

Proposition de sujet de thèse 2024

A remplir par les équipes d'accueil et à retourner à Isabelle HAMMAD : hammad@cerege.fr

* à renseigner obligatoirement pour la validation du sujet

¹ à remplir lors de la campagne d'attribution des allocations, à l'issue de la session de juin des Masters

Sujet de doctorat proposé *

**Étude des matières organiques dans les sédiments de sites archéologiques karstiques
via une approche multi-analytique novatrice
– Cas de la grotte du Lazaret –**

Encadrant(s) * : **Devièse Thibaut**, deviese@cerege.fr **Gérald Culioli**, gerald.culioli@univ-avignon.fr

Laboratoire * : CEREGE – équipe Climat

Avignon Université, IMBE – équipe EECAR

Tableau récapitulatif du sujet :

Candidat(e) ⁽¹⁾	
Nom - Prénom :	
Date de naissance :	
Licence (origine, années, mention) :	
Mention et classement au Master 1 année (Xème sur Y)	
Mention et classement au S3 du Master 2 (Xème sur Y)	
Mention et classement au S4 du Master 2 (Xème sur Y)	
Mention et classement au M2 (année) (Xème sur Y)	
MASTER (nom, université)	
Sujet de doctorat proposé *	Étude des matières organiques dans les sédiments de sites archéologiques karstiques via une approche multi-analytique novatrice - Cas de la grotte du Lazaret -
Encadrants (2 max, indiquer si HDR ou pas) *	- DEVIESE Thibaut (MCF, HDR) - CULIOLI Gérald (PR, Avignon Univ.)
Laboratoire *	- CEREGE - IMBE, Avignon Univ.
Programme finançant la recherche (indiqué si obtenu ou envisagé) ⁽¹⁾	

Sujet de doctorat proposé *

Étude des matières organiques dans les sédiments de sites archéologiques karstiques via une approche multi-analytique novatrice – Cas de la grotte du Lazaret

Introduction

Les sédiments constituent une source inestimable d'informations sur les paléoenvironnements et les activités humaines passées pour différentes échelles de temps allant de quelques siècles à plusieurs centaines de milliers d'années. Plus spécifiquement, la matière organique préservée dans les sédiments marins et lacustres peut être utilisée pour reconstruire les paléoclimats. La température des eaux de surface, par exemple, peut être estimée avec les rapports d'insaturation des alcénones [1-5] et les rapports d'abondance des tétraéthers [6-7]. La productivité phytoplanctonique, quant à elle, peut être étudiée en mesurant les concentrations en alcénones, stérols et chlorines [8-12].

Les substances organiques conservées dans les sédiments des grottes archéologiques représentent également une précieuse source d'informations sur les conditions environnementales locales ainsi que sur les modes de vie des populations humaines qui les ont occupées. Sur divers sites, la disposition des vestiges archéologiques suggère l'existence de différentes zones fonctionnelles à l'intérieur de ces grottes, telles que des espaces de stockage, des amas de débitage lithique ou des zones dédiées au feu [13]. Les substances organiques préservées dans les sédiments peuvent également contribuer à révéler la manière dont les populations préhistoriques ont organisé leur espace [14]. Cependant, l'extraction et la caractérisation de cette matière organique, souvent en très faible quantité et emprisonnée dans un substrat inorganique, demeure un défi majeur. Dans le cadre de cette thèse, **l'objectif est d'étudier l'organisation spatiale des activités au sein de la grotte du Lazaret, site préhistorique majeur en France, en mettant en œuvre une approche analytique novatrice et pluridisciplinaire appliquée aux matières organiques conservées dans ses sédiments.**

Etat de l'art et problématique

La grotte du Lazaret s'ouvre sur les pentes occidentales du mont Boron, à Nice, à une centaine de mètres du rivage actuel de la Méditerranée et à 25 m au-dessus du niveau actuel de la mer [15-16]. A ce jour, les fouilles archéologiques au sein de la cavité ont révélé 29 niveaux d'occupation humaine dans la partie supérieure du remplissage, sur 2,7 m d'épaisseur. L'industrie lithique de ces niveaux d'occupation est composée essentiellement de petits outils retouchés sur éclat (raclours et pointes). Les bifaces, assez nombreux dans l'ensemble stratigraphique moyen, deviennent très rares dans l'ensemble supérieur. Ce gisement marque le passage d'un Acheuléen supérieur riche en bifaces, à un Acheuléen final à rares bifaces, puis à une industrie lithique pré-moustérienne riche en raclours, vers la fin du Pléistocène moyen [17]. La faune chassée est composée en grande partie de cerfs puis de bouquetins. D'autres espèces sont présentes comme le rhinocéros, l'aurochs, le bison, le renne et l'éléphant ainsi que de nombreux carnivores dont le loup [18]. Les foyers sont présents dans tous les niveaux d'occupation et sont attestés par la présence de nombreux ossements brûlés et de charbons de bois. Enfin, la grotte du Lazaret a livré 28 restes humains (fragments crâniens, fémurs, humérus et dents) appartenant à des Anténéandertaliens.

