



UNIVERSITÉ FRANÇOIS RABELAIS DE TOURS



École Doctorale SST

CNRS/INSU - Université François-Rabelais de Tours - Université d'Orléans - UMR 6113
Institut des Sciences de la Terre d'Orléans - Equipe de Tours

THÈSE présentée par :

Marlène LAVRIEUX

soutenue le : 08 décembre 2011

pour obtenir le grade de : Docteur de l'université François - Rabelais

Discipline / Spécialité : Sciences de la Terre / Géochimie moléculaire

**Biomarqueurs moléculaires d'occupation des sols,
du sol au sédiment :
exemple du bassin-versant et du lac d'Aydat (Puy-de-Dôme)**

THÈSE DIRIGÉE PAR :

M. BREHERET Jean-Gabriel
M. DISNAR Jean-Robert

Professeur, Université François-Rabelais de Tours
Directeur de recherche, CNRS Orléans

RAPPORTEURS :

M. MICHELS Raymond
M. SCHAEFFER Philippe

Chargé de recherche HDR, CNRS Nancy
Directeur de recherche, CNRS Strasbourg

JURY :

M. AMBLES André
M. BAUDIN François
M. BREHERET Jean-Gabriel
M. DISNAR Jean-Robert
M. MICHELS Raymond
M. SCHAEFFER Philippe

Professeur, Université de Poitiers
Professeur, Université Pierre et Marie Curie de Paris
Professeur, Université François-Rabelais de Tours
Directeur de recherche, CNRS Orléans
Chargé de recherche HDR, CNRS Nancy
Directeur de recherche, CNRS Strasbourg

La seule différence que je connaisse entre la mort et la vie, c'est qu'à présent vous vivez en masse, et que dissous, épars en molécules, dans vingt ans d'ici vous vivrez en détail.

Denis Diderot

Extrait d'une Lettre à Sophie Volland - 15 Octobre 1759

*Dear common flower, that grow'st beside the way,
Fringing the dusty road with harmless gold,
First pledge of blithesome May,
Which children pluck, and, full of pride uphold,
High-hearted buccaneers, o'erjoyed that they
An Eldorado in the grass have found,
Which not the rich earth's ample round
May match in wealth, thou art more dear to me
Than all the prouder summer-blooms may be.*

James Russell Lowell

"To the Dandelion" (1845 - extrait)

Remerciements

Cette thèse a obtenu le soutien financier de la Région Centre (bourse de thèse), ainsi que du programme INSU/CNRS "ERODE : Marqueurs organiques d'érosion des sols ; application (paléo-)environnementale" (appel à projet "Ecosphère Continentale et Côtière").

Au terme de cette thèse, je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail : tout d'abord Raymond Michels et Philippe Schaeffer, rapporteurs, ainsi que André Amblès et François Baudin, examinateurs de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également...

A mes deux directeurs de thèse, par ordre alphabétique (car ils se partagent équitablement la première place sur le podium !) Jean Bréheret et Jean-Robert Disnar, entre autres pour leur soutien de la première à la dernière minute, leur disponibilité en chaque instant, leur expérience, leurs conseils avisés, leur gentillesse, leur humour. Plus personnellement, à Jean que je tiens pour directement responsable pour ma dégringolade dans le monde de la recherche et qui a toujours été là malgré la distance (qui n'était pourtant pas si grande...), et à Jean-Robert pour ses idées de sorties culturelles et ses petits remontants au quotidien ("*Vous connaissez Guillaumet, le copain de Saint-Exupéry ?*").

A mes encadrants, Jérémy Jacob, Claude Le Milbeau, Emmanuel Chapron, pour leur aide précieuse et si bénéfique. Au final, ça en aura fait, du monde, autour de cette thèse, mais il faut souligner que cela n'a en rien empêché son bon déroulement.

A Jérémy, pour sa si grande ténacité, sa rigueur, pour son aide au quotidien et les moments de franche rigolade. On le tient notre "écrasol"... mais désormais il faudra peut-être se méfier avant de lancer des paris (merci pour le resto).

Je conseille vivement à toute personne œuvrant dans le moléculaire de se dégoter un "petit Claude" en version poche : Claude est une encyclopédie vivante des molécules organiques, et je reste persuadée qu'il doit se révéler un allié de choix pour trouver des mots bizarroïdes pour le Scrabble. Rares sont les gens chez qui la générosité est si grande qu'elle en devient une véritable qualité ; Claude est de ceux-là.

Les optimistes disent que le Soleil brille toujours au-dessus des nuages, et je ne pense pas que c'est Manu qui prétendra le contraire ! Toujours débordant d'énergie et des idées plein la tête, son enthousiasme est réellement communicatif et a ce pouvoir de recharger les batteries de n'importe qui en toutes circonstances.

Au Pr. Kazuo Masuda, de la Showa Pharmaceutical University de Tokyo (Japon), pour nous avoir proposé bien plus que ce que nous lui avons demandé et ce, sans rien attendre en retour. C'est un très grand honneur pour moi de le compter au nombre des co-auteurs de mon premier article publié.

A Thierry Dudok de Wit (LPC2E, Orléans), de m'avoir si généreusement accordé du temps pour le traitement statistique des données de carotte. Ce travail ne figure malheureusement pas dans ce manuscrit de thèse, mais j'ai tout de même l'espoir que nous le valorisons prochainement.

A Maya Stefanova (Académie Bulgare des Sciences), pour son aide à l'identification de composés et son encourageante bienveillance.

A Fabien Arnaud, Emmanuel Malet et Bernard Fanget du laboratoire EDYTEM de Chambéry, pour avoir rendu possible la campagne de carottage sur le lac d'Aydat et en avoir assuré le bon déroulement.

A Yannick Miras (GEOLAB, Clermont-Ferrand) et Valérie Andrieu-Ponel (IMEP, Aix-en-Provence) pour les analyses paléocéologiques sur pollen et microfossiles non polliniques, qui apportent des perspectives passionnantes à ce travail.

A Claude-Laurent Benhamou, Stéphane Pallu et Gaël Rochefort, de l'Institut de Prévention et de Recherche sur l'Ostéoporose d'Orléans, pour nous avoir permis de réaliser des mesures de densité sur la carotte avec l'ostéodensitomètre et nous avoir aidés dans cette tâche.

A toutes celles et ceux de l'ISTO qui ont partagé leur savoir et m'ont donné tant de conseils, avec qui j'ai échangé une parole ou un bonjour sincère, un trait d'humour, ou des richesses du potager.

Aux 3 stagiaires qui ont contribué aux travaux sur le lac d'Aydat durant mes années de thèse, pour leur motivation et la qualité de leur travail : Jennifer Granja (L3), Vivien Janvier (M1) et enfin Anthony Foucher (M2).

A Stanislas Sizaret et Christian DiGiovanni, pour m'avoir permis d'inscrire l'enseignement au nombre de mes compétences.

Au personnel technique et administratif de l'ISTO, particulièrement à Marielle Hatton qui trouve toujours ce dont on a besoin et pour le broyage de tant d'échantillons de sédiments, à Rachel Boscardin pour l'analyse Rock-Eval des échantillons, à Nathalie Pothier pour les recherches biblio, et enfin à Marie-Noëlle Pailhès, Chantal Genter et Fabienne Le Bihan pour tous les aspects administratifs du quotidien.

A Renata - pour avoir toujours répondu avec le sourire à mes questions idiotes, pour ses encouragements, pour son amitié - et à Sébastien... Et pour ce contact inoubliable avec le Cosmos au sommet du Puy de la Vache.

A mes autres colocataires de bureau successifs, pour tous les bons moments passés ensemble : Maxime, Anaëlle et Sylvain.

A Indira, Francis (et Diego!), et à Audrey et Gerardo pour ces enrichissantes découvertes de l'Amérique du Sud, et puis pour tout le reste aussi.

A Ahlam, à Raid, maintenant repartis si loin, dans l'espoir que nous puissions un jour visiter ensemble les ruines de Babylone.

Aux autres thésards et post-docs orléanais rencontrés durant ces 3 années, pour tout ce que nous avons pu partager ensemble : Manue, Nicolas (avec un "s" puisqu'il y en a deux!), Flavien, Julie, Damien, Noémie, Chrystelle, Aurore, Myriam, Paul, Mourad, Nour, Adriana, Chen Ke, Fred, Ali, Matthieu, Khalifa, Mariem, Mickaël, Yann, ...

Comme on n'oublie jamais d'où l'on vient, j'ai de chaleureuses pensées pour l'équipe de Tours, premiers acteurs de ma (dé)formation universitaire. Chacun a ajouté sa petite touche de couleur au tableau, j'en garderai toujours un précieux souvenir. Mes pensées vont également vers les terres bretonnes, où certains ont joué un rôle clé sans lequel je ne serais sans doute pas là où je suis maintenant.

A toutes celles et ceux rencontrés au détour d'un congrès, pour leur sympathique compagnie et/ou leurs questions et conseils avisés.

A toutes celles et ceux qui m'ont aidée, parfois sans le savoir, à progresser dans cette voie. Ce sont des choses qui ne s'oublient jamais.

A mes parents, à ma grande sœur et à mes "petites sœurs de cœur", pour leur soutien, particulièrement durant les dernières semaines, et leur curiosité face à mes avancées.

A Zoran, pour tout ce que tu es, et tout ce que tu n'es pas. Pour ce que tu as fait jour après jour, pour ton soutien indéfectible malgré le rythme effréné de tes journées. Pour ton idée géniale qui reste pour le moment dans notre poche, mais qu'on trouvera bien le moyen de ressortir un jour ou l'autre. Pour ton aide précieuse pour la mise en page, et pour m'avoir appris à me débrouiller sous L^AT_EX. Et puis pour tout ce qui dépasse l'entendement... Il paraît qu'il n'existe pas de mot pour exprimer cela, mais certains racontent que tout est inscrit dans ce nombre : 42.



Table des matières

Avant-propos	19
I Contexte scientifique et site d'études	21
1 Contexte scientifique	23
1.1 Le sol : constituants et évolution	23
1.1.1 Généralités	23
1.1.2 Constituants	23
1.1.3 Fonctions de la matière organique dans les sols	25
1.1.4 Les lipides	25
1.1.5 Pédogenèse	26
1.1.6 Du sol au sédiment	28
1.2 Le sédiment lacustre : constituants et diagenèse	28
1.2.1 Le lac, bassin de sédimentation	28
1.2.2 Constituants	29
1.2.3 Diagenèse précoce de la matière organique	31
1.2.4 Les lipides	32
1.3 Climats, environnements et sociétés au cours de l'Holocène	34
1.3.1 Variabilité climatique Holocène	34
1.3.2 Interactions environnement / climat / sociétés humaines	36
1.4 Les biomarqueurs moléculaires	40
1.4.1 Les biomarqueurs moléculaires des sols	41
1.4.2 Les biomarqueurs moléculaires des sédiments lacustres	41
1.4.3 Applications des biomarqueurs moléculaires	41
1.4.4 Complémentarité de l'analyse des biomarqueurs et de la palynologie dans les études sédimentaires	43
2 Site d'études	47
2.1 Localisation	47

2.2	Caractéristiques physiques et chimiques des eaux lacustres	47
2.3	Origine et contexte géologique	49
2.4	Occupation des sols actuelle du bassin-versant	49
2.5	Les sols du bassin-versant	49
2.6	Contexte climatique	50
2.7	Cadre (pré)historique de l’anthropisation et occupation ancienne des sols . .	51
II	Sols	59
3	Inventaire de biomarqueurs lipidiques neutres de sols sous prairies et forêts ; bassin versant du lac d’Aydat (Puy de Dôme)	61
3.1	Introduction	64
3.2	Material and methods	64
3.2.1	Setting and sampling	64
3.2.2	pH, granulometry and Rock-Eval analyses	66
3.2.3	Lipid extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis	66
3.3	Results and discussion	70
3.3.1	Characterisation of soil samples	71
3.3.2	Lipid content	71
3.4	Conclusion	83
4	Détection d’acétates de triterpényles dans les sols, et potentiel en tant que marqueurs chimiotauxonomiques d’Astéracées	85
4.1	Introduction	87
4.2	Setting, materials and methods	89
4.2.1	Location and general context	89
4.2.2	Materials and methods	89
4.3	Results	90
4.4	Discussion	92
4.4.1	Distribution of triterpenyl acetates in plants	92
4.4.2	Comparison of soil triterpenyl acetate diversity with local plant sources	95
4.4.3	Potential palaeoenvironmental implications	98
4.5	Conclusions	99
5	Indices moléculaires d’un récent changement d’occupation des sols : transition prairie - forêt	103
5.1	Introduction	106

5.2	Setting	107
5.2.1	Recent land use history	108
5.3	Materials and methods	109
5.3.1	Sampling	109
5.3.2	Lipid analyses	109
5.3.3	pH, granulometry and Rock-Eval pyrolysis	110
5.4	Results and discussion	111
5.4.1	Bulk analyses	111
5.4.2	Lipid content	112
5.4.3	General Discussion	121
5.5	Conclusions	122
III Sédiments		125
6	6700 ans d'enregistrement sédimentaire de signaux climatiques et anthropiques	127
6.1	Introduction	130
6.2	General setting	131
6.3	Material and methods	131
6.4	Results and discussion	133
6.4.1	Background sedimentation and origin of detritism	133
6.4.2	Sedimentological features	134
6.4.3	Depth-age model and accumulation rate	137
6.4.4	Climatic and anthropic influences on the sedimentary record	138
6.5	Conclusions	146
7	Le cannabinoïde fossile retrace l'histoire du rouissage du chanvre	149
8	Application des assemblages moléculaires définis dans les sols au décryptage de l'archive sédimentaire	159
8.1	Matériel et méthodes	160
8.1.1	Sélection des échantillons	160
8.1.2	Méthodes	160
8.2	Contenu lipidique des sédiments : comparaison avec les données acquises sur les sols sous prairies et forêts	160
8.2.1	Comparaison du contenu moléculaire des dépôts de crue et des sédiments de fond	162
8.2.2	Familles de composés absentes des sédiments	162

8.2.3	Familles présentes dans les sédiments	163
8.2.4	Autres biomarqueurs terrestres	169
8.2.5	Conséquences de cet inventaire moléculaire pour la re- construction des changements d’usages des sols	170
8.3	Evolution temporelle des biomarqueurs	171
8.3.1	Séries alkyles	171
8.3.2	Stéroïdes et contribution fécale	174
8.3.3	Acétates de triterpényle	174
8.3.4	Autres marqueurs	177
8.3.5	Discussion générale sur l’évolution des occupations anciennes	178
8.4	Conclusions	180
	Conclusion générale et perspectives	183
	Références	191
	Annexes	220
A	Les méthoxyserratènes, biomarqueurs discriminants des sols développés sous forêts de conifères	223
B	Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d’Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires	229
C	Les TTHCs, des marqueurs organiques de l’impact des activités hu- maines ? Acquis et interrogations.	253

Avant-propos

Au cours de l'Holocène, l'emprise des activités humaines sur l'environnement naturel n'a cessé de croître, à tel point qu'elles ne peuvent plus être considérées comme négligeables pour l'évolution des systèmes naturels (IPCC, 2007; chapitre 1). Ecosystèmes, sociétés humaines et climat étant intimement liés à travers un schéma complexe d'interactions (Dearing, 2006), il est fondamental d'évaluer les implications à long terme de cette anthropisation massive de la planète. Afin d'anticiper les changements à venir, il apparaît pertinent d'employer une approche rétrospective, permettant d'aborder et de mieux comprendre les interactions entre climats, sociétés humaines et écosystèmes dans le passé, ainsi que d'anticiper leurs réponses face à divers bouleversements. Parmi ces derniers figurent les changements d'occupation des sols, dont les impacts à long terme sur leurs propriétés chimiques globales, leur structure, leur disponibilité en nutriments ou encore la composition des communautés végétales sus-jacente sont aujourd'hui couramment admis (e.g. Dupouey *et al.*, 2002; Hurtt *et al.*, 2006; Fraterrigo *et al.*, 2009). Alors que les documents historiques se révèlent riches d'informations sur les périodes les plus récentes, seules les archives naturelles peuvent fournir des renseignements sur les époques plus anciennes sur lesquelles il n'existe que peu, voire pas de documentation - particulièrement précise et fiable. Parmi les archives naturelles, sols et sédiments sont particulièrement adaptés aux études visant des reconstitutions paléoenvironnementales, du fait de leur sensibilité aux conditions environnementales (sous contrôle naturel et/ou anthropique), de la qualité de leur enregistrement (sédiments) ou de leur rôle de support direct des communautés végétales et des activités humaines (sols ; chapitre 1).

Malgré ces diverses considérations, qui mettent en relief les liens entre sols et sédiments et leurs rôles respectifs dans l'enregistrement des conditions environnementales, il n'existe à notre connaissance aucune étude intégrée sur la transmission et l'enregistrement, dans un réceptacle lacustre, d'un signal environnemental issu de sols faisant l'objet d'un usage particulier. Dans ce contexte, la présente étude propose d'abord de réaliser, dans le bassin-versant du lac d'Aydat (présenté au chapitre 2), un inventaire des composés présents dans des sols soumis à deux occupations bien distinctes : prairies/pâtures et forêts (essentiellement de conifères). Cet inventaire, qui porte sur les lipides libres et neutres, parmi lesquels figurent de nombreuses familles de composés fréquemment utilisés comme marqueurs géochimiques, fait l'objet des chapitres 3 à 5. Les principaux acquis de cette première approche seront ensuite mis en œuvre pour l'étude d'un enregistrement sédimentaire du lac d'Aydat, réceptacle des matériaux érodés des sols étudiés. Ainsi, après une étude sédimentologique et géochimique détaillée d'une carotte prélevée au centre du lac, qui fait l'objet du chapitre 6, l'étude moléculaire proprement dite sera exposée dans les chapitres 7 et 8.

Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet ERODE : "Marqueurs organiques d'érosion des sols ; application (paléo-) environnementale" (responsable, J-R. Disnar, CNRS, ISTO, Orléans), sous l'égide du programme CNRS/INSU EC2CO (Ecosphère continentale et côtière). Le premier objectif de ce projet était de caractériser le matériel organique de sols, ainsi que d'appréhender les modalités du transfert de l'information dont celui-ci est porteur, du sol au sédiment. Ensuite, dans une double perspective environnementale et paléoenvironnementale, il s'agissait d'estimer l'impact des événements majeurs ayant affecté le système lacustre, notamment en ce qui concerne la période la plus récente. Parmi ceux-ci était particulièrement visées les perturbations provoquées par le remembrement des terres du bassin-versant, associé à la rectification d'une partie du cours de la Veyre, rivière qui alimente le lac.

La majeure partie de ce travail étant constituée de résultats qui devraient être publiés, les chapitres 3 à 7 sont présentés sous forme d'articles. L'un deux est d'ores et déjà publié dans la revue *Organic Geochemistry* (chapitre 4), tandis que les autres devraient être soumis prochainement. Les informations concernant les matériels et méthodes sont exposées dans chacun des chapitres. La bibliographie est reportée en fin du manuscrit. Un autre article, portant sur le contenu moléculaire acide des sols et donc complémentaire de cette étude, est renvoyé en annexes (soumis à *Journal of Soils and Sediments*).

Première partie

Contexte scientifique et site d'études

Chapitre 1

Contexte scientifique

1.1 Le sol : constituants et évolution

1.1.1 Généralités

Le sol est situé à l'interface entre l'atmosphère, l'hydrosphère, la lithosphère et la biosphère, et constitue la pédosphère. A l'échelle locale, il est composé d'un mélange minéral et organique résultant de l'altération chimique, physique et biologique d'une roche mère. Il constitue le support de la vie de nombreux micro-organismes et organismes qui influencent son état et son évolution. Cette complexité en fait un système qu'il est difficile d'appréhender de manière exhaustive.

1.1.2 Constituants

1.1.2.1 Fraction minérale

Cette fraction constitue de 95 à 99% du sol (Quénéa, 2004). Sa composition est directement liée à celle de la roche-mère puisque, bien souvent, la fraction minérale n'est autre que la résultante de la dégradation de celle-ci.

La fraction minérale est caractérisée par les trois classes granulométriques suivantes, selon le diamètre des particules en présence :

- les sables ($50 \mu\text{m}$ - 2mm)
- les limons ($2 \mu\text{m}$ - $50 \mu\text{m}$)
- les argiles (diamètre inférieur à $2 \mu\text{m}$) - au sens granulométrique, c'est-à-dire qu'on considère dans cette fraction toutes particules de diamètre inférieur à $2 \mu\text{m}$ et ce, quelle que soit sa structure ou sa composition.

L'abondance relative de chacune de ces classes permet de définir la texture du sol, qui renseigne sur la facilité de travail du sol, ses capacités de drainage et de transport des

substances organiques, sa perméabilité, ...

1.1.2.2 Fraction organique

A la fois support et produit du vivant, le sol contient une fraction organique (matière organique du sol, ou MOS) que Baldock et Nelson (1999) définissent comme suit :

"Somme de toutes les substances organiques, biologiquement dérivées, naturelles et thermiquement altérées, trouvées dans le sol ou à la surface du sol, quelle que soit sa source, qu'elle soit vivante, morte, ou en état de décomposition, mais excluant la partie de plantes de surface vivantes."

La MOS est principalement dérivée de plantes (*e.g.* Nierop, 1998 ; Rasse *et al.*, 2005) et comporte également une importante composante fongique et bactérienne, tandis que la contribution animale est plutôt anecdotique (Dinel *et al.*, 1990 ; Kögel-Knabner, 2002). Les substances qui la constituent se répartissent en substances humiques (acides humiques, acides fulviques, humine) et non-humiques (Stevenson, 1966 ; Dinel *et al.*, 1990). Les substances non-humiques regroupent une grande variété de composés hérités (Dinel *et al.* 1990 ; Kögel-Knabner, 2002 ; Pansu et Gautheyrou, 2006 ; Quénéa, 2004), principalement :

- composés azotés (en grande partie des protéines) ;
- pigments ;
- hydrates de carbone (5 à 25 % de la MOS, comprenant notamment les polysaccharides : cellulose et dérivés) ;
- tanins hydrolysables et non-hydrolysables, ayant une fonction défensive ;
- lignine (macromolécule de haut poids moléculaire jouant chez les plantes vasculaires terrestres un rôle de soutien des tissus) ;
- cutine et subérine (qui participent à la protection des organes et à leur imperméabilisation) ;
- lipides (voir ci-après)

Les quantités de MOS sont régies par l'équilibre entre la quantité de résidus végétaux apportée au sol et leur taux de minéralisation, cet équilibre étant dans certains cas largement perturbé par les pertes engendrées par l'érosion et le lessivage. Différents facteurs vont ainsi avoir une influence sur le taux de MOS: le climat, les matériaux parentaux et les produits de pédogenèse, les microorganismes et la faune, mais également la topographie, l'usage des sols ou encore les techniques culturales (Baldock et Nelson, 1999).

Après son incorporation dans le sol, la MOS pourra être minéralisée, humifiée, ou stabilisée dans des agrégats ou adsorbée sur des minéraux (Quénéa, 2004).

1.1.3 Fonctions de la matière organique dans les sols

Malgré sa faible contribution à la masse totale de sol minéral, la MOS exerce une profonde influence sur les propriétés du sol et sur son écosystème (Baldock et Nelson, 1999). Ses différentes fonctions sont à la fois interdépendantes et en constante interaction : ce sont des fonctions chimiques, biochimiques et physiques.

En effet, la MOS est source de macronutriments et réservoir d'énergie métabolique, et a également un impact sur la résilience de l'écosystème, c'est-à-dire sur sa capacité à retourner à l'état initial après une phase de perturbation ou de stress. Elle est également capable de stimuler ou d'inhiber l'activité enzymatique et la croissance végétale et microbienne (Baldock et Nelson, 1999). De plus, la contribution de la MOS à la capacité d'échange cationique du sol est évaluée entre 25 et 90 % (Baldock et Nelson, 1999). Par ailleurs la MOS interagit avec les polluants, jouant un rôle dans leur mobilité, leur toxicité et leur biodisponibilité dans le sol (Quénéa, 2004). Enfin, la MOS exerce un effet positif sur l'agrégation des sols (et donc sur leur stabilité), le développement racinaire, ainsi que sur la rétention d'eau. De par sa couleur sombre, la MOS a aussi un impact sur l'albédo des sols et donc sur leurs propriétés thermiques (Allison, 1973 ; Baldock et Nelson, 1999).

1.1.4 Les lipides

Les lipides des sols, de structure chimique très variée, sont un mélange complexe de composés organiques ayant pour caractéristique commune d'être insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques non polaires. Leur composition varie en fonction de la végétation sus-jacente, de la population microbienne et des conditions physico-chimiques du milieu (Stevenson, 1966 ; Dinel *et al.*, 1990). Les lipides libres représentent généralement moins de 10 % de la matière organique des sols (Dinel *et al.*, 1990 ; Bull *et al.*, 1998 ; Feng et Simpson, 2007), et les fractions solubles de faible poids moléculaire sont celles qui enregistrent le mieux les différences de végétation sus-jacente (van Bergen *et al.*, 1997).

Représentant généralement une faible part de la MOS, ils peuvent atteindre 20% de celle-ci (Stevenson, 1966). Tous les groupes d'organismes vivants produisent des lipides pour leurs fonctions métaboliques et leurs membranes (Dinel *et al.*, 1990). La principale source de lipides est généralement la végétation, dont les constituants chimiques les plus résistants seront les plus représentés dans le profil de sol (van Bergen *et al.*, 1997). Les lipides peuvent également provenir des bactéries (hopanoïdes), ou encore des champignons (stérols en C₂₈) (van Bergen *et al.*, 1997, et références incluses). La composition en lipides dépendra également de nombreux processus chimiques, parmi lesquels figurent l'oxydation, la réduction, l'hydrolyse, la transestérification, eux-mêmes directement influencés par le pH du sol, son humidité, sa proportion d'argiles, son type d'occupation et sa biomasse

microbienne (van Bergen *et al.*, 1997).

Les lipides sont classés en fonction de leur composition et de la structure de leur squelette carboné. Ainsi, ils comprennent les acides gras libres, les hydrocarbures, les terpénoïdes, les lipides polaires, les stéroïdes, les cires et les résines (Stevenson, 1966 ; Pansu et Gautheyrou, 2006). Ils se répartissent en deux catégories :

- les lipides libres, directement extractibles à l'aide de solvants organiques et proviennent pour la plupart des plantes (Grasset et Amblès, 1998 ; Kögel-Knabner, 2000) (voir ci-après) ;
- les lipides liés, qui sont extraits par hydrolyse basique (liaison ester) ou acide (liaison ester et amide), généralement de sources bactériennes (Grasset et Amblès, 1998 ; Kögel-Knabner, 2000 ; Disnar *et al.*, 2005).

Les lipides, présents préférentiellement dans les fractions les plus fines du sol (Quénéa *et al.*, 2004), influencent directement les propriétés physiques du sol : ils ont un effet positif sur l'agrégation du sol et la stabilisation des agrégats, tandis qu'ils ont un effet négatif sur la rétention d'eau (Dinel *et al.*, 1990 ; Quénéa, 2004). Ils jouent également un rôle sur la croissance des plantes (McCalla *et al.*, 1963).

Très résistants à la biodégradation, les lipides ont un temps de résidence dans les sols bien supérieur à celui d'autres composés organiques comme les hydrates de carbones et les protéines. Cette préservation est favorisée par de faibles pH du sol (Moucawi *et al.*, 1981 ; Jambu *et al.*, 1987 ; Nierop *et al.*, 2005).

A plus ou moins long terme les lipides subissent tout de même une dégradation, dont l'intensité est dépendante de l'activité microbienne et des conditions physico-chimiques qui prévalent dans le sol, et donc également du climat (Otto *et al.*, 2005). Il est à noter que certains lipides sont capables d'inhiber l'activité microbienne et leurs capacités dégradatrices, effet qui est d'autant renforcé que le pH du sol est faible (Dinel *et al.*, 1990).

Les intérêts des lipides des sols et des utilisations qui peuvent en être faites, sont décrits au paragraphe 1.4.

1.1.5 Pédogenèse

Dès la fin du 19^e siècle les sols et leur genèse (processus de pédogenèse) ont été l'objet d'une attention particulière, initialement motivée par des intérêts économiques (Johnson *et al.*, 1990). Le climat était alors considéré comme le facteur pédogénétique prédominant. Cependant, cette vision impliquait que tout changement climatique devrait être enregistré, conservé, et demeurer reconnaissable au sein d'un profil de sol. Les avancées scientifiques ultérieures en paléoclimatologie ayant montré l'importance de ces changements au cours des temps, il est devenu clair que d'autres facteurs devaient entrer en jeu dans les processus

de formation des sols.

C'est ainsi que Jenny définit en 1941 une équation, régissant la formation et les propriétés du sol, dans laquelle interviennent cinq facteurs principaux :

$$S = f(cl, o, r, p, t, \dots)$$

où

s = propriétés du sol

cl = climat

o = organismes vivants (incluant les humains)

r = relief

p = matériau parental

t = temps

\dots = autres facteurs indéfinis, d'importance locale

Dans les régions tempérées, le facteur « climat » se traduit notamment par une pédogenèse relativement lente et récente. Cette dernière caractéristique est d'autant plus vraie dans les régions ayant subi l'influence des glaciations quaternaires, c'est-à-dire où le matériau parental n'a été que récemment exhumé (comparé aux régions tropicales par exemple).

Cette vision conceptuelle reste aujourd'hui la base des modèles pédogénétiques les plus utilisés de par le monde (Schaetzl et Anderson, 2007). Elle a cependant été affinée, complétée et transformée, de telle sorte qu'aujourd'hui de nombreux modèles de pédogenèse existent. Tandis que certains accordent l'importance principale aux facteurs (tout comme l'était le modèle de Jenny), d'autres mettent en relief les processus entrant en jeu (ajout et ablation de matière, translocation, transformations au sein du profil), d'autres encore les chemins parcourus (pédogenèse progressive et régressive, dont l'importance varie selon les facteurs externes et internes) (Schaetzl et Anderson, 2005). Certains modèles parmi les plus récents prennent en compte les transferts d'énergie réalisés durant la pédogenèse (Minasny *et al.*, 2008).

Quoi qu'il en soit des nombreux modèles différents qui coexistent à l'heure actuelle, la communauté scientifique s'accorde à dire que la pédogenèse n'est pas un processus linéaire. Du fait de son caractère dynamique, les sols sont en constante évolution et peuvent être considérés comme n'étant jamais en équilibre parfait avec leur environnement, et pouvant ainsi constamment se développer ou rétrograder.

Par ailleurs, la plupart des facteurs et processus étant interdépendants, une résolution

purement mathématique de ces modèles pédogénétiques est impossible. Il est cependant possible d'en approcher la solution de manière empirique.

1.1.6 Du sol au sédiment

Le transfert d'information, depuis le sol jusqu'au sédiment, s'effectue au travers des phénomènes d'érosion, de transport et de sédimentation. Les facteurs et processus généraux qui les régissent sont désormais bien connus et largement repris dans de nombreux ouvrages, et ne seront pas détaillés ici. Au besoin, le lecteur pourra se référer aux ouvrages généraux de Duchaufour (2001), Coque (2002) et Campy et Macaire (2003). Brièvement, l'érosion, ensemble complexe de phénomènes de dégradation et/ou de transformation, aboutit à l'exportation de matériaux superficiels, au contact entre la lithosphère, l'atmosphère, l'hydrosphère et la biosphère. Elle est régie par des facteurs naturels (histoire géologique, climat, relief, végétation, taille du bassin-versant, ...) et/ou anthropiques (actions sur la couverture végétale, pratiques agricoles, extraction de minerais, constructions, ...), et s'exprime par le biais de processus mécaniques, chimiques et/ou biologiques. Sur les versants, divers agents de transport assurent l'évacuation des matériaux provenant de l'érosion vers le réceptacle sédimentaire : cours d'eau, glaciers et vent en région aride. Le transfert de matériau par l'eau s'effectue tout d'abord grâce à un ruissellement sous l'effet de la gravité, puis par le biais des cours d'eau, qui vont transporter une charge dissoute provenant de l'érosion chimique, à laquelle s'additionne une charge solide dérivant de l'érosion mécanique. Cette phase de transport s'achève par la sédimentation des produits de l'érosion qui s'effectue, dans le cas de la zone d'étude, en contexte lacustre.

1.2 Le sédiment lacustre : constituants et diagenèse

1.2.1 Le lac, bassin de sédimentation

"Lakes are often referred to as cleaning basins for rivers." Einsele et Hinderer, 1998.

Les lacs, qui ne constituent pour la plupart qu'une retenue temporaire des eaux en transit vers les océans, représentent néanmoins une zone de stockage pour les matériaux que ces eaux charrient. Le bassin-versant et le réceptacle lacustre fonctionnent conjointement dans un "système limnologique" (Campy et Macaire, 2003), dans lequel l'influence du bassin-versant sur le fonctionnement du lac peut être appréhendée par le rapport de la surface du premier sur la surface du second. Un rapport inférieur ou égal à 1 indiquera que le fonctionnement du lac est peu influencé par les conditions prévalant dans le bassin-versant mais dépendra plutôt des apports atmosphériques. A l'inverse, un rapport élevé

(jusqu'à 1000) indiquera une forte influence du bassin-versant sur le lac, au travers de ses différentes caractéristiques : climat, relief, nature des roches, hydrologie, couverture végétale, anthropisation. Le fonctionnement du système limnologique dépend également des caractéristiques intrinsèques du lac, à savoir son origine, son bilan hydrique (comparaison entre la quantité d'eau entrant et d'eau sortant) associé au temps de résidence des eaux, leur composition chimique (elle-même dépendante de la composition chimique du bassin-versant, ainsi que de celle des aérosols) et de l'état trophique du lac (Campy et Macaire, 2003 ; Schnurrenberg *et al.*, 2003). Toutes ces caractéristiques influencent la nature du sédiment et le taux de sédimentation (Schnurrenberg *et al.*, 2003).

La densité de l'eau variant en fonction de sa température, de nombreux lacs présentent une stratification thermique. En surface, l'épilimnion oxygéné est le siège d'une photosynthèse active. La thermocline forme une barrière thermique qui le sépare de l'hypolimnion, couche profonde plus froide où la consommation de l'oxygène par des organismes hétérotrophes et chimiosynthétiseurs mène souvent à une anoxie. A la faveur des variations saisonnières de températures, les eaux lacustres se mélangent en régions tempérées 1 à 2 fois par an (lacs monomictiques ou dimictiques ; Einsele, 1992). En fonction de la productivité en MO et de l'intensité du brassage des eaux se distinguent les lacs oligotrophes (bien oxygénés sur toute la colonne d'eau et peu de MO) des lacs eutrophes (forte productivité en MO, faible oxygénation en profondeur).

Dans ce contexte, la sédimentation intervient dans un environnement où matériaux allogènes et endogènes se côtoient. Ces derniers correspondent à la production interne au lac, qu'elle soit minérale ou organique, tandis que les matériaux allogènes font référence aux apports du bassin-versant résultant de l'érosion. Suivant les caractéristiques du système limnologique, le sédiment peut être dominé par les fractions détritiques, biochimiques, ou organiques, mais il comporte également des composantes authigènes issues de la diagenèse.

Des indices de l'érosion du bassin-versant sont ainsi conservés dans les archives sédimentaires lacustres, dans des proportions variables selon le type de système limnologique et son évolution.

1.2.2 Constituants

1.2.2.1 Fraction minérale

Trois types de composantes minérales existent dans les sédiments lacustres, en proportions variables (Dean, 1981 *in* Einsele, 1992 ; Schnurrenberger *et al.*, 2003) :

- une composante clastique et détritique, constituée de grains généralement allochtones, qui reflètent le climat, le relief et le type de roches présentes sur le bassin-

versant, dont la sédimentation est contrôlée par des processus physiques, et qui constitue la majeure partie des sédiments des lacs glaciaires ou des grands lacs oligotrophes,

- une composante chimique, constituée de matériaux inorganiques autochtones provenant d’une précipitation ou d’une recristallisation inorganiques ou bio-induites ; par exemple, la précipitation de carbonate de calcium dans l’épilimnion suite à l’utilisation de CO_2 ou HCO_3^- par les diatomées, les cyanobactéries pour le domaine pélagial et par les charophytes pour le domaine littoral, ce minéral pouvant être en partie re-dissous en profondeur, du fait de la dégradation de la MO qui relargue du CO_2 et d’un faible pH (Einsele, 1992).
- Une composante biogénique, constituée de restes d’anciens organismes vivants (ostracodes, frustules de diatomées, coquilles de mollusques, ...) plus ou moins bien conservés, dont la minéralogie et la contribution dépendent de la chimie des eaux et de la disponibilité en nutriments.
- Une composante authigène consécutive aux processus diagénétiques qui interviennent au cours de l’enfouissement, tributaire du faciès sédimentaire, des conditions physico-chimiques et de l’activité benthique, particulièrement microbiologique.

Ainsi, le type et les caractéristiques du sédiment en présence dépendent des arrivées terrigènes, de la quantité d’oxygène disponible dans l’hypolimnion, de la bioturbation et des organismes présents (Einsele, 1992).

1.2.2.2 Fraction organique

Dans la fraction organique des sédiments lacustres se distinguent la production endogène et la production allogène. La première correspond à la matière organique (MO) produite à l’intérieur du bassin lacustre (phytoplancton, macrophytes ; *e.g.* Détriché, 2007), tandis que la deuxième se réfère à la matière organique provenant du bassin-versant par le biais de l’érosion. Les organismes photosynthétiques étant la source principale de MO primaire au sein du lac, sa production dépend avant tout de l’intensité lumineuse. La disponibilité en nutriments (C, H, O, N, P, Si, Fe), ainsi que l’efficacité du recyclage l’influencent également. A cette MO primaire s’ajoute une MO secondaire, résultant de la consommation de la première par les organismes hétérotrophes (animaux, microbes) au sein du lac (Meyers, 1997). En moyenne, la production lacustre en matière organique est difficile à évaluer et très variable étant donné la variété des contextes lacustres, mais se situerait entre 5 et 11 000 g de carbone / m^2 / an (généralement entre 400 et 700 g C/ m^2 /an pour les lacs eutrophes) (Baudin *et al.*, 2007).

1.2.3 Diagenèse précoce de la matière organique

Durant la diagenèse, les sédiments peuvent être soumis à des phénomènes de compaction, de précipitations chimiques, de dissolutions et de recristallisations. A la diagenèse précoce, largement sous influence bactérienne et qui affecte la matière organique, succède la diagenèse d'enfouissement.

La diagenèse précoce de la MO correspond à "*l'ensemble des processus qui affectent les particules sédimentaires avant leur incorporation au sédiment permanent*" (Ogier, 1999). Ces processus biologiques, chimiques ou physiques altèrent la MO et en modifient la composition, en attaquant préférentiellement les fractions les plus labiles (Meyers, 1997) et aboutissent à sa minéralisation, principalement par oxydation en présence de bactéries. En milieu oxydant, cette dégradation est très rapide, du fait de la grande instabilité de la MO (Meyers, 1997). Elle s'effectue en 3 phases, qui débutent par un lessivage, puis une décomposition, et aboutissent enfin à une phase réfractaire (Baudin *et al.*, 2007) :

- La phase de lessivage intervient juste après la mort de l'organisme. Les matériaux cellulaires sont directement décomposés par des enzymes intra-cellulaires, ce qui aboutit à une perte de composés solubles (amino-acides, mono- et di-saccharides, ...). Durant cette phase de quelques jours, la perte en poids est conséquente.
- La phase de décomposition survient juste ensuite et dure de 9 mois à 2 ans. Les bactéries qui décomposent la matière organique l'ingèrent soit directement (molécules de petite taille), soit en utilisant des exo-enzymes qu'elles sécrètent afin de morceler les molécules les plus grosses. Une telle dégradation des lipides mènera par exemple à la formation d'acides gras et de glycérol. Les bactéries anaérobies possèdent un arsenal d'exo-enzymes plus limité et plus spécifique que les bactéries aérobies ; de ce fait, ces dernières peuvent dégrader des molécules plus variées et plus complexes. Les réactions mises en jeu sont celles d'oxydation en milieu oxygène, et de dénitrification, réduction du manganèse, du fer et des sulfates, ainsi que de méthanogenèse en milieu anoxique.

Durant ces deux premières phases diagénétiques, 50 à 80% de la matière organique "fraîche" est dégradée en seulement 1 an, la dégradation étant favorisée par des températures élevées et par une abondance en oxygène dissous.

- Elles sont suivies par la phase réfractaire, durant laquelle les particules non digérées par les bactéries se décomposent lentement.

Cette diagenèse de la MO s'effectue dès l'arrivée dans la colonne d'eau : Eadie *et al.* (1984) ont estimé à 85% la proportion de carbone oxydé dans l'épilimnion du lac Michigan. Arrivée sur le fond, une éventuelle remise en suspension de la MO expose encore celle-ci à une oxydation. Cette dernière se poursuit dans les sédiments superficiels, au sein de la

zone bioturbée, où la MO constitue la base de la chaîne alimentaire de la faune benthique. Meyers et Ishiwatari (1993) ont estimé que dans cette zone, 75% du carbone organique serait détruit dans les Grands Lacs d'Amérique du Nord. Les bactéries anaérobies, qui prennent le relais en-dessous de cette zone bioturbée, dégradent préférentiellement la MO d'origine aquatique, par rapport à la MO d'origine terrestre (Meyers et Ishiwatari, 1993).

Par conséquent, la préservation de la MO est favorisée par une faible épaisseur de la tranche d'eau, mais également par un enfouissement rapide, qui la protège de l'oxydation. L'intensité de la production primaire, le degré d'oxygénation des eaux de fond, la granularité du sédiment ainsi que les conditions oxydo-réductrices sont au nombre des autres facteurs qui agissent sur la dégradation de la MO. Cette dernière est mieux préservée en domaine lacustre qu'en milieu marin. En effet, un taux de sédimentation plus élevé (en moyenne 1 m / 1000 ans dans les lacs, contre quelques centimètres par millénaire sur les fonds océaniques), associé à une plus grande productivité primaire (favorisée par de plus grands apports en nutriments), à une plus faible diversité dans le benthos lacustre ayant une plus faible profondeur d'action, et à une anoxie plus fréquente des fonds, favorisent une meilleure préservation de la MO en domaine lacustre. Ainsi, les lacs peuvent conserver jusqu'à 10% de la MO produite, selon les conditions trophiques, tandis que seuls 0,01 à 0,1% sont fossilisés en milieu marin oligotrophe (Baudin *et al.*, 2007).

La portion de MO qui subsiste à l'issue de ces réactions de diagenèse précoce est incorporée au sédiment. Ainsi, la quantité de MO finalement préservée ne représente qu'une petite fraction de celle qui a été originellement produite ou introduite dans les eaux de surface. Mais malgré cela, la matière organique restante peut livrer de nombreuses informations sur ses sources et son environnement de dépôt (Meyers, 1997).

1.2.4 Les lipides

De la même manière que les lipides des sols, les lipides contenus dans les sédiments proviennent des êtres vivants, sont libres ou liés, et peuvent indiquer leur origine d'après leur structure, leur abondance relative ou leur composition isotopique. Comme tout autre constituant organique sédimentaire, leur origine est (1) autochtone, lorsqu'ils dérivent d'organismes lacustres, soit directement, soit après avoir enregistré quelque transformation diagenétique durant leur sédimentation, ou (2) allochtone, *i.e.* provenant du bassin-versant par érosion, qu'ils soient intacts, déjà dégradés par des micro-organismes des sols, voire même provenant du remaniement d'anciens sédiments érodés sur le bassin (Cranwell, 1982 ; Di-Giovanni *et al.*, 2002 ; Graz *et al.*, 2010). La transformation de lipides d'origine biologique ou "biolipides" mène à la formation de "géolipides", dont l'état de dégradation est variable (Eglinton, 1969). Les plus stables d'entre eux, étant de bons marqueurs de leur origine

biologique, portent le nom de biomarqueurs.

Les lipides sont moins sensibles à la dégradation microbienne que d'autres composants de la matière organique (Meyers et Ishiwatari, 1993 ; Meyers et Teranes, 2002). Ils peuvent cependant être soumis à des phénomènes de diagenèse qui mènent à la perte de nombreux composés, et préférentiellement de ceux à chaîne courte, dégradés dès leur intégration à la colonne d'eau. La stabilité des lipides est variable selon la famille considérée, les lipides liés présentant une plus grande stabilité que les lipides libres (Cranwell, 1981).

Le type et la concentration des lipides varient en fonction de la fraction granulométrique concernée. Ainsi, une décroissance de la taille des particules minérales est censée s'accompagner d'une perte en variété et concentration, s'expliquant par une dégradation microbienne plus poussée résultant d'un temps de sédimentation plus long des particules fines (Meyers et Ishiwatari, 1993). Cependant, les argiles supportent relativement plus de *n*-alcane et d'acides gras, du fait de leurs fortes capacités d'adsorption (Meyers et Ishiwatari, 1993).

Certains lipides sont résistants à long terme à la dégradation, comme en témoigne par exemple l'existence de gisements pétroliers dont la maturation s'effectue selon une échelle de temps géologique, ou la présence de biomarqueurs dans des sédiments paléozoïques (*e.g.* Armstroff *et al.*, 2006 ; Romero-Sarmiento *et al.*, 2011).

Les intérêts des lipides des sédiments et les utilisations qui peuvent en être faites sont décrits dans la section 1.4.

Synthèse des sections 1.1 et 1.2

Bien que de nature très différente, les sols et les sédiments sont intimement connectés au travers des processus d'érosion, de transport et de sédimentation. Climat, végétation, relief et lithologie constituent les composantes naturelles des processus qui les affectent, à laquelle s'ajoute une composante anthropique dont l'ampleur est variable selon le site considéré. Il est indubitable que les composantes naturelle et anthropique agissent conjointement, mais en quelle mesure ? Se pose également la question de l'évolution de leurs interactions au cours du temps.

1.3 Climats, environnements et sociétés au cours de l'Holocène

1.3.1 Variabilité climatique Holocène

1.3.1.1 Généralités

L'idée selon laquelle l'Holocène (11 500 ans cal. BP - actuel) a subi des variations climatiques marquées est relativement récente car les enregistrements paléoclimatiques fournis par les carottes glaciaires groenlandaises fournissent la vision d'un climat holocène bien plus stable que les périodes qui l'ont précédé, particulièrement les périodes glaciaires (Dansgaard *et al.*, 1993 ; Grootes *et al.*, 1993). Pourtant, dès 1973, Denton et Karlén émettaient l'hypothèse de changements climatiques globaux et rapides, en observant la coïncidence d'avancées et de reculs de glacier avec l'activité solaire. Cette idée est reprise par Mayewski *et al.* en 2004, qui proposent 6 périodes de changements climatique rapides : 9000-8000, 6000-5000, 4200-3800, 3500-2500, 1200-1000 et 600-150 ans cal. BP. Parmi les périodes climatiques couramment admises mais toutefois sujettes à controverse (concernant leur extension temporelle et géographique) figurent le Maximum Thermique Holocène (6000-5000 cal. BP), la "Néoglaciation" (à partir de 4700 cal. BP), l'Optimum Climatique Médiéval (950-1200 CE) ou encore le Petit Age Glaciaire (1450-1850 CE) (*e.g.* Jones et Mann, 2004 ; Mayewski *et al.*, 2004 ; Crockford et Frederick, 2007 ; Xoplaki *et al.*, 2011).

Les facteurs à l'origine de ces instabilités climatiques sont variés. Les variations de l'activité solaire (insolation) semblent en être les principales contributrices aux échelles décennales à multi-millénaires. L'intensité de l'activité solaire conditionne elle-même des facteurs hydrologiques, qui vont à leur tour influencer le climat (*El Niño Southern Oscillation* (*ENSO*), Oscillation Nord Atlantique (*NAO*), intensité des moussons, humidité régionale, niveaux de lacs). Dans une moindre mesure, l'activité volcanique est au nombre des facteurs naturels qui régissent le climat, à une échelle décennale à inter-annuelle (Mayewski *et al.*, 2004 ; Bradley, 2005). D'autres phénomènes, comme par exemple la vidange brutale du lac Agassiz il y a 8200 ans suite au retrait de la calotte glaciaire, ont pu influencer le climat global (Clarke *et al.*, 2004). Si ces facteurs naturels suffisent à expliquer les variations climatiques observées jusqu'au 19^e siècle, le rôle anthropique, notamment au travers de l'augmentation des gaz à effet de serre et des changements d'usage des sols, doit être invoqué pour expliquer le réchauffement anormal observé au 20^e siècle (Jones et Mann, 2004 ; IPCC, 2007).

1.3.1.2 Climats d'Europe et du Massif Central

Partant d'analyses palynologiques, Davis *et al.* (2003) ont proposé une reconstitution climatique de l'Europe au cours de l'Holocène (moyenne annuelle, mois le plus chaud, mois le plus froid), en séparant le continent en 6 grandes zones. La zone étudiée au cours de ce travail est située en limite sud de la zone "Centre Ouest". Deux grandes phases se distinguent (Fig. 1.1). La première, qui suit la fin de la dernière glaciation et s'étend jusqu'à ~ 7000 ans cal. BP, montre une forte augmentation des températures ($+ 4^\circ\text{C}$ sur la moyenne annuelle en 5000 ans). Elle contraste fortement avec la deuxième (~ 7000 ans cal. BP - actuel) durant laquelle les températures restent globalement stables, et où la seule tendance observable à long terme est une légère augmentation des températures d'hiver ainsi qu'une légère diminution des températures d'été ($+ 0,5^\circ\text{C}$ et $- 0,5^\circ\text{C}$, respectivement). Ces deux périodes correspondent à l'Holocène inférieur et l'Holocène supérieur définis par Magny (1995), qu'il caractérise respectivement comme sujet à de fortes variations (inférieur) ou à des fluctuations plus légères (supérieur).

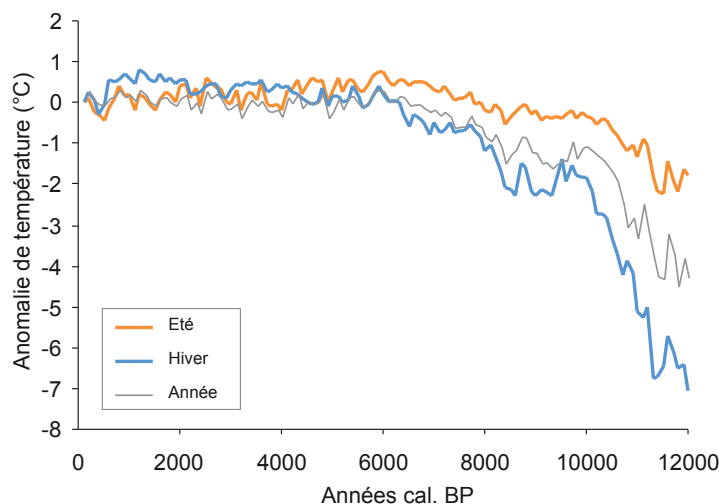


FIG. 1.1 – Anomalies de températures (comparé à l'actuel), pour le Centre-Ouest de l'Europe : moyenne annuelle, maxima estivaux et minima hivernaux. D'après Davis, 2003.

Ces grandes tendances se retrouvent à l'échelle du Massif Central même, dont l'évolution climatique holocène a été synthétisée par Beaulieu *et al.* (1988) à partir de nombreux enregistrements polliniques, puis reprise par Fourmont (2005). Ces auteurs séparent l'Holocène en plusieurs chronozones climatiques (Fig. 1.2) :

- le Préboréal qui fait suite au Tardiglaciaire et à sa dernière péjoration climatique (le Dryas récent, plus froid), et se caractérise par une amélioration rapide des conditions climatiques à l'échelle du Massif Central ;

- vient ensuite le Boréal, optimum thermique marqué par une forte sécheresse ;
- l'Atlantique qui correspond lui aussi à un optimum climatique, et marque le retour à des conditions plus humides vers 6000 BP ;
- le Subboréal qui indique une nette dégradation climatique, marquée par une augmentation de l'humidité ;
- le Subatlantique est lui aussi caractérisé par une humidité forte (du moins en Limagne) ; à cette période, l'impact anthropique s'amplifie et brouille le signal climatique enregistré par le pollen.

Ainsi, les deux grandes phases de l'Holocène sont enregistrées de manière spécifique dans le Massif Central : présence d'un réchauffement jusqu'au milieu de l'Atlantique (Holocène inférieur), qui fait place à un climat plus humide à l'Holocène supérieur.

