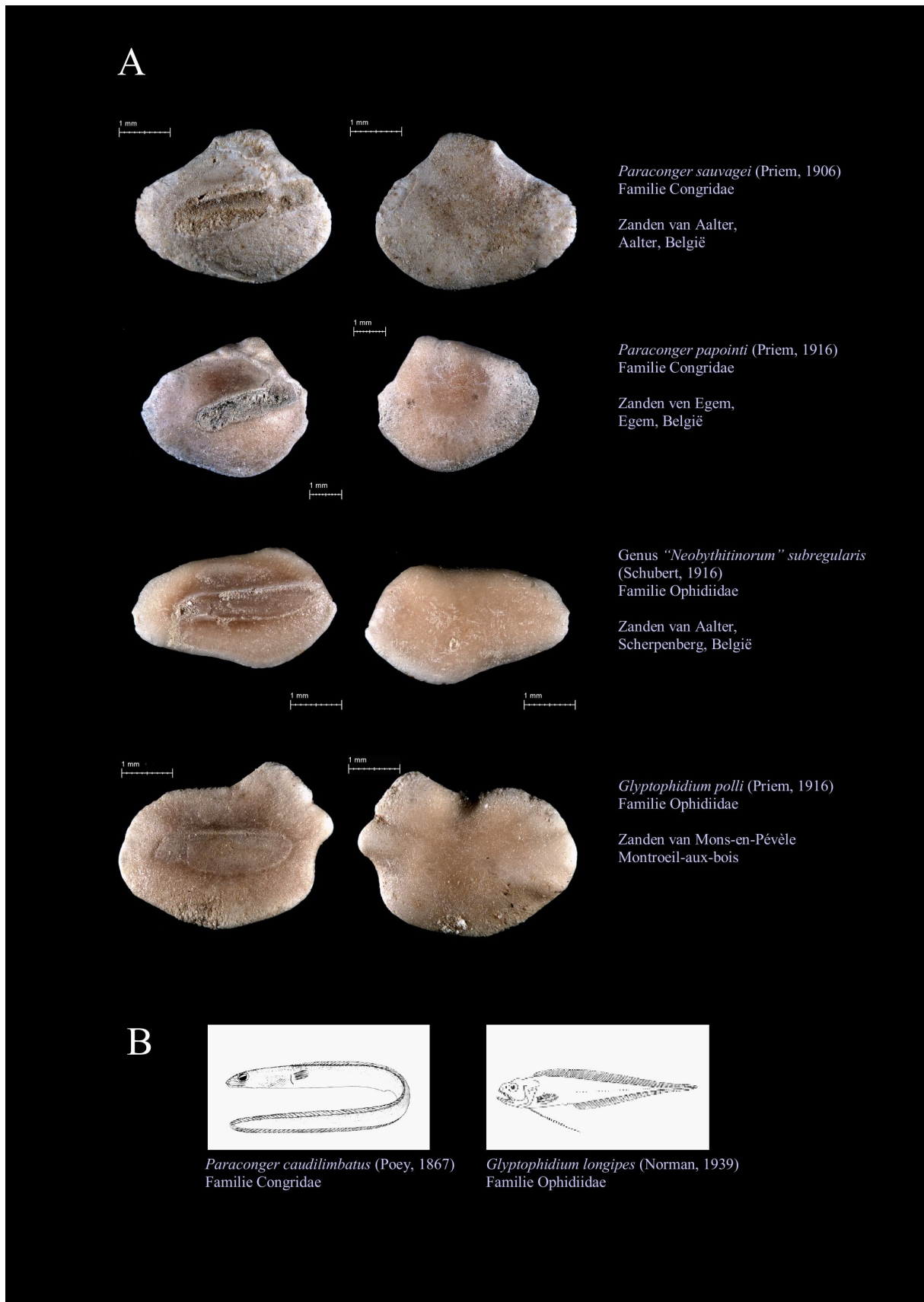
Van Congridae en Ophidiidae wordt gedacht dat ze niet of nauwelijks migreren (De Man, 2006; Ivany et al., 2000), maar dit kenmerk is niet representatief voor alle leden van deze families. Het is eerder een karakteristiek van de meeste genera binnen deze families. Zo tonen studies gebaseerd op onder meer groeipatronen van otolieten en verspreidingspatronen van leptocephali (larvaal stadium van vissen) aan dat de Europese conger-aal (*Conger conger*, Linnaeus, 1758), migreert naar een gebied buiten zijn normale leefgebied (Correia et al., 2002; O'Sullivan et al., 2003) om te paaien. Voor de genera die voor dit onderzoek geselecteerd zijn (zie volgende paragraaf), is dit echter niet het geval, onder de assumptie van het actualistische principe, en in de veronderstelling dat het uitgestorven genus "*Neobythitiorum*" evenmin migreerde.

► Taxonomie van de geselecteerde genera en soorten

Voor de consistentie van de proxy in tijd en ruimte is het aantal genera beperkt tot slechts drie, waarbij van het genus *Paraconger* twee soorten geselecteerd zijn. Foto's van de in totaal vier gekozen soorten staan weergegeven op Figuur 5.1a. Een afbeelding van een moderne vertegenwoordiger van zowel de familie Congridae als Ophidiidae is te zien op Figuur 5.1b. Onderstaand taxonomisch overzicht is gebaseerd op Nolf (1985):

Superklasse Gnathostomata (Gegenbaur, 1874)





Figuur 5.1: **A)** de vier soorten (linkse) otolieten die voor stabiele isotopenanalyses geselecteerd zijn (genomen met een Zeiss Discovery V.8 optische stereomicroscop in het Departement Aard- en Omgevingswetenschappen van de KULeuven); **B)** afbeeldingen van moderne vertegenwoordigers van de familie Congridae (bron: <http://fishbase.mnhn.fr/Photos/PicturesSummary.php?ID=2631&what=species>) en de familie Ophidiidae (bron: http://fishbase.sinica.edu.tw/images/thumbnails/gif/tn_Gllon_u0.gif).

5.2.2. Overige criteria

Naast de keuze van de soorten zelf, is bij het uitpikken van individuele otolieten uit de collectie van het KBIN, op een aantal bijkomende elementen gelet. Een eerste is de **grootte van de otolieten**. Hoe groter een otoliet, hoe ouder de vis waarvan de otoliet afkomstig is was, en hoe meer groeiringen zullen aangemaakt zijn. Hoe groter het aantal groeiringen in een otoliet, hoe hoger de statistische betrouwbaarheid van de berekening van zowel seizoenale ranges in temperatuur, als van de berekening van gemiddelde jaartemperaturen. Omwille van het ontbreken van biometrische gegevens, alsook het ontbreken van een studie van de groeiringen van de otolietenassociaties waarvan stalen zijn genomen, was het niet mogelijk om op voorhand otolieten met een gelijkaardige leeftijd uit te kiezen (bijvoorbeeld alle otolieten met een leeftijd van drie jaar of meer). Evenmin was het dus op voorhand gekend hoeveel groeiringen de geselecteerde otolieten zouden bevatten. Een enkele aanwijzing in dit verband is het tafonomische principe beschreven door Nolf (1995). Volgens dat model komt het gros van de otolieten in sedimenten terecht via opname en excretie door predaterende vissen. Dat zou impliceren dat de berekende gemiddelde leeftijd van vissen waarvan fossiele otolieten zijn verzameld, een stuk lager ligt dan dat de werkelijke gemiddelde leeftijd van een populatie moet zijn geweest. Aangezien deze tafonomische afname van de precisie van seizoenale reconstructies niet van toepassing is op mollusken en koralen, vormt dit een nadeel voor het gebruik van otolieten voor stabiele isotopenstudies ten opzichte van gastropoden, bivalven en koralen. Deze laatsten leveren vaak lange seizoenaliteitsreeksen (Buick and Ivany, 2004; Ivany et al., 2004a). Een voorafgaandelijke studie van de ouderdomsgegevens van otolietenpopulaties op genus- of soortniveau, per locatie, zou de selectie van otolieten voor isotopen- of elementenonderzoek met seizoenale resolutie een heel stuk vergemakkelijken, en eveneens bijdragen tot een meer precieze statistische omkadering.

Een tweede factor is de **bewaring van de otolieten**. Daar wordt echter in Hoofdstuk 6 verder op ingegaan. Een derde factor ten slotte, is de **abundantie** van de geselecteerde taxa in de gewenste stratigrafische niveau's. Een grote abundantie aan otolieten van een bepaalde soort afkomstig uit een zekere laag, laat toe om een meer weloverwogen staalnamekeuze te maken, zodat telkens de beter bewaarde otolieten en de grootste van een staal kunnen worden geselecteerd. Het laat ook toe om herhaaldelijke staalnames uit te voeren, zodat dezelfde populatie otolieten ook kan dienen voor ander onderzoek, zoals bijvoorbeeld het uitvoeren van elementenanalyses op otolieten als proxy voor de reconstructie van paleomilieu's (Campana, 1999). Dat moet op termijn toelaten otolieten uit te bouwen tot goed omkaderde

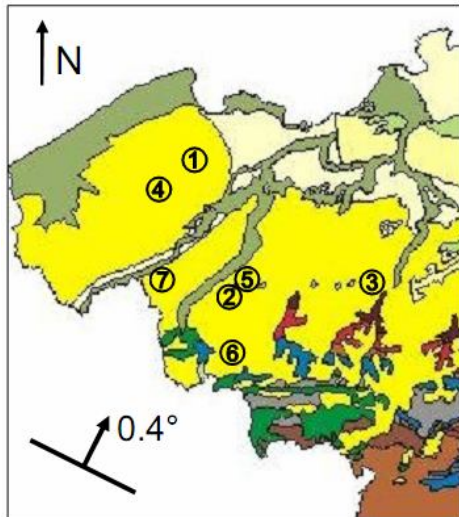
multicomponentenproxies. Voor het Ypresiaan in het Belgisch Bekken vormt de abundantie aan Congridae en Ophidiidae geen probleem, aangezien deze twee families de Belgische en Noord-Franse Onder-Eocene sedimenten domineren (Steurbaut and Nolf, 1991). Leden van beide families komen in alle Onder-Eocene lagen voor, maar de abundantie van de verschillende soorten verschilt wel van laag tot laag. Zo kenmerken de sedimenten afgezet tijdens het vroegste en middenste Ypresiaan zich door een dominantie aan *Glyptophidium polli* (cfr. de Europese acme biozone van *G. polli* (Nolf, 1985), terwijl in het Boven-Ypresiaan “*Neobythitinerum*” subregularis relatief in abundantie toeneemt (Steurbaut and Nolf, 1991).

5.2. Locaties en stratigrafische niveau's

Tabel 5.1 biedt een overzicht van welke soorten otolieten (en hun aantal) per locatie en overeenkomstig het stratigrafische niveau geselecteerd zijn voor deze thesis. In totaal zijn van zeven locaties stalen genomen, waarvan de meeste (behalve Aalter en Scherpenberg) beschreven zijn in Steurbaut and Nolf (1991). Op Figuur 5.2 staan deze locaties aangeduid op een vereenvoudigde geologische kaart van België. De zone die deze locaties omvat strekt zich uit over de provincies West- en Oost-Vlaanderen, Vlaams-Brabant (westen) en Henegouwen. Vervolgens zijn de posities van de stratigrafische niveau's aangeduid op de sequentiechart van het Onder-Eoceen in België (Figuur 5.3).

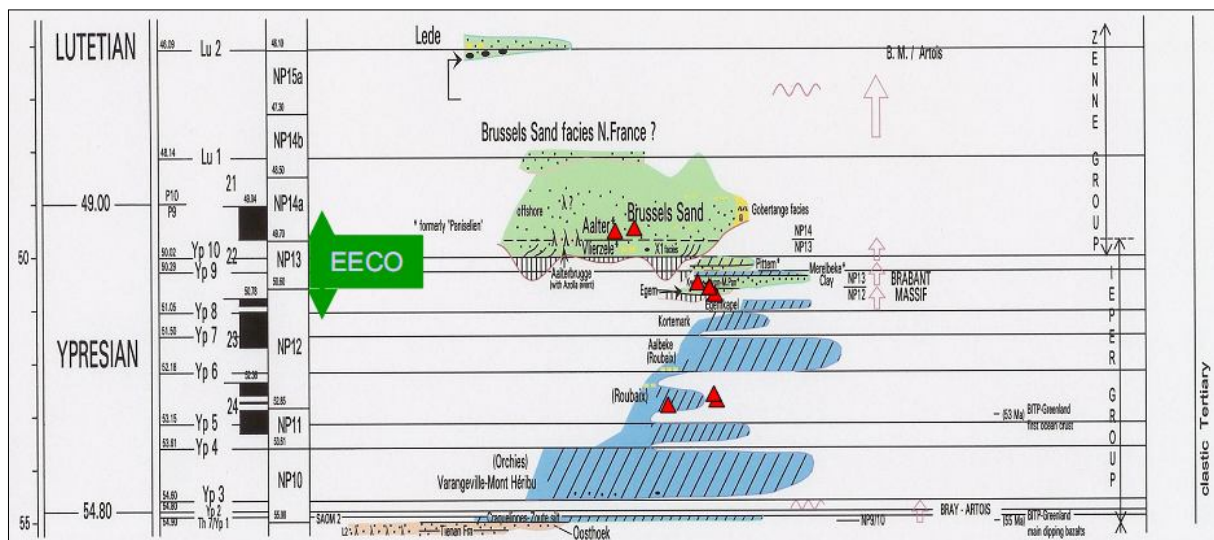
Tabel 5.1: overzicht van de locaties en stratigrafische niveau's waarvan otolieten zijn geselecteerd

| Nr. | Locatie | Stratigrafisch niveau | Soort en aantal (tot. 47) |
|-----|--------------------------------------|---|--|
| 1 | Aalter | "P2/2", Zanden van Aalter, Formatie van Aalter, Zenne Groep | <i>P. sauvagei</i> (2) |
| 2 | Scherpenberg | Zanden van Aalter, Formatie van Aalter, Zenne Groep | "N." <i>subregularis</i> (5) |
| 3 | Schepdaal (spoorweginsnijding) | Panisel Zanden, Formatie van Hyon, Ieper Groep | <i>P. papointi</i> (3) "N." <i>subregularis</i> (2) <i>G. polli</i> (1) |
| 4 | Egem (kleiput steenbakkerij Ampe) | "Falun II", Zanden van Egem, Formatie van Tielt, Ieper Groep "Falun I", Zanden van Egem, Formatie van Tielt, Ieper Groep | <i>P. papointi</i> (5) "N." <i>subregularis</i> (4) <i>P. papointi</i> (5) "N." <i>subregularis</i> (5) |
| 5 | Ronse (Waaenberghe) | "2a", Formatie van Mons-en-Pévèle, Ieper Groep | <i>G. polli</i> (5) "N." <i>subregularis</i> (3) |
| 6 | Montroeuil-aux-Bois | "23437", Formatie van Mons-en-Pévèle, Ieper Groep | <i>G. polli</i> (2) |
| 7 | Moen (Bossuyt kanaal) | "0,5 m boven weg", Klei van Roubaix, Formatie van Kortrijk, Ieper Groep | <i>G. polli</i> (5) |



Figuur 5.2: aanduiding van de locaties waarvan stalen zijn genomen op de vereenvoudigde geologische kaart van België (naar Sintubin, 2004). De kleuren zijn conventioneel waarbij de gele kleur Eocene afzettingen voorstelt. De helling en strekking van deze Eocene lagen zijn linksonder weergegeven. 1) Aalter, 2) Scherpenberg, 3) Schepdaal, 4) Egem, 5) Ronse, 6) Montroeil-au-Bois, 7) Moen

Figuur 5.3: overzicht van de staalname op de sequentiechart van het Onder-Eoceen in België (naar Vandenberghe et al., 2005). De aanduidingen komen van boven naar onder overeen met de niveau's uit Tabel 5.1.



5.3. Schematisch overzicht

Samengevat ziet de volledige staalname voor deze thesis er uit zoals weergegeven in Tabel 5.2. Van de 47 geselecteerde otolieten zijn er zes apart gehouden voor XRD-analyses (zie paragraaf 6.2): één per niveau (behalve de Panisel Zanden), en twee per soort (behalve *Paraconger sauvagei*). Alle andere otolieten dienden als stalen voor stabiele isotopenanalyses. Elk van die otolieten diende voor het uitboren van bulk samples (twee per otoliet, een 'total bulk' en een 'inner bulk', zie Hoofdstuk 7). Van deze 41 werden dan nog eens 16 otolieten uitgekozen om seizoenale variaties in stabiele zuurstof- en koolstofisotopen na te gaan. Deze staalnamestrategie laat toe: 1) binnen een zelfde niveau en locatie, de resultaten van dezelfde en verschillende soorten met mekaar te vergelijken, 2) de resultaten van éénzelfde soort doorheen de tijd te vergelijken, 3) de resultaten voor laterale equivalenten te vergelijken (Zanden van Mons-en-Pévèle en Klei van Roubaix).

Tabel 5.2: samenvattend schematisch overzicht van de volledige staalname

| | <i>P. sauvagei</i> | <i>P. papointi</i> | <i>N. subregularis</i> | <i>G. polli</i> |
|-----------------------|--------------------|--------------------|------------------------|-----------------|
| Zanden van Aalter | ✓ ✓ | | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ | |
| Panisel Zanden | | ✓ ✓ ✓ | ✓ ✓ | ✓ |
| Zanden van Egem (FII) | | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ | |
| Zanden van Egem (FI) | | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ | |
| Zanden Mons-en-Pévèle | | | ✓ ✓ ✓ | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ |
| Klei van Roubaix | | | | ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ ✓ |

✓ = bulk samples
 ✓ = incrementanalyses
 ✓ = samples voor X-Ray diffractie

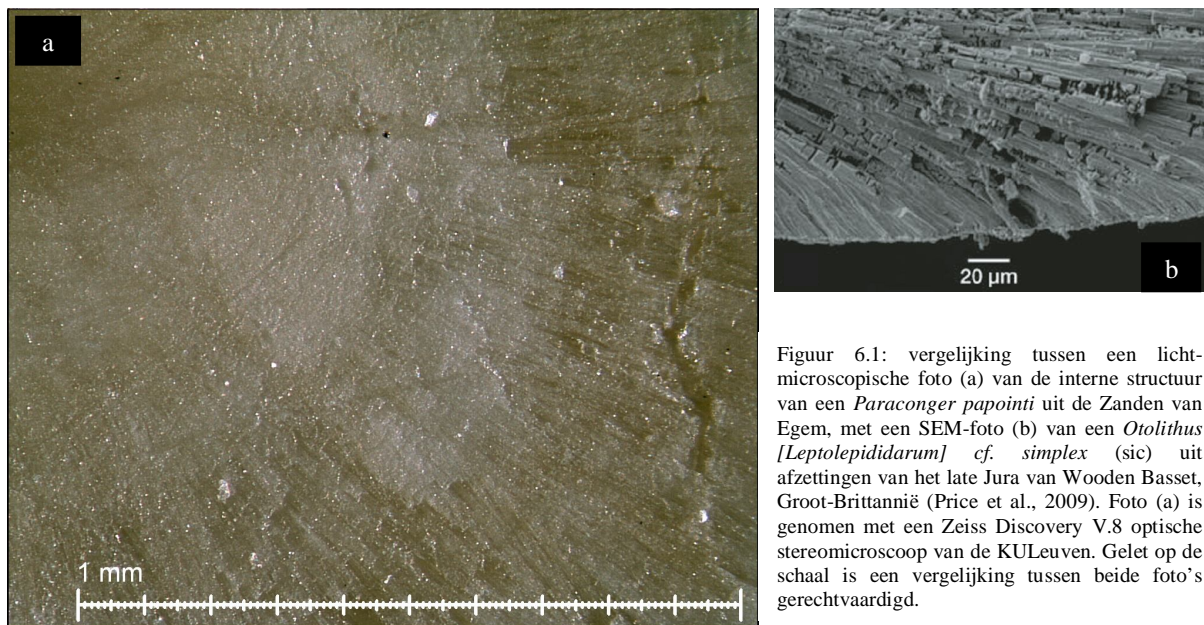
6. PRESERVATIE VAN DE STALEN EN STAALVOORBEREIDING

Naast een nauwkeurig gekende en afgelijnde levenswijze van de vissen waarvan otolieten werden geselecteerd (paragraaf 5.1), is een goede preservatie van de otolieten een zeer belangrijke vereiste voor de uitbouw van otolieten als klimaatsproxy. Indien het primair aragoniet van otolieten door diagenese is omgezet tot calciet, dan is het isotopisch signaal waarschijnlijk niet meer authentiek. Aragoniet dat niet is omgezet, biedt daarentegen een goede kans dat de koolstof- en zuurstofisotopenwaardes bewaard zijn gebleven (Marshall, 1992) (zie ook Hoofdstuk 3).

Nolf (1985) haalt drie belangrijke redenen aan die een effect kunnen hebben op de preservatie van otolieten op vlak van erosie: post-mortem transport in turbulent water, de werking van zuren in de magen van predatoren (vooral zoogdieren), en ontkalking van de sedimenten waarin de otolieten zijn terecht gekomen. Die ontkalking kan synsedimentair plaatsvinden of postsedimentair. Postsedimentaire ontkalking vindt vooral plaats waar zuur water kleien en zanden infiltreert. Aangezien de meeste lagen van waaruit de staalname afkomstig is, watervoerend zijn, is het belangrijk dit voor de otolieten die in dit onderzoek geselecteerd zijn, na te gaan. Otolieten die aangetast zijn door postsedimentaire verwerking, zijn te herkennen aan hun ruwe oppervlak en uitgeholde kern (Nolf, 1985). Die uitholling van binnenuit start vanuit oplossingsgangetjes omstreeks de sulcus, die zich uitstrekken naar het centrum van de otoliet toe. Hoewel een aantal sedimenten, zoals de Zanden van Egem, een lichte graad van ontkalking vertonen, is dergelijke uitholling in geen enkele otoliet geobserveerd. Wel vertonen de meeste otolieten gaatjes langs hun dorsale en ventrale zijden, en zijn ze vaak niet meer gaaf, wat er mogelijk op wijst dat de meeste otolieten na afzetting nog beperkt getransporteerd zijn, en licht onderhevig geweest zijn aan ontkalking.

Naast deze drie elementen, is het voor de bewaring van het isotopisch signaal essentieel dat ook geen andere diagenetische effecten dan ontkalking plaats hebben gevonden. De belangrijkste zijn cementatie (in microporiën, bevordert ontkalking), en substitutie- en rekristallisatiereacties (Marshall, 1992; Corfield, 1995). Deze diagenetische effecten kunnen worden nagegaan via een meervoudige aanpak, die in de onderstaande paragrafen staat weergegeven. Een visuele inspectie (paragraaf 6.1) is de staalvoorbereiding voorafgegaan. Na de visuele inspectie zijn op zes otolieten XRD-analyses uitgevoerd (paragraaf 6.2). De overige otolieten zijn ingebed en gepolijst (paragraaf 6.3), en een aantal van deze voorbereide stalen zijn gebruikt voor kathodeluminiscentie (paragraaf 6.4). In veel studies die de preservatie van otolieten nagaan, worden Scanning Elektronen Microscopische (SEM) foto's

genomen om te kijken naar de structuur van het carbonaat (bv. Patterson, 1999; Price et al., 2009). Gezien de positieve resultaten van XRD-analyses gecombineerd met kathodeluminescentie (zie verder) leek het geen vereiste om dit ook in deze studie toe te passen. Temeer omdat een microscopische detailopname van een *Paraconger papointi* specimen uit de Zanden van Egem (Figuur 6.1a) duidelijk laat zien dat het carbonaat bestaat uit naaldvormige aggregaten die typisch zijn voor aragoniet (Panella, 1980a). Zie ter vergelijking een SEM-foto die dezelfde structuren laat zien (Figuur 6.1b). Een eventuele omzetting naar secundair aragoniet (Elise Dufour, pers. comm.) van de otolieten gebruikt in deze thesis kan evenwel niet worden uitgesloten, maar het lijkt onwaarschijnlijk dat dit het geval zou geweest zijn.

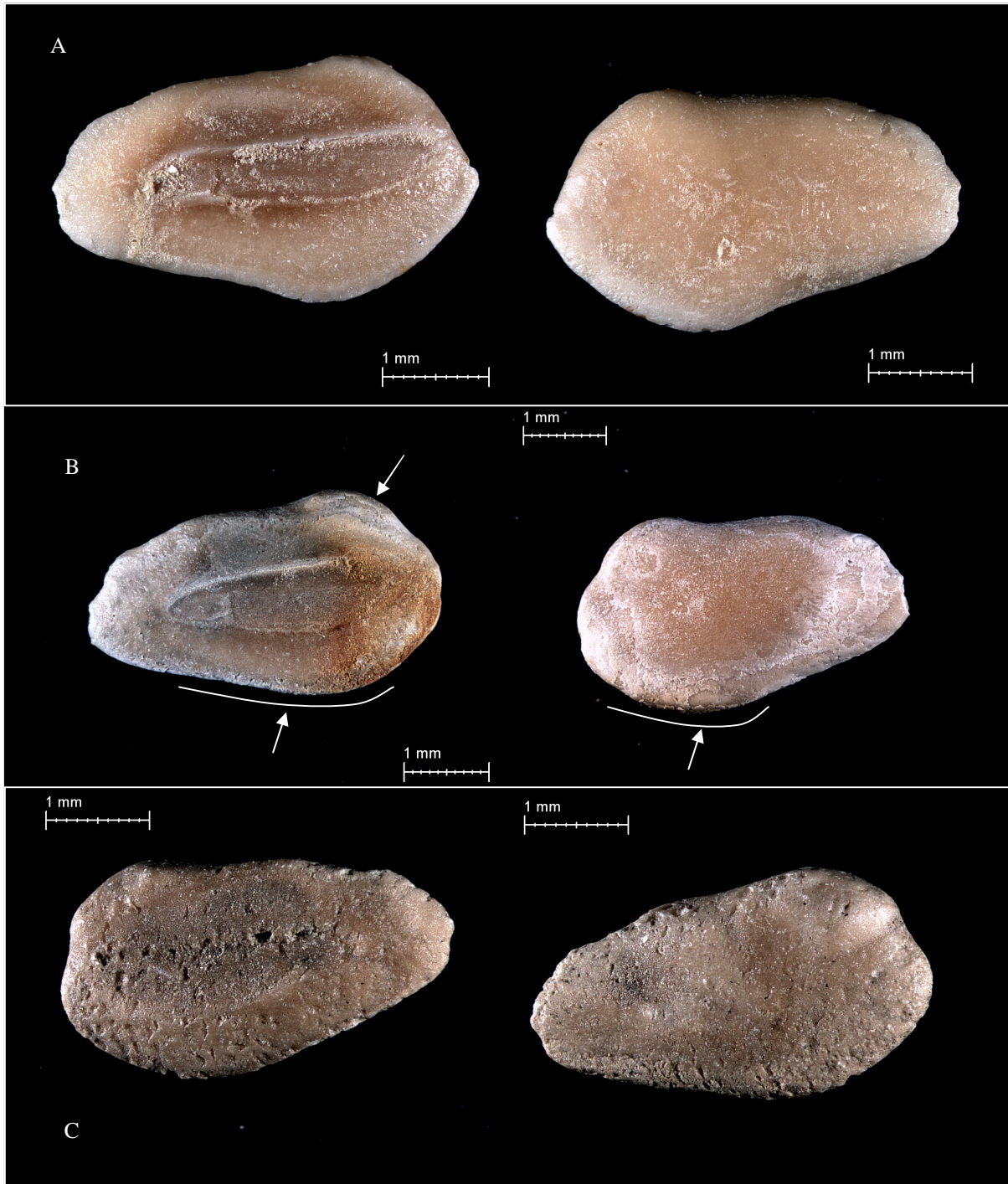


Figuur 6.1: vergelijking tussen een licht-microscopische foto (a) van de interne structuur van een *Paraconger papointi* uit de Zanden van Egem, met een SEM-foto (b) van een *Otolithus [Leptolepididarum] cf. simplex* (sic) uit afzettingen van het late Jura van Wooden Basset, Groot-Brittannië (Price et al., 2009). Foto (a) is genomen met een Zeiss Discovery V.8 optische stereomicroscop van de KULeuven. Gelet op de schaal is een vergelijking tussen beide foto's gerechtvaardigd.

6.1. Visuele microscopische survey van de volledige staalname

Van alle otolieten gebruikt in dit onderzoek zijn foto's genomen alvorens ze te bewerken (Zeiss Discovery V.8 optische stereomicroscop, KULeuven). Vervolgens is de bewaring ervan beoordeeld door ze op te delen in drie categorieën. Omdat er geen indeling bestaat voor de verweringsgraad van otolieten (Nolf, 1985), zijn deze categorieën arbitraire relatieve klassen (A, B, C), waarbij de otolieten enkel ten opzichte van elkaar zijn vergeleken (en niet met recente specimens). Afbeeldingen van representatieven van elke klasse staan in Figuur 6.2 afgebeeld. In Tabel 6.1 is deze indeling toegepast op de staalname. Uit de tabel valt op de

meeste localiteiten en stratigrafische niveau's goed bewaarde otolieten bevatten. Enkel de locatie Aalter, en de locatie Schepdaal en/of de Panisel Zanden, scoren merkkelijk slechter. Indien bij deze laatste de aard van de Panisel Zanden de oorzaak is, dan is dat mogelijk te wijten aan hun slechte sortering (Steurbaut, 2006).



Figuur 6.2: vergelijking tussen drie typische vertegenwoordigers voor elk van de in Tabel 6.1 gedefinieerde bewaringsklassen voor een zelfde soort (genus "*Neobythitiorum*" *subregularis*). Op de foto's van klasse B zijn ontkalkingszones aangeduid. De otolieten van klasse C zijn duidelijk meer dan de andere klassen aangetast: de sulcus is minder zichtbaar, de otoliet is meer afgerond, en het aantal oplossingsgaten is groot. Foto's genomen met een Zeiss Discovery V.8 optische stereomicroscop van de KULeuven.

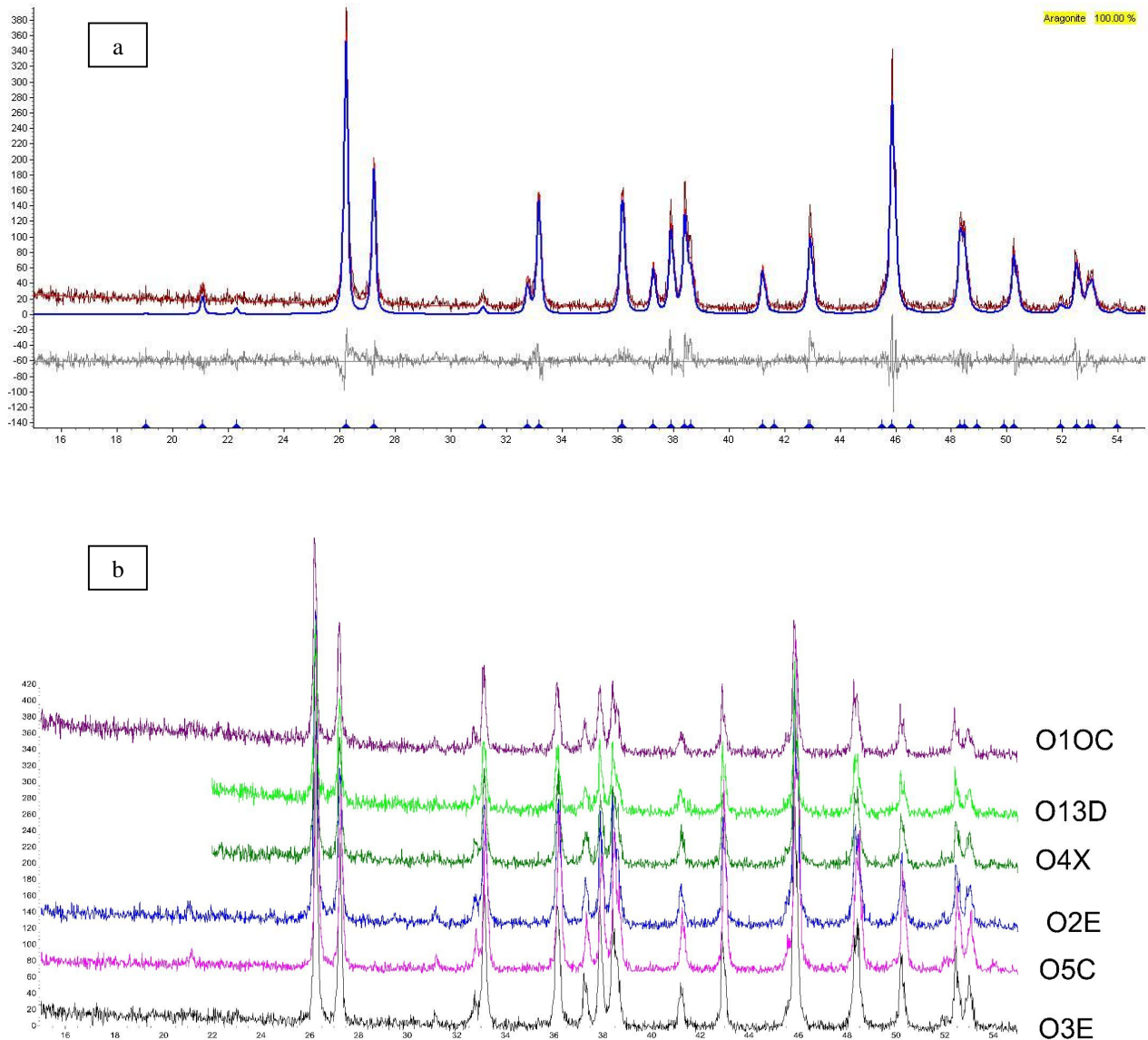
Tabel 6.1: beoordeling van preservatie van de otolieten gebruikt voor dit onderzoek, volgens locatie en stratigrafisch niveau

| Nr. | Locatie | Stratigrafisch niveau | Soort | Bewaring |
|-----|-----------------------------------|--|--------------------------|----------|
| 1 | Aalter | Zanden van Aalter | <i>P. sauvagei</i> | B, C |
| 2 | Scherpenberg | Zanden van Aalter | <i>"N." subregularis</i> | A, B |
| 3 | Schepdaal | Panisel Zanden | <i>P. papointi</i> | B, C |
| | (spoorweginsnijding) | | <i>"N." subregularis</i> | C |
| | | | <i>G. polli</i> | C |
| 4 | Egem (kleiput steenbakkerij Ampe) | "Falun II", Zanden van Egem | <i>P. papointi</i> | A, B |
| | | | <i>"N." subregularis</i> | A, B |
| | | "Falun I", Zanden van Egem | <i>P. papointi</i> | A, B |
| | | | <i>"N." subregularis</i> | A, B |
| 5 | Ronse (Waaenberghe) | Zanden van Mons-en-Pévèle | <i>G. polli</i> | A |
| | | | <i>"N." subregularis</i> | A, B |
| 6 | Montroeuil-aux-Bois | Zanden van Mons-en-Pévèle | <i>G. polli</i> | A, B |
| 7 | Moen (Bossuyt kanaal) | Klei van Roubaix | <i>G. polli</i> | A |
| | A | weinig tot geen zichtbare verwerking | | |
| | B | ontkalking merkbaar, geen afronding en duidelijke sulcus | | |
| | C | ontkalking merkbaar, otoliet afgerond, onduidelijke sulcus | | |

6.2. XRD-analyses

Röntgenstralendiffractie (XRD) laat toe om de kristalstructuur van vaste stoffen te evalueren. Op die manier is het mogelijk om een onderscheid te maken tussen de verschillende polymorfen van CaCO_3 (calciet, aragoniet en vateriet). Het werkingsprincipe gaat als volgt (cfr. Klein, 2002): een poeder wordt beschoten met een monochromatische bundel X-stralen. Die stralen ondergaan een diffractie wanneer ze door de kristalroosters van de poederkorrels passeren, en creëren een diffractiepatroon. Zo hebben de poeders van alle vaste stoffen omwille van hun verschillende kristalroosters elk een eigen diffractiepatroon, dat zich in een driedimensionale ruimte uit als een serie geneste, ongepulverde en bodemloze stralenkegels. Een draaiende detector meet vervolgens de intensiteit aan X-stralen onder verschillende hoeken, in een pad dat deze kegels doorsnijdt (en een vlak vormt met de invallende stralenbundel). Deze detector is zo in staat de intensiteit van de stralenkegels, alsook de hoek ten opzichte van de invallende bundel, te meten. Deze twee parameters ten opzichte van mekaar uitgezet levert een diffractiepatroon op zoals in Figuur 6.3. Een vergelijking met gekende patronen laat dan een determinatie van het poeder toe. Op welke otolieten een XRD-analyse is uitgevoerd staat weergegeven in Tabel 5.2. Het toestel waarmee de analyses zijn uitgevoerd was een PW 1830 Generator van Philips van de KULeuven. Dit gebeurde met een $\text{CuK}\alpha$ -lamp (30 mA, 45 Kv) en onder een detectordraaibeweging van $15\text{-}55^\circ$. Het programma Topas Academic V4 vergeleek

automatisch het verkregen patroon met gekende patronen. Een voorbeeld van een vergelijking voor een otoliet van de soort “*Neobythitiorum*” *subregularis* afkomstig uit Scherpenberg is te zien in Figuur 6.3a. Deze alsook de andere vijf patronen blijken perfect overeen te komen met het patroon van aragoniet (Figuur 6.3b).