De 2000 à 2014, plusieurs niveaux d'occupation acheuléens, séparés par de minces couches stériles d'argiles ont été mis au jour sur une surface de près de 90 m². Ce sont, de haut en bas, les unités archéostratigraphiques UA25, UA26, UA27, UA28 et UA29. Tous ces sols sont jonchés de nombreux ossements, notamment de cerfs et de bouquetins, plus rarement d'aurochs et d'éléphants, correspondant à des déchets culinaires, de très nombreux outils lithiques comprenant des bifaces, de rares hachereaux, des galets aménagés, des percuteurs, des retouchoirs, des petits outils retouchés et parfois de quelques restes humains dont un frontal d'*Homo erectus* européen évolué dans l'UA28. De petits foyers sont également présents sur chacun de ces sols d'occupation. Avec l'objectif de mieux connaître le mode d'occupation de la caverne par les populations humaines qui ont habité la grotte, leurs comportements de subsistance et leurs modes de vie, une étude pilote d'analyse de la matière organique a été menée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) sur une trentaine d'échantillons de sédiment provenant de l'UA 27. Ces analyses préliminaires ont permis de mettre en évidence la préservation de substances organiques dont des lipides dans les sédiments avec une concentration en matière organique plus élevée au niveau des foyers [19].

Durant cette thèse, le/la doctorant(e) aura donc pour objectif d'identifier la nature des matières organiques et leur répartition spatiale sur la surface complète de l'UA 29 (90 m²) datée entre 160 000 et 170 000 ans et de croiser ces données avec les données archéologiques (faunes, lithiques) afin d'étudier l'organisation spatiale des populations préhistoriques au sein de la grotte du Lazaret.

Méthodologie

Les méthodologies analytiques qui sont couramment mises en œuvre pour l'étude des matières organiques en géosciences de l'environnement et en géoarchéologie présentent des caractéristiques communes. Elles sont basées sur l'extraction des molécules grâce à différents solvants organiques de polarités variables (ex : méthanol, dichlorométhane). Pour cela, il est tout d'abord nécessaire de broyer les échantillons afin de faciliter l'extraction de la matière organique. Il s'agit donc d'un processus destructif et qui apporte de nombreux biais sur la matière récupérée. S'ensuivent des étapes de caractérisation par différentes techniques de chromatographie couplées à la spectrométrie de masse (ex : HPLC-MS, GC-MS). Ces techniques d'extraction, de même que la chromatographie

en phase liquide, requièrent des quantités importantes de solvants organiques, néfastes pour les personnes en laboratoire et pour l'environnement. Il est donc d'intérêt de modifier les protocoles analytiques au sein de nos laboratoires et de développer de nouvelles approches (1) qui évitent le broyage du matériel d'étude et (2) qui limitent l'utilisation de solvants toxiques tout en augmentant la qualité des données générées.

Durant cette thèse, nous souhaitons développer une nouvelle méthodologie faisant appel aux technologies supercritiques. La plupart des applications développées avec cette technologie sont basées sur l'utilisation du dioxyde de carbone. Au-delà de ce point critique (31°C et 74 bars dans le cas du CO₂), l'interface entre les phases liquide et gazeuse disparaît. Les fluides supercritiques présentent alors une diffusivité élevée, une faible viscosité et des propriétés de solvatation uniques. La technologie des fluides supercritiques englobe à la fois l'étape d'extraction (SFE pour *Supercritical Fluid Extraction*) et de séparation (SFC pour *Supercritical Fluid Chromatography*) des molécules organiques. La puissance de cette technologie est maintenant pleinement exploitée pour un large éventail d'applications comme pour la production de médicaments, d'huiles essentielles, d'arômes, de parfums et plus récemment du CBD. Cependant, les fluides supercritiques n'ont pas encore été pleinement exploités dans le domaine des sciences environnementales et leur application en sciences archéologiques est quasiment inexistante.