	AGES BP	CHRONOZONES CLIMATIQUES	Eléments du climat du Massif Central
HOLOCENE	0	Subatlantique	fin de l'Antiquité, début du Moyen Age forte humidité en Limagne
	2600		Subboréal
	5000	Atlantique	
	8000		Boréal
	9000	Préboréal	
	10000		Dryas récent
	TARDIGLACIAIRE	10300	Bølling / Allerød
10700		Dryas ancien	
15000			Pléniglaciaire final

FIG. 1.2 – Chronozones climatiques et éléments du climat du Massif Central Français. D'après Fourmont, 2005.

1.3.2 Interactions environnement / climat / sociétés humaines

Comme cela est schématisé dans le "modèle cognitif permettant d'appréhender les changements environnementaux depuis le début des activités humaines" de la figure 1.3 (Dea-

ring, 2006), l'évolution des sociétés humaines est en lien direct avec les écosystèmes et les forçages naturels, dans un schéma global et complexe d'interactions. Chacun de ces trois grands domaines est lui aussi le siège de multiples interactions entre ses composantes, dont l'importance relative reste difficile à évaluer. L'interdépendance entre ces trois domaines incite à démêler leurs rétroactions, et l'évolution de leur importance relative au cours du temps. Dans cette optique seront envisagés tout d'abord les effets des facteurs naturels sur les sociétés humaines, avant de présenter en quoi ces dernières ont à leur tour influencé les environnements naturels.

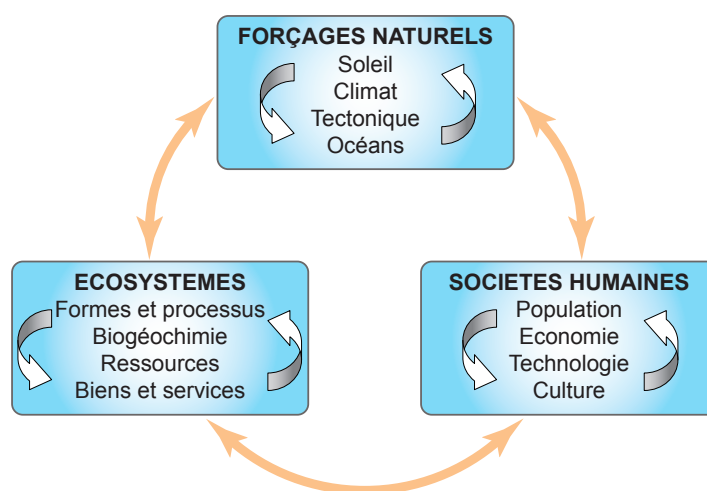


FIG. 1.3 – Interactions entre forçages naturels, sociétés humaines et écosystèmes, et entre les processus internes à chacune de ces composantes. Modifié d'après Dearing, 2006.

De nombreux indices illustrent la coïncidence entre certaines tendances climatiques et l'évolution de sociétés humaines. Entre autres exemples, une période d'aridité enregistrée vers 5200 ans cal. BP est immédiatement suivie par la disparition de la culture mésopotamienne dite « Uruk final » (Staubwasser et Weiss, 2006), celle de 4200 ans cal. BP coïncide avec l'effondrement de l'empire Akkadien et de l'Ancien Empire d'Égypte, celle à 1200 ans cal. BP, avec la chute de l'empire Maya Classique, et plus récemment le début du Petit Age Glaciaire avec la disparition de colonies groenlandaises d'origine scandinave (*e.g.* Hassan, 2000, 2001 ; deMenocal, 2001 ; Mayewski *et al.*, 2004). De la même manière, Zhang *et al.* (2008) ont montré que les successions de dynasties chinoises (Tang, Yuan et Ming principalement) coïncident avec les variations de l'intensité de la mousson d'été. Ces événements interviennent bien souvent au sein de cultures complexes (maîtrisant le stockage de denrées alimentaires et les technologies d'irrigation, ayant des connaissances astronomiques et mathématiques poussées, et un développement socio-politique avancé), mais qui n'ont pas réussi à faire face à l'impact provoqué par des changements climatiques durables

sur le renouvellement des ressources alimentaires (deMenocal, 2001). Cette vulnérabilité s'exprime dans un contexte de changements environnementaux rapides et persistants, auxquels s'associe nécessairement un contexte socio-politique plus difficile (deMenocal, 2001 ; O'Sullivan, 2008).

Au cours du temps l'évolution des activités anthropiques ont conduit au passage d'un environnement naturel à un environnement façonné par les humains (Messerli *et al.*, 2000). Ainsi, durant la première partie de l'Holocène, les sociétés humaines sont dominées par l'environnement naturel. A l'échelle mondiale, la réussite ou l'échec des sociétés humaines sont alors directement dictés par les possibilités offertes par l'environnement (présence d'animaux ou plantes domesticables, de minerais, de conditions climatiques favorables, . . .), dont les conséquences directes ou indirectes sont encore manifestes à l'heure actuelle (Diamond, 1997). La période historique voit grandir l'impact des activités anthropiques sur le monde environnant, mais l'influence du climat sur les sociétés se fait sentir au travers, par exemple, du prix des grains et des crises de famine récurrentes (Pfister, 1988 ; Bauernfeind et Woitek, 1999). De même, l'émergence et la propagation de la pandémie de Peste Noire du 14^e siècle seraient liées, outre aux guerres et aux nombreux échanges commerciaux, à un climat alors favorable à la bactérie responsable (plus chaud et plus humide) dans le foyer de l'épidémie, l'Asie Centrale (Stenseth *et al.*, 2006). Les mentalités sont également imprégnées par le contexte climatique comme le montre l'intensité de la chasse aux sorcières qui se développe proportionnellement aux péjorations climatiques liées au Petit Age Glaciaire (Behringer, 1999). La réponse adaptative fournie par les sociétés occidentales conduit aux révolutions industrielle et agraire de la fin du 18^e siècle, qui permettent un changement de l'usage des sols et des pratiques culturelles rendant les sociétés moins vulnérables aux chocs climatiques (Messerli *et al.*, 2000). Par exemple, dans les années 1889-1890, le climat défavorable aurait dû engendrer une hausse des prix considérable des denrées alimentaires, mais l'expansion des cultures de pomme de terre et le développement des transports modernes (chemins de fer) ont enrayé la crise et permis l'acheminement de vivres vers les régions touchées (Pfister, 1988). La situation actuelle apparaît donc particulière en ce sens que l'environnement est très largement façonné par les activités humaines, tandis que celles-ci, du fait de la surexploitation des milieux, se trouvent directement menacées (Messerli *et al.*, 2000).

Du fait de leurs activités qui impliquent d'importants déplacements de matière (intentionnels ou non) et une consommation d'énergie considérables, les humains sont devenus, au cours de l'Holocène, le premier agent géologique (Hooke, 2000). Ces effets ont incité Crutzen (2002) à proposer le nom d' "Anthropocène" pour la période de temps écoulée depuis la fin du 18^e siècle. Aujourd'hui, on estime à 40% la surface terrestre couverte de pâtures et cultures, tandis qu'en 40 ans l'utilisation des fertilisants aurait augmenté de 700% et les surfaces irriguées de 70% (Foley *et al.*, 2005). Les activités humaines représen-

teraient 1/3 de la production des écosystèmes terrestres, et 1/3 à 1/2 de la surface aurait été transformé par le développement humain (Vitousek *et al.*, 1997). L'impact net calculé serait une diminution de 6 cm de l'altitude globale des terres, ce qui correspond à un taux de dénudation annuel presque 10 fois plus important que celui observé au Pliocène (Wilkinson et McElroy, 2007). Ainsi, la perte par érosion de sols cultivables pourrait excéder d'un ordre de grandeur leur taux de formation (Wilkinson, 2005). A une échelle plus locale, l'impact à long terme d'anciennes activités humaines, bien que peu connu, commence à être estimé : la diversité et la composition floristique actuelle diffèrent entre d'anciennes terres agricoles et des forêts natives (Dupouey *et al.*, 2002 ; Fraterrigo *et al.*, 2009), et les changements d'usage influencent plus largement les propriétés des sols et leur qualité (Hurt et *al.*, 2006).

Synthèse de la section 1.3

Au cours de l'Holocène, l'évolution des sociétés humaines s'est effectuée sous la dépendance partielle des variations climatiques, qui ont pu jouer un rôle important dans la disparition de certaines d'entre elles. Dans un environnement initialement dominé par les facteurs naturels, les activités anthropiques ont progressivement exercé une influence croissante. Celle-ci s'est fortement renforcée depuis les révolutions agricole et industrielle de ces derniers siècles, pour aboutir aujourd'hui à un environnement profondément transformé et très largement influencé par les activités humaines.

Du fait de leur qualité généralement élevée, les sédiments lacustres se prêtent particulièrement bien à l'étude de l'évolution de leur milieu environnant. De surcroît, s'agissant de l'Holocène, étant donné l'attractivité des lacs pour les sociétés humaines, leurs dépôts constituent de véritables archives permettant d'étudier les interactions climats / environnements / sociétés. Différents indicateurs peuvent être étudiés à cet égard. Le présent travail s'appuie principalement sur les biomarqueurs moléculaires, dont les intérêts sont présentés dans le chapitre 4, ainsi que sur une étude sédimentologique qui fait l'objet du chapitre 6 (article carotte-maîtresse).

1.4 Les biomarqueurs moléculaires

Les biomarqueurs sont définis comme des "*composés organiques pouvant être utilisés pour tracer les processus géologiques et environnementaux*" (Simoneit, 2005). Sous cette appellation sont regroupées différentes catégories de composés, dont les lipides constituent une part importante (Meyers et Teranes, 2002). Autrement appelés "fossiles chimiques" (Eglinton et Calvin, 1967), ces molécules se caractérisent par leur source biologique avérée, et qui reste évidente lorsqu'ils sont détectés dans un substrat externe à l'organisme-source (sol, sédiment par exemple), même après une dégradation partielle (Meyers et Teranes, 2002). Les lipides s'avérant notablement résistants à la biodégradation (*e.g.* Cranwell, 1973 ; Meyers et Ishiwatari, 1993 ; Meyers et Teranes, 2002), ils s'avèrent être de bons candidats pour retracer l'histoire et les conditions de leur archivage dans le substrat dans lequel ils sont retrouvés. Les différentes transformations subies par les lipides durant leur archivage conduisent des "biolipides" (tels qu'ils sont synthétisés dans l'organisme vivant) à des "géolipides" (tels qu'ils sont retrouvés dans le substrat d'archivage). L'étude de ces composés s'est largement développée depuis les années 1950-1960, au cours desquelles ont été développés des outils analytiques tels que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM, ou GC-MS en anglais) qui permet de séparer, à l'échelle moléculaire, les composés issus d'une mixture complexe et d'accéder ainsi à leur identification (*e.g.* Evershed, 2008).

Les lipides préservés hors de leur organisme-source peuvent indiquer leur origine. Ainsi, aux composés linéaires ubiquistes (*e.g.* *n*-alcanes, *n*-alcools, acides *n*-alcanoïques), dont la distribution permet de distinguer les plantes vasculaires et non-vasculaires, s'opposent les composés cycliques dont la spécificité est plus marquée. Dans cette catégorie sont classés les triterpénoïdes qui, par le rôle important qu'ils semblent jouer dans les membranes cellulaires, sont présents dans tous les organismes vivants (Simoneit, 1986 ; Ourisson, 1990). Bien qu'ils soient sujets à dégradation (cf. Jacob 2003 pour un résumé des mécanismes de dégradation des triterpènes pentacycliques), les terpénoïdes conservent leur squelette de base lorsqu'ils sont altérés, laissant ainsi la possibilité de lever le voile sur leur origine (Simoneit, 1986, 2005 ; Peters & Moldowan, 1993, Otto et Wilde, 2001).

La spécificité d'un composé s'exprime par sa valeur taxonomique : plus il est spécifique, plus il permet d'apporter des informations en termes de classification. Selon Cronquist (1977), parmi les triterpénoïdes, les triterpènes pentacycliques obéiraient à la même logique évolutive que les métabolites secondaires répulsifs ou attractifs sécrétés par les plantes (tannins, iridioïdes, alcaloïdes, bétalaïnes, flavonoïdes, . . .), considérés comme étant les composés les plus indiqués pour des études chimiotaxonomiques (idée reprise par Mannheimer, 1998/1999 et Jacob, 2003).

Ainsi, la finesse d'information apportée par les lipides dépend de la famille de composés considérée.

1.4.1 Les biomarqueurs moléculaires des sols

Outre l'apport de renseignements sur leur origine (source), diverses études ont permis de mieux connaître le devenir des lipides, la manière dont ils s'incorporent au sol (*e.g.* van Bergen *et al.*, 1997 et 1998 ; Amblès *et al.*, 1993 et 1994 ; Jambu *et al.*, 1991 et 1993 ; Kögel-Knabner 2002 ; Otto et Simpson, 2005 ; Otto *et al.*, 2005 ; Trendel *et al.*, 2010 ; Koch *et al.*, 2010), ou encore de relier l'évolution spatiale de la concentration de certains composés à l'occupation du sol (Hjulström et Isaksson, 2009).

Mais malgré leurs indéniables intérêts (qui seront plus amplement détaillés dans la partie 5.3), les biomarqueurs lipidiques restent à ce jour assez peu utilisés pour l'étude des sols, car la nature dynamique de ces derniers (notamment à cause de la bioturbation) rend les études complexes (Nierop *et al.*, 2006). De ce fait, alors que les lipides sont plus largement étudiés dans les sédiments (*e.g.* Rieley *et al.*, 1991 ; Jacob *et al.*, 2004 ; Jacob *et al.*, 2008 ; voir parties 5.2 et 5.3), les études sur les sols portent plus généralement sur les fractions à haut poids moléculaire (lignine, humine). Le peu de données disponibles concernant les effets causés par le couvert végétal ou la déforestation à l'échelle moléculaire a cependant récemment suscité diverses études sur ce même sujet (*e.g.* van Bergen *et al.*, 1997 ; Nierop, 1998 ; Quenea *et al.*, 2004 ; Jandl *et al.*, 2005, 2007).

1.4.2 Les biomarqueurs moléculaires des sédiments lacustres

Par rapport aux sols, les dépôts lacustres sont une cible de choix pour l'étude des biomarqueurs lipidiques. En effet, tout en enregistrant au sein des archives sédimentaires une histoire à la fois susceptible d'être bien datée et souvent continue, les lacs représentent un écosystème simple comparé à des environnements marins : ils n'enregistrent qu'une histoire locale au travers des apports de sol érodé du bassin-versant, contrairement aux sédiments marins qui recueillent des apports terrestres provenant d'une plus vaste zone géographique, drainée par des fleuves (Cranwell, 1982). La qualité des archives sédimentaires lacustres est généralement plus élevée (voir chapitre 2). De plus, les lacs récents (holocènes) offrent la possibilité d'étudier des géolipides jeunes et relativement peu altérés (Meyers, 2003).

1.4.3 Applications des biomarqueurs moléculaires

Les intérêts et les applications des biomarqueurs sont nombreux, et touchent à des domaines variés (Killops et Killops, 2005 ; Simoneit, 2005).

Les premières utilisations des outils de géochimie organique ont été vouées à la recherche et la caractérisation des énergies fossiles. Développées dès le début du 20^e siècle, elles ont concerné l'étude des sources, de la maturité, des migrations et des indices d'altération du pétrole (*e.g.* Tissot et Welte, 1984; Peters et Moldowan, 1993), mais aussi l'étude des sources de charbon (Simoneit, 2005; Kvenvolden, 2008). Les utilisations de l'outil moléculaire se sont ensuite diversifiées dès les années 1960 (Kvenvolden, 2008).

Parmi ses applications les plus largement répandues, l'étude des biomarqueurs présents dans les archives sédimentaires peut servir à déterminer les organismes qui en sont à l'origine. L'étude de lipides linéaires dans les sédiments permet d'estimer la proportion des apports terrestres en comparaison des apports autochtones, à l'aide de marqueurs de végétaux supérieurs, de l'activité microbienne et algale. De plus, en déterminant des assemblages-types de différents environnements, il est possible d'accéder aux conditions paléoenvironnementales (Cranwell, 1981, 1982, 1984; Meyers, 2003; Simoneit, 2005).

Dans le registre fossile, les biomarqueurs sont également utilisés au travers de la biochimie évolutive ou encore de la paléochimiotaxonomie afin d'éclairer les relations entre différents taxons et les chemins parcourus par l'évolution (Maxwell *et al.*, 1971).

Ces études passent par la reconnaissance de biolipides qui n'ont pas encore été caractérisés, ainsi que d'intermédiaires dans la transformation de ces biolipides en géolipides, apportant des indications sur la diagenèse de la matière organique (Cranwell, 1982; Simoneit, 2005).

Les biomarqueurs, appuyés par des études isotopiques, aident à la reconstitution des paléoclimats. Ainsi, les alcénones s'avèrent être de bons marqueurs de température (*eg.* Brassel *et al.*, 1986; Bard *et al.*, 2000), tout comme le sont le rapport de lipides tétraéthers de membranes d'Archéobactéries (TEX₈₆) ou les isoprénoïdes hautement ramifiés ou HBIs. La salinité peut, quant à elle, être estimée à l'aide du δD (mesures isotopiques) et du $\%C_{37:4}$ sur les alcénones (abondance relative du C_{37:4} comparée à la somme de C_{37:2}, C_{37:3} et C_{37:4}) (Pancost et Boot, 2004; Sachs *et al.*, 2007; Eglinton et Eglinton, 2008).

La caractérisation de pollutions et contamination de l'eau, de l'air et du sol passent aussi par l'analyse de biomarqueurs, une fois de plus pour en tracer les sources mais également pour souligner les éventuelles réactions, le transport et le devenir des composés. Parmi ces contaminations, il est possible de tracer les apports anthropiques d'espèces chimiques organiques et synthétiques, dont 70 000 sont utilisées à ce jour et dont le nombre augmente d'environ 1000 par an (Simoneit, 1977, 2005).

Les biomarqueurs se voient aussi être l'objet de toutes les attentions dans les études archéologiques, de par la variété d'informations qu'ils peuvent apporter. Ils peuvent attester des pratiques agricoles passées ou délimiter des zones d'activités anthropiques (*e.g.* Jacob

et al., 2008 ; Hjulström et Isakkson, 2009), préciser les organismes responsables de contaminations fécales (Bull *et al.*, 2002) indiquer le contenu de poteries culinaires anciennes (Evershed, 2008 ; Evershed *et al.*, 2008), la composition des substances d'embaumement (*e.g.* Buckley *et al.*, 2004) ou de cosmétiques anciens (Evershed *et al.*, 2004). Les études isotopiques les complètent, en permettant la détermination des régimes alimentaires (Evershed, 2008).

Enfin, l'utilisation des biomarqueurs s'ouvre au domaine de la cosmochimie organique, notamment pour les travaux visant à détecter l'existence d'une forme de vie passée sur Mars (Simoneit, 2004) ou encore aux études judiciaires (Bull *et al.*, 2009).

1.4.4 Complémentarité de l'analyse des biomarqueurs et de la palynologie dans les études sédimentaires

L'étude de l'évolution des distributions polliniques au long de séquences sédimentaires est largement utilisée pour reconstituer les paléo-paysages végétaux ; leur portée et leur utilité sont indubitables. Cependant ces reconstitutions peuvent souffrir de différences entre la végétation effectivement présente sur le bassin-versant et la distribution pollinique qui en résulte dans les sédiments. Cela s'explique par les faits suivants (Faegri et Iversen, 1989 ; Andrieu *et al.*, 1997) :

- les capacités de dispersion différentes des grains de pollen, suivant le mode de dispersion : les plantes anémogames (dont le transport du pollen est assuré par le vent, comme par exemple les conifères) sont souvent sur-représentées, au détriment de plantes entomogames (transport assuré par les insectes),
- la situation géographique et climatique du site : suivant la force et la direction du vent, des grains de pollen allochtones peuvent être introduits et bien représentés dans le signal local, particulièrement si le site est sous climat aride (peu de végétation locale pouvant brouiller les arrivées externes),
- les divers remaniements pouvant avoir lieu à l'extérieur et l'intérieur du lac (apports de pollen allochtone plus ancien, mélange de pollen d'âge différent à la faveur de glissements sédimentaires),
- la sédimentation différentielle des grains de pollen dictée par leur taille et leur portance.

De plus, la détermination précise au niveau spécifique ou générique est parfois rendue difficile par la grande ressemblance des grains de pollens à l'intérieur d'une même famille, comme par exemple les Poacées.

Face à ces difficultés, les biomarqueurs lipidiques constituent au sein des sédiments lacustres un traceur paléoenvironnemental indépendant du pollen, qui peut y apporter des

informations complémentaires. La majeure partie des lipides terrestres arrive au sédiment par le biais d'un vecteur fluvial, garant de l'autochtonie (intra bassin-versant) du signal. Alors que l'étude de biomarqueurs non transformés apporte des indications sur les végétaux-source, l'évolution physico-chimique du milieu de dépôt des molécules peut également être appréhendée par l'analyse de leurs dérivés diagénétiques (Jacob, 2003). Du fait de leur rôle protecteur dans le monde vivant, la variété et l'abondance des lipides peut varier au sein d'une même espèce en fonction des conditions du biotope (altitude, microclimat, exposition, ...) (Schwark *et al.*, 2002). La connaissance des processus qui régissent cette variabilité peut ainsi permettre d'acquérir des informations sur la situation du milieu environnant la plante productrice.

Cependant, les études moléculaires souffrent du manque de biomarqueurs très spécifiques. Dès 1984, Cranwell soulignait les différences entre la distribution de triterpènes pentacycliques et les associations polliniques, qu'il attribuait à la fois aux phénomènes diagénétiques affectant de façon différentielle les triterpènes et au manque de connaissance de biomarqueurs très spécifiques. Cette dernière remarque reste aujourd'hui encore d'actualité et, comme le soulignaient van Aarsen *et al.* en 2000, peu d'études sont menées sur l'évolution temporelle des concentrations de marqueurs de végétaux supérieurs dans les sédiments. En effet, les travaux se sont jusque très récemment focalisés sur des familles de composés ubiquistes, dont la distribution permet de distinguer de grands pôles (distinction de la contribution terrestre et algaire par la longueur des chaînes aliphatiques, *e.g.* Cranwell, 1984 ; Meyers, 2003). L'identification de biomarqueurs spécifiques est à ce jour rare et restreinte à quelques groupes de végétaux. Ainsi, les PTME (méthyl-éthers de triterpènes pentacycliques) s'avèrent être caractéristiques des Poacées (Ohmoto *et al.*, 1970), et de récentes études réalisées au sein de cette famille moléculaire ont permis d'attribuer plus précisément à certaines molécules une plante source : la miliacine est caractéristique du millet cultivé (*Panicum miliaceum* L.) dans les sédiments du Lac du Bourget (Jacob *et al.*, 2005), tandis que la présence de crusgalline, cylindrine et un dérivé diagénétique de cette dernière a été mise en lien avec la culture de gazon de *Cynodon dactylon* et *Zoysia japonica* destinée à des stades de football et des parcours de golf au Nord-Est du Brésil (Zocatelli *et al.*, 2010). Les *iso-* et *anteiso-* monométhyl alcanes à longues chaînes se révèlent être principalement synthétisés par les Lamiacées (famille de plantes aromatiques, dont font partie la menthe, la lavande, le thym, la sauge et le romarin ; Huang *et al.*, 2011). Par ailleurs, les études basées sur les stérols et acides biliaires montrent la possibilité de distinguer les sources de pollution fécale (*e.g.* Elhmmali, 1998 ; Bull *et al.*, 2001 ; Jardé *et al.*, 2007). Tous ces travaux s'avèrent encourageants et montrent l'intérêt que présente la mise en évidence de nouveaux biomarqueurs moléculaires.

Synthèse de la section 1.4

Du fait de la dynamique complexe des sols, les lipides sont bien plus étudiés dans les séries sédimentaires que dans les sols. Pourtant, du fait de l'érosion, ces derniers sont des pourvoyeurs directs de marqueurs de végétation terrestre aux sédiments. Leur étude peut ainsi éclairer sur l'évolution temporelle du couvert végétal et des conditions environnementales du bassin. Cependant, malgré l'intérêt de telles reconstructions, peu de biomarqueurs très spécifiques sont connus à ce jour, entravant les possibilités de traçage d'usage de sols bien définis.

Dans cette optique, le travail présenté dans les chapitres suivants se propose de détecter dans les sols des biomarqueurs d'occupation actuelle des sols, puis de les rechercher ensuite dans le sédiment du réceptacle lacustre proche. Les composés linéaires, d'ores et déjà bien connus mais ubiquistes, peuvent-ils aider dans cette tâche ? Et qu'en est-il des composés cycliques, si peu explorés mais pourtant plus spécifiques ? En quelle mesure le cortège de biomarqueurs qu'on définira dans les sols sera-t-il conservé dans les sédiments ? Y détectera-t-on des biomarqueurs d'origine terrestre absents des sols ?

Chapitre 2

Site d'études

2.1 Localisation

Le lac d'Aydat (N45° 39' 40", E2° 58' 27") est situé à environ 25 km au Sud-Ouest de Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme), dans la partie Sud de la Chaîne des Puys (Massif Central) (Fig. 2.1). Situé à une altitude de 837 m, il s'étend sur $60,3 \cdot 10^4 \text{ m}^2$ et mesure en moyenne 1000 m de large. Son bassin-versant, qui appartient au bassin-versant de la Loire, s'étend sur une trentaine de km^2 et jusqu'à 1300 m d'altitude en sa partie Ouest, sur les communes de Saulzet-le-Froid à l'Ouest et Aydat à l'Est. D'une profondeur moyenne de 7 m et maximale de 15 m, le lac renferme environ $5,2 \cdot 10^6 \text{ m}^3$ d'eau. Celle-ci provient majoritairement de la rivière Veyre, qui naît de la confluence de la Narse et du Labadeau, à 4 km en amont du lac. La Veyre alimente le lac par le Sud-Ouest à hauteur de 75%, le dernier quart restant provenant de cours d'eau temporaires situés en bordure sud du lac et des précipitations. Ces dernières sont compensées par l'évaporation sur le lac (Bouchet, 1987). Au Nord-Est du lac, le cours inférieur de la Veyre constitue son principal exutoire (85%), tandis que 15% des eaux percolent au travers de la coulée basaltique qui le borde de ce côté (Bouchet, 1987).

2.2 Caractéristiques physiques et chimiques des eaux lacustres

Le rapport de la surface du bassin-versant sur la surface du lac avoisine les 50, ce qui indique que le fonctionnement du lac est notablement influencé par celui du bassin qui l'entourne (à propos de ce rapport, se reporter à la partie 1.2). Le temps moyen de résidence des eaux est de 7,5 mois (Michard *et al.*, 2001).

Le lac d'Aydat est typiquement eutrophe, et présente d'avril à octobre un hypolimnion anoxique. La stratification des eaux est maximale durant l'été, où l'oxyclyne se situe à 5 m

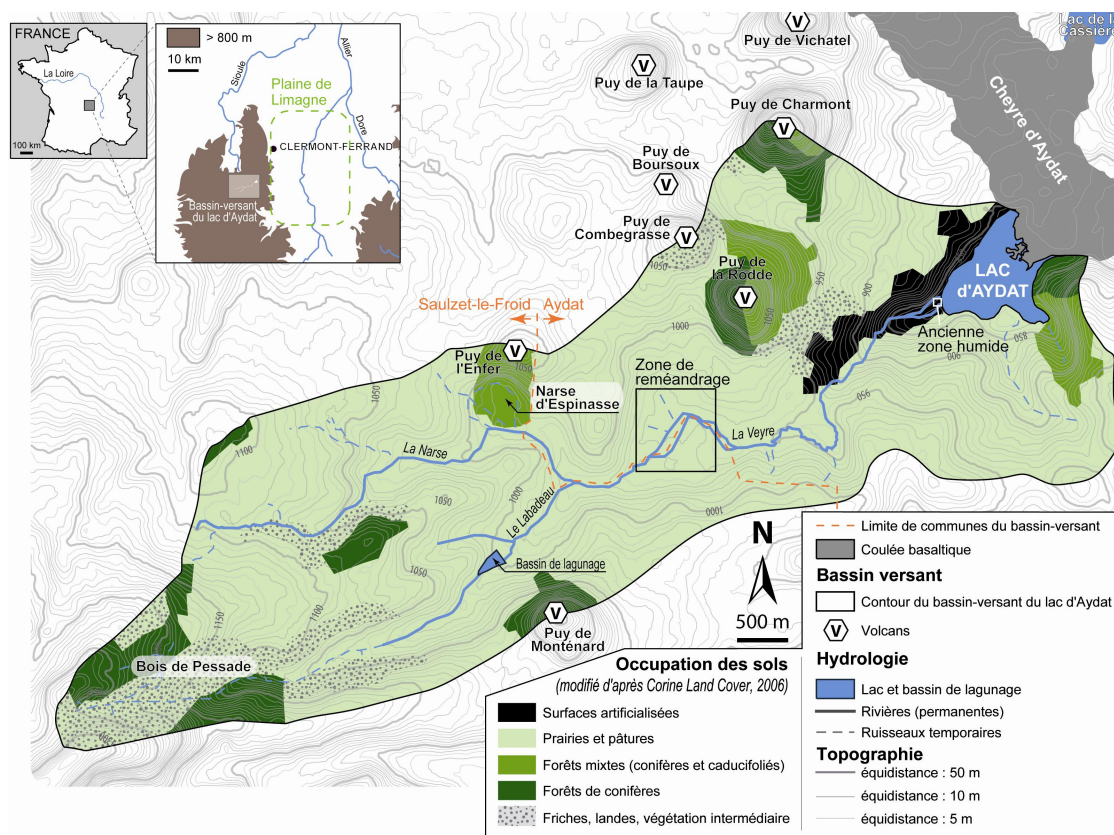


FIG. 2.1 – Localisation du bassin-versant du lac d'Aydat et des lieux et objets abordés au cours de ce travail. L'occupation des sols (d'après Corine Land Cover, 2006) est présentée aux côtés de l'hydrologie et de la topographie, ainsi que des limites des communes s'étendant sur le bassin-versant. Deux zones ayant fait l'objet de transformations durant le 20^e siècle sont encadrées (zone de reméandrage, ancienne zone humide).

de profondeur, tandis que la thermocline se développe entre 5 et 8 m sous la surface (Ogier, 1999). L'hypolimnion est le lieu d'une intense activité biologique et d'une minéralisation de la matière organique bien marquée. A la venue de l'hiver, la diminution des températures de surface conduit à un affaiblissement de la stratification, puis à un complet retournement des eaux du lac en novembre, ce qui entraîne une oxygénation complète de la colonne d'eau (Ogier, 1999).

Le fonctionnement du lac joue un rôle direct sur sa composition phytoplanctonique, qui varie en cours d'année. Le printemps est favorable aux diatomées, sur lesquelles les cyanobactéries prennent le pas durant l'été. Une diversification des espèces en présence se produit à l'automne, durant lequel les diatomées réapparaissent. En novembre, à la faveur du retournement du lac qui entraîne en enrichissement en éléments nutritifs, les diatomées reconquièrent les eaux (Amblard, 1992).

2.3 Origine et contexte géologique

Le lac d'Aydat est un lac de barrage, dont l'histoire a débuté il y a 8551 ± 400 cal. BP (Boivin, 2004). A cette date, une éruption des Puys de la Vache et de Lassolas a engendré la Cheire d'Aydat, une coulée basaltique qui s'étend sur environ 15 km de long. En barrant la vallée de la Veyre, cette coulée a donné naissance à deux lacs : le lac d'Aydat au Sud-Ouest, ainsi que celui de la Cassière en bordure Nord de la coulée, à environ 2 km du lac d'Aydat (Fig. 2.1).

D'un point de vue géologique, le lac se développe sur un socle plutonique (granodiorite) et métamorphique hercynien, recouvert en partie par des formations volcaniques tertiaires et quaternaires :

- formations volcaniques des Monts Dore à l'Ouest du bassin-versant (Mio-Pliocène) ;
- brèches pyroclastiques quaternaires entourant les appareils volcaniques ou « puys » à l'Est du bassin-versant, témoins du volcanisme de la Chaîne des Puys.

Des colluvions et alluvions récentes (tertiaires et quaternaires) se développent au long des cours d'eau (Boivin, 2004).

2.4 Occupation des sols actuelle du bassin-versant

Aujourd'hui, environ 70% de la surface du bassin-versant est couverte de prairies et pâtures. Sur les versants et sommets des volcans se développent des forêts (principalement de conifères, et généralement artificielles) pour 15% de la surface. Le reste se partage entre des territoires naturels (landes, broussailles, pelouses et pâturages naturels) et des terrains artificialisés, pour la plupart localisés à proximité du lac. Le récent développement du tourisme s'est accompagné de l'installation d'un centre nautique sur sa bordure Nord.

2.5 Les sols du bassin-versant

De manière générale, les sols se développant sur des roches volcaniques ont des caractéristiques uniques qui les distinguent nettement des sols formés sur d'autres matériaux parentaux (Coquillard, 1993). Par exemple, la pédogénèse des sols volcaniques est dominée par l'accumulation de carbone organique et par la formation de composés non-cristallins (tels que des silicates d'aluminium et de fer hydratés ou des complexes humus - Al/Fe) (Dahlgren *et al.*, 2004). Les sols du bassin-versant du lac d'Aydat, caractérisés par une altération biochimique dominante, sont des andosols (classification European Soil Bureau Network, 2005). Les andosols (du japonais "an", sombre, et "do", sol) sont des sols minéraux qui se forment sur une roche-mère volcanique hautement altérable. Peu différenciés,

ils se développent rapidement par érosion chimique en présence de matière organique (European Soil Bureau Network, 2005), sous un climat très humide à saison sèche peu marquée (Duchaufour, 2001 ; Quantin, 2004). Ils sont constitués par un horizon A (organo-minéral, ici un mull mésotrophe), surmontant un horizon C correspondant à la roche-mère altérée (Duchaufour, 2001). S'ils comprennent un horizon de surface sombre et bien structuré, à teneur en MO assez élevée, ils prennent alors le qualificatif de "umbrique". Le temps de résidence de la MO y est plus important que dans tous les autres types de sols, ce qui tend à acidifier le profil (Dahlgren et al., 2004 ; Duchaufour, 2001, Torn et al., 1997). Les sols volcaniques présentent généralement une fertilité élevée, comme en témoigne l'importance des régions agricoles situées au pied de volcans actifs ou endormis (Shoji et al. 1993). Cependant leur faible portance les rend particulièrement sensibles au labour, et leurs propriétés en font de bons sols de forêts et de prairie (Duchaufour, 2001).

Les profils de sols du bassin-versant du lac d'Aydat sont peu profonds (parfois < 10 cm, mais peuvent atteindre une trentaine de cm en fond de vallée) et bien drainés. Les matériaux parentaux de ces sols étant d'origine volcanique, on y mesure un taux de limons supérieur à 30% (Chambre d'Agriculture du Puy de Dôme, 2002). Ces derniers sont connus pour être un facteur aggravant les phénomènes de battance, et donc de ruissellement. Ces phénomènes sont toutefois atténués par la couverture végétale permanente ou quasi-permanente des sols, ainsi que par le taux élevé de matière organique (MO) (Belnap, 2003).

2.6 Contexte climatique

Le climat de l'Auvergne est depuis longtemps connu pour sa rudesse ; ainsi, Charbonnier (1980) indique que Fléchier, évêque et orateur du 17^e siècle, en parlait en ces termes : "*8 mois d'hiver, 12 mois d'enfer*". Le département du Puy-de-Dôme se caractérise en fait par une grande variabilité spatiale des paramètres climatiques, essentiellement dictée par son relief contrasté. La chaîne des Puys et les Monts Dore à l'Ouest, qui montrent des reliefs de plus de 1000 m et atteignent 1885 m au Puy de Sancy, contrastent fortement avec la plaine de Limagne à l'Est qui s'étend à moins de 400 m d'altitude. Du fait de leur orientation Nord-Sud, ces reliefs forment un barrage aux précipitations atlantiques. Cet effet de foehn se fait sentir jusque dans le Forez et se traduit par un climat très humide à l'Ouest du département (180 cm de précipitations annuelles au Puy de Sancy), ce qui tranche avec le climat sec et à tendance continentale observé à l'Est (59 cm de précipitations annuelles à Clermont-Ferrand) (Coquillard, 1993 ; Kessler et Chambraud, 1990). A l'échelle de l'Auvergne, des vents forts (> 58 km/h) sont enregistrés 38 jours par an en moyenne, et proviennent principalement du Sud et de l'Ouest (Coquillard, 1993).

Dans ce schéma régional le lac d'Aydat se trouve en situation intermédiaire puisqu'une

moyenne de 118 cm de précipitations annuelles est enregistrée à Saulzet-le-Froid, à l'Ouest du bassin-versant du lac (Kessler et Chambraud, 1990). Sous influence océanique, les précipitations sont globalement bien réparties au cours de l'année, avec des minima en mars-avril et juillet. Dans cette commune, les précipitations se font sous forme neigeuse 74 jours par an. Les températures qui avoisinent 0°C en moyenne en hiver (mais peuvent dépasser -15°C), contre 15°C en moyenne en été. Les jours de gel sont en moyenne au nombre de 135 (Coquillard, 1993).

2.7 Cadre (pré)historique de l'anthropisation et occupation ancienne des sols

L'activité volcanique de la Chaîne des Puys s'est poursuivie pendant les quelques millénaires qui ont suivi le Tardiglaciaire. La végétation naturelle, dont l'établissement était auparavant entravé par les phénomènes éruptifs, atteint un état stable il y a environ 6 000 ans et se caractérise dans tout l'étage montagnard par une chênaie, accompagné de tilleuls, frênes, et aulnes, dans le contexte climatique relativement chaud et humide de l'Atlantique (Michelin, 1996).

En plaine de Limagne (Fig. 2.1), une intensification de l'érosion indique des activités humaines dès 5500-5000 cal. BP, associée à des défrichements qui ouvrent des clairières cultivables au sein de bosquets de bouleaux et pins (Michelin, 1996 ; Macaire *et al.*, 2010). A cette époque, des peuplements humains s'installent sur le bassin-versant du lac d'Aydat, où ils pourraient avoir cultivé entre autres du blé noir (*Fagopyrum* ; Miras *et al.*, 2004). Ils dressent le menhir de Fohet ou "Pierre Longue", encore visible aujourd'hui à 1500 m au Sud du lac, qui constitue un témoignage de leur culture. Les pratiques de déforestation par brûlis y sont attestées à la fin du Néolithique.

Du fait de la présence de nombreux sites archéologiques, la Protohistoire est mieux documentée en Limagne que dans les massifs montagneux. En plaine, différentes phases de développement avec habitats agglomérés alternent avec des phases moins fastes. Le passage de l'Age du Bronze à l'Age du Fer s'effectue sur le fond d'une crise dont les causes restent inconnues (Mennessier-Jouannet et Milcent, 2003). A cette époque, aux environs d'Aydat, les déforestations s'intensifient et l'impact anthropique régional augmente (Miras *et al.*, 2004). Durant l'Age du Fer, l'effondrement des pollens d'arbres en Limagne indique un défrichement généralisé qui s'accompagne d'un paysage ouvert (céréales, plantes rudérales et adventices, légumineuses), cultivé et favorable à l'élevage, dont les indices attestent les capacités de stockage des denrées alimentaires (Michelin, 1996 ; Mennessier-Jouannet et Milcent, 2003).

A la fin du 2nd Age du Fer, le sapin est préférentiellement exploité aux abords du lac d'Aydat, entraînant la disparition de la forêt de bouleaux. La dynamique naturelle de la végétation y est définitivement interrompue durant la période gallo-romaine : la pratique de l'agriculture est généralisée, et l'impact anthropique maximal (Miras *et al.*, 2004). C'est à cette époque que l'espace agricole est structuré en parcelles. Au 5^e siècle, Sidoine Apollinaire (homme politique, évêque d'Auvergne et écrivain gallo-romain) décrit une Limagne cultivée, qui s'oppose aux montagnes pâturées (Apollinaire, 477). Les conditions y restent favorables jusqu'à l'époque médiévale, puisqu'aucune déprise ne semble s'être produite entre ces deux périodes (Michelin, 1996). Les traditions gallo-romaines persistent longtemps durant le Moyen-Age, mais une forte augmentation de la population et des défrichements, associée à des changements de modes d'exploitation et à un développement de l'insécurité conduit à un habitat plus concentré qu'auparavant et également réparti dans toute la Basse-Auvergne (ancienne province d'Auvergne regroupant approximativement l'actuel département du Puy-de-Dôme et la région de Brioude en Haute-Loire : le Brivadois) (Fournier, 1962). Contrairement à ce qui est connu par ailleurs dans la Chaîne des Puys, un déclin de l'agriculture s'enregistre dans le bassin-versant du lac d'Aydat entre le 8^e et le 9^e siècles (Miras *et al.*, 2004). L'habitat est ensuite stabilisé durant le 12^e siècle, tandis que l'alternance de cultures et jachères rythme l'espace agricole de façon continue. D'importants massifs boisés sont présents au 13^e siècle (Michelin, 1996).

La documentation est ensuite plus complète et permet de dresser plus finement le portrait des paysages auvergnats (Poitrineau, 1965 ; Charbonnier, 1980). Au 14^e siècle, l'occupation du sol est maximale, mais l'enclavement et le fonctionnement en autarcie de l'Auvergne y imposent alors un retard dans son évolution par rapport au reste de la France. Le pain, le vin et la viande constituent la nourriture populaire. Vers l'an 1500, les cultures céréalières sont dominées par le seigle et l'avoine, accompagnés du froment et de l'orge, ainsi qu'en moindre mesure du blé noir. Une moyenne de 1,3 kg de pain constitue la base de l'alimentation quotidienne d'un adulte. L'effet enrichissant des légumineuses (pois, fèves) pour le sol est alors inconnu, et de ce fait leur culture, bien que présente, n'y est pas particulièrement favorisée. Les pommes de terre ne seront cultivées qu'à partir de la fin du 18^e siècle. La culture du chanvre qui est pratiquée sur de petites parcelles aux abords de tous les villages, est destinée à la confection de textiles - fabriqués dans chaque village - et d'huile. L'élevage est principalement bovin, ceux-ci fournissant du lait (pour la production de fromage) et de la viande, mais également une force indispensable aux travaux des champs. Les moutons sont pourvoyeurs de viande, de laine et de peaux (fabrication de parchemins). De manière secondaire, les chevaux, chèvres, porcs et volailles font également partie du cheptel auvergnat. L'apiculture constitue la seule source de sucre au régime alimentaire. Partout, le bois est exploité pour le chauffage, mais ne subira une

utilisation "industrielle" qu'à partir de la fin de l'Ancien Régime. A cette époque, le village de Saint-Sauvés-d'Auvergne, à 20 km à l'Ouest-Sud-Ouest d'Aydat, comportait en surface 25% de prés, 25% de pâtures, 12% de terres labourables et 10% de bois. Dans la région, alors que la population était dense au début du 14^e siècle, elle s'effondre ensuite durant le cours de ce siècle suite aux effets conjugués de la Peste Noire et de la Guerre de Cent Ans, qui entraînent une mortalité élevée et un exode rural. L'occupation des sols recule alors, et certains villages sont désertés. La remise en valeur des sols, qui s'achève vers le milieu du 15^e siècle, s'accompagne d'une nouvelle hausse démographique ainsi que d'une réoccupation des habitats précédemment désertés.

Une fois de plus l'augmentation de la population rurale entraîne des défrichements de terres incultes et de forêts, mais plus les forêts suscitent d'avantage l'intérêt dès la fin du 16^e siècle (Georlette, 1957). Par suite, l'Ordonnance Royale de Colbert (1669) vise à freiner les défrichements sauvages et la surexploitation des forêts, causés par une augmentation globale des besoins (défrichements pour les cultures céréalières, développement d'industries papetières et maritimes nécessitant beaucoup de bois, ...). Cette ordonnance sera contrée en 1766 par une autre déclaration royale, qui encourage les défrichements en exemptant ces terres du paiement de la dîme (Poitrineau, 1965 ; Charbonnier, 1980).

Au 18^e siècle, de nombreuses disettes et épidémies ainsi qu'une surpopulation générale déclenchent un nouvel exode rural massif. Les pratiques agricoles restent sommaires. L'écobuage est pratique courante, mais l'absence d'apports de fumure épuise rapidement les terres qui doivent être abandonnées aux pelouses à genêts et bruyères après seulement deux campagnes agricoles. Ensuite, le retour du pacage est une étape nécessaire avant un nouvel écobuage. Le labour est également mis en œuvre, même en montagne. L'outillage est lui aussi archaïque : principalement en bois, il consiste en bèches, araires, et charrues, mais la herse et le rouleau restent encore inconnus en cette région, au 19^e siècle. A la fin du siècle, la révolution agricole et économique qui frappe le pays ne se fait pas sentir en Basse-Auvergne, probablement du fait de son isolement et de sa compartimentation (relief, hydrographie) (Poitrineau, 1965).

Selon le cadastre napoléonien de 1808 près de 60% de la surface du bassin-versant du lac d'Aydat sont alors voués à la culture ("terres labourables"), tandis que 30% se partagent équitablement entre prés et pâtures. Les forêts sont peu représentées. A titre d'exemple le Puy de Monténard, actuellement forêt de conifères, était à l'époque un terrain communal couvert de bruyères. Au 19^e siècle, Saulzet-le-Froid aurait été l'une des communes les plus déforestées de la région (Miras *et al.*, 2004).

Le Code forestier de 1827 (Brousse, 1827) stipule que les défrichements nécessitent une autorisation, et le pacage devient interdit en forêt. En 1860, la Loi d'Empire autorise le boisement de terres communes (jusqu'alors utilisées pour le pacage) contre l'avis des ha-

bitants. Ceci conduit ces derniers à l'exode, et les volcans et coulées autrefois surpâturés se couvrent de landes ou sont replantés (Michelin, 1996). Les graves inondations qui surviennent en France au cours du 19^e siècle (par exemple 1846, 1856 et 1866 pour la Loire) inspirent la politique de Restauration des Terrains en Montagne (RTM, lois de 1860 et 1882) qui se traduit en Auvergne par de grands travaux de reboisement pour lutter contre l'érosion et les inondations (Gadant, 1968).

Au 20^e siècle, la population diminue sous le choc de la Première Guerre Mondiale, ce qui réduit massivement la main-d'œuvre et mène à un enrichissement des pâturages collectifs dès 1920 (Michelin, 1996). L'exode rural fait aussi chuter drastiquement la population d'Aydat et de Saulzet-le-Froid (Fig. 2.2). Le reboisement du Massif Central, entamé durant le siècle précédent, est encouragé par la loi du 30 septembre 1946 instituant le Fonds Forestier National (Cochet, 1952).

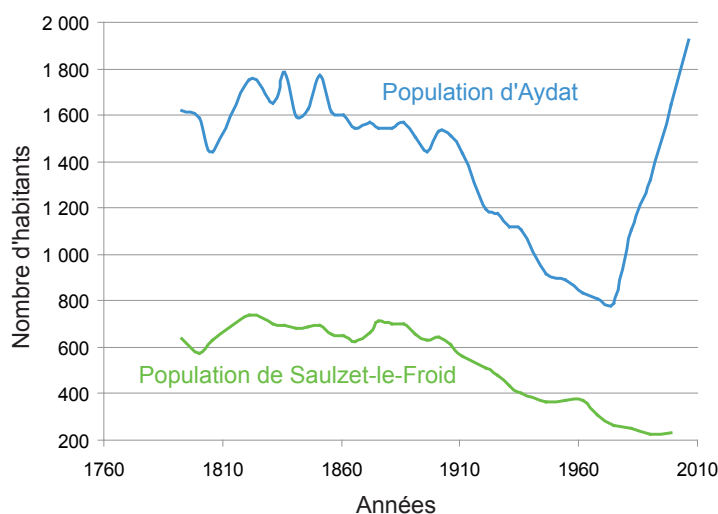


FIG. 2.2 – Evolution de la population des villages d'Aydat et de Saulzet-le-Froid depuis 1793. D'après École des hautes études en sciences sociales, 2011.

A la suite du Traité de Rome de 1957, l'instauration du Marché Commun incite la France à une plus grande compétitivité au niveau européen, ce qui passe par une meilleure exploitation de ses ressources. Dans ce contexte, le Plan Régional de Développement et d'Aménagement de l'Auvergne de 1961 se donne pour but de "*rompre l'isolement de la région et permettre à ses habitants de produire et de vivre au rythme du monde moderne*" (Journal Officiel, 1961). Les friches, landes et terres incultes couvrent alors 12% de la région auvergnate, tandis que le boisement est de 15%. Les habitants se livrent à une "économie de survie" sur des exploitations trop nombreuses, aux rendements médiocres, et aux terres peu ou pas amendées. Selon ce plan, le désenclavement de la région passe par l'abandon des cultures - ou du moins à leur limitation aux zones de plaines -, et au développement

de la production animale (viande, lait, fromage), du tourisme (thermalisme, volcans, lacs), et de l'exploitation forestière de résineux de valeur en montagne (bois d'œuvre et pâte à papier). La gestion intensive des prairies est recommandée, par l'ajout d'amendements et de fertilisants. Des opérations de remembrement sont planifiées, l'équipement matériel des exploitations agricoles est préconisé, et les voies rurales sont aménagées. Les photographies aériennes témoignent de l'évolution du parcellaire et de l'occupation qui ont suivi ce plan de développement (Fig. 2.3).



FIG. 2.3 – Evolution de l'occupation des sols entre 1946 (à gauche) et 2008 (à droite) autour du Puy de la Rodde, dans le bassin-versant du lac d'Aydat (voir Fig. 2.1 pour localisation). Photographies : IGN (1946) et Google Earth (2008).

Dans le bassin-versant du lac d'Aydat, ce plan de développement se traduit tout d'abord par un développement des activités touristiques, avec l'installation d'une base nautique en bordure du lac et d'une station de sports d'hiver (ski de fond, raquettes, chiens de traîneau) dans le Bois de Pessade (Ouest du bassin-versant ; Fig. 2.1), ce qui entraîne rapidement une augmentation significative de la population aydatoise (Fig. 2.2). Il se manifeste également par un remembrement de grande ampleur qui commence dans les années 1960, pour s'achever complètement une trentaine d'années plus tard. A cette occasion, un tronçon de 1000 m de la rivière Veyre est rectifié (Fig. 2.1) : ses nombreux méandres sont supprimés au profit d'un tracé plus rectiligne. 400 m de méandres sont ainsi supprimés (Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 2007), pour permettre une meilleure exploitation des parcelles (Fig. 2.4). Mais l'échec de cette opération, qui se traduit par la persistance des zones humides au niveau des anciens méandres, une perte de biodiversité et une diminution des capacités épuratrices naturelles du cours d'eau, a fait naître un nouveau projet de reméandrage qui devrait être finalisé dans les années à venir.

D'autres actions sont menées pour lutter contre l'eutrophisation du lac, qui est une menace directe pour le tourisme récemment développé sur ses bords. A l'embouchure de la Veyre, une ancienne zone humide pâturée puis abandonnée au milieu du 20e siècle (Fig. 2.1), puis remblayée à la fin des années 1970 pour installer un espace de loisirs, une aire de camping-cars et un parking, est désormais l'objet d'un projet de réhabilitation avec lagune de décantation et roselière (Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 2005).

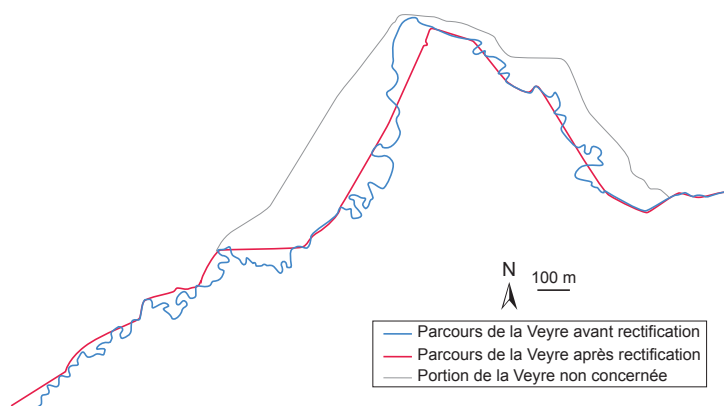


FIG. 2.4 – Travaux de rectification sur un tronçon du cours de la Veyre suite au remembrement (voir Fig. 2.1 pour la localisation). Le projet de reméandrage amorcé sur ce site prévoit un retour à la situation avant rectification. D'après Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 2007.