Figuur 6.3: **a)** vergelijking van het XRD-diffractiepatroon van een otoliet (O2E in figuur **b)** van het genus “*Neobythitiorum*” *subregularis* afkomstig uit Scherpenberg (rode lijn) met een geïdealiseerd diffractiepatroon van aragoniet (blauwe lijn); **b)** onderlinge vergelijking van de diffractiepatronen van de zes geanalyseerde otolieten. Allemaal vertonen ze een patroon overeenkomstig met dat van aragoniet (O10C: *Glyptophicium polli*, Ronse; O13D: *G. polli*, Moen; O4X: “*Neobythitiorum subregularis*”, Egem (“Falun I”); O2E: “*N. subregularis*, Scherpenberg; O5C: *Paraconger papointi*, Egem (“Falun II”); O3E: *P. papointi*, Egem (“Falun I”).

6.3. Staalvoorbereiding

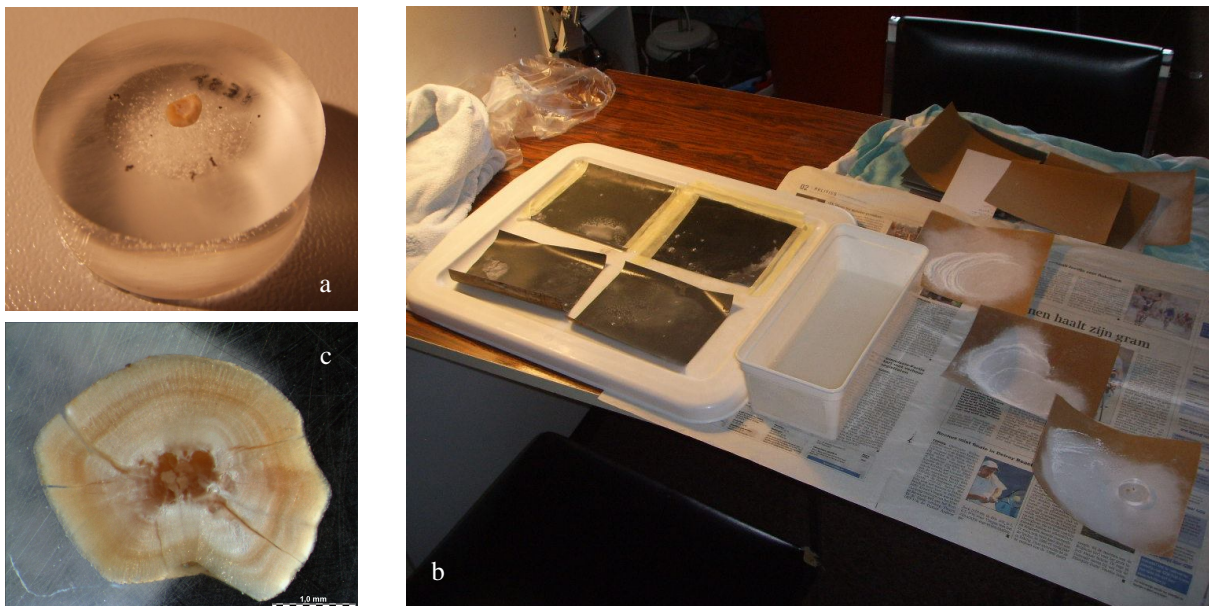
6.3.1. Uit de literatuur...

Vooraleer aan te vangen met het beschrijven van kathodeluminiscentie op secties van otolieten, is het gepast om hier de algemene voorbereiding van de stalen uit te leggen. Om seizoensreconstructies te realiseren van de temperatuur van het water waarin een vis leefde, is het noodzakelijk om de juiste zones in een otoliet aan te boren. Hoewel een transverse sectie die loodrecht staat op de anterior-posterioras van een otoliet de meest complete groeihistoriek bevat van kern tot rand (i.e. de sectie met het minste aantal ontbrekende groeiringen), is het ook de meest gecompliceerde (Van Neer et al., 2004). De huidige boormethodes evenals de limieten van de massaspectrometer laten niet toe om van deze sectie enerzijds zeer fijne samples te verzamelen en anderzijds deze te analyseren (althans niet voor zuurstof- en koolstofisotopenonderzoek, voor vele andere isotopen en elementen laat LA-ICP-MS dat wel toe, cfr. Pickhardt et al., 2005). Het grootste vlak in een otoliet, het saggitale vlak, laat tot op zekere hoogte wel toe om voldoende grote stalen te boren (cfr. Patterson, 1998). Om dat vlak te bereiken is het nodig de otoliet te bewerken. De procedure bestaat steeds uit het inbedden van de stalen, gevolgd door het al of niet doorzagen ervan, en het polijsten van het gewenste vlak. Inbedden dient om de otoliet te beschermen tegen breken tijdens het polijsten of doorzagen, en biedt er ook meer controle over (Panella, 1980b). Inbedden kan in harsblokjes (vb. Dufour et al., 2008; Van Neer et al., 2004), maar ook eenvoudigweg in lijm op een glasplaatje (Ellen De Man, pers. comm.; Gao, 1999). Om het gewenste vlak te bereiken waar de groeiringen maximaal zichtbaar zijn lopen de methodes uiteen. Een aantal auteurs maken gebruik van een zaag om secties van ca. 0,5 mm te maken, die vervolgens worden vastgemaakt op een slijpplaatje (Høie and Folkvord, 2006; Van Neer et al., 2004), om dan verder te worden gepolijst. Dit biedt het voordeel dat fijnschalige incrementen zeer goed bestudeerbaar zijn. Andere polijsten rechtstreeks de harsblokjes tot het juiste niveau (vb. Dufour et al., 2008). Voor het polijsten wordt meestal schuurpapier aangewend, van grof naar fijn (vb. tot P2400, Gao, 1999; tot P4000, Høie and Folkvord, 2006). Eventueel kan het gebruik van diamantsuspensie (korrel 1 μm , Høie and Folkvord, 2006) of aluminiumpoeder (korrel 0,3 μm , Wurster et al., 1999) de polijsting afwerken.

Deze procedures zijn algemeen aanvaard, alhoewel ze wel het verschijnsel dat het saggitale vlak eigenlijk niet vlak is, maar een lichte kromming vertoont, negeren. Dit verhelpen kan door de otoliet in twee te breken en de twee delen apart te polijsten (Panella, 1980b), maar dat lijkt voor deze thesis onnuttig wegens de boormethode (Hoofdstuk 7).

6.3.2. De procedure in deze thesis gevolgd

Voor deze thesis is de volgende werkwijze toegepast. De stalen zijn ingebed in een epoxyhars (Figuur 6.4a). Daartoe werd harspoeder samen met het staal in een Beuhler SimpliMet 3000 Automatic Mounting Press (KULeuven) geplaatst, waarbij dit onder kortstondige druk en temperatuur (ca. 10 minuten) werd gesmolten en daarna terug afgekoeld. Door de korte duur hiervan, heeft dit geen effect op het isotopisch signaal. Sommige otolieten kunnen wel barsten tijdens de procedure. De ingebedde stalen werden vervolgens manueel gepolijst op schuurpapier met verschillende korrelgroottes (Figuur 6.4b), van grof naar fijn (P150 tot P1200). Hierbij werd het saggitale vlak (Figuur 6.4c) steeds benaderd via de buitenkant (laterale zijde) van de otoliet. Met de kromming van het vlak is geen rekening gehouden. De grove polijsting (P150 tot P240) gebeurde droog, de fijne polijsting (P600 tot P1200) nat met kraantjeswater (polijsten met gedemineraliseerd water was ongetwijfeld meer verantwoord geweest, maar door het korte contact met het water zou dit geen effect mogen hebben). Omdat een detailstudie van de groeiringen zelf niet tot het doel van deze thesis behoort, was geen meer perfecte polijsting vereist.



Figuur 6.4: **a)** voorbeeld van een in epoxy ingebed staal; **b)** opzet voor droge (rechts) en natte polijsting (links) op schuurpapier met verschillende korrelgroottes; **c)** voorbeeld van een gepolijst staal (*Glyptophidium polli*, Montroeuil-au-Bois).

6.4. Kathodeluminescentie

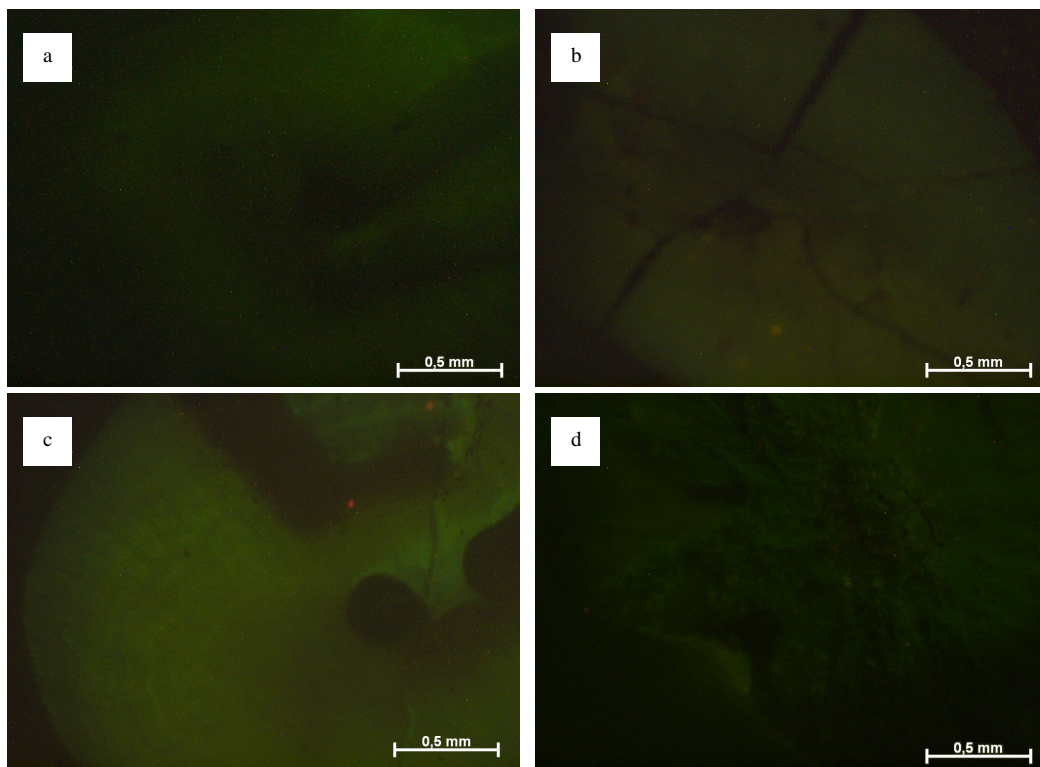
Kathodeluminescentie berust op de verhouding tussen activatorionen (vooral Mn^{2+}) en dempende ionen (vooral Fe^{2+}), die ervoor zorgen dat carbonaat oplicht onder een excitatiebron of niet (Marshall, 1992). Daarbij is de sterkte en de kleur van de luminescentie van belang. Het komt erop neer dat bij de diagenetische omzetting van primair naar secundair carbonaat de verhouding van sporenelementen in het kristalrooster kan veranderen. Zo zal secundair calciet ten gevolge daarvan geel tot rood kleuren. Wanneer secties doorheen de interne structuur van een staal worden geluminesceerd, kan dit bovendien informatie geven over welke zones precies zijn omgezet, of het kan bijvoorbeeld met calciet gevulde holtes en barsten laten oplichten. Wanneer een biogeen carbonaat niet luminesceert, betekent dit echter dat ofwel er geen omzetting heeft plaatsgevonden, ofwel veel dempende ionen zijn ingebouwd tijdens de diagenese (Marshall, 1992).

Het kathodeluminescentieonderzoek is uitgevoerd met behulp van een Technosyn Cold Kathode Luminescence Model 8200 MKII van de KULeuven. Foto's werden genomen met behulp van het programma ProGress Capture Pro 2.1 gekoppeld aan Axiovision. De onderzochte otolieten staan in Tabel 6.2 weergegeven.

Tabel 6.2: overzicht van de otolieten waarop kathodeluminescentie is uitgevoerd en de resultaten ervan.

| OID | Locatie | Stratigrafisch niveau | Soort | Bewaring |
|------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------|----------|
| O1A | Aalter | Zanden van Aalter | <i>P. sauvagei</i> | G |
| O1B | Aalter | Zanden van Aalter | <i>P. sauvagei</i> | X |
| O2A | Scherpenberg | Zanden van Aalter | "N." <i>subregularis</i> | G |
| O2B | Scherpenberg | Zanden van Aalter | "N." <i>subregularis</i> | X |
| O3D | Egem | "Falun I", Zanden van Egem | <i>P. papointi</i> | X |
| O5A | Egem | "Falun II", Zanden van Egem | <i>P. papointi</i> | G |
| O7C | Schepdaal | Panisel Zanden | <i>P. papointi</i> | X |
| O8A | Schepdaal | Panisel Zanden | "N." <i>subregularis</i> | X |
| O9A | Schepdaal | Panisel Zanden | <i>G. polli</i> | X |
| O10B | Ronse | Zanden van Mons-en-Pévèle | <i>G. polli</i> | X |
| O12B | Montroeuil-au-Bois | Zanden van Mons-en-Pévèle | <i>G. polli</i> | X |
| O13B | Moen | Klei van Roubaix | <i>G. polli</i> | G |
| | X | niet tot zeer weinig luminiserend | | |
| | G | lichtgroene luminescentie | | |

Enkele resultaten zijn weergegeven op Figuur 6.5. Geen enkele van de onderzochte otolieten vertoonde noemenswaardige luminescentie. Slechts met een hoog aantal kilovolts en lange sluitertijd kon in sommige gevallen een lichtgroene luminescentie worden gefotografeerd. In andere gevallen was er zelfs quasi geen luminescentie waar te nemen, laat staan vastleggen op foto. Dit niet tot lichtgroen luminesceren komt overeen met wat je zou verwachten van primair aragoniet.



Figuur 6.5: foto's van de vier lichtgroen luminescerende otolieten (zie tabel 6.2 voor meer uitleg): **a)** O1A; **b)** O2A; **c)** O5A; **d)** O13D (deze heeft geen gepolijst oppervlak maar een ruw oppervlak door het breken van de otoliet tijdens het polijsten)

Uit de voorgaande paragrafen ten slotte, blijkt duidelijk dat de verzamelde otolieten voor dit onderzoek over het algemeen goed bewaard zijn, met inbegrip van het primair aragoniet. Dit strookt met de opmerking van Nolf (1995), dat de rekristallisatie van otolieten naar calciet eerder zeldzaam is.

6.5. Vateriet in otolieten

Voor de volledigheid omtrent het gebruik van otolieten als reconstructietool is het geplaatst om hier een opmerking te maken over het voorkomen van vateriet in otolieten. Vateriet is een metastabiele polymorf van CaCO_3 (hexagonale kristalstructuur) en komt vooral voor in biogene carbonaten. Een evaluatie van de aanwezigheid van vateriet in otolieten in een (fossiele) associatie, voorafgaandelijk aan een stabiele isotopenonderzoek kan nuttig zijn, omdat vateriet slechts kan precipiteren in abnormale superversadigde oplossingen die niet in evenwicht zijn (Falini et al., 2005). Vateriet is, net als calciet, een aberrante vorm van calcificatie, dat slechts een fractie (tot enkele procenten) van een populatie treft, maar het is wel in otolieten van vele zoetwater- en mariene soorten geobserveerd (Tomás and Geffen, 2003). Dit geldt althans voor de sagitta en lagena; the utricula bestaat bijna altijd uit vateriet (Falini et al., 2005). Ook veel pathologische onregelmatige otolieten bestaan uit vateriet, en in sommige taxa, met name de meer primitieve (zoals de Anguiliformes, waar de Congridae deel van uitmaken), komt vateriet meer voor dan in andere taxa. Dit wijst erop dat de otolieten van primitieve vissen waarschijnlijk eerder uit vateriet bestonden, dan uit aragoniet (Nolf, 1985). Otolieten van gekweekte vissen maken procentueel eveneens vaker vateriet aan, dan vissen uit wilde populaties (Elise Dufour, pers. comm.; cfr. Tomás and Geffen, 2003).

In bijna alle gevallen is het echter zo, dat slechts ofwel de linker-, of wel de rechterotoliet aberrant is (Tomás and Geffen, 2003). Vaak bestaat ook niet de hele otoliet uit vateriet, maar slechts het centrale deel, met een scherpe overgang tussen vateriet- en aragonietcalcificatie, en komt er nooit een mengeling van de twee polymorfen voor (Falini et al., 2005; Tomás and Geffen, 2003). De mechanismen achter deze biomineralisatie zijn nauwelijks gekend, mogelijk spelen specifieke macromoleculen een rol (Falini et al., 2005).

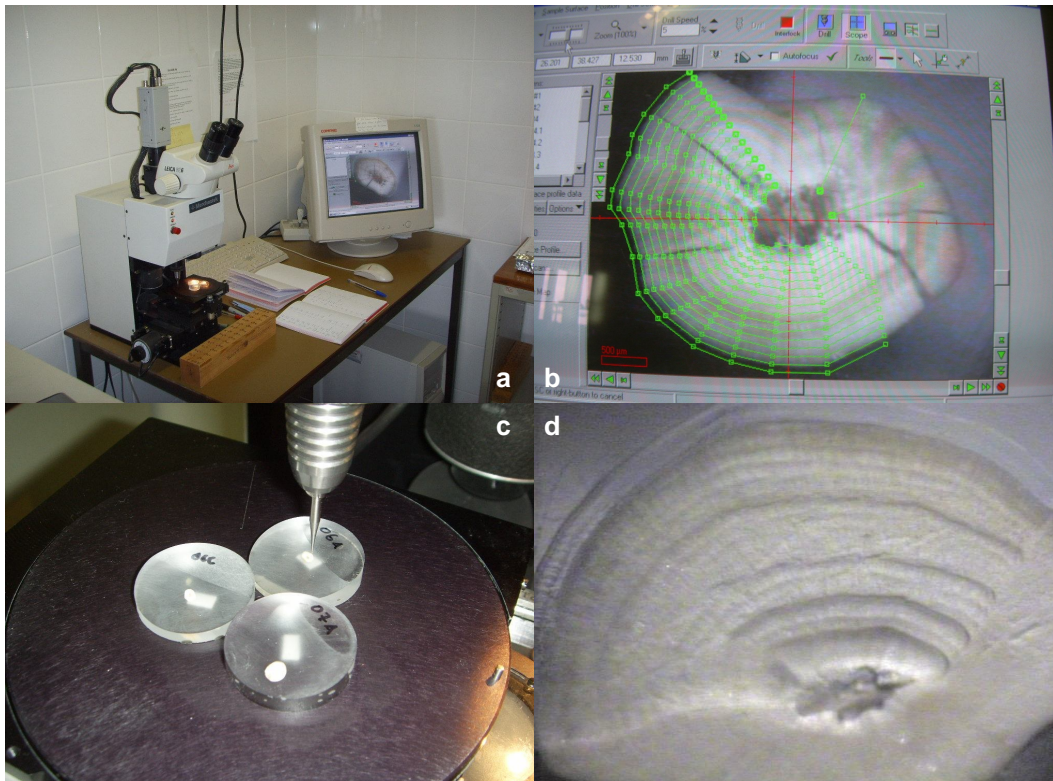
Aangezien het lage percentage van deze aberrante otolieten in populatie, kan het moeilijk zijn deze te detecteren, behalve indien ze toevallig geselecteerd worden voor XRD-analyses of microsonde Raman-Castaing (analyse van het verstrooiingspectrum van een laster op een vaste stof, zie Truchet et al., 1995). Het is wellicht mogelijk is om vateriet te detecteren met kathodeluminiscentie, aangezien het vateriet in otolieten aangereikt is aan Mn (zie vorige paragraaf, Tomás and Geffen, 2003), maar hier zijn nog geen gegevens over beschikbaar. De kans ten slotte dat een verzameling fossiele otolieten, naar aragoniet omgezette vaterietotolieten bevat, is klein omdat vateriet in contact met water spontaan omzet tot calciet (Falini et al., 2005).

7. MICROBORINGEN

7.1. Apparatuur (VUB)

Om een seizoenale temperatuursreconstructieresolutie van otolieten te verwezenlijken, is zeer fijne en nauwkeurige apparatuur vereist die toelaat om op sub-millimeterschaal carbonaatstalen te extraheren. Dergelijke apparatuur is tijdens het begin van de jaren '90 van de vorige eeuw voor het eerst ontwikkeld door het stabiele isotopenlab van de University of Michigan (KCL microsampler, Gao, 1999). Gezien de hoge prijs van de software ervan, zijn een aantal jaar later aangepaste of nieuwe technieken met meer gebruiksvriendelijke software uitgetest. Gao (1999) experimenteerde met een computergestuurde DM 2800-machine van de McMaster University (Hamilton), en een tandartsboorsysteem van Dremel. De eerste techniek stelde in staat om stalen van 30 μg te boren, bij de Dremel-boor waren dat stalen van ca. 100 μg . Deze methodes vragen echter ofwel veel ervaring, ofwel zijn ze tijdsrovend (Gao, 1999). Een meer geavanceerd apparaat ontwikkeld aan de universiteit van Syracuse, maakt het mogelijk om stalen tot 20 μg te boren, met een resolutie van 15 tot 20 μm brede boorpaden (Wurster et al., 1999). Het concept ervan is uitgewerkt tot een commercieel boorapparaat: de (Merchantek) MicroMill van New Wave Research (zie www.new-wave.com/Download%20Files/LA-MMLL-DSus-0402.pdf voor meer details).

Het apparaat (Figuur 7.1a, VUB) bestaat uit een microscoop met een boorkop (\emptyset boor: 300 μm) die slechts verticaal (z-richting) kan bewegen, met een hoge precisie. De stalen worden met hars vastgemaakt op een platform dat eveneens met hoge precisie in de x- en y-richting kan bewegen (Figuur 7.1c). Op de microscoop is een video aangesloten, die connecteert met een computer. Met behulp van gebruiksvriendelijke software kan een onderzoeker vervolgens boortrajecten digitaliseren naargelang de vorm van de incrementen (Figuur 7.1b), en eventueel tussen verschillende trajecten interpoleren (cubic spline interpolation, Wurster et al., 1999). Daarbij kunnen de diepte en de boorsnelheid worden aangepast. Het boren zelf gebeurt volledig automatisch (Figuur 7.1c). Het apparaat kan zowel vlakke als schuine en onregelmatige oppervlaktes aanboren. Het uitvoeren ervan dient te gebeuren in een kleine kamer, en bij voorkeur in de aanwezigheid van een bevochtiger om statische effecten te vermijden (Elise Dufour, pers. comm.). De MicroMill is momenteel een universeel gebruikt apparaat voor de studie van seizoenale zuurstof- en koolstofisotopenanalyses van otolieten (vb. De Man, 2006; Høie et al., 2006; Surge and Walker, 2005).



Figuur 7.1: **a)** de Merchantek MicroMill van het stabiele isotopenlab van de VUB; **b)** uitgetekende boorpaden met links de incrementstaalname en lijnen voor een total bulkstaal (bovenste) en inner bulk staal.; **c)** de MicroMill in werking; **d)** voorbeeld van een aangeboorde otoliet (voor een serie incrementstaalnames).

7.2. Boormethode

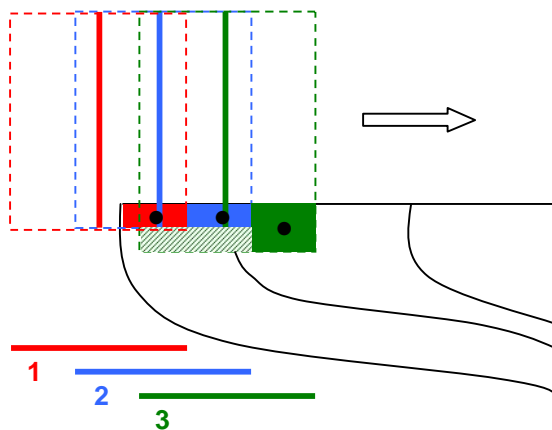
7.2.1. Incrementboringen

Deze paragraaf biedt meer uitleg over hoe het boren exact is verlopen. Omdat de dikte van de boor veel groter is dan de benodigde resolutie, moet het digitaliseren van de groeilijnen doordacht gebeuren. Wegens de geringe breedtes van de groeilijnen in een otoliet, is het niet mogelijk om deze afzonderlijk aan te boren, zonder daarmee naburige groeilijnen mee te boren. Een oplossing voor dit probleem is het boren aan te vangen in de kern (vb. Dufour et al., 2008) of langs de rand van een saggitale sectie (deze thesis), en daarna opeenvolgende incrementen aan te boren richting de rand van de otoliet, respectievelijk de kernel, waarbij de boortrajecten elkaar in de breedte overlappen. Een gedigitaliseerd boortraject op het scherm komt dan echter niet meer overeen met de middellijn van een werkelijk aangeboord volume. Dit is zeer belangrijk aangezien de middelpunten van deze middellijnen, de posities zijn waaraan de isotopendata uit de analyses worden toegekend (en om achterna eventueel het verkregen patroon te linken aan de geobserveerde incrementen van een otoliet). Die posities zijn hier voor elke otoliet berekend – op basis van de positie van de eerste gedigitaliseerde lijn

ten opzichte van de rand van de otoliet, en de afstanden tussen de opeenvolgende trajecten – en gebruikt voor het uitzetten van de bijhorende isotopendata.

Omdat de boortrajecten door de concentrische vorm van de incrementen naar de kernel toe smaller dienen te zijn, is dicht bij de kernel dieper geboord om toch voldoende carbonaatpoeder te kunnen verzamelen voor analyse in de massaspectrometer. De maximale diepte was slechts 150 μm , waardoor contaminatie met andere groeiringen uitbleef. Door de breedte van de boor, moest dit omzichtig gebeuren, om contaminatie te vermijden. Dit is te zien op Figuur 7.2, die schematisch de boormethode voor incrementstalen uitlegt. Het volstaat om het traject voorafgaandelijk aan een dieper traject na het verzamelen van het carbonaatpoeder opnieuw te boren, maar dan dieper, en vervolgens het verkregen boorpoeder te verwijderen .

Het geschatte gemiddelde volume per staal poeder is geschat op 0,0205 mm^3 , wat overeenkomt met 61 μg (densiteit van aragoniet: 2,95 (Klein, 2002); inclusief een ingecalculleerd verlies van 30 % bij het verzamelen van het poeder). Dit is meer dan de meeste geciteerde gemiddeldes uit de literatuur (vb. Høie et al., 2004: ca. 23-43 μg ; De Man, 2006: ca. 20 μg).



Figuur 7.2: gedetailleerde boormethode voor incrementanalyses. De zwarte lijnen schetsen de vorm van een deel van een otoliet inclusief incrementen, en het gepolijste saggitale vlak, gezien in een sectie loodrecht op dit vlak. De pijl duidt de richting van de opeenvolgende boortrajecten aan (van de rand richting kernel). De verticale gekleurde lijnen komen overeen met het midden van de boorkop, en dus met de gedigitaliseerde trajecten op het scherm van de computer (zie Figuur 7.1b). De stippellijnen geven telkens de breedte van de boor aan (\varnothing boorkop: 300 μm). Door de theoretische boorzones met elkaar te laten overlappen kan een hogere resolutie dan 300 μm worden gerealiseerd. Dat is te zien aan de reële uitgeboorde volumes (de gekleurde vlakken), die een stuk smaller zijn dan de breedte van de boor. De zwarte punten geven de positie aan waar de overeenkomstige isotopenwaarden worden aan toegekend. De rasterzone is de contaminatiezone van het diepere groene boorvolume, indien deze rasterzone niet voorafgaandelijk zou worden weggeboord.

7.2.2. Bulkboringen

Het boren van bulksamples was een stuk eenvoudiger. Daarbij was het voldoende om een traject te kiezen loodrecht op de incrementen van de otoliet. Totale bulkstalen liepen steeds van rand tot kernel. Gezien de bewaringsgraad van de otolieten (zie paragraaf 6.1), met in veel otolieten aantasting van de oppervlaktezone, is ervoor gekozen om ook ‘inner’ bulkstalen te nemen. Die liepen steeds van ca. 200 μm van de rand tot de kernel. De gedachtegang hier gevolgd, is dat als dit inner bulkstaal en totale bulkstaal van een zelfde otoliet niet sterk van

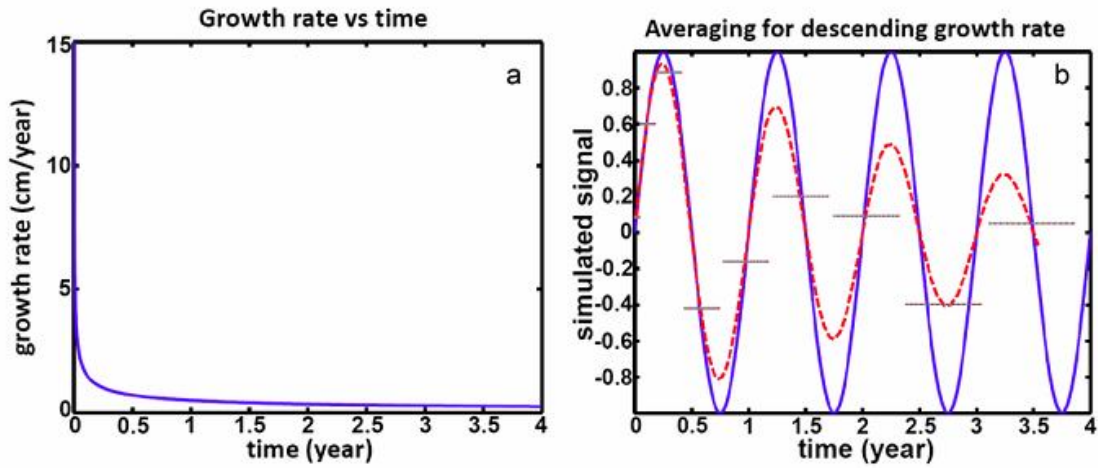
elkaar afwijken, er waarschijnlijk geen verstoring van het isotopisch signaal aan de randzone van de otoliet is geweest (zie Hoofdstuk 10 voor resultaten).

Het gemiddelde berekende boorvolume van de bulkstalen bedraagt 73 μg voor inner bulk stalen en 88 μg voor totale bulkstalen. Het carbonaatpoeder van alle geboorde trajecten werd verzameld met behulp van scalpelpunten, en overgebracht in glazen analysetubes. Die werden meteen na een boorsessie (in houten blokken met 24 posities voor tubes) in een oven van 50 °C geplaatst, om het carbonaatpoeder vrij te houden van vluchtige bestanddelen. Deze temperatuur heeft geen effect op de isotopische signatuur (cfr. Guiguer et al., 2003). Gemiddeld verbleven de stalen 25 dagen in deze oven.

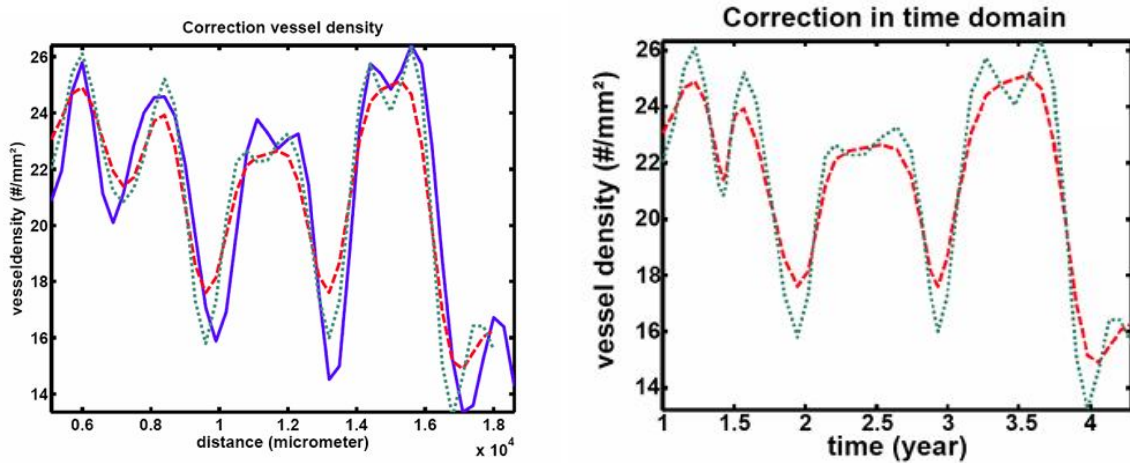
Bijkomende opmerking: er is ook een boorstaal genomen van de hars waarin de otolieten zijn ingebed. De massaspectrometer detecteerde geen vrijgekomen CO₂ in dat staal na reactie met het fosforzuur in de Kiel (zie Hoofdstuk 8).

7.3. Implicaties van de boormethode voor de interpretatie van de gegevens

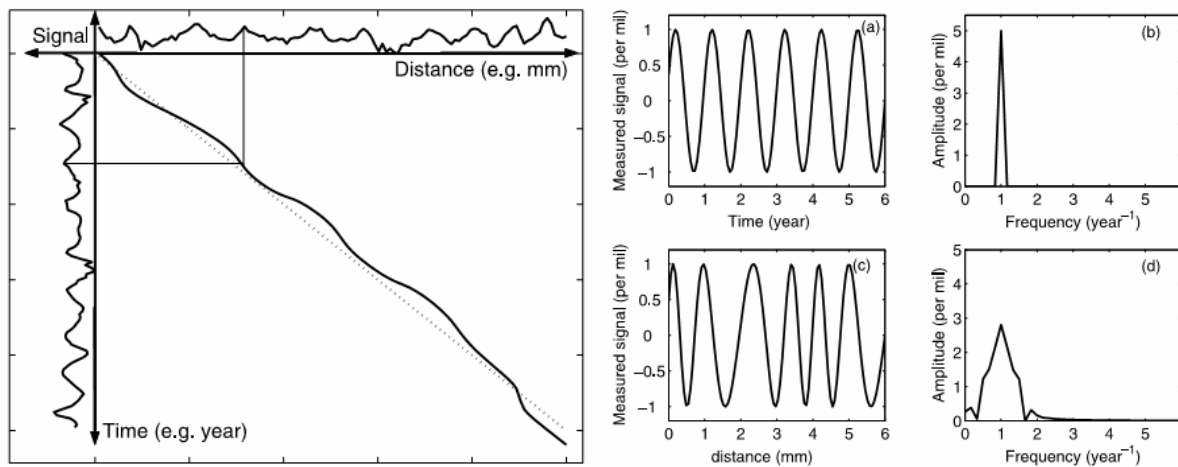
Voor een goed begrip van het isotopisch signaal is het belangrijk om in te zien dat elke isotopenwaarde een uitmiddeling is van zijn totale geboorde volume (zie ook Figuur 7.2). Zeker voor de berekening van de MART, de gemiddelde jaarlijkse range in temperatuur (paragraaf 9.1.2) en tevens de belangrijkste indicator voor seizoenaliteit, kan dit gevolgen hebben. Veerle Beelaerts (PhD, VUB) werkt aan een wiskundige techniek om uitmiddelingsfouten weg te werken (Beelaerts et al., 2009). Voorheen is immers nooit rekening gehouden de volumes van de samples, maar dat kan enkel als de breedte van de samples klein is in vergelijking met de resolutie van de variatie die moet worden gereconstrueerd. Daarbij is de variatie (normaliter een afname) van de aangroeisnelheid in functie van de tijd van een biogeen carbonaat een belangrijke factor, die ten gevolge van uitmiddeling kan leiden tot een systematische onderschatting van seizoenale extremiteiten (Figuur 7.3). Wanneer je geen rekening zou houden met dit effect, zou je kunnen denken dat een dergelijk uitgemiddeld patroon het resultaat is van metabolische effecten of migraties van het organisme in kwestie. Aangezien de groeisnelheid van vissen afneemt naarmate de ouderdom van een vis (Ursin, 1979), en bijgevolg de aangroeisnelheid van otolieten, kan dit effect ook in otolieten aanwezig zijn. De correctie die Beelaerts et al. (2009) uitvoeren voor uitmiddeling is gebaseerd op inverse Fourier-transformaties. De methode werd reeds uitgetest op onder meer de densiteit van groeiweefsel van mangrovebomen (bimodaal seizoenal), met succes (Figuur 7.4).



Figuur 7.3: het effect van uitmiding bij een afnemende groeisnelheid; **a)** groeisnelheid in functie van de tijd, **b)** volle lijn: werkelijk signaal; gestreepte lijn: uitgemiddeld signaal (gemeten); horizontale lijntjes: samples (die op een afstandsschaal een zelfde breedte zouden hebben) (Beelaerts et al., 2009)



Figuur 7.4: correctie voor het groeiweefsel in mangrovebomen; met links de volle lijn: werkelijk signaal; gestreepte lijn: uitgemiddeld signaal (gemeten); stippellijn: gecorrigeerd signaal met duidelijke bimodale pieken; en rechts het gemeten en gecorrigeerde signaal op een tijdschaal gezet volgens de methode van De Ridder et al. (2004) (Beelaerts et al., 2009)



Figuur 7.5: links het concept van de omzetting van een afstandsschaal naar een tijdschaal bij veranderlijke groeisnelheden; in het midden de werkelijke patronen op een tijdschaal en de geobserveerde patronen op een afstandsschaal; rechts het spectrum van de patronen. Het is een spectrum als dat van linksonder dat wordt geanalyseerd om een wiskundige correctie te kunnen toepassen (De Ridder et al., 2004)

Deze correctie houdt echter (nog) geen rekening met het effect van variaties in de groeisnelheid zelf. Het is dan ook realistischer om het verkregen periodisch isotopisch signaal met maxima en minima te corrigeren voor niet-lineaire groeisnelheden. Deze kunnen immers leiden tot een patroon als in Figuur 7.5, midden onder. Onder de assumptie dat een bepaald patroon periodisch is, beschrijven De Ridder et al. (2004) een methode om een afwijking van de groeisnelheid ten opzichte van de werkelijke groeisnelheid te detecteren, en om vervolgens een patroon om te zetten naar een tijdsschaal (realistisch) vanuit een afstandsschaal (niet realistisch) (Figuur 7.5). De afstandsschaal is schaal waarop staalnameposities staan weergegeven, en de daaraan verbonden waardes komen overeen met het patroon zoals het werkelijk is waargenomen (zoals bijvoorbeeld de zuurstofisotopengegevens uit deze thesis ten opzichte van hun positie in de otoliet). De methode is gebaseerd op een analyse van het spectrum van een waargenomen patroon (Figuur 7.5), gevolgd door een wiskundige correctie. Voorwaarde is zoals vermeld dat een patroon periodisch is, alsook dat twee punten gedateerd moeten zijn. Het is mogelijk om onder deze voorwaarde de correctie van De Ridder et al. (2004) toe te passen op het zuurstofisotopenpatroon van otolieten. Aangezien het zuurstofisotopenpatroon blijkt gebruikt te kunnen worden voor het schatten van de leeftijd van vissen (Høie and Folkvord, 2006; Sei, 2005), is zoals verwacht het patroon periodisch, met een periodiciteit van een jaar.