Depuis 2014, Thibaut Devièse développe l'utilisation des technologies supercritiques pour l'extraction (SFE) et la caractérisation moléculaire (SFC) des matières organiques au sein d'un large éventail d'échantillons environnementaux et archéologiques. Il a été le premier à utiliser les fluides supercritiques pour extraire les lipides (restes alimentaires) préservés dans des céramiques archéologiques [20], ainsi que les marqueurs de régime alimentaire dans des ossements modernes et archéologiques [21], et pour la décontamination d'échantillons osseux en vue de leur datation par le radiocarbone [22]. Il a aussi supervisé deux projets de Master 2 consacrés à l'étude de marqueurs anthropiques dans des échantillons sédimentaires provenant de sites archéologiques. Sur la base des équipements de chromatographie et de spectrométrie de masse financés par Edouard Bard et installés dans le laboratoire de géochimie organique, inorganique et isotopique (LGO2i), et grâce à un financement additionnel de la fondation Amidex et de l'IFS puis la collaboration avec l'équipementier Agilent, il a équipé le CEREGE en 2022 d'un système SFC-MS. Actuellement, dans le cadre du projet metaMOA financé par l'institut ARKAIA, il supervise le stage d'Océane Pollet, étudiante du M2 STPE qui analyse par SFC-MS la composition moléculaire de matières lipidiques sédimentaires provenant du site du Portel Ouest (Ariège) extraites par SFE. Toutes ces études pilotes ont d'ores et déjà montré que les fluides supercritiques ont le potentiel de rendre l'étude d'échantillons archéologiques et environnementaux moins invasive, beaucoup plus efficace et plus respectueuse de l'environnement.

Dans le cadre de cette thèse, l'étudiant(e) analysera les 200 prélèvements qui ont été réalisés sur les 90 m² d'occupation de l'UA29. Les extraits organiques obtenus par SFE sur les sédiments seront analysés par différentes techniques chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse qui sont installées au CEREGE et à l'IMBE (Avignon Université). Ce type d'analyses engendre des jeux de données complexes. Le/La doctorant(e) aura donc pour mission de mettre en place un traitement automatisé. Dans ce contexte, la métabolomique, la dernière des sciences « omiques », constitue une approche analytique de choix car elle propose une vision holistique à la fois à l'échelle de chaque échantillon, en visant à étudier la totalité du métabolome, mais également au niveau du panel d'échantillons analysés, par le biais d'une étude globale et automatisée [23-24]. La métabolomique offre donc des perspectives inédites pour explorer la diversité moléculaire présente dans les sédiments archéologiques. Cette approche novatrice, basée sur l'analyse globale des métabolites et encore très rarement utilisée en archéométrie, ouvre ainsi la voie à une compréhension approfondie des origines de la matière organique préservée dans les sédiments archéologiques et des processus biogéochimiques. Une fois optimisée dans le cadre de cette thèse, cette démarche analytique novatrice pourra être appliquée à d'autres sites archéologiques et d'autres types d'enregistrements sédimentaires (carottes lacustres, carottes marines, etc.).

Organisation de la thèse et échéancier

La thèse sera divisée en 3 workpackages. **1^{ère} année : WP1** – Le/La doctorant(e) effectuera des analyses par FTIR, XRF, XRD et EA (TOC) pour avoir une première caractérisation 'globale' des fractions organiques et inorganiques des sédiments provenant du Lazaret. **WP2** – Il/Elle optimisera, sur des échantillons de référence, les paramètres pour l'extraction supercritique de la matière organique et sa caractérisation par chromatographie et spectrométrie de masse. **2^{ème} année : WP3** – La méthodologie optimisée sera appliquée aux 200 échantillons de sédiments afin d'élucider la nature et la répartition spatiale des matières organiques dans les sols. Les données expérimentales obtenues seront traitées en utilisant différents workflows de métabolomique incluant des outils variés tels que des analyses statistiques multivariées ou encore l'analyse par réseaux moléculaires. **3^{ème} année** : La thèse sera rédigée durant la dernière année et les résultats seront présentés tout au long des 3 ans dans différents supports de disséminations (scientifiques et grand public). Toutes les données générées seront rendues disponibles en *open-access*.

Références

(1) [Rostek et al. 1993](#) ; (2) [Bard et al. 1997](#) ; (3) [Sonzogni et al. 1997](#) ; (4) [Bard et al. 2000](#) ; (5) [Leduc et al. 2007](#) ; (6) [Ménot and Bard 2012](#) ; (7) [Sanchi et al. 2013](#) ; (8) [Rostek et al. 1997](#) ; (9) [Pailler and Bard 2002](#) ; (10) [Schulte and Bard. 2003](#) ; (11) [Bard and Rickaby 2009](#) ; (12) [Vidal et al. 2010](#) ; (13) [Spagnolo et al. 2019](#) ; (14) [Golberg 2006](#) ; (15) [de Lumley et al. 2001](#) ; (16) [de Lumley et al. 2005](#) ; (17) [Cauche 2012](#) ; (18) [Valensi et al. 2013](#) ; (19) [Azemard et al. 2013](#) ; (20) [Devièse et al. 2018](#) ; (21) [Alldritt et al. 2019](#) ; (22) [Devièse et al. 2019](#) ; (23) [Patti et al. 2012](#) ; (24) [Bundy et al. 2009](#)