Ainsi, malgré son aspect qui peut paraître relativement naturel, le paysage auvergnat - et plus spécifiquement celui du bassin-versant du lac d'Aydat - a été sculpté par 5 millénaires d'activités anthropiques et reste en constante évolution. Après une occupation humaine discrète pendant quelques millénaires, les cultures vivrières et l'élevage ont progressivement occupé la totalité de l'espace, avec des phases de développement et de déclin à mettre en lien avec l'évolution du contexte socio-économique ou climatique. La compartimentation naturelle de la région, tout en permettant son fonctionnement en autarcie, a petit à petit entraîné son enclavement et un retard dans son évolution en comparaison avec d'autres régions françaises. Ce n'est que durant la seconde moitié du 20^e siècle qu'une politique de mise en valeur du territoire a engendré l'établissement des pâtures et des forêts qui confère cette apparence "naturelle" au paysage de la Chaîne des Puys. Le paysage actuel est l'héritage d'un passé agricole varié en constant changement (Michelin, 1996 ; Ballut *et al.*, 2011).

Synthèse de la section 2

Ainsi, le choix du site d'études est justifié par son contexte naturel et anthropique bien contraint. De nombreuses études antérieures ont élucidé le fonctionnement du lac d'Aydat. Son bassin-versant, situé en moyenne montagne et de taille moyenne, est soumis à un régime de précipitations d'origine atlantique, et alimente le lac d'un abondant flux terrigène et dissous. Le bassin-versant accueille depuis près de 6 000 ans des activités anthropiques longtemps tournées vers l'autosubsistance, auxquelles a succédé, depuis une soixantaine d'années, une gestion prairiale et forestière. Ce changement drastique s'est accompagné d'un développement des activités touristiques et de grands travaux ayant profondément affecté le bassin (remembrement, rectification du cours d'eau).

Le bassin-versant du lac d'Aydat apparaît ainsi comme une cible de choix pour étudier, du sol au sédiment, les biomarqueurs moléculaires d'occupation des sols. Par ailleurs, les sols conservent-ils des traces moléculaires d'usages passés ? Depuis quand les activités anthropiques ont-elles intensément transformé le bassin-versant ? En quelle mesure les changements d'usages des sols qu'a subis le bassin-versant s'archivent au cœur de la séquence sédimentaire ?

Deuxième partie

Sols

Chapitre 3

Inventaire de biomarqueurs lipidiques neutres de sols sous prairies et forêts ; bassin versant du lac d'Aydat (Puy de Dôme)

35 sols, représentatifs de deux occupations contrastées (prairies/pâtures et forêts, principalement de conifères) et des conditions différentes régnant sur le bassin-versant (pente, orientation), ont été échantillonnés dans le voisinage du lac d'Aydat afin de réaliser un inventaire exhaustif de leur contenu lipidique neutre, par chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse. Tous les sols subissant la même pédogenèse et bénéficiant des mêmes conditions climatiques, les différences majeures observées ne peuvent s'expliquer que par un couvert végétal différent. Globalement, les distributions des composés apparaissent typiques des plantes sources locales, c'est-à-dire des herbacées ou des conifères, sans dispersion spatiale significative autour de la zone productrice de ces composés. Des analyses globales de la matière organique ainsi que l'absence de composés aromatiques indiquent une bonne préservation du matériel organique, la transformation des produits biochimiques hérités étant limitée à la formation de cétones (à partir de triterpénols et de *n*-alcanes) et, dans les sols sous forêts, par l'hydrolyse complète des esters de cire. En dépit de différences dans leurs distributions (mode et/ou étendue) dépendant de la nature de la végétation sus-jacente, les familles de *n*-alkyles (*n*-alcanes, *n*-alcènes, *n*-alcools, *n*-alcanones, esters de cires, esters méthyliques d'acides gras naturellement méthylés) apparaissent ubiquistes. Leurs variations au sein même des plantes sources sont presque négligeable, et leur degré de dégradation relativement faible. Bien que ces composés soient généralement considérés comme de bons marqueurs de plantes terrestres, ils apportent peu d'informations supplémentaires. A l'inverse, deux familles de triterpénoïdes, à savoir, les méthoxyserratènes et les acétates de triterpényle, apparaissent comme étant respectivement des marqueurs spécifiques d'arbres et d'herbacées. S'y ajoutent les diterpénoïdes, marqueurs de conifères bien reconnus comme tels. Dans les prairies, les biomarqueurs spécifiques de plantes sont accompagnés par de notables proportions de marqueurs fécaux stéroïdiens qui y signent la contribution de l'élevage du bétail, seule activité agricole de la région depuis l'après Seconde Guerre Mondiale.

Du fait de leur intérêt et de leur potentiel paléoenvironnemental, les acétates de triterpényle ont fait l'objet d'un article spécifique (publié dans Organic Geochemistry), reproduit dans le chapitre suivant.

An inventory of neutral lipid biomarkers in soils under grassland and forest (Lake Aydat catchment, French Massif Central)

Marlène Lavrieux^{a,b}, Jean-Robert Disnar^b, Jérémy Jacob^b, Claude Le Milbeau^b, Renata Zocatelli^b, Jean-Gabriel Bréheret^a

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 CNRS/INSU, Université d'Orléans, Laboratoire de Géologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université François-Rabelais de Tours, Parc Grandmont, 37200 Tours, France.

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, UMR 6113 CNRS/INSU, Université François Rabelais de Tours, 1a rue de la Férollerie, 45071 Orléans Cedex 2, France.

Abstract

35 soils representative of two contrasted uses, namely grasslands and forests (mainly of conifers), were sampled in the catchment of Lake Aydat (French Massif Central) to realise a full inventory of their free neutral lipid content by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). Globally, compound distributions are typical of the local plant sources, *i.e.* either grasses or conifer trees, without any significant spatial dispersion. Bulk organic matter (OM) analyses and the absence of aromatic compounds reveals a good preservation of the organic material, the transformation of inherited biochemicals being limited to the formation of ketones (from triterpenols as well as from *n*-alkanes) and, in forest soils, by the complete hydrolysis of wax esters. Despite some differences in their distribution (mode and/or range) depending of the nature of the surrounding vegetation, *n*-alkyl compounds (*n*-alkanes, *n*-alkenes, *n*-alkanols, *n*-alkanones, wax esters, FAMEs), are ubiquitous. Their variations within plant source(s) or the degree of degradation in soils is almost negligible. Although these compounds are globally considered as good markers of terrestrial plant material, they provide poor additional information. In contrast, two triterpenoid families (namely methoxyserratenes and triterpenyl acetates) appear as specific markers of trees and grasses respectively, in addition to diterpenoids, which are well known markers of conifers. In grasslands, plant-specific biomarkers are accompanied by notable proportions of steroidal faecal markers that illustrate the contribution of cattle breeding that remained the almost exclusive farming activity in the area after 2nd world war.

Keywords: Soils, Biomarkers, Land-use, Grassland / Pasture, Conifer forest, French Massif Central.

3.1 Introduction

Lipids, which account for 1-5% of the soil organic matter (SOM), comprise numerous individual compounds assumed to constitute the most resistant biochemicals to biodegradation (Dinel *et al.*, 1990; Bull *et al.*, 1998; Marseille *et al.*, 1999). For these reasons, lipidic moieties have up to now been largely studied as tracers in sediments for approaching vegetation or climate changes, and are opening up to archaeological studies (*e.g.* Rieley *et al.*, 1991; van Bergen *et al.*, 1997; Jacob *et al.*, 2004; Vancampenhout *et al.*, 2008; Evershed, 2008; Hjulström and Isaksson, 2009). Previous studies on soil lipids mainly focussed on their origin, their fate and the way they incorporate soils (Amblès *et al.*, 1993; 1994; Jambu *et al.*, 1991; 1993; Kögel-Knabner, 2002; Otto and Simpson, 2005). But, up to now very few studies attempted to exhaustively inventory the soil lipid content (*e.g.* Almendros *et al.*, 1996; Otto *et al.*, 2005; Trendel *et al.*, 2010). This might be of crucial interest for characterizing more precisely terrestrial inputs in sedimentary records and/or for selecting the most suitable compounds to trace a given input or process. It has been shown that total lipid plant extracts provide an overwhelming contribution to the lipid fraction of the soils they cover (van Bergen *et al.*, 1997). This provides the basis for distinguishing different land uses depending on lipid assemblages in soils.

The present study aims at realising such an inventory of neutral lipids preserved in two types of soils showing a highly contrasted land use: grassland and forest (mainly of conifers). Diversely functionalised linear and cyclic compounds were screened in order to: (i) evaluate their potential use as general indicators of higher plants or as more specific tracers of local plants and (ii) appreciate their resistance to (partial) degradation through the search of diversely transformed derivatives.

3.2 Material and methods

3.2.1 Setting and sampling

A total of 35 soil monoliths, representative of the diversity of soil occupations and of different topographical conditions (orientation, slope), were taken in fall 2008 from the catchment of Lake Aydat (*ca.* 30 km²), located in the volcanic French Massif Central at 25 km SW of Clermont-Ferrand (Fig. 3.1). The altitude of the catchment ranges from 837 m (lake level) to *ca.* 1300 m a.s.l. (top of volcanoes). Forests (mainly *Picea* sp., sometimes with a few deciduous trees; mostly on top of volcanoes), and grasslands account for the major part of the agricultural landscape. Shrubs are also present in lesser abundance. Soils are slightly acidic, well drained and quite shallow (< 30 cm) andisols developed mostly on

basaltic substratum and on Quaternary alluvium along the Veyre River, the main tributary of Lake Aydat. A single sandy-silty A organo-mineral horizon is recognizable above the C horizon. Forest soils are covered by a thick moder-type humus.

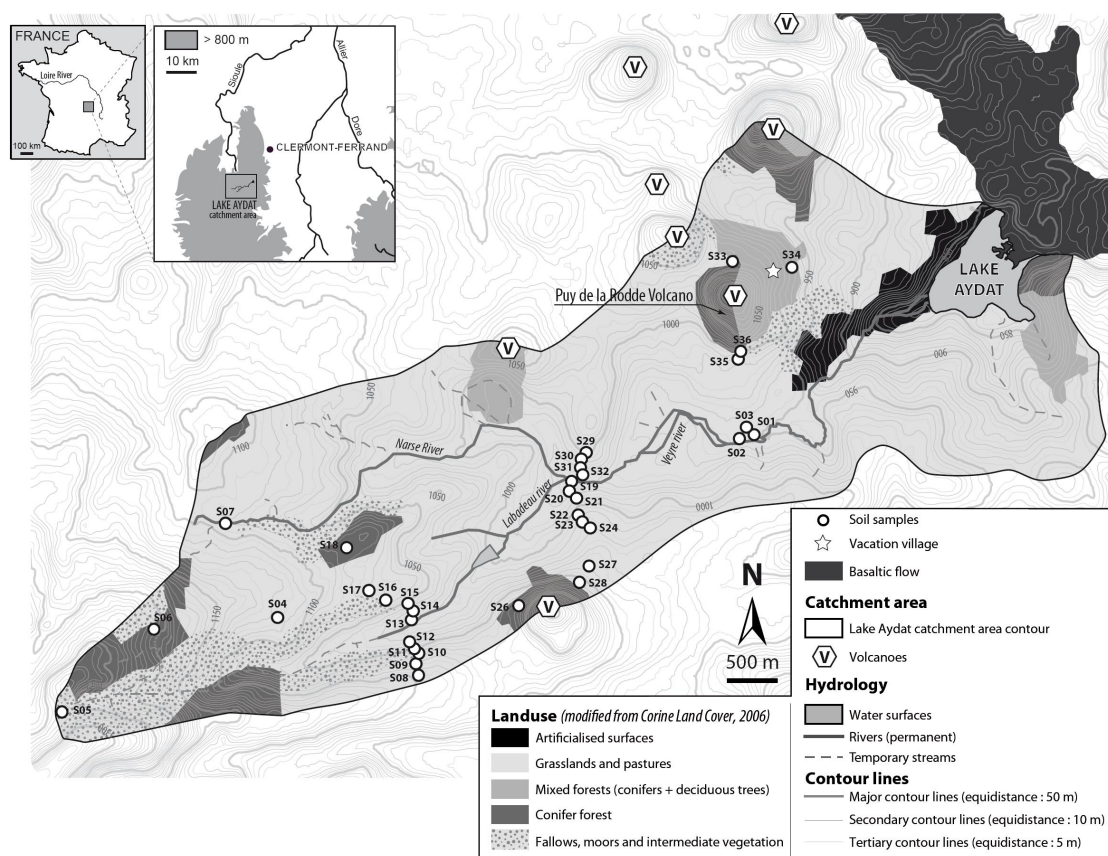


FIG. 3.1 – Location of the catchment of Lake Aydat; volcanic context, topographic map of the catchment, landuses and location of the sample sites.

Soil sections were numbered in the order they were sampled. Soils #6, #18, #26, #34, #36 are covered by forests, while #4, #8, #9, #10, #11, #13, #14, #15, #16, #17, #19, #20, #21, #22, #23, #24, #27, #29, #30, #31, #32, #35 correspond to grasslands/pastures; #1, #2, #3, #5, #7, #12, #28, #33 are covered by disturbed and/or intermediate vegetation and will not be discussed here. To avoid most plant remains and focus on inputs originating mainly from the present ecosystem (Ertlen *et al.*, 2010), we selected the 2-4 cm section of the organo-mineral horizon for analysis. The samples were dried in an oven at 40°C for 48 h, crushed in a mortar, and then sieved at 2 mm to remove roots and the biggest mineral particles. The < 2 mm fractions were analysed.

3.2.2 pH, granulometry and Rock-Eval analyses

The methodology and related results on soil pH, granulometry and Rock-Eval analysis data (Total Organic Carbon, Hydrogen Index and Oxygen Index values) were detailed in a previous study dealing with the free fatty acids of the same Lake Aydat catchment soils (Zocatelli *et al.*, submitted¹) and are thus not discussed further here.

3.2.3 Lipid extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis

An aliquot (*ca.* 2 g) of each sample was extracted with an Automatic Solvent Extractor (ASE 200, Dionex®) using a mixture of CH₂Cl₂:MeOH (1:1 v/v). After solvent evaporation under N₂, the extract was separated into neutral, acidic and polar compounds on aminopropyl-bonded silica as described by Jacob *et al.* (2005). The neutral fraction was further separated into aliphatics, aromatics, ethers and esters, ketones and acetates, and alcohols by flash chromatography on a Pasteur pipette filled with activated silica (24 h at 120 °C, then deactivated with 5% H₂O) and using a sequence of solvents of increasing polarity. The alcohol fraction was trimethylsilylated before injection by reaction with N,O-bis-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) containing 1% trimethylchlorosilane and pyridine for approximately 1 h at 60°C. 5 α -cholestane, which was used as internal standard (IS), was added in all fractions, prior to analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with a TRACE-GCQ Polaris. The GC instrument was fitted with a Rtx-5MS column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness; 5m of column guard). The GC operating conditions were: 40 °C (1 min) to 120 °C at 30 °C min⁻¹, then from 120° to 300 °C (held 30 min) at 5 °C min⁻¹. Samples were injected in splitless mode, with the injector temperature set at 280 °C. He was the carrier gas at a constant flow of 1 ml.min⁻¹. The mass spectrometer was operated in the electron ionization (EI) mode at 70 eV and scanned from m/z 50 to 600. Component identification was based on comparison with authentic standards and/or literature data (Table 1).

¹Annexe 2

Chapitre 3 : Inventaire de biomarqueurs lipidiques neutres de sols sous prairies et forêts; bassin versant du lac d'Aydat (Puy de Dôme)

TAB. 3.1 – Compounds identified in the soil samples. Fractions: aliph = aliphatics; eth & est = ethers and esters; k & a = ketones and acetates; alc = alcohols. TMS = trimethylsilylated. Refer to the next table for the detailed distribution in grassland and forest soils. Symbols used in the next figures are precised.

Fract.	No.	RT (min)	Group or Compound Name	TMS	MW (non TMS)	Formula	m/z
	IS	36.17	5 α -cholestane (STANDARD)		372	C ₂₇ H ₄₈	217, 357
aliph	○	12.31-45.51	n-Alkanes C ₁₅ -C ₃₅		212-492	C _n H _{2n+2}	57, 71, 85
aliph	○	12.31-45.51	n-Alkenes C ₁₅ -C ₃₅		210-490	C _n H _{2n}	55, 69, 83, 97
k & a	+	16.70-51.95	n-Alkan-2-ones C ₁₅ -C ₃₅		226-506	C _n H _{2n} O	67, 81, 95
k & a	*	38.98	Mid-chain ketones = alkan-10-ones C ₂₉ = 10-Nonacosanone		422	C ₂₉ H ₅₈ O	155, 295
alc	■	19.63-60.15	n-Alkanols C ₁₅ -C ₃₆	✓	(242-536)	C _n H _{2n} O ₂	97, 111
			Wax esters = alkyl esters				
	we1	39.97			452		229, 243, 257
	we2	40.79			466		229, 243, 257
	we3	41.3			480		229, 243, 257
	we4	41.7			480		229, 243, 257
	we5	42.3	U		480		229, 243, 257
	we6	42.96	n		480		229, 243, 257
eth	we7	43.64	i		494		229, 243, 257
	we8	44.07	d		494		229, 243, 257
	we9	44.82	e		494		229, 243, 257
	we10	45.33	n		508		229, 243, 257
	we11	46.19	t		508		229, 243, 257
	we12	47.11	i		508		229, 243, 257
	we13	48.09	e		522		229, 243, 257
	we14	48.72	d		522		229, 243, 257
	we15	53.07			536		229, 243, 257
	we16	61.88			564		229, 243, 257
	we17	62.78			564		229, 243, 257
			Fatty Acids Methyl Esters (FAMES)				
k & a	◇	16.87-46.44	C _{14:0} -C _{33:0}		242-508	C _n H _{2n} O ₂	74, 143
	iC15:0	18.16	FAME <i>iso</i> -C _{15:0}		270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	74, 143
	aiC15:0	18.33	FAME <i>ante iso</i> -C _{15:0}		270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	74, 143
	iC17:0	21.73	FAME <i>iso</i> -C _{17:0}		298	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	74, 143
			Tricyclic Diterpenes				
aliph	DT1	21.16	Norabietadiene isomer?		258	C ₁₉ H ₃₀	243, 258
	DT2	21.31	Abietadiene isomer?		272	C ₂₀ H ₃₂	257, 149, 272
	DT3	21.62	Abietadiene isomer?		272	C ₂₀ H ₃₂	257, 202, 272
	DT4	21.73	Norabietadiene isomer?		258	C ₁₉ H ₃₀	243, 257, 229
	DT5	21.97	Abietadiene isomer?		272	C ₂₀ H ₃₂	257, 202, 272, 244
	DT6	22.15	Norabietadiene isomer?		258	C ₁₉ H ₃₀	243, 258
	DT7	22.26	19(18)-Norabieta- 8,11,13-triene isomer?		256	C ₁₉ H ₂₈	159, 241, 256
	DT8	22.54	Abietadiene isomer?		272	C ₂₀ H ₃₂	187, 257, 272
	DT9	22.67	18(19)-Norabieta-4(19),8,11,13-tetraene		256	C ₁₉ H ₂₆	197, 239, 254
	DT10	22.95	19(18)-Norabieta- 8,11,13-triene isomer?		256	C ₁₉ H ₂₈	159, 241, 185
	DT11	23.68	Dehydroabietane		270	C ₂₀ H ₃₀	159, 173, 255
			Oxygenated tricyclic diterpenes				
	ox1	26.16	Unidentified		284		254, 284, 239, 213, 271
	ox2	26.5	Abieta-8,11,13-trien-7-one		284	C ₂₀ H ₂₈ O	269, 284, 270
	ox3	26.64	Unidentified		286		245, 189, 271, 286
	ox4	26.94	Unidentified		288?		254, 203, 218, 257, 271
	ox5	27.23	Unidentified		284		269, 284, 213, 185, 241
	ox6	27.3	Unidentified		300		243, 285, 215, 189, 173, 300
	ox7	27.67	Unidentified		286		271, 189, 175, 201, 286
	ox8	27.84	Unidentified		284		173, 159, 255
	ox9	27.97	Unidentified		284		269, 227, 199, 187, 284
	ox10	28.07	Unidentified		286		189, 175, 271, 286
	ox11	28.23	Unidentified		282		267, 225, 282
	ox12	28.31	Dehydroferruginol		284	C ₂₀ H ₂₈ O	202, 213, 284, 267
	ox13	28.42	Unidentified		284		213, 284, 189, 269
	ox14	28.6	Unidentified		314		239, 299, 314
	ox15	28.99	Unidentified		300		215, 257
	ox16	29.04	Unidentified		300		284, 213, 285, 269, 300
	ox17	29.33	Unidentified		314		285, 203, 189
	ox18	30.15	12-hydroxysimonellite		268	C ₁₉ H ₂₄ O	253, 211, 268
			Tocopherol				
k & a	x1	39.78	Tocopherol		430	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	165, 430
	x2	40.5	Tocopheryl acetate		472	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	165, 430, 472

Chapitre 3 : Inventaire de biomarqueurs lipidiques neutres de sols sous prairies et forêts ; bassin versant du lac d'Aydat (Puy de Dôme)

		Steroids				
k & a	st1	39.74	Coprostanone = 5 β (H)-cholestan-3-one	386	C ₂₇ H ₄₆ O	161, 231, 316, 371
	st2	40.46	Cholestanone = 5 α (H)-cholestan-3-one	386	C ₂₇ H ₄₆ O	217, 231, 371, 386
	st3	41.07	Cholesta-3,5-dien-7-one	382	C ₂₇ H ₄₂ O	174, 269, 382
	st4	41.27	24-methylcoprostanone = 24-methyl-5 β (H)-cholestan-3-one	400	C ₂₈ H ₄₈ O	161, 231, 330, 385
	st5	42.05	Campestanone = 24-methylcholestan-3-one	400	C ₂₈ H ₄₈ O	217, 231, 232, 400
	st6	42.7	24-ethylcoprostanone = 24-ethyl-5 β (H)-cholestan-3-one	414	C ₂₉ H ₅₀ O	344, 231, 213, 414
	st7	43.72	Sitostanone = 24-ethylcholestan-3-one	414	C ₂₉ H ₅₀ O	231, 217, 232, 213, 414
	st8	44.42	24-ethylcholesta-3,5-dien-7-one	410	C ₂₉ H ₄₆ O	174, 395
	st9	45.33	Sitosterone = 24-ethylcholest-4-en-3-one	412	C ₂₉ H ₄₈ O	124, 229, 397
alc	st10	41.65	Cholest-4-en-3-one	384	C ₂₇ H ₄₄ O	124, 229, 369
	st11	43.54	24-methylcholest-4-en-3-one	398	C ₂₈ H ₄₆ O	124, 229, 383
alc	st12	38.88	Coprostanol = 5 β (H)-cholestan-3 β -ol	✓ 460 (388)	C ₂₇ H ₄₈ O	215, 257, 355, 370, 422
	st13	38.96	Epi-coprostanol = 5 β (H)-cholestan-3 α -ol	✓ 460 (388)	C ₂₇ H ₄₈ O	215, 257, 355, 370, 422
	st14	40.06	Cholesterol = Cholest-5-en-3 β -ol	✓ 458 (386)	C ₂₇ H ₄₆ O	368, 353, 329, 255, 458
	st15	40.26	Cholestanol = 5 α (H)-cholestan-3 β -ol	✓ 460 (388)	C ₂₇ H ₄₈ O	215, 355, 455, 460
	st16	40.27	Methyl-coprostanol = 24methyl-5 β (H)-cholestan-3 β -ol	✓ 474 (402)	C ₂₈ H ₅₀ O	215, 355, 455, 460
	st17	40.7	Unidentified sterol	✓ 486 (414)		255, 381, 365, 369, 253, 213
	st18	40.79	Unidentified sterol	✓ 486 (414)		145, 255, 357, 396, 486
	st19	41.48	Ethyl-coprostanol = 24-ethyl-5 β (H)-cholestan-3 β -ol	✓ 488 (416)	C ₂₉ H ₅₂ O	215, 257, 383, 398, 488
	st20	41.52	Epi-ethyl-coprostanol = 24-ethyl-5 β (H)-cholestan-3 α -ol	✓ 486 (414)	C ₂₉ H ₅₂ O	215, 257, 383, 398, 488
	st21	41.63	Campesterol = 24-methylcholest-5-en-3 β -ol	✓ 472 (400)	C ₂₈ H ₄₈ O	382, 343, 255, 472, 213, 367
	st22	41.8	Campestanol = 24-methyl-5 α (H)-cholestan-3 β -ol	✓ 474 (402)	C ₂₈ H ₅₀ O	215, 369, 384, 459, 474
	st23	42.15	Stigmasterol = 24-ethylcholesta-3,22-dien-3 β -ol	✓ 484 (412)	C ₂₉ H ₄₈ O	255, 394, 484, 379, 552, 213
	st24	43.05	β -Sitosterol = 24-ethyl-cholest-5-en-3 β -ol	✓ 486 (414)	C ₂₉ H ₅₀ O	396, 357, 381, 255, 486, 213
	st25	43.25	Sitostanol = Stigmastanol = 24-ethyl-5 α (H)-cholestan-3 β -ol	✓ 488 (416)	C ₂₉ H ₅₂ O	215, 257, 383, 398, 488
st26	43.29	Epi-sitostanol = Epi-stigmastanol = 24-ethyl-5 α (H)-cholestan-3 α -ol	✓ 488 (416)	C ₂₉ H ₅₂ O	215, 257, 383, 398, 488	
		Triterpenoids				
		HOPANOIDS				
aliph	h1	37.71	17 β -trisnorhopane	370	C ₂₇ H ₄₆	149, 191
	h2	37.85	Unidentified	410		191, 395
	h3	38.99	17 α , 21 β -norhopane	398	C ₂₉ H ₅₀	191, 205, 177
	h4	39.64	17 β -21 α -norhopane	398	C ₂₉ H ₅₀	177, 191, 205
	h5	40.08	17 α , 21 β -hopane	412	C ₃₀ H ₅₂	177, 191, 163
	h6	40.54	Unidentified	410		191, 189
	h7	41.55	17 α , 21 β -homohopane	426	C ₃₁ H ₅₄	191, 205, 149
	h8	42.72	Hop-22(29)-ene = diploptene	410	C ₃₀ H ₅₀	189, 191, 204
	h9	43.71	Unidentified	424		189, 203, 218
		FERNENES = D:C friedo-triterpenes				
aliph	fer1	40.24	Unidentified	410	C ₃₀ H ₅₀	243, 257, 355
	fer2	40.63	Unidentified	410	C ₃₀ H ₅₀	243, 257, 395
	fer3	40.73	Unidentified	410	C ₃₀ H ₅₀	243, 257, 395
	fer4	41.59	Unidentified	410	C ₃₀ H ₅₀	243, 257, 395
		TRITERPENYL ACETATES				
k & a	ta1	44.9	δ -amyrin acetate (Olean-13(18)-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	204, 189, 269, 218, 329, 344, 393, 453, 468
	ta2	45.15	Taraxeryl acetate (Tarax-14-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	203, 218, 189, 257, 323, 393, 408, 453, 468
	ta3	45.28	β -amyrin acetate (Olean-12-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	189, 205, 218, 204, 203
	ta4	45.58	Isobauerenyl acetate (Bauer-8-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	229, 289, 241, 257, 341, 393, 409
	ta5	46.23	Glutinylnyl acetate (Glutin-5-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	259, 274, 393, 408, 453, 468
	ta6	46.25	α -amyrin acetate (Urs-12-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	218, 189, 203, 257, 393, 408, 468, 453
	ta7	46.28	Lupeyl acetate (Lup-20(29)-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	189, 204, 218, 297, 355, 453, 468, 393
	ta8	47.62	Multiflorenyl acetate (Multiflor-7-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	205, 229, 241, 301, 262, 289
	ta9	48.08	Bauerenyl acetate (Bauer-7-en-3 β -yle acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	229, 289, 241, 393, 453, 468
	ta10	48.44	ψ -taraxasteryl acetate (Taraxast-20(30)-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	189, 204, 249, 408, 468, 393
	ta11	48.70	Taraxasteryl acetate (Taraxast-20-en-3 β -yl acetate)	468	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	189, 218, 204, 232, 249, 408, 262, 468

Chapitre 3 : Inventaire de biomarqueurs lipidiques neutres de sols sous prairies et forêts; bassin versant du lac d'Aydat (Puy de Dôme)

		METHOXSERRATENES				
k & a	ms1	44.6	3 α -methoxyserrat-13-en-21-one?	454	C ₃₁ H ₅₀ O ₂	203, 407, 189, 422, 439, 423, 440
	ms2	50.44	3 α ,21 β -dimethoxyserrat-14-ene?	470	C ₃₂ H ₅₄ O ₂	189, 221, 269, 284, 316, 391, 423, 438, 455
	ms3	51.2	21 β -methoxyserrat-14-en-3-one?	454	C ₃₁ H ₅₀ O ₂	189, 300, 285, 407, 422, 439
	ms4	52.6	3 α -methoxyserrat-14-en-21-one?	454	C ₃₁ H ₅₀ O ₂	189, 203, 221, 284, 316, 407, 422, 439
	ms5	52.96	21 α -methoxyserrat-14-en-3-one?	454	C ₃₁ H ₅₀ O ₂	407, 422, 439, 454
	ms6	57.37	3 β -methoxyserrat-14-en-21-yle acetate?	498	C ₃₃ H ₅₄ O ₃	189, 203, 221, 187, 423, 438, 483
alc	ms7	43.75	21 α -methoxyserrat-14-en-3 α -ol?	✓ 528 (456)	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	189, 279, 406, 348
	ms8	47.94	3 α -methoxyserrat-14-en-21 β -ol	✓ 528 (456)	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	189, 205, 221, 423, 438
		48.93	3 β -methoxyserrat-14-en-21 β -ol	✓ 528 (456)	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	189, 205, 221, 423, 438
		53.57	3 β -methoxyserrat-14-en-21 α -ol?	✓ 528 (456)	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	189, 496, 221, 284, 438
		60.55	15-keto-21 α -methoxyserrat-13-en-3-one?	468	C ₃₁ H ₄₈ O ₃	189, 203, 287, 315, 407, 439
		VARIOUS				
eth & est	t1	38.61	Unidentified triterpenoid	408		203, 218, 189, 119, 252, 299
	t2	38.67	Unidentified triterpenoid	408		189, 255, 394, 393, 408
	t3	38.81	Unidentified Δ_2 -triterpene	408		203, 189, 119, 218, 161, 133, 204
	t4	39.18	Unidentified Δ_2 -triterpene	408		189, 218, 119, 133, 147, 203, 299, 281, 394, 408, 393
	t5	39.35	Unidentified triterpenoid	408		218, 119, 189, 203, 133, 147, 161
	t6	39.55	Unidentified Δ_2 -triterpene	408		189, 119, 105, 147, 161, 133, 203, 175, 297, 393, 408, 218
	t7	40.16	Unidentified triterpenoid	434		434, 229, 189, 209, 203, 175, 225, 218
	t8	40.64	Unidentified triterpenoid	434		434, 435, 239, 203
	t9	38.61	Unidentified Δ_2 -triterpene	408		189, 218, 119, 175, 147, 203, 133, 161
k & a	t10	42.61	Taraxerone	424	C ₃₀ H ₄₈ O	189, 285, 300, 424
	t11	42.98	β -amyrenone (olean-12-en-3-one)	424	C ₃₀ H ₄₈ O	203, 218, 189, 175, 257, 313
	t12	43.11	Olean-18-en-3-one	424	C ₃₀ H ₄₈ O	189, 177, 205, 161, 409
	t13	43.81	α -amyrenone (urs-12-en-3-one)	424	C ₃₀ H ₄₈ O	218, 189, 203, 147, 161, 175, 424
t14	47.38	Friedelin (friedelan-12-en-3-one)	426	C ₃₀ H ₅₀ O	163, 231, 273, 302, 341	
alc	t15	42.96	Taraxerol	✓ 498 (426)	C ₃₀ H ₅₀ O	189, 204, 218, 269, 359, 284, 393
	t16	43.34	β -amyrin	✓ 498 (426)	C ₃₀ H ₅₀ O	203, 218, 189, 147, 175
	t17	44.03	α -amyrin	✓ 498 (426)	C ₃₀ H ₅₀ O	189, 218, 147, 203, 161
	t18	44.22	Unidentified triterpenol	✓ 498 (426)		189, 203, 204, 147, 161, 218
	t19	45.57	Unidentified triterpenol	✓ 541 (468)		379, 407, 422
	t20	45.85	Baurenol	✓ 498 (408)	C ₃₀ H ₅₀ O	189, 229, 393
	t21	45.94	Unidentified - triterpenol having lost TMS?	✓ 456		395, 410, 546
	t22	46.77	D:C friedo triterpenol	✓ 498 (408)		229, 241, 319, 393
	t23	47.7	Unidentified triterpenol	✓ 514 (424)		189, 205, 190, 409, 424
	t24	47.82	Unidentified triterpenol	✓ 514 (424)		189, 205, 190, 279, 273, 424
	t25	50.33	Unidentified - triterpenol having lost TMS?	✓ 456		203, 205, 423, 438
	t26	40.5	Unidentified - triterpenol having lost TMS?	✓ 456		203, 205, 423, 438

3.3 Results and discussion

Given the number of soils studied, of analysed fractions, and the very high similarities in compounds distribution in soils having the same land use, only a few representative samples are illustrated here. The following discussion concerns soils that have kept the same land use, at least during the last 60 years. It must also be underlined that a high variability in individual compound quantities were observed, even in two neighbouring soils with the same apparent settings (vegetation cover, slope, orientation ...). These differences, which might be explained by a small scale variability of the vegetal cover, will not be discussed here. The list of the compounds and their occurrence and main characteristics in grassland vs. forest soils are recorded in Tables 1 and 2.

TAB. 3.2 – Distribution of the compounds in grassland and forest soils.

Group or Compound Name / Characteristic	Grasslands	Forests
<i>n</i>-Alkanes and <i>n</i>-alkenes		
Distribution	Odd > even, unimodal	Odd > even, unimodal
C_{max}	<i>n</i> -C ₃₁	<i>n</i> -C ₂₉
<i>n</i>-Alkan-2-ones		
Distribution	Odd > even, unimodal	Odd > even, unimodal
C_{max}	<i>n</i> -C ₃₁	<i>n</i> -C ₂₉
Mid-chain ketones = alkan-10-ones		
	present	present
<i>n</i>-Alkanols		
Distribution	Even > odd, unimodal	Even > odd, unimodal
C_{max}	<i>n</i> -C ₂₆ (+ <i>n</i> -C ₂₈)	<i>n</i> -C ₂₆ or <i>n</i> -C ₂₈
Wax esters = alkyl esters		
Distribution	up to 15 detectable (min. 6)	absent
Fatty Acids Methyl Esters (FAMES)		
Distribution	Even > odd, bimodal, C _{20:0+} > C _{20:0-}	Even > odd, bimodal, C _{20:0+} > C _{20:0-}
C_{max}	<i>n</i> -C _{16:0} + <i>n</i> -C _{24:0} or <i>n</i> -C _{26:0}	<i>n</i> -C _{16:0} + <i>n</i> -C _{24:0} or <i>n</i> -C _{26:0}
$(iC_{15:0} + aiC_{15:0})/C_{15:0}$	3.3 - 7.5	< 2
Tricyclic Diterpenes		
Occurrence	absent	11 present
Oxygenated tricyclic diterpenes		
Occurrence	absent	17 present
Steroids		
<u><i>coprostanol</i> + <i>epicoprostanol</i> + <i>stigmastanol</i> + <i>epistigmastanol</i> + <i>campestanol</i></u> <i>campesterol</i> + <i>sitosterol</i> + <i>cholesterol</i>	0.037 - 0.592	0.002 - 0.017
Triterpenoids		
Hopanoids	present	present
Ferrenes = D:C friedo-triterpenes	present	present
Triterpenyl acetates	numerous (10-14)	absent
Methoxyserratenes	absent	present

3.3.1 Characterisation of soil samples

A previous study on Lake Aydat catchment soils (Zocatelli *et al.*, submitted²) has revealed the good preservation of the organic matter (OM), indicated by the richness of soils in TOC (5.2-38.2%, generally lower in grasslands than in forests samples) and by high HI and low OI values. The biological activity (moles, earthworms) is intense. Forest soils are richer in sands, poorer in silts and show a lower pH than grasslands.

3.3.2 Lipid content

3.3.2.1 Alkyl series

Several aliphatic compound families display a whole series of homologues extending beyond C₃₀, with a well marked odd-over-even (*n*-alkanes, *n*-alkenes, *n*-alkan-2-ones; Figs. 3.2a, 3.2b, 3.4a, 3.4b) or even-over-odd carbon number preference (*n*-alkanols, fatty acids; Figs. 3.5a, 3.5b) (Tables 3.1 and 3.2). All these compounds, or at least those of high molecular weight, are either ubiquitous components of higher plant waxes or derivatives or the latter (*e.g.* Rieley *et al.*, 1991, and references therein), and are variable within a given taxa (Otto *et al.*, 2005, and references therein).

3.3.2.1.1 *n*-Alkanes and *n*-alkenes

In all soil samples, *n*-alkanes (accompanied by minor proportions of partly co-eluting *n*-alkenes) range from *n*-C₁₅ to *n*-C₃₅, with a single mode in *n*-C₃₁ in grassland soils and in *n*-C₂₉ under forest (Figs. 3.2a and 3.2b; Tables 3.1 and 3.2). Unimodal distributions and these two different modes are symptomatic of the dominant plant sources in both studied environments, *i.e.* grasses and trees (Cranwell, 1973; van Bergen *et al.*, 1997).

3.3.2.1.2 *n*-Alkan-2-ones

n-Alkan-2-ones display the same distribution as *n*-alkanes, in terms of range and odd-over-even predominance (§3.3.2.1.1), but show a bimodal distribution (Figs. 3.4a and 3.4b; Table 3.1 and 3.2). The number of carbon atoms (C_{max}) of the dominant compound in the high molecular weight range is consistent with those observed for *n*-alkanes (*n*-C₃₁ for grassland soils vs. *n*-C₂₉ for forest ones), but *n*-C₁₉ and *n*-C₂₀ are also present in higher proportions than their neighbouring homologues. Though some authors suggest a higher plant origin for *n*-alkan-2-ones (*e.g.* Hernandez *et al.*, 2001), it is more probable that these latter compounds derive here from *n*-alkanes by β -oxidation (Amblès *et al.*, 1993).

²Annexe 2

3.3.2.1.3 Mid-chain ketone

The C₂₉ alkan-10-one was the single mid-chain ketone detected. Its presence in all soils, whatever their vegetation cover, is consistent with its widespread occurrence in higher plant waxes (Tulloch, 1976).

3.3.2.1.4 *n*-Alkanols

Homologous series of *n*-alkanols that range from *n*-C₁₅ to *n*-C₃₆, except in few forest soils where they range from *n*-C₁₈ to *n*-C₃₄ (Figs. 3.5a and 3.5b; Tables 3.1 and 3.2), clearly attest to a higher plant input, these compounds being usually the dominant component of cuticular waxes (Cranwell, 1982). Here, these high molecular weight compounds are accompanied by a minor contribution of *n*-C₁₄ to *n*-C₂₀ alkanols that might represent a microbial contribution (Jambu *et al.*, 1993). In grasslands, *n*-alkanol distributions maximise at *n*-C₂₆ (with high proportions of *n*-C₂₈), in agreement with previous work (van Bergen *et al.*, 1997; Otto and Simpson, 2005; Trendel *et al.*, 2010). In forest soils, the major homologue is either *n*-C₂₆ or *n*-C₂₈, probably depending on local plant source changes.

3.3.2.1.5 Wax esters (alkyl esters)

A series of wax esters is present in grassland soils (Fig. 3.3a; Tables 3.1 and 3.2), and was not precisely identified. The compounds eluting at 42.96 min., 41.3 min. and 40.79 min. prevail among the samples. In most cases only 6 compounds are detectable (eluting at 39.97 min., 40.79 min., 41.3 min., 42.3 min., 42.96 min. and 45.33 min.), but some samples can contain up to 17 components. The total absence of such esters in forest soils could suggest the absence of their source in the forest vegetation. However, these compounds are synthesised by a large array of higher plants and were effectively described in deciduous trees (Rieley *et al.*, 1991; van Bergen *et al.*, 1997). Their absence in forest soils might, at least partly, result from their rapid hydrolysis in organic horizons of the soil, or even in decomposing needles (Otto and Simpson, 2005). Such a degradation transform wax esters into *n*-acids and *n*-alkanols (Quenea *et al.*, 2004), the latter being actually present in higher proportions in forest soils than in grassland ones, particularly for the *n*-C₂₂ and *n*-C₂₄ homologues that were described in suberins (*e.g.* Nierop, 1998). The higher acidity of forest soils could have played a role of catalyst for a faster degradation.

3.3.2.1.6 Fatty Acid Methyl Esters (FAMES)

In an overwhelming number of studies, FAMES are analysed as artificial methylation products of acids, either free or released by hydrolysis (*e.g.* Zocatelli *et al.*, submitted³, and references therein). In Aydat soils, FAMES were detected in the neutral fraction, without

³Annexe 2

any methylation. Although a reaction between free fatty acids and the methanol used for lipid extraction cannot be excluded (Fischer *et al.*, 1966), the very different pattern of these compounds compared to those described in the acid fraction by Zocatelli *et al.* (submitted)⁴ indicates that these compounds more probably occurred naturally as esters in the soil samples, as already described in a humin sample from an acidic anmoor soil (Grasset and Amblès, 1998).

In all samples, FAMES range from n -C_{14:0} to n -C_{33:0}, with a bi-modal distribution characterized by C_{max} at n -C_{16:0} and at n -C_{24:0} or n -C_{26:0} (Figs. 3.4a and 3.4b; Tables 3.1 and 3.2). The heavier compounds (C_{20:0}+) are well-known components of cuticular waxes whereas the lighter ones are components of the plasmalemma (Marseille *et al.*, 1999). In contrast, *iso*- and *anteiso*-C_{15:0}, and *iso*-C_{17:0} testify of a microbial contribution (Cooper and Blumer, 1968; Boon *et al.*, 1977). The (i C_{15:0} + ai C_{15:0})/C_{15:0} ratio is 1.65 - 3.5 times higher in the grassland soils than in forest ones (Figs. 3.4a and 3.4b; Tables 3.1 and 3.2). This highlights a differential microbial activity in the two soil types or, at least, a difference in microbial composition, the ramified i and ai C_{15:0} FAMES being well recognized bacterial markers (Boon *et al.*, 1977; Cho and Salton, 1964).

3.3.2.2 Cyclic products: terpenoids, steroids and aromatics

3.3.2.2.1 Aromatic compounds

The total absence of aromatic compounds in all the soil samples (Table 3.2) plays in favour of a well preserved lipid content (Spyckerelle, 1975).

3.3.2.2.2 Tricyclic diterpenes and their oxygenated forms

Eleven hydrocarbons with an abietane structure were encountered in forest soils, whereas they were totally absent in grasslands (Figs. 3.2a and 3.2b; Tables 3.1 and 3.2) - even grassland soil #27, located less than 200 m downhill from a forest (Fig. 3.1), presents no trace of these compounds. Similarly, seventeen oxygenated tricyclic diterpenoids are present in forest soils only (Fig. 3.4b; Tables 3.1 and 3.2). Diterpenoids are common in the Plant Kingdom, but are especially produced by conifers where they are the major components of resins (Streibl and Herout, 1969; Hanson, 1972; Noble *et al.*, 1985). Despite a well-recognized specificity, they do not allow a species-level distinction of conifers (Peters *et al.*, 2005; Stefanova *et al.*, 2005).

3.3.2.2.3 Steroids

⁴Annexe 2

About 30 steroids (alcohols and ketones) were detected in Aydat soils (Figs. 3.4a, 3.4b, 3.5a and 3.5b; Tables 3.1). Their proportions significantly differ between forest and grassland soils (Table 3.2). Sterols are widely distributed in plant and animal tissues (Morrison, 1969), but a few of them can be rather specifically related to a given source organism. In contrast, stanols derive from sterols by reduction either in the environment or in the gut of humans and animals. In this latter case, the stereospecificity of the reduction of the ring B double bond leads to compounds with the $5\beta(\text{H})$ configuration as coprostanol ($5\beta(\text{H})$ -cholestan- 3β -ol), present in Aydat soils with its 3α epimer, accompanied by $5\beta(\text{H})$ -stigmastan- 3β -ol, with minor proportions of $5\beta(\text{H})$ -stigmastan- 3α -ol, and of compounds with the $5\alpha(\text{H})$ configuration as campestanol (24-methyl- 5α -cholestan- 3β -ol). Coprostanol and related compounds are often used for tracing faecal pollution or demarcating activity areas in archaeological studies (*e.g.* Jardé *et al.*, 2007; Tyagi *et al.*, 2008; Hjulström and Isaksson, 2009). Faecal contribution can be estimated by establishing a ratio between coprostanol and its related compounds relatively to their possible precursors (Figs. 3.5a and 3.5b; Tables 3.1 and 3.2):

$$\frac{\text{coprostanol} + \text{epi} - \text{coprostanol} + \text{stigmastanol} + \text{epi} - \text{stigmastanol} + \text{campestanol}}{\text{campesterol} + \text{sitosterol} + \text{cholesterol}}$$

In Aydat soils, this ratio reaches 0.52 in the representative grassland soil, *i.e.* more than 260 times much higher than in the representative forest one (0.002). This ratio can vary depending on the effective use of a given plot (solely as grassland and/or as pasture), on the number of grazing animals and/or the intensity of manuring. Conversely, the higher value encountered in forest soils could be explained by the downhill situation of the corresponding plot from a vacation village (Table 3.2).

A dozen of stenones and stanones were encountered in grassland as well as in forest soils. These are coprostanone, cholestan-3-one, cholesta-3,5-dien-7-one, 24-methylcoprostanone, campestanone, 24-ethylcoprostanone, sitostanone, 24-ethylcholesta-3, 5-dien-7-one, cholest-4-en-3-one, 24-methylcholest-4-en-3-one, and sitosterone. These compounds attest to the beginning of degradation of the corresponding sterols and/or stanols, the latter being a reduction product of the former (Mermoud *et al.*, 1984; Rushdi *et al.*, 2006; Mouradian *et al.*, 2007). The presence of these compounds in the soils also attests, as for the alkan-2-ones (§3.3.2.1.2.), to the stability of ketones in these conditions. Products of further degradation (ring A opening or loss) were not detected.

3.3.2.2.4 Hopanes

Seven hopanes and two hopenes from C_{27} to C_{31} were detected in low concentration levels in grasslands and in forest soils (Figs. 3.2a and 3.2b; Tables 3.1 and 3.2). If one

excepts the possibility that a few of these compounds could be produced by ferns, they - or rather their precursors - all must be considered a bacterial origin (*e.g.* Cranwell, 1982; Ries-Kautt and Albrecht, 1989).

3.3.2.2.5 Fernenes

Four D:C friedo triterpenes, for which a fernene structure is assumed, were detected (Figs. 3.2a and 3.2b; Tables 3.1 and 3.2). There are three possible origins for fernenes. As directly revealed by their generic name, they were first thought to be produced by ferns (Ourisson *et al.*, 1979), but later most authors inclined to bacteria and preferably to anaerobes (Volkman, 1989). However, fernenes could also arise from acidic clay-catalysed rearrangement of hopenes (Ageta *et al.*, 1987). Ferns being absent or rare in the sampled places, even under forests, their microbial origin is highly probable and could be more precisely attributed to aerobes.

3.3.2.2.6 Triterpenyl acetates

An assemblage of 15 triterpenyl acetates was identified in Aydat grassland soils: taraxeryl, β -amyryn, δ -amyryn, isobauerenyl, glutinyl, α -amyryn, lupeyl, multiflorenyl, bauerenyl, ψ -taraxasteryl, taraxasteryl, isopichierenyl, pichierenyl, gammacerenyl, and swertenyl acetates. The degree of source specificity of each compound has been reviewed in a previous paper (Lavrieux *et al.*, 2011). Among these compounds, taraxasteryl, ψ -taraxasteryl, bauerenyl, isobauerenyl, pichierenyl, isopichierenyl, swertenyl and gammacerenyl acetates are highly specific of Asteraceae (mostly herbaceous dicots) and should thus be found mainly in open to semi-open areas. Reversely, others such as β - and α -amyrenyl, lupeyl or taraxeryl acetates cannot be attributed a specific plant family and therefore a specific habitat. 11 of these compounds were detected in grassland soils, whereas none was found in forest soils (Figs. 3.4a and 3.4b; Tables 3.1 and 3.2).

3.3.2.2.7 Methoxyserratenes

As already expanded in another study (Le Milbeau *et al.*, *in prep*⁵), eleven methoxyserratenes were detected in Aydat soils: 3 α -methoxyserrat-13-en-21-one, 3 α ,21 β -dimethoxyserrat-14-ene, 21 β -methoxyserrat-14-en-3-one, 3 α -methoxyserrat-14-en-21-one, 21 α -methoxyserrat-14-en-3-one, 3 β -methoxyserrat-14-en-21-yl acetate, 21 α -methoxyserrat-14-en-3 α -ol, 3 α -methoxyserrat-14-en-21 β -ol, 3 β -methoxyserrat-14-en-21 β -ol, 3 β -methoxyserrat-14-en-21 α -ol, and 15-keto-21-methoxyserrat-13-en-3-one. All these compounds could be unequivocally related to conifers (Le Milbeau *et al.*, *in prep*⁶). Accordingly, methoxy-serratenes are not

⁵Egalement détaillé en annexe 1

⁶Egalement détaillé en annexe 1

found in grassland soils (including soil #27 neighbouring a forest, see § 3.3.2.2.2) whereas generally only eight of them are present in all forest soil samples (Figs. 3.4a, 3.4b, 3.4c, 3.5a, 3.5b; Tables 3.1 and 3.2).

3.3.2.2.8 Other pentacyclic triterpenes

In addition, *ca.* 30 other pentacyclic triterpenoids were found in Aydat soils. These compounds belong to various fractions (ethers, esters, ketones, alcohols. . .), some of them still remaining unidentified (Table 3.1). Among them, the most abundant compound in the ethers / esters fraction occur in grasslands as well as in forests (t1 and t3 in the chromatograms: Fig. 3.3a and 3.3b). In this fraction, t2 compound is specific of grassland soils (Figs. 3.3a and 3.3b; Tables 3.1 and 3.2). Characterized by $m/z = 189, 255, 394, 393, 408$, this compound seems typical of an oleadiene but elutes in the ethers / esters fractions, and thus remains unidentified. Other compounds such as friedeline, taraxerone and amyrenone were detected in the two types of soils, in variable proportions and attest to a higher plant input (Figs. 3.4a and 3.4b; Tables 3.1 and 3.2; Simoneit *et al.*, 2003; Trendel *et al.*, 2010).