Beide types correcties, het wegwerken van uitmiddeling en het corrigeren voor niet-lineaire groeisnelheden zijn hier bij wijze van experiment uitgevoerd, om het eventuele potentieel ervan na te gaan. Het is immers de eerste maal dat deze methodes op gegevens van otolieten worden uitgetest. De resultaten ervan zijn te vinden in Hoofdstuk 13. Het toepassen van de uitmiddelingscorrectie op data uit deze thesis is eigenlijk strikt genomen echter nog niet mogelijk, omdat de correctie enkel met equidistante staalbreedtes kan werken. De breedtes van de boorpaden waren in dit onderzoek immers licht variabel (tot 20 μm). De methode wordt momenteel daarvoor gecorrigeerd. Voor de hier gepresenteerde test met de methode is aangenomen dat de boorbreedtes toch gelijk waren, en is steeds het gemiddelde van alle breedtes genomen.

8. STABIELE ISOTOPENANALYSES

8.1. Apparatuur

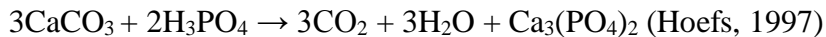
8.1.1. Kiel carbonaatvoorbereiding (VUB)

Alle geboorde stalen werden geanalyseerd op het Stabiele Isotopenlab van de VUB, met behulp van een ThermoFinnigan Kiel (III) gekoppeld aan een ThermoFinnigan Delta^{plus}XL massaspectrometer (zie onderstaande paragraaf). De Kiel (Figuur 8.1a en 8.1b) is een apparaat om automatisch CO₂ te extraheren uit carbonaten, dat dan vervolgens geanalyseerd wordt in de massaspectrometer. Het laat een snelle behandeling toe van zeer kleine monsters. Sei (2005) gaf reeds een beschrijving ervan in het Engels. De buisjes met de geboorde stalen (Hoofdstuk 7) worden daarvoor in glazen houders geplaatst in een carrousel met 48 posities in twee concentrische rijen gerangschikt. Acht posities daarvan werden voorbehouden voor de analyse van standaarden. Die dienen ter controle van de geanalyseerde stalen, en als maat voor de precisie van de metingen (zie paragraaf 8.2). Een al of niet volledig gevulde carrousel gaat vervolgens in de oven van de Kiel (Figuur 8.1a). De temperatuur van deze oven bedraagt 70° C, wat gebruikelijk is voor het op gang brengen van de zuurreactie (Hoefs, 1997, zie hieronder), en wat geen effect heeft op de isotopensignatuur van de stalen (Guiguer et al., 2003). Vervolgens connecteert de software telkens een staalhouder met de Kiel (Figuur 8.1b).



Figuur 8.1: a) de ThermoFinnigan Kiel III in het Stabiele Isotopenlab van de VUB met links de vaten voor toevoer van vloeibare stikstof. Het gesloten gedeelte is de oven, daaronder bevindt zich het vat voor het fractioneel vriezen van het gevangen gas (pijl) b) detailopname van de oven met linksboven het zuurvat en onder de carrousel met de staalhouders. De pijlen duiden geconnecteerde staalhouders aan.

Twee druppels 100 % fosforzuur brengen daarna de vorming van CO₂ op gang via de volgende reactie:



Uit deze reactie is af te leiden dat er slechts twee derde van de zuurstof van het carbonaat vrijkomt in CO₂. Omwille daarvan vindt er een fractionatie van ca. 10 % plaats voor zuurstof, die in principe afhankelijk is van carbonaat tot carbonaat, maar gelijk blijkt te zijn voor calciet en aragoniet. Daardoor is het geen probleem om δ_c gelijk te stellen aan $\delta^{18}\text{O}$ van het carbonaat (Rye and Sommer II, 1980, voor meer uitleg over deze twee waardes zie volgende paragraaf). Na een reactietijd van 300 seconden wordt het vrijgekomen gas weggepompt, en de volgende handeling van de Kiel is om het CO₂ nodig voor de massaspectrometer af te scheiden uit het vrijgekomen gasmengsel, dat H₂O en eventuele contaminanten kan bevatten (Corfield, 1995; Rye and Sommer II, 1980). Dat gebeurt via fractioneel bevriezen van het gasmengsel. Met behulp van vloeibare stikstof N₂, koelt de Kiel het gasmengsel af tot -180 °C, in een val ('trap 1'). Op die temperatuur blijven CO₂ en H₂O bevroren, maar kunnen niet-condenserende gassen worden weggepompt. Daarna warmt de Kiel het mengsel opnieuw op, tot 115 °C, waardoor CO₂ vrijkomt (maar H₂O bevroren blijft), om meteen weer gevangen te worden door het afkoelen ervan in een tweede val ('trap 2', -180 °C). De twee vallen worden vervolgens van elkaar gescheiden, en de tweede val terug opgewarmd waardoor uiteindelijk enkel CO₂ overblijft voor analyse in de massaspectrometer.

8.2.2. *Isotopenratiomassaspectrometer (VUB)*

Het verzamelde CO₂ uit de Kiel komt meteen in de massaspectrometer terecht. Die bestaat uit verschillende onderdelen (Hoefs, 1997, Figuur 8.2). Een eerste is een dual inlet systeem. Dit zorgt ervoor dat lichte en zware gasdeeltjes gemengd het analysegedeelte van de massaspectrometer zullen betreden. Als dat niet gebeurt, zou het gas zich kunnen opsplitsen in een lichter en een zwaarder gedeelte, en dus gefractioneerd zijn qua isotopen (molecular flow). In dit onderdeel wordt er naast het te analyseren gas ook een referentiegas geïnjecteerd, om te verzekeren dat de voorwaarden van de massaspectrometer dezelfde zijn voor het beide gassen (Rye and Sommer II, 1980). In feite bestaat de analyse van één gas uit een twaalfstal cycli van afwisselend een meting van het onbekende gas en het referentiegas. Het tweede onderdeel (ion source) ioniseert het gas met behulp van het opwarmen van een Tungsten of Rhenium filament waardoor elektronen vrijkomen om het gas te bombarderen. Het zorgt tevens ook voor een acceleratie van de gecreëerde ionen (vanaf hier wel molecular flow).

Vanuit dit onderdeel komt de ionenmassa terecht in een magnetisch veld, waar de ionendeeltjes een afbuiging ondergaan, specifiek aan hun massa. Dit deelt de oorspronkelijke ionenstroom op in meerdere afzonderlijke. De ionenstromen met molecuulmassa's 44 ($C^{12}O^{16}O^{16}$), 45 (meestal $C^{13}O^{16}O^{16}$) en 46 (meestal $C^{12}O^{18}O^{16}$) komen tot slot terecht in ionendetectors, die het aantal ionen gedetecteerd omzet in een elektrisch signaal. Het is uit de ratio's van deze signalen, dat het isotopisch signaal wordt berekend, met name de ratio's van massa's 46 en 44 voor $\delta^{18}O$, en 45 en 44 voor $\delta^{13}C$ (Corfield, 1995). De software voert daarbij een correctie uit voor de invloed van zeldzame molecuulmassa's, zoals $C^{12}O^{17}O^{17}$ voor massa 46 (Craig correctie, Corfield, 1995).

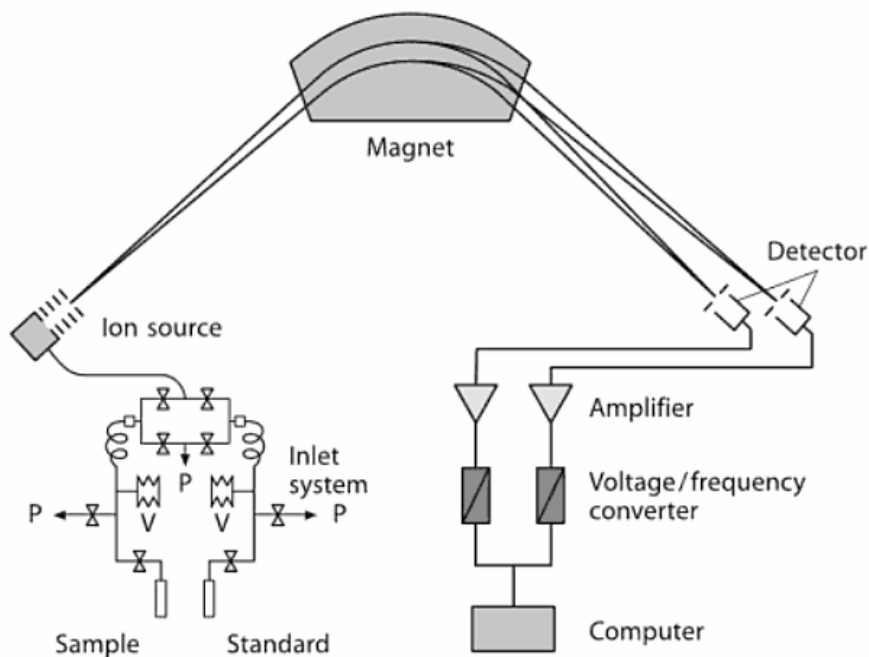
De reden waarom er met relatieve ratio's wordt gewerkt voor de berekening van isotopenwaarden, is dat het bepalen van absolute waardes zeer moeilijk is (Hoefs, 1997). Dat is ook de reden waarom isotopenwaardes altijd uitgedrukt staan in de deltanotatie, waarvan de definitie bestaat uit een vergelijking van de ratio van zware en lichte isotopen van een staal, ten opzichte van de ratio van een standaard (waarvan wel de absolute abundanties van de isotopen gekend zijn):

$$\delta = (R_{\text{staal}} - R_{\text{standaard}}) / R_{\text{standaard}} \cdot 1000 \text{ (naar Hoefs, 1997)}$$

met R telkens de verhouding van het zware isotoop ten opzichte van het lichte isotoop (vb. $^{18}O/^{16}O$).

Het symbool δ_c staat voor de isotopenwaarde van het geanalyseerde carbonaat zonder correctie voor de fractionatie van het zuur (zie vorige paragraaf). Voor koolstof geldt echter dat $\delta_{c, \text{koolstof}} = \delta^{13}C_{\text{PDB}}$, omdat de fosforzuurreactie geen fractionatie kan veroorzaken voor koolstof, waardoor het aragoniet van de otolieten meteen vergelijkbaar is met het calciet van de standaard. Voor zuurstof wordt omwille van de reden aangehaald in de vorige paragraaf, aangenomen dat dit analoog is ($\delta_{c, \text{zuurstof}} = \delta^{18}O_{\text{PDB}}$) (Rye and Sommer II, 1980). De notatie $\delta^X X$ kun je dus algemeen gezien begrijpen als een gecorrigeerde versie van de δ_x waarde.

De $\delta^X X$ -notatie is altijd de isotopenwaarde van het zwaardere isotoop, uitgedrukt ten opzichte van een standaard (voor meer uitleg over standaarden, zie volgende paragraaf). Uit bovenstaande vergelijking is af te leiden dat een positieve delta-waarde, een relatieve aanrijking betekent in het zware isotoop, ten opzichte van de standaard (isotopisch zwaarder). Een negatieve waarde betekent een relatieve aanrijking van het lichte isotoop ten opzichte van de standaard (isotopisch lichter).



Figuur 8.2: overzicht van de verschillende onderdelen van een massaspectrometer (Hoefs, 1997).

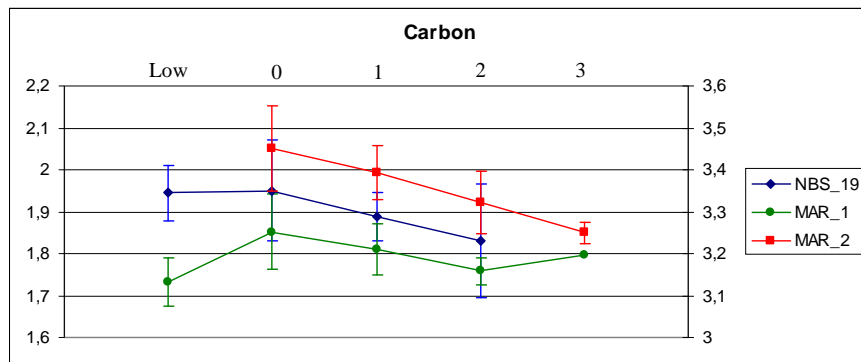
8.2. Nauwkeurigheid van de analyses

Om de nauwkeurigheid van de analyses te berekenen, werden bij elke analyserun standaard carbonaatstalen mee geanalyseerd. Vroeger was die standaard voor carbonaten de PDB (Peedee Belemnite), refererend naar een belemniet uit de Peedee Formatie (Krijt) in North Carolina, maar deze is tegenwoordig uitgeput en vervangen door nieuwe standaarden (Hoefs, 1997; Rye and Sommer II, 1980). Ter conventie en voor consistentie met vroeger, worden alle huidige analyses wel nog steeds uitgedrukt in PDB (Rye and Sommer II, 1980), ongeacht de gebruikte standaard, voor zowel $\delta^{18}\text{O}$ en $\delta^{13}\text{C}$ waarden. Resultaten van $\delta^{18}\text{O}$ kunnen ook worden uitgedrukt in SMOW, zodat een vergelijking met $\delta^{18}\text{O}$ -waarden van niet-carbonaatstalen waaronder water, waarbij altijd naar SMOW wordt gerefereerd, mogelijk wordt. De omzettingsformule van de PDB naar SMOW-schaal is:

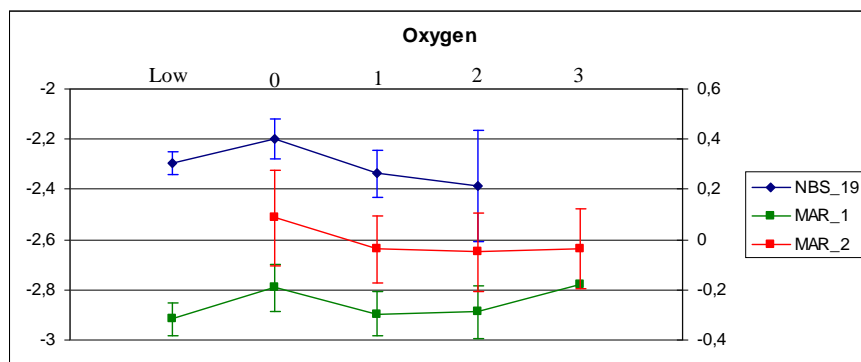
$$\delta^{18}\text{O}_{(\text{SMOW})} = 1.03091 \delta^{18}\text{O}_{(\text{PDB})} + 30.91 \text{ (Hoefs, 1997)}$$

De standaard gebruikt in het Stabiele Isotopenlab van de VUB is MAR2, aangemaakt in de Universiteit Gent en gecalibreerd met de wereldwijd vaker gebruikte NBS-19 ($\delta^{13}\text{C} = 3,45 \text{ ‰}$ en $\delta^{18}\text{O} = 0,09 \text{ ‰}$). De behaalde precisie op basis van de standaarddeviatie van de mee geanalyseerde standaarden is 0,06 ‰ of beter voor $\delta^{13}\text{C}$, en 0,18 ‰ of beter voor $\delta^{18}\text{O}$. Voor $\delta^{13}\text{C}$ is dit vergelijkbaar met de literatuur (vb. Høie et al., 2004); voor $\delta^{18}\text{O}$ is dit minder goed dan de waardes meestal geciteerd (vb. De Man, 2006). Mogelijk is een probleem in de massaspectrometer hiervoor verantwoordelijk.

Vooraleer de ruwe data te gebruiken voor interpretatie, werden twee standaardcorrecties uitgevoerd. De eerste is een correctie op basis van de mee geanalyseerde MAR2-standaarden. Daartoe werden de gemiddeldes berekend van de koolstof- en zuurstofwaarden van de standaarden per individuele analyserun. De afwijking van die gemiddeldes ten opzichte van de gecalibreerde waarden zopas vermeld, gelden dan als uit te voeren correcties op de bekomen waardes van de stalen. De tweede correctie is een expansie-correctie. Wanneer er zeer veel CO₂ vrijkomt na de zuurreactie in de Kiel, wordt daar automatisch slechts een deel van genomen om te analyseren in de massaspectrometer; en van dat deel ook slechts een deel als de hoeveelheid nog te veel blijkt te zijn. Dat kan mogelijk fractionatie met zich meebrengen, en het is dan ook nodig om voor één en twee expansies een correctie uit te voeren. Voor meer dan twee expansies wordt een correctie uitvoeren moeilijk. Dat is te zien op Figuur 8.3: voor zuurstof en koolstof is het effect nagegaan van expansies op drie soorten standaarden. Van links naar rechts vertegenwoordigen de punten het effect van te weinig vrijgekomen CO₂; een normale hoeveelheid vrijgekomen gas; 1 expansie; 2 expansies; 3 expansies. Uit de grafieken is af te leiden dat het effect voor 1 en 2 expansies quasi hetzelfde is, waardoor daar een betrouwbare correctie voor mogelijk is. Voor 3 expansies is het effect sterk variabel, en is het toepassen van een correctie daarvoor meer onbetrouwbaar. Voor koolstof zijn de gebruikte correcties + 0,06 ‰ voor 1 expansie en + 0,13 ‰ voor 2 expansies; voor zuurstof is dat + 0,12 ‰ en + 0,14 ‰ respectievelijk (gebaseerd op MAR2).



Figuur 8.3: het effect van expansies op drie standaarden, waaronder de internationale standaard NBS_19 en de standaard die in het lab van de VUB is gebruikt: MAR_2. “Low” staat voor te weinig vrijgekomen gas, “0” voor een normale hoeveelheid vrijgekomen gas, “1” voor één expansie, “2” voor twee expansies en “3” voor drie expansies. De schaal links is deze voor NBS_19, en deze rechts voor MAR_2. **Boven)** voor δ¹³C en **onder)** voor δ¹⁸O.



9. BEREKENING VAN DE KLIMAATSPARAMETERS EN STATISTIEK

9.1. Temperatuursberekeningen

9.1.1. Paleotemperatuursvergelijkingen (zuurstof)

Het opstellen van paleotemperatuursvergelijkingen voor zuurstof gaat terug tot het werk van onder meer de wetenschappers Urey, Emiliani, Epstein, McCrea en Craig omstreeks voorbij halfweg de vorige eeuw (voor een samenvatting, zie Lea, 2007; Maslin and Swann, 2005; Rye and Sommer II, 1980). Dit berust op de vaststelling dat de evenwichtsconstante voor isotopische uitwisselingen tussen twee stoffen temperatuursafhankelijk is (Hoefs, 1997; Rye and Sommer II, 1980). Die uitwisselingsreacties worden vervolgens zo geschreven, dat de evenwichtsconstante gelijk is aan α , de fractionatiefactor:

$$\alpha_{A-B} = (1 + \delta_A/1000)/(1 + \delta_B/1000) \text{ (Rye and Sommer II, 1980)}$$

waardoor deze op zijn beurt eveneens temperatuursafhankelijk is. Onder 500 °C geldt dan dat temperatuursvergelijkingen de volgende algemene vorm aannemen:

$$1000 \cdot \ln \alpha_{A-B} = A/T^2 + B \text{ (naar Hoefs, 1997).}$$

Indien aan een aantal voorwaarden is voldaan, kan deze vergelijking uitgewerkt worden voor de relatie tussen de temperatuur van het omgevingswater waarin een organisme leeft of leefde, en de fractionatiefactor van zuurstof tussen het omgevingswater en het aangemaakte biocarbonaat. Dergelijke vergelijkingen zijn reeds opgesteld voor onder meer foraminiferen (vb. Shackleton, 1974 in Lea, 2007), biogeen aragoniet in het algemeen (Grossman and Ku, 1986) en otolieten (Høie et al., 2004; Kalish, 1991; Patterson et al., 1993; Storm-Suke et al., 2007; Thorrold et al., 1997). De voorwaarden voor alle vergelijkingen zijn de volgende (Rye and Sommer II, 1980):

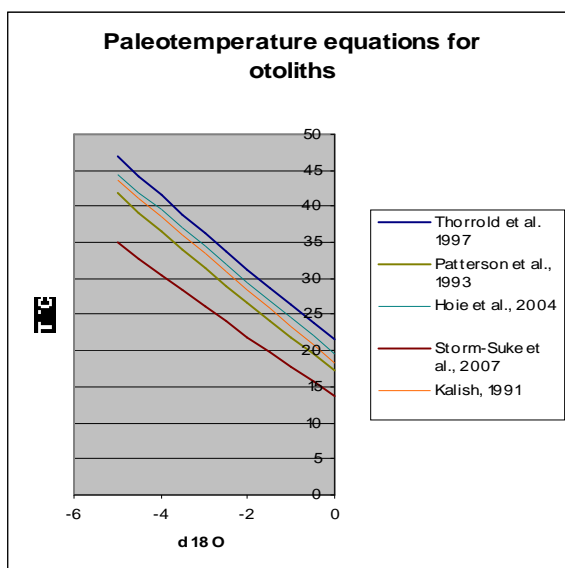
- ▶ de twee stoffen waartussen fractionatie gebeurt moeten allebei in isotopisch evenwicht zijn gevormd
- ▶ de evenwichtsfractionatie moet op zo'n wijze temperatuursafhankelijk zijn, dat de temperatuursvariaties meetbaar zijn
- ▶ het evenwicht moet onveranderd bewaard blijven doorheen de tijd.

De vergelijkingen voor otolieten zijn nauwelijks te onderscheiden van elkaar qua helling, maar verschillen wel qua intercept (Dufour, 2008, Figuur 9.1). Ook de wijze waarop de vergelijkingen zijn opgesteld verschilt van vergelijking tot vergelijking. Dit gebeurde immers steeds met gekweekte vissen onder specifieke omstandigheden, en ofwel met zoetwatervissen (vb. Patterson et al., 1993), ofwel mariene vissen (vb. Thorrold et al., 1997). Welke vergelijking dan best dient voor een berekening van paleotemperaturen, is dan ook deels

subjectief. De twee meest gebruikte zijn die van Patterson en Thorrold (Dufour, 2008). De Man (2006) opteerde voor otolieten uit het Noordzeebekken de vergelijking van Patterson, omdat deze vergelijking het beste overeenkomt met het thermodynamisch evenwicht. Daarentegen gebruiken Price et al. (2009) de formule van Thorrold, voor otolieten van Jura ouderdom van het Noordzeebekken, omdat deze gebaseerd is op mariene vissen. Het lijkt aannemelijk voor deze thesis deze laatste redenering te volgen, en bijgevolg zullen de resultaten besproken worden in termen van temperaturen verkregen door de formule van Thorrold. Het komt er daarbij op aan de verkregen temperaturen niet te overinterpreteren (De Man, 2006). Op basis van hun resultaten argumenteren Storm-Suke et al. (2007) bovendien voor het opstellen van taxonspecifieke fractionatieformules, iets wat ongetwijfeld speculaties omtrent de keuze van een vergelijking zal doen wegnemen. Hieronder volgen de huidige beschikbare paleotemperatuursvergelijkingen, die staan weergegeven in Figuur 9.1:

- ▶ $\delta^{18}\text{O}_m = 3,58 - 0,196 \cdot (T \text{ } ^\circ\text{C})$ (Kalish, 1991, met $\delta^{18}\text{O}_m$ de gemeten isotopenwaarde)
- ▶ $1000 \cdot \ln\alpha = 18,56 \cdot 10^3 \cdot (T \text{ K}^{-1}) - 33,49$ (Patterson et al., 1993)
- ▶ $1000 \cdot \ln\alpha = 18,56 \cdot 10^3 \cdot (T \text{ K}^{-1}) - 32,54$ (Thorrold et al., 1997)
- ▶ $1000 \cdot \ln\alpha = 16,75 \cdot 10^3 \cdot (T \text{ K}^{-1}) - 27,09$ (Høie et al., 2004)
- ▶ $1000 \cdot \ln\alpha = 20,69 \cdot 10^3 \cdot (T \text{ K}^{-1}) - 41,69$ (Storm-Suke et al., 2007)

Alle bovenstaande vergelijkingen hebben een belangrijke implicatie: de δ_w , de isotopenwaarde van het water, moet gekend zijn. Aangezien deze waarde niet direct afleesbaar is in het fossiel archief, en vaak moet geschat worden onder assumpties, vormt dit de grootste moeilijkheid en uitdaging bij het interpreteren van de $\delta^{18}\text{O}$ van het carbonaat, en bijgevolg de daaruit afgeleide temperaturen (vb. Corfield, 1995). Voor meer, zie Deel C.



Figuur 9.1: overzicht van de tegenwoordig beschikbare paleotemperatuursvergelijkingen voor otolieten, met hier de temperatuur in functie van een reeks $\delta^{18}\text{O}$ -waarden en $\delta_w = 0,00$.

Opmerking: zoals in de titel van deze paragraaf vermeld, geldt dat in otolieten slechts zuurstofisotopen, en niet koolstofisotopen, fractioneren in evenwicht met het omgevingswater waarin de vissen, waarvan de otolieten afkomstig zijn, leefden. Het is immers ondervonden en algemeen bevestigd dat de opgeloste anorganische koolstof, niet in evenwicht precipiteert, en dat een vitaal effect (waarschijnlijk metabolisch) dit veroorzaakt (Høie et al., 2003; Thorrold et al., 1997).

9.1.2. Berekening van de klimaatsparameters

► Gemiddelde jaartemperaturen (MAT)

Gemiddelde jaartemperaturen werden berekend op basis van bulk samples (zie paragraaf 7.2). Deze stalen zijn een gemiddelde van het carbonaat van meerdere groeilijnen, en dus van meerdere seizoenen. Ter controle is van otolieten waarvan ook incrementstalen zijn genomen, het gemiddelde genomen van de isotopenwaardes van alle incrementen, rekening houdend met geboorde volume (alternatieve bulkberekening).

► Gemiddelde jaarlijkse range in temperatuur (MART)

De range in jaarlijkse temperatuur is het verschil tussen de maximum- en minimumtemperatuur van een seizoen, op basis van incrementanalyses. De gemiddelde jaarlijkse range is dan het gemiddelde van deze verschillen. Het nemen van gemiddeldes is belangrijk, aangezien de methodiek van het boren niet feilloos is, zoals in paragraaf 7.3 besproken. Het relatief overschouwen van MART-temperaturen in een tijds kader, is bijgevolg minder speculatief dan het gebruik van absolute temperaturen.

► Seizoenale maxima en minima

Deze zijn per otoliet het verschil tussen de gemiddelde maximumtemperaturen, en de gemiddelde minimumtemperaturen. Dit uiteraard eveneens op basis van incrementanalyses, en rekening houdend met dezelfde opmerking als vorig punt.

9.2. Verwerking van de gegevens

Het merendeel van de verwerking van de gegevens gebeurde aan de hand van Microsoft Excel 2000, aangevuld met statistische tests in Statistica 8.0 (StatSoft). De uitgevoerde tests dienden om te kunnen kwantitatief verifiëren of twee of meer groepen continue variabelen significant verschillend zijn van elkaar of niet, ongeveer analoog aan de tests die De Man (2006) heeft gedaan op haar gegevens. Dat kan door na te gaan of de gemiddelden van die groepen significant verschillen, wat op zijn beurt kan met een ongepaarde t-test of een one-way ANOVA. De ongepaarde t-testen veronderstellen echter gelijke varianties om groepen gegevens te kunnen vergelijken met elkaar. Daarom is vooraleerst een Levene's test uitgevoerd, die dit nagaat. Werd de gelijkheid van varianties verworpen, dan ($p \leq 0,05$), dan werd beroep gedaan op de aangepaste t-test voor ongelijke varianties, of Welch test. Was dat niet het geval, dan werd de ongepaarde t-test gebruikt (twee variabelen) of ANOVA (meer dan twee variabelen). In alle gevallen werd de nulhypothese van gelijke gemiddelden verworpen als $p \leq 0,05$.

DEEL C

RESULTATEN EN INTERPRETATIE: SEIZOENALITEIT IN EEN BROEIKASWERELD

- ▶ BULK ANALYSES
- ▶ INCREMENTANALYSES
- ▶ INFORMATIE UIT CROSSPLOTS
- ▶ CORRECTIES VOOR UITMIDDELING EN NIET-LINEAIRE GROEISNELHEID

Dit derde deel bespreekt de bekomen resultaten, en wat er is uit af te leiden. Eerst komen de bulkstalen aan bod. Die geven informatie over de gemiddelde jaartemperatuur omstreeks het Vroeg-Eocene klimaatoptimum. Vervolgens is het de beurt aan de resultaten van de incrementstalen, die laten zien dat er tijdens het klimaatoptimum seizoenaliteit aanwezig was. Het derde deel combineert alle beschikbare data grafisch in de vorm van enkele crossplots. Deze tonen aan dat er taxonomische verschillen in de gegevens op familie- of genusniveau lijken te bestaan, waardoor enkele bulkdata moesten worden herzien. Het vierde en laatste deel besteedt aandacht aan enkele nog niet eerder uitgevoerde correcties op de isotopendata: een correctie voor uitmiddelingfouten bij het boren, en een correctie voor niet-lineaire groeisnelheden.

10. BULKANALYSES

10.1. Resultaten

In totaal zijn er 261 isotopenanalyses uitgevoerd (Appendix 3), waarvan het merendeel incrementdata. Dat is minder dan oorspronkelijk gedacht, en bovendien is iets meer dan 23 % van die 261 analyses onbruikbaar. Dit is te wijten aan problemen met het Kiel-apparaat en de massaspectrometer (zie Appendix 1 voor een verantwoording). De meeste voorziene bulkanalyses (Appendix 4) zijn evenwel gespaard gebleven van problemen, en hun resultaten komen hieronder aan bod.

► Vergelijking tussen isotopendata van inner bulk- en total bulkstalen

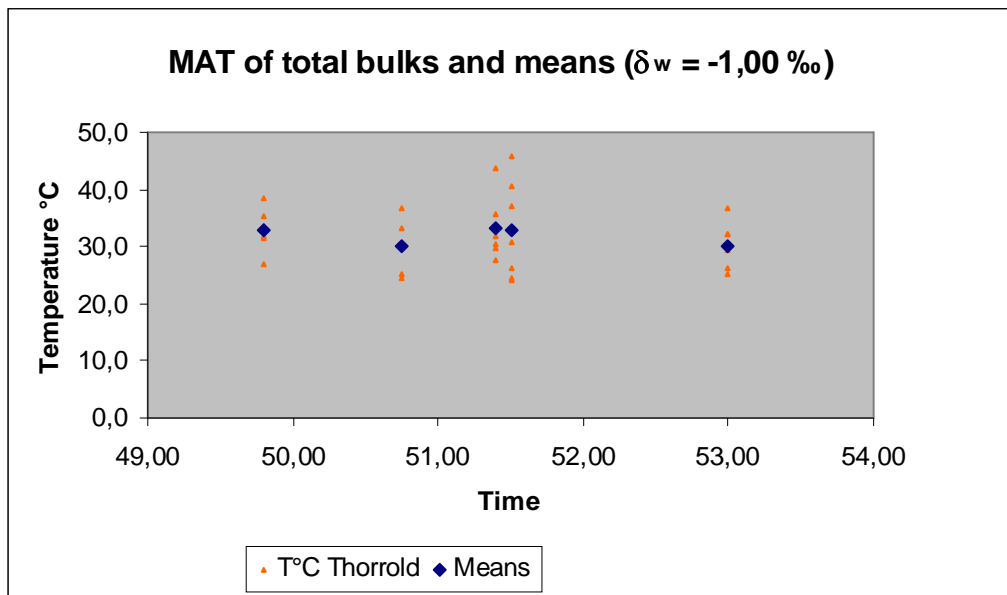
Ter evaluatie van de totale bulkdata (Appendix 4), is telkens per total bulkstaal ook een inner bulkstaal geanalyseerd (zie Hoofdstuk 7). Bij inner bulkdata is de rand van de otoliet niet mee geboord, om eventuele aantastingen van het isotopisch signaal door diagenese te vermijden. Als bulkstalen reproduceerbaar zijn, zou bij afwezigheid van uitgesproken diagenetische effecten de isotopenwaarde van een inner bulkstaal niet veel mogen afwijken van die van een outer bulkstaal. Van een hele groep gegevens, mag er zich dan bovendien geen systematische significante afwijking voordoen van de inner bulkstalen ten opzichte van de outer bulkstalen. Dat is hier nagegaan voor alle otolieten waarvan beide bulkwaardes beschikbaar zijn: er bleek geen statistisch verschil, voor zowel $\delta^{13}\text{C}$ (Levene's test $p=0,920$; t-test $p=0,826$); als voor $\delta^{18}\text{O}$ (Levene's test $p=0,687$; t-test $p=0,876$).

Voor een zelfde evaluatie per stratigrafisch niveau afzonderlijk waren er te weinig data. Wel is kwalitatief beschouwd of de minder goed bewaarde otolieten van klasse C (Zanden van Aalter) uit Hoofdstuk 6, opvallen tussen de andere waardes qua verschil in bulkwaarden. Dat is niet het geval.

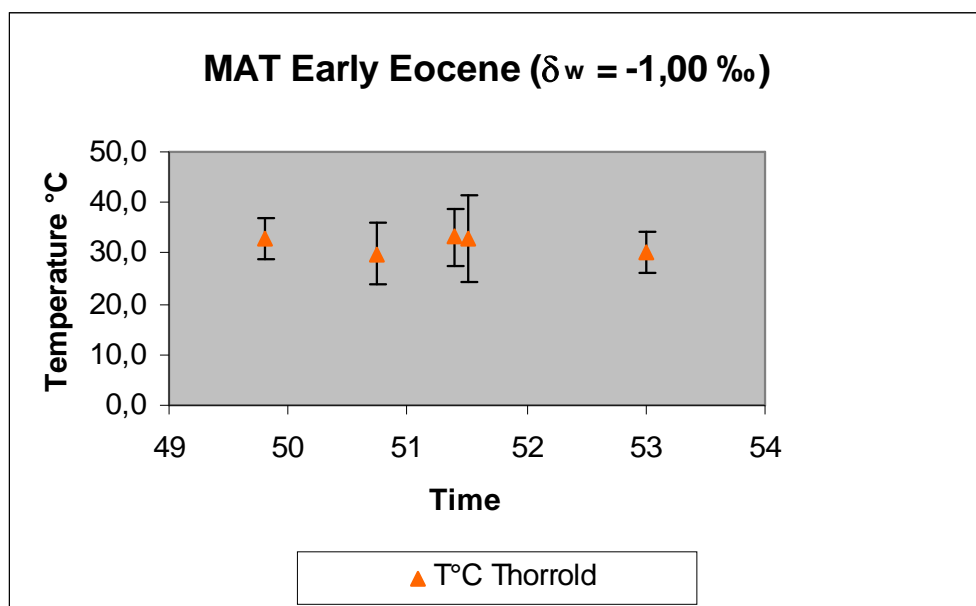
► Alternatieve bulkberekening

Als extra controle op de kwaliteit van de bulkgegevens, is een alternatieve bulkberekening uitgevoerd, op basis het gemiddelde van de individuele incrementdata van otolieten die daarvoor zijn gesampled. Die werden dan vergeleken met de echte (total) bulkdata van die otolieten. Omdat louter het gemiddelde nemen geen rekening houdt met de grootte van de geboorde stalen, is ook een reeks alternatieve bulkgegevens berekend aan de hand van gewogen gemiddeldes per otoliet. Deze zijn gebaseerd op de geschatte volumes van de geboorde incrementlijntjes. Er bleek statistisch (zie paragraaf 9.2 voor uitleg) echter geen

verschil tussen de gewone gemiddeldes en de gewogen gemiddeldes, voor zowel $\delta^{13}\text{C}$ (Levene's test $p=0,967$; t-test $p=0,857$); als voor $\delta^{18}\text{O}$ (Levene's test $p=0,748$; t-test $p=0,661$). Bovendien bleek er geen verschil tussen beide types alternatieve bulkberekeningen in vergelijking met de reële bulkdata, eveneens voor zowel $\delta^{13}\text{C}$ (ANOVA $p=0,982$); als voor $\delta^{18}\text{O}$ (ANOVA $p=0,830$). Samengevat blijken hierdoor de reële bulkdata betrouwbaar te zijn, en blijkt het anderzijds mogelijk om reële bulkdata te benaderen via de berekening van incrementdata, zonder daarvoor een correctie te hoeven uitvoeren voor de grootte van de boorstalen (althans niet indien ze geboord zijn zoals in Hoofdstuk 7 beschreven). Uit deze paragraaf volgt ten slotte dat total bulkstalen reproduceerbaar zijn.