Détail du Programme finançant la recherche *

Toutes les instrumentations nécessaires à la réalisation de ce projet sont déjà disponibles au CEREGE dans le Laboratoire de Géochimie Organique, Inorganique et Isotopique (LGO2i) auquel sera rattaché(e) le/la doctorant(e) et *via* des collaborations d'ores et déjà établies avec d'autres laboratoires universitaires (ex : IMBE Avignon) ainsi que le partenaire Innovation Fluides Supercritiques (IFS) pour l'utilisation de leur système SFE.

Le budget nécessaire à la réalisation des activités de recherche dans le cadre de cette thèse concerne donc principalement le fonctionnement (produits chimiques, consommables, etc.) et proviendra de sources de financement propres aux laboratoires (CEREGE, IFS) ou de différents projets de recherche en lien avec le sujet de cette thèse :

- le projet ANR NeHos « From Neanderthals to Homo sapiens - Understanding a cultural (r)evolution in Europe during the Palaeolithic – NeHos » ([ANR-22-CE27-0016](#)) PI: Thibaut Devièse
- le projet MetaMOA « La Métabolomique : un outil analytique original pour la caractérisation des Matières Organiques en contexte Archéologique » financé par l'institut Arkaia porté par Gérard Culioli et dans lequel T. Devièse et E. Bard (responsable scientifique du LGO2i) sont impliqués.

Enfin, les encadrants du projet de thèse ainsi que le/la doctorant(e) candidateront à d'autres financements durant le développement du projet (ex : AAP de l'institut Arkaia, ou de l'ANR) pour couvrir par exemple les coûts liés à des missions, participations à des conférences et publications en *open-access*.

Directeurs de thèse proposés *

Directeur HDR proposé *

Nom - Prénom : **Devièse Thibaut**
Corps : **Maître de conférence, HDR**
Laboratoire : **CEREGE**
Adresse mail : deviese@cerege.fr

Choix de cinq publications récentes *

Devièse T, Abrams G, Hajdinjak M, Pirson S, De Groot I, Di Modica K, Toussaint M, Fischer V, Comeskey D, Spindler L, Meyer M, Semal P, Higham T (2021) Reevaluating the timing of Neanderthal disappearance in Northwest Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **118**(12): e2022466118.

Devièse T, Ribechini E, Querci D and Higham T (2019) Assessing the efficiency of supercritical fluid extraction for the decontamination of archaeological bones prior to radiocarbon dating. *Analyst* **144**: 6128-6135.

Alldritt I, Whitham-Agut B, Sipin M, Studholme J, Trentacoste A, Tripp JA, Cappai MG, Ditchfield P, Devièse T, Hedges REM and McCullagh JSO (2019) Metabolomics reveals diet-derived plant polyphenols accumulate in physiological bone. *Scientific Reports* **9**(1): 8047.

Devièse T, Massilani D, Yi S, Comeskey D, Nagel S, Nickel B, Ribechini E, Lee J, Tseveendorj D, Gunchinsuren B, Meyer M, Pääbo S and Higham T (2019). Compound-specific radiocarbon dating and mitochondrial DNA analysis of the Pleistocene hominin from Salkhit Mongolia. *Nature Communications* **10**(1): 274.

Devièse T, Van Ham-Meert A, Hare V, Lundy J, Hommel P, Ivanovich Bazaliiskii V and Orton J (2018). Supercritical fluids for higher extraction yields of lipids from archaeological ceramics. *Analytical Chemistry* **90**(4): 2420–2424.