3.3.2.3 General discussion

As emphasized in the previous sections, and especially through the presence of highly specific plant markers (*e.g.* triterpenyl acetates, methoxyserratenes) the soil lipid content is, in a large part, directly inherited from the surrounding vegetation, roots included (van Bergen *et al.*, 1997; Nierop, 1998; Otto and Simpson, 2007). Studies available about molecular markers in soils and sediments often focus on few, largely studied, compound families. For example, linear compounds are ubiquitous and their distribution differs more or less clearly depending on the source plants. It is thus difficult, from these compounds, to associate a molecular imprint to a well defined landuse. However, such a relationship between molecular imprint and landuse is of particular interest for the study of past landuses through the analysis of lipids in sedimentary records. If soils bear a pertinent information on the distribution of vegetation associated to landuse (with potential biases due to alteration of the original signal inherited from the source plants), one can expect this information to be transferred to the sedimentary record. In this context, this study constitutes an attempt at inventorying the neutral lipids present in the soils of two typical environments from the same area, distinguishable by their contrasted vegetation cover, *i.e.* grassland vs. conifer forest. In both these environments, several plots were sampled in order to take into account local factors that might have induced marked changes in the studied molecular assemblages (in production and/or alteration, that might be influenced by local vegetation variations, orientation or slope). The quality of information on landuse obtained from neutral lipids

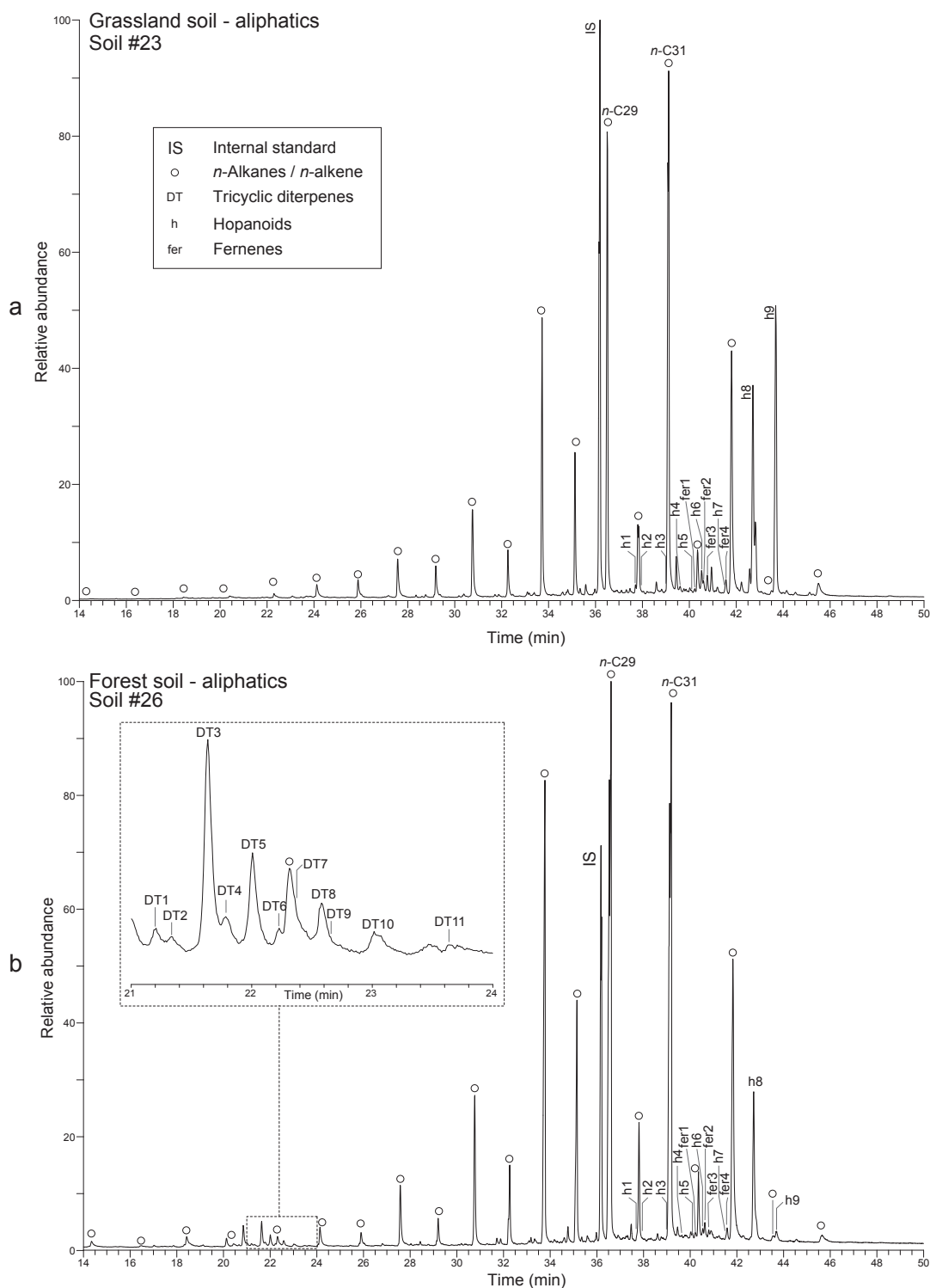


FIG. 3.2 – GC-MS traces (TIC) of the aliphatic lipid fractions of (a) a typical grassland soil (soil #23) and (b) a typical forest soils (soil #26) illustrating the distribution of *n*-alkanes, tricyclic diterpenoids (emphasized in the 21-24 min range for soil #26), hopanoids and fernenes. Internal standard: 5 α -cholestane. Samples are localised on Fig. 3.1. Compound numbers refer to Table 3.1.

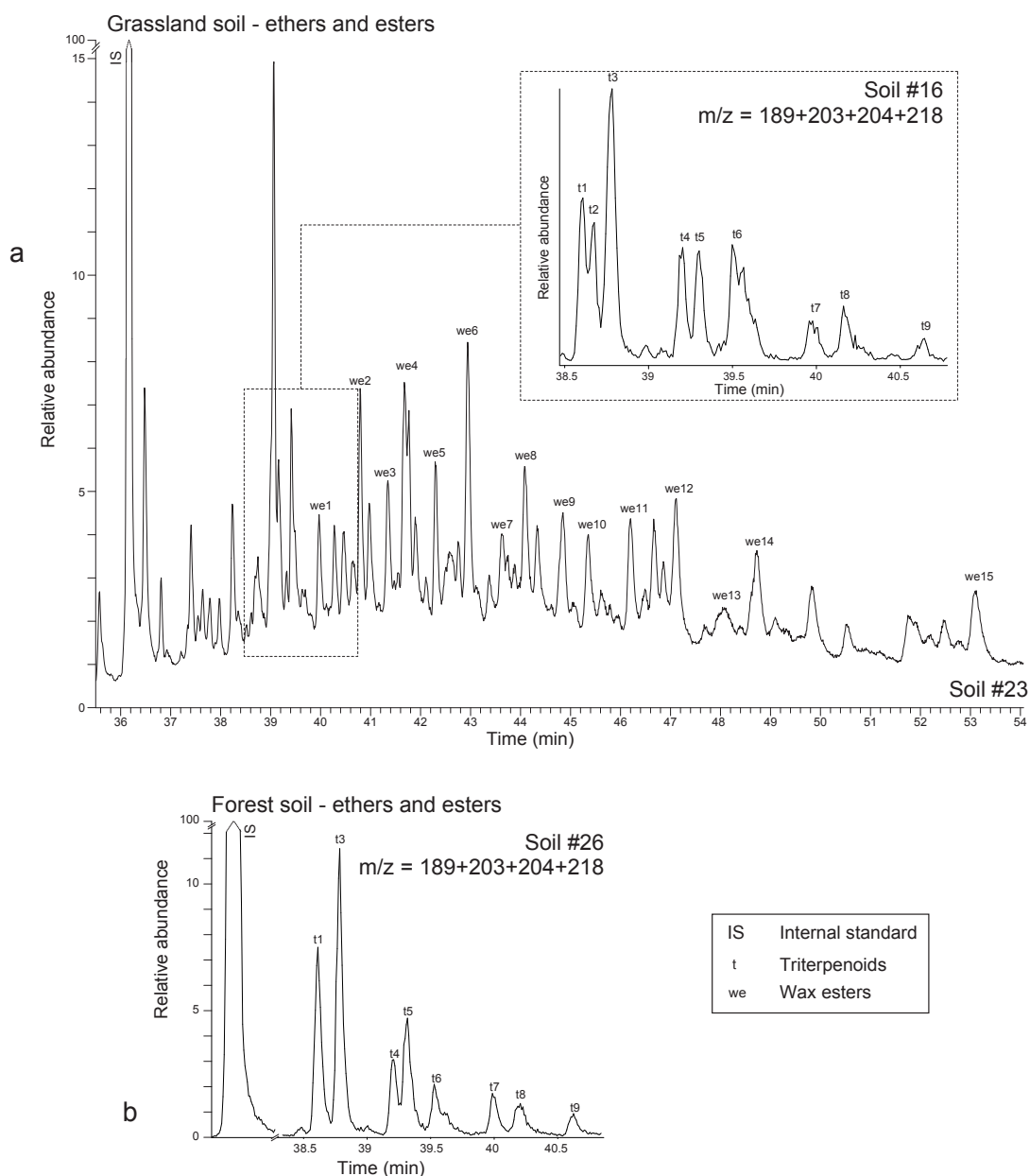
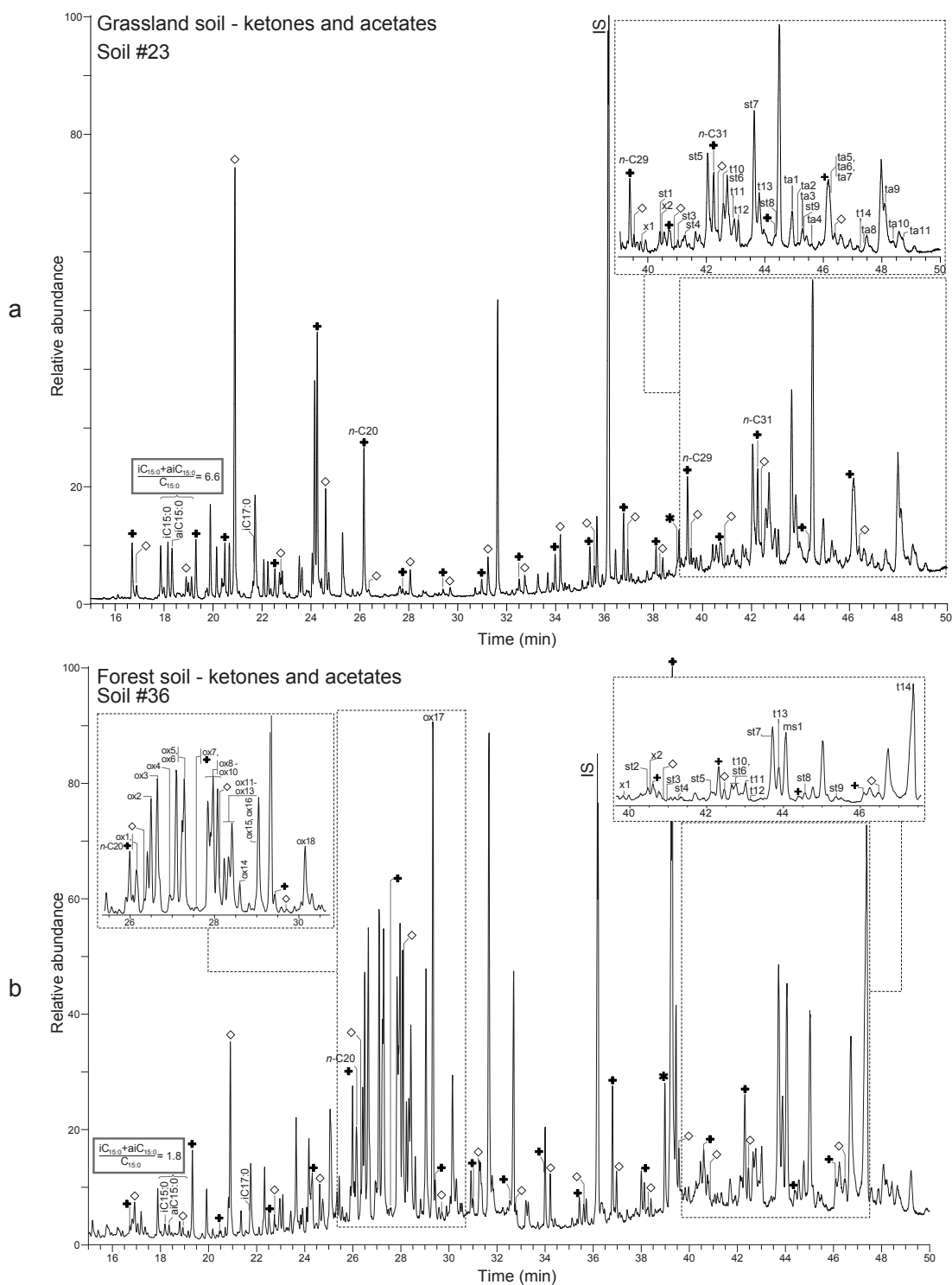


FIG. 3.3 – GC-MS traces (TIC) of the ethers and esters fraction of (a) a typical grassland soil (soil #23) and (b) a typical forest soil (soil #26; out of the time range presented - 38.5-41 min -, no compounds are present) illustrating the distribution of wax esters and triterpenoids (these latter being better depicted on the $m/z = 189+203+204+218$ ion specific chromatogram). Internal standard: 5α -cholestane. Samples are localised on Fig. 3.1. Compound numbers refer to Table 3.1.



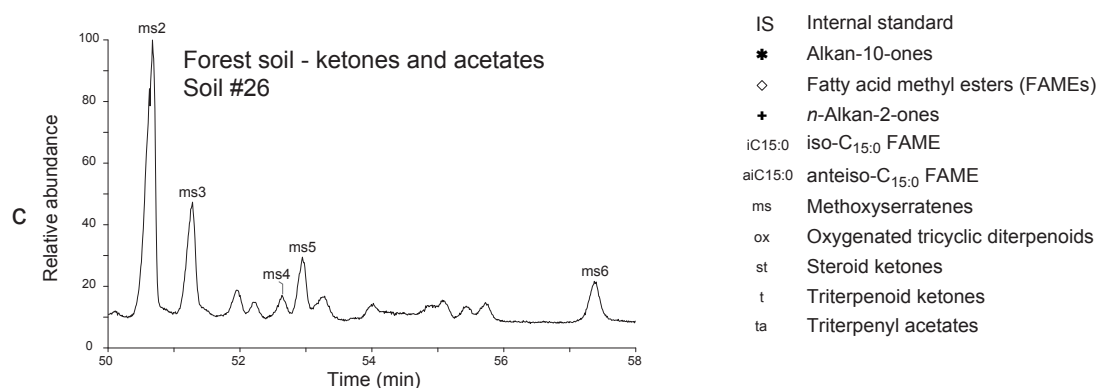


FIG. 3.4 – GC-MS trace (TIC) of the ketone and acetate fractions of (a) a typical grassland soil (soil #23); (b) a typical forest soil (soil #36), illustrating the distribution of *n*-alkyl lipids (FAMEs, *n*-alkan-2-ones and *n*-C₂₉ alkan-10-one) and focus on oxygenated diterpenoids, steroids, triterpenoid ketones and triterpenyl acetates; (c) distribution of methoxyserratenes. Internal standard: 5 α -cholestane. Compound numbers refer to Table 3.1. FAMEs ratios indicative of bacterial input are calculated from C_{15:0}, *iso*-C_{15:0} and *anteiso*-C_{15:0} FAMEs (see text for details).

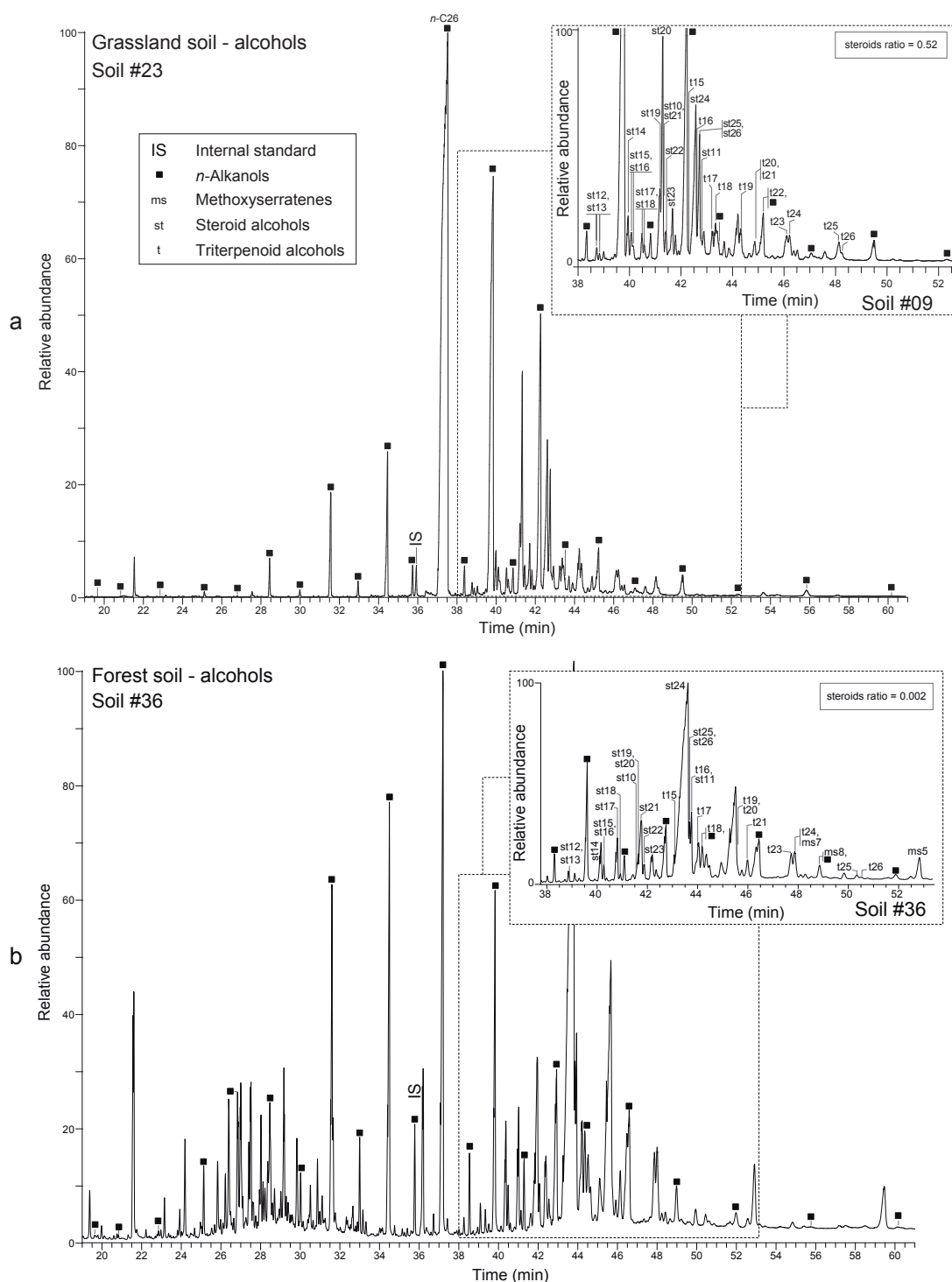


FIG. 3.5 – GC-MS trace (TIC) of the silylated alcohols fraction of (a) a typical grassland soil (soil #23) and (b) a typical forest soil (soil #36), illustrating the distribution of *n*-alkanols, steroid alcohols, triterpenoid alcohols and methoxyserratenes as well as the value of the steroids ratio for these two samples (see text for details). Internal standard: 5 α -cholestane. Compound numbers refer to Table 3.1. 81

can be distinguished according to the following grouping:

(i) Linear compounds such as *n*-alkanes/*n*-alkenes, *n*-alkanols, *i.e.* higher plants cuticular waxes components, and their biodegradation products (*n*-alkan-2-ones). Though ubiquitous, their mode and distribution can be used as discriminant criteria for the type of the surrounding vegetation (woody vs. herbaceous). However, these compounds can be affected by some variability in the relative proportions of the different homologues produced by a single species (depending on intrinsic and/or environmental factors) or by biodegradation. In the studied samples, this variability renders difficult the use of *n*-alkanols as markers of the vegetation cover. Otherwise, the presence of *n*-alkan-2-ones, which derive from *n*-alkanes by β -oxidation, bring evidence that *n*-alkanes are most probably not as refractory to biodegradation as usually thought. This reinforces previous observations on petroleum products, in which they appeared as the most rapidly degraded (*e.g.* Disnar and Héroux, 1995, and references therein). Such possible mixing of major homologues and/or degradation must be taken into account when *n*-alkyl lipids are used as tracers of terrestrial plant input in sediments, as largely admitted (*e.g.* Meyers, 2003). Provided that these compounds are not produced by aquatic organisms, it confers them the ability to be global markers of terrestrial vegetal production.

(ii) Other linear compounds such as wax esters and FAMEs seem to be more discriminant for identifying the type of surrounding vegetation. Though these compounds are produced in the two types of considered environments, differences in biological activity within the soils probably implies differential preservation of the original signal (*e.g.* degradation of wax esters in forest soils; differential microbial activity leading to larger quantities of *iso*- and *anteiso*- FAMEs in grassland soils).

(iii) Cyclic compounds such as tricyclic diterpenes and pentacyclic triterpenes (especially some of triterpenyl acetates and methoxyserratenes), and steroids indicating faecal contribution reveal more efficient in tracing sources than linear compounds. Their high specificity and their low spatial dispersion around production areas make them remarkable tracers of landuses. This property is reinforced by their high resistance to degradation, an assumption substantiated by the absence of aromatic derivatives in soil extracts, probably resulting from the absence of anaerobic conditions that are compulsory for aromatization processes during early diagenetic stages (Trendel, 1985; Jaffé *et al.*, 1996). However, the presences of ketones proves that terpenes are not fully refractory to biodegradation and thus additionally bring further support to the high stability of these latter type of oxygenated compounds in soils, already expanded for linear alkanones (§ 3.3.2.1.2 and 3.3.2.1.3).

3.4 Conclusion

The inventory of the free lipids in soils developed under distinct landuse in Lake Aydat catchment allowed us to identify various *n*-alkyl lipids [*n*-alkanes and *n*-alkenes, *n*-alkan-2-ones (plus one alkan-10-one), *n*-alkanols, wax esters and FAMES] as well as polycyclic di- and triterpenoids, namely tricyclic diterpenes and their oxygenated forms, steroids, hopanes, fernenes, triterpenyl acetates, methoxyserratenes, and various other pentacyclic triterpenes. Some of these compound families occur specifically in grassland or in forest soils thus indicating their inheritance from the local vegetation, without any notable dispersion of the input material, even from plants growing in the immediate neighbourhood of the sampling site.

The absence of aromatics added to global indications of good SOM preservation at the study area scale is fully consistent with the sole presence of fully preserved or only slightly transformed inherited organic compounds in the studied soils. As a matter of fact, individual compound alteration appears here limited to (1) the formation of ketones, by simple oxydation of the alcoholic group of triterpenols but also, and more drastically, by the oxydation of the reputedly refractory *n*-alkanes to *n*-alkan-2-ones, these two different transformations being undoubtedly imputable to microbial activity; and (2) the complete hydrolysis of wax esters occurring solely in forest soils.

In addition to classical ubiquitous *n*-alkyl compounds and to more specific other ones (triterpenoids), the free lipid molecular inventory reinforces the potential of two new compound families: methoxyserratenes and triterpenyl acetates, that are typical of Pinaceae and Asteraceae, respectively, for paleoenvironmental studies. In contrast to linear compounds that are general markers of higher plants and have frequently been used as such up to now, the other ones are much more specific of their source organism. The extent of methoxyserratenes among various species has been already established and can thus indicate precise taxa of producers (Le Milbeau *et al.*, *in prep*⁷). Similarly, triterpenyl acetates can be used as markers of open environments. The combination of these two types of biomarkers in sedimentary records could help appreciating the evolution of forest clearance, afforestation and pastoralism. These compounds might also be used as indicators of a few species typical for these environments (Lavrieux *et al.*, 2011). Finally, among the steroids, a significant faecal contribution can be diagnostic in soils to precisely delineate areas of cattle breeding but also, in sediments, to estimate the development of these agricultural practises through time. Though of an undeniable potential, these highly specific compounds have been poorly reported to date. Our results underline the importance of improving knowledge on such specific biomarkers.

⁷Egalement détaillé en annexe 1

Acknowledgments

This study was supported by the ERODE project funded by the INSU/CNRS and OTARIE project funded by the Région Centre and the European Council. M. L. also acknowledges the Région Centre for attribution of PhD grant.

Chapitre 4

Détection d'acétates de triterpényles dans les sols, et potentiel en tant que marqueurs chimiotaxonomiques d'Astéracées

*Ce chapitre se concentre sur les acétates de triterpényles, une famille de composés détectés dans la fraction cétone / acétate de sols développés sous pâtures et prairies. Ces composés montrent une grande diversité structurale, et la plupart d'entre eux sont décrits dans les sols pour la première fois. La littérature fait état de plus de 460 plantes réputées productrices d'acétates de triterpényles, parmi lesquelles 432 Astéracées. Les acétates de lupéyle, taraxastéryle, ψ -taraxastéryle, bauerényle et isobauerényle sont principalement décrits dans cette famille de plantes. Les acétates de pichiérényle, isopichiérényle, swertényle et gammacérényle ne sont quant à eux décrits que dans une seule espèce d'Astéracées, *Picris hieracioides* (la picride épervière). Ainsi, le nombre réduit de plantes sources d'acétates de triterpényles souligne le potentiel de ces composés en tant que nouveaux biomarqueurs d'Astéracées. Le lien entre la diversité des acétates de triterpényles dans les sols étudiés et les plantes sources présentes sur le bassin-versant a pu être établi. Les Astéracées vivent principalement dans les milieux ouverts à semi-ouverts, les prairies et les pâtures mais également dans les environnements perturbés et les terres incultes, et leurs pollens sont d'ores et déjà utilisés comme indicateurs d'activités humaines. De ce fait, leur détection dans diverses archives naturelles (sols, sédiments, tourbes) pourrait permettre, dans le cadre d'études paléoenvironnementales, de tracer les changements passés de végétation, notamment sous influence anthropique.*

*Ce chapitre fait l'objet d'un article, publié dans *Organic Geochemistry* 42 (pp. 1315-1323).*

Occurrence of triterpenyl acetates in soil and their potential as chemotaxonomical markers of Asteraceae

Marlène Lavrieux^{a,b}, Jérémy Jacob^b, Claude Le Milbeau^b, Renata Zocatelli^b, Kazuo Masuda^c, Jean-Gabriel Bréheret^a, Jean-Robert Disnar^b

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 CNRS/INSU, Université d'Orléans, Laboratoire de Géologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université François-Rabelais de Tours, Parc Grandmont, 37200 Tours, France.

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, UMR 6113 CNRS/INSU, Université François Rabelais de Tours, 1a rue de la Férollerie, 45071 Orléans Cedex 2, France.

^c Laboratory of Phytochemistry, Showa Pharmaceutical University, Machida, Tokyo 194-8543, Japan

Abstract

As a part of a wider study aimed at determining new molecular biomarkers in soils and sediments that could be specific for distinct vegetation types with respect to unravelling past changes in land use, we analysed the neutral lipid content of soil developed in the catchment of a small lake in central France. The ketone/acetate lipid fraction of soil under pasture or meadow contained a series of pentacyclic triterpenyl acetates with wide structural diversity, most being reported in soil for the first time. The restricted number of potential plant sources of triterpenyl acetates (some produced by a single species) underlines the potential of triterpenyl acetates as new biomarkers to track past vegetation change in palaeoenvironmental studies, when found in natural archives such as soil, sediments or peat.

Keywords: Asteraceae, soil, biomarkers, pentacyclic triterpenyl acetates.

4.1 Introduction

Understanding ecosystem response under natural (climatic) and anthropogenic constraints is of crucial importance for anticipating the consequences of current global change (Dearing, 2006). Land use changes have direct consequences for the budget of greenhouse gases at the global scale. At a more local scale, it has been demonstrated that soil properties result from a long history of land use (Hurt et al., 2006). The reconstruction

of recent land use change can be approached through historical archives. For example, the impact of drastic land use change on biodiversity is particularly well documented for the middle mountains of the French Massif Central during the twentieth century (Chassagne, 1956; Antonetti *et al.*, 2006).

With respect to more ancient times, the scarcity of reliable written sources necessitates an investigation of natural archives (lake sediments, peat and speleothems) in order to unravel past natural and anthropogenic impact on environments. These environmental records retain information about such interactions in a well constrained time frame. Deciphering such interactions involves reconstruction of ancient land use via multidisciplinary studies (*e.g.* palaeoecology, archaeology, sedimentology; *e.g.* Berglund, 1991) that provide different and complementary information.

While the potential of sediments as natural archives has largely been demonstrated, soil, although a fundamental substrate for human subsistence and direct support of agricultural practices, has not received comparable interest. Soil is known to be disturbed in terms of physical properties, organic matter (OM) content and thereby of fertility when affected by land use change (Rumpel *et al.*, 2009). The after effects of such changes remain perceptible in terms of biodiversity, and of chemical and structural soil properties, at least at the historical scale (Dupouey *et al.*, 2002). However, only a few studies have focussed on the direct recording of land use at the molecular level (*e.g.* van Bergen *et al.*, 1997; Bull *et al.*, 1998). These studies have shown that the lipid content is directly linked to the current overlying vegetation, since the major part of the soil lipids originates from plants and is well preserved (*e.g.* Dinel *et al.*, 1990; van Bergen *et al.*, 1997; Bull *et al.*, 1998). This makes them a reliable tool as molecular biomarkers, *i.e.* as compounds preserved intact or slightly modified in natural archives (and aerosols), the structure of which allows unequivocal identification of their biological source (*e.g.* van Bergen *et al.*, 1997; Oros and Simoneit, 2001a, b; Simoneit, 2002, 2004; Killops and Killops, 2004). Such molecular markers benefit from increasing interest for studies dealing with vegetation change or human activity (*e.g.* Hjulström and Isaksson, 2009).

Amongst these, pentacyclic triterpenes are of special interest for organic geochemists exploring the distributions of lipids in soil, sediments and peat as remnants of past vegetation. For example, those with a lupane, oleanane or ursane structure, as well as their diagenetic derivatives, in soil and sediments are classically used as tracers of angiosperms (Cranwell, 1984; Jacob *et al.*, 2007). However, as a result of their wide structural (skeletal) diversity (oleanane, ursane, lupane, taraxerane...), potential isomerism and associated functional groups, several recent studies have shown that, in favourable cases, pentacyclic triterpenes can be discriminant for more constrained taxa. For example, Gramineae are the most common producers of pentacyclic triterpenes bearing a MeO group at C-3 (Ohmoto *et*

al., 1970; Jacob *et al.*, 2005; Zocatelli *et al.*, 2010). In particular, more specific relationships can be established, such as that allowing the linking of miliacin (olean-18-en-3 β -ol methyl ether) in sediments from Lake le Bourget (French Alps) to *Panicum miliaceum* (broomcorn millet) cultivated in the watershed (Jacob *et al.*, 2008, 2009).

Here we report the presence of a series of pentacyclic triterpenyl acetates in a soil developed under pasture in the catchment of Lake Aydat (Massif Central, France). Following description of the different compounds analysed by way of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), we discuss their potential biological sources and finally evaluate their potential for palaeoenvironmental studies.

4.2 Setting, materials and methods

4.2.1 Location and general context

Lake Aydat is *ca.* 25 km SW of Clermont-Ferrand, in the volcanic French Massif Central. The small catchment of the lake (*ca.* 30 km²) is at an altitude ranging from 825 m (lake level) to *ca.* 1,300 m above sea level (a.s.l.). The tops of the volcanoes, the highest points, are covered by coniferous forest (mainly of *Picea* sp.), whereas the slopes are covered by pasture/grassland and, to a lesser extent, shrubs. The geology, relating mainly to a volcanic origin, led to the development of andisols as a result of rapid chemical erosion in the presence of OM (Jones *et al.*, 2005). Typically, a homogeneous organo-mineral sandy-silty horizon A developed above the C horizon. These slightly acidic soils are well drained and quite shallow (< 30 cm).

4.2.2 Materials and methods

A total of 35 soil samples were taken from the lake catchment in the autumn of 2008. They represent the diversity of land use, as described above, and were collected at different altitude and orientation, so that each condition prevailing in the catchment was taken into account. In the absence of recognizable layers, soils were sub-sampled in slices 2 cm thick. The 0-2 and 2-4 cm depth slices were analysed in random order, since they were considered the most representative of the current vegetation cover. Samples were dried at 40 °C for 48 h in an oven, crushed in a mortar and sieved at 2 mm. An aliquot (*ca.* 2 g) of each was extracted by way of automatic solvent extraction with a Dionex® ASE 200 using CH₂Cl₂:MeOH (1:1). After removal of the solvent under N₂, the extract was separated into neutral, acidic and polar fractions on aminopropyl-bonded silica as described by Jacob *et al.* (2005). The neutral fraction was further separated into aliphatics, aromatics, ethers and esters, ketones and acetates, and alcohols by way of flash chromatography with a Pasteur

pipette filled with activated silica (24 h at 120 °C, then deactivated with 5% H₂O) and using a sequence of solvents of increasing polarity. The fraction containing triterpenyl acetates and ketones was eluted with a mixture of hexane:EtOAc (9:1) and 5 α -cholestane was added prior to analysis via GC-MS with a TRACE-GCQ Polaris. The GC instrument was fitted with a Rtx-5MS column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness; 5 m column guard). The operating conditions were: 40 °C (1 min) to 120 °C at 30 °C min⁻¹, then from 120° to 300 °C (held 30 min) at 5 °C min⁻¹. Samples were injected in splitless mode, with the injector at 280 °C. He was the carrier gas at a constant flow of 1 ml min⁻¹. The mass spectrometer was operated in the electron ionization (EI) mode at 70 eV and scanned from m/z 50 to 600. Component identification was based on comparison of retention times and mass spectra with authentic standards. The concentration of triterpenyl acetates was estimated by measuring peak areas in ion chromatograms. After calculating a correction factor between the peak area on the specific ion chromatogram and the peak area on the total ion current (TIC) chromatogram, the TIC area of triterpenyl acetates was measured relative to that of the standard (5 α -cholestane) and to the mass of sample extracted. The identification of all compounds, except isopichierenyl acetate, was confirmed using authentic standards.

4.3 Results

This study reports on the triterpenyl acetates in a single soil sample that showed the widest diversity among the 35 samples. Variation in the distributions, probably reflecting various changes in biological input resulting from local conditions in the catchment, are not discussed here.

Fifteen triterpenyl acetates eluted in the 44-52 min t_R range under our GC conditions (Fig. 4.1). The structures discussed are displayed together with the mass spectra in Fig. 4.2.

The spectra of all triterpenyl acetates display ions at m/z 468, 453, 393 408 ([M⁺], [M⁺-15], [M⁺-60], *i.e.* loss of the acetate group, and [M⁺-60-15], respectively), with an intensity depending on the compound. Compounds 1, 2, 3 and 6 elute in the 44-47 min t_R range and are characterised by intense m/z 189, 203, 204 and 218 fragments attesting to a taraxerane, oleanane or ursane structure (Shiojima *et al.*, 1992). Considering the relative retention times, 2, 3 and 6 were assigned as olean-13(18)-en-3 β -yl acetate (δ -amyrin acetate), olean-12-en-3 β -yl acetate (β -amyrin acetate) and urs-12-en-3 β -yl acetate (α -amyrin acetate) respectively, whereas the rather intense fragments at m/z 269, 329 and 344 in the spectrum of compound 1 attest to a tarax-14-en-3 β -yl acetate (taraxeryl acetate) structure.

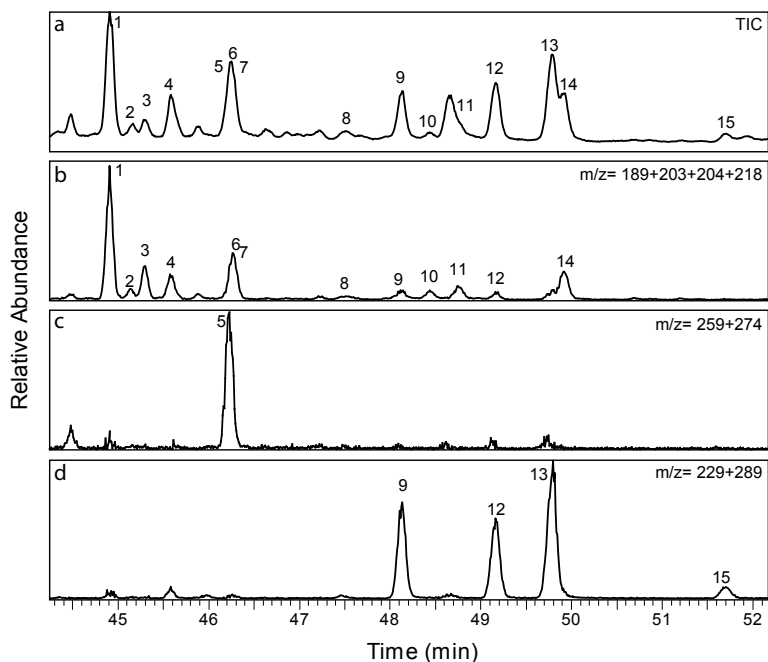


FIG. 4.1 – Example of distribution of triterpenyl acetates in ketone/acetate fraction from a soil sample from catchment of Lake Aydat, under pasture. (a) TIC; (b) m/z 189+203+204+218 chromatogram; (c) m/z 259+274 chromatogram; (d) m/z 229+289 chromatogram. The MS and t_R data and assignment of compounds 1 to 15 are given in Table 4.1. The spectra are provided in Fig. 4.2.

The spectra of 10 and 11 are also characterized by intense fragments at m/z 189 and 204. Their late elution time vs. 2 and 3, combined with the presence of an ion at m/z 249, allowed assignment of 10 as taraxast-20-en-3 β -yl acetate (ψ -taraxasteryl acetate) and 11 as taraxast-20(30)-en-3 β -yl acetate (taraxasteryl acetate). This assignment was confirmed by comparison with authentic standards.

Intense fragments at m/z 259 and 274 in the spectrum of 5 are diagnostic for D:B-friedo-oleanane structures (Shiojima *et al.*, 1992), consistent with glutin-5-en-3 β -yl acetate (glutinyl acetate).

The spectra of 4, 8, 9, 12, 13 and 15 are characterized by intense ion at m/z 229, 289, 241 and 301, with a minor contribution from ions at m/z 255 and 393 (Fig. 4.2). These features are characteristic for D:C-friedo-ursen-3 β -ol and D:C-friedo-oleanen-3 β -ol acetates (bauerenyl and multiflorenyl acetates, respectively) and are also found in swertenyl acetates (Shiojima *et al.*, 1992). The use of authentic standards and relative retention times allowed assignment of 4 as bauer-8-en-3 β -yl acetate (isobauerenyl acetate), 9 as bauer-7-en-3 β -ol acetate (bauerenyl acetate), 8 as multiflor-7-en-3 β -yl acetate (multiflorenyl acetate), 12 as

TAB. 4.1 – Inventory of triterpenyl acetates in soil samples with peak number, retention time and mass spectral data.

Peak	Ret. time (t _R min)	Name	Trivial name	M ⁺	Significant MS fragments (m/z, decreasing abundance)
1	44.90	Tarax-14-en-3β-yl acetate	Taraxeryl acetate	468	204, 189, 269, 218, 329, 344, 393, 453, 468
2	45.15	Olean-13(18)-en-3β-yl acetate	δ-Amyrin acetate	468	189, 205, 218, 204, 203
3	45.28	Olean-12-en-3β-yl acetate	β-Amyrin acetate	468	203, 218, 189, 257, 323, 393, 408, 453, 468
4	45.57	Bauer-8-en-3β-yl acetate	Isobauerenyl acetate	468	229, 289, 241, 257, 341, 393, 409
5	46.23	Glutin-5-en-3β-yl acetate	Glutinylnyl acetate	468	259, 274, 393, 408, 453, 468
6	46.25	Urs-12-en-3β-yl acetate	α-Amyrin acetate	468	218, 189, 203, 257, 393, 408, 468, 453
7	46.28	Lup-20(29)-en-3β-yl acetate	Lupeyl acetate	468	189, 204, 218, 297, 355, 453, 468, 393
8	47.62	Multiflor-7-en-3β-yl acetate	Multiflorenyl acetate	468	205, 229, 241, 301, 262, 289
9	48.08	Bauer-7-en-3β-yl acetate	Bauerenyl acetate	468	229, 289, 241, 393, 453, 468
10	48.40	Taraxast-20-en-3β-yl acetate	ψ-Taraxasteryl acetate	468	189, 204, 249, 408, 468, 393
11	48.70	Taraxast-20(30)-en-3β-yl acetate	Taraxasteryl acetate	468	189, 218, 204, 232, 249, 408, 262, 468
12	49.11	Pichier-8-en-3β-yl acetate	Isopichierenyl acetate	468	289, 229, 241, 301, 393, 453, 468
13	49.73	Pichier-9(11)-en-3β-yl acetate	Pichierenyl acetate	468	289, 301, 241, 229
14	49.86	Gammacer-16-en-3β-yl acetate	Gammacerenyl acetate	468	187, 191, 327, 408, 468
15	51.63	Pichier-7-en-3β-yl acetate	Swertenyl acetate	468	289, 229, 241, 301, 393, 453, 468

pichier-8-en-3β-yl acetate (isopichierenyl acetate - no standard available), 13 as pichier-9(11)-en-3β-yl acetate (pichierenyl acetate) and 15 as pichier-7-en-3β-yl acetate (swertenyl acetate). Finally, 7 was assigned as lup-20(29)-en-3β-yl acetate (lupeyl acetate) and 14 as gammacer-16-en-3β-yl acetate (gammacerenyl acetate) on the basis of their mass spectra (Shiojima *et al.*, 1992) and authentic standards.

Taraxeryl acetate (1.10 μg/g soil), pichierenyl acetate (0.91 μg/g soil), glutinylnyl acetate (0.81 μg/g soil), taraxasteryl acetate (0.29 μg/g soil), ψ-taraxasteryl acetate (0.07 μg/g soil) and isopichierenyl acetate (0.54 μg/g soil) were the most abundant compounds in the sample. In all the other samples, the concentration rarely reach 1 μg/g soil. For comparison, the concentrations in plants range from a few tens of μg to a few mg per gram dried plant, with a strong variability as to whether roots or aerial parts are considered (*i.e.* Bohlmann *et al.*, 1981; Shiojima *et al.*, 1989b; Lu *et al.*, 1994; Tsao *et al.*, 2008).

4.4 Discussion

4.4.1 Distribution of triterpenyl acetates in plants

Our literature survey of triterpenyl acetates sources led to an inventory of > 460 plants known to produce these compounds. Most information concerning Asteraceae (432 species among the 460) was extracted from the "Bohlmann Files" database (Jakupovic *et al.*, 2011), which concerns all the natural components of this family. This information was

Chapitre 4 : Détection d'acétates de triterpényles dans les sols, et potentiel en tant que marqueurs chimiotaxonomiques d'Astéracées

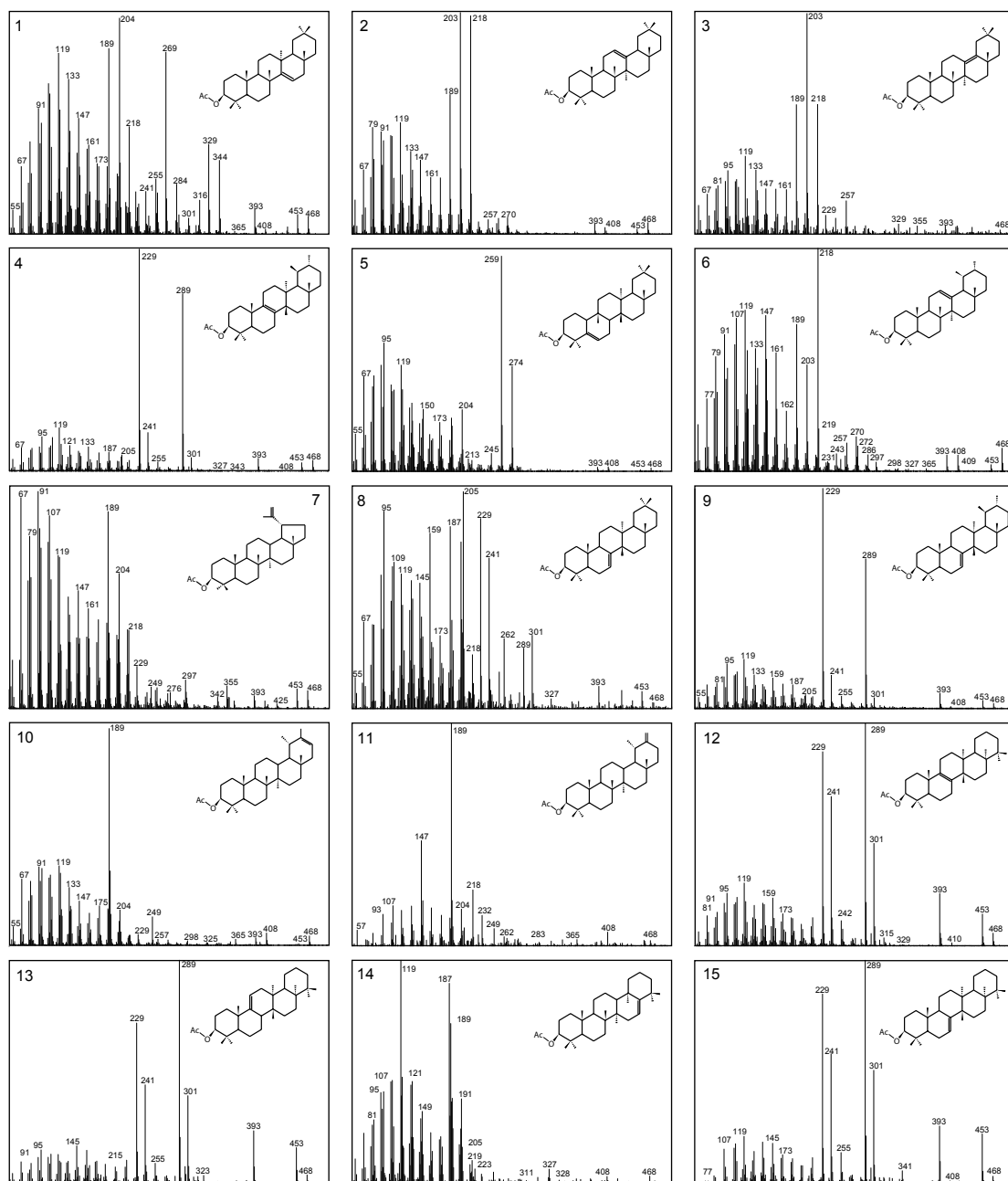


FIG. 4.2 – Mass spectra and structure of compounds in soil sample. Numbers refer to Table 4.1 and Fig. 4.1. Mass spectra of glutinyl, α -amyrin and lupeyl acetates were recorded for the standard compound because of GC co-elution within the soil sample.

completed with other data on the distribution of triterpenyl acetates in Asteraceae. Additional data on the occurrence of the compounds in other plant taxa allowed testing of the chemotaxonomical value of the different triterpenyl acetates. Depending on bibliographical

source, the degree of detail is highly variable for the different taxa. The resulting database evidently suffers from bias linked to a more specific interest toward a given plant taxa or a given chemical family. Nevertheless, the inventory provides key information on the distribution of pentacyclic triterpenyl acetates in plants.

The most commonly reported triterpenyl acetates are lupeyl acetates, comprising lup-20(29)-en-3 β -yl acetate, lup-19(20)-enyl acetate, tarolupenyl acetate [lup-19(21)-en-3 β -yl acetate], epilupeyl acetate [epi-lup-20(29)-en-3 β -yl acetate], lactucenyl acetate (D-friedo-lup-14-en-3 β -yl acetate; Shinozaki *et al.*, 2011) and neolupenyl acetate (lup-12-en-3 β -yl acetate), the first being by far the most reported. Of the Asteraceae, 416 species are reputed to contain lupeyl acetates (Jakupovic *et al.*, 2011; Madrigal *et al.*, 1975), but this component is also present in various other families such as Amaranthaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Moraceae and Apocynaceae (*e.g.* Jewers and Manchada, 1970; Dutta and Ray, 1972; Woldu *et al.*, 1988; Yoshizumi *et al.*, 1998; Medeiros *et al.*, 2001; Gasparetto *et al.*, 2010). Taraxasteryl and ψ -taraxasteryl acetates were overwhelmingly detected in Asteraceae, with 153 and 29 occurrences, respectively (Dutta and Ray, 1972; Madrigal *et al.*, 1975; Jordon-Thaden and Louda, 2003; Jakupovic *et al.*, 2011) and also in a few Apocynaceae (6 and 2 occurrences, respectively; Jewers and Manchada, 1970; Thakur *et al.*, 1984; Abbott *et al.*, 1990; Sen *et al.*, 1992; Medeiros *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2006; Yin *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2008). Bauerenyl acetate was found in three Asteraceae spp., four Apocynaceae and *Euphorbia chrysocoma* (Cava *et al.*, 1967; Ciccio-Alberti and Hoet, 1981; Lao *et al.*, 1983; Shi *et al.*, 2005; Pereira *et al.*, 2008; Jakupovic *et al.*, 2011). Isobauerenyl acetate was only found in *Euphorbia fischeriana* (Liu *et al.*, 2001) and in two Asteraceae spp.: *Picris hieracioides* (Shiojima *et al.*, 1989a) and *Centaurea aspera* (Picher *et al.*, 1985); δ -amyirin acetate occurs in three Asteraceae spp.: *Vernonia cinerea* (Misra *et al.*, 1984), *Inula britannica* and *Echinops echinatus* (Jakupovic *et al.*, 2011) and in the Phyllanthaceae sp., *Phyllanthus polyanthus* (Ndelebe *et al.*, 2008).

The biosynthesis of lupeyl, taraxasteryl, ψ -taraxasteryl, bauerenyl, as well as that of isobauerenyl acetates therefore appears almost exclusively constrained to Asteraceae. The lack of data concerning δ -amyirin acetate does not allow discussion of its specificity. Remarkable is the detection of pichierenyl, isopichierenyl, gammacer-16-en-3 β -yl and swertenyl acetates in our soil samples since these compounds have only been described in the roots of the hawkweed oxtongue *Picris hieracioides* (Shiojima *et al.*, 1989a,b; 1995).

Although taraxeryl and β -amyirin acetates are also found in Asteraceae (9 and 29 spp., respectively; Yang *et al.*, 1994; Madrigal *et al.*, 1975; Jakupovic *et al.*, 2011), they were also detected in various taxa such as Apocynaceae, Aceraceae, Euphorbiaceae, Crassulaceae, Betulaceae and Moraceae (*e.g.* Dutta and Ray, 1972; Stevens *et al.*, 1994a; b; van Bergen *et al.*, 1997; Vilegas *et al.*, 1997; Wada *et al.*, 1998; Pereira *et al.*, 2008). Multi-

florenyl acetate was found in *Cirsium* sp. and *Ixeris chinensis* (Asteraceae; Ulubelen and Berkan, 1977; Shiojima *et al.*, 1994; Kataria, 1995; Jakupovic *et al.*, 2011), as well as in *Tabernaemontana longipes* (Apocynaceae; Cicció-Alberti and Hoet, 1981), *Euphorbia guyoniana* (Euphorbiaceae; Haba *et al.*, 2007), *Sedum brevifolium* and *S. meyeri-johannis* (Stevens *et al.*, 1994a), and in *Polypodium niponicum* (Polypodiaceae; Ageta and Arai, 1983). α -Amyrin acetate was described in 11 Asteraceae spp. (Jakupovic *et al.*, 2011), but also in various families such as Apocynaceae spp. [*e.g.* *Tabernaemontana laeta* (Medeiros *et al.*, 2001), Crassulaceae (Stevens *et al.*, 1994a), Sapotaceae (*e.g.* *Pouteria tomentosa*; Anjaneyulu, 1965), Moraceae (*e.g.* *Antiaris africana*; Okogun *et al.*, 1976), or Balanophoraceae (*Balanophora abbreviate*; Yadagiri *et al.*, 1984)]. Therefore, taraxeryl, β -amyrin, α -amyrin and multiflorenyl acetates cannot be considered as being specific of Asteraceae. Finally, glutinyl acetate has not been reported in Asteraceae but has been in *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae; van Maarseveen and Jetter, 2009), *Acer mandschuricum* (Aceraceae; Ding *et al.*, 2010), *Erythrophleum fordii* (Fabaceae; Tsao *et al.*, 2008), as well as in *Dorstenia* sp. and *Maquira coriacea* (Moraceae; Woldu *et al.*, 1988; Mitaine-Offer *et al.*, 2001).

4.4.2 Comparison of soil triterpenyl acetate diversity with local plant sources

According to the survey by Antonetti *et al.* (2006), 97 species of Asteraceae occur in the catchment of Lake Aydat, ten being reputed to produce triterpenyl acetates (Table 4.2): the greater burdock (*Arctium lappa*), the musk thistle (*Carduus nutans*), the creeping thistle (*Cirsium arvense*), the mouse-ear hawkweed (*Hieracium pilosella*), the cotton thistle (*Onopordum acanthium*), the bristly oxtongue (*Picris echioides*), the hawkweed oxtongue (*Picris hieracioides*), the goldenrod (*Solidago virgaurea*), the common sowthistle (*Sonchus oleraceus*) and the dandelion (*Taraxacum* sp.).

Picris hieracioides, largely present in the area, appears as the most evident primary source of triterpenyl acetates in our samples because it is the only plant reputed to produce isopichierenyl, pichierenyl, swertenyl and gammacer-16-en-3 β -yl acetates (Shiojima *et al.*, 1989a; b). Because it also produces α -amyrin, β -amyrin, lupeyl, bauerenyl, isobauerenyl, taraxasteryl and ψ -taraxasteryl acetates (Shiojima *et al.*, 1989a; b; 1995), it could also have contributed to these compounds in soil.