Figuur 10.1: gemiddelde jaarlijkse temperaturen per stratigrafisch niveau en hun gemiddeldes, omstreeks het EECO in het zuidelijke Noordzeebekken.



Figuur 10.2: gemiddelde jaarlijkse temperaturen van het zuidelijke Noordzeebekken omstreeks het EECO, en bijhorende standaarddeviatie.

10.2. Discussie

10.2.1. $\delta^{18}O$ -waarden

► Keuze van de δ_w -waarde

Voor het berekenen van temperaturen van bulkdata, is kennis over de isotopische samenstelling van het toenmalige zeewater nodig. Dat kan door ‘absolute’ temperatuursinformatie van het zeewater te koppelen aan zuurstofisotopengegevens van foraminiferen (Lear, 2007). Als die absolute temperatuur afwijkt ten opzichte van de berekende temperatuur op basis van de isotopendata, dan leert het verschil tussen beide – in termen van per mill – iets over de samenstelling van het zeewater (door het effect van variaties in de grootte van continentale ijskappen). Die absolute temperatuursinformatie is meestal de temperatuursafhankelijke Mg/Ca-verhouding van foraminiferen (Lear, 2007). Diezelfde verhouding kan ook worden nagegaan door de analyse van vloeibare insluitsels in evaporieten, of door modelleringen.

Omstreeks het EECO, rond 50 Ma, was de Aarde waarschijnlijk ijsvrij, wat een continue waarde voor δ_w oplevert van -1,00 ‰ (Lear, 2007). Binnen specifieke bekkens kan die δ_w – waarde echter afwijken van het gemiddelde voor een bepaalde periode, door de menging van isotopisch verschillende watermassa’s, zoals de influx van rivierwater. Voor de Noordzee zijn daar echter nauwelijks data over bekend. Volgens Zacke et al. (in press) was het Noordzeebekken omstreeks het vroegste Ypresiaan onderhevig aan menging met rivierwater, waardoor toen de δ_w -waardes een stuk lager moeten geweest zijn dan het (oceanisch) gemiddelde voor die tijd (zie ook volgend Hoofdstuk). Voor de periode van het EECO, zijn voor dergelijke waardes echter geen argumenten. Daarom is hier bij de berekeningen steeds gekozen voor een δ_w van -1,00 ‰. In Appendix 3 zijn echter van alle data ter informatie ook temperaturen berekend met een δ_w van -1,20 ‰ en -1,50 ‰, voor zowel de formule van Thorrold et al. (1997) als die van Patterson et al. (1993). Ze kunnen bruikbaar zijn in toekomstig onderzoek, mocht blijken dat het Noordzeewater omstreeks die tijd toch af heeft geweken van de gemiddelde waarde van -1,00 (keuze voor meer negatieve waardes omdat de inmenging van licht zoet water de meeste kans maakt om te hebben plaats gegrepen).

► Algemeen patroon en EECO-temperaturen

Figuur 10.1 geeft de ligging van de total bulkstalen qua temperatuur weer in functie van de tijd, alsook de MAT (gemiddelde jaartemperatuur, paragraaf 9.1.2) per niveau. Deze figuur laat een grote spreiding zien van de data. Sommige datapunten beschikken daarbij over

onrealistisch hoge temperaturen (meer dan 40°C). Dit kan verschillende oorzaken hebben: misschien voldoet de temperatuursvergelijking van Thorrold et al. (1997) niet, of misschien hebben de vissen slechts in hoofdzaak zomertemperaturen vastgelegd in het carbonaat van hun otolieten. Misschien zijn de isotopenwaardes het resultaat van de invloed van lokale zoetwaterinmenging, en zijn daardoor de temperaturen overschat. Dit argumenteert tegen het gebruik van slechts één of enkele otolieten per stratigrafisch niveau, om er een gemiddelde temperatuur van uit af te leiden. Het werken met gemiddelde waardes gebaseerd op een voldoende aantal otolieten per niveau daarentegen, biedt een meer robuuste aanpak, en zal erratische data over het algemeen uitmiddelen. Die aanpak is hier gevolgd, en leidde tot Figuur 10.2. Daarbij zijn de gemiddelde waardes per niveau opnieuw weergegeven, maar ditmaal voorzien van een standaarddeviatie berekend aan de hand van alle bulkstalen per niveau.

Op Figuur 10.2 is geen duidelijke evolutie in gemiddelde jaartemperaturen te zien. Om dit statistisch na te gaan, is een ANOVA-analyse van alle niveau's gedaan, en deze bleken onderling niet van elkaar te verschillen (ANOVA $p=0,0815$). Dat houdt in, dat op basis van de uit deze thesis naar voor gekomen bulkstalen, er gedurende ca. vier miljoen jaar lang een stabiel regionaal klimaat heerste in het zuidelijke Noordzeebekken. Dat houdt ook in, dat er geen discriminatie kan worden gemaakt tussen de temperaturen tijdens het eigenlijke EECO, omstreeks 50-52 Ma, en de periode daar net voor, omstreeks 53 Ma. Mogelijk was het EECO niet uitgesproken aanwezig in het Noordzeebekken, daarvoor argumenteren ook Zacke et al. (in press, figure 2), op basis van stabiele isotopen van haaiantanden. Een andere optie is dat de data van 53 Ma (Zanden van Mons-en-Pévèle) overschat zijn, wegens influx van zoet water in het Noordzeebekken (zie groene box omstreeks 53 Ma, figure 2, Zacke et al., in press).

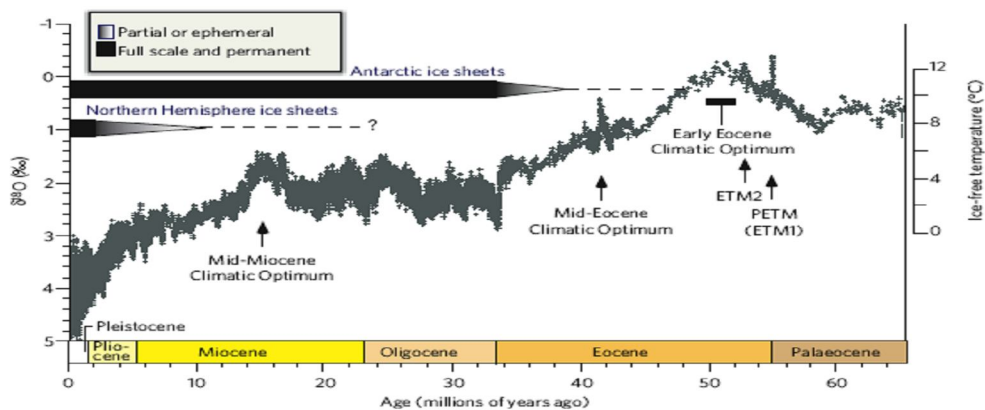
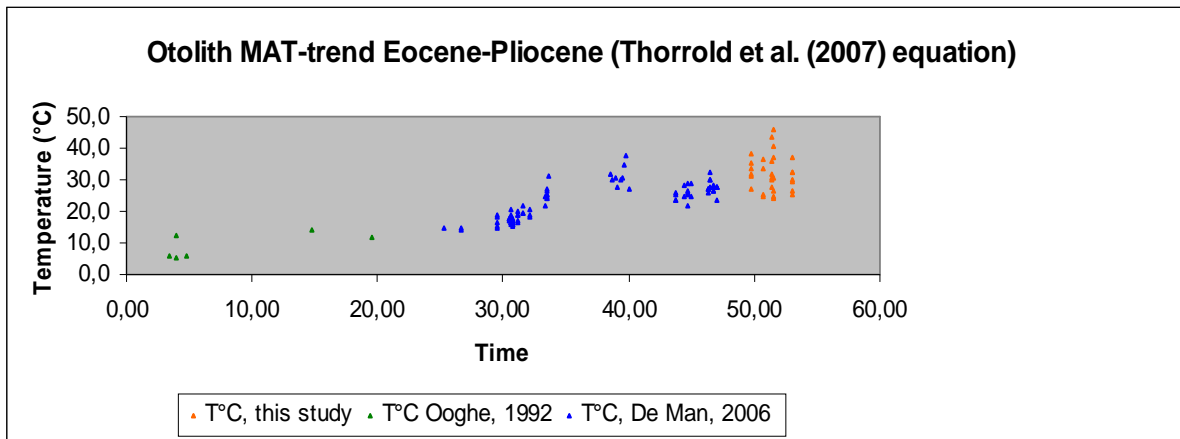
De gemiddelde jaartemperatuur gedurende het Vroeg-Eoceen, en dus ook gedurende EECO, bedraagt op basis van deze thesis en volgens de formule van Thorrold et al. (1997) 31,64 °C. Dat is ca. 20 °C warmer dan vandaag de dag (www.meteo.be). Ivany et al. (2004b) bekwamen op basis van stabiele isotopendata van *Venericardia*-bivalven uit het Vroeg-Eoceen een vergelijkbare waarde van ca. 31°C. Deze zijn wel afkomstig uit een veel zuidelijker gelegen gebied, met name de Golf van Mexico, en bovendien hebben Ivany et al. (2004b) deze waarde teruggeschroefd tot ca. 26°C, door een herinterpretatie in functie van seizoensale zoetwaterinflux in het bekken (zie Hoofdstuk 11.2.1).

In het kader van de saliniteit van het Noordzeebekken en de invloed daarvan op isotopenwaardes, is er ook een interessante discussie gevoerd omtrent de publicatie van Andreasson and Schmitz (1996) (zie ook paragraaf 11.2.1). Zij argumenteerden aan de hand van zuurstofisotopendata van *Turritella*-bivalven uit het Bekken van Parijs voor gemiddelde jaartemperaturen tijdens het Lutetiaan van 21 °C. Het kwam erop neer dat Klein en Fricke (1997) de temperatuurschatting van Andreasson and Schmitz (1996) te hoog vonden, en Purton and Brasier (1997) te laag. Beide gaven ze redenen aan die terugvielen op de saliniteit van het bekken in kwestie. De data uit het Lutetiaan van De Man (2006) geven in elk geval hogere gemiddelde jaartemperaturen aan dan die van Andreasson and Schmitz (1996): 23 °C tot zelfs 25,5 °C omstreeks 46,5 Ma (via paleotemperatuursformule van Patterson et al., 1993). De hoge gemiddelde temperaturen die uit de hier gepresenteerde studie naar voor zijn gekomen, liggen daarmee in de lijn van deze van De Man (2006).

Samengevat blijkt dat, gezien de mogelijkheid dat variaties in zeewatersamenstelling de temperatuursberekening bemoeilijken, het niet eenvoudig is de absolute waarde van gemiddelde jaartemperaturen te evalueren en éénduidig te interpreteren. Meer onderzoek, met meer gegevens en in combinatie met andere proxies lijkt daarom aangewezen in de toekomst.

► Vroeg-Eocene tot Pliocene trend in gemiddelde jaartemperaturen

Tot slot is het mogelijk om de gemiddelde jaartemperaturen van het Vroeg-Eoceen, gebaseerd op bulkgegevens van otolieten van deze thesis, samen te voegen met analoge data van De Man (2006) en Ooghe (1992) (Figuur 10.3). Alle isotopendata zijn omgezet naar een temperatuur via de vergelijking van Thorrold et al. (1997), en voor δ_w is voor de data uit het hier gepresenteerde onderzoek zoals besproken -1,00 ‰ genomen, voor deze van De Man (2006) diegene die zij heeft genomen, en voor deze van Ooghe (1992) 0,00 ‰. Alhoewel de gegevens van het Mioceen en Plioceen zeer schaars zijn, valt meteen de gelijkensis op met de curve van Zachos et al. (2008). Zowel het Vroeg-Eocene als Mid-Eocene klimaatsoptimum, alsook de afkoeling omstreeks de overgang Eoceen-Oligoceen, komen duidelijk uit de data naar voor. Deze bevestiging is op zijn beurt een sterke argumentatie voor het gebruik van otolieten als een volwaardige paleotemperatuursproxy.

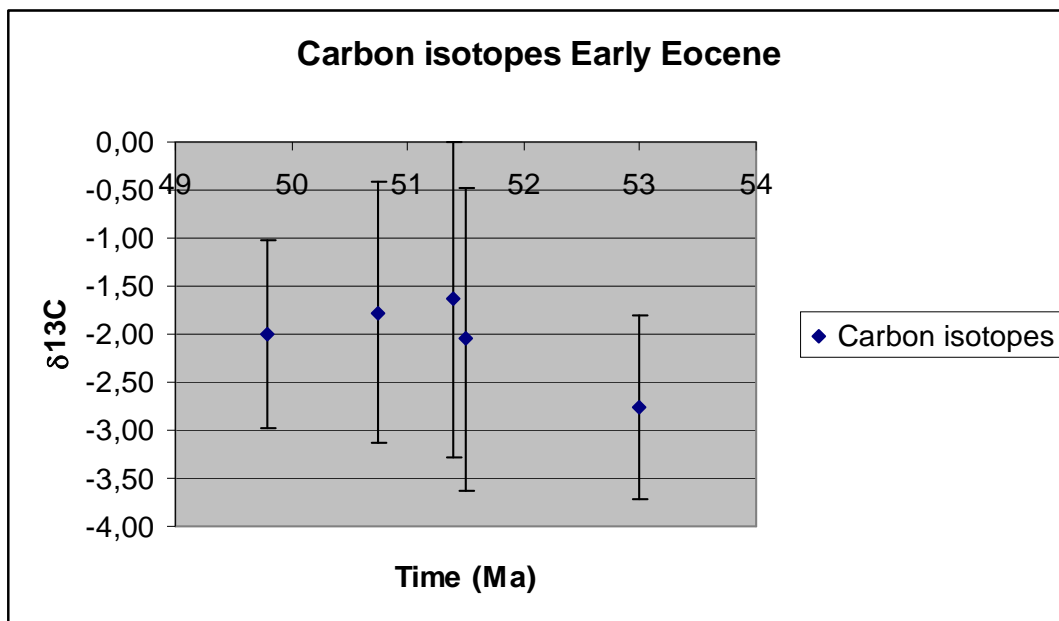


Figuur 10.3: **boven**) gemiddelde jaarlijkse temperatuurstrend van het Eoceen t.e.m. het Pliocene, omstreeks het EECO in het zuidelijke Noordzeebekken, op basis van bulkisotopendata van otolieten; **onder**) ter vergelijking de zuurstofisotopencurve van Zachos et al. (2008)., gebaseerd op benthische diepzee-foraminiferen.

10.2.1. $\delta^{13}C$ -waarden

Op Figuur 10.4 zijn de gemiddelde koolstofisotopendata voor het Vroeg-Eoceen die uit deze thesis naar voren gekomen zijn, weergegeven. Opvallend is de zeer grote variabiliteit binnen alle niveau's. Hoe dat kan verklaard worden is onduidelijk. Zoals in paragraaf 4.2 vermeld, is tot 30 % van het koolstof van metabolische oorsprong, wat interpretaties van koolstofwaarden aanzienlijk bemoeilijkt. Patterson et al. (1999) maken voor hun data gebaseerd op otolieten uit het Jura, wel een vaag onderscheid tussen isotopisch zware en lichte groepen, als indicator voor het leefmilieu waarin de vissen waarvan de otolieten afkomstig zijn leefden. Op een vergelijkbare wijze zou je kunnen argumenteren dat de data van de Zanden van Mons-en-Pévèle (ouderdom 53 Ma, Figuur 10.4) beduidend lager liggen dan de andere waarden. Dit zou kunnen te wijten zijn aan de invloed van isotopisch lichtere watermassa's, zoals reeds hoger besproken voor zuurstofisotopen (Zacke et al., in press). Multiproxyonderzoek is

aangewezen om de variabiliteit in koolstofwaardes te kunnen verklaren. Een meer gedetailleerde studie, van de variabiliteit in koolstofisotopendata binnen één localiteit of niveau, was hier verder zinloos wegens te weinig interpreteerbare data. Door de operationele problemen vermeld in Appendix 1 tot slot, is een evaluatie van de koolstofdata tussen laterale equivalenten onmogelijk geworden.



Figuur 10.4: gemiddelde koolstofisotopendata met bijhorende standaarddeviatie, van het zuidelijke Noordzeebekken omstreeks het EECO.

11. INCREMENTANALYSES

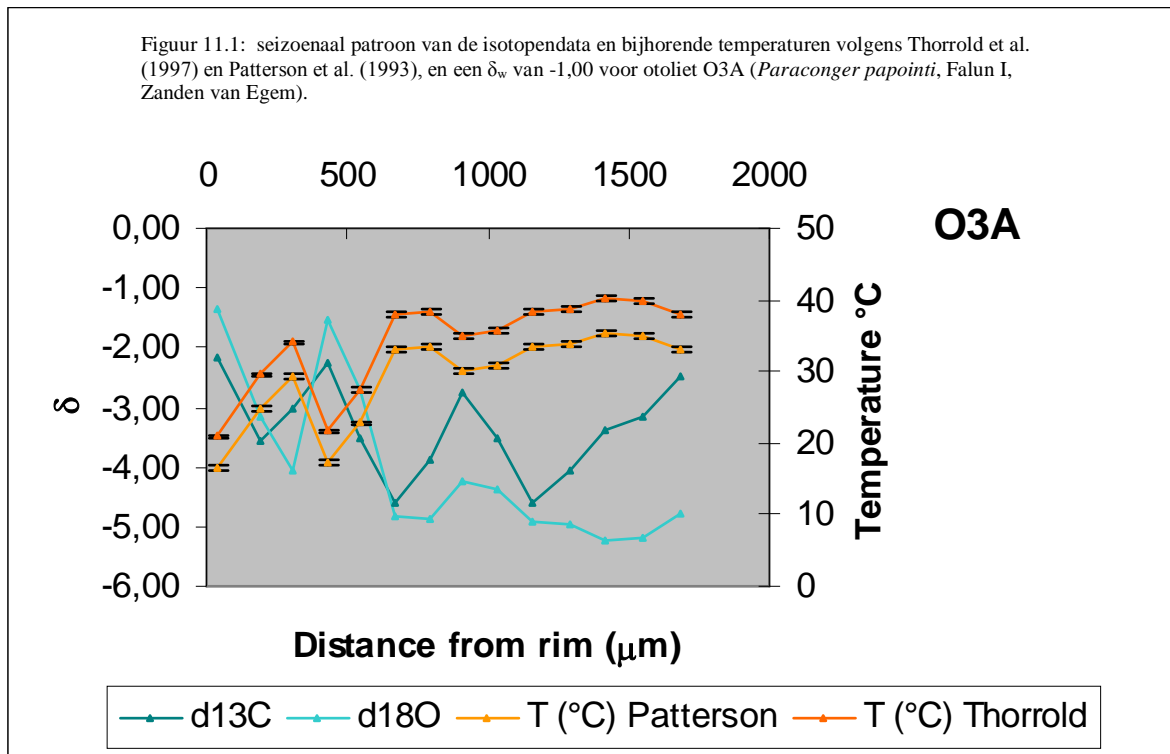
11.1. Resultaten

In Appendix 5 staan de incrementgegevens van 11 bruikbare otolieten weergegeven, met bijhorende temperatuursberekening aan de hand van de formules van Thorrold et al. (1997) en ter vergelijking ook Patterson et al. (1993). Dit is slechts ca. de helft van het oorspronkelijk voorziene aantal, wat te wijten is aan operationele problemen (Appendix 1). Opvallend aan de patronen, is dat ze uitgesproken variaties laten zien, die meestal de neiging hebben cyclisch te zijn voor zowel zuurstof- als koolstofisotopen. Die variaties lopen op tot ongeveer 4 % binnen eenzelfde otoliet. Ondanks dat die patronen niet steeds éénduidig te interpreteren zijn in termen van seizoenale dan wel sub-seizoenale variaties, zijn (sub)maxima en (sub)minima van de data gebruikt voor de berekening van seizoenale parameters. Dit door het visueel beoordelen en evalueren van die (sub)extremen. De beste aanwijzing voor een seizoenaal patroon komt van otoliet O3A (Figuur 11.1).

| OID | Soort* | Ouderdom | MART | MOR | MST | MWT |
|--|--------|----------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|
| O2B | NS | 49,8 | 13,0 | 13,0 | 31,3 | 18,4 |
| O2D | NS | 49,8 | 13,9 | 20,0 | 35,3 | 21,4 |
| O3A | PP | 51,5 | 10,2 | 19,3 | 40,2 | 20,9 |
| O3D | PP | 51,5 | 5,9 | 11,0 | 30,0 | 24,1 |
| O4A | NS | 51,5 | 2,0 | 5,4 | 27,1 | 24,6 |
| O5A | PP | 51,4 | 6,1 | 10,4 | 41,3 | 35,0 |
| O5B | PP | 51,4 | 7,0 | 11,6 | 37,0 | 30,0 |
| O7A | PP | 50,75 | 4,5 | 11,8 | 32,5 | 28,1 |
| O7B | PP | 50,75 | 14,2 | 14,2 | 34,4 | 20,2 |
| O10E | GP | 53 | 11,8 | 11,8 | 32,3 | 20,6 |
| O11B | NS | 53 | 3,6 | 5,4 | 38,2 | 33,9 |
| Gemiddelde | | | 8,4 | 12,2 | 34,5 | 25,2 |
| Boven: data van alle otolieten | | | Onder: data per soort apart | | | |
| NS | O2B | 49,8 | 13,0 | 13,0 | 31,3 | 18,4 |
| NS | O2D | 49,8 | 13,9 | 20,0 | 35,3 | 21,4 |
| NS | O4A | 51,5 | 2,0 | 5,4 | 27,1 | 24,6 |
| NS | O11B | 53 | 3,6 | 5,4 | 38,2 | 33,9 |
| Gemiddelde | | | 8,1 | 10,9 | 33,0 | 24,6 |
| PP | O3A | 51,5 | 10,2 | 19,3 | 40,2 | 20,9 |
| PP | O3D | 51,5 | 5,9 | 11,0 | 30,0 | 24,1 |
| PP | O5A | 51,4 | 6,1 | 10,4 | 41,3 | 35,0 |
| PP | O5B | 51,4 | 7,0 | 11,6 | 37,0 | 30,0 |
| PP | O7A | 50,75 | 4,5 | 11,8 | 32,5 | 28,1 |
| PP | O7B | 50,75 | 14,2 | 14,2 | 34,4 | 20,2 |
| Gemiddelde | | | 8,0 | 13,0 | 35,9 | 26,4 |
| GP | O10E | 53 | 11,8 | 11,8 | 32,3 | 20,6 |
| *Soort: PP = <i>Paraconger papointi</i> , NS = " <i>Neobythitinerum subregularis</i> " en GP = <i>Glyptophidium polli</i> MART = gemiddelde jaarlijkse temperatuursrange (zie paragraaf 9.1.2) MOR = maximale temperatuursrange van een otoliet MST = gemiddelde zomertemperatuur MWT = gemiddelde wintertemperatuur (alle temperaturen in °C, berekend volgens Thorrold et al. (1997) en met een δ_w van -1,00) | | | | | | |

Tabel 11.1: overzicht van de berekende seizoenale parameters, van 11 otolieten.

Figuur 11.1: seizoenal patroon van de isotopendata en bijhorende temperaturen volgens Thorrold et al. (1997) en Patterson et al. (1993), en een δ_w van -1,00 voor otoliet O3A (*Paraconger papointi*, Falun I, Zanden van Egem).



11.2. Discussie

11.2.1 $\delta^{18}O$ -waarden

Hoewel een gebrek aan data een statistische evaluatie onmogelijk maakt, blijkt een kwalitatieve beschouwing van de berekende seizoenale parameters nuttig. Vooreerst lijkt er geen éénduidige evolutie te zijn, in alle parameters, doorheen de tijd. De waardes variëren vaak wel sterk van otoliet tot otoliet. Dat is geen effect van intertaxonverschillen, want per soort komen de gemiddelde waardes van de parameters opvallend overeen, vooral wat temperatuursranges betreft. Dat is een aanwijzing dat beide soorten op een zelfde (kwantitatieve) manier dezelfde seizoenale variaties inbouwen in hun carbonaat; wat een pluspunt is voor het gebruik van beide soorten als proxy hiervoor. De gemiddelde zomer- en wintertemperaturen berekend uit data van otolieten van het genus "*Neobythitorum subregularis*" zijn wel iets lager dan deze van *Paraconger papointi*. Dit zal met meer data waarschijnlijk consistent zo blijven, omdat ook uit crossplots blijkt dat er een verschil is tussen beide soorten in de temperatuur die zij elk opleveren (zie Hoofdstuk 12). Over *Glyptophidium polli* kan geen uitspraak volgen, wegens te weinig gegevens.

De data in Tabel 11.1 laten concreet zien dat de gemiddelde jaarlijkse range in temperaturen tijdens omstreeks het EECO ca. 8,5 °C heeft bedragen, met maximale ranges per otoliet tot ca. 12 °C. De gemiddelde zomertemperatuur bedroeg ca. 35,5 °C en de gemiddelde wintertemperatuur ca. 25 °C; deze seizoenale extremen zijn echter onderhevig aan de keuze van de paleotemperatuursvergelijking, en dienen niet te worden overgeïnterpreteerd op hun absolute waarde. Wel laten ze in elk geval zien dat de gemiddelde zomertemperatuur zeer warm was in vergelijking met nu in het zuidelijke Noordzeegebied (België: gemiddelde 17 °C, www.meteo.be), en hetzelfde geldt voor de wintertemperatuur (België: gemiddelde ca. 5°C, www.meteo.be).

Een vergelijking met de literatuur is hier op zijn plaats om (vooral de temperatuursranges) beter te kunnen evalueren. De Man (2006) vond op basis van zuurstofisotopen van otolieten een maximumseizoenaliteit van 14 °C tijdens het Lutetiaan (Midden-Eoceen) van het zuidelijke Noordzeebekken, voor otolieten van de familie Congridae; en 8,5 °C voor otolieten van de familie Ophidiidae. Dit verschil is significant en dergelijke discrepantie komt niet naar voor in de data van deze thesis. De grootteorde van de MOR- en MART-data uit Tabel 11.1 komen wel overeen met deze waardes. De aanname van een jaarlijkse seizoenaliteitsrange van 8,5 °C lijkt dan ook gerechtvaardigd, wat impliceert dat er in het Vroeg-Eoceen een uitgesproken seizoenaliteit bestond die zich doorzette naar het latere Eoceen. Die seizoenaliteit verminderde omstreeks de Eoceen-Oligoceen overgang (tot slechts ca. 1,5 °C - 3,5 °C, De Man, 2006). Dat blijkt niet meteen uit andere studies, waar er een afname in gemiddelde wintertemperaturen werd vastgesteld en dus een verhoogde seizoenaliteit (vb. pollenanalyses gebied Noorwegen-Groenland, Eldrett et al., 2009; otolieten uit de Golf van Mexico, Ivany et al., 2000) (zie discussie in De Man, 2006).

Naast de analyses van De Man (2006), wijzen binnen het Zuidelijke Noordzeebekken andere zuurstofisotopenanalyses eveneens op uitgesproken seizoenale ranges. Op basis van gegevens van *Turritella*-gastropoden uit het Lutetiaan van het Bekken van Parijs bekwamen Andreasson and Schmitz (1996) een seizoenaliteit van 14 °C, met gemiddelde zomertemperaturen van 28 °C en gemiddelde wintertemperaturen van 14 °C. Rond deze gegevens zijn wel interessante discussies gevoerd. Volgens Klein and Fricke (1997) hebben veranderingen in de $\delta^{18}\text{O}_w$ van het bekkenwater, door menging met zoetwater de seizoenaliteit versterkt. Daardoor zouden ook de schattingen van de gemiddelde seizoenale maxima en minima te hoog liggen. Purton and Brasier (1997) maken een analoge maar omgekeerde opmerking over de data van Andreasson and Schmitz (1996). Seizoenale inmengingen van

rivierwater – maar ditmaal in de veronderstelling dat het bekken veel saliner was dan laatstgenoemde aannamen – hebben volgens hen de werkelijke seizoenaliteit doen overschatten. In hun hypersaliene setting liggen dan de gemiddelde seizoendale extremen in tegenstelling tot wat Purton and Brasier (1997) beweren, te laag.

Influx van zoetwater bemoeilijkt duidelijk de interpretatie van zuurstofisotopendata. Dat was ook het geval voor seizoendale gegevens van *Venericardia*-bivalven uit het Vroeg-Eoceen van de Golf van Mexico (Ivany et al., 2004b). Het oorspronkelijke resultaat, dat een seizoenaliteit van ca. 12 °C inhield, gecombineerd met een MAT van 31 °C, werd geïnterpreteerd in functie van de seizoendale influx van rivierwater in het bekken. De redenering daarvoor was dat een gemiddelde jaartemperatuur van 31 °C iets warmer is dan de huidige gemiddeldes van alle andere plaatsen op Aarde, en er op de plaatsen met de warmste gemiddeldes geen grote seizoenaliteitsranges voorkomen. Die herinterpretatie leidde tot een seizoenaliteit van slechts 2 °C, en een MAT van 26 °C.

Op basis van het bovenstaande rijst dan uiteraard de vraag, of dergelijke herinterpretatie ook nodig is voor de data die uit deze thesis naar voren gekomen zijn. Gezien ook in deze thesis uitgesproken seizoenaliteit – doch niet zo hoog als sommige waarden hierboven vermeld – voorkomt, zou dit kunnen. Maar gezien de geografische ligging van het zuidelijke Noordzeebekken in de gematigde zone, ook tijdens het Vroeg-Eoceen, is een brede range in seizoendale temperaturen aannemelijk. Er zijn echter zeer weinig data bekend over de δ_w van het toenmalige Noordzeewater, om te kunnen uitmaken of seizoendale zoetwaterinflux er een invloed op heeft gehad of niet. Op basis van verschillende proxies, is er volgens Zacke et al. (in press) reden om aan te nemen dat er tijdens het oudste deel van het Vroeg-Eoceen, aanzienlijke zoetwaterinflux was in het bekken, waardoor temperatuursberekeningen van dat moment een overschatting geven (waardes voor δ_w tot meer dan -3,00). Dit effect was echter uitgewerkt in de periode omstreeks het EECO (Zacke et al., in press), dat in het jongste deel van het Vroeg-Eoceen valt. Daarom lijkt een herinterpretatie op het eerste zicht niet nodig.

Een multiproxyaanpak in toekomstig onderzoek, bijvoorbeeld met behulp van de zeewatersamenstelling-onafhankelijke temperatuurschatter TEX86, zou samen met zuurstofisotopendata een beeld kunnen helpen scheppen over de zeewatersamenstelling. Algemeen kan samen met Hoofdstuk 10 gesteld worden dat de regio omstreeks het zuidelijke Noordzeebekken een stabiel tropisch klimaat had, met uitgesproken seizoenaliteit.

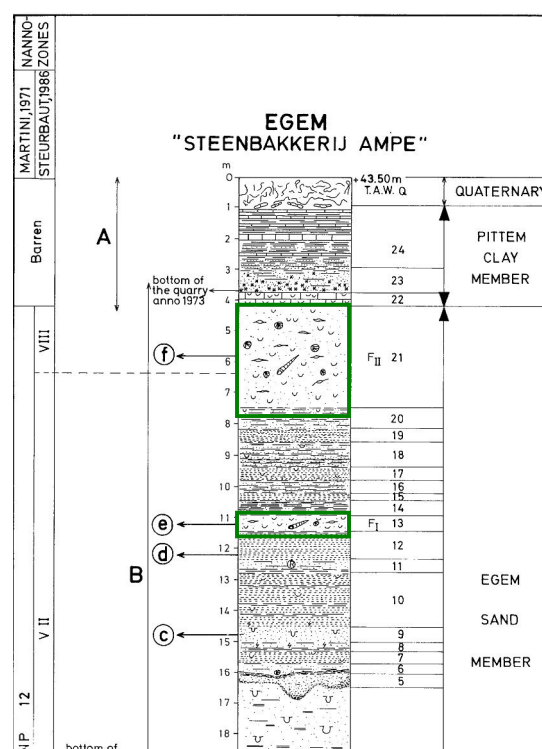
11.2.2 $\delta^{13}C$ -waarden

De interpretatie van koolstofisotopenwaarden is minder eenduidig dan zuurstofisotopenwaarden (zie figuren Appendix 5). Wel is vrijwel steeds een duidelijk en meestal uitgesproken (sub)seizoenaal patroon merkbaar. Maar daarbij komen de koolstofisotopenwaarden niet steeds overeen met de zuurstofisotopenwaarden. Vaak is er duidelijke covariatie, in andere gevallen is dat niet zo. Bij de otolieten waarbij dit wel het geval is, zijn de variaties in koolstofdata waarschijnlijk teweeggebracht door een seizoenaal veranderende oorzaak. Dat kunnen variaties in de DIC van het zeewater zijn, maar evengoed ook metabolische veranderingen in de inbouw van isotopen in het carbonaat van de otolieten, in functie van het jaargetijde. In gevallen waar er geen covariatie is, zijn het aantal mogelijke oorzaken voor het verkregen patroon nog groter; dan is er bijvoorbeeld de mogelijkheid dat er niet-seizoensgebonden mixing van watermassa's heeft plaatsgevonden, of dat de vissen in kwestie hebben gemigreerd. Er is echter een multiproxyaanpak nodig om daar meer over te weten te komen, aangezien er teveel onbekenden zijn om hier een verdere zinvolle interpretatie te maken.

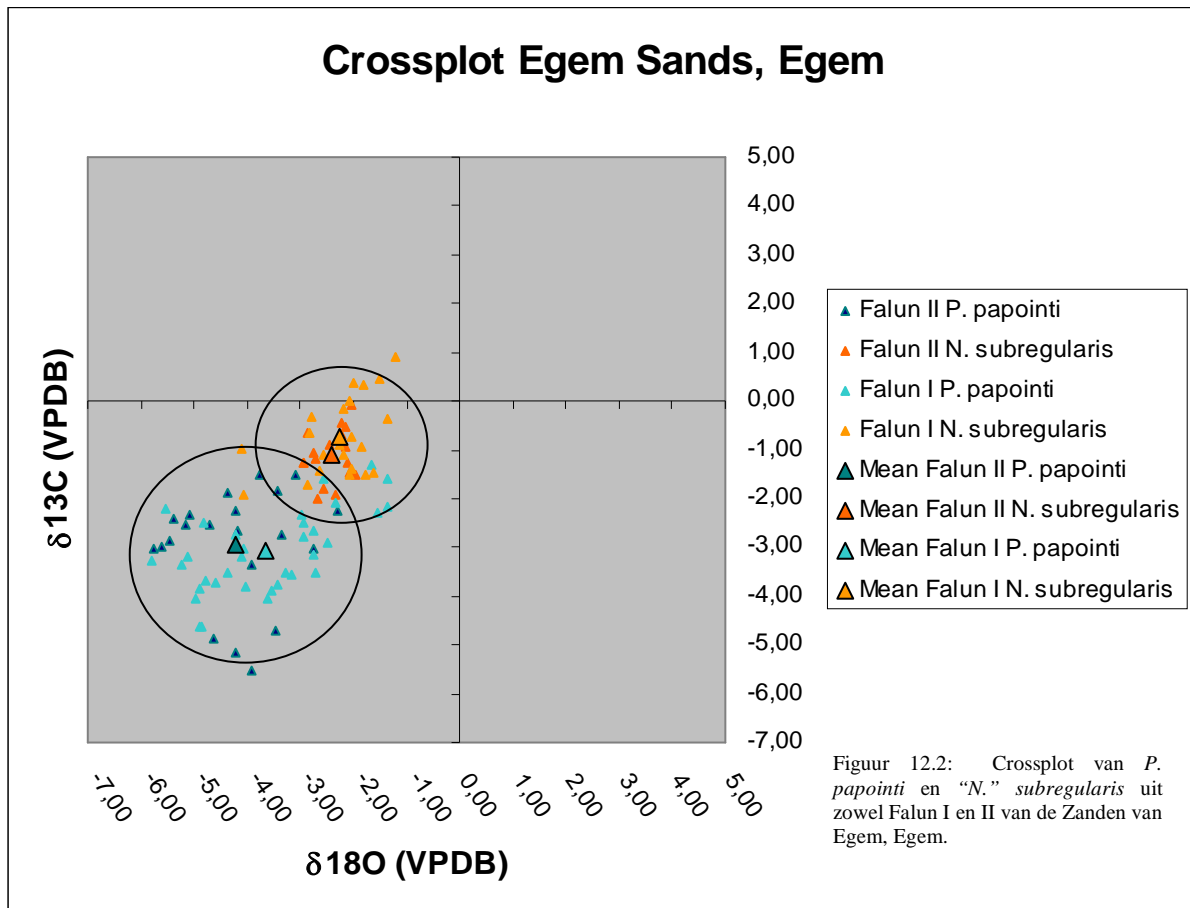
12. INFORMATIE UIT CROSSPLOTS

12.1. Een testcase voor intertaxonconsistentie van de proxy

Informatief in isotopenonderzoek, is het uitzetten van zuurstof- en koolstofisotopendata ten opzichte van elkaar in een crossplot. Deze grafische manier van werken biedt een zicht op de spreiding van de gegevens en laat een snelle visuele vergelijking toe tussen verschillende groepen. Bijvoorbeeld tussen groepen gegevens van verschillende locaties of stratigrafische niveau's, of tussen groepen gegevens van verschillende taxa. In het kader van het testen van het gebruik van otolieten als proxy voor klimaatsveranderingen, is deze manier van werken ook toegepast op gegevens uit het hier gepresenteerd onderzoek. Hier is gekeken naar mogelijke significante verschillen tussen de verschillende gebruikte taxa. Dat kan door de isotopengegevens van verschillende taxa uit verschillende localiteiten uit te zetten op één plot. Dat is hier gedaan met data van otolieten afkomstig uit de locatie Schepdaal (Panisel Zanden), de locatie Egem (Zanden Van Egem), en de locaties Ronse en Montroeil-au-bois samen (Zanden van Mons-en-Pévèle). Hierbij vormt Egem een bijzondere testcase, omdat van twee afzonderlijke niveau's (Falun I en Falun II, Figuur 12.1) gegevens geanalyseerd zijn, van telkens otolieten van de soorten *Paraconger papointi* en "*Neobythitisorum*" *subregularis* (Figuur 12.2). Deze niveau's verschillen sedimentologisch en paleontologisch nauwelijks van elkaar: het zijn allebei groengrijze glauconietzanden rijk aan schelpen (Steurbaut, 2006). Er zijn wel lichte verschillen in nannoplanktonsamenstelling, en qua ouderdom verschillen ze niet meer dan 100 kyr (op basis van nannoplanktonevents, Steurbaut, 1998).