Thèses encadrées ou co-encadrées au cours des quatre dernières années *

Nom : **Lou SPANNEUT**

Intitulé : **Élucider les comportements alimentaires face aux changements climatiques durant le Pléistocène supérieur – Développement d'une approche biomoléculaire novatrice**

Type d'allocation : **Bourse de thèse Inter-ED**

Date de début de l'allocation de doctorat : **01/10/2022**

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : **/**

Programme finançant la recherche : **Financement Arkaia, ANR NeHOS**

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : **/**

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : **50%**

Nom : **Jennifer KEUTE**

Intitulé : Comprendre les relations entre subsistance, technologie céramique et environnements locaux dans l'émergence de la poterie en Asie du Nord-Est grâce à l'analyse des résidus organiques

Type d'allocation : Bourse de thèse Université d'Oxford

Date de début de l'allocation de doctorat : 01/10/2017

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : Mai 2022 (retard dû au COVID)

Programme finançant la recherche : Financements internes à l'université

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : /

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : 50%

Autre directeur proposé *

Nom - Prénom : **Culioli Gérald**

Corps : **Professeur**

Laboratoire : **Avignon Université, UMR IMBE, Équipe « Ecologie, Ecotoxicologie & Chimie appliquées à l'Agroécologie et à la Restauration » (EECAR)**

Adresse mail : gerald.culioli@univ-avignon.fr

Choix de cinq publications récentes *

Carriot N, Barry-Martinet R, Briand J-F, Ortalo-Magné A* and **Culioli G*** (2022). Impact of phosphate concentration on the metabolome of biofilms of the marine bacterium *Pseudoalteromonas lipolytica*. *Metabolomics* **18**(3): 18.

Paix B, Layglon N, Le Poupon C, D'Onofrio S, Misson B, Garnier C, **Culioli G*** and Briand J-F* (2021). Integration of spatio-temporal variations of surface metabolomes and epibacterial communities highlights the importance of copper stress as a major factor shaping host-microbiota interactions within a Mediterranean seaweed holobiont. *Microbiome* **9**: 201.

Carriot N, Paix B, Greff S, Viguier B, Briand J-F and **Culioli G*** (2021). Integration of LC/MS-based molecular networking and classical phytochemical approach allows in-depth annotation of the metabolome of non-model organisms - The case study of the brown seaweed *Taonia atomaria*. *Talanta* **225**, 121925.

Ternon E, Paix B, Thomas OP, Briand J-F and **Culioli G.*** (2020). Exploring the role of macroalgal surface metabolites on the settlement of the benthic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata*. *Frontiers in Marine Science* **7**: 683.

Paix B, Carriot N, Barry-Martinet R, Greff S, Misson B, Briand J-F* and **Culioli G*** (2020). Multi-omics analysis suggests links between the differentiated surface metabolome and epiphytic microbiota along the thallus of a Mediterranean seaweed holobiont. *Frontiers in Microbiology* **11**: e494.

Thèses encadrées ou co-encadrées au cours des quatre dernières années *

Nom : **Lindsay MAS-NORMAND**

Intitulé : New analytical developments for metabolomics and annotation of dyeing plant extracts: Applications in a cultural heritage context

Type d'allocation : Bourse de thèse de l'EUR Implanteus (Avignon Université)

Date de début de l'allocation de doctorat : 01/10/2022

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : /

Programme finançant la recherche : Financement Arkaia, prestations, projet ANR MAYACOSTA

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : /

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : 50% (Directeur)

Nom : **Aurélien PORTAS**

Intitulé : Biofouling dans le contexte des énergies marines renouvelables : étude des communautés procaryotes et eucaryotes et des paramètres physiques structurants

Type d'allocation : France Energies Marines (FEM)/ANR

Date de début de l'allocation de doctorat : 01/10/2019

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : Avril 2023 (retard dû au COVID)

Programme finançant la recherche : Projet ABIOP+ (FEM/ANR)

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : ATER (depuis septembre 2023)

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : 33% (Co-directeur)

Nom : **Nathan CARRIOT**

Intitulé : Caractérisation de la production métabolique de biofilms marins- Vers une application à l'étude de biofilms complexes *in situ*

Type d'allocation : Allocation ministère

Date de début de l'allocation de doctorat : 01/10/2018

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : Février 2022 (retard dû au COVID)

Programme finançant la recherche : Projet ANR RESSAC (Astrid)

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : ATER puis emploi secteur privé depuis septembre 2023

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : 50% (Directeur)

Nom : **Benoît PAIX**

Intitulé : Etude des dynamiques spatio-temporelles des interactions entre le microbiote et le métabolome de surface de la macroalgue *Taonia atomaria* par une approche multi-omiques

Type d'allocation : Bourse région Sud-PACA / Parc National de Port-Cros

Date de début de l'allocation de doctorat : 01/10/2016

Date de soutenance (si la thèse est soutenue) : Septembre 2020 (retard dû au COVID)

Programme finançant la recherche : Projet EMPREINTES (EMBRC France), projet COHESIONS (EC2CO, CNRS-INSU)

Situation actuelle du docteur (si la thèse est soutenue) : ATER puis Post-doc (Pays-Bas) depuis mars 2021.

Pourcentage de participation du directeur à l'encadrement en cas de co-direction : 50% (Directeur)