Other local sources of β -amyrin acetate from Asteraceae can alternatively be provided by *Cirsium arvense* (Tulloch and Hoffman, 1982) and *Solidago virgaurea* (Choi *et al.*, 2004). Similarly, taraxasteryl acetate can be produced by up to seven species of Asteraceae encountered in the catchment (*Arctium lappa*, *Carduus nutans*, *Cirsium arvense*, *Onopordum*

TAB. 4.2 – Known occurrences of triterpenyl acetates found in soil sample from Lake Aydat Catchment.^{a,b}

Reference	Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Jordon-Thaden and Louda, 2003	Dutta and Ray, 1972; Tulloch and Hoffman, 1982; Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Khalilova <i>et al.</i> , 2003, 2004; Shoeb <i>et al.</i> , 2007	Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Shiojima <i>et al.</i> , 1989a; b; 1995; Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Choi <i>et al.</i> , 2004	Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Hänsel <i>et al.</i> , 1980	Lao <i>et al.</i> , 1983; 1984; Yang <i>et al.</i> , 1994; Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Dutta and Ray, 1972; Ulubelen and Berkan, 1977; Tulloch and Hoffman, 1982; Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	Ahmad and Ismail, 1991; Jakupovic <i>et al.</i> , 2011	van Bergen <i>et al.</i> , 1997; Ding <i>et al.</i> , 2010	Dutta and Ray, 1972; Ahmad and Fizza, 1986; Liu <i>et al.</i> , 2001; Shi <i>et al.</i> , 2005; Haba <i>et al.</i> , 2007
Swertenyl acetate (15)							X								
Gammacerenyl acetate (14)							X								
Pichierenyl acetate (13)							X								
Isopichierenyl acetate (12)							X								
Taraxasteryl acetate (11)	X	X	X		X		X		X		X		X		
ψ -Taraxasteryl acetate (10)			X				X					X			
Bauerenyl acetate (9)							X				X				
Multiflorenyl acetate (8)							X					X			
Lupeyl acetate (7)			X	X		X	X		X		X		X		
α -Amyrin acetate (6)			X				X		X		X				
Glutinyln acetate (5)													X		
Isobauerenyl acetate (4)						X	X		X		X				
β -Amyrin acetate (3)			X				X	X			X		X		
δ -Amyrin acetate (2)												X			
Taraxeryl acetate (1)											X			X	
(a) Asteraceae species															
<i>Arctium lappa</i> L.															
<i>Carduus nutans</i>															
<i>Cirsium arvense</i>															
<i>Hieracium pilosella</i> L.															
<i>Onopordum acanthium</i>															
<i>Picris echioides</i>															
<i>Picris hieracioides</i>															
<i>Solidago virga-aurea</i>								X							
<i>Sonchus oleraceus</i> L.								X							
<i>Taraxacum officinale</i>															
Total (a)							X	X	X	X	X	X	X	X	X
(b) Asteraceae genera															
<i>Artemisia</i> (2)							X		X		X				
<i>Cirsium</i> (7)									X		X		X		
<i>Inula</i> (1)												X			
Total (a)+(b)							X	X	X	X	X	X	X	X	X
(c) Other taxa															
<i>Acer</i>														X	
<i>Euphorbia</i>														X	
Total (a)+(b)+(c)							X	X	X	X	X	X	X	X	X

acanthium, *Sonchus oleraceus* and *Taraxacum officinale*; Jakupovic *et al.*, 2011; Jordon-Thaden and Louda, 2003; Dutta and Ray, 1972; Khalilova *et al.*, 2004; Hänsel *et al.*, 1980). ψ -Taraxasteryl acetate is also synthesised by *Cirsium arvense* (Tulloch and Hoffman, 1982), whereas lupeyl acetates are found in *Cirsium arvense*, *Hieracium pilosella*, *Picris echioides* and *Sonchus oleraceus* (Tulloch and Hoffman, 1982; Jakupovic *et al.*, 2011).

Most of the triterpenyl acetate distribution in our soil sample can thus be explained by Asteraceae species found in the surrounding vegetation, except for taraxeryl, glutinyl, multiflorenyl and δ -amyrin acetates (Table 4.2). Because current knowledge of the distribution of these compounds does not allow explanation of their presence in our sample, alternative explanations can be invoked, each exemplified by one or two compounds:

(i) Taraxeryl, glutinyl, δ -amyrin and multiflorenyl acetates may be produced by other Asteraceae spp. that occur in the catchment but have not yet benefitted from a complete phytochemical survey. Due to their belonging to genera in which other species are known to synthesize triterpenyl acetates, they are likely to do so as well (Table 4.2). In addition to *Cirsium arvense*, six *Cirsium* spp. have been described in the Lake Aydat catchment (*C. acaule*, *C. dissectum*, *C. eriophorum*, *C. erisithales*, *C. palustre* and *C. vulgare*; Antonetti *et al.*, 2006), but whose pentacyclic triterpenyl acetate content has not been investigated. Because multiflorenyl acetate was described in *Cirsium* sp. and *C. benedictus* (Asteraceae; Ulubelen and Berkan, 1977; Kataria, 1995), it is tempting to suppose that one of the *Cirsium* spp. in the catchment could also produce multiflorenyl acetate. Similarly, because taraxeryl acetate was described in *Artemisia dalailamae* (Yang *et al.*, 1994), it could possibly originate from *Artemisia verlotiorum* or *A. vulgaris* (Asteraceae), both reported in the area. Likewise, δ -amyrin acetate was described in *Inula britannica*, while another species of the genera, *I. conyza*, grows in the area and could therefore be the source of this compound in the soil sample.

(ii) The compounds are produced by plants other than Asteraceae in the catchment. If the two preceding examples can help clarify the presence of taraxeryl, δ -amyrin and multiflorenyl acetates, they cannot account for the presence of glutinyl acetate. According to phytochemical data, this compound is only described in *Erythrophleum fordii* (Fabaceae: Tsao *et al.*, 2008), *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae: van Maarseveen and Jetter, 2009), *Acer mandshuricum* (Aceraceae: Ding *et al.*, 2010), *Dorstenia* sp. and *Maquira coriacea* (Moraceae: Woldu *et al.*, 1988; Mitaine-Offer *et al.*, 2001), none of these species or genus being found in the catchment except for *Acer* sp. (*A. pseudoplatanus*, *A. campestre* subsp. *campestre* and *A. platanoides*; Antonetti *et al.*, 2006). In the area, the occurrence of *Acer* species could thus explain the presence of glutinyl acetate in the soil sample.

(iii) The compounds are produced by one or several of the already identified potential sources of triterpenyl acetates. Asteraceae spp. developed around Lake Aydat could synthesize distinct triterpenyl acetates distinct from those in the same species cited in the literature. Such a variability in chemodemes (*i.e.* biochemical races - plants from the same species producing distinct chemicals depending on location, environmental conditions or slight genetic differences) have, for example, been described for pentacyclic triterpene methyl ethers in New Zealand (Connor and Purdie, 1976).

(iv) Pentacyclic triterpenes are reputed to suffer structural rearrangements and double bond migration during diagenesis that could affect the original diversity of compounds (*e.g.* Rullkötter *et al.*, 1994). This phenomenon, well documented from laboratory experiments for compounds the oleanane series (Courtney *et al.*, 1958; Coates *et al.*, 1967), is also observed in sedimentary records (Rullkötter *et al.*, 1994). Precisely, friedel-3-ene, glutin-5-ene, multiflor-7-ene and taraxer-14-ene are progressively rearranged to olean-18-ene, olean-12-ene and finally olean-13(18)-ene isomers. Such rearrangements have also been reported for the hopane and fernane series (Nishimoto *et al.*, 1968) in rock and sediment samples (Volkman *et al.*, 1986; Paull *et al.*, 1998). To our knowledge, the only studies about such reactions on triterpenyl acetates carried out in the laboratory (Chatterjee *et al.*; 1976), showed the acid-induced transformation of taraxeryl acetate to β -amyrin acetate, which could further be transformed to δ -amyrin acetate. To our knowledge, the stability of pichierenyl or swertenyl acetates in natural environments remains to be checked. Thus, in the absence of available evidence, the possibility of rearrangements of triterpenyl acetates in soils can be excluded, further work being needed to ascertain whether this conclusion could be extended to sediments, especially over a long duration.

4.4.3 Potential palaeoenvironmental implications

Few studies have reported the occurrence of triterpenyl acetates in soil and sediments (Logan *et al.*, 1995; van Bergen *et al.*, 1997; Xu *et al.*, 2008; Oyo-Ita *et al.*, 2010; Trendel *et al.*, 2010). According to Oyo-Ita *et al.* (2010), this lack can be explained by the procedures generally applied, saponification entailing loss of the acetate group. These authors also underline the possibility of natural hydrolysis of the ester bond during riverine transport. They therefore attribute the presence of triterpenyl acetates in sediments to a local source. Despite the few reports, no origin was proposed for the compounds, probably because, except for lupeyl acetates, those detected (taraxeryl, germanicyl, δ -amyrin, β -amyrin acetates) were not of direct taxonomical interest. To our knowledge, our work constitutes the

first report on bauेरane, taraxastane, swertane and pichierane acetates in soil, which can be unequivocally linked to Asteraceae.

Asteraceae are defined as meadow and pasture species (semi-open to open habitats) that colonize disrupted environments and are able to invade fallow land developed on abandoned arable land (Cronquist, 1980; Bouby and Billaud, 2001, 2005; Antonetti *et al.*, 2006). Their pollen is frequently used as an anthropogenic indicator because it is found mainly in settlements next to cultivated fields, in mowed or grazing places, or in ruderal communities (*i.e.* growing in rubbles; Hicks, 1992; Court-Picon *et al.*, 2006). Thus, the detection of triterpenyl acetates in soil and sediments could attest to both open vegetation and major perturbation in the catchment, under natural but more obviously anthropogenic influence.

The compounds could constitute diagnostic tracers of agriculture and other human activities. For example, the presence of various Asteraceae seeds in a Late Bronze Age (905-869 BC) settlement on the shore of Lake le Bourget was related to their ethnobotanical properties, their consumption as human food or livestock fodder, dye and/or medicine (Bouby and Billaud, 2001; 2005). Triterpenyl acetates thus extend the panel of biomarkers for past flora that can attest, in favourable cases, to human activities such as miliacin for millet (Jacob *et al.*, 2008), other pentacyclic triterpene methyl ethers for Gramineae (Ohmoto *et al.*, 1970; Jacob *et al.*, 2005; Zocatelli *et al.*, 2010), *iso*- and *anteiso*- monomethyl alkanes for culinary and aromatic herbs from the Lamiaceae family (Huang *et al.*, 2011) and more generally those reported by Evershed (2008) with respect to archaeology. As with these other biomarkers, triterpenyl acetates can constitute a reliable tool for tracing the presence of plants of economic interest. They could reinforce other widely used techniques that allow detection of the presence of Asteraceae in any sedimentary or archaeological context: for example, for palynological studies that suffer from the under representation of Asteraceae in pollen records because of their dispersal mode (Andrieu *et al.*, 1997).

4.5 Conclusions

Neutral lipids in soils developed under pasture and meadow exhibit a wide array of pentacyclic triterpene structures bearing an acetate group at C-3. Among these, C-3 acetates with bauेरane, taraxastane, swertane and pichierane skeletons are reported in natural archives for the first time. An exhaustive review of the phytochemical literature allowed us to unequivocally attribute some of the triterpenyl acetates to a single vegetation source within the Asteraceae family. This specificity confers to these compounds a high potential as tracers of Asteraceae - and thus of open environments - for palaeoenvironmental studies.

Acknowledgments

The study was supported by the Erode project funded by the INSU/CNRS and Otarie project funded by the Région Centre and the European Council. M.L. also acknowledges the Région Centre for a PhD grant. We thank S. Abrams and K. Nelson (National Research Council of Canada's Plant Biotechnology Institute, Canada) for providing reference compounds from the Professor Tulloch collection, M. Benkhaled (Batna University, Algeria) for multiflorenyl acetate and Professor A. Salatino (São Paulo University, Brazil) for bauerenyl acetate. We also greatly appreciate the help provided by Professor W. Berensohn (Botanical Garden and Botanical Museum, Berlin, Germany), project director of the Bohlmann Files. We are grateful to H.M. Talbot and an anonymous reviewer for corrections and constructive comments. *Associate Editor - I. D. Bull*

Chapitre 5

Indices moléculaires d'un récent changement d'occupation des sols : transition prairie - forêt

Bien que les impacts, irréversibles à l'échelle historique, des changements d'usages des sols soient largement admis en ce qui concerne leurs propriétés chimiques globales ou la composition des communautés végétales sus-jacentes, peu de connaissances existent au sujet de la persistance d'indices moléculaires d'occupations anciennes dans les sols. Dans ce but, le contenu lipidique de trois monolithes de sols a été examiné afin d'estimer si l'assemblage de biomarqueurs moléculaires peut attester un ancien usage du sol. Le contenu lipidique libre neutre de deux sols de référence, développés l'un sous prairie et l'autre sous forêt, ainsi que d'un sol anciennement sous prairie ayant été converti en forêt il y a une soixantaine d'années, a été analysé en CG-SM. L'attention a été portée sur les biomarqueurs définis au chapitre précédent comme permettant la distinction entre les sols sous prairies et sous forêts, à savoir les *n*-alcanes et *n*-alcan-2-ones, les esters de cires, les esters méthyliques d'acides gras naturellement présents (FAMES), les diterpènes tricycliques oxygénés ou non, des stéroïdes et des triterpénoïdes. Contrairement au concept couramment admis supposant que le temps de résidence et la stabilité de la matière organique augmentent avec la profondeur dans le profil de sol, aucune relation n'a pu être établie entre la profondeur et l'âge des assemblages moléculaires. Les esters de cire, *n*-alcanes et *n*-alcan-2-ones permettent de caractériser la végétation sus-jacente au long des deux profils de référence, mais n'autorisent pas la distinction entre les contributions respectives des végétations prairiale et forestière dans le profil de sol ayant subi un changement d'occupation. Ceci résulte probablement (i) d'un mélange entre l'ancien et le nouvel assemblage moléculaire (affectant les *n*-alcanes et les *n*-alcan-2-ones) et/ou (ii) de la dégradation de composés hérités de l'usage passé (esters de cire) qui efface l'information ancienne. A l'inverse, les FAMES, et plus largement les diterpénoïdes tricycliques et leurs formes oxygénées, les stéroïdes et les triterpénoïdes (méthoxyserratènes et acétates de triterpényle) se montrent suffisamment résistants et efficaces pour distinguer l'occupation des sols, à la fois dans les profils de référence et dans le sol converti. Ainsi, les critères moléculaires de distinction basés sur la présence/absence d'un(e famille de) composé(s) se révèlent plus efficaces que les critères basés sur les abondances relatives, puisqu'ils ne sont pas affectés par les possibilités de variation de concentration selon les conditions environnementales.

Afin de faciliter la lecture, les échantillons ont été désignés comme suit dans ce chapitre :

- **Sp**, qui est le sol de référence sous prairie, correspond au #20 du chapitre précédent,
- **Sf**, qui est le sol de référence sous forêt, correspond au #36 du chapitre précédent,
- **Spf**, qui est le sol anciennement sous prairie, converti en forêt, correspond au #34 du chapitre précédent.

Pour les mêmes raisons, la numérotation des composés considérés est celle employée pour l'inventaire (chapitre 3).

Molecular evidence for recent soil land use change from grassland to forest in the French Massif Central

Marlène Lavrieux^{a,b}, Jean-Gabriel Bréheret^a, Jean-Robert Disnar^b, Jérémy Jacob^b,
Claude Le Milbeau^b, Renata Zocatelli^b

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 CNRS/INSU, Université d'Orléans, Laboratoire de Géologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université François-Rabelais de Tours, Parc Grandmont, 37200 Tours, France.

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, UMR 6113 CNRS/INSU, Université François Rabelais de Tours, 1a rue de la Férollerie, 45071 Orléans Cedex 2, France.

Abstract

Although the irreversible impacts of land use changes on soils are largely admitted at the historical scale in terms of bulk chemical properties or of the composition of the vegetation communities, little is known on the persistence of molecular indices of past land uses in soils. In this respect, the lipid content of three soil monoliths from the French Massif Central has been examined in order to assess whether molecular biomarker imprints can attest to former landuse. The free neutral lipid content of two reference soils developed under a grassland and a forest vegetation and of a soil for which landuse was converted from grassland to forest about 60 years ago was analysed by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). The attention was focused on biomarkers previously defined as being able to discriminate grassland from forests, namely *n*-alkanes and *n*-alkan-2-ones, wax esters, naturally occurring fatty acid methyl esters (FAMES), tricyclic diterpenoids and their oxygenated forms, steroids and triterpenoids.

In contrast to the well known concept of increasing turnover time and organic matter (OM) stabilisation with depth in soil profiles, no relationship could be established between depth and the age of molecular assemblages.

Wax esters, *n*-alkanes and *n*-alkan-2-ones were relevant for characterizing the overlying vegetation along the whole reference forest and grassland soil profiles but they failed to distinguish the respective grassland and forest contributions in the soil profile that was converted from grassland to forest. This most probably results from (i) a mixing of the former and current molecular pattern affecting *n*-alkanes and *n*-alkan-2-ones and/or (ii) the degradation of compounds inherited from the past use (wax esters for example) that

erases the information they could bear. Conversely, FAMES, and to a larger extent tricyclic diterpenoids and their oxygenated forms, steroids and triterpenoids (including methoxy-serratenes and triterpenyl acetates), are sufficiently resistant and efficient to distinguish landuse in the reference soil profiles as well as in the converted soil.

Keywords: Soils, Biomarkers, Land-use changes, Grassland / Pasture, Conifer forest, French Massif Central.

5.1 Introduction

In the perspective of preparing future societies to global environmental changes due to increasing human pressure on the Earth system, the history of human-climate-environment interactions is of still growing interest (Dearing, 2006). Knowledge of ancient interrelationships requires the development of new tools enabling the reconstruction of past environments and ecosystems, including past land uses. Natural archives, such as sediments but also soils, are reputed to retain the signature of past environmental settings. It is now largely admitted that, at least at the historical scale, land use changes have irreversible impacts on soils, in terms of bulk chemical properties, nutrients availability, structure and patterns of surrounding vegetation communities (*e.g.* Peterken and Game, 1984; Dupouey *et al.*, 2002; Prévosto *et al.*, 2002; Hurtt *et al.*, 2006; Fraterrigo *et al.*, 2009). Among the different approaches developed to distinguish past land uses, the carbon isotopic composition of organic remains preserved in soils was successfully applied to decipher savanna grassland (C4) vs. woodland (C3) successions (Schwartz *et al.*, 1986; Biedenbender *et al.*, 2004; Bai *et al.*, 2009; Bai *et al.*, *in press*). The rationale for this approach is that the C isotopic composition of the soil organic matter (SOM) undergoes only limited change in the course of its evolution (Boutton, 1996; Boutton *et al.* 1998; Bernoux *et al.*, 1998), and is thus reputed stable at geological time scales (Cerling *et al.*, 1989). Unfortunately, this tool is generally not applicable under temperate habitats, where herbaceous plants and trees both use the same C3 pathway.

While numerous studies have looked for lipids and other molecular indicators of ancient land uses in lacustrine sediments (*e.g.* Cranwell, 1984; Jacob *et al.*, 2005; Fisher *et al.*, 2003), little is known about the persistence of lipid imprints through time in soils (Jansen *et al.*, 2008; Wiesenberg *et al.*, 2010). The overwhelming majority of the studies currently available about soil lipids deal with the relationships between their current land-use and their molecular content (*e.g.* Otto and Simpson, 2005; van Bergen *et al.*, 1997; Trendel *et al.*, 2010). Only few studies examined the survival potential of soil lipids at the decadal (Wiesenberg *et al.*, 2004) or even millennial scale (Huang *et al.*, 1996). However, estimating the pertinence and persistence of biomarker signatures in soils is of crucial importance and

could provide key information applicable to the analysis of molecular biomarkers preserved in lacustrine sediment records that are frequently used to track the evolution of palaeoenvironmental conditions in the catchment. In this perspective, it is effectively essential to know whether the studied signal corresponds to an instantaneous snapshot of the catchment, or if it concerns a longer lapse of time - *i.e.* potentially information about past land-uses.

In a previous study, we demonstrated through an exhaustive inventory that the neutral lipid content of surface horizons of soils can be indicative of the surrounding vegetation and landuse, depending on the studied compounds (Lavrieux *et al.*, *in prep*¹). In addition, we detected in these soils triterpenyl acetates that are specific of Asteraceae and were mainly detected in soils developed under grasslands (Lavrieux *et al.*, 2011²) and methoxyserratenes that are specific of Pinaceae and were found in soils developed under forests (Le Milbeau *et al.*, *in prep*³). The present paper makes use of these results in order to compare three soil profiles having had different land use histories in Lake Aydat catchment (Massif Central, France). Two of these soils remained under the same overlying vegetation (grasses and conifers, respectively) for at least the last 60 years, and are used here as references. The third soil was covered by a pasture/grassland 60 years ago and was then converted to a forest (mainly *Picea* sp.). The comparison of these soils allows us discussing the potential of molecular biomarkers to unravel the history of soil usage.

5.2 Setting

Lake Aydat is located about 25 km SW from Clermont-Ferrand, in the French Massif Central (Fig. 5.1). The small catchment of the lake ($\sim 30 \text{ km}^2$), that itself belongs to the River Loire one, is at an altitude ranging from 837 m (lake level) to *ca.* 1,300 m above sea level, at the summit of volcanoes of the Chaîne des Puys. The Veyre River is the lake major tributary.

Andisols constitute the typical type of soils that covers the catchment. From a general point of view, these soils develop on a mostly basaltic substratum, and are characterised by a high OM residence time (Dahlgren *et al.*, 2004; Torn *et al.*, 1997). In Lake Aydat catchment, the soils are rather thin (max. 30 cm depth), well drained and slightly acidic (Chambre d'Agriculture du Puy de Dôme, 2002). Located in a medium range mountainous region, the catchment is subject to a harsh climate. This climatic and geologic uniformity entails a similar pedogenesis in the whole area.

¹ Chapitre 3

² Chapitre 4

³ Egalement détaillé en annexe A

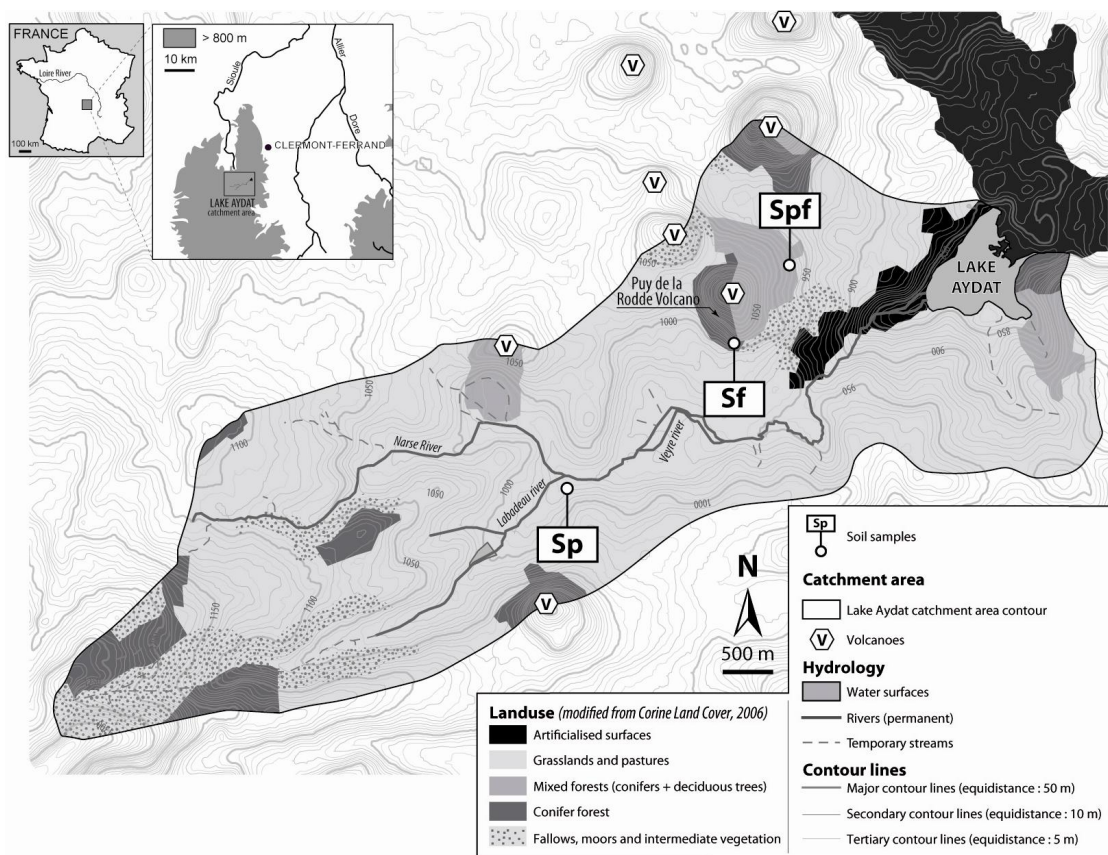


FIG. 5.1 – Localisation of the catchment of Aydat Lake, of current land-use and of sampling sites.

5.2.1 Recent land use history

Until the middle of the 20th century, self-sufficiency in the region resulted in agricultural landscapes shared out between cereal and vegetable farming, and breeding, in a context of tough natural conditions requiring traditional production methods (Michelin, 1996). Severe land use changes intervened just after the Second World War when the intensification and the specialisation of agriculture in production basins affected the whole France. Combined with industrial and urban development, these historical changes triggered rural exodus (Bazin *et al.*, 1983; Prévosto *et al.*, 2002). The favourable climate of the region allowed then an intensive reforestation, initiated to face the increasing demand in wood of the European market and to slow down the advance of uncultivated lands (Gadant, 1968). Nowadays, most of the catchment is covered by unploughed grasslands (pastures and meadows; Michelin, 1996) and, to a lesser extent, by shrubs that develop on former grazing plots. The top of volcanic mounts is covered by forests (generally artificial forests of coniferous, mostly of *Picea* sp.).

5.3 Materials and methods

5.3.1 Sampling

35 soil cores developed under the different land use types encountered in Lake Aydat catchment were sampled at fall 2008 (Lavrieux *et al.*, *in prep*⁴). 3 of these 35 soil profiles were selected in order to assess the impacts of land use changes on soil lipid composition. The main characteristics of these soils are summarized in Table 5.1. Their past land use has been assessed from aerial pictures taken in 1946. Accordingly, soil Sp (16 cm thick) and soil Sf (22 cm thick) have been occupied by a pasture and a coniferous forest for more than 60 yrs, respectively. In contrast, soil sample Spf (14 cm thick) was taken in a forest that was formerly a pasture 60 yrs ago. The slope calculated for the soil under pasture is moderate (5.7°), and higher for the current forests (11.0° for Spf, 14.9° for Sf) that are located on the hillside of the "Puy de la Rodde" volcano (Fig. 5.1). Visual observation showed that the organo-mineral horizon A, of sand-silt constitution, is the only recognizable above the C horizon out of the humus that is in sharp contrast to the subjacent horizon in the forest samples. This organic horizon is about 6 cm and 8 cm thick in Spf and Sf soil profiles, respectively.

5.3.2 Lipid analyses

Since a single A organo-mineral horizon, accompanied by the humus in forests soils, could be distinguished, soil monoliths were sub-sampled in 2 cm thick slices. Sub-samples were dried at 40 °C over 48h in an oven and crushed in a mortar, and then sieved at 2 mm.

An aliquot (*ca.* 2 g) of each sample was extracted by way of automatic solvent extraction with a Dionex® ASE 200 using a mixture of CH₂Cl₂:MeOH (1:1 v/v). After removal of the solvent under N₂, the extract was separated into neutral, acidic and polar fractions on aminopropyl-bonded silica, as described by Jacob *et al.* (2005). The neutral fraction was further separated into aliphatics, aromatics, ethers + esters, ketones + acetates, and alcohols by flash chromatography on a Pasteur pipette filled with activated silica (24 h at 120 °C, then deactivated with 5% H₂O), using a sequence of solvents of increasing polarity. Gas chromatography-mass spectrometry analysis (GC-MS) was realised with a Thermo® TRACE-GCQ Polaris. The GC instrument was fitted with a Rtx-5MS column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness; 5 m of column guard). The GC operating conditions were: 40 °C (1 min) to 120 °C at 30 °C.min⁻¹, then from 120° to 300 °C (held 30 min) at 5 °C.min⁻¹. Samples were injected in the splitless mode, with the injector set at 280 °C. He was the carrier gas in constant flow mode at 1 ml.min⁻¹. The mass spectrometer was

⁴Chapitre 3

TAB. 5.1 – Main characteristics of the soils. TOC: Total Organic Carbon; HI = Hydrogen Index (mg hydrocarbons.gTOC⁻¹; standard deviation: ±6%); OI = Oxygen Index (CO₂.gTOC⁻¹; standard deviation: ±10%). Standard deviations after Disnar et al., 2003. pH_{CaCl₂} after Zocatelli et al., submitted.

Soil monolith	Depth of the profile (cm)	Slope (°)	Slice depth (cm)	TOC (%wt)	HI	OI	pH _{CaCl₂}	Geological substratum	Current landuse	Past landuse (1946)
Sp	16	5.7	0-2	10,4	273	186	5.76	Basaltic	Pasture	Pasture
			2-4	9,4	248	192				
			4-6	9	244	199				
			6-8	7,4	221	204				
			8-10	6,5	211	214				
			10-12	5,3	191	222				
			12-14	5,4	187	220				
			14-16	5,7	168	232				
Spf	14	11.0	0-2	18,2	278	186	5.2	Basaltic (on a volcano)	Forest (Coniferous + Ferns + a few deciduous trees and herbs)	Pasture
			2-4	10,8	232	211				
			4-6	6,7	231	210				
			6-8	8,7	221	210				
			8-10	5,3	184	231				
			10-12	4,1	165	239				
			12-14	4	152	259				
Sf	22	14.9	0-2	12,3	239	187	5.5	Basaltic (on a volcano)	Forest (Coniferous + Ferns + a few deciduous trees and herbs)	Forest
			2-4	8,0	220	378				
			4-6	6,7	194	218				
			6-8	4,6	205	200				
			8-10	5,7	225	201				
			10-12	4,3	176	222				
			12-14	4	158	253				
			14-16	3,3	141	246				
			16-18	3	140	263				
			18-20	2,7	132	263				
			20-22	2,4	114	271				

operated in the electron ionization (EI) mode at 70 eV and scanned from m/z 50 to 600. For details on compound identification, see Lavrieux *et al.* (2011, *in prep*⁵) and Le Milbeau *et al.* (*in prep*⁶).

5.3.3 pH, granulometry and Rock-Eval pyrolysis

The measurement techniques and data on soil pH, granulometry and OM quantitation and characterisation through Rock-Eval pyrolysis [*i.e.* mainly Total Organic Carbon (TOC, %), Hydrogen Index and Oxygen Index (HI and OI in mg hydrocarbons.gTOC⁻¹ and CO₂.gTOC⁻¹)] were presented in a previous study on Lake Aydat catchment soils (Zocatelli *et al.*, submitted⁷), thus only those fully relevant to the studied soils are mentioned in the following discussion.

⁵Chapitres 3 et 4

⁶Egalement détaillé en annexe A

⁷Annexe B

5.4 Results and discussion

5.4.1 Bulk analyses

As generally observed in soils (*i.e.* Marseille *et al.*, 1995, Disnar *et al.*, 2003), TOC decreases with depth in the three studied soils (Fig. 5.2, Table 5.1). These three soils are rich in OM independently of their vegetation cover, varying from 10-18% at the surface (soils Sp and Spf, respectively) to 4-5.5% at 12-14 cm depth (soils Spf - Sf, and soil Sp respectively). TOC of the deepest soil profile (Sf) stabilizes around 2.4% down to its base (20-22 cm depth). This decrease is progressive in the grassland soil, whereas the two forest soils are affected by a re-increase of TOC just below the humus.

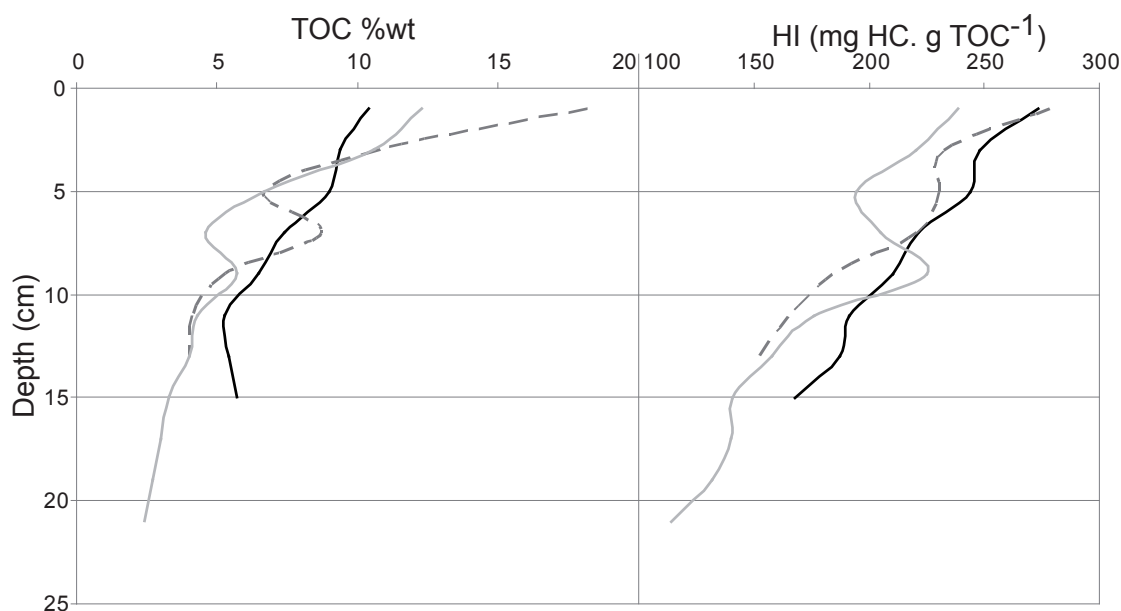


FIG. 5.2 – Total Organic Carbon and Hydrogen Index vs. depth, for the three soil cores. Solid black lines: Soil Sp, solid light grey lines: soil Sf, dotted dark grey lines: soil Spf.

HI values (Fig. 5.2, Table 5.1) also globally decreases with depth, but not linearly with TOC, and once more in a bi-phased trend for Sf and Spf. Values range from 239-278 mg HC.gTOC⁻¹ (Sf and Spf, respectively) at the top, to 152-187 mg HC.gTOC⁻¹ at 12-14 cm depth (Spf and Sp, respectively). A lower value of 114 mg HC.gTOC⁻¹ is reached in the deepest Sf level.

In the three soil profiles, OI values increase regularly with depth (from 186 at the top to 220-259 mg CO₂.gTOC⁻¹ at 12-14 cm depth, and up to 271 mg CO₂.gTOC⁻¹ at the bottom of Sf), except for Sf where the 2-4 cm depth slice is in sharp contrast with the otherwise progressive evolution of the parameter.

Characterizing molecular biomarkers stands on the qualitative and quantitative preservation ability of the OM within soil profiles, which can first be appraised by bulk OM analysis. First of all, the richness in TOC in all the samples testifies to a long residence time of SOM, and thus of a good OM preservation. This is reinforced by the complete absence of aromatic compounds underlined in a previous study on the same samples (Lavrieux *et al.*, *in prep*⁸), that plays in favor of a well preserved lipid content (Spyckerelle, 1975).

HI values of the sub-surface samples (2-4 cm) are similar to those measured on other samples of the catchment (Zocatelli *et al.*, submitted⁹) but are quite low when compared to the large soil sample set studied by Disnar *et al.* (2003). However, as pointed out by these authors, HI values are largely dependent on the local vegetation. The progressive HI decrease with increasing depth in the soil profiles, and the associated OI increase clearly depicts the global tendency towards further oxidation that affects SOM in the profiles, together with the increase in humification and mineralization (Disnar *et al.*, 2003). The 2-4 cm section of the forest soil Sf is very singular. Particularly high OI values reflect an advanced state of oxidation, *i.e.* a low degree of OM preservation. Effectively, previous analyses performed on this sample revealed a high content of free fatty acids indicative of a release of these compounds by hydrolysis of plant esters (Zocatelli *et al.*, submitted¹⁰). Comparison between Sf and Spf shows that Spf displays a higher TOC associated with a lower pH. According to Prévosto *et al.* (2002), who worked on soils sampled in the north of Aydat catchment - including one located on the northside of the Puy de la Rodde near from where Sf and Spf were taken (Fig. 5.1), this tendency is typical for current forest soils known as ancient moors. Assuming that a parallel can be drawn with an evolution from grassland to forest, it could explain the differences observed between Spf and Sf, and constitute an indication in favour of the possible conservation of the ancient grassland imprint in the soil Spf.

5.4.2 Lipid content

Previous works on soils from the same catchment (Lavrieux *et al.*, 2011, *in prep*¹¹; Le Milbeau *et al.*, *in prep*¹²) allowed determining clear criteria for distinguishing grassland and forest soils based on the following characteristic biomarker features: occurrence or absence of wax esters, tricyclic diterpene hydrocarbons and their oxygenated derivatives, triterpenoids such as methoxyserratenes, triterpenyl acetates and an unidentified compound, as well as on the relative abundance of steroids, of the dominant homologues of *n*-alkanes

⁸Chapitre 3

⁹Annexe B

¹⁰Annexe B

¹¹Chapitres 3 et 4

¹²Egalement détaillé en annexe A

and *n*-alkan-2-ones, distributions and of the C_{15:0} FAME and its *iso* and *anteiso* isomers. The greatest part of soil lipids directly originates from the local vegetation (van Bergen *et al.*, 1997). However, the composition of SOM in subsoils can also be strongly affected by pedogenetic processes (Rumpel *et al.*, 2002). Assuming that the three sampled soils underwent the same pedogenesis, only differences in the composition of the surrounding vegetation can be invoked to explain the variations observed in their lipid composition, at least in first hypothesis. This entails that the variations of biomarker concentration along the studied profiles can not be due to selective compound degradation.

A general overview of soil lipid content in the Spf profile shows that it is qualitatively highly homogeneous, the main differences lying in the relative proportions of compounds. This homogeneity is exemplified in Fig. 5.3, where the distribution of compounds in a representative fraction (ketones / acetates) from two distinct samples (namely, 2-4 cm and 10-12 cm) is displayed.

5.4.2.1 Forest biomarkers

5.4.2.1.1 Diterpenoids and oxygenated tricyclic diterpenoids

Tricyclic diterpenoid hydrocarbons and oxygenated derivatives, well known as conifer products (*e.g.* Otto and Wilde, 2001 and references therein; Stefanova *et al.*, 2002, and references therein), are totally absent in the grassland soil Sp. 9 tricyclic diterpenes were found in Sf and Spf, in variable proportions (Fig. 5.4) but quite similarly in the two soils. More diverse oxygenated tricyclic diterpene distributions in Sf (18 compounds) than in Spf (13 compounds) suggest slight differences in the local plant source(s) or a more diluted content in Spf that does not allow detecting all the compounds. An alternative hypothesis would consider these lower compound concentrations as resulting from a lower accumulation of tricyclic diterpenes as a consequence of a shorter time of coverage by conifers.

5.4.2.1.2 Methoxyserratenes

Compounds belonging to the methoxyserratene family are highly specific to conifers (Le Milbeau *et al.*, *in prep*¹³). 8 methoxyserratenes (6 tentatively identified as 3 α -methoxyserrat-13-en-21-one, 3 α ,21 β -dimethoxyserrat-14-ene, 21 β -methoxyserrat-14-en-3-one, 3 α -methoxyserrat-14-en-21-one, 21 α -methoxyserrat-14-en-3-one, 3 β -methoxyserrat-14-en-21-yl acetate, and 3 α -methoxyserrat-14-en-21 β -ol, and 3 β -methoxyserrat-14-en-21 β -ol) were found in Sf but none in the grassland soil Sp. These compounds are also present in the Spf profile, but often as traces, even at the top of the profile (Fig. 5.4). This might

¹³Egalement détaillé en annexe A

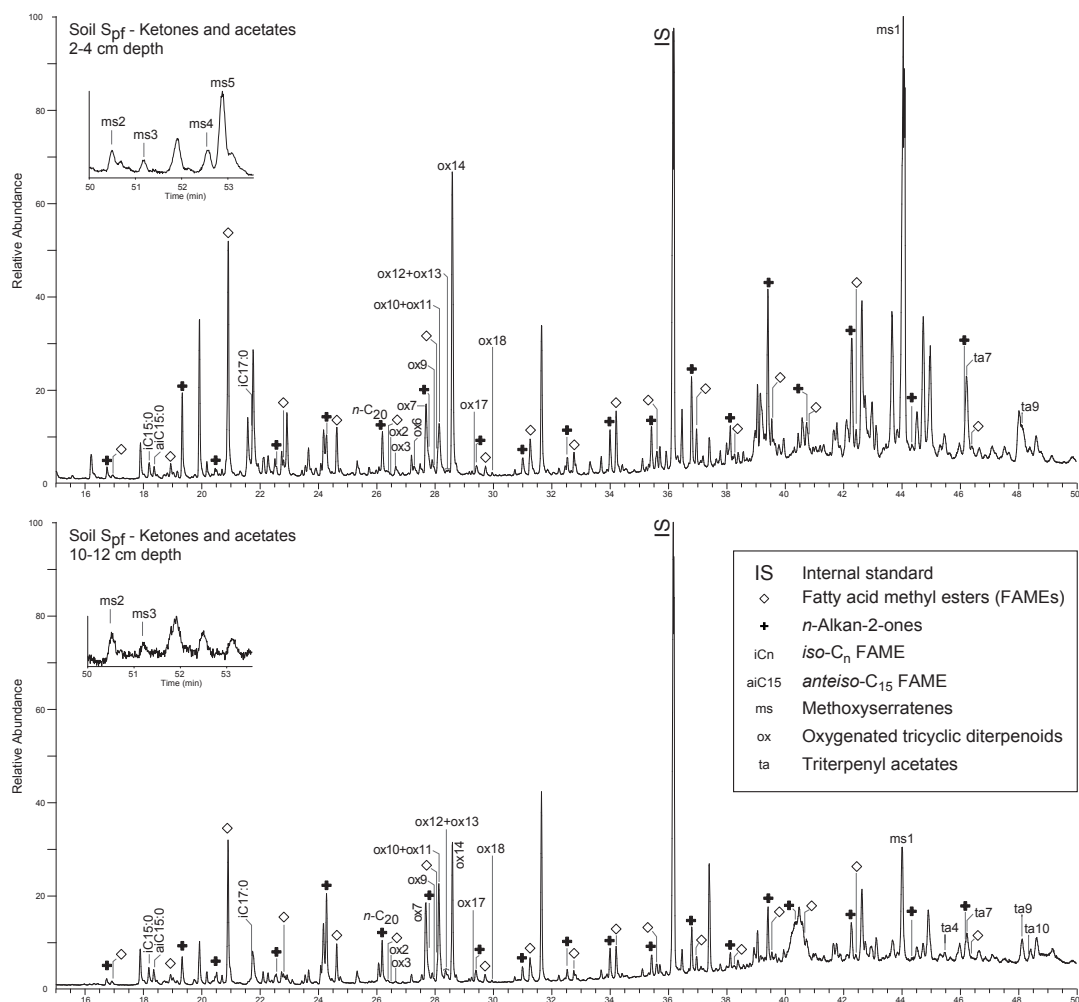


FIG. 5.3 – GC-MS traces of the slices 2-4 cm and 10-12 cm of the ketone / acetates fraction of the soil profile Spf. The same quantity of standard (IS, 5α -cholestane) has been added to each fraction. Nomenclature of the compounds after Lavrieux *et al.* (*in prep*; refer to this article for details). Oxygenated tricyclic diterpenes: ox2 = abieta-8,11,13-trien-7-one; ox12 = dehydroferruginol; ox18 = 12-hydroxysimonellite; ox3, ox6, ox7, ox9, ox10, ox11, ox13, ox14, ox17 = unidentified compound. Triterpenyl acetates: ta4 = isobauerenyl acetate; ta7 = lupeyl acetate; ta9 = bauerenyl acetate; ta10 = taraxasteryl acetate. Methoxyserratenes: ms1 = 3α -methoxyserrat-13-en-21-one?; ms2 = $3\alpha,21\beta$ -dimethoxyserrat-14-ene?, ms3 = 21β -methoxyserrat-14-en-3-one?, ms4 = 3α -methoxyserrat-14-en-21-one?, ms5 = 21α -methoxyserrat-14-en-3-one?.

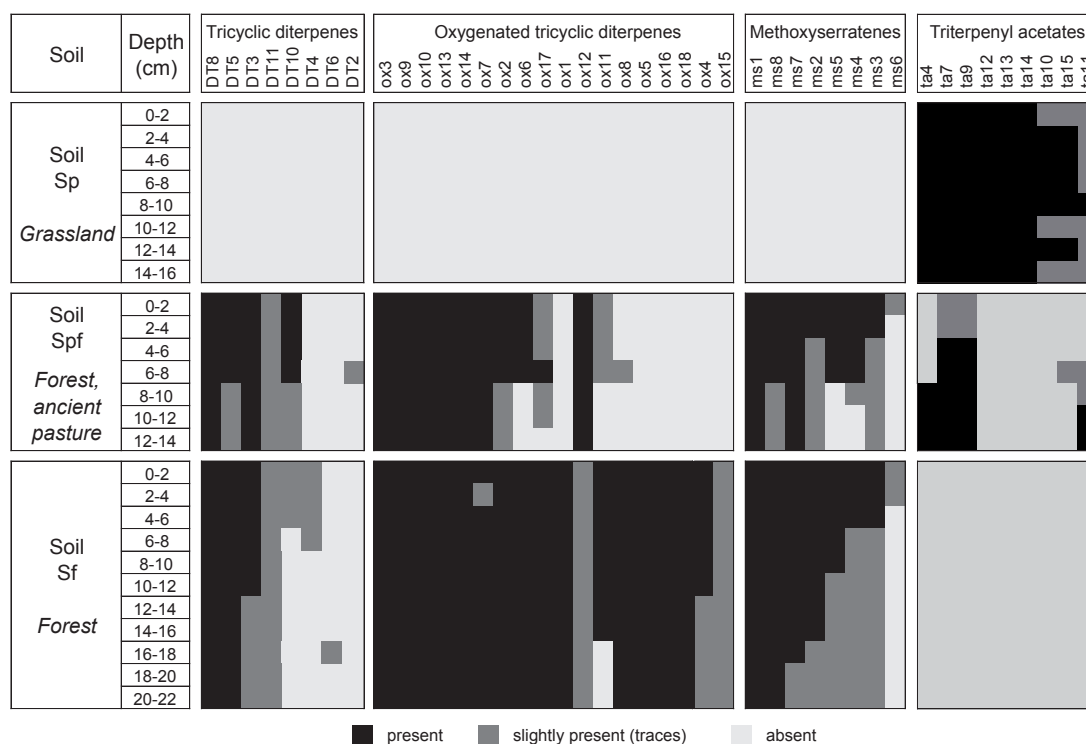


FIG. 5.4 – Occurrence of forest biomarkers (tricyclic diterpenes, oxygenated tricyclic diterpenes, methoxyserratenes) and grassland biomarkers (triterpenyl acetates) in the three soil profiles. Nomenclature after Lavrieux *et al.* (*in prep*; refer to this article for details). Tricyclic diterpenes: DT1, DT4, DT6 = norabietadiene isomers; DT2, DT3, DT5, DT8 = abietadiene isomers; DT7, DT10 = 19(18)-norabieta- 8,11,13-triene isomers; DT9 = 18(19)-Norabieta-4(19),8,11,13-tetraene; DT11 = dehydroabietane. Oxygenated tricyclic diterpenes: ox2 = abieta-8,11,13-trien-7-one; ox12 = dehydroferruginol; ox18 = 12-hydroxysimonellite; ox1, ox3-ox11, ox13-ox17 = unidentified compounds). Methoxyserratenes: ms1 = 3 α -methoxyserrat-13-en-21-one?, ms2 = 3 α ,21 β -dimethoxyserrat-14-ene?, ms3 = 21 β -methoxyserrat-14-en-3-one?, ms4 = 3 α -methoxyserrat-14-en-21-one ?, ms5 = 21 α -methoxyserrat-14-en-3-one?, ms6 = 3 β -methoxyserrat-14-en-21-yle acetate?, ms7 = 3 α -methoxyserrat-14-en-21 β -ol?, ms8 = 3 β -methoxyserrat-14-en-21 β -ol?. Triterpenyl acetates: ta4: isobauerenyl acetate, ta7: lupeyl acetate, ta9: bauerenyl acetate, ta10: taraxasteryl acetate, ta11: ψ -taraxasteryl acetate, ta12: isopichierenyl acetate, ta13: pichierenyl acetate, ta14: gammacerenyl acetate, ta15: swertenyl acetate.

result from a too short time of OM accumulation, especially for the bottom levels of the profile.

5.4.2.2 Grassland biomarkers

5.4.2.2.1 Wax esters

As assumed in a previous work, the wax esters occur specifically in the grassland soils (Lavrieux *et al.*, *in prep*¹⁴). Accordingly, compounds of this family have been only detected in the grassland soil Sp but not in the forest profile Sf. They are also absent of the Spf monolith, that typifies a forest imprint. Their absence can be explained by a quicker hydrolysis of these compounds in the forest soils than in grasslands. It can thus be hypothesized that in Spf, the conversion to forest rapidly led to conditions that favored a fast hydrolysis of the wax esters.

5.4.2.2.2 Triterpenyl acetates

Bauerenyl, isobauerenyl, lupeyl, taraxasteryl, ψ -taraxasteryl, swertenyl, pichierenyl, isopichierenyl, and gammacerenyl acetates, previously defined as specific markers of Asteraceae (Lavrieux *et al.*, 2011¹⁵), are all present in variable proportions in soil Sp (grassland), their cumulated proportions ranging from $\sim 0.7 \mu\text{g/g TOC}$ to $\sim 4 \mu\text{g/g TOC}$ (Figs. 5.4 and 5.5). They are totally absent in the forest soil Sf. The soil Spf contains five of them (bauerenyl, lupeyl, isobauerenyl, ψ -taraxasteryl and swertenyl acetates; Fig. 5.5), at cumulated concentrations ranging from ~ 0.025 at the top to $\sim 0.5 \mu\text{g/g TOC}$ towards the bottom of the profile, these concentrations being not significantly different of the concentrations of the same compounds in Sp. The absence of four compounds could be explained by a selective degradation of some of the triterpenyl acetates, but as underlined by Lavrieux *et al.*, 2011¹⁶), the possibilities of rearrangements of these compounds remain unchecked and in absence of evidence, they can be considered as stable. In this hypothesis, the different diversity observed in Sp and Spf is more probably explained by different plant source inputs. The Asteraceae imprint observed in Spf is here explained by its previous land use as grassland. The increase of the compound concentration (normalized to TOC) with depth, could here be related to a progressive downward leaching of these compounds leading to their accumulation toward the bottom of the profile, while the current forestry vegetation contribution that has supplanted grassland one for several decades, no longer supplies the topsoil with fresh herb material.

Pichierenyl, isopichierenyl and gammacerenyl acetates are totally absent from Spf, while swertenyl acetate is slightly detected at 6-8 cm depth only. These four compounds are present all along Sp profile. Lavrieux *et al.*, 2011¹⁷) underlined the high specificity of

¹⁴Chapitre 3

¹⁵Chapitre 4

¹⁶Chapitre 4

¹⁷Chapitre 4

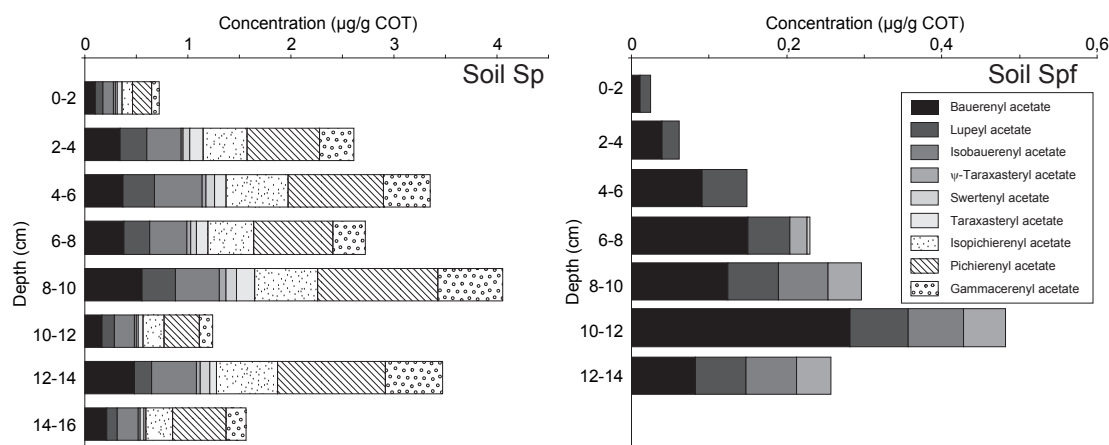


FIG. 5.5 – Quantitation of the specific triterpenyl acetates (Lavrieux *et al.*, 2011) in the Sp and Spf profiles. Concentrations are expressed as $\mu\text{g/g}$ TOC.

these four triterpenyl acetates, that they attributed solely to the species *Picris hieracioides* (hawkweed oxtongue). Accordingly, their almost total absence in Spf allows hypothesizing that (i) during its grassland use, hawkweed oxtongue was probably nearly absent of this plot, and that (ii) as stated above, swertenyl acetate may also be produced by other species, that do not produce pichierenyl, isopichierenyl and gammacerenyl acetates, and that are not described as such to date.