Figuur 12.1: lithologische kolom van het bovenste deel van de Zanden van Egem te Egem. In groen aangeduid zijn Faluns I en II (naar Steurbaut, 2006).



Door deze gelijkenissen kan je aannemen dat beide afzettingen onder dezelfde klimatologische omstandigheden zijn afgezet, en dat otolieten van een zelfde soort van beide stratigrafische niveau's gelijkaardige isotopenwaardes, vooral qua zuurstof, zouden moeten voortbrengen. Bovendien, indien er geen intertaxonverschillen zijn tussen de isotopenincorporatie in het carbonaat van de otolieten van *P. papointi* en "*N.*" *subregularis*, dan zouden de isotopendata van deze soorten gelijk moeten zijn aan elkaar, en op een crossplot samenvallen. Samengevat komt het erop dus neer dat een crossplot met de isotopendata van beide niveau's en van beide soorten, één groep gegevens zou moeten opleveren. Op bovenstaande plot (met alle beschikbare data: zowel bulk- als incrementgegevens) is echter te zien dat dit duidelijk niet het geval is. Er zijn twee groepen te onderscheiden, en deze komen overeen met de twee soorten; niet met de twee stratigrafische niveau's. Dat lijkt een bevestiging te zijn van de reproduceerbaarheid van isotopendata van één soort binnen vergelijkbare stratigrafische niveau's. De vraag is echter waarom er zo'n groot verschil is in gemiddelde waarden (meer dan 1,5 ‰ voor $\delta^{18}\text{O}$, ca. 2 ‰ voor $\delta^{13}\text{C}$) tussen de twee geanalyseerde soorten (voor beide stratigrafische niveau's). De Man (2006) testte immers voor zuurstofisotopen op familieniveau tussen Congridae (waar *P. papointi* deel uit van maakt) en Ophidiidae (waar "*N.*" *subregularis* deel uit van maakt). Dit leverde geen statistische verschillen op, terwijl dat hier wel het geval is (Tabel 12.1).

Tabel 12.1: statistische analyse van de isotopenwaarden van twee otolietensoorten, beide afkomstig uit zowel Falun I als Falun II van de Zanden van Egem. Weergegeven zijn de p-waardes.

| δ-waarde | Soort* en niveau** | Statistische test | | | | Interpretatie (al of geen verschil tussen de gemiddeldes van de geanalyseerde datagroepen) |
|-------------------|-------------------------------|-------------------|--------|-------|--------|--|
| | | Levene's | T-test | Welch | ANOVA | |
| δ ¹³ C | PP (FI, FII) | 0,286 | 0,611 | | | geen verschil tussen Falun I en II voor PP |
| | NS (FI, FII) | 0,061 | 0,109 | | | geen verschil tussen Falun I en II voor NS |
| δ ¹⁸ O | PP (FI, FII) | 0,090 | 0,072 | | | geen verschil tussen Falun I en II voor PP |
| | NS (FI, FII) | 0,040 | | 0,418 | | geen verschil tussen Falun I en II voor NS |
| δ ¹³ C | PP (FI, F II) en NS (FI, FII) | | | | <0,001 | verschil tussen PP en NS voor beide Faluns |
| δ ¹⁸ O | PP (FI, F II) en NS (FI, FII) | | | | <0,001 | verschil tussen PP en NS voor beide Faluns |

*Soort: PP = *Paraconger papointi*; NS = "*Neobythitiorum*" *subregularis*

**Niveau: FI = Falun I; FII = Falun II, Zanden van Egem

Die tabel laat zien dat er voor éénzelfde soort geen verschillen zijn tussen de twee onderzochte niveau's. Daarom moeten de verschillen tussen de data afkomstig uit de ANOVA-analyse wel te wijten zijn aan verschillen tussen de twee soorten binnen één niveau. Voor uitleg bij de uitgevoerde tests, zie paragraaf 9.2.

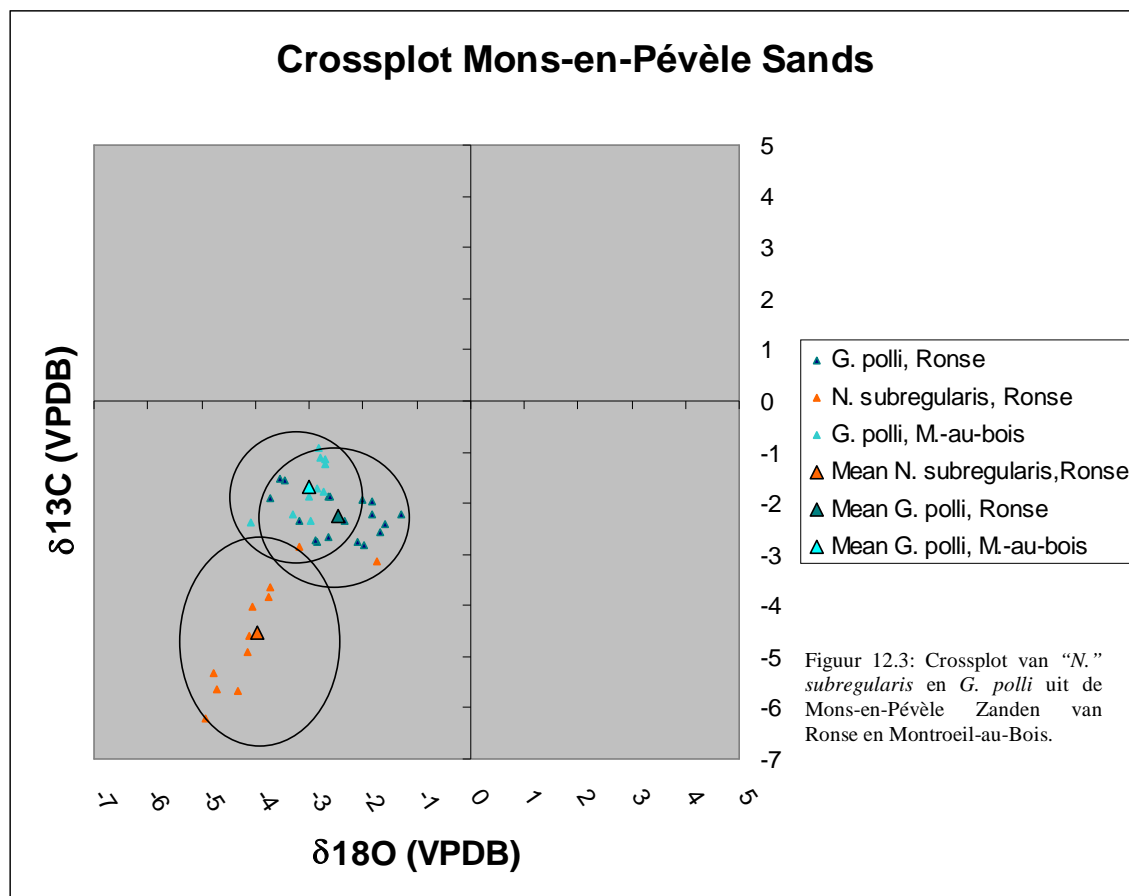
Misschien is er een tóch een discrepantie, maar dan op genusniveau (i.p.v. familieniveau, omdat het effect van verschillende genera binnen een familie kan uitmiddelen) in de wijze waarop vissen een zelfde isotopisch signaal van het omgevingswater inbouwen in het carbonaat van hun otolieten? Het is niet onaannemelijk om dat te denken. Traditioneel worden voor temperatuurberekeningen slechts twee formules courant gebruikt (die van Patterson en Thorrold, zie paragraaf 9.1.1). De laatste tijd gaan echter op basis van bevindingen stemmen op om meerdere temperatuurvergelijkingen op te stellen (zie ook paragraaf 9.1.1), die genus- of soortspecifiek zijn – wat uiteindelijk berust op verschillen tussen soorten in de fractionatie van isotopen te wijten aan fysiologische effecten (Storm-Suke et al., 2007). Dit doet geen afbreuk aan de paleoklimatologische waarde van otolieten. Dat is te begrijpen aan de hand van Figuur 9.1: de verschillende paleotemperatuurvergelijkingen hebben een verschillend intercept, wat intertaxonverschillen qua isotopenfractionatie doet vermoeden, maar ze hebben wel een (quasi) gelijke helling. Dat is een sterk argument dat de zuurstofisotopenfractionatie van otolieten in evenwicht met het omgevingswater plaatsgrijpt. Het is ongetwijfeld zeer nuttig om aan het opstellen van dergelijke paleotemperatuurvergelijkingen geruime aandacht te besteden in toekomstig onderzoek.

Indien het bovenstaande echter niet het geval is, dan moet worden teruggekeken naar de basisassumpties van de proxy. Aangezien verschillen in bewaring hier niet van toepassing

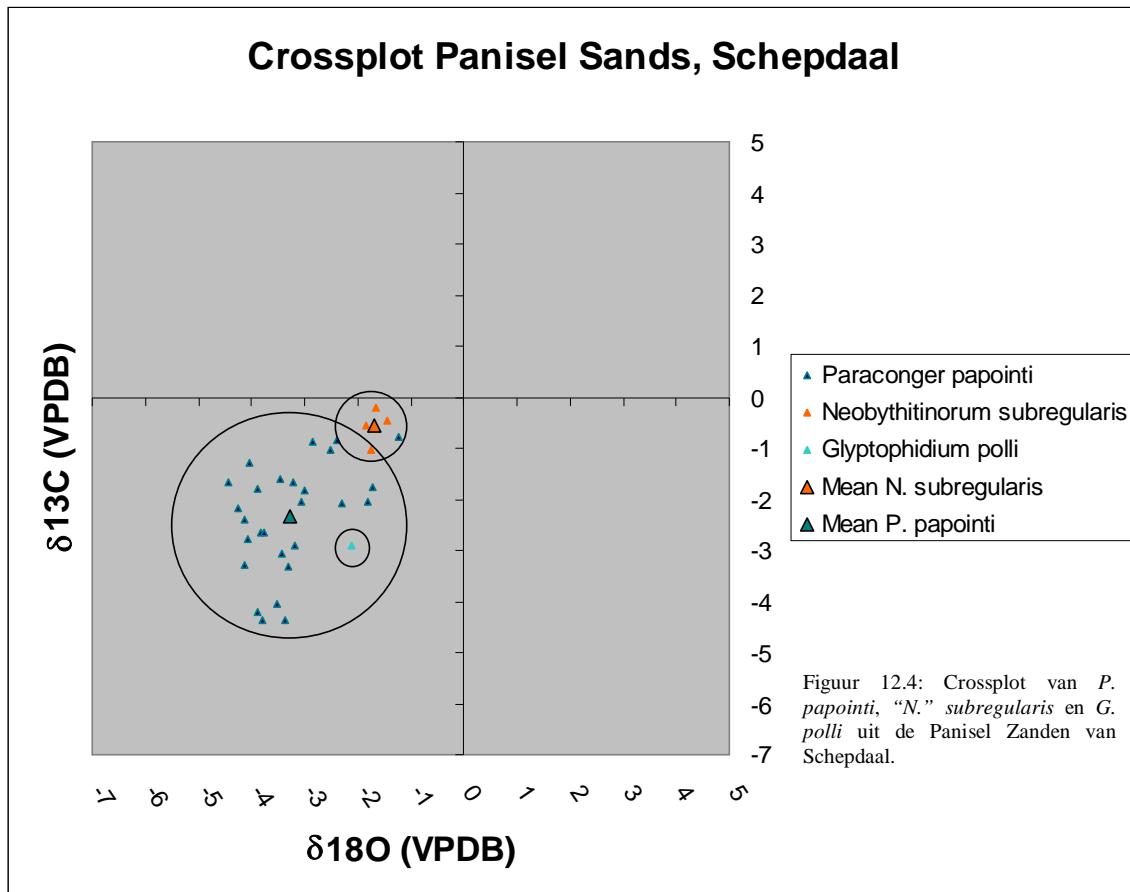
zijn, gaat het hem dan specifiek over de assumpties van de leefwijze van de vissen. Dat is aan bod gekomen in paragraaf 5.1.1. Die assumpties herbekeken zou het kunnen dat:

- ▶ het uitgestorven genus “*Neobythitinerum*” toch migreerde, en daardoor andere isotopische patronen heeft vastgelegd (vergelijk met Patterson, 1999, figure 2)
- ▶ het uitgestorven genus “*Neobythitinerum*” zoals kenmerkend voor de Ophidiidae inderdaad ook aan andere omgevingen was aangepast, zoals bijvoorbeeld meer hypersaliene poelen
- ▶ dat het actualistische principe voor minstens één van beide soorten niet geldt.

In elk geval blijft het enigszins enigmatisch dat de data van De Man (2006) deze taxonverschillen niet vertoonden. Toekomstig onderzoek, met meer statistische zekerheid lijkt hier aangewezen, omdat het belangrijke implicaties kan hebben voor een juiste interpretatie van stabiele isotopenpatronen van otolieten als proxies. De analyse van meerdere verschillende proxies tegelijk (vb. Grimes et al., 2003), zou deze problemen eventueel sneller kunnen oplossen (omdat dan problemen eigen aan een bepaalde proxy kunnen gaan opvallen tussen andere proxies).

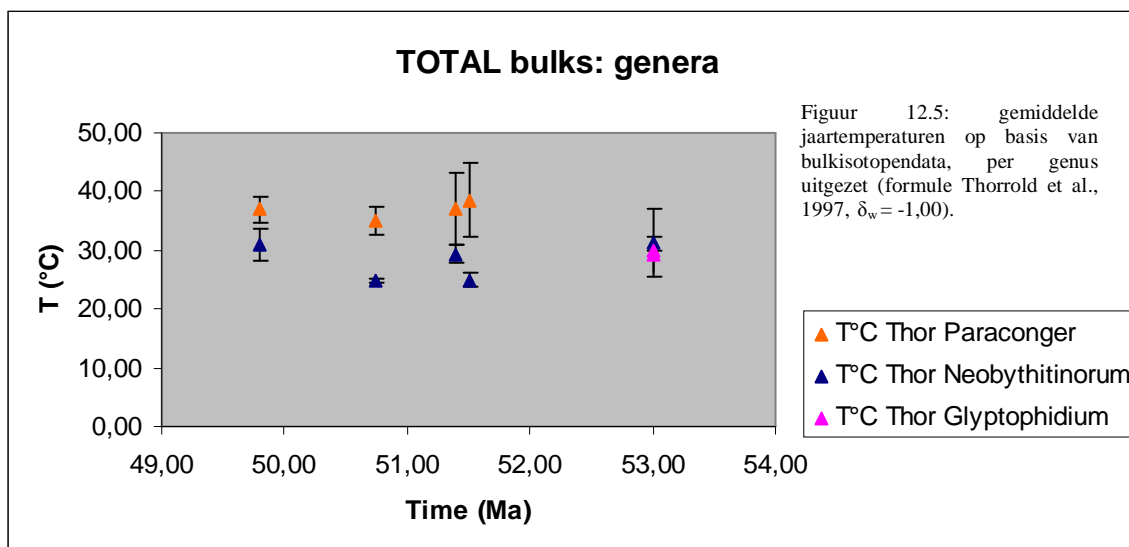


Figuur 12.3: Crossplot van “*N.* *subregularis* en *G. polli* uit de Mons-en-Pévèle Zanden van Ronse en Montreuil-au-Bois.

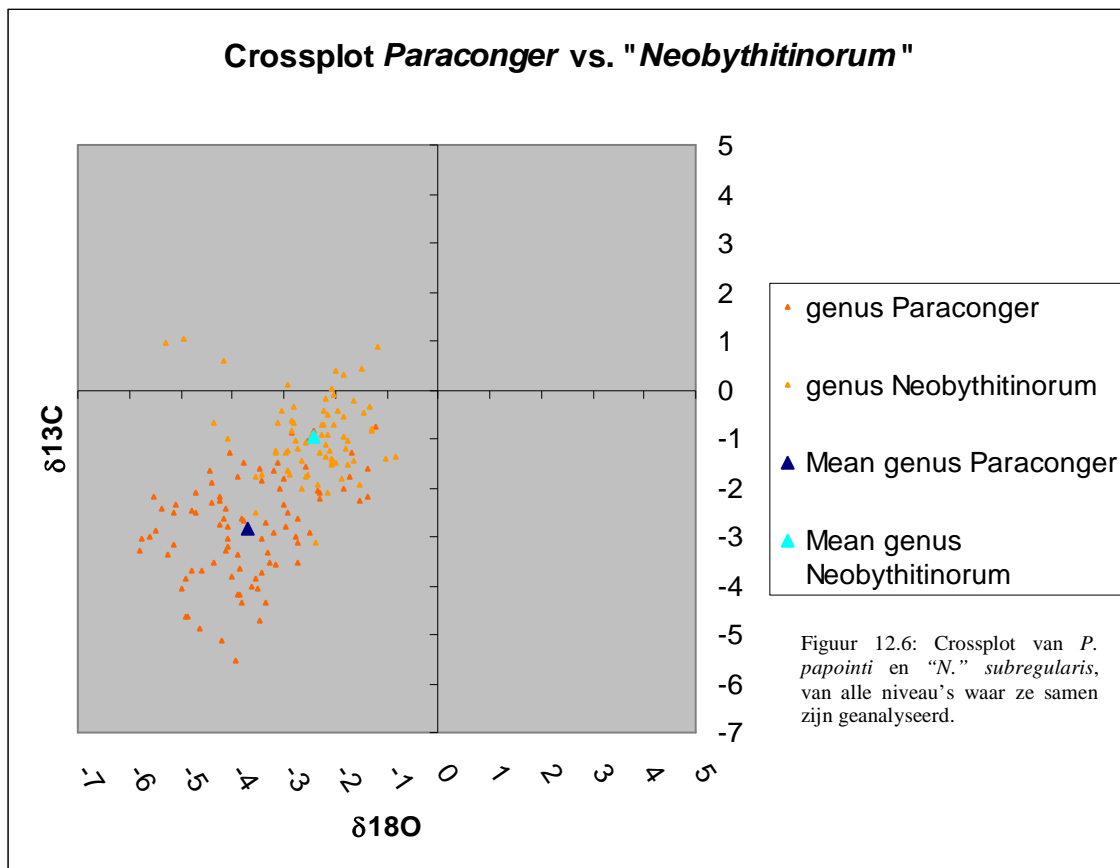


Figuren 12.3 en 12.4 geven de overige twee crossplots weer. Voor deze van de Panisel Zanden geldt hetzelfde als bij de Zanden van Egem. Ook hier is er een verschil van meer dan ca. 1,5 ‰ voor $\delta^{18}\text{O}$, en ca. 2 ‰ voor $\delta^{13}\text{C}$. Dit verschil is significant; voor $\delta^{13}\text{C}$: Levene's $p=0,044$ en Welch $p<0,001$; voor $\delta^{18}\text{O}$ Levene's $p=0,047$ en Welch $p<0,001$. Dit bevestigt de hogerop besproken problemen en hypotheses. Over het ene datapunt van *Glyptophidium polli* kan uiteraard geen uitspraak worden gedaan. Voor de crossplot van de Zanden van Mons-en-Pévèle is de interpretatie minder duidelijk. Hier plotten data van *G. polli* (Ophidiidae) van twee verschillende locaties (Ronse, Montroeil-au-Bois) met een sterke overlap, terwijl "*N.*" *subregularis* (eveneens Ophidiidae) zich duidelijk profileert als een afwijkende groep. Maar dat is eigenlijk slechts het effect van de incrementdata van otoliet O11B die zeer negatief zijn voor zuurstof en koolstof; een plot met enkel bulk data van O11A, O11B en O11C ("*N.*" *subregularis*, Ronse) zou meer overlap vertonen met de data van *G. polli*. Of er statistisch verschil is tussen *G. polli* en "*N.*" *subregularis* wordt daarom in het midden gelaten.

De bevindingen hierboven beschreven, vooral voor “*N.*” *subregularis* versus *P. papointi* hebben een belangrijke impact op de interpretatie van de bulkstalen (Hoofdstuk 10). Het verkregen temperatuurspatroon kan immers nu herzien worden als het resultaat van verschillen tussen genera, waarbij “*N.*” *subregularis* systematisch lagere temperaturen weergeeft dan *P. papointi* (Figuur 12.5). Dat levert dan vervolgens gemiddelde jaartemperaturen voor het midden- en late Vroeg-Eoceen op van 36,88 °C voor het genus *Paraconger* en 28,27 °C voor het genus “*Neobythitinerum*” (volgens de formule van Thorrold et al. (1997) en een δ_w van -1,00).



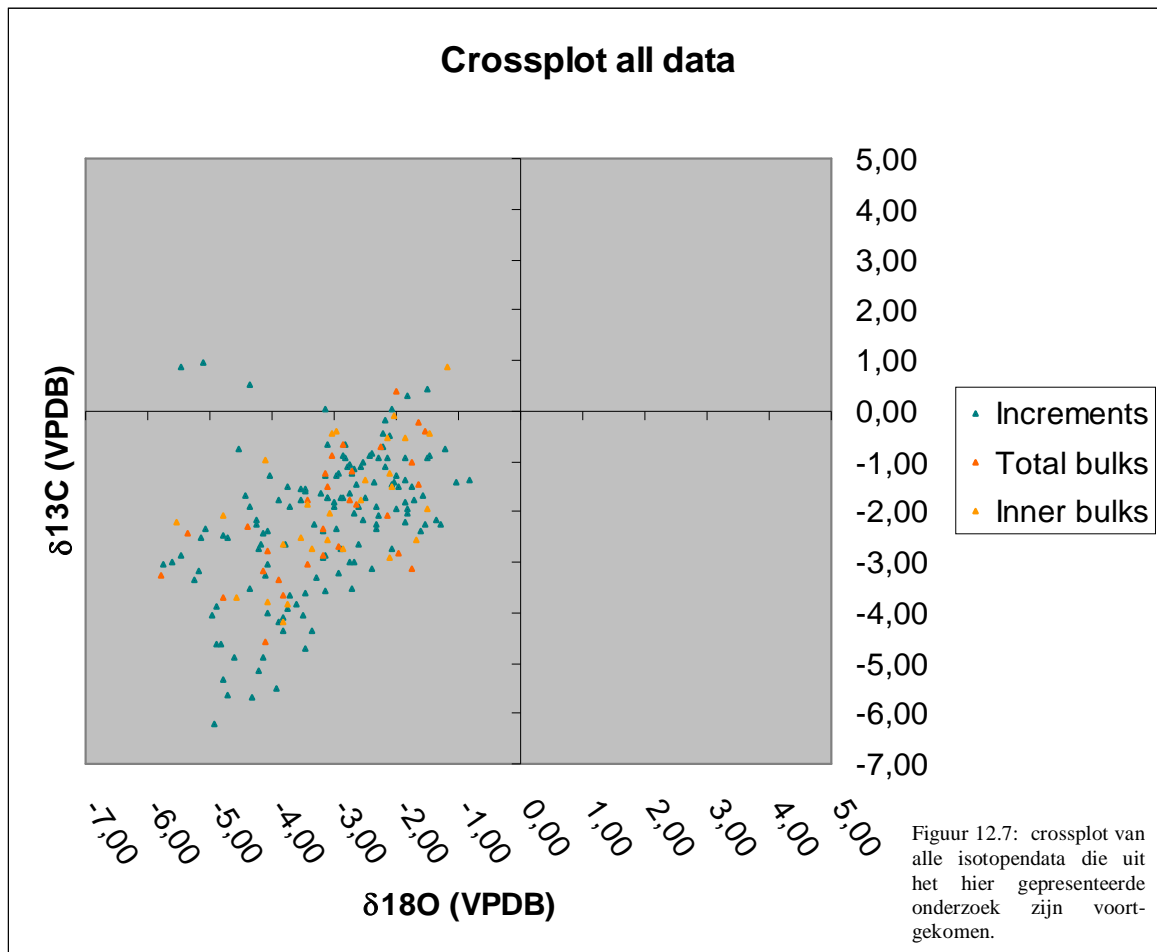
Om Figuur 12.5 extra kracht bij te zetten is een crossplot aangemaakt van de isotopendata van het genus *Paraconger* versus het genus “*Neobythitinerum*”, van de niveau’s waar van beide soorten otolieten zijn geanalyseerd. Net zoals eerder gevonden voor niveau’s afzonderlijk bedraagt het verschil tussen de gemiddelden van beide soorten ca. 1,5 ‰ voor $\delta^{18}\text{O}$, en ca. 2 ‰ voor $\delta^{13}\text{C}$. Dat is logischerwijs weerom significant; voor $\delta^{13}\text{C}$: Levene’s $p=0,014$ en Welch $p<0,001$; voor $\delta^{18}\text{O}$: Levene’s $p=0,015$ en Welch $p<0,001$).



Figuur 12.6: Crossplot van *P. papointi* en "*N.*" *subregularis*, van alle niveau's waar ze samen zijn geanalyseerd.

Het is niet de bedoeling een discussie te houden na deze genusniveau-herinterpretatie van de gegevens, qua temperatuur. Dat zou kunnen leiden tot een overinterpretatie, zeker gezien de kans reëel is dat een gebrek aan correcte paleotemperatuursvergelijkingen de discrepantie in de berekende temperaturen kan hebben veroorzaakt (zie hoger). Daarom leek een interpretatie van gemiddelde waarden van meerdere genera per niveau, zoals in Hoofdstuk 10, meer aangewezen. Als echter een verschil in migratie en leefgebied tussen beide soorten aan de basis ligt van de discrepantie, kan het net zeer interessant zijn om hier toch een discussie te voeren, in het kader van de methodiek van het onderzoek. Maar migraties lijken in zekere zin onwaarschijnlijk te hebben plaatsgevonden, aangezien het genus "*Neobythitinerum*" (de grootste kanshebber om te hebben gemigreerd) de koudste temperaturen oplevert, wat zou wijzen op migraties naar veel diepe wateren dan die waarin *Paraconger*-soorten leefden – terwijl het Noordzeebekken een uitgestrekte epicontinentale shelf is en was (zie Hoofdstuk 4), met eerder geringe dieptes. Migraties naar de Atlantische oceaan en terug lijken nog meer onwaarschijnlijk, maar kunnen niet worden uitgesloten. Sporenelementenanalyses van otolieten zouden in de toekomst misschien meer duidelijkheid kunnen brengen.

12.2. Algemene crossplot

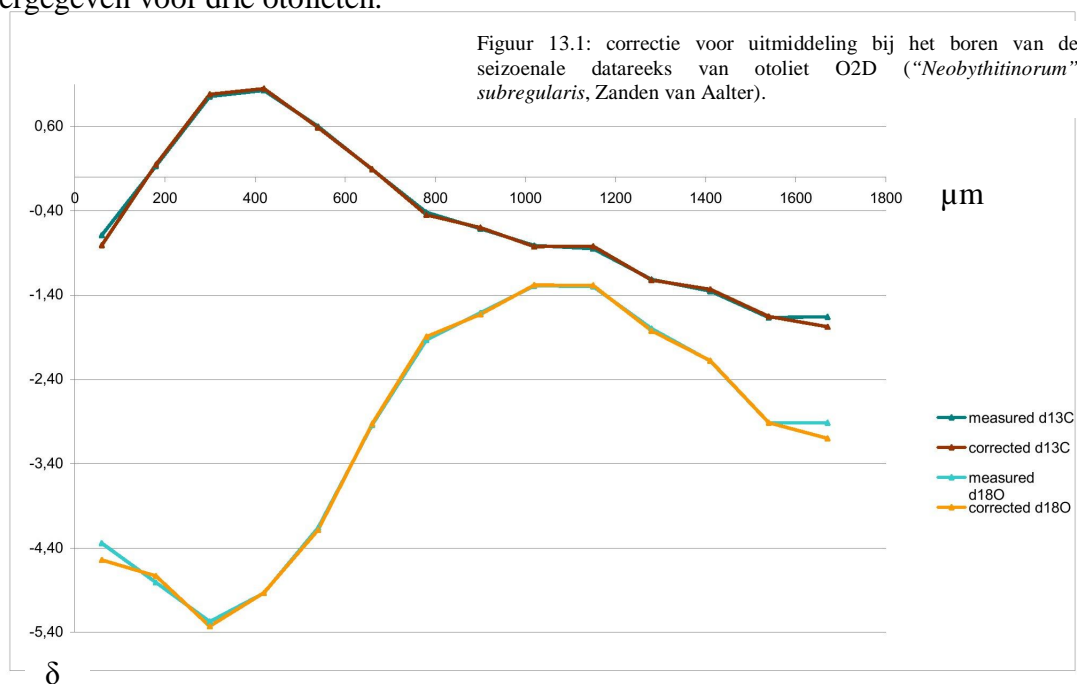


Figuur 12.7 geeft alle isotopendata gebruikt in deze thesis weer. Zo'n plot kan informatie geven over de bewaring van de geanalyseerde fossielen. Wanneer er geen correlatie zichtbaar is, is dat een goed argument om aan te nemen dat er geen invloed is geweest van meteorisch water op het carbonaat (De Man, 2006). Op het eerste zicht is er een lichte correlatie te zien tussen zuurstof- en koolstofwaarden. Uit de vorige paragraaf mag echter blijken dat deze correlatie artificieel is: het is deels het samengestelde product van verschillende subgroepen overeenkomstig de verschillende genera. Analoge crossplotpatronen met negatieve waarden voor zowel $\delta^{18}\text{O}$ als $\delta^{13}\text{C}$, en vrij grote ranges voor beide, zijn al eerder geobserveerd voor otolieten uit een broeikasperiode, met name deze van het Jura (Patterson, 1999; Price et al., 2009).

13. CORRECTIES VOOR UITMIDDELING EN NIET-LINEAIRE GROEISNELHEID

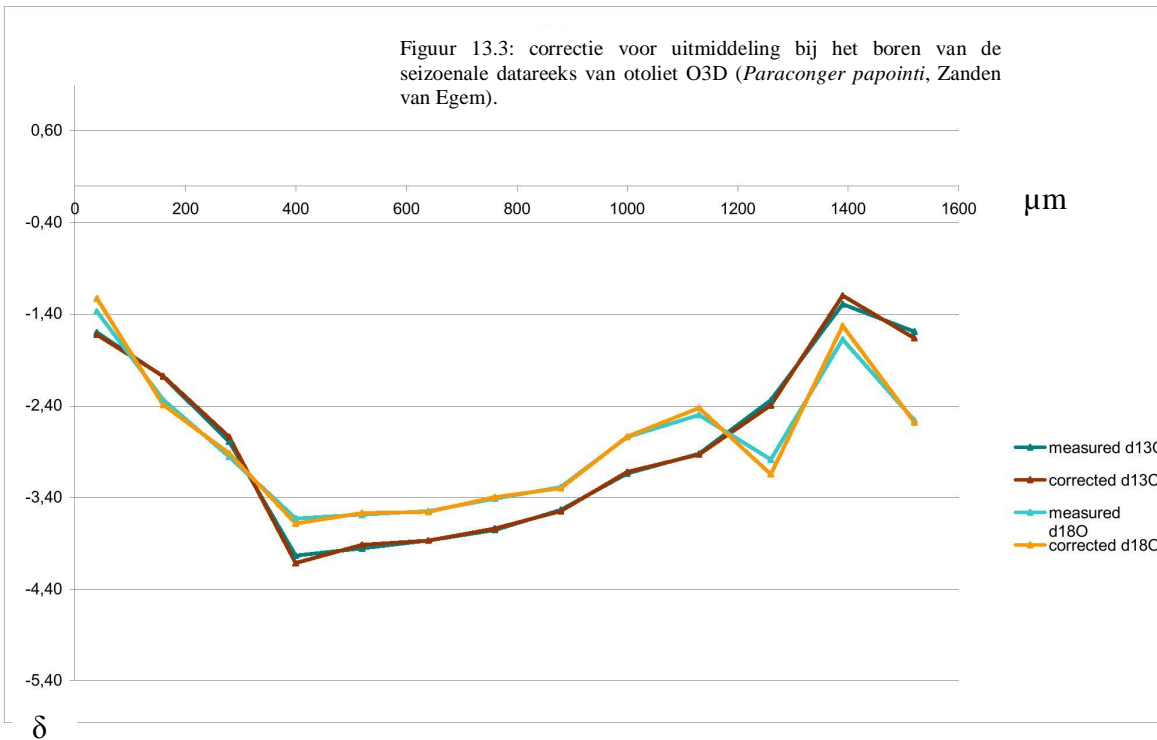
13.1. Correctie van de data voor uitmiding bij het boren

Zoals vermeld in Hoofdstuk 7, zijn bij wijze van experiment twee correcties van isotopengegevens uitgetest op incrementdata uit deze thesis. Eveneens (tussen de regels) vermeld is dat de correctie voor uitmiding van niet-equidistante data (deze paragraaf) eigenlijk nog maar in de kinderschoenen staat. Daarom is de correctie op slechts enkele otolieten toegepast, bij wijze van illustratie en hint naar toekomstig onderzoek, en niet op alle otolieten. Bovendien was dit ook niet mogelijk geweest, gezien de vermelde operationele problemen (Appendix 1). Op Figuren 13.1, 13.2 en 13.3 staan de resultaten van deze correctie weergegeven voor drie otolieten.



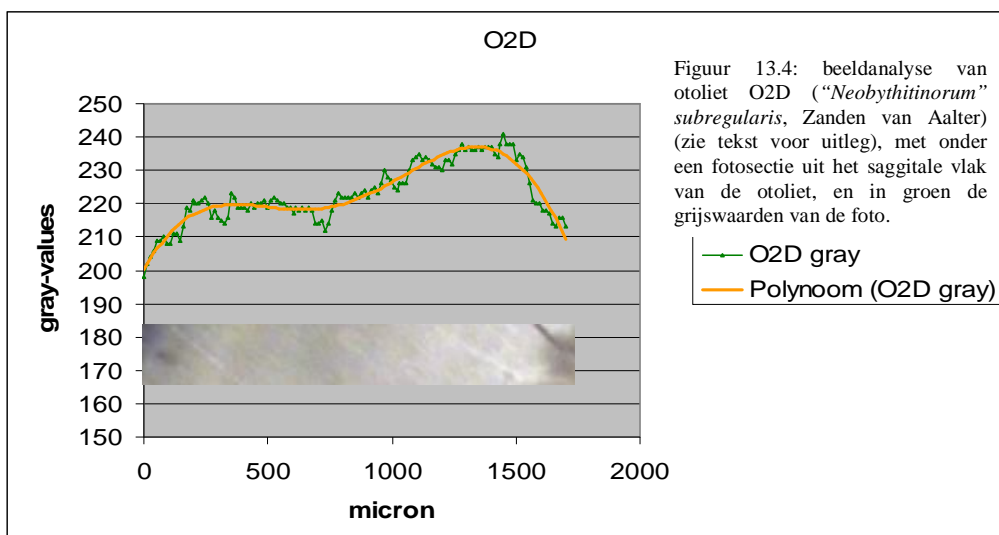
Figuur 13.2: correctie voor uitmiding bij het boren van de seizoenale datareeks van otoliet O3A (*Paraconger papointi*, Zanden van Egem).





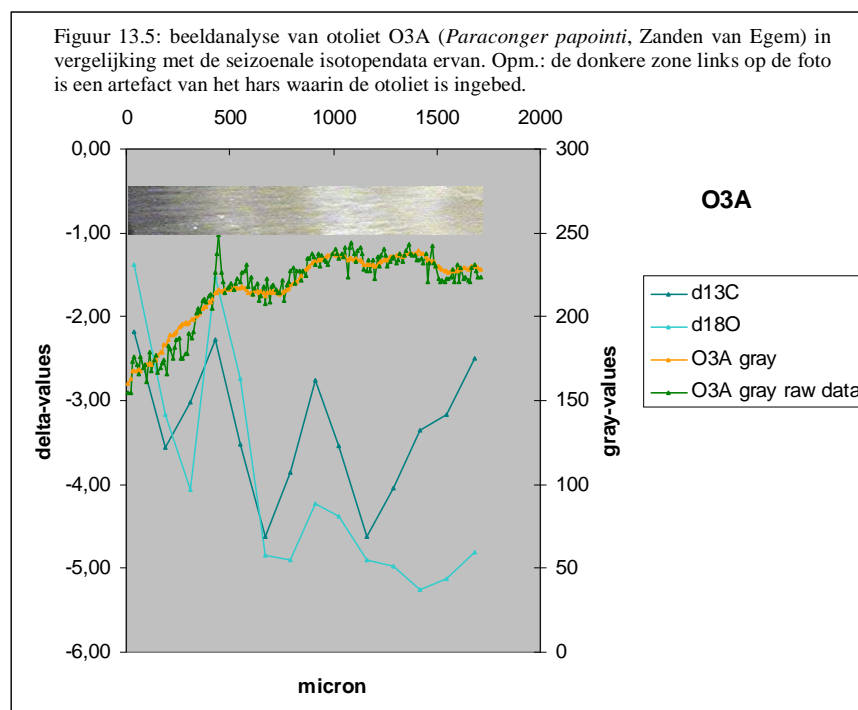
Horizontaal bevindt zich op de grafieken steeds een afstandsas (met links steeds de rand van de otoliet en rechts de kern, μm), en verticaal staan de δ -waarden voor de isotopengegevens.

► Bij otoliet O2D (Figuur 13.1, “*Neobythitiorum*” *subregularis*, Zanden van Aalter) heeft de correctie quasi geen effect. Dit komt omdat de resolutie van de stalname hoog is ten opzichte van het seizoenale patroon. Een andere mogelijkheid is dat de uitmiddeling te groot was, om er alsnog de correctie op toe te passen. Om die onwaarschijnlijke mogelijkheid uit te sluiten is gekeken naar het groeiringspatroon van de otoliet. Daartoe werd digitaal een sectie uit een foto van de otoliet gesneden (foto genomen met het MicroMill toestel, zie Hoofdstuk 7) en omgezet in grijswaarden. Dit met behulp van een computerprogrammaatje geschreven door student Simon D’haenens (Biogeologie, KULeuven) en vader. Deze werden vervolgens op een grafiek uitgezet (Figuur 13.4), voorzien van een door Excel gegenereerde polynoom als trendlijn:



Op bovenstaande grafiek en bijhorende foto van de rand (links) naar de kern van de otoliet (rechts), is er geen groot aantal seizoenale groeiringen merkbaar, dus is er waarschijnlijk quasi geen uitmiddeling gebeurd bij het boren, en is correctie overbodig.

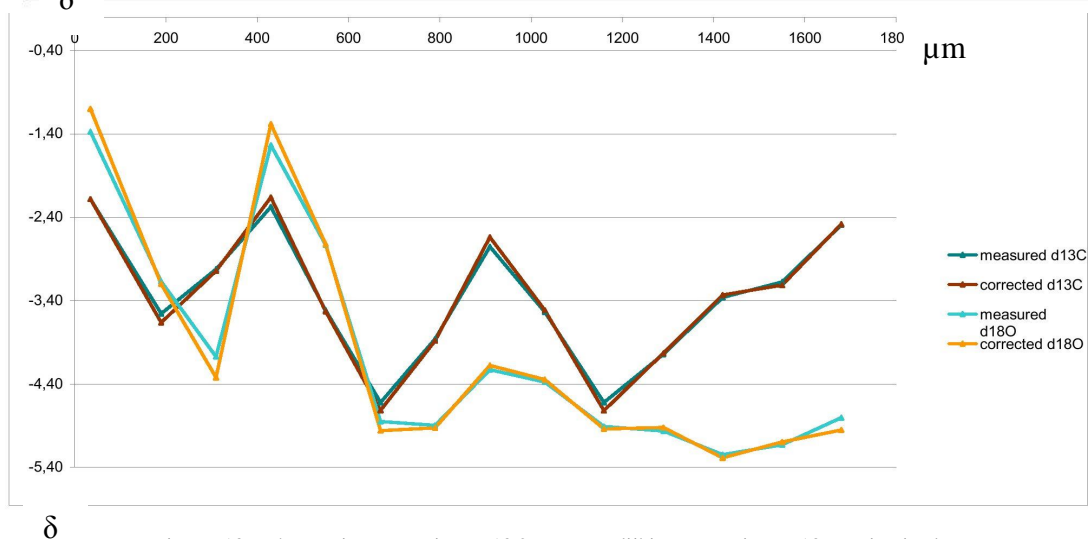
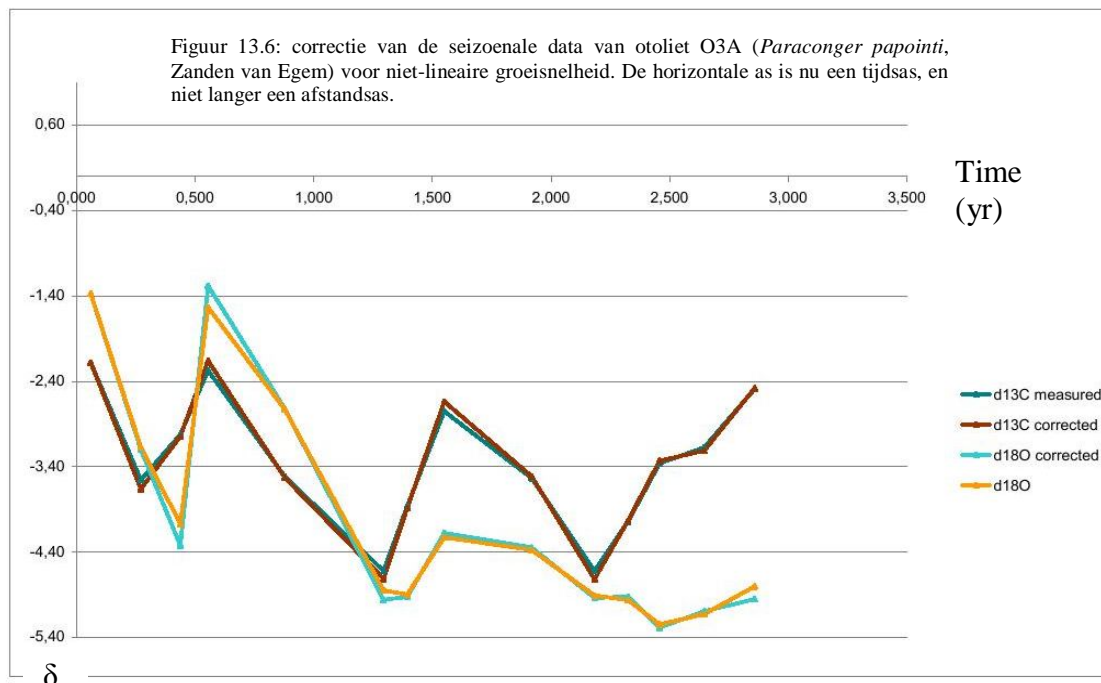
► Bij otoliet O3A (*Paraconger papointi*, Zanden van Egem) is de situatie anders: daar is duidelijk te zien dat er een correctie is gebeurd van enkele tienden % op de extremiteiten van het patroon (vooral bij zuurstof). Hoewel dit op het eerste zicht misschien niet veel lijkt, maakt het toch een verschil uit. Wanneer de MART van O3A wordt herberekend, dan is deze met meer dan een graad Celcius vermeerderd, louter en alleen omwille van de uitgevoerde correctie. De toepassing van de correctie op deze otoliet toont overtuigend aan dat deze de precisie van een klimaatsproxy kan verhogen, en dat het raadzaam is deze methode standaard in te bouwen in de verwerking stabiele isotopenanalyses van incrementproxies. Om de argumentatie rond deze statement rond te maken, is ook hier als extra bewijslast een beeldanalyse van de otoliet uitgevoerd. Het translucent-opake patroon van de groeiringen komt (mits een lichte verschuiving van fase) hierbij overeen met het stabiele isotopenpatroon (behalve omstreeks de kern van de otoliet). Tranlucente zones lijken overeen te komen met de warme pieken (lage isotopenwaarden voor zuurstof), en opake zones met de koudste pieken (hoge isotopenwaarden voor zuurstof). Dat is niet wat je algemeen zou verwachten van een otoliet, maar op basis één otoliet is dit statistisch helemaal niet te interpoleren naar alle otolieten van hetzelfde niveau (Van Neer et al., 2004). Onderstaande Figuur 13.5 biedt echter wel een voorbeeld van wat op grotere schaal (voor elke otoliet) zou kunnen worden toegepast in toekomstig onderzoek (trendlijn hier via het beeldanalyseprogramma bekomen):



► Bij otoliet O3D (*Paraconger papointi*, Zanden van Egem) is het effect van de correctie minder éénduidig als van bij O3A. Rechts is er een duidelijke correctie merkbaar, maar naarmate de ouderdom van de vis neemt die correctie af. Het patroon is bovendien in die midden- en linkerzone moeilijker te interpreteren. Volgens Veerle Beelaerts (pers. comm.) zou het kunnen dat de uitmiddeling in die zone reeds te groot was om nog een correctie uit te voeren. Er is van de saggitale sectie van deze otoliet geen foto voorafgaandelijk aan het boren genomen, om een beeldanalyse op uit te voeren.

13.2. Correctie van de data voor niet-lineaire groeisnelheid

Deze correctie is eveneens bij wijze van experimentele testcase uitgevoerd (Figuren 13.6 en 13.7).



Figuur 13.7: herneming van Figuur 13.2 ter vergelijking met Figuur 13.6. Hier is de horizontale as een afstandsas. Let wel: de kleuren voor de gemeten en gecorrigeerde $\delta^{18}\text{O}$ -waarden zijn tegengesteld in beide figuren.

Figuur 13.6 toont de correctie voor niet-lineaire groeisnelheden, aangenomen dat de prominente pieken een cyclisch patroon vertegenwoordigen van een jaar. De horizontale as is nu niet langer een afstandsschaal, maar wel een tijdsschaal (in jaar). Ter vergelijking is nogmaals de correctie voor uitmiddeling alleen, weergegeven (Figuur 13.7). Er is een duidelijke verschuiving in het patroon zichtbaar. Dit duidt erop dat deze correctie op otolieten toepasbaar is, en eveneens kan bijdragen tot een meer precieze interpretatie van otolieten als proxy voor seizoenaliteit. Op basis zo'n aanpak is het bijvoorbeeld gemakkelijker af te leiden in welk seizoen een vis is gestorven. Samengevat biedt Figuur 13.6 een reëel zicht op de inbouw van isotopenverhoudingen gedurende het leven van een vis. Het spreekt dan ook vanzelf dat een dergelijke correctie in de toekomst onmisbaar is voor het opbouwen van klimaatsreconstructies op otolieten.

► CONCLUSIES

In deze thesis is het gebruik van stabiele isotopen van otolieten als proxy voor Paleogene klimaatsagentia in het zuidelijke Noordzeebekken, verder uitgebouwd en geëvalueerd. Daartoe zijn van Congridae- en Ophidiidae-otolieten afkomstig van verschillende stratigrafische niveau's afgezet tijdens het Vroeg-Eoceen, in het bijzonder omstreeks het EECO, de ^{18}O - en ^{13}C -isotopen van zowel bulk- als incrementstalen geanalyseerd.

Hoewel een deel van het oorspronkelijk aantal voorziene analyses niet kon doorgaan, volgt uit de geslaagde analyses dat er tijdens het Vroeg-Eoceen een stabiel tropisch klimaat heerste, met een uitgesproken seizoenaliteit. De gemiddelde MART voor het Vroeg-Eoceen bedraagt ca. 8,5 °C, wat in lijn ligt met gegevens uit de literatuur. De gemiddelde zomer- en wintertemperatuur is berekend op ca. 35,5 °C en ca. 25 °C respectievelijk, en de gemiddelde jaartemperatuur op ca. 31,5 °C. Dit zijn zeer warme temperaturen, al hangt de interpretatie van deze absolute waarden af van de gebruikte paleotemperatuursvergelijking en bijhorende keuze voor de isotopische samenstelling van het zeewater. Of de (seizoenale) influx van isotopisch licht rivierwater in het Noordzeebekken tot een overschatting van de berekende temperaturen heeft geleid, zou in de toekomst met behulp van een multiproxyonderzoek kunnen worden nagegaan. Zo'n onderzoek zou bovendien ook nuttig kunnen zijn voor de interpretatie van de onderzochte koolstofisotopendata, aangezien de vastgestelde variaties uiteenlopende oorzaken kunnen hebben, waartussen zonder gepast onderzoek geen discriminatie mogelijk is.

Een evaluatie van de gemiddelde jaarlijkse temperatuur van het Eoceen tot en met Pliocene, gebaseerd op deze en twee andere studies van stabiele isotopengegevens van otolieten afkomstig uit het zuidelijke Noordzeebekken, vertoont een analoog patroon als de standaardcurve voor dezelfde periode op basis van benthische foraminiferen. Deze concordantie met andere studies maakt van otolieten een volwaardige paleoklimatologische proxy. Aan de hand van crossplots van de ^{18}O - en ^{13}C -isotopen blijkt er wel een discrepantie te zijn tussen genera in de manier waarop zij éénzelfde isotopisch signaal inbouwen in hun otolieten. Onder de assumptie dat zij een zelfde leefgebied hadden en niet migreerden, ligt de oorzaak bij een taxoneffect, en moet er bijgevolg in de toekomst aandacht besteed worden aan het opstellen van taxonspecifieke paleotemperatuursvergelijkingen.

Bij wijze van prospectie zijn ook recent ontwikkelde correctiemethodes voor uitmiddeling bij het boren, en voor niet-lineaire groeisnelheid, toegepast op de incrementdata van enkele otolieten. Deze toepassing is geslaagd en de voorlopige resultaten zijn uitnodigend om zowel

met de ontwikkeling van de correctiemethodes, als de toepassing ervan op data van otolieten, verder te gaan. Als hulp bij deze correcties, is ook een nieuw beeldanalyseprogramma gebruikt, voor een objectieve koppeling van de isotopendata met de visuele seizoenale incrementen. Het inbouwen van dergelijke beeldanalyses in de toekomst kan zeer nuttig zijn. Samengevat heeft deze thesis nieuwe paleoklimatologische data voor de regio van het zuidelijke Noordzeebekken bijgedragen, en blijkt tevens dat otolietenonderzoek potentieel biedt als paleoklimatologische proxy voor het Paleogeen. De uitbreiding van het gebruik ervan naar andere tijdsniveau's en (deel)bekkens, zij het in een multiproxyverband, lijkt dan ook een logische stap voor verder onderzoek in de nabije toekomst.

► CONCLUSIONS

In this study, the use of otolith stable isotopes as a proxy for Paleogene climate parameters of the southern North Sea Basin, is extended and assessed. Therefore, bulk and incremental samples of Congrid and Ophidiid otoliths from several stratigraphic levels deposited during the Early Eocene, especially the EECO, have been analysed for their ^{18}O en ^{13}C isotope content. Despite the fact that less samples were analysed than originally intended (by operational problems), it has been found that the Early Eocene in the southern North Sea Basin was characterised by a stable tropical climate, with pronounced seasonality. The mean MART is estimated at 8,5 °C, which agrees well with data from literature. Mean summer and winter temperatures are calculated to be approximately 35,5 °C and 25 °C respectively, and the mean annual temperature to be approximately 31,5 °C. These are all very warm temperatures, but their interpretation depends on the paleotemperature equation that was used, and on an assumed value for the isotopic composition of the sea water at that time. Whether or not (seasonal) influx of isotopically light riverine water in the North Sea Basin has led to an overestimation of the calculated temperatures, can probably be inferred from a multi-proxy approach in future research. In addition, such an approach would be useful for the interpretation of the inferred carbon isotope data, as their variability can have a number of causes, between without appropriate research no discrimination is possible.

The evaluation of the mean annual temperature trend during the Eocene through Pliocene interval – based on this study and two other studies of southern North Sea Basin otolith stable isotope data – showed a pattern analogous the standard pattern for the same interval based on benthic foraminifera. This concordance with other studies argues for the acceptance of otoliths as a undepreciated paleoclimate proxy. However, based on ^{18}O en ^{13}C isotope crossplots, there seems to be a discrepancy between genera in the way they incorporate the same isotopic signal in their otoliths. If it is assumed that these genera lived in approximately the same area and that they have not been migrating during their life, this discrepancy is caused by a taxon effect. Hence, in future research attention should be paid to the establishment of taxon-specific paleotemperature equations.

By means of prospection, recently developed corrections for sample averaging and non-linear growth rates have been applied to the incremental data of some otoliths, with success. The preliminary results are encouraging for the further development of appropriate corrections, and their application to otolith stable isotope data. The use of a simple, newly developed

image analysis program assisted in the interpretation of the visual incremental patterns. Such image analyses could prove to be very useful if more research were carried out.

To summarize, this thesis has yielded new paleoclimatological data for the southern North Sea Basin region, and it appears that otolith stable isotope research has a potential as a sound paleoclimate proxy for the Paleogene. The extension of this research to other time intervals and (sub)basins, albeit as part of a multiproxy approach, seems a logical step for further research in the near future.

► REFERENTIES

- ANDREASSON F. P. and SCHMITZ B. (1996) Winter and summer temperatures of the early middle Eocene of France from Turritella delta O-18 profiles. *Geology* **24**(12), 1067-1070.
- BEELAERTS V., DE RIDDER F., SCHMITZ N., BAUWENS M., DEHAIRS F., SCHOUKENS J. and PINTELON R. (2009) On the Elimination of Bias Averaging-Errors in Proxy Records. *Mathematical Geosciences* **41**(2), 129-144.
- BICKERT T. (2000) Influence of geochemical processes on stable isotope distribution in marine sediments. In *Marine Geochemistry* (eds. H. D. Schulz and M. Zabel), pp. 309-334. Springer Verlag, Berlin.
- BUICK D. P. and IVANY L. C. (2004) 100 years in the dark: Extreme longevity of Eocene bivalves from Antarctica. *Geology* **32**(10), 921-924.
- CAMPANA S. E. (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology-Progress Series* **188**, 263-297.
- CAMPANA S. E. (2001) Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* **59**(2), 197-242.
- COLANTONIO J. R., VERMOT J., WU D., LANGENBACHER A. D., FRASER S., CHEN J. N. and HILL K. L. (2009) The dynein regulatory complex is required for ciliary motility and otolith biogenesis in the inner ear. *Nature* **457**(7226), 205-209.
- CORFIELD R. M. (1995) An introduction to the techniques, limitations and landmarks of carbonate oxygen isotope palaeothermometry. In *Marine Palaeoenvironmental Analysis from fossils* (eds. D. W. Bosence and P. A. Allison), Geological Society Special Publication **83**, pp. 27-42. Geological Society of London, London
- CORREIA A. T., ANTUNES C. and COIMBRA J. (2002) Aspects of the early life history of the European conger eel (*Conger conger*) inferred from the otolith microstructure of metamorphic larvae. *Marine Biology* **140**(1), 165-173.
- DAUPHIN Y. and DUFOUR E. (2008) Nanostructures of the aragonitic otolith of cod (*Gadus morhua*). *Micron* **39**(7), 891-896.
- DE CONINCK J. (1991) Ypresian organic-walled phytoplankton in the Belgian Basin and adjacent areas. In Dupuis, C., Deconinck, J., Steurbaut, E. (eds.) (1991) The Ypresian Stratotype. *Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 287-319.
- DE GEYTER G., DE MAN E., HERMAN J., JACOBS P., MOORKENS T., STEURBAUT E. and VANDENBERGHE N. (2006) Disused Paleogene regional stages from Belgium: Montian, Heersian, Landenian, Paniselian, Bruxellian, Laekenian, Ledian, Wemmelian, Tongrian. *Geologica Belgica* **9**(1-2), 203-213.
- DE MAN E., IVANY L. and VANDENBERGHE N. (2004) Stable oxygen isotope record of the Eocene-Oligocene transition in the southern North Sea Basin: positioning the Oi-1 event. *Netherlands Journal of Geosciences* **83**(3), 193-197.
- DE MAN E. (2006) *Benthic foraminifera biofacies analysis and stable isotopes of the Middle Eocene to Oligocene successions in the southern North Sea Basin. Tools for stratigraphy and for reconstruction of extreme climate changes*, Unpublished PhD thesis, Leuven. pp. 375.
- DE RIDDER F., PINTELON R., SCHOUKENS J., GILLIKIN D., ANDRE L., BAEYENS W., DE BRAUWERE A. and DEHAIRS F. (2004) Decoding nonlinear growth rates in biogenic environmental archives. *Geochemistry Geophysics Geosystems* **5**, Q12015.
- DEZES P., SCHMID S. M. and ZIEGLER P. A. (2004) Evolution of the European Cenozoic Rift System: interaction of the Alpine and Pyrenean orogens with their foreland lithosphere. *Tectonophysics* **389**(1-2), 1-33.
- DUFOUR E., HOOK T. O., PATTERSON W. P. and RUTHERFORD E. S. (2008) High-resolution isotope analysis of young alewife *Alosa pseudoharengus* otoliths: assessment of temporal resolution and reconstruction of habitat occupancy and thermal history. *Journal of Fish Biology* **73**(10), 2434-2451.
- EGGER H. and BRUCKL E. (2006) Gigantic volcanic eruptions and climatic change in the early Eocene. *International Journal of Earth Sciences* **95**(6), 1065-1070.
- ELDRETT J. S., GREENWOOD D. R., HARDING I. C. and HUBER M. (2009) Increased seasonality through the Eocene to Oligocene transition in northern high latitudes. *Nature* **459**(7249), 969-U91.
- FABLET R., CHESSEL A., CARBINI S., BENZINOU A. and DE PONTUAL H. (2009) Reconstructing individual shape histories of fish otoliths: A new image-based tool for otolith growth analysis and modeling. *Fisheries Research* **96**(2-3), 148-159.
- FALINI G., FERMANI S., VANZO S., MILETIC M. and ZAFFINO G. (2005) Influence on the formation of aragonite or vaterite by otolith macromolecules. *European Journal of Inorganic Chemistry*(1), 162-167.
- FOBE B. (1991) Limestones and sandstones of the leper Formation. Their nature and stratigraphic significance. *Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 473-479.
- FOOKES P. G. and MARK LEE E. (2007) Climate variation: a simple geological perspective. *Geology Today* **23**(2), 66-73.
- GAO Y. (1999) Microsampling of fish otoliths: a comparison between DM 2800 and Dremel in stable isotope analysis. *Environmental Biology of Fishes* **55**(4), 443-448.

- GHOSH P., EILER J., CAMPANA S. E. and FEENEY R. F. (2007) Calibration of the carbonate 'clumped isotope' paleothermometer for otoliths. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **71**(11), 2736-2744.
- GRIMES S. T., MATTEY D. P., HOOKER J. J. and COLLINSON M. E. (2003) Paleogene paleoclimate reconstruction using oxygen isotopes from land and freshwater organisms: the use of multiple paleoproxies. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **67**(21), 4033-4047.
- GROSSMAN E. L. and KU T. L. (1986) Oxygen and Carbon Isotope Fractionation in Biogenic Aragonite - Temperature Effects. *Chemical Geology* **59**(1), 59-74.
- GUIGUER K. R. R. A., DRIMMIE R. and POWER M. (2003) Validating methods for measuring delta O-18 and delta C-13 in otoliths from freshwater fish. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **17**(5), 463-471.
- HARTING P., LUBACH D. and LOGEMAN W. M. (1857) *Album der Natuur. Een werk ter verspreiding van natuurkennis onder beschaafde lezers van allerlei stand.* A.C. Kruseman, Haarlem. pp. 384 + 88
- HENDERSON P. A. (2006) The Growth of Tropical Fishes. In *The Physiology of Tropical Fishes* (eds. A. L. Val, V. M. F. de Almeida-Val and D. J. Randall), pp. 85-100. Elsevier, Amsterdam.
- HOEFS J. (1997) *Stable Isotope Geochemistry.* Springer, Berlin. pp. 201.
- HØIE H., FOLKVORD A. and OTTERLEI E. (2003) Effect of somatic and otolith growth rate on stable isotopic composition of early juvenile cod (*Gadus morhua* L) otoliths. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **289**(1), 41-58.
- HØIE H., ANDERSSON C., FOLKVORD A. and KARLSEN O. (2004) Precision and accuracy of stable isotope signals in otoliths of pen-reared cod (*Gadus morhua*) when sampled with a high-resolution micromill. *Marine Biology* **144**(6), 1039-1049.
- HØIE H. and FOLKVORD A. (2006) Estimating the timing of growth rings in Atlantic cod otoliths using stable oxygen isotopes. *Journal of Fish Biology* **68**(3), 826-837.
- HUXHAM M., KIMANI E., NEWTON J. and AUGLEY J. (2007) Stable isotope records from otoliths as tracers of fish migration in a mangrove system. *Journal of Fish Biology* **70**(5), 1554-1567.
- IACUMIN P., BIANUCCI G. and LONGINELLI A. (1992) Oxygen and Carbon Isotopic Composition of Fish Otoliths. *Marine Biology* **113**(4), 537-542.
- IPCC (2007) The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds. S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor and H. L. Miller), pp. 996. Cambridge University Press, Cambridge and New York.
- IRVING E. (2008) Why Earth became so hot 50 million years ago and why it then cooled. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**(42), 16061-16062.
- IVANY L. C., PETERS S. C., WILKINSON B. H., LOHMANN K. C. and REIMERAND B. A. (2004a) Composition of the early Oligocene ocean from coral stable isotope and elemental chemistry. *Geobiology* **2**, 97-106.
- IVANY L. C., WILKINSON B. H., LOHMANN K. C., JOHNSON E. R., McELROY B. J. and COHEN G. J. (2004b) Intra-annual isotopic variation in *Venericardia* bivalves: Implications for early eocene temperature, seasonality, and salinity on the US Gulf Coast. *Journal of Sedimentary Research* **74**(1), 7-19.
- IVANY L. C., PATTERSON W. P. and LOHMANN K. C. (2000) Cooler winters as a possible cause of mass extinctions at the eocene/oligocene boundary. *Nature* **407**(6806), 887-890.
- JANSEN E., OVERPECK J., BRIFFA K. R., DUPLESSY J.-C., JOOS F., MASSON-DELMOTTE V., OLAGO D., OTTO-BLIESNER B. L., PELTIER W. R., RAHMSTORF S., RAMESH R., RAYNAUD D., RIND D., SOLOMINA O., VILLALBA R. and ZHANG D. (2007) Palaeoclimate. In *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds. S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor and H. L. Miller), pp. 434-497. Cambridge University Press, Cambridge.
- JOLLEY D. W. and BELL B. R. (2002) The evolution of the North Atlantic Igneous Province and the opening of the NE Atlantic Rift. In *The North Atlantic Igneous Province: Stratigraphy, Tectonic, Volcanic and Magmatic Processes* (eds. D. W. Jolley and B. R. Bell), The Geological Society Special Publications **197**, pp. 1-13. The Geological Society, London.
- JOLLEY D. W. and WIDDOWSON M. (2005) Did Paleogene North Atlantic rift-related eruptions drive early Eocene climate cooling? *Lithos* **79**(3-4), 355-366.
- KALISH J. M. (1991) C-13 and O-18 Isotopic Disequilibrium in Fish Otoliths - Metabolic and Kinetic Effects. *Marine Ecology-Progress Series* **75**(2-3), 191-203.
- KENT D. V. and MUTTONI G. (2008) Equatorial convergence of India and early Cenozoic climate trends. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**(42), 16065-16070.
- KERRICK D. M. and CALDEIRA K. (1999) Was the Himalayan orogen a climatically significant coupled source and sink for atmospheric CO₂ during the Cenozoic? *Earth and Planetary Science Letters* **173**(3), 195-203.
- KING C. (1991) Stratigraphy of the Ieper Formation and Argile de Flandres (Early Eocene) in western Belgium and northern France. In Dupuis, C., Deconinck, J., Steurbaut, E. (eds.) (1991) The Ypresian Stratotype. *Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 349-372.

- KING C. (2006) Paleogene and Neogene: uplift and a cooling climate. In *The geology of England and Wales* (eds. P. M. Duff, P. J. Brenchley and R. P. Franklin), pp. 395-428. Geological Society of London, London.
- KLEIN C. (2002) *The 22nd edition of the manual of Mineral Science*. Jon Wiley & Sons, Inc. pp. 641.
- KLEIN R. T. and FRICKE H. C. (1997) Winter and summer temperatures of the early middle Eocene of France from Turritella delta O-18 profiles: Comment. *Geology* **25**(10), 957-958.
- LEA D. W. (2007) Elemental and Isotopic Proxies of Past Ocean Temperatures. In *Treatise on Geochemistry. Volume 6. The Oceans and Marine Geochemistry* (eds. H. D. Holland and K. K. Turekian), pp. 365-390. Elsevier Ltd.
- LEAR C. H. (2007) Mg/Ca palaeothermometry: a new window into Cenozoic climate change. In *Deep-Time Perspectives on Climate Change: Marrying the Signal from Computer Models and Biological Proxies* (eds. M. Williams, A. M. Haywood, F. J. Gregory and D. N. Schmidt), pp. 313-322. The Micropalaeontological Society, Special Publications. The Geological Society, London.
- LOURENS L. J., SLUIJS A., KROON D., ZACHOS J. C., THOMAS E., ROHL U., BOWLES J. and RAFFI I. (2005) Astronomical pacing of late Palaeocene to early Eocene global warming events. *Nature* **435**(7045), 1083-1087.
- LYELL C. (1830) *Principles of Geology, Being an Attempt to Explain the Former Changes of the Earth's Surface, by Reference to Causes Now in Operation*. John Murray, London.
- LYELL C. (1852) On the Tertiary Strata of Belgium and French Flanders. *The Quarterly Journal of the Geological Society of London* **8**, 277-371.
- MARKWICK P. J. (1994) Equability, Continentality, and Tertiary Climate - the Crocodilian Perspective. *Geology* **22**(7), 613-616.
- MARSHALL J. D. (1992) Climatic and Oceanographic Isotopic Signals from the Carbonate Rock Record and Their Preservation. *Geological Magazine* **129**(2), 143-160.
- MASLIN M. A. and SWANN G. E. A. (2005) Isotopes in marine sediments. In *Isotopes in Palaeoenvironmental Research* (ed. M. J. Leng), pp. 227-290. Springer.
- MERCIER-CASTIAUX M. and DUPUIS C. (1991) Clay mineral associations in the Ypresian formations in the NW European Basin. Time and geographical variations - interpretations. In Dupuis, C., Deconinck, J., Steurbaut, E. (eds.) (1991) *The Ypresian Stratotype. Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 441-450.
- MOYLE P. B. and CECH J. J. J. (2004) *Fishes. An Introduction to Ichthyology*. Prentice Hall, Upple Saddle River. pp. 726.
- MURRAY J. W. (1992) Palaeogene and Neogene. In *Atlas of Palaeogeography and Lithofacies* (eds. J. C. W. Cope, J. K. Ingham and P. F. Rawson), pp. 141-147. Geological Society Memoirs **13**, Geological Society of London, London.
- NOLF D. (1985) Otolithi Piscium. In *Handbook of Paleoichthyology* (eds. H. P. Schultze and O. Kuhn), pp. 145. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- NOLF D. (1995) Studies on fossil otoliths - The state of the art. *Recent Developments in Fish Otolith Research*(19), 513-544.
- OOGHE B. (1992) Onderzoek van het Redonien in Bretagne: paleoichthyologie, stabiele isotopen geochemie, paleoecologie. Unpublished Msc. thesis, Vrije Universiteit Brussel, Brussel. pp. 153.
- O'SULLIVAN S., MORIARTY C., FITZGERALD R. D., DAVENPORT J. and MULCAHY M. E. (2003) Age, growth and reproductive status of the European conger eel, Conger conger (L.) in Irish coastal waters. *Fisheries Research* **64**(1), 55-69.
- PANNELLA G. (1980a) Growth Patterns in Fish Sagittae. In *Skeletal Growth of Aquatic Organisms* (eds. D. C. Rhoads and R. A. Lutz), pp. 519-560. Plenum Press, New York.
- PANNELLA G. (1980b) Methods of Preparing Fish Sagittae for the Study of Growth Patterns. In *Skeletal Growth of Aquatic Organisms* (eds. D. C. Rhoads and R. A. Lutz), pp. 619-624. Plenum Press, New York.
- PATTERSON W. P. (1998) North American continental seasonality during the last millennium: high-resolution analysis of sagittal otoliths. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* **138**(1-4), 271-303.
- PATTERSON W. P. (1999) Oldest isotopically characterized fish otoliths provide insight to Jurassic continental climate of Europe. *Geology* **27**(3), 199-202.
- PATTERSON W. P., SMITH G. R. and LOHMANN K. C. (1993) Continental paleothermometry and seasonality using the isotopic composition of aragonitic otoliths of freshwater fishes. *Geophysical Monographs* **78**, 191-202.
- PEARSON P. N. and PALMER M. R. (2000) Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. *Nature* **406**(6797), 695-699.
- PICKHARDT C., DIETZE H. J. and BECKER J. S. (2005) Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for direct isotope ratio measurements on solid samples. *International Journal of Mass Spectrometry* **242**(2-3), 273-280.
- PILLING G. M., MILLNER R. S., EASEY M. W., MAXWELL D. L. and TIDD A. N. (2007) Phenology and North Sea cod *Gadus morhua* L.: has climate change affected otolith annulus formation and growth? *Journal of Fish Biology* **70**(2), 584-599.

- PINET P. R. (2000) *Invitation to Oceanography*. Jones and Bartlett Publishers International, London. pp. 555.
- POPPER A. N. and LU Z. M. (2000) Structure-function relationships in fish otolith organs. *Fisheries Research* **46**(1-3), 15-25.
- PRICE G. D., WILKINSON D., HART M. B., PAGE K. N. and GRIMES S. T. (2009) Isotopic analysis of coexisting Late Jurassic fish otoliths and molluscs: Implications for upper-ocean water temperature estimates. *Geology* **37**(3), 215-218.
- PURTON L. M. A. and BRASIER M. D. (1997) Winter and summer temperatures of the early middle Eocene of France from *Turritella* delta O-18 profiles: Comment. *Geology* **25**(10), 958-958.
- REICHENBACHER B., FEULNER G. R. and SCHULZ-MIRBACH T. (2009) Geographic Variation in Otolith Morphology Among Freshwater Populations of *Aphanius dispar* (Teleostei, Cyprinodontiformes) from the Southeastern Arabian Peninsula. *Journal of Morphology* **270**(4), 469-484.
- RESTALLACK G. J. (2001) A 300-million-year record of atmospheric carbon dioxide from fossil plant cuticles. *Nature* **411**(6835), 287-290.
- ROBERT C. and CHAMLEY H. (1991) Development of Early Eocene Warm Climates, as Inferred from Clay Mineral Variations in Oceanic Sediments. *Global and Planetary Change* **89**(4), 315-331.
- ROCHE E. (1991) Sporopollinic biostratigraphy and Ypresian paleoenvironment. In Dupuis, C., Deconinck, J., Steurbaut, E. (eds.) (1991) The Ypresian Stratotype. *Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 373-383.
- ROYER D. L. (2003) Estimating latest Cretaceous and Tertiary atmospheric CO₂ from stomatal indices. In *Causes and Consequences of Globally Warm Climates in the Early Paleogene* (eds. S. L. Wing, P. D. Gingerich, B. Schmitz and E. Thomas), Geological Society of America Special Paper **369**, pp. 79-93. Geological Society of America, Boulder, Colorado.
- RUDDIMAN W. F. (2001) *Earth's climate. Past and Future*. W.H. Freeman and Company, New York. pp. 465.
- RYE D. M. and SOMMER II M. A. (1980) Reconstructing Paleotemperature and Paleosalinity Regimes with Oxygen Isotopes. In *Skeletal Growth of Aquatic Organisms* (eds. D. C. Rhoads and R. A. Lutz), pp. 169-205. Plenum Press, New York.
- SEI S. (2005) Aging and growth estimation of Plaice *Pleuronectes platessa* L., from the Celtic Sea and the North Sea: stable $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^{13}\text{C}$ isotopes in otoliths as a validation tool for classical methods. Unpublished Master of Science thesis. Vrije Universiteit Brussel, 116 pp.
- 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.
- SINTUBIN M. (2004) De geologische geschiedenis van België. Fotografische Impressies. ACCO, Leuven, CD-ROM.
- SMITH M. M. and HEEMSTRA P., C. (1986) *Smiths' Sea Fishes*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 1047.
- SOLLNER C., BURGHAMMER M., BUSCH-NENTWICH E., BERGER J., SCHWARZ H., RIEKEL C. and NICOLSON T. (2003) Control of crystal size and lattice formation by starmaker in otolith biomineralization. *Science* **302**(5643), 282-286.
- STEURBAUT E. (1991) Ypresian calcareous nannoplankton biostratigraphy and palaeogeography of the Belgian Basin. In Dupuis, C., Deconinck, J., Steurbaut, E. (eds.) (1991) The Ypresian Stratotype. *Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 251-285.
- STEURBAUT E. (1998) High-resolution holostratigraphy of Middle Paleocene to Early Eocene strata in Belgium and adjacent areas. *Palaeontographica Abt. A* **247**(5-6), 91-156.
- STEURBAUT E. (2006) Ypresian. In Dejonghe, L., ed., Current status of chronostratigraphic units named from Belgium and adjacent areas. *Geologica Belgica* **9**(1-2), 73-93.
- STEURBAUT E. and NOLF D. (1988) Ypresian Teleost otoliths from Belgium and northwestern France. In Dupuis, C., Deconinck, J., Steurbaut, E. (eds.) (1991) The Ypresian Stratotype. *Bulletin de la Société belge de Géologie* **97**(3-4), 321-347.
- STEURBAUT E., MAGIONCALDA R., DUPUIS C., VAN SIMAEYS S., ROCHE E. and ROCHE M. (2003) Palynology, paleoenvironments, and organic carbon isotope evolution in lagoonal Paleocene-Eocene boundary settings in North Belgium. In *Causes and Consequences of Globally Warm Climates in the Early Paleogene* (eds. S. L. Wing, P. D. Gingerich, B. Schmitz and E. Thomas), pp. 291-317. Geological Society of America, Boulder, Colorado.
- STOREY M., DUNCAN R. A. and SWISHER C. C. (2007) Paleocene-Eocene thermal maximum and the opening of the northeast Atlantic. *Science* **316**(5824), 587-589.
- STORM-SUKE A., DEMPSON J. B., REIST J. D. and POWER M. (2007) A field-derived oxygen isotope fractionation equation for *Salvelinus* species. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **21**(24), 4109-4116.
- SURGE D. and WALKER K. J. (2005) Oxygen isotope composition of modern and archaeological otoliths from the estuarine hardhead catfish (*Ariopsis felis*) and their potential to record low-latitude climate change. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* **228**(1-2), 179-191.
- TAJIKA E. (1998) Climate change during the last 150 million years: reconstruction from a carbon cycle model. *Earth and Planetary Science Letters* **160**(3-4), 695-707.