5.4.2.2.3 Steroids

Various steroidal ketones and alcohols were detected in the three soil profiles. Steroids are present in all eukaryote cells, but some of them are more specifically produced by microorganisms in the environment or even much more efficiently in the digestive track of animals (Bull *et al.*, 2002). Accordingly, different steroid ratios have been proposed to attest fecal pollution (*e.g.* Jardé *et al.*, 2007a, b; Tyagi *et al.*, 2008). The fecal marker contribution to Aydat soils has previously been estimated by the following ratio (Lavrieux *et al.*, *in prep*¹⁸):

$$\frac{\text{coprostanol} + \text{epi} - \text{coprostanol} + \text{stigmastanol} + \text{epi} - \text{stigmastanol} + \text{campestanol}}{\text{campesterol} + \text{sitosterol} + \text{cholesterol}}$$

The high value of the steroid ratio (~ 0.8) at the top of Sp is divided by 4 at the bottom of the profile (Fig. 5.6). In contrast, the evolution of the ratio is not linear in Sf where, in addition, the higher values are about 25 and 90 times lower than the lower and higher values encountered in Sp, respectively. In soil Spf the ratio values are low, but always higher

¹⁸Chapitre 3

than those found for Sf. These values increase significantly with depth, indicating a higher fecal contribution at the bottom of the profile, that is fully consistent with its past pasture land use.

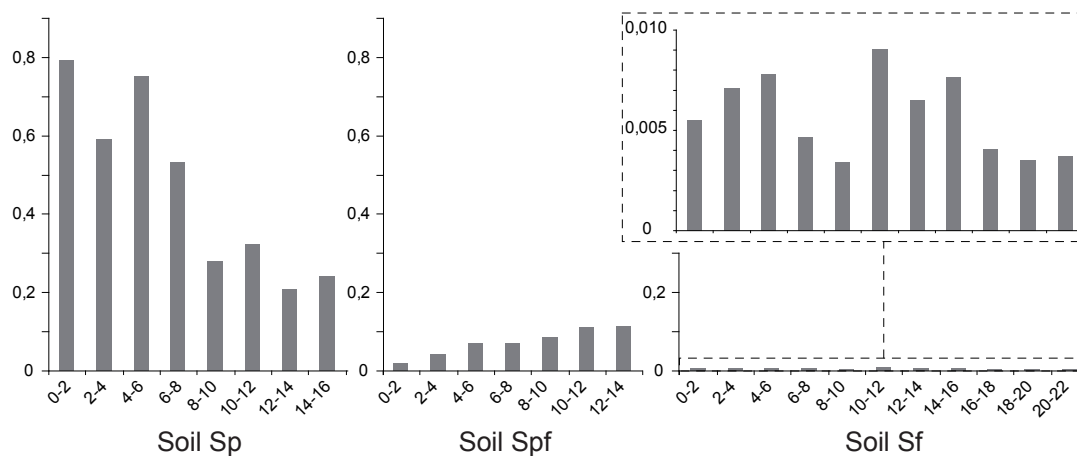


FIG. 5.6 – Evolution with depth of the ratio expressing the fecal contribution in the three soil profiles. See text for details.

5.4.2.3 n-Alkyl compounds

5.4.2.3.1 n-Alkanes and n-alkan-2-ones

n-Alkanes and their β -oxydation products *n*-alkan-2-ones (Lavrieux *et al.*, *in prep*¹⁹) range from *n*-C₁₅ to *n*-C₃₅ in the Sp and Sf profiles, with, in both cases, a strong odd-over-even compound predominance characteristic of higher plants (Eglinton and Hamilton, 1967). In contrast, in soil Spf the *n*-C₃₄ and *n*-C₃₅ homologues were not detected below 8 cm depth. The *n*-C₂₉ / *n*-C₃₁ alkane ratio values (Fig. 5.7) remain < 0.8 all along the grassland profile Sp, whereas it shows values > 1.6 all along the forest soil Sf. The *n*-C₂₉ / *n*-C₃₁ alkan-2-one ratio values (Fig. 5.7) are quite similar to those of the *n*-C₂₉ / *n*-C₃₁ *n*-alkane ratio, except in the Sf topsoil where much higher values (*ca.* x 4) are observed. This is fully consistent with the oxidation that affected the upper levels of this profile, as already mentioned here above. For these two compound families, Spf profile shows intermediate ratio values - namely, always around 1 - that does not allow delineating any evolution from one pool to the other. This could be explained by variable plant inputs, or variable environmental conditions, these two factors having a strong influence on the *n*-alkane signature (Cranwell, 1973a, b; Kerfourn and Garrec, 1992; Marseille *et al.*, 1999). However, the proximity of the Spf and Sf sampling sites does not play in favour of the

¹⁹Chapitre 3

second hypothesis. Another possibility is an averaging of the ratio values by mixing of n -alkanes in soils provided by different types of plants, and in particular of the n -C₂₉ and n -C₃₁ alkanes used for ratio calculation, *i.e.* the dominant homologues in trees and in grass in the area, respectively.

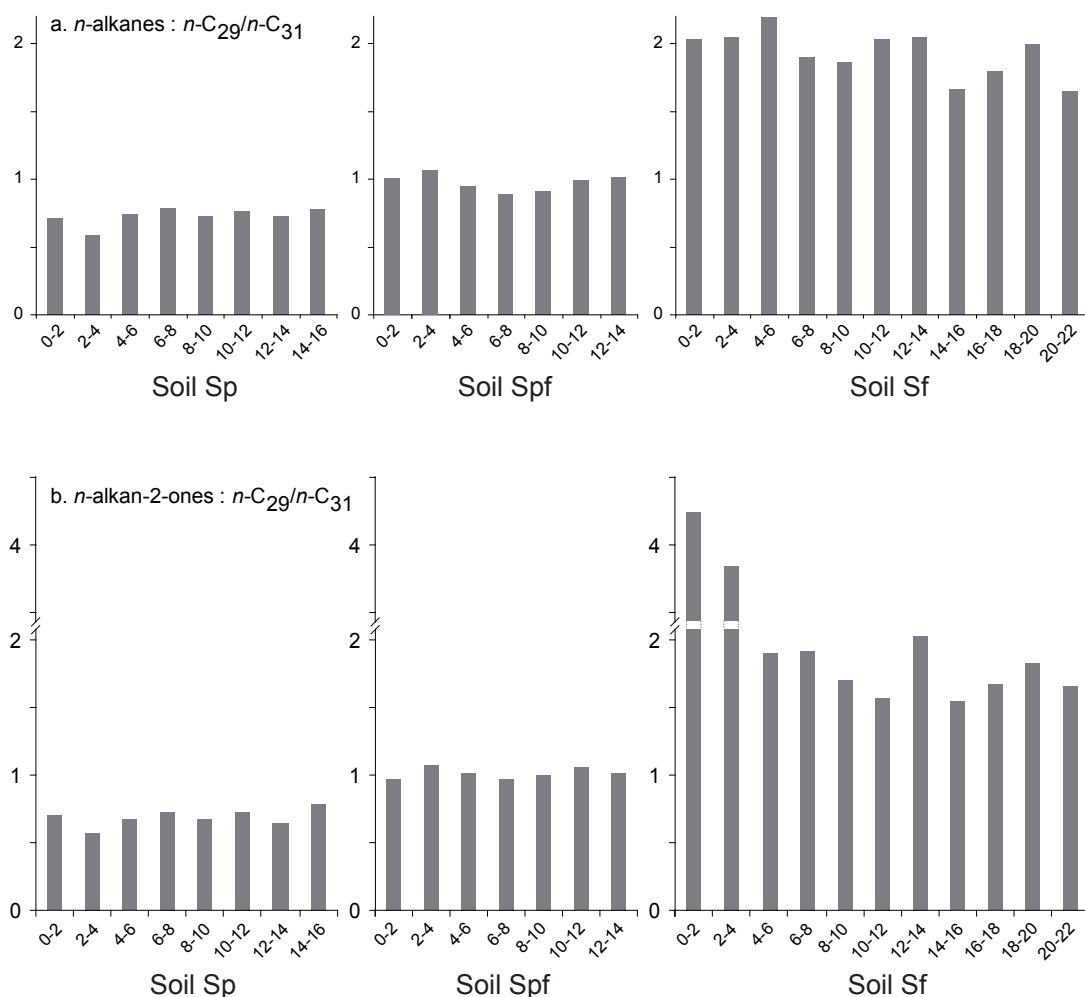


FIG. 5.7 – Evolution with depth of the (a) n -C₂₉ / n -C₃₁ alkanes ratio and (b) n -C₂₉ / n -C₃₁ n -alkan-2-ones ratio.

5.4.2.3.2 FAMES

In the literature, FAMES usually designate fatty acids either initially free in a sample or released from a bound form by hydrolysis, and subsequently methylated for analytical purposes. At Aydat, such esters, that were also found among the neutral soil lipids without any methylation treatment (Lavrieux *et al.*, *in prep*²⁰), were thus assumed to be natural

²⁰Chapitre 3

esters, as already described by Grasset and Amblès (1998).

The three soils display bimodal FAME distributions extending from n -C_{14:0} (C_{min}) to n -C_{33:0} (C_{max}) with a marked even-over-odd carbon number predominance. n -C_{16:0} and n -C_{26:0} are the two dominant compounds all along the forest profile Sf but also in the upper 10 cm of the grassland soil Sp. In contrast, a predominance of n -C_{16:0} and n -C_{24:0} is observed in the sections taken below 10 cm depth in soil Sp and also in the whole soil profile Spf. This change in high molecular weight FAMES mode in the grassland profiles Sp could result from the progressive disappearance of the rather easily hydrolysable esters. This also suggests that these compounds most probably have a too short residence time to be usable as past land use indicators.

As already stressed in a previous work, the $(iC_{15:0} + aiC_{15:0}) / C_{15:0}$ FAMES ratio allows distinguishing prairial and forest soils, the higher ratio value in the former being classically attributed to a greater bacterial activity (Lavrieux *et al.*, *in prep*²¹ and references therein). As a matter of fact, the $(iC_{15:0} + aiC_{15:0}) / C_{15:0}$ ratio values (Fig. 5.8) range from 3.2 to 3.7 in the grassland soil Sp, whereas they are clearly lower for the forest profile Sf (*i.e.* 2.1-2.3) but also in the 8 upper cm of the soil Spf, covered by trees for a few decades. However, in the latter case, the ratio values increase suddenly downward from 8 cm depth to reach values of 2.85-3, close to those of the grassland soil and thus in full agreement with the grassland inheritance of Spf. As for triterpenyl acetates, this preferential accumulation of compounds typical for the grassland pattern at the base of the profile can also, at least partly, be attributed to compound accumulation as a result of leaching processes no longer compensated by fresh grass input on the topsoil).

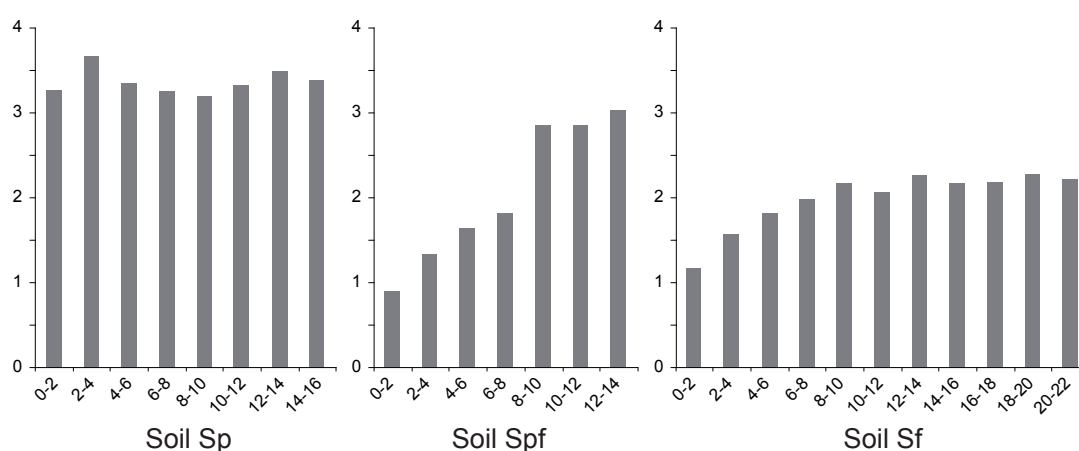


FIG. 5.8 – Evolution with depth of the $(iC_{15:0} + aiC_{15:0}) / n-C_{15:0}$ FAMES ratio. See text for details.

²¹Chapitre 3

5.4.3 General Discussion

The globally good OM preservation attested by bulk analyses is fully confirmed by several molecular indices of past land use in the Spf soil profile. Whereas the reference soils Sf and Sp have lipid content unequivocally related to their current plant cover, whatever the considered depth, soil Spf that has undergone a land use change shows a more mitigated imprint. The current use of Spf as a forest is well expressed by the occurrence of typical conifer markers (especially tricyclic diterpenes hydrocarbons and their oxygenated derivatives and methoxyserratenes), more concentrated in the humus, although this imprint is not as clearly recorded as in Sf in terms of compounds diversity (lack of several oxygenated tricyclic diterpenes) or of compound distribution with depth (lower concentrations of methoxyserratenes in Spf than in Sf, even at the top of the profile). Conversely, the occurrence of unequivocal grassland markers such as triterpenyl acetates accompanied by higher values of steroids and FAMES ratios within the profile, and particularly in the deepest samples, implies a lipid pattern that can be straightforwardly linked to its ancient grassland use. Although the lipid composition of Spf is not significantly different between the top and the bottom of the profile on a qualitative basis (Fig. 5.3), the concentrations of bauerenyl, isobauerenyl, lupeyl and ψ -taraxasteryl acetates in bottom levels attest to a grassland signature (Fig. 5.3, 5.5, 5.6, 5.8).

Conversely, some molecular markers failed in the recognition of the two superimposed land use signatures. The settlement of a forestry vegetation most probably brought new conditions favorable to the fast and complete hydrolysis of wax esters, a process that, in this hypothesis, could have been effective in less than 60 years. Although the *n*-alkane distribution mode has commonly been used in attempts at distinguishing herbaceous and ligneous plant inputs (*e.g.* Cranwell, 1973a, b; van Bergen *et al.*, 1997), the present results show that the high molecular weight *n*-alkanes, as well as their β -oxydation products *n*-alkan-2-ones, can no longer be considered as reliable for the distinction of plant inputs in a soil subjected to a past land use change. Mixing of the ancient and current organic signals or slight variations in vegetation can effectively result in a blurred signature.

The classical picture supposing older SOM at the bottom of soil profiles cannot be straightforwardly established here because biomarkers of former landuse are not strictly constrained to the deepest samples in Spf; *i.e.* the soil monolith Spf cannot be simply divided in two parts, the upper part reflecting its current forest status and the base archiving its grassland history. The whole profile biomarker content finally appears as an intimate mixture between components inherited from the past and current vegetation, more or less expressed following the considered family of compounds. This mixing might first be explained by an intensive bioturbation, probably associated with compound introduction at depth

through leaching and root penetration (Trendel *et al.*, 2010). In the light of these results, one must keep in mind that this overall behavior would perhaps be expressed differently in deeper soils and/or in ones where different horizons could be clearly distinguished.

5.5 Conclusions

To fill the lack of knowledge about the persistence of molecular indices of past land uses in soils, three soil monoliths of different land use histories were studied, focusing on previously defined criteria that proved their potential to distinguish current land use in soils. Bulk OM analysis results (TOC, HI, OI), combined with the absence of aromatic compounds, indicate that degradation is probably not the major factor that explains variations in molecular content all along the three studied soil profiles and between them.

In contrast to compounds such as *n*-alkanes, *n*-alkan-2-ones and wax esters that fail to distinguish an old land use, others such as FAMEs, tricyclic diterpenes and their oxygenated derivatives, triterpenes and steroids have shown a potential for discriminating current and ancient land uses, including cattle breeding areas (steroids indicating fecal contribution).

These results show that all these previously defined molecular biomarkers are not usable to trace land use changes, first if they are not plant source specific, but also because of their individual intrinsic fragility. Distinctive criteria that could be based on the occurrence or the absence of (a) given compound(s) appear as the most accurate since they rub out any potential tendency of the environment to influence the concentration of these compounds, in contrast to the criteria that lie on relative compound abundances. However, processes such as leaching, bioturbation and root penetration affect more or less globally the whole molecular content distribution all along the soil profiles, and thus tend to mix the former and current signals.

Finally if this study confirms the capacity of aftermaths of past land uses at molecular level, it also raises the following questions about:

- the duration during which a past land use signature might be preserved, in terms of molecular imprint, especially as a function of the intrinsic OM turnover time and a given type of land use;
- the reliability of the terrestrial signal recorded by lacustrine sediments. Indeed, if eroded soil material is proved to contain a mix of biomarkers reflecting the catchment current and past land-uses, to which extent is the signal archived in the lacustrine sediments biased by former catchment history?

Acknowledgments

This work received financial support from the ERODE project (EC2CO, CNRS/INSU) and the OTARIE project (Région Centre and European Council). M.L. also acknowledges the Région Centre for a PhD grant.

Troisième partie

Sédiments

Chapitre 6

6700 ans d'enregistrement sédimentaire de signaux climatiques et anthropiques

Une séquence sédimentaire de 19 mètres et couvrant les 6700 dernières années a été prélevée au centre du lac d'Aydat. Son cadre chronologique a été établi à l'aide de datations radiocarbone AMS, de mesures de teneurs en ^{137}Cs et de corrélations de niveaux détritiques avec des crues historiques. Une approche multi-proxy (densité, susceptibilité magnétique, spectrométrie de fluorescence X, analyses Rock-Eval et étude d'archives historiques) a été mise en œuvre afin de caractériser les dépôts et de tenter d'expliquer leur évolution. Le taux de sédimentation important résulte de la forme étroite de la vallée où le lac s'est développé, derrière le barrage formé par une coulée de lave. Deux périodes contrastées de sédimentation ont pu être distinguées, couvrant respectivement les intervalles de dates suivants : 6700 ± 200 - 3180 ± 90 cal. BP et 1770 ± 60 cal. BP - Actuel. L'unité inférieure, qui couvre le milieu de l'Holocène, présente une lamination fine et régulière, et contient le dépôt de crue le plus important de toute la carotte. Cette unité se termine par un dépôt gravitaire en masse qui la sépare de l'unité supérieure. Cette dernière, qui correspond à l'Holocène supérieur, est constituée de sédiments à lamination peu marquée, où s'intercalent de nombreux dépôts de crue (56 évènements), ainsi que des blooms de diatomées. Jusque vers 1100 cal. BP la sédimentation est clairement contrôlée par des forçages climatiques, i.e. plus précisément, par l'activité solaire. Ensuite, survient un changement majeur dans le mode de sédimentation : l'évolution vers des apports plus détritiques, associés à des dépôts de crues nombreux et récurrents, est a priori à mettre en relation avec l'intensification de l'impact anthropique sur le bassin-versant. Deux phases d'eutrophisation du lac ont aussi été mises en évidence : une première phase, datée de 1200-1130 cal. BP et qui résulterait d'une pression anthropique croissante, ainsi que la phase actuelle qui aurait débuté il y a environ 150 cal. BP. La grande qualité et la haute résolution de cette série en font la séquence sédimentaire lacustre la plus complète et la plus détaillée de la région d'étude pour cette période. Elle y constitue également le premier enregistrement paléohydrologique.

6,700-year sedimentary record of climatic and anthropic signals in Lake Aydat (French Massif Central)

Marlène Lavrieux^{a,b}, Jean-Robert Disnar^b, Emmanuel Chapron^b, Jean-Gabriel Bréheret^a,
Jérémy Jacob^b, Fabien Arnaud^c.

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 CNRS/INSU, Université d'Orléans, Laboratoire de Géologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université François-Rabelais de Tours, Parc Grandmont, 37200 Tours, France.

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, UMR 6113 CNRS/INSU, Université François Rabelais de Tours, 1a rue de la Férollerie, 45071 Orléans Cedex 2, France.

^c Environnements, Dynamiques et Territoires de la Montagne, UMR 5204, Université de Savoie, CNRS, CISM, Campus Scientifique, 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France.

Abstract

A 19-meters-long sedimentary record that was retrieved in Lake Aydat (French Massif Central) covers the last 6700 yrs. Its dating has been assured by AMS radiocarbon dates, ¹³⁷Cs measurements and correlations with historical floods. A multi-proxy approach (density, magnetic susceptibility, XRF, Rock-Eval analyses and historical archives study) was used to characterise and tentatively explain the sedimentation. The important sedimentation rate results from the narrow valley dammed by a lava flow. Two contrasted periods of sedimentation (6700±200 - 3180±90 cal. BP, and 1770±60 cal. BP - now) are characterized. The lower unit (mid-Holocene) displays a fine and regular lamination and holds one major flood deposit. This unit is ended by a mass wasting deposit. The upper unit (late-Holocene) is made of faintly laminated sediment, with numerous interbedded flood deposits (56 events) and blooms of diatoms. The sedimentation was clearly controlled by climatic forcings (solar activity) until ca. 1100 cal. BP, then it was disrupted by a major change in the sedimentary pattern: a more detrital input with numerous and recurrent flood deposits was linked to the intensification of anthropogenic impact on the catchment. Two phases of eutrophication of the lake have been highlighted: a first phase could have occurred between 1200-1130 cal. BP, as a result of growing anthropic pressure, and the current phase could have started ca. 150 cal. BP. The high quality and resolution of this series makes it the most complete and detailed lacustrine sedimentary sequence for this period and for the region, and the first record of palaeohydrology.

6.1 Introduction

Anthropic activities have reached such a level that they are now universally considered as having an important impact on natural systems (e.g. Dearing, 2006) and on the whole terrestrial environment (IPCC, 2007). In this context, it is crucial to get a good understanding of the complex inter-relationships that link societies, climate and natural environments. Unravelling such interactions especially means studying natural records of natural phenomena, which would then allow anticipating the consequences of current global change. Among the natural archives the preservation potential of which is well proven, lacustrine sediments provide high quality information. As marine sediments they generally constitute continuous records, but in contrast to the former they are able to deliver local information about the natural (climate, topography, vegetation, ...) and anthropogenic conditions that prevailed, at the generally limited spatial scale of a catchment.

The medium-mountainous configuration of the French Massif Central, at the boundary of oceanic and continental influences, confers it a relatively high sensibility to climatic changes coupled with a rural context supposedly reflecting moderate anthropization. However, so far, only few studies have been devoted to the interactions between environment, humans and climate in this region. In contrast to the history of its populating of its more hospitable north part, the Limagne plain, that is well known (e.g. Macaire et al., 2010), its mountainous territories have yet only given rise to a rather limited number of archaeological and palaeoenvironmental studies (Miras et al., 2004; Surmely et al., 2009). Other regions where lacustrine archives are numerous, such as the Alps, have been extensively studied (e.g. Chapron et al., 2002; Magny, 2004; Arnaud et al., 2005; Leroux et al., 2008; Debret et al., 2010). Conversely, the French Massif Central has not benefited from the same interest, although it counts a notable number of lakes, including crater lakes, remnants of its tertiary to quaternary volcanic activity. If the sediment infill of some of these lakes has been investigated for various purposes, e.g. to track erosion fluxes or highlight natural hazards (Gay and Macaire, 1999; Chapron et al., 2010, respectively), no high-resolution multidisciplinary studies of a lake sediment record has been realised up to now. Lake Aydat, where the human occupation history of the catchment is well constrained (Miras et al., 2004), seems to be a suitable target to fill this gap. In addition, its recent sedimentation, and (bio)chemical characteristics have recently been extensively studied to apprehend its current - eutrophic - functioning (e.g. Sarazin et al., 1992, 1995; Alfonso, 2000; Stefanova and Disnar, 2000; Michard et al., 2001; Ogier et al., 2001).

In this perspective, this paper aims at reporting on the 19 meter-long Lake Aydat sedimentary sequence that covers the last 6700 years. The establishment of an age-depth model and comparison with other studies are used to highlight climatic and anthropogenic

contributions to the sedimentary signal, approached through density, magnetic susceptibility (MS), X-ray fluorescence spectrometry (XRF), organic bulk analyses and historical archives study.

6.2 General setting

Lake Aydat (45° 39' 40" North, 2° 58' 27" East) is located in the French Massif Central at ca. 25 km SW from Clermont-Ferrand, at the southern boundary of the Chaîne des Puys volcanic range (Fig. 6.1), where it forms a plateau sharply incised by fluvial V-shaped valleys. The lake is at an altitude of 837 m a.s.l. and originates from the damming of the Veyre river by a basaltic flow dated from 8551 ± 400 cal. BP that was issued from the Puys de la Vache and Lassolas volcanoes (Boivin et al., 2004). The lake surface is 6.10^5 m². Its water volume is of ca. $5.2.10^6$ m³, with an average depth of 7 m and a maximal depth of 15 m. The mean residence time of waters is ca. 7.5 months (Michard et al., 2001). The lake is eutrophic and is mainly fed from the West by the Veyre river (75%) that drains water flow brought from the Atlantic Ocean depressions, completed by a lateral supply through the shores and precipitations (25%). The river constitutes the main outlet (85%), the rest (15%) percolating through the basaltic flow (Bouchet, 1987). An earlier study estimated the recent (50 last years) sedimentation rate to ca. 0.46 cm/yr (Sarazin et al., 1992). The catchment of Lake Aydat is located upstream from the Loire river basin. Its surface that is ca. 30 km², extends from 837 m a.s.l. (lake level) to 1300 m a.s.l. (West of the catchment, and top of the volcanoes). It develops on a plutonic and metamorphic substratum (granodiorites), partially covered by late glacial to Holocene volcanic deposits (Boivin et al., 2004). Nowadays, the catchment is in the major part covered by grasslands / pastures, and by forests most or even all of which are artificial (principally coniferous, of *Picea* sp.), and located on top of volcanoes.

6.3 Material and methods

A seismic survey, carried out prior to the coring, failed to reveal the intimate structure of sedimentary deposits because of a high content of gas (CH₄), but confirmed previous bathymetric measurements (Figs. 6.1; 6.2). Accordingly, the coring site was chosen in the central and deepest part of the basin, close to the Veyre river delta. A continuous sequence (AYD09; 19 m long) was retrieved in 2 and 3 meters long sections at 14.5 m water depth (Fig. 6.1), with a UWITEC coring platform. The problems of transition between sections were offset by taking twin overlapping cores that were intercorrelated, thanks to well recognized key horizons, to reconstruct a continuous composite series.

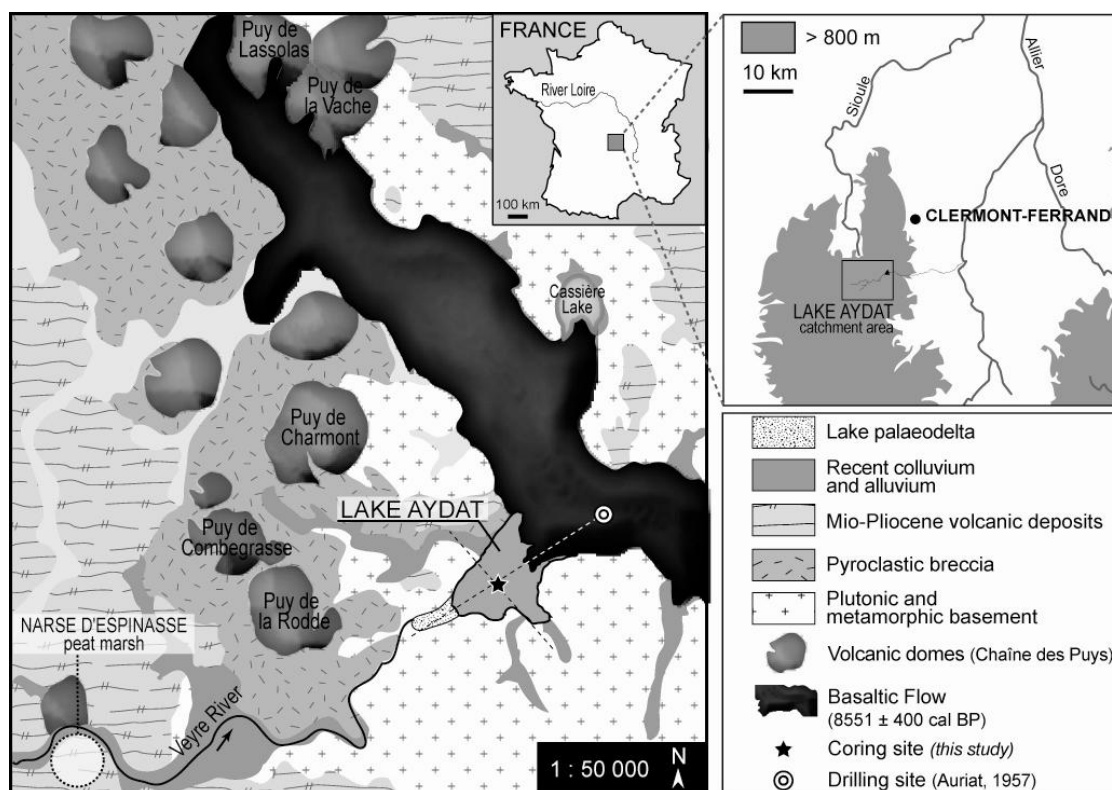


FIG. 6.1 – Location of Lake Aydat and its geological setting (after Boivin *et al.*, 2004). Dashed line: location of the profiles presented in Fig. 6.2.

The chronology of the sequence is based on (i) 18 AMS radiocarbon dates distributed over the core, based on leaves and wood fragments analyses. These ages were obtained at the Laboratoire de Mesure du Carbone 14 (Gif-sur-Yvette, France) and calibrated (2σ) using CalPal Online (Danzeglocke *et al.*, 2001; Table 6.1); (ii) ^{137}Cs measurements on the 20 cm top of the sequence that highlighted the main events of 1963 and 1986 AD (J.L. Reyss, Laboratoire des Sciences du Climat et l'Environnement, Gif-sur-Yvette, France). The scarcity of datable organic material in the 7 top meters was counterbalanced with the detection of numerous flood deposits (Mulder and Chapron, 2010) that were correlated with historical events in the Loire river catchment described (Champion, 1858-1864; Deblaère and Fabry, 1998; Genêt, 2007; Table 6.2; see § 6.4.1.).

MS and XRF were measured with a step of 1 cm using a Geotek Multi Sensor Core Logger System (MS; Laboratoire Chrono-Environnement, Besançon, France) and Avaatech Core Scanner (XRF; Laboratoire Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux, Bordeaux, France), respectively. Density was appraised by continuous measures using a Hologic densitometer (dual energy X-ray absorptiometry; Institut de Prévention et de Recherche sur l'Ostéoporose, Orléans, France).

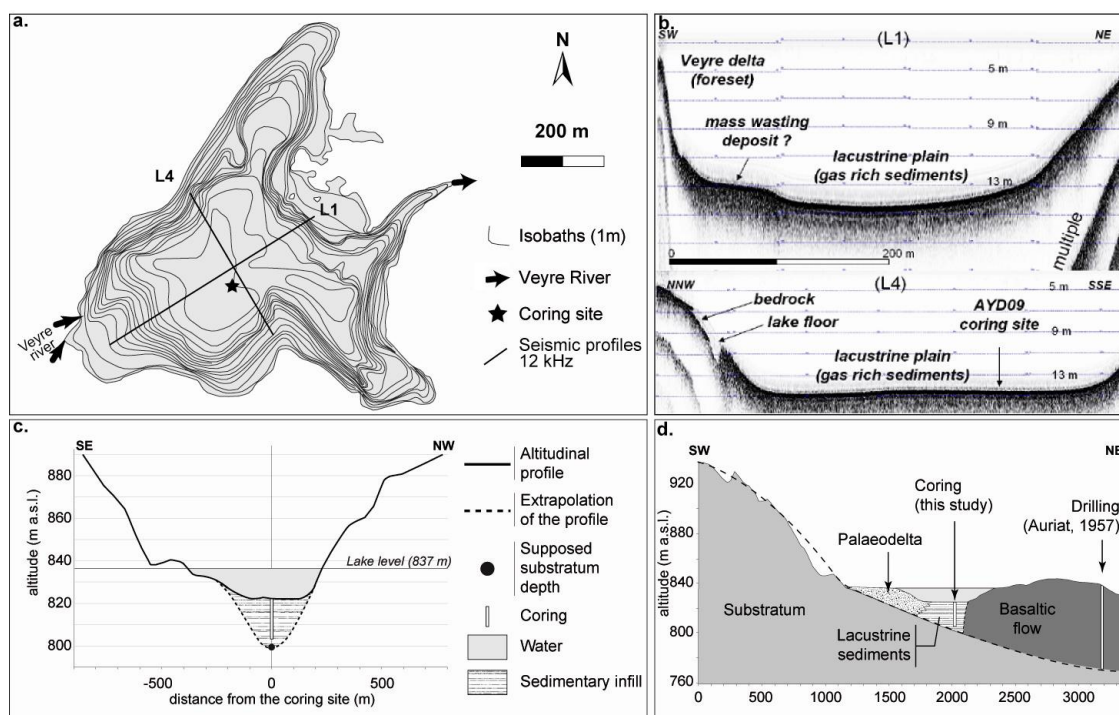


FIG. 6.2 – (a) Bathymetric map of Lake Aydat and location of the coring site and of the seismic profiles shown in (b). (c): Altitudinal profile transverse to the lake and extrapolation showing the morphology of the valley (location: see Fig. 6.1). (d): Schematic representation of a longitudinal profile, from the palaeodelta to the coring in the basaltic flow. Dashed line: approximate outline of the supposed location of the substratum of the lake, estimated from the river profile tendency.

Bulk organic matter (OM) analyses were carried out with a Rock-Eval6 (RE6) on ca. 60 mg of dried and crushed sediments. Rock-Eval parameters used in this study are Total Organic Carbon (TOC, %), Hydrogen Index (HI, mg hydrocarbons.g TOC⁻¹), and Oxygen Index (OI, mg CO₂. g TOC⁻¹; Espitalié *et al.*, 1985; Lafargue *et al.*, 1998).

Pollen analysis on this core is currently in progress; consequently this study will be based on a comparison with anterior palynological analysis led on Narse d'Espinasse peat marsh, located in the catchment (Miras *et al.*, 2004; Fig. 6.1).

6.4 Results and discussion

6.4.1 Background sedimentation and origin of detritism

The sediments of the Veyre river are representative of the detrital input to the lake, with a minor contribution of the granodioritic substratum to the sedimentary flow, most

TAB. 6.1 – AMS radiocarbon dates and ^{137}Cs results obtained from the Lake Aydat core. Lines in italic: excluded dates (r. d. = reworked debris; i. u. = intermediate unit)

Datation method	Type of material	Master core depth (cm)		Radiocarbon age (BP)		Calibrated age (2σ ; years cal. BP)		Laboratory Name	
		Uncorrected	Corrected						
^{137}Cs	Bulk sediment	20	19	-	-	- 36 (1986 AD)		-	
^{137}Cs	Bulk sediment	30	29	-	-	- 13 (1963 AD)		-	
^{14}C	Twig	349.7	332.7	520	± 30	570	± 40	SacA 21687	
^{14}C	Twig	387.7	370.7	700	± 30	650	± 50	SacA 21688	
^{14}C	<i>Twig</i>	<i>467.5</i>	<i>433.2</i>	<i>1330</i>	± 30	<i>1270</i>	± 80	<i>SacA 16355</i>	<i>r. d.</i>
^{14}C	Twig	705.8	656.8	1265	± 30	1230	± 40	SacA 21685	
^{14}C	Twig	782.1	727.5	1575	± 30	1480	± 40	SacA 21686	
^{14}C	Twig	790.1	735.5	1630	± 30	1520	± 60	SacA 21689	
^{14}C	Leaf	820.3	766.5	1825	± 30	1780	± 40	SacA 21690	
^{14}C	<i>Leaf</i>	<i>1056</i>	-	<i>2440</i>	± 30	<i>2530</i>	± 260	<i>SacA 16356</i>	<i>i. u.</i>
^{14}C	Charcoal	1094.2	780.5	3005	± 30	3210	± 100	SacA 16357	
^{14}C	Leaf	1136.5	823.5	3190	± 30	3420	± 60	SacA 16362	
^{14}C	Leaf	1297.2	979.5	3605	± 30	3920	± 80	SacA 16363	
^{14}C	Leaf	1389.2	1071.5	3840	± 30	4260	± 140	SacA 16364	
^{14}C	Twig	1401.2	1083.5	4000	± 30	4480	± 80	SacA 16358	
^{14}C	Seed (?)	1576 \pm 5	1258.7 \pm 5	4615	± 30	5380	± 120	SacA 16365	
^{14}C	Leaf	1644.7	1327.5	4750	± 30	5510	± 120	SacA 16359	
^{14}C	Leaf (?)	1685.2	1368	4800	± 35	5540	± 100	SacA 16360	
^{14}C	Twig	1767.7	1449.5	5280	± 30	6080	± 140	SacA 16366	
^{14}C	<i>Twig</i>	<i>934</i>	-	<i>2270</i>	± 30	<i>2270</i>	± 140	<i>SacA 16361</i>	<i>i. u.</i>

of the detrital material originating from the erosion of the catchment volcanic formations (Ogier, 1999). The latter are particularly rich in Rb, Ti and K, that can thus be used as markers of detritism (Ogier, 1999). This potential is also attributable to density and MS that highly correlate with these three elements (Fig. 6.3). Any increase in these physical parameters along the core can therefore be interpreted as resulting from an amplification of the erosion flux (e.g. flood events) (Mulder and Chapron, 2010). The siliceous endogenic phase is the main constituent of the background sedimentation, half of the dissolved Si that comes into the lake being then stocked under the form of diatom frustules (Sarazin and Devaux, 1991; Ogier, 1999).

6.4.2 Sedimentological features

Sedimentological features allow the division of the sequence in three main units (Figs. 6.3 and 6.4):

- The lower unit (1076-1914 cm depth) shows a lamination consisting of alternating diatom blooms and dark organic rich sediment levels. It also contains one major flood deposit, the thickest one of the whole core (1248-1254 cm depth). The background MS value of this unit is 4 times lower than that of upper unit (*i.e.* mostly < 10 , but up to 40 S.I. for its highest values). The laminae of the top part of this unit are affected by micro-faults, attesting of a destabilization of the sediment after its

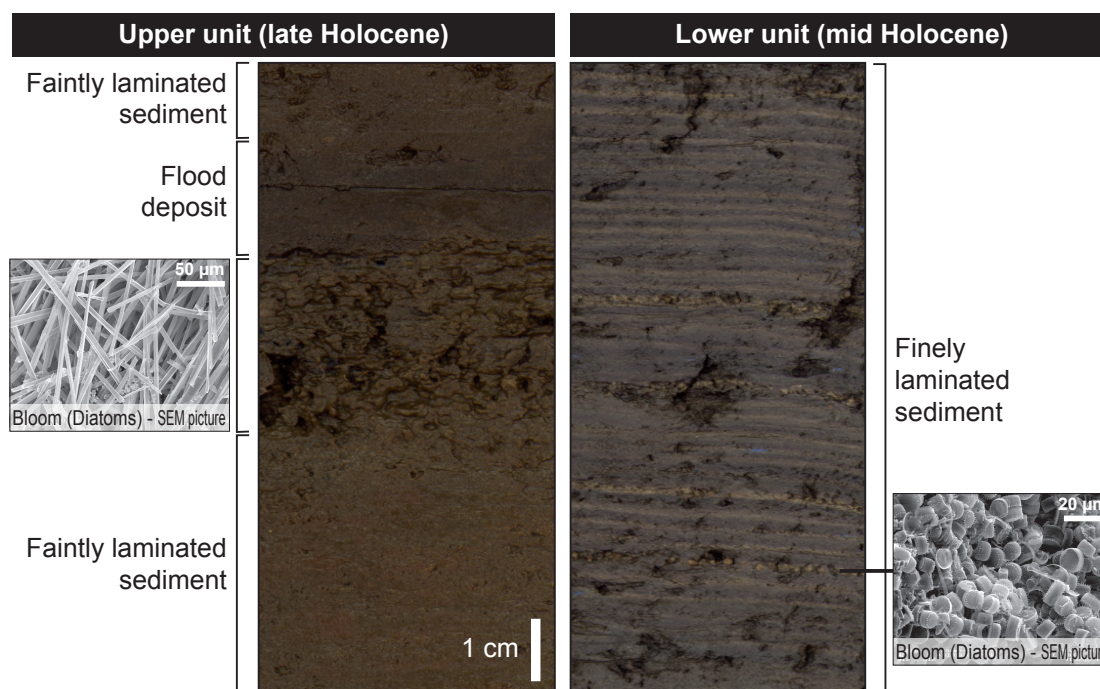


FIG. 6.3 – Contrasted lithological facies encountered in the sedimentary record.

deposition.

- The upper unit (0-829 cm depth) highly contrasts with the lower one. It is constituted by a background of dark and faintly laminated organic rich sediment (3-5.5 % TOC), frequently interrupted by diatom blooms and flood deposits (1-5 cm thick; Fig. 6.4). The latter are darker and characterised by high density and high MS (up to 800 S.I), reflecting increased erosional inputs from the catchment (§ 6.3.1). The background MS mostly ranges between 40 and 100 S.I.
- Between the two previous units, *i.e.* more precisely in the 829-1076 cm depth interval, the correlation between the two twin cores was impossible. 1 m of the sedimentary sequence appeared exactly repeated in only one of the twin cores, while particular MS fluctuations are unique to the other one. Naked eye observation allowed the distinction of disturbed layers at the boundaries. Combined with the presence of the micro-faults at the top of the lower unit, these indices were interpreted as a mass wasting deposit (MWD; Mulder and Cochonat, 1996) that reworked ca. 2.5 m of sediment. Consequently, this unit will not be discussed further here.

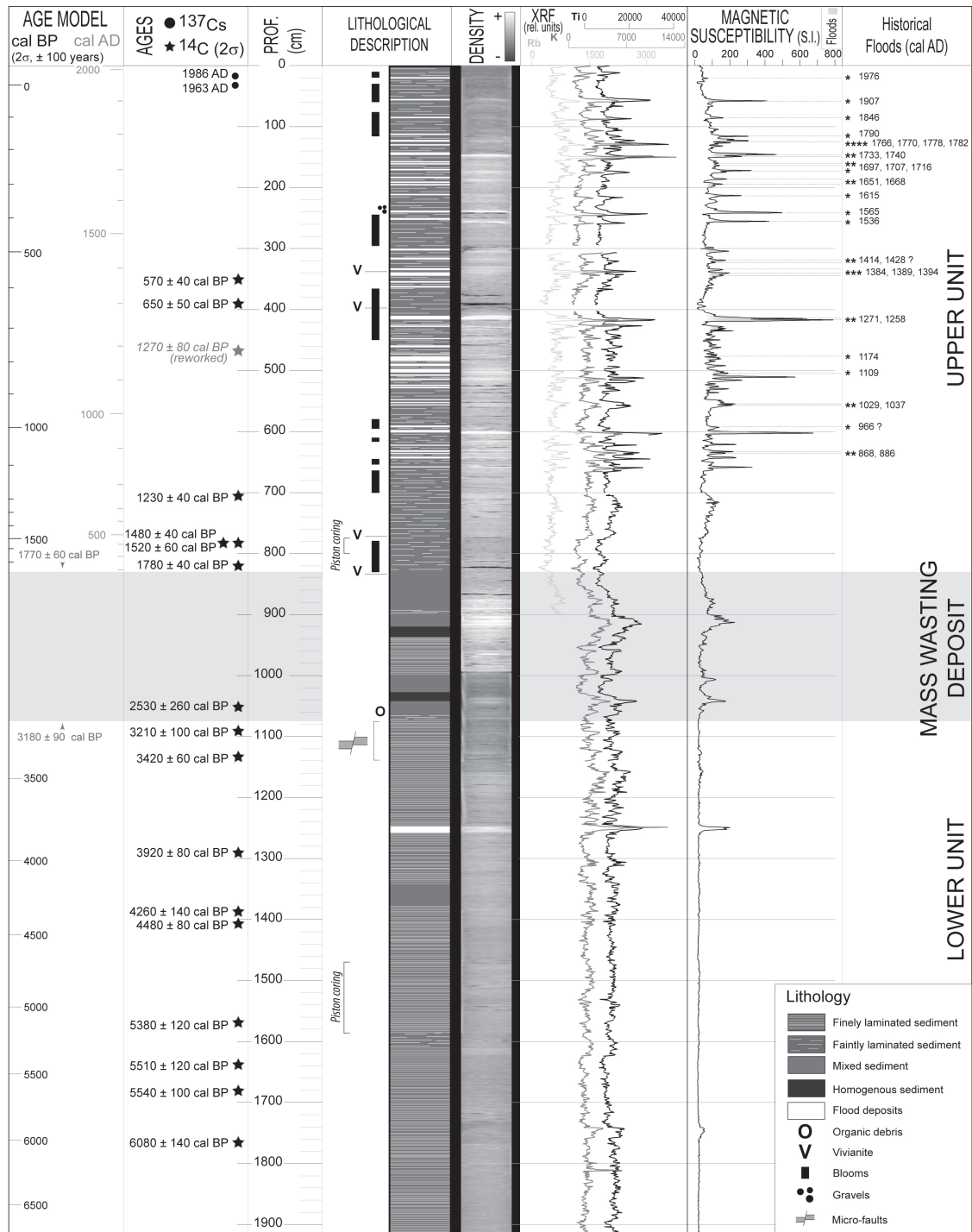


FIG. 6.4 – Core description, lithology and physical parameters (density, MS, and XRF - Rb, Ti, K), stratigraphic location of the ^{137}Cs and ^{14}C ages and of the historical floods. Mass wasting deposit is presented as it appears in one of the two twin cores. Only the noteworthy diatom blooms are figured.

TAB. 6.2 – Comparison between Lake Aydat flooding events and historical floods in the Loire River catchment. Historical flood events after Champion (1858-1864; events #3-#56), Deblaère and Fabry (1998; event #1) and Genêt (2007; event #2). Uncert. = Uncertainty

Event nr	Master core depth (cm)	Depth-Age model		Historical flood events	Event nr	Master core depth (cm)	Depth-Age model		Historical flood events
		Age cal. AD	Age cal. BP				Age cal. AD	Age cal. BP	
# 1	21-22	1973	-23	1976	# 29	409-410	1280	670	-
# 2	56.5-58.5	1900	50	1907	# 30	415-418	1275	675	1275?
# 3	84.5-86.5	1849	101	1846	# 31	417-420	1273	677	1271
# 4	115.5-116.5	1791	159	1790	# 32	428.8-429.5	1257	693	1258
# 5	120.5-121.5	1782	168	1782	# 33	435-435.7	1245	705	-
# 6	122.5-124.5	1778	172	1778	# 34	450.2-450.7	1216	734	-
# 7	127-128	1772	178	1770	# 35	462.5-463.5	1193	757	-
# 8	132-133	1763	187	1766	# 36	474.3-475.5	1171	779	1174
# 9	145.5-147.5	1740	210	1740	# 37	479.3-480.4	1161	789	-
# 10	149.2-150.2	1736	214	1733	# 38	481-482	1157	793	-
# 11	159.7-161.2	1715	235	1716	# 39	492.5-493.2	1136	814	-
# 12	163.7-165.2	1707	243	1707	# 40	503-503.5	1117	833	-
# 13	171.7-173.2	1692	258	1697	# 41	505-505.5	1113	837	1109
# 14	175.7-176.2	1688	262	-	# 42	510.2-511.2	1104	846	-
# 15	187.2-187.9	1667	283	1668	# 43	511.6-512.4	1102	848	-
# 16	194.7-196.2	1651	299	1651	# 44	515-517.1	1096	854	-
# 17	214.2-215.2	1615	335	1615	# 45	526.6-527.4	1077	873	-
# 18	240.7-243.2	1565	385	1565	# 46	530.6-531.4	1069	881	-
# 19	256.7-257.4	1538	412	1536	# 47	549-550	1034	916	1037
# 20	303-306	1449	501	1449?	# 48	552-553	1028	922	1029
# 21	319.8-321.8	1422	528	1428?	# 49	557-558	1020	930	-
# 22	323-324	1416	534	1414	# 50	592.6-595.1	952	998	966?
# 23	335.5-336.5	1395	555	1394	# 51	600.5-605	939	1011	-
# 24	340-343	1388	562	1389	# 52	621.1-622.4	906	1044	-
# 25	344-346	1384	566	1384	# 53	633.1-634.1	885	1065	886
# 26	348-349	1378	572	-	# 54	635.8-637.1	882	1068	-
# 27	359-360	1357	593	-	# 55	642.9-643.9	870	1080	868
# 28	365.5-366.1	1345	605	-	# 56	658.6-659.4	843	1107	-

6.4.3 Depth-age model and accumulation rate

Among the 18 AMS radiocarbon dates, 3 were excluded from the depth-age model: 1 gave an aberrant age (obtained from an unidentified and too small sample), and 2 of them

belong to the MWD and contributed to its characterisation. In fact, the twig dated from 2270 ± 80 cal. BP was sampled in the deepest part of the repeated sedimentary sequence (not shown here), *i.e.* deeper than the sampled dated from 2530 ± 260 cal. BP. This age inversion supports the interpretation of this unit as a MWD.

58 instantaneous events (56 flood events in the upper unit, 1 flood event in the lower one, and the MWD) were removed from the sequence prior to the establishment of the age-depth model (the elimination of these events entailing a shortening of the considered section). Finally, the background sediment record of the upper unit expands between 0-774.5 cm depth, and the one of the lower unit between 774.5-1597.5 cm depth. These depths are used as reference for the following developments of this work.

The whole sequence covers the last 6730 years (Figs. 6.3 and 6.5). The mean background sedimentation rate is 0.20 cm.yr^{-1} for the lower unit, and also for the basal part of the upper one (*i.e.* in the 774.5-660 cm depth interval). It suddenly increases to reach 0.52 cm/yr from 660 cm depth up to the top, that is consistent with the rate of 0.46 cm/yr estimated by Sarazin *et al.* (1992) for the last 50 years. The sedimentation rate reaches 0.6 cm.yr^{-1} when flood events are considered in the calculation.

Thus, the whole sequence appears to be highly dilated. A transversal altitudinal profile deduced from the bathymetric map, extended to the slopes of the lake sides, highlights the narrow V-shaped morphology of the valley (Fig. 6.2). A longitudinal profile allows the extrapolation of the substratum surface from two checkpoints (location of the substratum above the palaeodelta, and the depth at which the substratum was reached in a drilling in the basaltic flow; Auriat, 1957), to estimate the depth of the substratum directly above the coring site of this study. The information brought by these profiles is consistent with the maximum plausible sediment accumulation at the coring site of this study (ca. 23 m, calculated from the supposed age of the lake and the sedimentation rate). In this hypothesis, the substratum should be located at ca.780 m a.s.l. (Fig. 6.2). These pieces of information indicate that the core was probably retrieved close to the deepest point of the paleovalley, with the maximum sediment accommodation potential. The thickness of the deposits is thus explained by the particular geometry of the lacustrine basin, which effectively constrained sediment accumulation in a narrow thalweg, consistently with the shape of the other river valleys of the region (§ 6.2).