- THORROLD S. R., CAMPANA S. E., JONES C. M. and SWART P. K. (1997) Factors determining delta C-13 and delta O-18 fractionation in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **61**(14), 2909-2919.
- TOHSE H., TAKAGI Y. and NAGASAWA H. (2008) Identification of a novel matrix protein contained in a protein aggregate associated with collagen in fish otoliths. *Febs Journal* **275**(10), 2512-2523.
- TOMAS J. and GEFFEN A. J. (2003) Morphometry and composition of aragonite and vaterite otoliths of deformed laboratory reared juvenile herring from two populations. *Journal of Fish Biology* **63**(6), 1383-1401.
- TRUCHET M., DELHAYE M. and BENY C. (1995) Identification des carbonates de calcium, calcite, aragonite et vaterite par microsonde Raman-Castaing. Application aux biominéralisations. *Analisis* **23**, 516-518.
- URSIN E. (1979) Principles of Growth in Fishes. *Symp. zool. Soc. Lond.*(44), 63-87.
- VANDENBERGHE N., VAN SIMAEYS S., STEURBAUT E., JAGT J. W. M. and FELDER P. J. (2004) Stratigraphic architecture of the Upper Cretaceous and Cenozoic along the southern border of the North Sea Basin in Belgium. *Netherlands Journal of Geosciences* **83**(3), 155-171.
- VANDENBERGHE N., VAN SIMAEYS S. and STEURBAUT E. (2005) Stratigraphic Architecture of the Paleogene sedimentary filling of the southern border of the North Sea Basin in Belgium, Chart, 07/2005, Leuven.
- VAN NEER W., ERYNCK A., BOLLE L. J. and MILLNER R. S. (2004) Seasonality only works in certain parts of the year: The reconstruction of fishing seasons through otolith analysis. *International Journal of Osteoarchaeology* **14**(6), 457-474.
- VAN SIMAEYS S., VANDENBERGHE N. and STEURBAUT E. (2003) The Early Eocene Climatic Optimum: Evidence from high-resolution dinoflagellate cyst biostratigraphy. In *Symposium on the Paleogene - Preparing for Modern Life and Climate, 25-30 August 2003, Leuven, Belgium. Abstract and Program Book.* p. 77.
- VAUGHAN A. P. M. (2007) Climate and Geology - a Phanerozoic perspective. In *Deep-Time Perspectives on Climate Change: Marrying the Signal from Computer Models and Biological Proxies* (eds. M. Williams, A. M. Haywood, F. J. Gregory and D. N. Schmidt), pp. 5-59. The Micropalaeontological Society, Special Publications. The Geological Society, London.
- WALLMANN K. (2001) Controls on the Cretaceous and Cenozoic evolution of seawater composition, atmospheric CO₂ and climate. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **65**(18), 3005-3025.
- WEINER S. and DOVE P. M. (2003) An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect. In *Biomineralization* (eds. P. M. Dove, J. J. De Yoreo and S. Weiner), pp. 1-29. Mineralogical Society of America, *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* **54**.
- WING S. L. and GREENWOOD D. R. (1993) Fossils and Fossil Climate - the Case for Equable Continental Interiors in the Eocene. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* **341**(1297), 243-252.
- WURSTER C. M., PATTERSON W. P. and CHEATHAM M. M. (1999) Advances in micromilling techniques: a new apparatus for acquiring high-resolution oxygen and carbon stable isotope values and major/minor elemental ratios from accretionary carbonate. *Computers & Geosciences* **25**(10), 1159-1166.
- YAPP C. J. (2004) Fe(CO₃)OH in goethite from a mid-latitude North American Oxisol: Estimate of atmospheric CO₂ concentration in the Early Eocene "climatic optimum". *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **68**(5), 935-947.
- ZACHOS J. C., DICKENS G. R. and ZEEBE R. E. (2008) An early Cenozoic perspective on greenhouse warming and carbon-cycle dynamics. *Nature* **451**(7176), 279-283.
- ZACHOS J., PAGANI M., SLOAN L., THOMAS E. and BILLUPS K. (2001) Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* **292**(5517), 686-693.
- ZACKE A., VOIGT S., JOACHIMSKI M. M., ANDREW S. G., WARD D. J. and TÜTKEN T. (2009) Surface-water freshening and high-latitude river discharge in the Eocene North Sea. *Journal of the Geological Society* **166**, 1-12.

A1. VERANTWOORDING MET BETREKKING TOT OPERATIONELE PROBLEMEN GEDURENDE DEZE STUDIE

Tijdens het uitvoeren van de stabiele isotopenanalyses (zie Hoofdstuk 8) voor deze studie hebben zich enkele onvoorziene problemen voorgedaan. Dit in dergelijke mate, dat ze een impact hebben gehad op de timing van de finalisatie van deze thesistekst, en de inlossing van enkele vooropgestelde verwachtingen. Er waren zowel operationele problemen met het Kiel-apparaat, als met de massaspectrometer. Hieronder volgen ter verantwoording hiervoor deze problemen in meer detail, en hun impact op het eindresultaat. Het is in ieder geval de bedoeling om de bevindingen in deze thesis gemaakt aan te vullen en op punt te stellen, door de niet uitgevoerde analyses alsnog uit te voeren, en foute analyses opnieuw uit te voeren, in de nabije toekomst.

De meeste tijd is verloren gegaan bij het gebruik van de Kiel-carbonaatvoorbereiding. Quasi elke run met analyses viel één tot meerdere keren stil wegens foutmeldingen, en moest vervolgens opnieuw worden opgestart. De hoofdproblemen situeerden zich omstreeks de connectie van de staalhouders aan het Kiel-apparaat enerzijds, en aan het zuurdruppelteller en -verdeler anderzijds (zie Figuur 8.1). Een bijkomend éénmalig probleem was een verstopping van de zuurtoevoer naar de stalen, en een ander éénmalig probleem het niet kunnen bereiken van vereiste temperaturen voor de 'traps' (paragraaf 8.1.1). Al deze problemen werden aangepakt vanaf dat ze zich voordeden, maar pas op het einde van april verliep de Kiel-carbonaatvoorbereiding feilloos.

Op dat moment dook er echter een ernstiger probleem op. Van alle data geanalyseerd omstreeks eind april – begin mei bleek $\frac{1}{4}$ onbruikbaar. In bijna alle gevallen gaf de massaspectrometer aan dat er te weinig CO_2 was om te analyseren. Dit ligt niet aan de staalname bij het boren, aangezien de staalname analoog aan voorbeelden in de literatuur is gebeurd, en aangezien zowel stalen met grote geschatte volumes als kleine geschatte volumes foute data opleverden. Andere data waarbij er wel genoeg CO_2 bleek om te analyseren, waren eveneens herkenbaar als foute data door hun zeer grote massaspectrometer-standaarddeviatie. De overige data daarentegen zijn goed en betrouwbaar: er is geen reden om ze te verwerpen en ze liggen volledig in de lijn van de data van enkele goede runs (de eerste runs, voor de problemen zich voordeden). Aan de problemen werd uiteraard gehoor gegeven, maar het oplossen ervan nam tot einde juli in beslag, waardoor het onmogelijk was ook nog in een tweede zitting aanvullende en nieuwe data te analyseren.

Zoals reeds vermeld in o.a. Hoofdstuk 10, hebben deze problemen gevolgen bij de interpretatie van de gegevens:

► bij het nagaan van globale temperatuursvariaties doorheen de tijd: er zijn geen data beschikbaar van O13 (*Glyptophidium polli*, Klei van Roubaix). Daarom is er geen vergelijking met data van andere soorten mogelijk, en is er een stratigrafisch niveau minder beschikbaar voor interpretatie.

► bij het nagaan van seizoenaliteit: door de vele ontbrekende data per seizoenale datareeks van veel otolieten, is het berekenen van seizoenale parameters onmogelijk geworden. Van de data die wel beschikbaar zijn, is interpretatie bemoeilijkt, omdat er weinig zijn en bovendien geen statistische uitspraken kunnen worden gedaan.

► bij de evaluatie van laterale equivalenten, door het ontbreken van O13 en een tekort aan seizoenale data samen

► bij de evaluatie van de robuustheid van bulkstalen. Dit zou worden nagegaan aan de hand van stalen van het bekken van Gan in Aquitaine (Frankrijk), waarbij 4 bulkstalen per otolieten zouden worden geboord. Deze analyses zijn echter niet kunnen doorgaan.

A2. BASISINFORMATIE EN STRATIGRAFISCHE INFORMATIE VAN DE OTOLIETEN GEBRUIKT IN DEZE THESIS

| OID | Species | Classification | Locality | Lithostratigraphy |
|------|-------------------------------------|----------------|-----------------------------------|---|
| O1A | Paraconger sauvagei | Congridae | "P2P/Aalter" | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O2A | "genus Neobythitiorum" subregularis | Ophidiidae | "Scherpenberg" | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O3A | Paraconger papointi | Congridae | "Ampe, Egem" | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O4A | "genus Neobythitiorum" subregularis | Ophidiidae | "Ampe, Egem" | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O5A | Paraconger papointi | Congridae | "Ampe, Egem" | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O6A | "genus Neobythitiorum" subregularis | Ophidiidae | "Ampe, Egem" | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O7A | Paraconger papointi | Congridae | "Scheddaal" | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O8A | "genus Neobythitiorum" subregularis | Ophidiidae | "Scheddaal" | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O9A | Glyptophidium polli | Ophidiidae | "Scheddaal" | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O10A | Glyptophidium polli | Ophidiidae | "Ronse Waalenberghe 2a" | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O11A | "genus Neobythitiorum" subregularis | Ophidiidae | "Ronse Waalenberghe 2a" | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O12A | Glyptophidium polli | Ophidiidae | "Montreuil-aux-Bois 23437" | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O13A | Glyptophidium polli | Ophidiidae | "Bossuyt kanaal, 0,5 m boven weg" | Roubaix Clay Member, Kortrijk Clay Formation, leper Group |

| OID | Chronostratigraphy | Biostratigraphy | Magnetostratigraphy | Geochronology |
|------|--------------------|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| O1A | Ypresian, Eocene | NP13 (upper or top) | C22r (upper or top) | 49,80 (interpolated) |
| O2A | Ypresian, Eocene | NP13 (upper or top) | C22r (upper or top) | 49,80 (interpolated) |
| O3A | Ypresian, Eocene | NP12/7 (middle) | C23n (middle) | 51,50 (interpolated) |
| O4A | Ypresian, Eocene | NP12/7 (middle) | C23n (middle) | 51,50 (interpolated) |
| O5A | Ypresian, Eocene | NP12/7,8 (middle) | C23n (middle) | 51,40 (interpolated) |
| O6A | Ypresian, Eocene | NP12/7,8 (middle) | C23n (middle) | 51,40 (interpolated) |
| O7A | Ypresian, Eocene | NP12 (top) | C22r (bottom) or C23n (top) | 50,75 (C22r/C23n) |
| O8A | Ypresian, Eocene | NP12 (top) | C22r (bottom) or C23n (top) | 50,75 (C22r/C23n) |
| O9A | Ypresian, Eocene | NP12 (top) | C22r (bottom) or C23n (top) | 50,75 (C22r/C23n) |
| O10A | Ypresian, Eocene | NP11 (top) or NP12 (bottom) | C24Bn, C24Ar, C24An or C23n (bottom) | 53,00 (NP11/NP12 and C24/C23r) |
| O11A | Ypresian, Eocene | NP11 (top) or NP12 (bottom) | C24Bn, C24Ar, C24An or C23n (bottom) | 53,00 (NP11/NP12 and C24/C23r) |
| O12A | Ypresian, Eocene | NP11 (top) or NP12 (bottom) | C24Bn, C24Ar, C24An or C23n (bottom) | 53,00 (NP11/NP12 and C24/C23r) |
| O13A | Ypresian, Eocene | NP11 (top) or NP12 (bottom) | C24An (top) or C23n (bottom) | 52,7 (C24An/C23n) |

A3. TABEL VAN ALLE ISOTOPENDATA, EN TEMPERATUURSBEREKENING VOLGENS THORROLD ET AL. (1997) EN PATTERSON ET AL. (1993) VOOR

VERSCHILLENDE WAARDEN VOOR $\delta^{18}O_w$.

| Nr | OID | Type (*) | $\delta^{13}C$ (VPDB) | Stdev | $\delta^{18}O$ (VPDB) | Stdev | $\delta^{18}O_w = -1,00$ | | $\delta^{18}O_w = -1,20$ | | $\delta^{18}O_w = -1,50$ | |
|----|-----|----------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|--------------------------|--------|--------------------------|--------|--------------------------|--------|
| | | | | | | | T Thor | T Patt | T Thor | T Patt | T Thor | T Patt |
| 11 | O1A | Bt | -2,32 | 0,061 | -4,40 | 0,123 | 38,4 | 33,5 | 37,3 | 32,5 | 35,8 | 31,0 |
| 50 | O1A | Bi | -2,10 | 0,041 | -4,78 | 0,062 | 40,4 | 35,4 | 39,3 | 34,4 | 37,8 | 32,9 |
| 12 | O1B | Bt | -3,67 | 0,061 | -3,84 | 0,123 | 35,5 | 30,7 | 34,4 | 29,7 | 32,9 | 28,2 |
| 49 | O1B | Bi | -4,17 | 0,041 | -3,83 | 0,123 | 35,4 | 30,6 | 34,4 | 29,6 | 32,9 | 28,2 |
| 13 | O2A | Bt | -1,25 | 0,061 | -3,14 | 0,123 | 31,9 | 27,2 | 30,9 | 26,2 | 29,4 | 24,8 |
| 14 | O2A | Bi | -0,43 | 0,061 | -3,03 | 0,123 | 31,4 | 26,7 | 30,4 | 25,7 | 28,9 | 24,3 |
| 17 | O2B | I | -3,13 | 0,061 | -2,39 | 0,123 | 28,2 | 23,6 | 27,2 | 22,7 | 25,8 | 21,2 |
| 18 | O2B | I | -1,78 | 0,061 | -3,52 | 0,123 | 33,9 | 29,1 | 32,8 | 28,1 | 31,3 | 26,7 |
| 19 | O2B | I | -0,68 | 0,061 | -3,09 | 0,123 | 31,7 | 27,0 | 30,7 | 26,0 | 29,2 | 24,6 |
| 20 | O2B | I | -1,28 | 0,061 | -3,13 | 0,123 | 31,9 | 27,2 | 30,9 | 26,2 | 29,4 | 24,8 |
| 21 | O2B | I | -1,74 | 0,061 | -2,51 | 0,123 | 28,8 | 24,2 | 27,8 | 23,2 | 26,4 | 21,8 |
| 22 | O2B | I | -1,83 | 0,061 | -1,86 | 0,123 | 25,6 | 21,1 | 24,7 | 20,2 | 23,3 | 18,8 |
| 23 | O2B | I | -1,43 | 0,061 | -1,02 | 0,123 | 21,6 | 17,2 | 20,7 | 16,3 | 19,3 | 15,0 |
| 24 | O2B | I | -1,37 | 0,061 | -0,81 | 0,123 | 20,7 | 16,3 | 19,7 | 15,4 | 18,4 | 14,1 |
| 25 | O2B | I | -7,41 | 0,061 | -12,27 | 0,123 | 20,7 | 16,3 | 19,7 | 15,4 | 18,4 | 14,1 |
| 26 | O2B | Bt | -2,09 | 0,061 | -2,14 | 0,123 | 27,0 | 22,4 | 26,0 | 21,5 | 24,5 | 20,1 |
| 17 | O2B | Bi | -1,76 | 0,061 | -1,51 | 0,123 | 33,4 | 28,7 | 32,4 | 27,7 | 30,9 | 26,2 |
| 15 | O2C | Bt | -3,44 | 0,061 | -3,53 | 0,123 | 33,9 | 29,1 | 32,9 | 28,2 | 31,4 | 26,7 |
| 16 | O2C | Bi | -2,52 | 0,061 | -3,53 | 0,123 | 33,9 | 29,1 | 32,9 | 28,2 | 31,4 | 26,7 |
| 51 | O2D | I | -0,76 | 0,083 | -4,53 | 0,284 | 39,1 | 34,2 | 38,0 | 33,2 | 36,5 | 31,7 |
| 52 | O2D | I | total CO2 too small | | | | | | | | | |
| 53 | O2D | I | 0,89 | 0,083 | -5,46 | 0,284 | 44,1 | 39,0 | 43,0 | 38,0 | 41,4 | 36,4 |
| 54 | O2D | I | 0,96 | 0,083 | -5,12 | 0,284 | 42,2 | 37,2 | 41,2 | 36,2 | 39,6 | 34,7 |
| 55 | O2D | I | 0,53 | 0,083 | -4,35 | 0,284 | 38,1 | 33,2 | 37,1 | 32,2 | 35,5 | 30,7 |
| 56 | O2D | I | 0,02 | 0,083 | -3,13 | 0,284 | 31,9 | 27,2 | 30,9 | 26,2 | 29,4 | 24,8 |
| 57 | O2D | I | -0,49 | 0,083 | -2,12 | 0,284 | 26,9 | 22,3 | 25,9 | 21,4 | 24,5 | 20,0 |
| 58 | O2D | I | 0,57 | 0,083 | -4,34 | 0,284 | 41,4 | 36,3 | 40,3 | 35,3 | 38,7 | 33,8 |
| 59 | O2D | I | -0,88 | 0,083 | -1,48 | 0,284 | 23,8 | 19,3 | 22,8 | 18,4 | 21,4 | 17,1 |
| 60 | O2D | I | -0,92 | 0,083 | -1,48 | 0,284 | 23,8 | 19,4 | 22,9 | 18,5 | 21,5 | 17,1 |
| 61 | O2D | I | -1,28 | 0,083 | -1,98 | 0,284 | 26,2 | 21,7 | 25,3 | 20,8 | 23,8 | 19,4 |
| 62 | O2D | I | -1,42 | 0,083 | -2,37 | 0,284 | 28,1 | 23,5 | 27,1 | 22,6 | 25,7 | 21,2 |
| 63 | O2D | I | -1,73 | 0,083 | -3,10 | 0,284 | 31,7 | 27,0 | 30,7 | 26,1 | 29,2 | 24,6 |
| 64 | O2D | I | -1,72 | 0,083 | -3,10 | 0,284 | 31,7 | 27,0 | 30,7 | 26,1 | 29,2 | 24,6 |
| 65 | O2D | Bt | -0,91 | 0,083 | -3,05 | 0,284 | 31,4 | 26,8 | 30,5 | 25,8 | 29,0 | 24,4 |
| 66 | O2D | Bi | -1,35 | 0,083 | -2,49 | 0,284 | 28,7 | 24,1 | 27,7 | 23,1 | 26,2 | 21,7 |
| 32 | O3A | I | -2,18 | 0,041 | -1,36 | 0,062 | 23,3 | 18,8 | 22,3 | 17,9 | 20,9 | 16,5 |
| 33 | O3A | I | -3,56 | 0,041 | -3,16 | 0,062 | 32,0 | 27,3 | 31,0 | 26,4 | 29,5 | 24,9 |
| 34 | O3A | I | -3,03 | 0,041 | -4,06 | 0,062 | 36,6 | 31,8 | 35,6 | 30,8 | 34,1 | 29,3 |
| 35 | O3A | I | -2,27 | 0,041 | -1,52 | 0,062 | 24,0 | 19,6 | 23,1 | 18,6 | 21,6 | 17,3 |
| 36 | O3A | I | -3,52 | 0,041 | -2,72 | 0,062 | 29,8 | 25,2 | 28,8 | 24,2 | 27,4 | 22,8 |
| 37 | O3A | I | -4,62 | 0,041 | -4,84 | 0,062 | 40,7 | 35,8 | 39,7 | 34,7 | 38,1 | 33,2 |
| 38 | O3A | I | -3,86 | 0,041 | -4,89 | 0,062 | 41,0 | 36,0 | 39,9 | 35,0 | 38,3 | 33,4 |
| 39 | O3A | I | -2,75 | 0,041 | -4,22 | 0,062 | 37,5 | 32,6 | 36,4 | 31,6 | 34,9 | 30,1 |
| 40 | O3A | I | -3,53 | 0,041 | -4,37 | 0,062 | 38,2 | 33,3 | 37,2 | 32,3 | 35,6 | 30,8 |
| 41 | O3A | I | -4,90 | 0,041 | -4,90 | 0,062 | 41,0 | 36,1 | 39,9 | 35,0 | 38,4 | 33,5 |
| 42 | O3A | I | -4,04 | 0,041 | -4,96 | 0,062 | 41,4 | 36,4 | 40,3 | 35,3 | 38,7 | 33,8 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|----|-------|-------|---------------------|-------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|
| 43 | O3A | I | -3.36 | 0.041 | -5.24 | 0.062 | 42.9 | +/- | 0.34 | 37.8 | +/- | 0.33 | 41.8 | +/- | 0.33 | 36.8 | +/- | 0.32 | 40.2 | +/- | 0.33 | 35.3 | +/- | 0.32 |
| 44 | O3A | I | -3.18 | 0.041 | -5.18 | 0.062 | 42.6 | +/- | 0.34 | 37.5 | +/- | 0.32 | 41.5 | +/- | 0.33 | 36.5 | +/- | 0.32 | 39.9 | +/- | 0.33 | 35.0 | +/- | 0.32 |
| 45 | O3A | I | -2.49 | 0.041 | -4.79 | 0.062 | 40.5 | +/- | 0.33 | 35.5 | +/- | 0.32 | 39.4 | +/- | 0.33 | 34.5 | +/- | 0.32 | 37.9 | +/- | 0.33 | 33.0 | +/- | 0.31 |
| 46 | O3A | Bt | -3.19 | 0.041 | -4.14 | 0.062 | 37.0 | +/- | 0.32 | 32.2 | +/- | 0.31 | 36.0 | +/- | 0.32 | 31.2 | +/- | 0.31 | 34.5 | +/- | 0.32 | 29.7 | +/- | 0.31 |
| 47 | O3A | Bi | -3.81 | 0.041 | -4.07 | 0.062 | 36.7 | +/- | 0.32 | 31.9 | +/- | 0.31 | 35.7 | +/- | 0.32 | 30.9 | +/- | 0.31 | 34.1 | +/- | 0.32 | 29.4 | +/- | 0.31 |
| 48 | O3A | R | | | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 28 | O3B | Bt | -3.69 | 0.061 | -4.78 | 0.123 | 40.4 | +/- | 0.66 | 35.5 | +/- | 0.64 | 39.4 | +/- | 0.65 | 34.4 | +/- | 0.63 | 37.8 | +/- | 0.65 | 32.9 | +/- | 0.63 |
| 29 | O3B | Bi | -3.71 | 0.061 | -4.69 | 0.123 | 39.4 | +/- | 0.65 | 34.5 | +/- | 0.63 | 38.3 | +/- | 0.65 | 33.4 | +/- | 0.63 | 36.8 | +/- | 0.64 | 31.9 | +/- | 0.62 |
| 30 | O3C | Bt | -3.28 | 0.061 | -5.77 | 0.123 | 45.8 | +/- | 0.68 | 40.7 | +/- | 0.66 | 44.7 | +/- | 0.67 | 39.6 | +/- | 0.65 | 43.1 | +/- | 0.67 | 38.0 | +/- | 0.65 |
| 31 | O3C | Bi | -2.19 | 0.061 | -5.52 | 0.123 | 44.4 | +/- | 0.67 | 39.3 | +/- | 0.65 | 43.3 | +/- | 0.67 | 38.3 | +/- | 0.65 | 41.7 | +/- | 0.66 | 36.7 | +/- | 0.64 |
| 67 | O3D | I | -1.66 | 0.083 | -1.56 | 0.284 | 24.2 | +/- | 1.36 | 19.7 | +/- | 1.32 | 23.2 | +/- | 1.35 | 18.8 | +/- | 1.31 | 21.8 | +/- | 1.34 | 17.4 | +/- | 1.30 |
| 68 | O3D | I | -2.15 | 0.083 | -2.52 | 0.284 | 28.8 | +/- | 1.41 | 24.2 | +/- | 1.36 | 27.9 | +/- | 1.40 | 23.3 | +/- | 1.35 | 26.4 | +/- | 1.38 | 21.9 | +/- | 1.34 |
| 69 | O3D | I | -2.86 | 0.083 | -3.14 | 0.284 | 31.9 | +/- | 1.44 | 27.2 | +/- | 1.39 | 30.9 | +/- | 1.43 | 26.3 | +/- | 1.38 | 29.4 | +/- | 1.41 | 24.8 | +/- | 1.37 |
| 70 | O3D | I | -4.10 | 0.083 | -3.81 | 0.284 | 35.4 | +/- | 1.47 | 30.6 | +/- | 1.42 | 34.3 | +/- | 1.46 | 29.6 | +/- | 1.41 | 32.8 | +/- | 1.44 | 28.1 | +/- | 1.40 |
| 71 | O3D | I | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 72 | O3D | I | -3.94 | 0.083 | -3.73 | 0.284 | 34.9 | +/- | 1.47 | 30.2 | +/- | 1.42 | 33.9 | +/- | 1.46 | 29.2 | +/- | 1.41 | 32.4 | +/- | 1.44 | 27.7 | +/- | 1.40 |
| 73 | O3D | I | -3.82 | 0.083 | -3.60 | 0.284 | 34.2 | +/- | 1.46 | 29.5 | +/- | 1.41 | 33.2 | +/- | 1.45 | 28.5 | +/- | 1.40 | 31.7 | +/- | 1.43 | 27.0 | +/- | 1.39 |
| 74 | O3D | I | -3.60 | 0.083 | -3.47 | 0.284 | 33.6 | +/- | 1.45 | 28.9 | +/- | 1.41 | 32.6 | +/- | 1.44 | 27.9 | +/- | 1.40 | 31.1 | +/- | 1.43 | 26.4 | +/- | 1.38 |
| 75 | O3D | I | -3.20 | 0.083 | -2.93 | 0.284 | 30.9 | +/- | 1.43 | 26.2 | +/- | 1.38 | 29.9 | +/- | 1.42 | 25.2 | +/- | 1.37 | 28.4 | +/- | 1.40 | 23.8 | +/- | 1.36 |
| 76 | O3D | I | -2.99 | 0.083 | -2.69 | 0.284 | 29.7 | +/- | 1.41 | 25.0 | +/- | 1.37 | 28.7 | +/- | 1.40 | 24.1 | +/- | 1.36 | 27.2 | +/- | 1.39 | 22.7 | +/- | 1.35 |
| 77 | O3D | I | -2.40 | 0.083 | -3.17 | 0.284 | 32.1 | +/- | 1.44 | 27.4 | +/- | 1.39 | 31.1 | +/- | 1.43 | 26.4 | +/- | 1.38 | 29.6 | +/- | 1.41 | 25.0 | +/- | 1.37 |
| 78 | O3D | I | -1.35 | 0.083 | -1.86 | 0.284 | 25.6 | +/- | 1.38 | 21.1 | +/- | 1.33 | 24.7 | +/- | 1.37 | 20.2 | +/- | 1.33 | 23.2 | +/- | 1.35 | 18.8 | +/- | 1.31 |
| 79 | O3D | I | -1.66 | 0.083 | -2.74 | 0.284 | 29.9 | +/- | 1.42 | 25.3 | +/- | 1.37 | 29.0 | +/- | 1.41 | 24.4 | +/- | 1.36 | 27.5 | +/- | 1.39 | 22.9 | +/- | 1.35 |
| 80 | O3D | Bt | -2.71 | 0.083 | -2.92 | 0.284 | 30.8 | +/- | 1.42 | 26.2 | +/- | 1.38 | 29.8 | +/- | 1.42 | 25.2 | +/- | 1.37 | 28.4 | +/- | 1.40 | 23.8 | +/- | 1.36 |
| 81 | O3D | Bi | -2.58 | 0.083 | -3.12 | 0.284 | 31.8 | +/- | 1.43 | 27.1 | +/- | 1.39 | 30.8 | +/- | 1.43 | 26.2 | +/- | 1.38 | 29.3 | +/- | 1.41 | 24.7 | +/- | 1.37 |
| 84 | O4A | I | -1.41 | 0.019 | -2.05 | 0.067 | 26.5 | +/- | 0.33 | 22.0 | +/- | 0.32 | 25.6 | +/- | 0.32 | 21.1 | +/- | 0.31 | 24.1 | +/- | 0.32 | 19.7 | +/- | 0.31 |
| 85 | O4A | I | -1.72 | 0.019 | -2.88 | 0.067 | 30.6 | +/- | 0.33 | 26.0 | +/- | 0.32 | 29.6 | +/- | 0.33 | 25.0 | +/- | 0.32 | 28.1 | +/- | 0.33 | 23.6 | +/- | 0.32 |
| 86 | O4A | I | -1.44 | 0.019 | -2.64 | 0.067 | 29.4 | +/- | 0.33 | 24.8 | +/- | 0.32 | 28.4 | +/- | 0.33 | 23.9 | +/- | 0.32 | 27.0 | +/- | 0.33 | 22.4 | +/- | 0.32 |
| 87 | O4A | I | -0.66 | 0.019 | -2.82 | 0.067 | 30.3 | +/- | 0.33 | 25.7 | +/- | 0.32 | 29.3 | +/- | 0.33 | 24.7 | +/- | 0.32 | 27.8 | +/- | 0.33 | 23.3 | +/- | 0.32 |
| 88 | O4A | I | -1.91 | 0.019 | -4.07 | 0.067 | 27.1 | +/- | 0.33 | 22.6 | +/- | 0.32 | 26.1 | +/- | 0.32 | 21.6 | +/- | 0.31 | 24.7 | +/- | 0.32 | 20.2 | +/- | 0.31 |
| 89 | O4A | I | -1.11 | 0.019 | -2.17 | 0.067 | 27.6 | +/- | 0.33 | 23.1 | +/- | 0.32 | 26.7 | +/- | 0.33 | 22.1 | +/- | 0.32 | 25.2 | +/- | 0.32 | 20.7 | +/- | 0.31 |
| 90 | O4A | I | -0.92 | 0.019 | -2.28 | 0.067 | 27.6 | +/- | 0.33 | 23.1 | +/- | 0.32 | 26.7 | +/- | 0.33 | 22.1 | +/- | 0.32 | 25.2 | +/- | 0.32 | 20.7 | +/- | 0.31 |
| 91 | O4A | I | -1.85 | 0.019 | -1.85 | 0.067 | 25.6 | +/- | 0.32 | 21.1 | +/- | 0.31 | 24.6 | +/- | 0.32 | 20.2 | +/- | 0.31 | 23.2 | +/- | 0.32 | 18.8 | +/- | 0.31 |
| 92 | O4A | I | -6.00 | | -10.92 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 93 | O4A | I | -1.52 | 0.019 | -1.76 | 0.067 | 25.1 | +/- | 0.32 | 20.7 | +/- | 0.31 | 24.2 | +/- | 0.32 | 19.7 | +/- | 0.31 | 22.8 | +/- | 0.32 | 18.4 | +/- | 0.31 |
| 94 | O4A | Bt | -1.46 | 0.019 | -1.64 | 0.067 | 24.5 | +/- | 0.32 | 20.1 | +/- | 0.31 | 23.6 | +/- | 0.32 | 19.2 | +/- | 0.31 | 22.2 | +/- | 0.32 | 17.8 | +/- | 0.31 |
| 95 | O4A | Bi | -1.52 | 0.019 | -2.06 | 0.067 | 26.6 | +/- | 0.33 | 22.1 | +/- | 0.32 | 25.6 | +/- | 0.32 | 21.1 | +/- | 0.31 | 24.2 | +/- | 0.32 | 19.7 | +/- | 0.31 |
| 82 | O4B | Bt | -0.42 | 0.083 | -1.54 | 0.284 | 24.1 | +/- | 1.36 | 19.6 | +/- | 1.32 | 23.1 | +/- | 1.35 | 18.7 | +/- | 1.34 | 21.7 | +/- | 1.34 | 17.3 | +/- | 1.30 |
| 83 | O4B | Bi | -0.41 | 0.083 | -2.98 | 0.284 | 31.1 | +/- | 1.43 | 26.5 | +/- | 1.38 | 30.1 | +/- | 1.42 | 25.5 | +/- | 1.38 | 28.7 | +/- | 1.40 | 24.1 | +/- | 1.36 |
| 96 | O4C | I | -1.10 | 0.019 | -2.56 | 0.067 | 29.0 | +/- | 0.33 | 24.4 | +/- | 0.32 | 28.0 | +/- | 0.33 | 23.5 | +/- | 0.32 | 26.6 | +/- | 0.33 | 22.0 | +/- | 0.32 |
| 97 | O4C | I | | | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 98 | O4C | I | | | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 99 | O4C | I | 0.02 | 0.019 | -2.08 | 0.067 | 26.7 | +/- | 0.33 | 22.2 | +/- | 0.32 | 25.7 | +/- | 0.32 | 21.2 | +/- | 0.31 | 24.3 | +/- | 0.32 | 19.8 | +/- | 0.31 |
| 100 | O4C | I | 0.44 | 0.019 | -1.50 | 0.067 | 23.9 | +/- | 0.32 | 19.4 | +/- | 0.31 | 22.9 | +/- | 0.32 | 18.5 | +/- | 0.31 | 21.5 | +/- | 0.31 | 17.1 | +/- | 0.30 |
| 101 | O4C | I | | | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 102 | O4C | I | 0.32 | 0.019 | -1.82 | 0.067 | 25.4 | +/- | 0.32 | 20.9 | +/- | 0.31 | 24.5 | +/- | 0.32 | 20.0 | +/- | 0.31 | 23.1 | +/- | 0.32 | 18.6 | +/- | 0.31 |
| 103 | O4C | I | | | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 104 | O4C | I | -0.18 | 0.019 | -2.19 | 0.067 | 27.2 | +/- | 0.33 | 22.7 | +/- | 0.32 | 26.2 | +/- | 0.32 | 21.7 | +/- | 0.32 | 24.8 | +/- | 0.32 | 20.3 | +/- | 0.31 |
| 105 | O4C | I | | | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 106 | O4C | Bt | 0.39 | 0.019 | -1.99 | 0.067 | 26.3 | +/- | 0.32 | 21.8 | +/- | 0.31 | 25.3 | +/- | 0.32 | 20.8 | +/- | 0.31 | 23.9 | +/- | 0.32 | 19.4 | +/- | 0.31 |
| 107 | O4C | Bi | -1.19 | 0.019 | -1.89 | 0.067 | 22.4 | +/- | 0.32 | 18.0 | +/- | 0.31 | 21.5 | +/- | 0.31 | 17.1 | +/- | 0.30 | 20.1 | +/- | 0.31 | 15.8 | +/- | 0.30 |
| 123 | O4D | Bt | -8.05 | 0.069 | -16.03 | 0.253 | 36.8 | +/- | 1.32 | 32.0 | +/- | 1.28 | 35.8 | +/- | 1.31 | 31.0 | +/- | 1.27 | 34.2 | +/- | 1.30 | 29.5 | +/- | 1.26 |
| 124 | O4D | Bi | -0.99 | 0.061 | -4.10 | 0.123 | 35.0 | +/- | 0.00 | 30.3 | +/- | 0.00 | 34.0 | +/- | 0.00 | 29.3 | +/- | 0.00 | 32.5 | +/- | 0.00 | 27.8 | +/- | 0.00 |
| 2 | O5A | I | -1.51 | 0.061 | -3.75 | 0.123 | 35.0 | +/- | 0.00 | 30.3 | +/- | 0.00 | 34.0 | +/- | 0.00 | 29.3 | +/- | 0.00 | 32.5 | +/- | 0.00 | 27.8 | +/- | 0.00 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|---------------------|-------|--------|-------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|
| 3 | O5A | -1,89 | 0,061 | -4,37 | 0,123 | 38,3 | +/- | 0,65 | 33,4 | +/- | 0,63 | 37,2 | +/- | 0,64 | 32,4 | +/- | 0,62 | 35,7 | +/- | 0,64 | 30,9 | +/- | 0,62 |
| 4 | O5A | -3,03 | 0,061 | -5,75 | 0,123 | 45,7 | +/- | 0,68 | 40,5 | +/- | 0,66 | 44,6 | +/- | 0,67 | 39,5 | +/- | 0,65 | 42,9 | +/- | 0,67 | 37,9 | +/- | 0,65 |
| 5 | O5A | -3,01 | 0,061 | -5,61 | 0,123 | 44,9 | +/- | 0,68 | 39,8 | +/- | 0,65 | 43,8 | +/- | 0,67 | 38,7 | +/- | 0,65 | 42,2 | +/- | 0,66 | 37,2 | +/- | 0,64 |
| 6 | O5A | -2,87 | 0,061 | -5,46 | 0,123 | 44,1 | +/- | 0,67 | 39,0 | +/- | 0,65 | 43,0 | +/- | 0,67 | 38,0 | +/- | 0,65 | 41,4 | +/- | 0,66 | 36,4 | +/- | 0,64 |
| 7 | O5A | -2,53 | 0,061 | -4,71 | 0,123 | 40,0 | +/- | 0,65 | 35,1 | +/- | 0,63 | 39,0 | +/- | 0,65 | 34,1 | +/- | 0,63 | 37,4 | +/- | 0,64 | 32,5 | +/- | 0,62 |
| 8 | O5A | -2,52 | 0,061 | -5,14 | 0,123 | 42,3 | +/- | 0,66 | 37,3 | +/- | 0,64 | 41,3 | +/- | 0,66 | 36,3 | +/- | 0,64 | 39,7 | +/- | 0,65 | 34,7 | +/- | 0,63 |
| 9 | O5A | -2,34 | 0,061 | -5,07 | 0,123 | 42,0 | +/- | 0,66 | 37,0 | +/- | 0,64 | 40,9 | +/- | 0,66 | 35,9 | +/- | 0,64 | 39,3 | +/- | 0,65 | 34,4 | +/- | 0,63 |
| 10 | O5A | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 195 | O5A | -2,42 | 0,190 | -5,37 | 0,392 | 43,6 | +/- | 2,15 | 38,5 | +/- | 2,08 | 42,5 | +/- | 2,13 | 37,5 | +/- | 2,06 | 40,9 | +/- | 2,11 | 35,9 | +/- | 2,04 |
| 1 | O5A | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 108 | O5B | -3,01 | 0,019 | -2,76 | 0,067 | 30,0 | +/- | 0,33 | 25,4 | +/- | 0,32 | 29,0 | +/- | 0,33 | 24,4 | +/- | 0,32 | 27,5 | +/- | 0,33 | 23,0 | +/- | 0,32 |
| 109 | O5B | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 110 | O5B | -2,24 | 0,019 | -2,31 | 0,067 | 27,8 | +/- | 0,33 | 23,2 | +/- | 0,32 | 26,8 | +/- | 0,33 | 22,3 | +/- | 0,32 | 25,4 | +/- | 0,32 | 20,9 | +/- | 0,31 |
| 111 | O5B | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 112 | O5B | -4,70 | 0,019 | -3,47 | 0,067 | 33,6 | +/- | 0,34 | 28,9 | +/- | 0,33 | 32,6 | +/- | 0,34 | 27,9 | +/- | 0,33 | 31,1 | +/- | 0,34 | 26,4 | +/- | 0,33 |
| 113 | O5B | -5,51 | 0,019 | -3,92 | 0,067 | 35,9 | +/- | 0,35 | 31,1 | +/- | 0,34 | 34,9 | +/- | 0,34 | 30,1 | +/- | 0,33 | 33,3 | +/- | 0,34 | 28,6 | +/- | 0,33 |
| 114 | O5B | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 115 | O5B | -5,14 | 0,019 | -4,22 | 0,067 | 37,4 | +/- | 0,35 | 32,6 | +/- | 0,34 | 36,4 | +/- | 0,35 | 31,6 | +/- | 0,34 | 34,9 | +/- | 0,34 | 30,1 | +/- | 0,33 |
| 116 | O5B | -4,88 | 0,019 | -4,62 | 0,067 | 39,6 | +/- | 0,36 | 34,6 | +/- | 0,34 | 38,5 | +/- | 0,35 | 33,6 | +/- | 0,34 | 37,0 | +/- | 0,35 | 32,1 | +/- | 0,34 |
| 117 | O5B | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 118 | O5B | -2,64 | 0,019 | -4,16 | 0,067 | 37,2 | +/- | 0,35 | 32,3 | +/- | 0,34 | 36,1 | +/- | 0,35 | 31,3 | +/- | 0,34 | 34,6 | +/- | 0,34 | 29,8 | +/- | 0,33 |
| 119 | O5B | -2,25 | 0,019 | -4,24 | 0,067 | 37,5 | +/- | 0,35 | 32,7 | +/- | 0,34 | 36,5 | +/- | 0,35 | 31,7 | +/- | 0,34 | 35,0 | +/- | 0,34 | 30,2 | +/- | 0,33 |
| 120 | O5B | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 121 | O5B | -3,36 | 0,019 | -3,90 | 0,067 | 35,8 | +/- | 0,35 | 31,0 | +/- | 0,34 | 34,8 | +/- | 0,34 | 30,0 | +/- | 0,33 | 33,3 | +/- | 0,34 | 28,5 | +/- | 0,33 |
| 122 | O5B | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 127 | O5D | -1,51 | 0,069 | -3,10 | 0,253 | 31,7 | +/- | 1,28 | 27,0 | +/- | 1,24 | 30,7 | +/- | 1,27 | 26,1 | +/- | 1,23 | 29,2 | +/- | 1,26 | 24,6 | +/- | 1,22 |
| 128 | O5D | -1,86 | 0,069 | -3,42 | 0,253 | 33,3 | +/- | 1,29 | 28,6 | +/- | 1,25 | 32,3 | +/- | 1,28 | 27,6 | +/- | 1,24 | 30,8 | +/- | 1,27 | 26,1 | +/- | 1,23 |
| 125 | O5E | -9,04 | 0,069 | -15,34 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 126 | O5E | -2,73 | 0,069 | -3,35 | 0,253 | 33,0 | +/- | 1,29 | 28,3 | +/- | 1,25 | 32,0 | +/- | 1,28 | 27,3 | +/- | 1,24 | 30,5 | +/- | 1,27 | 25,8 | +/- | 1,23 |
| 131 | O6A | -1,06 | 0,069 | -2,76 | 0,253 | 30,0 | +/- | 1,26 | 25,4 | +/- | 1,22 | 29,0 | +/- | 1,25 | 24,4 | +/- | 1,22 | 27,6 | +/- | 1,24 | 23,0 | +/- | 1,20 |
| 132 | O6A | -8,84 | | -16,14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 133 | O6A | -1,26 | 0,069 | -2,94 | 0,253 | 30,9 | +/- | 1,27 | 26,3 | +/- | 1,23 | 29,9 | +/- | 1,26 | 25,3 | +/- | 1,22 | 28,4 | +/- | 1,25 | 23,9 | +/- | 1,21 |
| 134 | O6A | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 135 | O6A | -0,90 | 0,069 | -2,44 | 0,253 | 28,5 | +/- | 1,25 | 23,9 | +/- | 1,21 | 27,5 | +/- | 1,24 | 22,9 | +/- | 1,20 | 26,0 | +/- | 1,23 | 21,5 | +/- | 1,19 |
| 136 | O6A | -0,71 | 0,069 | -2,23 | 0,253 | 27,4 | +/- | 1,24 | 22,9 | +/- | 1,20 | 26,5 | +/- | 1,23 | 21,9 | +/- | 1,19 | 25,0 | +/- | 1,22 | 20,5 | +/- | 1,18 |
| 137 | O6A | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 138 | O6A | -8,14 | | -16,91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 139 | O6A | -1,27 | 0,069 | -2,95 | 0,253 | 31,0 | +/- | 1,27 | 26,3 | +/- | 1,23 | 30,0 | +/- | 1,26 | 25,4 | +/- | 1,22 | 28,5 | +/- | 1,25 | 23,9 | +/- | 1,21 |
| 140 | O6A | -1,20 | 0,069 | -2,72 | 0,253 | 29,8 | +/- | 1,26 | 25,2 | +/- | 1,22 | 28,8 | +/- | 1,25 | 24,2 | +/- | 1,21 | 27,3 | +/- | 1,24 | 22,8 | +/- | 1,20 |
| 141 | O6A | -1,78 | 0,069 | -2,56 | 0,253 | 29,0 | +/- | 1,25 | 24,4 | +/- | 1,22 | 28,1 | +/- | 1,25 | 23,5 | +/- | 1,21 | 26,6 | +/- | 1,23 | 22,1 | +/- | 1,20 |
| 129 | O6B | -0,65 | 0,069 | -2,85 | 0,253 | 30,5 | +/- | 1,27 | 25,8 | +/- | 1,23 | 29,5 | +/- | 1,26 | 24,9 | +/- | 1,22 | 28,0 | +/- | 1,25 | 23,4 | +/- | 1,21 |
| 130 | O6B | -0,09 | 0,069 | -2,03 | 0,253 | 26,4 | +/- | 1,23 | 21,9 | +/- | 1,19 | 25,5 | +/- | 1,22 | 21,0 | +/- | 1,19 | 24,0 | +/- | 1,21 | 19,6 | +/- | 1,18 |
| 158 | O6C | -1,48 | 0,190 | -2,08 | 0,392 | 26,7 | +/- | 1,92 | 22,1 | +/- | 1,86 | 25,7 | +/- | 1,90 | 21,2 | +/- | 1,85 | 24,3 | +/- | 1,88 | 19,8 | +/- | 1,83 |
| 159 | O6C | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 160 | O6C | -0,44 | 0,190 | -2,21 | 0,392 | 27,3 | +/- | 1,92 | 22,8 | +/- | 1,87 | 26,4 | +/- | 1,91 | 21,8 | +/- | 1,85 | 24,9 | +/- | 1,89 | 20,4 | +/- | 1,84 |
| 161 | O6C | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 162 | O6C | -0,94 | 0,190 | -2,14 | 0,392 | 27,0 | +/- | 1,92 | 22,4 | +/- | 1,86 | 26,0 | +/- | 1,91 | 21,5 | +/- | 1,85 | 24,6 | +/- | 1,89 | 20,1 | +/- | 1,83 |
| 163 | O6C | -1,50 | 0,190 | -1,98 | 0,392 | 26,2 | +/- | 1,91 | 21,7 | +/- | 1,85 | 25,2 | +/- | 1,90 | 20,7 | +/- | 1,84 | 23,8 | +/- | 1,88 | 19,3 | +/- | 1,82 |
| 164 | O6C | -8,85 | | -14,58 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 165 | O6C | -1,92 | 0,190 | -2,33 | 0,392 | 27,9 | +/- | 1,93 | 23,3 | +/- | 1,87 | 26,9 | +/- | 1,92 | 22,4 | +/- | 1,86 | 25,5 | +/- | 1,90 | 21,0 | +/- | 1,84 |
| 166 | O6C | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 167 | O6C | -2,02 | 0,190 | -2,67 | 0,392 | 29,6 | +/- | 1,95 | 25,0 | +/- | 1,89 | 28,6 | +/- | 1,94 | 24,0 | +/- | 1,88 | 27,1 | +/- | 1,92 | 22,6 | +/- | 1,86 |
| 168 | O6C | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 196 | O6C | -1,25 | 0,050 | -2,09 | 0,077 | 26,8 | +/- | 0,37 | 22,2 | +/- | 0,36 | 25,8 | +/- | 0,37 | 21,3 | +/- | 0,36 | 24,3 | +/- | 0,37 | 19,9 | +/- | 0,36 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----|---------------------|-------|-------|-------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|
| 169 | O6D | Bt | -0,70 | 0,190 | -2,26 | 0,392 | 27,6 | +/- | 1,93 | 23,0 | +/- | 1,87 | 26,6 | +/- | 1,91 | 22,1 | +/- | 1,86 | 25,1 | +/- | 1,90 | 20,7 | +/- | 1,84 |
| 170 | O6D | Bi | -0,52 | 0,190 | -2,14 | 0,392 | 27,0 | +/- | 1,92 | 22,4 | +/- | 1,86 | 26,0 | +/- | 1,91 | 21,5 | +/- | 1,85 | 24,6 | +/- | 1,89 | 20,1 | +/- | 1,83 |
| 142 | O7A | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 144 | O7A | I | -2,91 | 0,069 | -3,19 | 0,253 | 32,2 | +/- | 1,28 | 27,5 | +/- | 1,24 | 31,2 | +/- | 1,27 | 26,5 | +/- | 1,23 | 29,7 | +/- | 1,26 | 25,1 | +/- | 1,22 |
| 145 | O7A | I | -1,82 | 0,069 | -3,01 | 0,253 | 31,3 | +/- | 1,27 | 26,6 | +/- | 1,23 | 30,3 | +/- | 1,26 | 25,6 | +/- | 1,23 | 28,8 | +/- | 1,25 | 24,2 | +/- | 1,21 |
| 146 | O7A | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 147 | O7A | I | -1,77 | 0,069 | -1,73 | 0,253 | 25,0 | +/- | 1,22 | 20,5 | +/- | 1,18 | 24,0 | +/- | 1,21 | 19,6 | +/- | 1,17 | 22,6 | +/- | 1,20 | 18,2 | +/- | 1,16 |
| 148 | O7A | I | -2,09 | 0,069 | -2,30 | 0,253 | 27,7 | +/- | 1,24 | 23,2 | +/- | 1,20 | 26,8 | +/- | 1,23 | 22,2 | +/- | 1,20 | 25,3 | +/- | 1,22 | 20,8 | +/- | 1,19 |
| 149 | O7A | I | -3,33 | 0,069 | -3,30 | 0,253 | 32,7 | +/- | 1,29 | 28,0 | +/- | 1,25 | 31,7 | +/- | 1,28 | 27,1 | +/- | 1,24 | 30,2 | +/- | 1,26 | 25,6 | +/- | 1,23 |
| 150 | O7A | I | -4,20 | 0,069 | -3,88 | 0,253 | 35,7 | +/- | 1,31 | 30,9 | +/- | 1,27 | 34,7 | +/- | 1,30 | 29,9 | +/- | 1,26 | 33,1 | +/- | 1,29 | 28,4 | +/- | 1,25 |
| 151 | O7A | I | -4,36 | 0,069 | -3,35 | 0,253 | 33,0 | +/- | 1,29 | 28,3 | +/- | 1,24 | 32,0 | +/- | 1,28 | 27,3 | +/- | 1,24 | 30,5 | +/- | 1,27 | 25,8 | +/- | 1,23 |
| 152 | O7A | I | -4,36 | 0,069 | -3,81 | 0,253 | 35,3 | +/- | 1,31 | 30,5 | +/- | 1,27 | 34,3 | +/- | 1,30 | 29,5 | +/- | 1,26 | 32,8 | +/- | 1,29 | 28,1 | +/- | 1,25 |
| 153 | O7A | I | -4,05 | 0,069 | -3,51 | 0,253 | 33,8 | +/- | 1,29 | 29,1 | +/- | 1,25 | 32,8 | +/- | 1,29 | 28,1 | +/- | 1,25 | 31,3 | +/- | 1,27 | 26,6 | +/- | 1,23 |
| 154 | O7A | I | -3,29 | 0,069 | -4,12 | 0,253 | 36,9 | +/- | 1,32 | 32,1 | +/- | 1,28 | 35,9 | +/- | 1,31 | 31,1 | +/- | 1,27 | 34,4 | +/- | 1,30 | 29,6 | +/- | 1,26 |
| 155 | O7A | I | -2,65 | 0,069 | -3,77 | 0,253 | 35,1 | +/- | 1,31 | 30,4 | +/- | 1,27 | 34,1 | +/- | 1,30 | 29,4 | +/- | 1,26 | 32,6 | +/- | 1,28 | 27,9 | +/- | 1,25 |
| 156 | O7A | Bt | -3,05 | 0,069 | -3,42 | 0,253 | 33,3 | +/- | 1,29 | 28,6 | +/- | 1,25 | 32,3 | +/- | 1,28 | 27,6 | +/- | 1,24 | 30,8 | +/- | 1,27 | 26,2 | +/- | 1,23 |
| 157 | O7A | Bi | -2,64 | 0,069 | -3,82 | 0,253 | 35,4 | +/- | 1,31 | 30,6 | +/- | 1,27 | 34,4 | +/- | 1,30 | 29,6 | +/- | 1,26 | 32,9 | +/- | 1,29 | 28,1 | +/- | 1,25 |
| 143 | O7B | I | -0,76 | 0,190 | -1,22 | 0,392 | 22,6 | +/- | 1,86 | 18,2 | +/- | 1,81 | 21,6 | +/- | 1,85 | 17,2 | +/- | 1,79 | 20,2 | +/- | 1,83 | 15,9 | +/- | 1,78 |
| 176 | O7B | I | -2,04 | 0,190 | -1,82 | 0,392 | 25,4 | +/- | 1,90 | 20,9 | +/- | 1,84 | 24,5 | +/- | 1,89 | 20,0 | +/- | 1,83 | 23,0 | +/- | 1,87 | 18,6 | +/- | 1,81 |
| 177 | O7B | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 178 | O7B | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 179 | O7B | I | -0,87 | 0,190 | -2,86 | 0,392 | 30,5 | +/- | 1,97 | 25,9 | +/- | 1,91 | 29,5 | +/- | 1,95 | 24,9 | +/- | 1,89 | 28,1 | +/- | 1,93 | 23,5 | +/- | 1,88 |
| 180 | O7B | I | -0,83 | 0,190 | -2,40 | 0,392 | 28,3 | +/- | 1,94 | 23,7 | +/- | 1,88 | 27,3 | +/- | 1,92 | 22,7 | +/- | 1,87 | 25,8 | +/- | 1,91 | 21,3 | +/- | 1,85 |
| 181 | O7B | I | -1,03 | 0,190 | -2,52 | 0,392 | 28,8 | +/- | 1,94 | 24,2 | +/- | 1,88 | 27,9 | +/- | 1,93 | 23,3 | +/- | 1,87 | 26,4 | +/- | 1,91 | 21,9 | +/- | 1,85 |
| 182 | O7B | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 183 | O7B | I | -1,65 | 0,190 | -3,21 | 0,392 | 32,3 | +/- | 1,99 | 27,6 | +/- | 1,93 | 31,3 | +/- | 1,98 | 26,6 | +/- | 1,92 | 29,8 | +/- | 1,96 | 25,2 | +/- | 1,90 |
| 184 | O7B | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 185 | O7B | I | -1,27 | 0,190 | -4,04 | 0,392 | 36,5 | +/- | 2,05 | 31,7 | +/- | 1,98 | 35,5 | +/- | 2,03 | 30,7 | +/- | 1,97 | 34,0 | +/- | 2,01 | 29,2 | +/- | 1,95 |
| 186 | O7B | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 187 | O7B | I | -1,66 | 0,190 | -4,43 | 0,392 | 38,6 | +/- | 2,08 | 33,7 | +/- | 2,01 | 37,5 | +/- | 2,06 | 32,7 | +/- | 2,00 | 36,0 | +/- | 2,04 | 31,2 | +/- | 1,98 |
| 188 | O7B | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 189 | O7B | I | -2,41 | 0,190 | -4,13 | 0,392 | 37,0 | +/- | 2,05 | 32,2 | +/- | 1,99 | 36,0 | +/- | 2,04 | 31,2 | +/- | 1,98 | 34,4 | +/- | 2,02 | 29,7 | +/- | 1,96 |
| 190 | O7B | I | -2,17 | 0,190 | -4,26 | 0,392 | 37,7 | +/- | 2,06 | 32,8 | +/- | 2,00 | 36,6 | +/- | 2,05 | 31,8 | +/- | 1,99 | 35,1 | +/- | 2,03 | 30,3 | +/- | 1,97 |
| 191 | O7B | I | -1,79 | 0,190 | -3,88 | 0,392 | 35,7 | +/- | 2,04 | 30,9 | +/- | 1,97 | 34,7 | +/- | 2,02 | 29,9 | +/- | 1,96 | 33,2 | +/- | 2,00 | 28,4 | +/- | 1,94 |
| 192 | O7B | I | -1,60 | 0,190 | -3,45 | 0,392 | 33,5 | +/- | 2,01 | 28,8 | +/- | 1,94 | 32,5 | +/- | 1,99 | 27,8 | +/- | 1,93 | 31,0 | +/- | 1,97 | 26,3 | +/- | 1,91 |
| 193 | O7B | Bt | -2,78 | 0,190 | -4,08 | 0,392 | 36,7 | +/- | 2,05 | 31,9 | +/- | 1,99 | 35,7 | +/- | 2,04 | 30,9 | +/- | 1,97 | 34,2 | +/- | 2,02 | 29,4 | +/- | 1,95 |
| 194 | O7B | Bi | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 197 | O7C | Bt | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 198 | O7C | Bi | -3,06 | 0,050 | -3,06 | 0,077 | 31,5 | +/- | 0,39 | 26,9 | +/- | 0,38 | 30,5 | +/- | 0,38 | 25,9 | +/- | 0,37 | 29,1 | +/- | 0,38 | 24,4 | +/- | 0,37 |
| 173 | O8A | Bt | -1,75 | 0,190 | -1,75 | 0,392 | 25,1 | +/- | 1,89 | 20,6 | +/- | 1,84 | 24,1 | +/- | 1,88 | 19,7 | +/- | 1,83 | 22,7 | +/- | 1,86 | 18,3 | +/- | 1,81 |
| 174 | O8A | Bi | -0,47 | 0,190 | -1,46 | 0,392 | 23,7 | +/- | 1,88 | 19,3 | +/- | 1,82 | 22,7 | +/- | 1,86 | 18,3 | +/- | 1,81 | 21,3 | +/- | 1,85 | 17,0 | +/- | 1,79 |
| 171 | O8B | Bt | -0,22 | 0,190 | -1,65 | 0,392 | 24,6 | +/- | 1,89 | 20,2 | +/- | 1,83 | 23,7 | +/- | 1,88 | 19,2 | +/- | 1,82 | 22,3 | +/- | 1,86 | 17,9 | +/- | 1,80 |
| 172 | O8B | Bi | -0,56 | 0,190 | -1,84 | 0,392 | 25,5 | +/- | 1,90 | 21,0 | +/- | 1,84 | 24,6 | +/- | 1,89 | 20,1 | +/- | 1,83 | 23,1 | +/- | 1,87 | 18,7 | +/- | 1,81 |
| 199 | O9A | Bt | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 200 | O9A | Bi | -2,91 | 0,050 | -2,11 | 0,077 | 26,8 | +/- | 0,37 | 22,3 | +/- | 0,36 | 25,9 | +/- | 0,37 | 21,4 | +/- | 0,36 | 24,4 | +/- | 0,37 | 20,0 | +/- | 0,36 |
| 216 | O10A | Bt | -2,35 | 0,050 | -3,19 | 0,077 | 32,2 | +/- | 0,39 | 27,5 | +/- | 0,38 | 31,2 | +/- | 0,39 | 26,5 | +/- | 0,37 | 29,7 | +/- | 0,38 | 25,1 | +/- | 0,37 |
| 217 | O10A | Bi | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 214 | O10B | Bt | -2,74 | 0,050 | -2,85 | 0,077 | 30,5 | +/- | 0,38 | 25,8 | +/- | 0,37 | 29,5 | +/- | 0,38 | 24,9 | +/- | 0,37 | 28,0 | +/- | 0,38 | 23,5 | +/- | 0,37 |
| 215 | O10B | Bi | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 201 | O10D | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 202 | O10D | I | -2,36 | 0,050 | -2,34 | 0,077 | 27,9 | +/- | 0,38 | 23,4 | +/- | 0,37 | 27,0 | +/- | 0,38 | 22,4 | +/- | 0,36 | 25,5 | +/- | 0,37 | 21,0 | +/- | 0,36 |
| 203 | O10D | I | total CO2 too small | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 204 | O10D | I | -2,23 | 0,050 | -1,84 | 0,077 | 25,5 | +/- | 0,37 | 21,0 | +/- | 0,36 | 24,6 | +/- | 0,37 | 20,1 | +/- | 0,36 | 23,1 | +/- | 0,37 | 18,7 | +/- | 0,35 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|------|----|---------------------|-------|---------------------|-------|----------|------|----------|------|----------|------|----------|------|----------|------|----------|------|
| 205 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 24,4 +/- | 0,37 | 19,9 +/- | 0,36 | 23,4 +/- | 0,37 | 19,0 +/- | 0,36 | 22,0 +/- | 0,36 | 17,6 +/- | 0,35 |
| 206 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 26,7 +/- | 0,37 | 22,2 +/- | 0,36 | 25,7 +/- | 0,37 | 21,2 +/- | 0,36 | 24,3 +/- | 0,37 | 19,8 +/- | 0,36 |
| 207 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 30,6 +/- | 0,38 | 26,0 +/- | 0,37 | 29,6 +/- | 0,38 | 25,0 +/- | 0,37 | 28,2 +/- | 0,38 | 23,6 +/- | 0,37 |
| 208 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 29,4 +/- | 0,38 | 24,7 +/- | 0,37 | 28,4 +/- | 0,38 | 23,8 +/- | 0,37 | 26,9 +/- | 0,37 | 22,4 +/- | 0,36 |
| 209 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 24,8 +/- | 0,37 | 20,3 +/- | 0,36 | 23,8 +/- | 0,37 | 19,4 +/- | 0,36 | 22,4 +/- | 0,36 | 18,0 +/- | 0,35 |
| 210 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 26,2 +/- | 0,37 | 21,7 +/- | 0,36 | 25,2 +/- | 0,37 | 20,8 +/- | 0,36 | 23,8 +/- | 0,37 | 19,4 +/- | 0,36 |
| 211 | O10D | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 29,2 +/- | 0,38 | 24,6 +/- | 0,37 | 28,3 +/- | 0,38 | 23,7 +/- | 0,37 | 26,8 +/- | 0,37 | 22,3 +/- | 0,36 |
| 212 | O10D | Bi | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 25,5 +/- | 0,37 | 21,0 +/- | 0,36 | 24,5 +/- | 0,37 | 20,0 +/- | 0,36 | 23,1 +/- | 0,37 | 18,7 +/- | 0,35 |
| 218 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 22,9 +/- | 0,36 | 18,5 +/- | 0,35 | 22,0 +/- | 0,36 | 17,6 +/- | 0,35 | 20,6 +/- | 0,36 | 16,2 +/- | 0,35 |
| 219 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 26,3 +/- | 0,37 | 21,8 +/- | 0,36 | 25,3 +/- | 0,37 | 20,8 +/- | 0,36 | 23,9 +/- | 0,37 | 19,5 +/- | 0,36 |
| 220 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 33,5 +/- | 0,39 | 28,7 +/- | 0,38 | 32,5 +/- | 0,39 | 27,8 +/- | 0,38 | 31,0 +/- | 0,39 | 26,3 +/- | 0,37 |
| 221 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 33,9 +/- | 0,39 | 29,2 +/- | 0,38 | 32,9 +/- | 0,39 | 28,2 +/- | 0,38 | 31,4 +/- | 0,39 | 26,7 +/- | 0,37 |
| 222 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 34,9 +/- | 0,40 | 30,1 +/- | 0,38 | 33,8 +/- | 0,39 | 29,1 +/- | 0,38 | 32,3 +/- | 0,39 | 27,6 +/- | 0,38 |
| 223 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,077 | 29,4 +/- | 0,38 | 24,8 +/- | 0,37 | 28,4 +/- | 0,38 | 23,9 +/- | 0,37 | 27,0 +/- | 0,38 | 22,4 +/- | 0,36 |
| 224 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 41,3 +/- | 1,98 | 36,3 +/- | 1,92 | 40,2 +/- | 1,97 | 35,3 +/- | 1,91 | 38,6 +/- | 1,95 | 33,7 +/- | 1,89 |
| 225 | O10E | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 38,0 +/- | 1,94 | 33,2 +/- | 1,88 | 37,0 +/- | 1,93 | 32,2 +/- | 1,87 | 35,5 +/- | 1,91 | 30,7 +/- | 1,85 |
| 231 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 40,4 +/- | 0,47 | 35,1 +/- | 0,45 | 39,0 +/- | 0,46 | 34,1 +/- | 0,45 | 37,4 +/- | 0,46 | 32,5 +/- | 0,45 |
| 232 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 40,0 +/- | 0,47 | 35,4 +/- | 0,45 | 39,3 +/- | 0,47 | 34,4 +/- | 0,45 | 37,7 +/- | 0,46 | 32,9 +/- | 0,45 |
| 233 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 37,1 +/- | 0,46 | 32,3 +/- | 0,44 | 36,1 +/- | 0,46 | 31,3 +/- | 0,44 | 34,5 +/- | 0,45 | 29,8 +/- | 0,44 |
| 234 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 36,6 +/- | 0,46 | 31,8 +/- | 0,44 | 35,6 +/- | 0,45 | 30,8 +/- | 0,44 | 34,0 +/- | 0,45 | 29,3 +/- | 0,44 |
| 235 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 34,9 +/- | 0,45 | 30,1 +/- | 0,44 | 33,8 +/- | 0,45 | 29,1 +/- | 0,44 | 32,3 +/- | 0,44 | 27,6 +/- | 0,43 |
| 236 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 36,8 +/- | 0,46 | 32,0 +/- | 0,44 | 35,8 +/- | 0,46 | 31,0 +/- | 0,44 | 34,3 +/- | 0,45 | 29,5 +/- | 0,44 |
| 237 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 35,0 +/- | 0,45 | 30,2 +/- | 0,44 | 33,9 +/- | 0,45 | 29,2 +/- | 0,44 | 32,4 +/- | 0,45 | 27,7 +/- | 0,44 |
| 238 | O11B | - | total CO2 too small | 0,060 | total CO2 too small | 0,088 | 32,1 +/- | 0,44 | 27,4 +/- | 0,43 | 31,1 +/- | 0,44 | 26,4 +/- | 0,43 | 29,6 +/- | 0,44 | 24,9 +/- | 0,42 |
| 239 | O11B | Bt | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 25,1 +/- | 1,78 | 20,6 +/- | 1,72 | 24,1 +/- | 1,77 | 19,7 +/- | 1,71 | 22,7 +/- | 1,75 | 18,3 +/- | 1,70 |
| 240 | O11B | Bi | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 36,7 +/- | 1,92 | 31,9 +/- | 1,86 | 35,7 +/- | 1,91 | 30,9 +/- | 1,85 | 34,1 +/- | 1,89 | 29,4 +/- | 1,83 |
| 243 | O11C | Bi | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 32,8 +/- | 1,87 | 28,0 +/- | 1,82 | 31,8 +/- | 1,86 | 27,1 +/- | 1,80 | 30,3 +/- | 1,84 | 25,6 +/- | 1,79 |
| 244 | O11C | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 31,1 +/- | 1,85 | 26,4 +/- | 1,80 | 30,1 +/- | 1,84 | 25,5 +/- | 1,78 | 28,6 +/- | 1,82 | 24,0 +/- | 1,77 |
| 247 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 31,2 +/- | 1,85 | 26,5 +/- | 1,80 | 30,2 +/- | 1,84 | 25,6 +/- | 1,79 | 28,7 +/- | 1,82 | 24,1 +/- | 1,77 |
| 248 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 30,5 +/- | 1,85 | 25,9 +/- | 1,79 | 29,5 +/- | 1,83 | 24,9 +/- | 1,78 | 28,1 +/- | 1,82 | 23,5 +/- | 1,76 |
| 249 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 29,8 +/- | 1,84 | 25,1 +/- | 1,78 | 28,8 +/- | 1,82 | 24,2 +/- | 1,77 | 27,3 +/- | 1,81 | 22,8 +/- | 1,75 |
| 250 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 30,2 +/- | 1,84 | 25,5 +/- | 1,78 | 29,2 +/- | 1,83 | 24,6 +/- | 1,77 | 27,7 +/- | 1,81 | 23,1 +/- | 1,76 |
| 251 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 29,7 +/- | 1,83 | 25,1 +/- | 1,78 | 28,7 +/- | 1,82 | 24,1 +/- | 1,77 | 27,2 +/- | 1,81 | 22,7 +/- | 1,75 |
| 252 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 30,4 +/- | 1,84 | 25,7 +/- | 1,79 | 29,4 +/- | 1,83 | 24,8 +/- | 1,78 | 27,9 +/- | 1,81 | 23,3 +/- | 1,76 |
| 253 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | 29,9 +/- | 1,84 | 25,3 +/- | 1,78 | 28,9 +/- | 1,83 | 24,3 +/- | 1,77 | 27,5 +/- | 1,81 | 22,9 +/- | 1,75 |
| 254 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 255 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 256 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 257 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 258 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 259 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 260 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 261 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 262 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 264 | O12B | Bt | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 245 | O12B | - | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |
| 246 | O12B | Bi | total CO2 too small | 0,050 | total CO2 too small | 0,368 | | | | | | | | | | | | |

A4. INNER EN TOTAL BULKDATA, MET EEN TEMPERATUURSBEREKENING VAN DE TOTAL BULKDATA

| BULK | Inner | | | | Total | | | | T°C Thorroid | | Ouderdom | Lithostratigrafie |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|--|----------|--|
| | δ13C | stdv | δ18O | stdv | δ13C | stdv | δ18O | stdv | Δw = -1,00 | | | |
| O1A | -2,10 | 0,041 | -4,78 | 0,062 | -2,32 | 0,061 | -4,40 | 0,123 | 38,4 | | 49,8 | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O1B | -4,17 | 0,041 | -3,83 | 0,062 | -3,67 | 0,061 | -3,84 | 0,123 | 35,5 | | 49,8 | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O2A | -0,43 | 0,061 | -3,03 | 0,123 | -1,25 | 0,061 | -3,14 | 0,123 | 31,9 | | 49,8 | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O2B | -1,95 | 0,061 | -1,51 | 0,123 | -2,09 | 0,061 | -2,14 | 0,123 | 27,0 | | 49,8 | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O2C | -2,52 | 0,061 | -3,53 | 0,123 | -1,76 | 0,061 | -3,44 | 0,123 | 33,4 | | 49,8 | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O2D | -1,35 | 0,083 | -2,49 | 0,284 | -0,91 | 0,083 | -3,05 | 0,284 | 31,4 | | 49,8 | Zanden van Aalter, Aalter Formation, Zenne Group |
| O3A | -3,81 | 0,041 | -4,07 | 0,062 | -3,19 | 0,041 | -4,14 | 0,062 | 37,0 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O3B | -3,71 | 0,061 | -4,59 | 0,123 | -3,69 | 0,061 | -4,78 | 0,123 | 40,4 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O3C | -2,19 | 0,061 | -5,52 | 0,123 | -3,28 | 0,061 | -5,77 | 0,123 | 45,8 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O3D | -2,58 | 0,083 | -3,12 | 0,284 | -2,71 | 0,083 | -2,92 | 0,284 | 30,8 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O4A | -1,52 | 0,019 | -2,06 | 0,067 | -1,46 | 0,019 | -1,64 | 0,067 | 24,5 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O4B | -0,41 | 0,083 | -2,98 | 0,284 | -0,42 | 0,083 | -1,54 | 0,284 | 24,1 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O4C | 0,89 | 0,019 | -1,19 | 0,067 | 0,39 | 0,019 | -1,99 | 0,067 | 26,3 | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O4D | -0,99 | 0,069 | -4,10 | 0,253 | | | | | | | 51,5 | "Falun I", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O5A | | | | | -2,42 | 0,190 | -5,37 | 0,392 | 43,6 | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O5B | | | | | -3,36 | 0,019 | -3,90 | 0,067 | 35,8 | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O5C | -2,73 | 0,069 | -3,35 | 0,253 | | | | | | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O5D | -1,86 | 0,069 | -3,42 | 0,253 | -1,51 | 0,069 | -3,10 | 0,253 | 31,7 | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O6A | -1,78 | 0,069 | -2,56 | 0,253 | -1,20 | 0,069 | -2,72 | 0,253 | 29,8 | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O6B | -0,09 | 0,069 | -2,03 | 0,253 | -0,65 | 0,069 | -2,85 | 0,253 | 30,5 | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O6C | -1,25 | 0,050 | -2,09 | 0,077 | | | | | | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O6D | -0,52 | 0,190 | -2,14 | 0,392 | -0,70 | 0,190 | -2,26 | 0,392 | 27,6 | | 51,4 | "Falun II", Egem Sands, Tielt Formation, leper Group |
| O7A | -2,64 | 0,069 | -3,82 | 0,253 | -3,05 | 0,069 | -3,42 | 0,253 | 33,3 | | 50,75 | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O7B | | | | | -2,78 | 0,190 | -4,08 | 0,392 | 36,7 | | 50,75 | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O7C | -2,04 | 0,050 | -3,06 | 0,077 | | | | | | | 50,75 | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O8A | -0,47 | 0,190 | -1,46 | 0,392 | -1,04 | 0,190 | -1,75 | 0,392 | 25,1 | | 50,75 | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O8B | -0,56 | 0,190 | -1,84 | 0,392 | -0,22 | 0,190 | -1,65 | 0,392 | 24,6 | | 50,75 | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O9A | -2,91 | 0,050 | -2,11 | 0,077 | | | | | | | 50,75 | Panisel Sands, Hyon Sand Formation, leper Group |
| O10A | | | | | -2,35 | 0,050 | -3,19 | 0,077 | 32,2 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O10B | -2,74 | 0,050 | -2,85 | 0,077 | | | | | | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O10E | | | | | -1,86 | 0,050 | -2,64 | 0,077 | 29,4 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O10D | -2,57 | 0,050 | -1,68 | 0,077 | -2,82 | 0,050 | -1,98 | 0,077 | 26,2 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O11A | | | | | -2,86 | 0,050 | -3,17 | 0,368 | 32,1 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O11B | -3,83 | 0,060 | -3,74 | 0,088 | -4,59 | 0,060 | -4,10 | 0,088 | 36,8 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O11C | | | | | -3,14 | 0,050 | -1,75 | 0,368 | 25,1 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |
| O12B | | | | | -1,77 | 0,050 | -2,74 | 0,368 | 29,9 | | 53 | Mons-en-Pévèle Formation, leper Group |

A5. GRAFISCH OVERZICHT VAN DE OTOLIETEN DIE GEBRUIKT ZIJN VOOR DE BEREKENING VAN SEIZOENALE PARAMETERS (VOLGENS THORROLD ET AL. (1997) EN PATTERSON ET AL. (1993) EN EEN $\delta^{18}O_w$ VAN -1,00.