6.4.4 Climatic and anthropic influences on the sedimentary record

The different contributions to the sedimentary record were evaluated by comparison of the background signal of detritism (*i.e.*, MS) with climatic and anthropogenic records. Anthropization degree is mostly estimated from the study of Miras *et al.* (2004), led on the

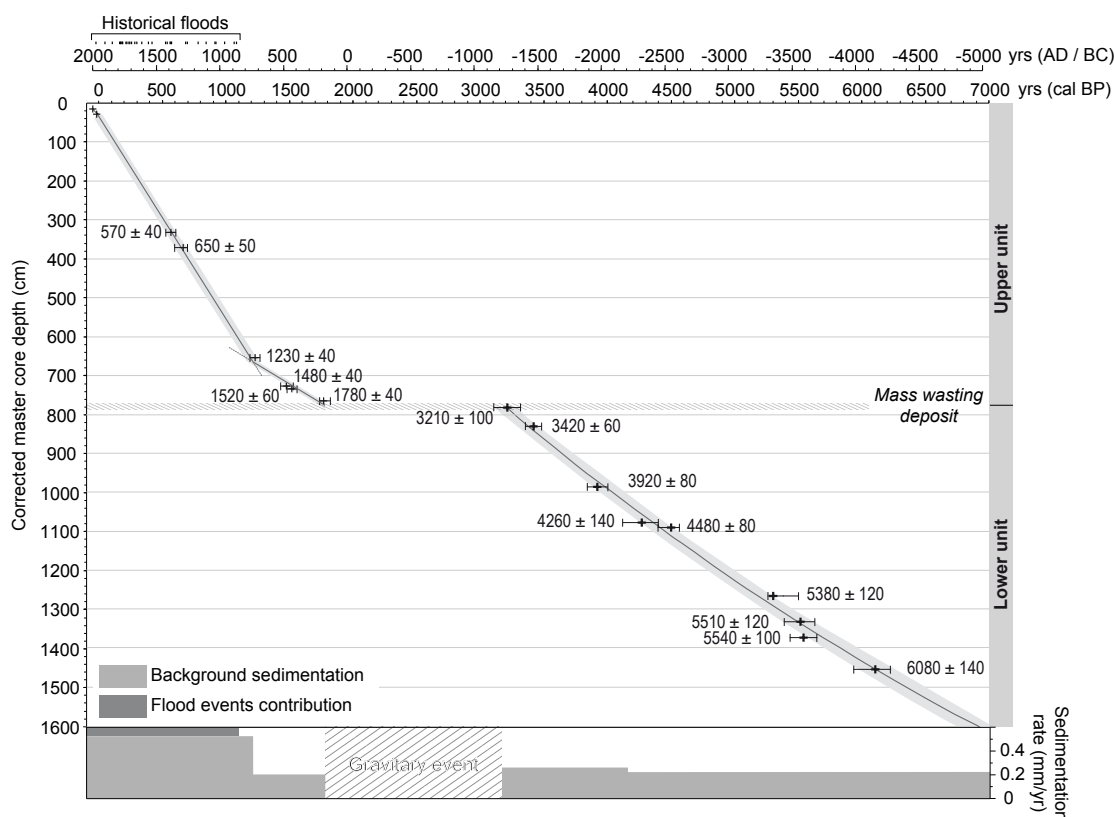


FIG. 6.5 – Age-depth model, correlation with historical floods, sedimentation rates and sedimentological units.

5000-years-long record of the "Narse d'Espinasse" peat marsh, located in the catchment of Lake Aydat, at ca.10 km W from the latter (Fig. 6.1). This multi-disciplinary work, correlating palynological, archaeological, historical, geochemical, sedimentological and micromorphological data certainly constitutes the best palaeoenvironmental Holocene record in the study area, and even in the whole French Massif Central.

6.4.4.1 Lower unit (6730-3200 cal. BP)

Throughout this unit, 6 phases of higher background detritism are depicted on the basis of MS variations. They seem to coincide with periods of lower solar activity (Fig. 6.6), that induced climatic peyorations (with cooler and more humid conditions), known to favour enhanced erosion on catchments (Arnaud *et al.*, 2005; Debret *et al.*, 2010). Even if the correlation is sometimes not perfect, solar forcing seems to be sufficient to explain the observed global trends. Indices of modest forest clearance are detected from ca. 4800 cal. BP to ca. 3900 cal. BP in the catchment, probably associated to a breeding economy (Miras

et al., 2004). This activity might perhaps have slightly influenced detritism. Referring to TOC, HI and OI values, the OM contents appeared to remain stable all along this unit, both from a quantitative and qualitative point of view (8-10% TOC, 250-300 mgHC.g⁻¹ TOC, 100-150 mgO₂.g⁻¹TOC, respectively). Although globally monotonously laminated, this unit contains one flood event (at ca. 3800 cal. BP), the major one of the whole core. Its thickness (6 cm), and thus its intensity, are unusual compared to the other ones.

6.4.4.2 Upper unit (1770 - 0 cal. BP)

6.4.4.2.1 General overview

Variations of MS in the upper unit allow to distinguish 6 phases of higher detritism: ca. 1510-1210 cal. BP, ca. 1130-1000 cal. BP, ca. 950-670 cal. BP, ca. 620-500 cal. BP, ca. 430- 150 cal. BP, and ca. 90-50 cal. BP (Fig. 6.7).

Strikingly, the phases of lower detritism match with minima of solar activity (Delaygue and Bard, 2011), supposed to be periods of climatic peioration. This is particularly marked in the cases of Wolf and Spörer minima that clearly sign the boundaries of the Medieval Climate Anomaly and the Little Ice Age. These phases can fit as well to lower West-Central European lake-level records, and sometimes to the retreats of Great Aletsch Glacier (themselves under climatic control; Magny, 2004; Holzhauser *et al.*, 2005). Conversely, flooding events frequency increases when strong anthropic impact on the catchment is attested (Miras *et al.*, 2004; Fig. 6.7) and peaks of detritism match with maximal advances of the Great Aletsch Glacier (Holzhauser *et al.*, 2005). Diatom blooms are encountered all along this unit, but they are sometimes largely prominent (Fig. 6.3).

Bulk qualitative OM analysis (*i.e.* IH and IO) are consistent with a type III OM, *i.e.* derived from terrestrial plants (Meyers and Lallier-Vergès, 1999). Such an assessment appears at first surprising when considering the eutrophic status of the lake, fully illustrated by the abundant blooms observed in the sediment (Fig. 6.3). This apparent contradiction might be explained (i) at least partly by an efficient recycling of the autochthonous lacustrine production during sedimentation and early diagenesis and (ii) by the possibility that HI and OI values might be influenced by a rather unusual elemental composition of a few lacustrine species, combined with variable alteration of the original material and mixing of terrestrial and lacustrine inputs. Along the whole core, as it is generally observed (*e.g.* Disnar *et al.*, 2011), TOC and HI remain correlated, whereas HI and OI are anticorrelated. Thus, the simultaneous variation of these different parameters allows delineating different sedimentation phases. Then, based on trends of MS and bulk organic indices (TOC, HI, OI), four different periods could be distinguished: 1770-1500 cal.BP, 1500-1200 cal. BP, 1200-150 cal. BP, 150 cal. BP - present.

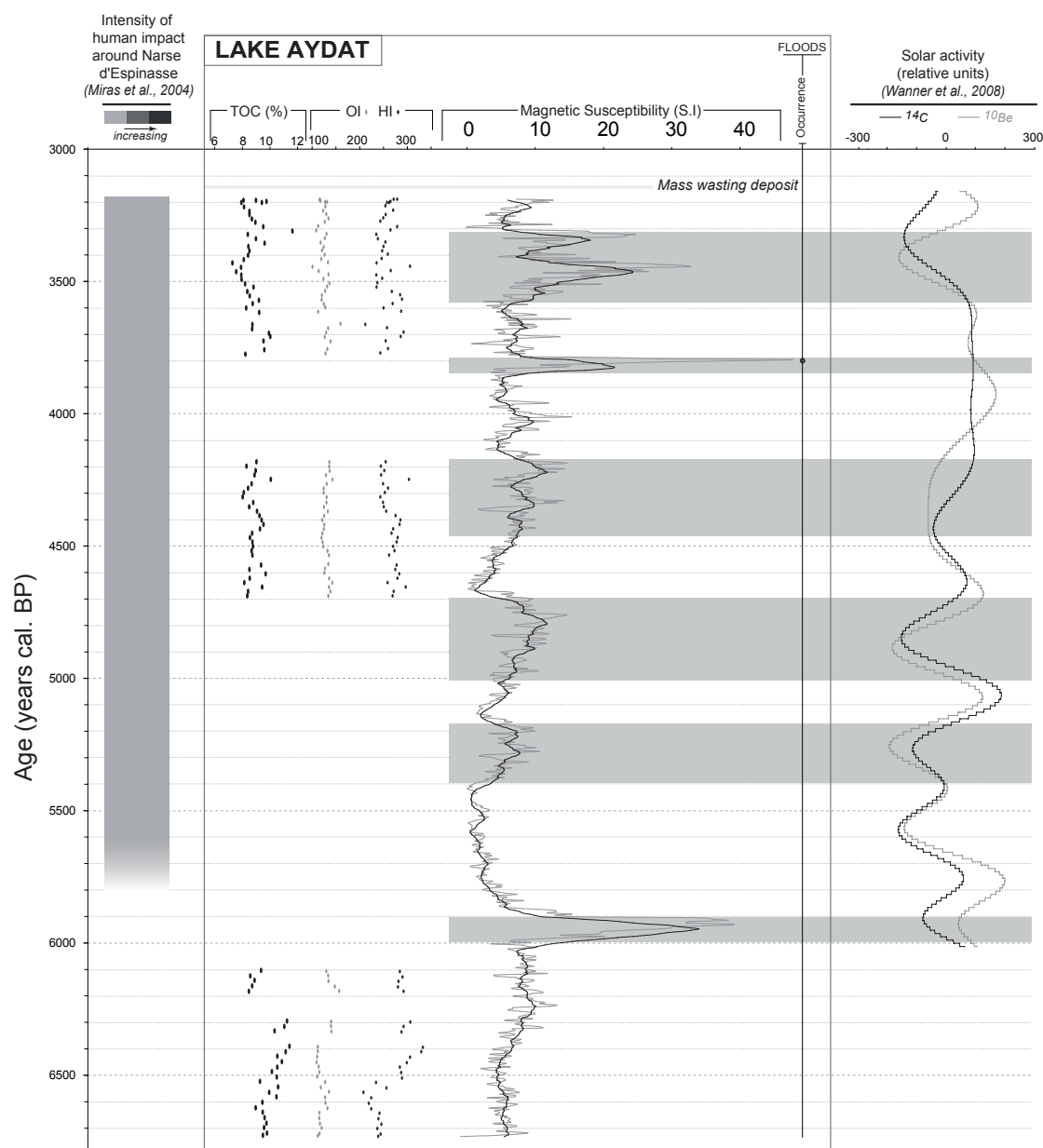


FIG. 6.6 – Background signal of the lower unit - MS, TOC, OI, HI compared to the intensity of human impact (Miras *et al.*, 2004) and the solar activity (Wanner *et al.*, 2008). Phases of higher detritism are indicated by the horizontal grey strips.

The mass wasting deposit delimits the beginning of the upper unit, coeval with a marked phase of higher lake levels (Magny *et al.*, 2004; Holzhauser *et al.*, 2005). In the absence of other evidence, this suggests that the gravitary event might have been triggered by a rise of Lake Aydat level, leading to a hydrostatic pressure increase and therefore a destabilisation of the sediment at the front of the Veyre river delta.

6.4.4.2.2 1770-1500 cal.BP

MS and organic indices (TOC, HI, OI) follow the same trend as in the lower unit (Fig. 6.6 and 6.7), and match with a relatively low human impact until the middle of the Gallo-Roman period (1500 cal. BP; Miras *et al.*, 2004). This period seems to be highly comparable to the lower unit.

6.4.4.2.3 1500-1200 cal. BP

During this first detrital phase (#1, Fig. 6.7), the background detritism increases sharply (more precisely, compared to precedent periods, MS values are multiplied by 2 from 1500 cal. BP, and by 4 from 1250 cal. BP). This abrupt change matches with a solar activity decrease (Wanner *et al.*, 2008) and a phase of advance of Great Aletsch Glacier (Holzhauser *et al.*, 2005), but this may not be sufficient to explain the definitive modifications observed in the record. Neither TOC, nor HI or OI undergo marked variations (TOC $\sim 5.5\%$, HI $\sim 250 \text{ mgHC.g}^{-1} \text{ TOC}$, OI $\sim 125 \text{ mgO}_2.\text{g}^{-1}\text{TOC}$). From a historical point of view, this epoch corresponds to the Gallo-roman period. As it is almost the rule in France, it is characterised by an interruption of the natural dynamics of the vegetation and a marked anthropogenic impact on the studied catchment, as a consequence of the intensification of clearing and of agricultural activity (Miras *et al.*, 2004). The end of the first phase of detritism (at ca. 1200 cal. BP) is accompanied by the doubling of sedimentation rate, which then reaches more than 5 mm/yr (background sedimentation), a much greater value than that identified for deeper parts of the sediment record.

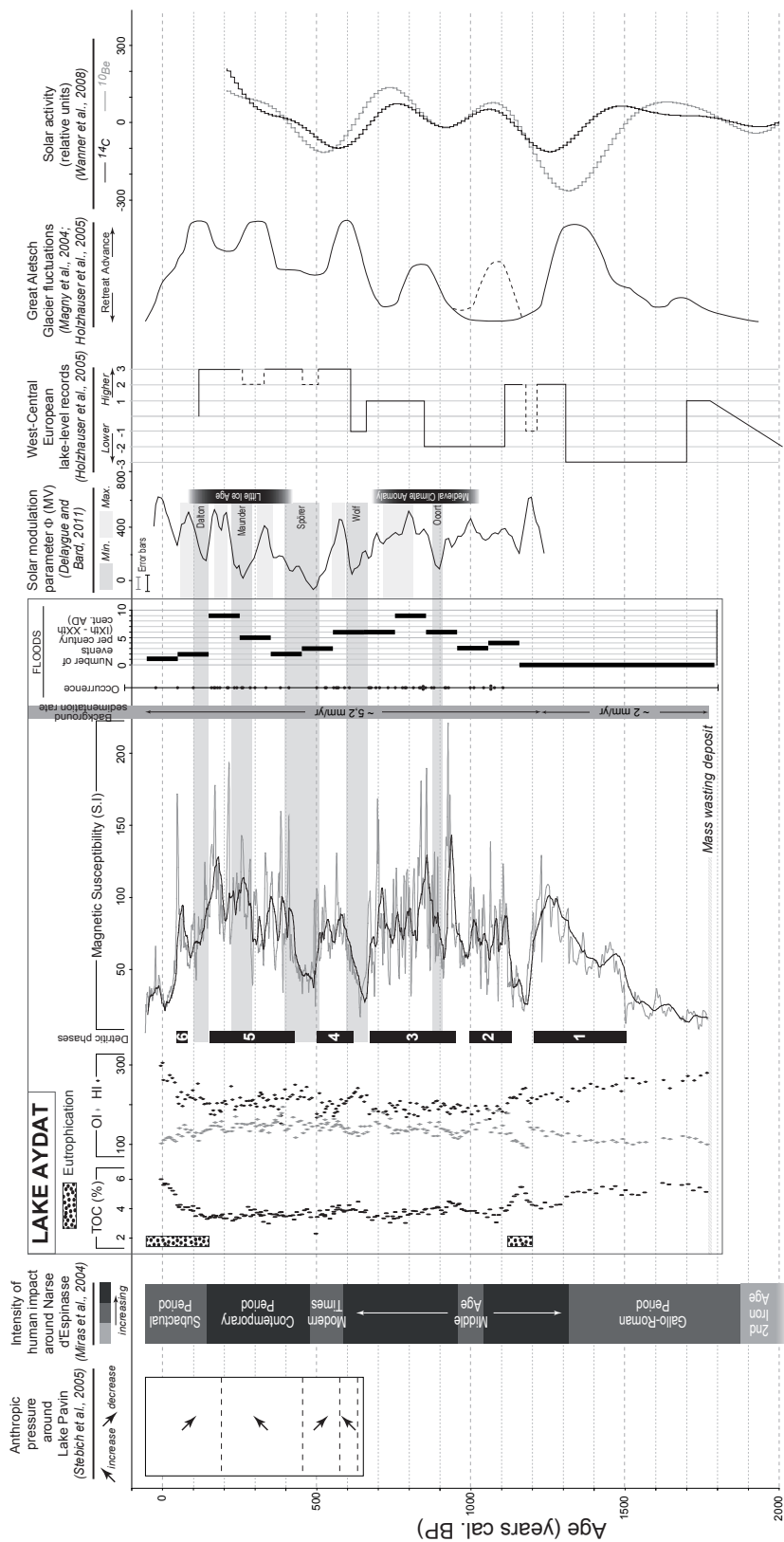


FIG. 6.7 – Background signal of the upper unit - MS, TOC, OI, HI, occurrence and frequency of flood events and eutrophication phases compared to the intensity of human impact (Miras *et al.*, 2004; Stebich *et al.*, 2004; Holzhauser *et al.*, 2005), West-European lake-level records (Magny, 2004; Holzhauser *et al.*, 2005), Great Aletsch glacier fluctuations (Holzhauser *et al.*, 2005) and the solar activity (Delaygue and Bard, 2011; Wanner *et al.*, 2008).

6.4.4.2.4 1200-150 cal. BP

The beginning of this period (ca. 1200-1130 cal. BP) records a transitory but marked decrease in MS (< 50 S.I.) accompanied by an increase in TOC (up to ca. 10%) and simultaneously of HI, with a coeval decrease in OI. At this time, a maximal human impact is described for the first time, as underlined by the increase of Poaceae pollen grains and the distinct presence of Cerealia pollen grains (Miras *et al.*, 2004). The observation of the core reveals the pervasiveness of diatom blooms during this interval (Fig. 6.3), that is confirmed by the raise of the TOC and HI values. Accordingly, this short period could sign a first occurrence of the eutrophication of the lake, probably favoured by increased nutrients inputs linked to the growing anthropic pressure (Hilfinger *et al.*, 2001).

This short period is followed by a transitory trend, leading to detrital phase #2, marked by a sharp decrease of TOC and HI, and an increase of OI (Fig. 6.3). The background signal then reveals the stabilisation of TOC at around 4%, of OI and HI at 160 mgO₂.g⁻¹TOC and 210 mgHC.g⁻¹ TOC, respectively, values testifying to a more oxidised and biodegraded OM than before (Disnar *et al.*, 2008). The mean MS value reaches ca. 75 S.I. The recording of more or less regularly spaced and intensive flood deposits begins from this time period. Four of them are detected during the 9th century, at the beginning of the 2nd phase of detritism (Fig. 6.3). The latter can be put on the account of the maximal anthropogenic pressure (Miras *et al.*, 2004).

MS values decrease once more just after the detrital phase #3 (Fig. 6.7), during the Wolf solar minimum (680-600 cal. BP), together with higher HI and TOC, lower OI, and again with a dominance of diatom blooms. Though not underlined by Miras *et al.* (2004), this solar minimum may have thwarted anthropic activities, thus entailing a slight decrease of detritism and simultaneously allowing the diatom blooms to be well expressed in the sedimentary record. Comparably, another significant diatom bloom phase is observed between 500-450 cal. BP (between detrital phases #4 and #5), with the same consequences in terms of MS, and to a lesser extent of TOC, HI and OI.

The higher flood events frequency of the core is reached during the detrital phase #5. Two phases of decrease of flood deposit frequency occur quite simultaneously with periods of slight decrease of human impact (ca. 1000 cal. BP, between detrital phases #2 and #3; and ca. 600-500 cal. BP), consequently to the Black Death and the Hundred Years' War (Miras *et al.*, 2004).

In contrast to the trends evoked above, the intensity of detritism and the frequency of flood events do not decrease during the Maunder solar minimum. But this time period is subjected to an intensification of wood exploitation, well developed in the region (Georgette, 1957; Michelin, 1996), which leads to an amplification of erosion through soil baring,

independently of any climate forcing.

6.4.4.2.5 150 cal. BP - present

At its beginning this last phase displays a similar trend in MS than the previous one, before an abrupt decrease of this signal intensity. This phase also differs from the precedent phases by a huge increase of TOC (up to 6% in the most recent sediment), while OI reaches 125 mgO₂.g⁻¹TOC and HI 300 mgHC.g⁻¹ TOC. This indicates an important supply of OM that has still not suffered extensive alteration. These values are also comparable to those observed between ca. 1200-1130 cal. BP, and that were interpreted as indices of an eutrophication of the lake. Similarly, and knowing that the lake is currently in this status, the shift of the considered parameters probably sign the change of trophic status of the lake, that is dated of ca. 150 cal. BP in this hypothesis.

6.4.4.3 General discussion

The time-related variations in the intensity of human impact in the area, as revealed by the Narse d'Espinasse pollen study (Miras *et al.*, 2004) appear to be nicely correlated to the general variations in detrital inputs straightforwardly revealed by MS trends in Lake Aydat sediment record. This common general trend that had also been previously observed in the sediments from the Pavin crater lake over the last 700 years (ca. 20 km SW Aydat; Stebich *et al.*, 2005; Fig. 6.7), suggests a regional control on its dynamics. Comparison of Aydat record with other works on the area is more difficult due to the lower temporal resolution of the other data available (*e.g.* maar Lake Le Bouchet; Reille and de Beaulieu, 1988; Lake Chambon, Gay and Macaire, 1999; Sarlieve marsh, Macaire *et al.*, 2010). From a general point of view, the majority of works available on the Holocene climate, either cover the last centuries or millennia at a high resolution, or cover a multi-millennial scale at a low resolution, making difficult any comparison with high-resolution sedimentary records on multi-millennial time scales (Wanner *et al.*, 2008).

Despite a human occupation that is clearly recorded from the middle Neolithic around Aydat (Miras *et al.*, 2004), the erosion dynamics of the catchment appears mainly influenced by natural factors until the middle of the Gallo-Roman period (ca. 1500 cal. BP). Then, even if some comparisons between Lake Aydat sediments and other natural Holocene records (solar activity, lake levels, glacier fluctuations) can be drawn, they are not very clear and do not seem to be sufficient to explain the major changes observed in the detrital signal from this period, especially the abrupt increase of the background detritism signal and the sudden appearance of recurrent flooding events. Human activities, the impact of which on the system are maximised from this time and that can easily be correlated with the general MS trends, overtake climate forcing and dictate a new sedimentary dynamics that still lasts

today. This anthropogenic signal is accompanied by periods of bloom predominance that partially complicate the signal coming from the catchment. MS thus records the catchment evolution, together with the autochthonous signal. What underlies the sharp transitions from blooms to intense detrital phases is not clearly established, but probably results of a threshold effect.

Keeping in mind that human activities have themselves been dependent on the climatic conditions, the detrital history archived in the sedimentary record results from the combined actions of natural and anthropogenic signals.

6.5 Conclusions

The 19 m long continuous sedimentary sequence retrieved in Lake Aydat and which covers the last 6700 yrs, thus constitutes a high resolution hydrologic record that is unique in the French Massif Central. The occurrence of a dilated and high quality series is explained by the deep and narrow morphology of the valley that presently hosts the lake. Low amplitude variations of detritism until 1500 cal. BP are interpreted as a climatic record reflecting solar activity. Later on the sedimentation was disturbed by human activities that, associated with precipitations, induced recurrent flooding events since the Middle Ages (ca. 1100 cal. BP). Different phases of eutrophication of the lake were also distinguished. According to the sedimentary archive, the current one has probably been initiated ca. 150 cal. BP.

The difficulties encountered in attempting to correlate this record with other ones (climatic and anthropogenic) could be at least partially explained by the smallness of the catchment, which constrains the recording of very local information in the sediment trap. The lack of data at a high resolution on large spans of time at a regional scale, but also at a more global level is also highlighted.

Acknowledgements

This study was supported by the Erode project funded by the INSU/CNRS. M.L. also acknowledges the Région Centre for the attribution of a Ph.D grant. We thank ARTEMIS program for AMS radiocarbon dating, J.L. Reyss (LSCE, Gif-sur-Yvette, France) for ^{137}Cs measurements, Boris Vannière and Agnès Stock (Laboratoire Chrono-Environnement, Besançon, France) for MS measurements, Philippe Martinez and Isabelle Billy (EPOC, Bordeaux, France) for XRF measurements, the team of the Institute of Prevention and Research on Osteoporosis (Orléans, France) for density pictures of sediment cores, G. Ledoux and P. Lajeunesse (CEN Université Laval, Québec,

Canada) for seismic survey, B. Fanget and E. Malet for their help during the coring, and V. Janvier and A. Foucher for their contribution to the comprehension of the sedimentary infill.

Chapitre 7

Le cannabinoïde fossile retrace l'histoire du rouissage du chanvre

Au travers de ses nombreux usages (cordes, textiles, papier, alimentation, remède ou drogue, ...), le chanvre a incontestablement été une plante fondamentale pour le développement des sociétés humaines. Son usage passé, qui peut être attesté par la présence de graines et/ou pollen sur les sites archéologiques, peut aussi demeurer ignoré si ces éléments passent inaperçus ou ont disparu. Bien que les biomarqueurs moléculaires aient montré leur potentiel de reconstruction des activités anthropogéniques passées, jusqu'à présent aucun composé de ce type n'a concerné le chanvre, alors que celui-ci est bien connu pour synthétiser des produits chimiques spécifiques, les phytocannabinoïdes. Un de ces composés, le cannabinoïde, a été détecté dans des sédiments du lac d'Aydat, couvrant les 750 dernières années. La présence de cette molécule dans cet enregistrement sédimentaire s'explique vraisemblablement par la pratique du rouissage, une opération technique particulière et essentielle pour l'extraction des fibres de la tige de la plante. Ces acquis démontrent qu'il est possible de reconstruire la dynamique du rouissage au cours du temps à partir de l'analyse du cannabinoïde dans les sédiments. Cette découverte apporte un nouvel outil fiable pour les études paléoenvironnementales et archéologiques, qui pourrait être utilisé pour préciser les origines de la domestication du chanvre, jusqu'à maintenant débattue.

Fossil cannabinol tracks the history of hemp retting

Marlène Lavrieux^{a,b}, Jérémy Jacob^b, Jean-Robert Disnar^b, Jean-Gabriel Bréheret^a,
Claude Le Milbeau^b

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 CNRS/INSU, Université d'Orléans, Laboratoire de Géologie, Faculté des Sciences et Techniques, Université François-Rabelais de Tours, Parc Grandmont, 37200 Tours, France.

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, UMR 6113 CNRS/INSU, Université François Rabelais de Tours, 1a rue de la Férollerie, 45071 Orléans Cedex 2, France.

Hemp (*Cannabis* sp.) has undeniably been a fundamental plant for the development of human societies (Russo, 2007; Wills, 1998) but its presence cannot be attested in archaeological sites where seeds or pollen are missing. Though molecular markers have shown their reliability in reconstructing past anthropogenic activities, no one concerns hemp that is yet known to hold specific chemical compounds, termed phytocannabinoids. Here we report on the detection of one of these chemicals, cannabinol, in lacustrine sediments dated back to 750 years. We associate the presence of this molecule in the sedimentary record to retting, a particular and essential process for extracting fibres from the stem of the plant. Our results demonstrate that it is possible to reconstruct the dynamics of retting through time from the analysis of cannabinol in sediments. This discovery brings a new and reliable tool for palaeoenvironmental and archaeological studies, and could be used to precise the origins of domestication of hemp.

Hemp is one of the oldest plants cultivated, and has always followed humans' dwelling places (Russo, 2007). It even could have co-evolved with mankind (McPartland and Guy, 2004). The exact cradle of this plant is not precisely known, but is certainly located in Central Asia (Russo, 2007). It was used for its fibres in Ancient China, perhaps back to 12,000 yrs (Russo, 2007). Hemp is attested in many ancient civilizations (e.g. Ancient Egypt) and then spread over the world, owing to its high adaptability. As a matter of fact this nitrophilous plant grows on every type of soils, has quite no natural enemy and is highly resistant to weather changes (Raman, 1998). The development of all civilizations has stood on its many uses, principally for the elaboration of ropes, textile and paper - with stems - but also as foodstuff - with seeds - or medicine and intoxication - with resin (Wills, 1998). Thus, *Cannabis* sp. appears as a fundamental plant in human history. But seeds and pollen are the only indicators currently exploitable for archaeological studies. The destruction of archaeological sites or the simple absence of such traces in some sites can make the use of this plant difficult or even impossible to prove (Wills, 1998). Such lacks can be overcome

by the monitoring of tracers of human activities well preserved on a continuous lapse of time in natural archives. However, if the analysis of the molecular biomarker content of lacustrine sediments and soils can provide information on past environments, only few can be unequivocally related to human activities (Jacob *et al.*, 2005, 2008; Zocatelli *et al.*, 2010; Lavrieux *et al.*, 2011, *in prep*¹; Le Milbeau *et al.*, *in prep*²; Bull *et al.*, 2002). Surprisingly, up to now, no study has revealed the occurrence of any *Cannabis* sp. biomarker in natural archives, though this species is known to contain phytocannabinoids, a group of chemical compounds that are unique to this plant (Russo, 2007). Accordingly, we here report on the detection of cannabinoïde in a sediment core of Lake Aydat (Auvergne region, France) covering the last 1800 yrs (Fig. 7.1), whereas this compound was absent in 35 soil samples that are representative of all the environmental conditions encountered in the catchment (landuse, slope, orientation), although former hemp cultivation is attested (Miras *et al.*, 2004).

Fig. 7.1 shows the location of the study site. The exact positions of the sampling sites of soils (in the catchment) and sediments (in the lake) were given in previous studies (Lavrieux *et al.*, 2011, *in prep*³).

Cannabinoïde (CBN) was identified in lipids isolated from sediment samples. The typical mass spectrum and molecular structure of CBN (as the trimethylsilylether derivative, for analytical purposes) obtained from a selected sediment sample is shown in Fig. 7.2. This compound is the fully aromatized metabolic by-product of Δ^9 -tetrahydrocannabinoïde (Δ^9 -THC; ElSohly and Slade, 2005), a weakly psychoactive compound the concentration of which in the plant differs depending on the variety of *Cannabis* sp. considered (< 0.3% in textile hemp vs. >1% for intoxicating hemp; Raman, 1998). The concentration of CBN ranges from 0 to 4.27 ng/g sediment in our samples (Fig. 7.3). Starting from the base of the studied section, CBN was detected for the first time in sediments dated to ca. 1260 cal. yrs AD, at concentration levels of ca. 2 ng / g sediment. Then concentration varied strongly all along the record. CBN was not detected in two samples dated from ca. 1445-1490 AD and five samples dated from ca. 1570-1720 AD. It was also absent in sediments younger than ca. 1860 cal. yrs AD as well as in the 35 soil samples we analyzed.

Fibre hemp was largely cultivated in Auvergne region during historical times (Peuchet, 1800), and was produced in small plots on the outskirts of every villages (Charbonnier, 1980). Fibres were locally used to make textile (Ballainvilliers, 1846), oil was used as a lightning fuel and hemp peeled stems were used for heating (Poitrineau, 1965). Seeds were probably consumed by local populations and leaves used for animal bedding (Brown, 1998).

¹Chapitres 3 et 4

²Egalement détaillé en annexe A

³Chapitres 3 et 4

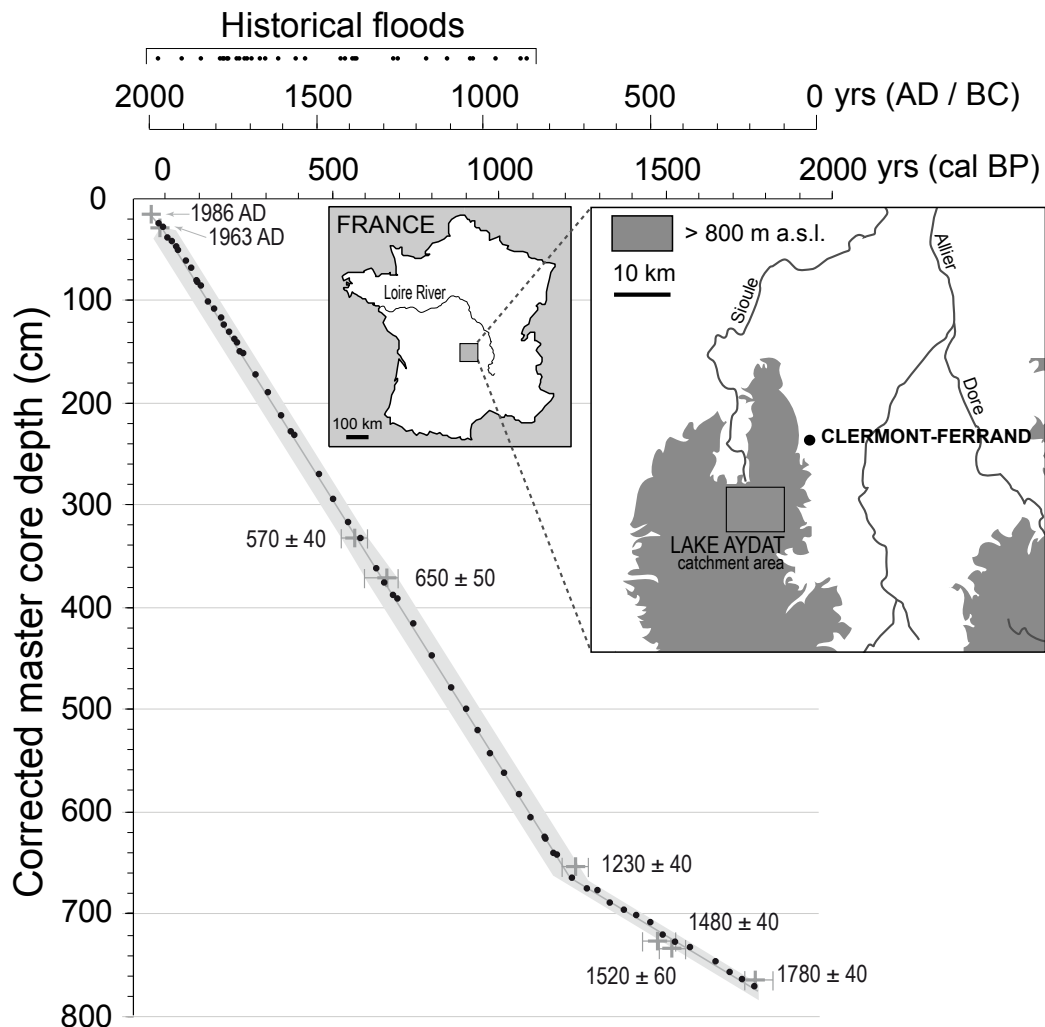


FIG. 7.1 – **Location of study site, depth-age model and position of the sediment samples along the sedimentary record.** "Corrected master core depth" signifies that the flood deposits were retrieved from the reconstituted section. AMS radiocarbon dates are represented in ages calibrated BP ("before present" = before 1950) with grey crosses and error bar. Grey crosses without error bars are ^{137}Cs dates. The dates of historical floods used for the establishment of depth-age model appear above the graphics. Reconstructed depth-age model is shown with a black line, surrounded by its margin of error in light grey. Black dots symbolize the position of the sediment samples.

Auvergne was one of the two major production regions in France for the high quality hemp that was used by the French Royal Rope Factory for the marine arsenal, where the longest ropes of Europe were made during the 17th century - 200 m all in one block (Peuchet, 1800). Hemp was also exported for the paper industry (Peuchet, 1800).

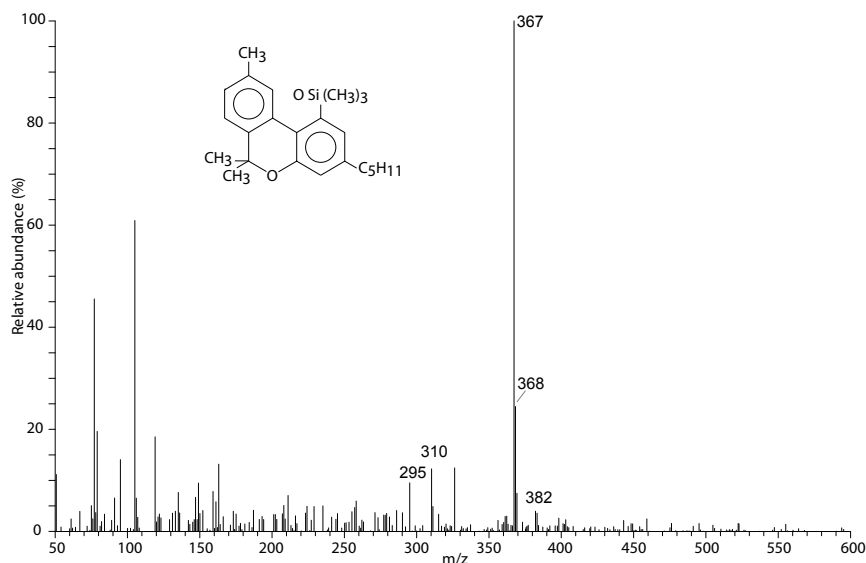


FIG. 7.2 – Mass spectrum and molecular structure of cannabinoïde (TMS derivative) from a selected sediment sample (1322 AD).

Roots are the only part of the plant that was not exploited, and were not proven to contain cannabinoïdes, or only in small amount (Russo 2007; De Pasquale et al., 1974). Thus, and even if the degradation in CBN in soils can not be excluded, the absence of CBN in soil samples can more probably be explained by the destruction and/or exportation of all plant materials that were susceptible to contain its precursor. Consequently, though soils are the main contributors of terrestrial organic matter to lacustrine sediments through erosion processes, another source of CBN in sediments must be invoked. The most obvious explanation involves the retting process that requires immersion of stems in water for few days in order to ease hemp fibres extraction, a process that was largely used in Auvergne (Diderot and d'Alembert, 1778; de la Platière, 1784).

Previous pollen analyses led on a sedimentary core from the same lake and covering the last 1700 years (Andrieu-Ponel, unpublished results) showed the continuous cultivation of *Cannabis* sp. from at least ca. 300 cal. yrs AD. The absence of CBN before ca. 1260 cal. yrs AD in our sample set can be explained by (i) the choice of a retting site far from the lake (a distant location preventing CBN to be brought in the lacustrine sediment) or (ii) a less intensive retting of *Cannabis* sp., leading to too low CBN concentrations for being detected in samples older than ca. 1260 cal. yrs AD.

In 1669, a Royal Ordinance forbids retting in the French rivers, to preserve water quality, stock of fishes and cattle health (Anonymous, 1772). However, this early awareness of the

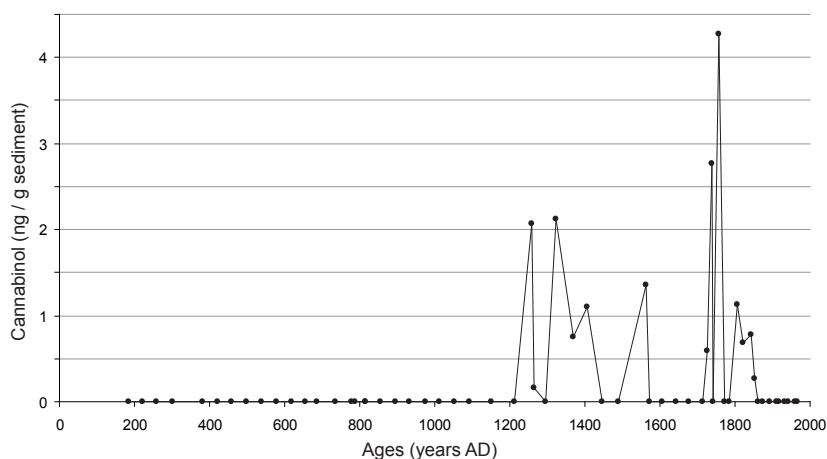


FIG. 7.3 – Evolution of cannabinoïde relative abundance (ng / g sediment) through time in the sediment samples.

interest for the protection of natural resources has never been put into practice and was still debated 160 years later (Duvergier, 1830). These facts can explain the considerable amounts of CBN detected along the 18th century in our samples.

If the first occurrence of CBN does not correlate with the first occurrence of *Cannabis* sp. pollen in sediments - that can be foreign to the catchment, these abundances of these tracers both strongly decrease in sediments younger than 1860 cal. yrs AD. At the worldwide scale, this period corresponds to the development of the cheaper cotton industry (rapidly followed by synthetic textiles), that hastened the abandonment of the textile hemp cultivation.

Consistently with previous pollen analyses, our geochemical observations highly suggest that CBN, an unequivocal molecular biomarker of *Cannabis* sp., can be used in sediments as a tracer of anthropogenic activities for archaeological and palaeoenvironmental studies. In addition to pollen studies that highlight hemp cultivation, our results indicate that CBN not only tracks the cultivation of a plant but more specifically the retting process in the tributary to the lacustrine sediment trap.

Although further work is necessary to better evaluate the stability of CBN in older sediments, this compound could help identifying the domestication area and unravelling the diffusion patterns of hemp through time. As opposed to archaeological studies classically performed on archaeological sites that are constrained in space and time, the detection of CBN and *Cannabis* sp. pollen in sediments can be used to reconstruct a continuous history of hemp cultivation and processing.

Methods summary

A continuous sediment sequence (AYD09; 19 m long) was retrieved in 2 and 3 meters long sections under 14.5 m water depth in Lake Aydat, with a coring platform (UWITEC piston coring device). Twin overlapping cores were taken to avoid problems of transition between sections. The chronology of the sequence was established after removing instantaneous events (flood deposits) with (1) 6 AMS radiocarbon dates obtained on leaves and wood fragments (Artemis Program; Laboratoire de Mesure du Carbone 14, Gif-sur-Yvette, France), calibrated (2σ) using CalPal Online (available on www.calpal-online.de) and distributed over the core; (2) ^{137}Cs measurements (J.L. Reyss, Laboratoire des Sciences du Climat et l'Environnement, Gif-sur-Yvette, France) on the top of the sequence indicating the main events of 1963 and 1986 AD; and (3) the correlation of flood deposits with historical events recorded in the Loire river catchment and described by Champion (1858-1864), Deblaère and Fabry (1998) and Genêt (2007), that balances the scarcity of datable remains at the top of the core.

A total of 60 lacustrine sediment samples covering the last 1,800 years, and 35 soil samples were dried, crushed in a mortar, and then sieved at 2 mm. An internal standard was added to ca. 1 g of sediment and 2 g of soil, which were solvent extracted by automatic solvent extraction (ASE, Dionex) using a mixture of CH_2Cl_2 :MeOH (1:1 v/v for soils, 9:1 v/v for sediments). After removal of the solvent under N_2 , the extract was separated into neutral, acidic and polar fractions on aminopropyl-bonded silica. The neutral fraction was further separated into aliphatics, aromatics, ethers and esters, ketones and acetates, and alcohols by flash chromatography on a Pasteur pipette filled with activated silica, using a sequence of solvents of increasing polarity. Alcohol fractions were then trimethylsilylated (TMS) with N,O-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide and pyridine (2:1 v/v; 60°C, 60 min) and injected in gas chromatography / mass spectrometry. The operating conditions are detailed in our previous studies (e.g. Lavrieux *et al.*, 2011, *in prep*⁴). Cannabinol was authenticated by comparison with authentic standard (also trimethylsilylated before injection).

⁴Chapitres 3, 4, 5

Chapitre 8

Application des assemblages moléculaires définis dans les sols au décryptage de l'archive sédimentaire

Conformément à la démarche générale du projet dans lequel s'inscrit ce travail de thèse, ce dernier chapitre vise à faire le lien entre les marqueurs moléculaires d'occupation des sols définis au chapitre 3 et l'enregistrement sédimentaire dont les données générales ont été présentées dans le chapitre 6.

Ce lien vise à répondre aux deux questions majeures suivantes. Tout d'abord, parmi les biomarqueurs de prairies et de forêts qui ont été identifiés dans les sols, lesquels se retrouvent dans les sédiments et lesquels sont absents? Dans ce dernier cas, la question secondaire qui se pose concerne les raisons de cette absence : disparition, transformation (dans les sols, durant le transport, dans les sédiments), ...? Dans un deuxième temps sera abordée l'interrogation majeure qui sous-tend l'ensemble de ce travail : que peuvent renseigner ces marqueurs sur les variations de l'environnement et notamment sur l'histoire de l'occupation des sols? A cette fin seront examinées et discutées les évolutions des teneurs de certains de ces biomarqueurs dans le temps.

Dans ce chapitre seront également confrontées les signatures moléculaires des dépôts de crue et celles des sédiments de fond, afin de déterminer s'ils peuvent se distinguer d'un point de vue qualitatif et/ou quantitatif, avec l'objectif ultime d'évaluer le potentiel de ces deux types de dépôts pour retracer l'occupation passée des sols.

Le but du chapitre n'étant pas d'inventorier tous les composés présents dans les sédiments, on se focalisera ici uniquement sur les marqueurs de sources identifiés dans les sols du bassin-versant, à savoir les biomarqueurs spécifiques de forêts (méthoxyserratènes, diterpènes tricycliques oxygénés ou non), de prairies (acétates de triterpényle) et les composés dont la distribution est différente entre les deux occupations de sol considérées (esters de

cires, estimation de la contribution fécale à l'aide de stéroïdes, esters méthyliques d'acides gras, *n*-alcanes, *n*-alcan-2-ones). L'évaluation de l'importance relative des apports autochtones face aux apports allochtones n'étant pas envisagée dans ce travail, les marqueurs de production autochtone ne seront pas évoqués, sauf lorsque cela s'avère nécessaire à la discussion.

8.1 Matériel et méthodes

8.1.1 Sélection des échantillons

Les contraintes de temps ne permettant pas une étude exhaustive de la totalité de la carotte, seule sa partie supérieure a été soumise à une analyse moléculaire, ce qui correspond à 34 échantillons qui couvrent globalement les 760 dernières années (chapitre 6, Tableau 8.1). Une attention plus particulière a été donnée aux trois derniers siècles, témoins d'une transformation radicale du paysage du bassin-versant : ils sont couverts par 26 échantillons. L'étude des conséquences du récent remembrement, qui s'enregistrent probablement au niveau moléculaire, se situant hors du champ de cette analyse et faisant l'objet d'autres études (Disnar et Jacob, 2008 ; Disnar *et al.*, 2011b), l'échantillon le plus récent (daté de 1965-1970 CE) est antérieur ou tout juste contemporain du début de ces travaux. Par ailleurs, 8 dépôts de crue ont aussi été échantillonnés au long de la période de temps considérée.

8.1.2 Méthodes

Les méthodes d'extraction et de séparation des lipides ayant déjà été traitées dans les chapitres précédents (chapitres 3 à 5), il convient juste de préciser ici ce qui en diffère, à savoir :

- environ 1 g de sédiment a été extrait (contre 2 g pour les sols),
- l'extraction des lipides a été réalisée avec un mélange de CH₂Cl₂ : MeOH (9:1 v/v) (contre 1:1 v/v pour les sols).

8.2 Contenu lipidique des sédiments : comparaison avec les données acquises sur les sols sous prairies et forêts

Parmi les familles de composés dont la distribution a notamment permis de distinguer les sols sous prairies des sols sous forêts, des acétates de triterpényle, des stéroïdes, ainsi que des *n*-alcanes, des *n*-alcan-2-ones, des esters de cires et des esters méthyliques d'acides gras

Chapitre 8 : Application des assemblages moléculaires définis dans les sols au décryptage de l'archive sédimentaire

TAB. 8.1 – Liste des échantillons analysés. La cote maîtresse non corrigée se réfère à la carotte totale (non corrigée des crues). Correspondance avec les crues historiques : voir chapitre 6. Séd. fond = sédiment de fond; Incert. = Incertitude.

Nom d'échantillon	Type	Cote maîtresse non corrigée (cm)	Age CE (modèle d'âge)	Correspondance avec crues historiques	Age cal. BP	Incert. (ans)
902-A1-42-44	Séd. fond	22,5-24,5	1965-1970		-15 - -20	5
902-A1-46-48	Séd. fond	26,5-28,5	1958-1962		-8 - -12	40
902-A2-08-10	Séd. fond	36,5-38,5	1939-1942		11 - 8	40
902-A2-12-14	Séd. fond	40,5-42,5	1931-1935		19 - 15	40
902-A2-20-22	Séd. fond	48,5-50,5	1916-1919		34 - 31	40
902-A2-24-26	Séd. fond	52,5-54,5	1908-1912		42 - 38	40
902-A2-28-30	Crue	56,5-58,5	1900	crue 1907	50	40
902-A2-34-36	Séd. fond	62,5-64,5	1889-1893		61 - 57	40
902-A2-42-44	Séd. fond	70,5-72,5	1874-1877		76 - 73	40
902-A2-50-52	Séd. fond	78,5-80,5	1858-1862		92 - 88	40
902-A2-54-56	Séd. fond	82,5-84,5	1850-1854		100 - 96	40
902-A2-56-58	Crue	84,5-86,5	1849	crue 1846	101	40
902-A2-60-62	Séd. fond	88,5-90,5	1841-1845		109 - 105	40
902-A2-72-74	Séd. fond	100,5-102,5	1818-1822		132 - 128	40
902-A2-80-82	Séd. fond	107,5-109,5	1805-1809		145 - 141	40
902-A2-87-88	Crue	115,5-116,5	1791	crue 1790	159	40
902-A2-90-92	Séd. fond	118,5-120,5	1784-1788		166 - 162	40
902-A2-94-96	Crue	122,5-124,5	1778	crue 1778	172	40
902-A2-98-100	Séd. fond	126,5-128,5	1770-1774		180 - 176	40
902-A2-106-108	Séd. fond	134,5-136,5	1755-1759		195 - 191	40
902-A2-114-116	Séd. fond	142,5-144	1742-1745		208 - 205	40
903-A1-54-56	Crue	145,7-147,7	1740	crue 1740	210	40
903-A1-56-57,5	Séd. fond	148-149	1737-1739		213 - 211	40
903-A1-58,5-59,5	Crue	149-150	1736	crue 1733	214	40
903-A1-61,5-63,5	Séd. fond	153,2-155,2	1724-1728		226 - 222	40
903-A1-68,5-70,5	Séd. fond	160,2-162,2	1713-1717		237 - 233	40
901-B1-61-63	Séd. fond	242,1-244,1	1561-1563		389 - 387	40
901-B1-85-87	Séd. fond	282-284	1487-1491		463 - 459	40
901-B2-14-16	Crue	303-306	1449	crue 1449 ?	501	40
903-B1-53-55	Crue	344-346	1384	crue 1384	566	40
903-B1-86-88	Séd. fond	376,8-378,8	1321-1324		629 - 626	50
903-B2-10-12	Séd. fond	401-403	1294-1295		656 - 655	50
903-B2-24-27,5	Séd. fond	415-418	1275	crue 1275	675	50
901-C1-26,5-29,5	Séd. fond	417-420	1273	crue 1271	677	50
901-C1-36-38	Séd. fond	426,5-428,5	1259-1260		691 - 690	50

ont été identifiés dans les sédiments (Tableau 8.2). En revanche, aucun méthoxyserratène, diterpène tricyclique oxygéné ou non, n'a été détecté. Ce constat s'avère valable tant pour les sédiments de fond que pour les dépôts de crue.

TAB. 8.2 – Comparaison du contenu moléculaire des sols (sous prairies et sous forêts) et des sédiments (sédiment de fond et dépôts de crue), sur les familles et les critères permettant de distinguer les prairies des forêts.

Famille	Critère	Sols		Sédiments	
		Prairies	Forêts	(fond)	(crues)
Acétates de triterpényle	présence	présents	absents	présents	présents
Stéroïdes	contribution fécale	élevée	faible	présents	présents
Méthoxyserratènes	présence	absents	présents	absents	absents
Diterpènes tricycliques	présence	absents	présents	absents	absents
Diterpènes tricycliques oxygénés	présence	absents	présents	absents	absents
n-alcanes	nC_{29}/nC_{31}	élevé	faible	présents	présents
n-alcan-2-ones	nC_{29}/nC_{31}	élevé	faible	présents	présents
Esters de cires	présence	présents	absents	peu présents	peu présents
FAMES	$(iC_{15}+aiC_{15})/C_{15}$	élevé	faible	présents	présents

8.2.1 Comparaison du contenu moléculaire des dépôts de crue et des sédiments de fond

Les figures 8.1 et 8.2 illustrent les résultats acquis sur les fractions cétones / acétates et alcools de 2 crues (1449 et 1907 CE) et 2 sédiments de fond (1487-1491 et 1889-1893 CE). Les distributions de composés présentées sont représentatives de tous les échantillons et contiennent la majorité des composés d'intérêt pour cette étude. Les deux échantillons de crues ont été choisis d'âge très différent, afin de proposer deux images aussi contrastées que possible. Les sédiments de fond ont été sélectionnés en raison de leur proximité temporelle avec les niveaux de crue sélectionnés, l'un avant la crue correspondante, l'autre après. Ils doivent ainsi refléter des conditions du bassin-versant similaires à celles enregistrées par le dépôt de crue correspondant.

L'observation visuelle des chromatogrammes met en évidence une très grande similitude entre les échantillons : cette similitude est tout d'abord qualitative (qui concerne les composés effectivement considérés durant ce chapitre, mais aussi tous les autres composés analysés), mais également quantitative. Ainsi, s'il apparaît difficile de distinguer chaque échantillon de crue de l'échantillon de sédimentation de fond correspondant, il n'est pas plus évident de distinguer à première vue les échantillons récents des échantillons anciens. Visuellement, *i. e.* en se fondant sur les chromatogrammes correspondants, cette distinction ne se marque que par l'abondance particulière de quelques rares composés.

Malgré la similitude frappante entre le contenu moléculaire des sédiments de fond et des dépôts de crue, il convient de ne pas confondre entre ces deux types de faciès. En effet, alors que le sédiment de fond archive une information diffuse et continue dans le temps et l'espace, le dépôt de crue enregistre une information qui, tout en dépendant de l'intensité de l'épisode pluvieux qui l'accompagne ou de sa localisation sur le bassin-versant, est instantanée (dépôt évènementiel). Ces caractères opposent ces deux types de dépôts et rendent leur utilisation conjointe hasardeuse, puisque leur signification est différente. De ce fait, puisqu'ils offrent une meilleure représentativité spatiale et temporelle du bassin-versant, seuls les sédiments de fond seront considérés dans la partie 3 pour retracer l'évolution temporelle des biomarqueurs.

8.2.2 Familles de composés absentes des sédiments

Aucun marqueur univoque de forêt (diterpène tricyclique oxygéné ou non, méthoxyseratène ; chapitre 3) n'a été détecté dans les sédiments lacustres.

Pourtant, les diterpènes tricycliques et diterpènes tricycliques oxygénés sont des constituants habituels des lipides sédimentaires, comme en attestent de nombreuses études antérieures (*e.g.* Simoneit *et al.*, 1986 ; Stefanova *et al.*, 2002). La dégradation de ces composés

mène classiquement à des dérivés aromatiques qui n'ont cependant jamais été détectés dans les échantillons.

Les méthoxyserratènes, quant à eux, n'ont à ce jour jamais été décrits dans les sédiments. La seule étude mentionnant la présence de ces composés hors de leurs plantes sources a été menée sur les sols du bassin-versant du lac d'Aydat (Le Milbeau *et al.*, in prep.). De ce fait, leur stabilité n'est pas connue. Toutefois, bien que les cycles à 7 carbones soient réputés moins stables que ceux à 6 carbones, Le Métayer *et al.* (2005) décrivent dans un sédiment oligocène un hydrocarbure polyaromatique, dont la structure symétrique autour d'un cycle à 7 carbones indique que ce composé résulte vraisemblablement de l'aromatization d'un serratène. Cependant, les méthoxyserratènes s'en distinguent par la présence du groupement méthoxyle. Ce dernier semble apporter une certaine stabilité aux composés qui le portent, du moins aux échelles de temps considérées, comme en témoigne la détection d'éthers méthyliques de triterpènes pentacycliques dans des sédiments lacustres alpins datés de l'Age du Bronze (miliacine) ou encore dans des sédiments lacustres brésiliens datés de 20 000 ans, ainsi que leur potentiel paléoenvironnemental (Jacob, 2003 ; Jacob *et al.*, 2008).

Compte tenu de la stabilité prouvée ou potentielle des composés considérés, l'absence des biomarqueurs de forêts ou de leurs dérivés ne semble pouvoir s'expliquer que par la faible surface couverte par les forêts sur le bassin-versant ($\sim 15\%$ aujourd'hui, et guère plus durant les siècles précédents ; voir chapitre 2), de plus généralement localisées sur les sommets des puys. Du fait de cette sous-représentation de leur source du reste relativement éloignée du lac, ces composés se retrouvent très certainement fortement dilués dans le reste du signal terrigène arrivant au lac, au sein duquel la production autochtone contribue également à masquer ce signal forestier.

8.2.3 Familles présentes dans les sédiments

8.2.3.1 *n*-alcanes, *n*-alcan-2-ones

Les *n*-alcanes et *n*-alcan-2-ones sont présents dans les sédiments, et montrent une distribution s'étendant de *n*-C₁₆ à *n*-C₃₈, les composés impairs prédominant sur les pairs.

Pour les *n*-alcanes, le C_{max} est le *n*-C₂₉ ou le *n*-C₃₁, ces deux composés étant parfois présents en proportions équivalentes. Ils sont accompagnés du *n*-C₂₂ dans 3 échantillons (datés de 1910, 1843 et 1820 CE), qui pourrait être une pollution. Parmi les composés de bas poids moléculaire, on note aussi la présence du *n*-C₁₇. Synthétisé par de nombreuses algues, le *n*-C₁₇ est réputé présent en fortes proportions dans les lacs eutrophes (Weete, 1976 ; Cranwell, 1982). Plus généralement, les hydrocarbures inférieurs à *n*-C₂₀ sont peu représentés dans les échantillons, ce qui tend à indiquer un faible apport autochtone et ce,

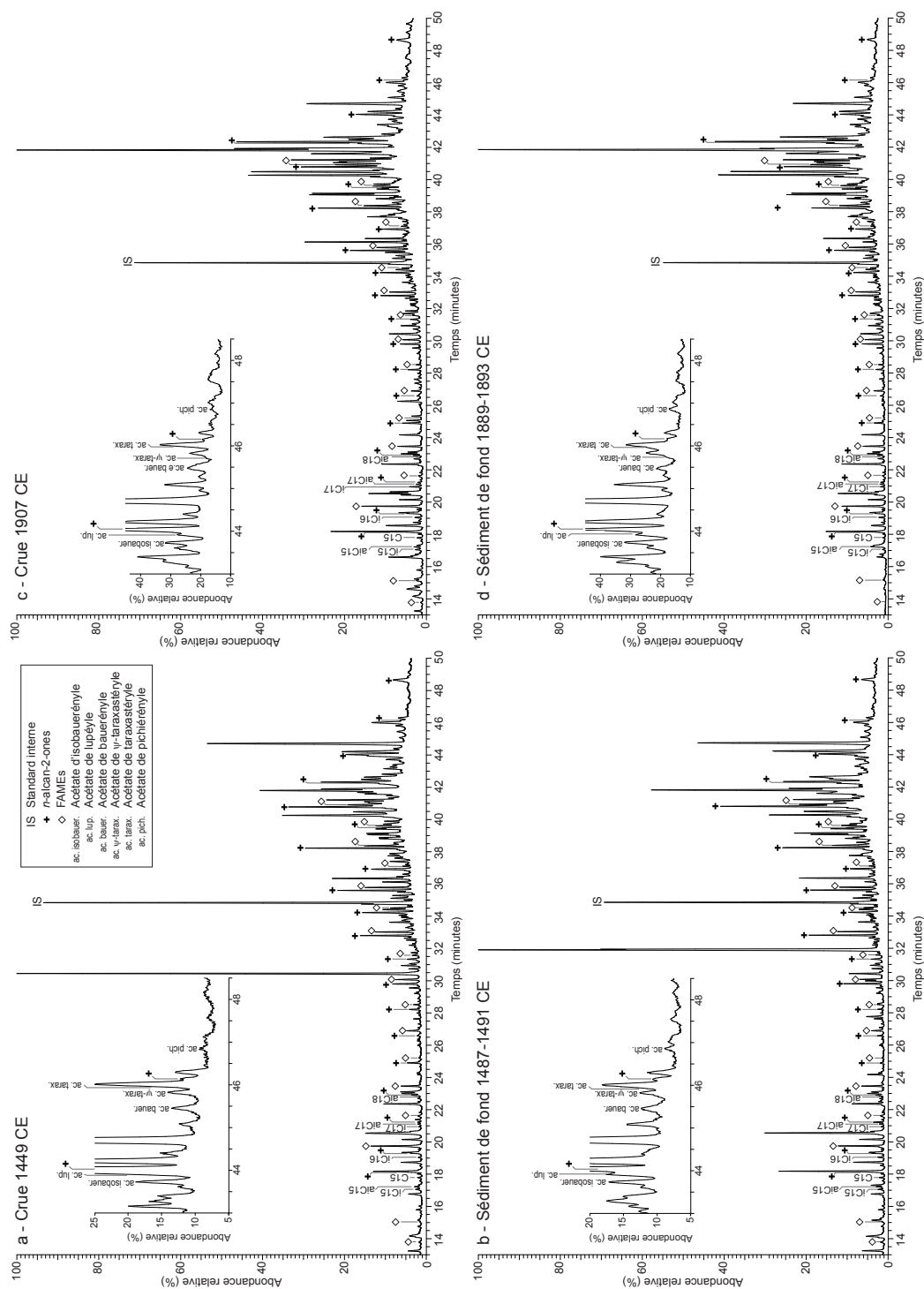


FIG. 8.1 – Chromatogrammes (TIC, courant ionique total) des fractions cétones et acétates d'échantillons représentatifs de crues et de sédiments de fond, montrant la distribution des esters méthyliques d'acides gras, des *n*-alcan-2-ones, et détail montrant la distribution des acétates de triterpényle. La même quantité de standard a été ajoutée aux différents échantillons. (a) crue datée de 1449 CE, (b) sédiment de fond daté de 1487-1491 CE, (c) crue datée de 1907 CE et (d) sédiment de fond daté de 1889-1893 CE.

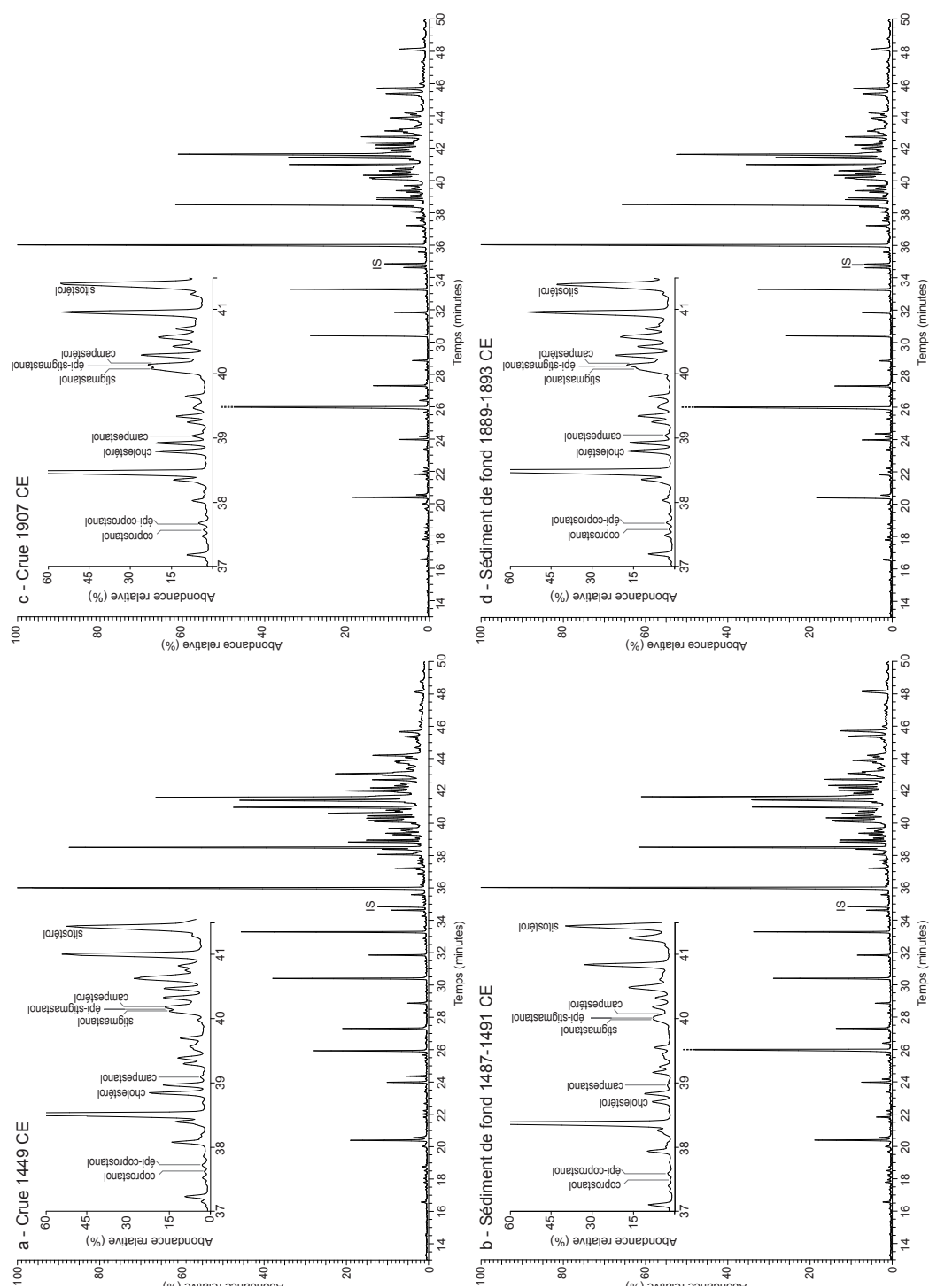


FIG. 8.2 – Chromatogrammes (TIC, courant ionique total) des fractions alcools d'échantillons représentatifs de crues et de sédiments de fond, et détail montrant la distribution des stérols utilisés pour estimer la contribution fécale. La même quantité de standard a été ajoutée aux différents échantillons. IS = standard interne. (a) crue datée de 1449 CE, (b) sédiment de fond daté de 1487-1491 CE, (c) crue datée de 1907 CE et (d) sédiment de fond daté de 1889-1893 CE.

même dans les échantillons les plus récents et malgré l'eutrophisation actuelle du lac (qui aurait en fait débuté il y a 200 ans environ ; chapitre 6).

Les *n*-alcan-2-ones présentent une distribution similaire à celle observée dans les sols (chapitre 3 ; Figs. 8.1), soit avec le *n*-C₃₁ pour C_{max}, sauf dans un échantillon (1960 CE) où il est remplacé par le *n*-C₂₉, alors accompagné du *n*-C₁₉. Comme cela a été invoqué pour les sols, ces composés cétoniques dérivent certainement des *n*-alcane par β -oxydation (Rieley *et al.*, 1991 ; chapitre 1).

8.2.3.2 Esters de cires

En tant qu'esters, ces composés sont facilement hydrolysables dans les sols (chapitre 3) et durant les tout premiers stades de diagenèse dans les sédiments (Disnar *et al.*, 2005). De fait, ils sont rarement retrouvés dans les échantillons considérés. Plus précisément, alors qu'une série est bien visible dans 2 échantillons, ils sont à peine détectables dans 13 autres, et totalement indétectables dans les 17 restants. De plus, dans les sédiments, ils peuvent être d'origine autochtone ou allochtone, selon la longueur des chaînes acide et alcool qui les composent, des esters de cire provenant de plantes supérieures étant supposés avoir une longueur de chaîne $> C_{20}$ (Cranwell, 1978). La faible représentation de ces composés dans les échantillons n'encourageant pas leur utilisation comme traceurs d'occupation de sols, ils n'ont pas été considérés plus avant.

8.2.3.3 Esters méthyliques d'acides gras (FAMES)

Comparativement aux sols dont il a été question dans le chapitre 3, des esters méthyliques d'acides gras naturels (*i.e.* non méthylés au laboratoire), ont été détectés parmi les lipides neutres des sédiments, Leur distribution y est comparable à celle des sols. Ainsi, on observe une série homologue de *n*-C_{13:0} à *n*-C_{30:0}, avec une prédominance des composés pairs sur les impairs, et une distribution bimodale avec *n*-C_{16:0} et *n*-C_{26:0} pour C_{max}. On note aussi de fortes proportions de *n*-C_{18:0} et *n*-C_{24:0} (Figs. 8.1) et la présence des composés iso- et anteiso- de C₁₅ à C₁₈, réputés d'origine bactérienne (*e.g.* Cranwell, 1978 ; Meyers et Ishiwatari, 1993).

La présence d'une large distribution de ces composés, en proportions substantielles, est d'autant plus singulière qu'en tant qu'esters, les FAMES sont susceptibles d'être hydrolysés assez rapidement. La longueur de chaîne des acides constitutifs des FAMES étant identique à celle des esters de cires cuticulaires des végétaux supérieurs (Cranwell, 1978), il peut être envisagé qu'ils aient une source commune.

Ainsi, malgré une distribution similaire des FAMES naturels dans les sols et les sédiments, l'application aux seconds du rapport $(iC_{15:0} + aiC_{15:0})/C_{15:0}$ établi pour les

premiers (chapitre 3) peut s'avérer discutable, compte tenu de l'intense activité (micro-)biologique qui règne dans le lac et ses sédiments. Toutefois, comme on le verra ci-après, la comparaison de l'évolution temporelle de ce rapport avec d'autres paramètres pourrait permettre de trancher sur l'origine autochtone ou allochtone des composés considérés.

8.2.3.4 Acétates de triterpényle

Jusqu'à 15 acétates de triterpényle ont été décrits dans les sols, des variations de leur diversité dans les échantillons étant probablement attribuables à des sources différentes (chapitres 3 et 4). Dans les sédiments lacustres, seule une dizaine d'entre eux est détectée (Figs. 8.1), parmi lesquels 4 ne semblent pas spécifiques (acétates de taraxéryle, α -amyrine, β -amyrine, et glutinyle), 6 définis précédemment comme marqueurs d'Astéracées (acétates de bauerenyle, isobauerenyle, lupéyle, taraxastéryle, ψ -taraxastéryle et pichiérényle), dont l'acétate de pichiérényle, décrit à ce jour uniquement dans la picride épervière (*Picris hieracioides* ; Figs. 8.3) et de ce fait hautement spécifique. Quatre acétates de triterpényle spécifiques aux Astéracées ne sont pas détectés dans les sédiments : les acétates de taraxastéryle, swertényle, gammacérényle, isopichiérényle, les 3 derniers étant décrits eux aussi uniquement dans la picride épervière.

Les possibilités de dégradation de ces composés sont à ce jour très peu connues (Lavrieux *et al.*, 2011 ; chapitre 4). Cependant, la comparaison de la diversité de ces composés dans un sol actuellement sous prairie, dans un sol anciennement sous prairie et dans les sédiments (Tableau 8.3 ; chapitres 3 et 5) montre qu'il n'existe aucune logique immédiate dans leur distribution. Dans l'hypothèse d'une possible dégradation partielle des composés, le sol anciennement sous prairie ayant changé d'occupation il y a moins de 60 ans, on pourrait s'attendre à y trouver une plus grande diversité moléculaire que dans les sédiments, pour la plupart beaucoup plus anciens. Cependant, il y a plus de 2 fois plus de composés détectés dans les sédiments. Tous les composés détectés dans le sol anciennement sous prairie, sauf un, sont également présents dans les sédiments. *In fine*, la plus grande diversité d'acétates de triterpényle dans les sédiments est en défaveur d'une dégradation préférentielle de certains de ces composés, et *a contrario* plaide donc clairement en faveur d'une stabilité de ces composés, au moins à l'échelle des temps historiques.

Par ailleurs, parmi les 4 composés décrits uniquement dans la picride épervière (acétates de swertényle, de pichiérényle, d'iso-pichiérényle et de gammacérényle), seul l'acétate de swertényle est retrouvé dans le sol anciennement sous prairie, tandis que l'acétate de pichiérényle est seul détecté dans les sédiments. Cette différence ne peut se justifier par une trop grande dilution des trois autres composés effectivement non retrouvés dans les sédiments, car cela ne permet pas d'y expliquer l'absence de la molécule détectée dans le



FIG. 8.3 – *Picris hieracioides* (Picride épervière) - Parties aériennes (à droite), détail d'une feuille (en haut à gauche) et de capitules (en bas à gauche et au milieu) ©Andrea Moro, Université de Trieste (Italie).

TAB. 8.3 – Variété des acétates de triterpényle dans un sol actuellement sous prairie (chapitre 3), un sol anciennement sous prairie (chapitre 5) et les sédiments lacustres.

Nom	Nom commun	Sol actuellement sous prairie	Sol anciennement sous prairie	Sédiments Lacustres
Acétate de tarax-14-en-3 β -yle	Acétate de taraxéryl	X	-	X
Acétate d'olean-13(18)-en-3 β -yle	Acétate de δ -amyrine	X	-	-
Acétate d'olean-12-en-3 β -yle	Acétate de β -amyrine	X	-	X
Acétate de bauer-8-en-3 β -yle	Acétate d'isobauerényl	X	X	X
Acétate de glutin-5-en-3 β -yle	Acétate de glutinyle	X	-	X
Acétate d'urs-12-en-3 β -yle	Acétate de α -amyrine	X	-	X
Acétate de lup-20(29)-en-3 β -yle	Acétate de lupéyle	X	X	X
Acétate de multiflor-7-en-3 β -yle	Acétate de multiflorényl	X	-	-
Acétate de bauer-7-en-3 β -yle	Acétate de bauerényl	X	X	X
Acétate de taraxast-20-en-3 β -yle	Acétate de ψ -taraxastéryl	X	-	X
Acétate de taraxast-20(30)-en-3 β -yle	Acétate de taraxastéryl	X	-	X
Acétate de pichier-8-en-3 β -yle	Acétate d'isopichierényl	X	-	-
Acétate de pichier-9(11)-en-3 β -yle	Acétate de pichierényl	X	-	X
Acétate de gammacer-16-en-3 β -yle	Acétate de gammacerényl	X	-	-
Acétate de pichier-7-en-3 β -yle	Acétate de swertényl	X	(x)	-

sol anciennement sous prairie, et réciproquement. Il est plus probable que ces molécules sont synthétisées par d'autres plantes présentes sur le bassin-versant, et dont l'inventaire phytochimique n'a pas encore été réalisé à ce jour.

8.2.3.5 Stéroïdes

Les stérols utilisés pour estimer la contribution fécale dans les sols : coprostanol, épi-coprostanol, stigmastanol, épi-stigmastanol vs. campestanol, campesterol, sitostérol, cholestérol (chapitre 3) sont tous présents dans les échantillons de sédiments lacustres (Figs. 8.2). Les stéroïdes sont supposés stables dans les sédiments (Cranwell, 1982). Les composés en C₂₇ sont généralement dominants dans les plantes aquatiques, tandis que les composés en C₂₉ sont prépondérants dans les plantes terrestres (*e.g.* Meyers et Ishiwatari, 1993). Cependant, les 5 β -stanols (par exemple, le coprostanol et l'épi-coprostanol), dérivant des stérols, sont principalement produits lors de la digestion des humains et des animaux (voir chapitre 3 ; *e.g.* Nishimura, 1982). Ils peuvent également être produits en proportions modestes dans des milieux réducteurs (Volkman, 1986 ; Meyers et Ishiwatari, 1993). Par ailleurs, le cholestérol est un composé ubiquiste, notamment produit par les diatomées (Volkman, 1986 ; Rampen *et al.*, 2010). Le campesterol peut être présent en faibles proportions dans les algues (Sambamurty, 2005). Le β -sitostérol est produit à la fois par les plantes supérieures et les micro-algues, mais il peut être considéré comme marqueur de plantes terrestres dans les études portant sur des sédiments lacustres proximaux (Volkman, 2006). Sans s'étendre plus avant dans un inventaire exhaustif des stérols, du fait des sources multiples de ces composés dans les sédiments, l'utilisation du rapport :

$$\frac{\text{coprostanol} + \text{epi} - \text{coprostanol} + \text{stigmastanol} + \text{epi} - \text{stigmastanol} + \text{campestanol}}{\text{campesterol} + \text{sitosterol} + \text{cholesterol}}$$

défini au chapitre 3 peut s'y avérer plus délicate que dans les sols, du fait d'un possible mélange entre une empreinte autochtone et une empreinte terrestre.

8.2.4 Autres biomarqueurs terrestres

En plus des marqueurs précédemment définis dans les sols, d'autres biomarqueurs spécifiques de végétaux supérieurs ou traceurs d'une érosion dans le bassin-versant ont été détectés. Il s'agit :

- du cannabinoïde (CBN), permettant de tracer l'utilisation de chanvre textile, et dont la présence et l'évolution temporelle ont été abordées dans le chapitre 7 ;
- de la miliacine, un éther méthylique de triterpène pentacyclique caractéristique du millet cultivé (*Panicum miliaceum* ; Jacob *et al.*, 2008), et dont la présence dans les sédiments du lac d'Aydat atteste la culture de cette plante durant la période considérée ;
- des TTHCs (plus précisément du 3, 4, 7-triméthyl-1, 2, 3, 4-tetrahydrochrysène et du 3, 3, 7-triméthyl-1,2,3,4-tetrahydrochrysène, autrement appelés TTHCs 2 et 3 ;

Wakeham *et al.*, 1980), des composés polycycliques et aromatiques, supposés marqueurs d'érosion (Disnar et Jacob, non publié ; Jacob *et al.*, 2009). Bien que supposés être produits dans les litières et les sols (Wakeham *et al.*, 1980 ; Yunker and MacDonald, 1995) par la dégradation d' α -amyrines et de β -amyrines, il se sont avérés être totalement absents des sols du bassin-versant d'Aydat (chapitre 3). Leur présence dans les sédiments lance ainsi le débat sur leur origine, suggérant plutôt leur possible formation au sein même des sédiments à partir d'amyrines ou d'amyrénones (Disnar *et al.*, 2011).

Par ailleurs, il faut aussi noter la présence de quelques autres composés aromatiques ainsi que de triterpènes ubiquistes :

- des composés tétracycliques ainsi que des pentacycliques mono-, di- ou triaromatiques issus de la dégradation de triterpènes pentacycliques de végétaux supérieurs (*e.g.* Spyckerelle, 1975 ; Lohmann, 1988). Leur absence dans les sols (chapitre 3) indique qu'ils se sont formés soit par divers mécanismes dans le sédiment, soit par voie photochimique durant leur transport (Corbet, 1980 ; Trendel, 1985 ; Jacob, 2003) ;
- des hopanes et des hopènes, d'origine bactérienne, évoqués dans une récente étude concernant le lac d'Aydat (Stefanova et Disnar, 2000).

8.2.5 Conséquences de cet inventaire moléculaire pour la qualité de la reconstruction des changements d'usages des sols

L'absence des biomarqueurs de conifères interdit toute tentative de reconstitution directe de l'évolution des surfaces forestières sur le bassin-versant du lac d'Aydat au cours du temps. A l'inverse, la préservation de biomarqueurs univoques de prairie tels que les acétates de triterpényle offre a priori la possibilité d'estimer l'emprise de celles-ci sur le bassin-versant. L'introduction possible d'une empreinte autochtone dans les rapports établis pour les sols à partir des stéroïdes et des FAMEs en suggère ici une utilisation prudente. Il convient donc de comparer l'évolution de ces rapports avec d'autres marqueurs, afin d'évaluer la fiabilité. La faible préservation des esters de cire impose d'écarter ces composés pour les reconstitutions des occupations de sols anciennes. Les rapports établis sur les autres familles de composés linéaires (*n*-alcane, *n*-alcan-2-ones) pourront être utilisés, bien que leur capacité à distinguer deux occupations de sols surimposées se soit avérée limitée (chapitre 5). De ce fait, dans le cas où plusieurs types de végétation caractérisés par un homologue majoritaire différent se partagent équitablement la surface du bassin-versant, on peut s'attendre à ce que les rapports sur *n*-alcane et/ou *n*-alcan-2-ones n'offrent pas des résultats suffisamment tranchés. Leur fiabilité peut toutefois être elle aussi appréciée en comparant leur évolution à celle des biomarqueurs de prairie. Enfin, malgré sa faible abondance relativement aux autres homologues de *n*-alcane dans les échantillons (cf. su-

pra), le *n*-alcane *n*-C₁₇ doit pouvoir être utilisé comme marqueur d'eutrophisation, comme cela a été souligné par Cranwell (1982) et déjà appliqué avec succès (*e.g.* Bourbonniere et Meyers, 1996). Son évolution temporelle pourra alors également être appréciée pour tenter de confirmer la période de début d'eutrophisation du lac d'Aydat, et la mettre en lien avec les changements d'usages des sols.

8.3 Evolution temporelle des biomarqueurs

La relation entre la concentration d'un composé ou la valeur d'un rapport moléculaire donné à une proportion précise de surface couverte par un type de végétation ne pouvant évidemment pas être établie, seules seront ici considérées les évolutions relatives des marqueurs au cours du temps. Ainsi, la confrontation des évolutions de différents marqueurs permettra de préciser quelle confiance peut leur être accordée, selon le degré de concordance des informations qu'ils apportent.

8.3.1 Séries alkyles

8.3.1.1 *n*-alcanes et *n*-alcan-2-ones

8.3.1.1.1 Rapport *n*-C₂₉ / *n*-C₃₁

Les rapports *n*-C₂₉ / *n*-C₃₁ sur *n*-alcanes et *n*-alcan-2-ones ont été définis dans le chapitre 3 comme étant > 1 dans les sols sous forêts, et < 1 dans les sols sous prairies.

En ce qui concerne les *n*-alcanes, ce rapport varie peu entre 1250 et 1550 CE (~1 - 1,2 ; Figs. 8.4). En revanche, il accuse une forte augmentation à partir d'un échantillon daté du début du 18^e siècle, où il atteint 1,5. S'ensuit alors une diminution très rapide, en quelques décennies, vers le pôle "prairie". Le minimum est atteint au milieu du 18^e siècle (0,77), puis les valeurs redeviennent plus comparables à celles observées pour les échantillons plus anciens. Bien que variant rapidement, elles restent alors globalement contenues entre 1 et 1,35.

La forte et éphémère variation de ce rapport au 18^e siècle peut trouver une explication dans les difficultés que traverse l'Auvergne à cette époque (chapitre 2). Brièvement, suite à une surpopulation, l'Auvergne subit une forte déforestation qui atteint son maximum aux 18^e et 19^e siècles. Le village de Saulzet-le-Froid, en amont du bassin-versant, aurait été l'une des communes les plus touchées de la région (Miras, 2004), ce qui a été confirmé par l'évolution du détritisme dans la carotte sédimentaire (chapitre 6). S'ensuit une intense érosion des sols, que Michelin (1996) qualifie de "catastrophique". Cette période de crise se solde par un exode rural massif qui entraîne une progression des pelouses à genêts et à

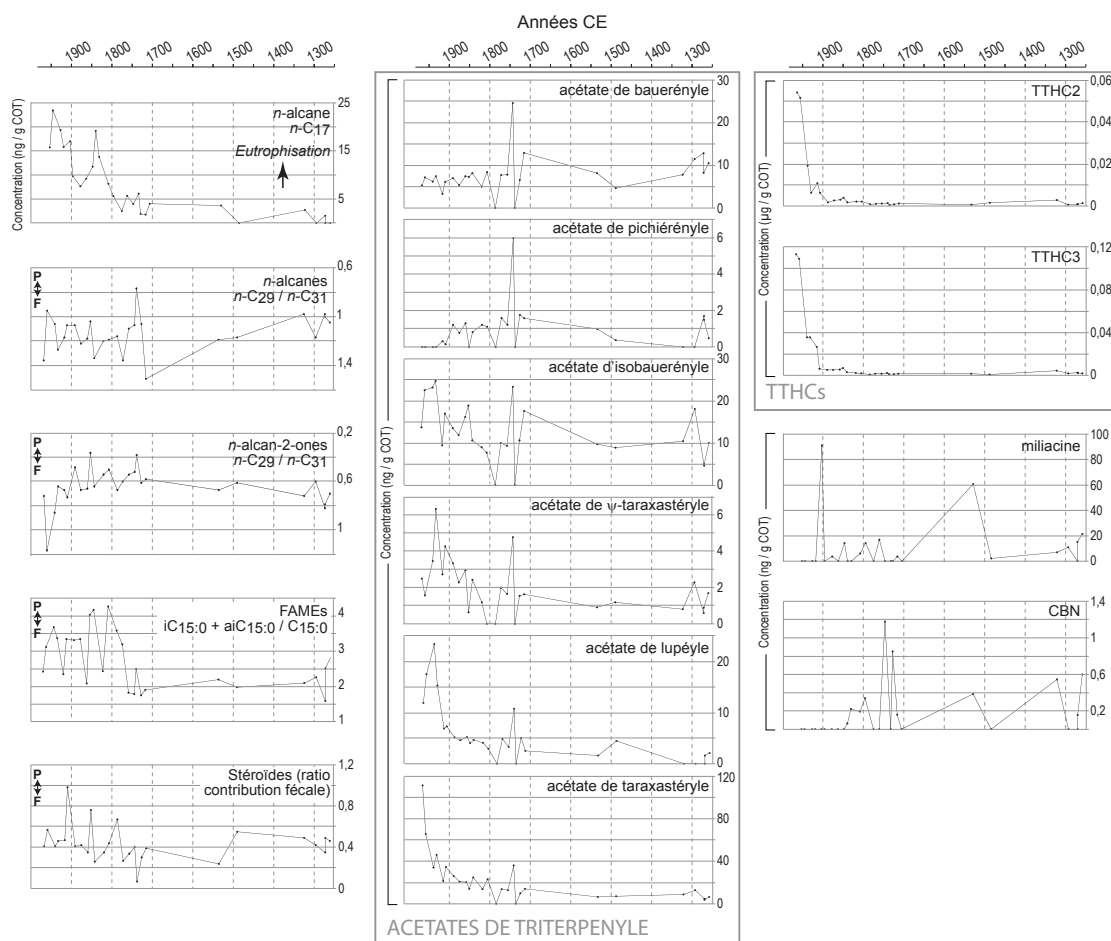


FIG. 8.4 – Evolution temporelle, dans les échantillons de sédimentation de fond, des rapports sur *n*-alcanes, *n*-alcan-2-ones, FAMES et contribution fécale, et des concentrations du *n*-alcan *n*-C₁₇, des acétates de bauerényle, pichiérényle, d'isobauerényle, de ψ -taraxastéryle, de lupéyle et de taraxastéryle, des TTHC2 et TTHC3, de la miliacine et du cannabinoïde. Pour les rapports est précisée la signification des deux pôles tels que définis dans les sols (P = "prairie", F = "forêt"); le sens de la tendance à une plus forte eutrophisation est indiqué pour le *n*-alcan *n*-C₁₇.

bruyères (chapitre 2). Celles-ci pourront être remises en culture suite à une utilisation en pacage, puis à un écobuage (Michelin, 1996).

Les céréales consommées, et donc cultivées suite aux épisodes de déforestation, sont le seigle, l'avoine, le froment et l'orge (chapitre 2). Or, l'homologue majoritaire présent dans le froment (tiges, feuilles) est le *n*-C₂₉ (Wiesenberg *et al.*, 2010, et références incluses), c'est-à-dire correspondant à l'empreinte définie comme "forestière" au long de ce travail. L'homologue *n*-C₃₁ domine dans la paille de seigle, mais il est accompagné du *n*-C₂₉ en proportions presque équivalentes (Wiesenberg *et al.*, 2009). Les feuilles d'orge, quant à elles,

sont dominées par l'homologue n -C₃₃, suivi du n -C₃₁ et du n -C₂₉ (Sachse *et al.*, 2010). Le C_{max} des n -alcanes de l'avoine ne semble pas figurer dans la littérature.

Ainsi, la forte valeur du rapport n -C₂₉ / n -C₃₁ au début du 18^e siècle peut s'expliquer par (1) l'intense déforestation en elle-même, qui déstabilise les sols mis à nus et entraîne vers le sédiment un signal forestier et/ou (2) par l'installation ultérieure de cultures qui peuvent avoir fourni d'importantes quantités de l'homologue n -C₂₉ au sédiment. Le rapport considéré qui atteint alors sa valeur maximale pour les sept siècles étudiés, témoigne ainsi de la surexploitation globale des sols, initiée dès le Moyen-Age. La chute brutale du rapport qui s'ensuit et qui s'effectue en 2 décennies témoigne vraisemblablement de l'exode rural massif qui en a résulté, accompagné du retour des landes et sans aucun doute d'herbacées pionnières.

Contrairement au rapport fondé sur les n -alcanes, celui fondé sur les n -alcan-2-ones n'enregistre pas de variation notable jusqu'au 20^e siècle, si ce n'est une légère tendance à se rapprocher du pôle "prairie" dans les échantillons les plus anciens (en oscillant entre 0,6 et 0,8). Il varie entre 0,4 et 0,6 dès le milieu du 18^e siècle (Figs. 8.4). En revanche, ses valeurs se déplacent vers un pôle plus forestier dès la fin du 19^e siècle, et atteignent une valeur maximale proche de 1,2 vers 1960. Cette empreinte plus forestière peut s'expliquer par les politiques de reboisement de la Loi d'Empire de 1860, puis de la Restauration des Terrains en Montagne (chapitre 2 ; Gadant, 1968 ; Michelin, 1996). La valeur relativement élevée durant les années 1960 comparativement aux échantillons qui les précèdent pourrait résulter d'un impact précoce du remembrement, généralement accompagné d'une destruction de haies voire de coupes forestières, encourageant l'érosion d'un sol à l'empreinte forestière marquée.

Les différences observées entre n -alcanes et n -alcan-2-ones, et qui se limitent en fait à quelques points de données (notamment au tout début du 18^e siècle ; Fig. 8.4), sont vraisemblablement explicables par des différences de production et/ou transformation de ces composés à sources multiples. Rappelons à cet égard, comme cela a précédemment été souligné (chapitre 3), que les n -alcan-2-ones témoignent d'une relative fragilité des n -alcanes dont ces composés sont issus.

8.3.1.1.2 n -Alcane n -C₁₇

Les concentrations de l'hydrocarbure n -C₁₇ restent faibles et peu variables entre le milieu du 13^e siècle et le début du 19^e siècle (< 7 ng/g COT ; Figs. 8.4). A partir de cette époque, sa concentration augmente rapidement et fortement (23,5 ng/g COT). Ce composé réputé d'origine algale pouvant être *a priori* utilisé comme un marqueur d'eutrophisation (cf. supra), les variations de sa teneur confirment l'hypothèse faite dans le chapitre 6 à partir des mesures de susceptibilité magnétique et des analyses organiques globales (TOC,

IH, IO), c'est-à-dire que la phase actuelle d'eutrophisation du lac aurait été amorcée dès le début du 19^e siècle. Dans cette hypothèse, le dernier échantillon analysé, datant de la fin des années 1960, indiquerait une légère diminution de l'eutrophisation qui pourrait être mise sur le compte de premières actions de lutte contre la dégradation de la qualité des eaux liées au développement des activités touristiques aux abords du lac. Cette hypothèse pourrait être validée à l'aide d'échantillons plus récents, si la tendance observée se poursuivait effectivement sur le plus long terme.

8.3.1.2 Esters méthyliques d'acides gras (FAMES)

Les valeurs du rapport $(iC_{15:0} + aiC_{15:0})/C_{15:0}$ se sont révélées plus élevées dans les sols sous prairies que dans les sols sous forêts (chapitre 3). Dans les sédiments les valeurs de ce rapport, relativement stables jusqu'au milieu du 18^e siècle (1,7 - 2,7), subissent une brusque augmentation vers 1750, et atteignent rapidement des valeurs supérieures à 4 (Figs. 8.4). Bien que montrant une plus grande amplitude de variations qu'auparavant (2,2 - 4,2), la tendance est irréversiblement modifiée et s'est nettement déplacée vers le pôle " prairie". Ce rapport enregistre des variations concordantes avec celles fournies par les *n*-alcanes, suggérant une origine terrestre des homologues *iC*_{15:0}, *aiC*_{15:0} et *C*_{15:0} dans les sédiments du lac d'Aydat.

8.3.2 Stéroïdes et contribution fécale

Comparativement aux composés et rapports évoqués ci-dessus, le rapport permettant d'estimer la contribution fécale évolue moins fortement (Figs. 8.4). Ce rapport reste faible jusqu'au milieu du 18^e siècle ($< 0,6$), et montre ensuite une tendance globale à une augmentation pour atteindre ~ 1 au début du 20^e siècle. Cette augmentation peut s'expliquer par une intensification des apports fécaux, qui sont trop importants pour être compensés par une arrivée accrue de cholestérol diatomique accompagnant l'eutrophisation du lac (cf. supra). Ainsi, malgré une possible contribution autochtone pouvant altérer la fiabilité du rapport, ce dernier enregistre tout de même une pression d'élevage plus importante au cours des derniers siècles.

8.3.3 Acétates de triterpényle

Les acétates de triterpényle spécifiques d'Astéracées montrent une évolution temporelle concordante entre eux, selon deux groupes différents (Figs. 8.4).

D'une part, les acétates de pichiérényle et de bauerényle, qui suivent une évolution similaire durant les périodes les plus anciennes. Survient ensuite une augmentation nette et

fugace de leur concentration, qui se trouve multipliée par 3 et par 2 pour atteindre 6 et 25 ng/g COT, respectivement. Après cet épisode du milieu du 18^e siècle, leurs concentrations redeviennent comparables à celles précédemment observées. Enfin, à partir des années 1930, ces deux composés évoluent de manière indépendante : tandis que l'acétate de bauerényle reste présent à des niveaux comparables à ceux observés durant les décennies précédentes, l'acétate de pichierényle disparaît totalement des échantillons. Il faut rappeler ici que ce dernier a pour seule source connue la picride épervière, tandis que le premier, bien que synthétisé par diverses plantes de par le monde, a également pour seules sources réputées dans le bassin-versant cette même espèce, ainsi que les genres *Artemisia* (armoises, Astéracées) et *Euphorbia* (Euphorbiacées), dont des espèces sont aussi présentes sur le bassin-versant (Lavrieux *et al.*, 2011 ; chapitre 4). Ainsi, tandis que les tendances similaires de ces deux composés dans les échantillons les plus anciens suggèrent une source commune - probablement la picride épervière -, leur évolution divergente récente pourrait indiquer le développement d'une autre espèce, à savoir une armoise ou une euphorbe, ou bien une espèce jusqu'à aujourd'hui source inconnue d'acétate de bauerényle.

Les concentrations des acétates de lupéyle, de taraxastéryle et de ψ -taraxastéryle, et dans une moindre mesure celles de l'acétate d'isobauerényle, dessinent des évolutions temporelles parallèles. Tout comme les deux composés précédemment évoqués, ils présentent une concentration relativement stable durant les premiers siècles considérés, puis enregistrent une forte et éphémère augmentation au milieu du 18^e siècle, dans les mêmes ordres de grandeur que les composés précédents. Au cours des 19^e et 20^e siècles ils se distinguent toutefois de ces derniers par une teneur jusqu'à 3 fois plus forte que celle qu'ils ont connue au 18^e siècle. Contrairement aux autres composés, cette augmentation n'est que peu marquée pour l'acétate d'isobauerényle. La concentration de l'acétate de ψ -taraxastéryle est maximale durant les années 1930, puis diminue fortement, cette chute atteignant un facteur de 4 sur une trentaine d'années. La concentration maximale de l'acétate de lupéyle s'enregistre une dizaine d'années après le composé précédent, puis subit également une baisse, bien que plus contenue, dans les échantillons suivants. Enfin, l'acétate de taraxastéryle présente une concentration sans cesse croissante et d'allure exponentielle, avec notamment un quadruplement des valeurs enregistrées entre le 19^e siècle et le niveau le plus récent, daté de la fin des années 1960. Ces quatre molécules sont, elles aussi, toutes synthétisées par la picride épervière, mais sont également décrites dans d'autres espèces et genres d'Astéracées présents aujourd'hui sur le bassin-versant d'Aydat: *Cirsium arvense* (cirse des champs ; acétates de lupéyle, taraxastastéryle, ψ -taraxastéryle), *Sonchus oleraceus* (laiteron maraîcher ; acétates de lupéyle, taraxastastéryle), *Hieracium pilosella* (piloselle), *Picris echioides* (picride fausse-vipérine ; acétate de lupéyle), *Arctium lappa* (grande bardane), *Carduus nutans* (chardon penché), *Onopordum acanthium* (chardon aux ânes), *Taraxacum officinale*

(pissenlit ; acétate de taraxastéryle), et enfin les genres *Artemisia* sp. (armoises) et *Inula* sp. (inules ; acétates de lupéyle et de taraxastéryle ; Lavrieux *et al.*, 2011 ; chapitre 4) qui sont toutes des plantes de milieu ouvert, voire rudérales. Hors les Astéracées, le genre *Euphorbia* sp. (euphorbes), dont des espèces sont présentes sur le bassin-versant (Antonetti *et al.*, 2006), est également réputé producteur d'acétates d'isobauerényne, lupéyle et taraxastéryle.

L'évolution temporelle des concentrations de ces acétates de triterpényle ne présente aucune logique qui pourrait être imputée à une dégradation de ces composés, ce qui tend à confirmer leur stabilité, déjà évoquée plus haut. Ainsi, dans l'état des connaissances phytochimiques actuelles, l'évolution différentielle de leurs concentrations au cours des derniers siècles permet d'émettre les hypothèses suivantes :

- le pic de concentration de tous ces acétates, au milieu du 18^e siècle, suggère que les intenses défrichements de l'époque, rapidement suivis d'un exode rural massif, ont favorisé un développement soudain et intense de la picride épervière, réputée espèce pionnière (*e.g.* Escarré *et al.*, 1999). Celle-ci s'est ensuite rapidement trouvée dominée par d'autres espèces ;
- cette phase a effectivement pu être suivie de l'expansion de diverses autres espèces, dont le cirse des champs, qui atteindrait son apogée dans les années 1930, selon les indications fournies par l'acétate de psi-taraxastéryle ;
- le déclin du cirse des champs pourrait avoir été compensé par une plus grande abondance de la piloselle, et/ou de la picride fausse-vipérine, qui auraient atteint leur développement maximal dans les années 1940, ce que suggèrent les concentrations en acétate de lupéyle ;
- puis ces espèces auraient décliné rapidement, pour laisser la place à la grande bardane, au chardon penché, au chardon aux ânes et au pissenlit, comme l'indiquent les fortes concentrations en acétate de taraxastéryle ;
- enfin, depuis les années 1940 jusqu'à la fin de la période considérée, l'acétate de bauerényne indique que les armoises et/ou les euphorbes auraient conservé la même représentativité dans le bassin-versant.

Quelques unes de ces hypothèses sont confortées par les observations botaniques rapportées par Chassagne (1956). Il explique en effet le caractère envahissant d'une variété de cirse des champs, et décrit l'invasion fulgurante d'un jardin par cette plante suite à son importation au début du 20^e siècle, ce qui est en adéquation avec les hypothèses formulées ci-dessus. Il fait également mention de la colonisation de la picride fausse-vipérine, apparue dans la 2^e partie du 19^e siècle dans le Puy-de-Dôme et décrite pour la première fois à Saint-Saturnin (à 6 km à l'Est du lac d'Aydat) en 1944, ce qui peut s'accorder avec les données moléculaires. Il signale enfin l'abondance du pissenlit et sa large consommation

dans la région (salade de pissenlit), mais n'en indique pas l'ancienneté.

Il faut toutefois garder à l'esprit que cette reconstitution d'associations végétales souffre du biais inhérent à un inventaire phytochimique incomplet des acétates de triterpényle, comme cela a été souligné dans le chapitre 4 (Lavrieux *et al.*, 2011). Il est de plus fortement probable que ces molécules puissent être synthétisées par d'autres plantes qui (1) sont déjà connues comme étant productrices de ces composés, mais qui ne sont aujourd'hui plus présentes sur le bassin-versant et n'ont donc pas été considérées dans le chapitre 4, ou qui (2) n'ont pas encore été décrites comme productrices d'acétates de triterpényles spécifiques.

8.3.4 Autres marqueurs

8.3.4.1 TTHCs

Les concentrations des deux TTHCs présentent la même évolution (Figs. 8.4). Elles restent très faibles ($< 0,005 \mu\text{g} / \text{g COT}$) jusqu'au milieu du 18^e siècle. Cependant, après avoir atteint un seuil notable vers le milieu du 14^e siècle, les concentrations de ces molécules diminuent jusqu'à la fin du 15^e siècle avant de réamorcer une croissance. Cette diminution est contemporaine de la Guerre de Cent Ans et de l'épidémie de Peste Noire, dont les effets sur les populations bordant le Lac d'Aydat, précédemment été évoqués dans le chapitre 6, se marqueraient alors par une atténuation temporaire de l'érosion du bassin-versant.

Les concentrations en TTHCs augmentent progressivement dès le milieu du 18^e siècle, ce qui confirme une période d'intense érosion évoquée pour les *n*-alcane (cf. supra). Cette augmentation est substantielle vers la fin du 19^e siècle et le début du 20^e siècle où elle est multipliée par 2, puis devient exponentielle pour atteindre $0,055 \mu\text{g} / \text{g COT}$ pour le TTHC2, et plus de $0,11 \mu\text{g} / \text{g COT}$ pour le TTHC3 dans les échantillons les plus récents, soit des concentrations 10 à 20 fois plus élevées que deux siècles auparavant. Cette tendance se poursuit dans les périodes plus récentes, les plus fortes concentrations de ces composés étant enregistrées pendant la toute la durée du remembrement, avant de diminuer fortement durant les 2 dernières décennies (Disnar et Jacob, non publié ; Disnar *et al.*, 2011). Bien que dans des proportions différentes, cette évolution est synchrone de l'eutrophisation du lac indiquée par le *n*-alcane *n*-C₁₇. Ainsi, les perturbations majeures qu'enregistrent les TTHCs durant les derniers siècles de la sédimentation du lac d'Aydat sont à verser au débat sur leur origine encore énigmatique.

8.3.4.2 Marqueurs de cultures : miliacine et cannabinoles

Bien que traceurs directs de culture (miliacine) ou de processus de rouissage (cannabinoles), la reconstitution précise de l'utilisation des plantes auxquelles ces molécules se

rappellent (millet cultivé et chanvre, respectivement) est rendue difficile par les faibles concentrations de ces molécules dans les sédiments, *i.e.* généralement inférieure à 20 ng/g COT pour la miliacine, et à 1 ng/g COT pour le CBN (Figs. 8.4).

Les informations qui peuvent être tirées du CBN ont été présentées dans le chapitre 7. Brièvement, le rouissage du chanvre textile - processus permettant d'assouplir les tiges pour faciliter l'extraction des fibres - est attesté sur l'ensemble de la période de temps considérée ici. Le rouissage semble avoir été plus développé au milieu du 18^e siècle, dont les singularités ont déjà été soulignées par les autres marqueurs (cf. supra). Au milieu du 19^e siècle cette pratique disparaît avec la culture du chanvre, probablement à la suite de l'introduction du coton qui a précipité la disparition de la plupart des chènevières dans le monde.

L'importance de la culture du millet semble quant à elle être restée identique tout au long de la période de temps considérée, sauf au milieu du 16^e siècle et vers 1910, où les concentrations en miliacine sont 3 à 6 fois plus élevées que durant le reste de la période considérée. Le pic du 16^e siècle peut correspondre à une culture accrue de cette céréale, liée la hausse démographique, elle-même subséquente aux diminutions de populations liées à la Peste Noire et la Guerre de Cent Ans (dont l'impact a aussi été révélé par l'étude sédimentologique de la carotte ; chapitre 6). La fin de la culture du millet, annoncée par la disparition de la miliacine, est ici datée de 1915-1920.

8.3.5 Discussion générale sur l'évolution des occupations anciennes

Du 13^e au 18^e siècle, les faibles fluctuations des différents paramètres moléculaires considérés ne fournissent que peu d'indications sur l'évolution de l'occupation des sols. Les variations démographiques liées à la Peste Noire et à la Guerre de Cent Ans, et donc l'intensité de la pression anthropique qui en résulte, ne semblent pas aussi bien enregistrées par les biomarqueurs moléculaires que par les paramètres sédimentologiques présentés dans le chapitre 6. En fait, seule la miliacine, marqueur direct de culture du millet, et les TTHCs semblent répondre à ces évènements. Le petit nombre de points de mesure, et donc la faible résolution obtenue sur ces périodes, peut en partie expliquer ces manques. Mais tous les échantillons qui couvrent ces siècles fournissent des valeurs globalement identiques des paramètres étudiés, soulignant la cohérence des informations qu'ils portent. Il est également envisageable que l'utilisation des sols soit globalement restée inchangée durant cette période de temps, et donc que les éventuels changements subis par le bassin-versant n'aient pas été aussi abrupts que ceux enregistrés siècles suivants, et aient donc été moins clairement enregistrés.

Ensuite, le parallèle entre l'histoire régionale dépeinte au chapitre 2 (et en partie reprise

dans ce chapitre) et les biomarqueurs moléculaires est plus aisé à établir, et les informations que ces derniers apportent sont concordantes (Figs. 8.5). Au 18^e siècle, la surexploitation extrême des sols (déboisement, intensification des cultures) est enregistrée par le rapport $n\text{-C}_{29}/n\text{-C}_{31}$ des n -alcane. L'exode rural que ceci entraîne est également indiqué par ce même rapport, ainsi que par les acétates de triterpényle qui signent un développement rapide d'une végétation pionnière d'Astéracées. Le rapport $(i\text{C}_{15:0} + ai\text{C}_{15:0})/\text{C}_{15:0}$ se déplace alors vers un pôle "prairie", tandis que la contribution fécale, estimée à l'aide des stéroïdes, s'intensifie. Malgré cette déprise, l'érosion du sol, estimée à l'aide des TTHCs, s'accroît.

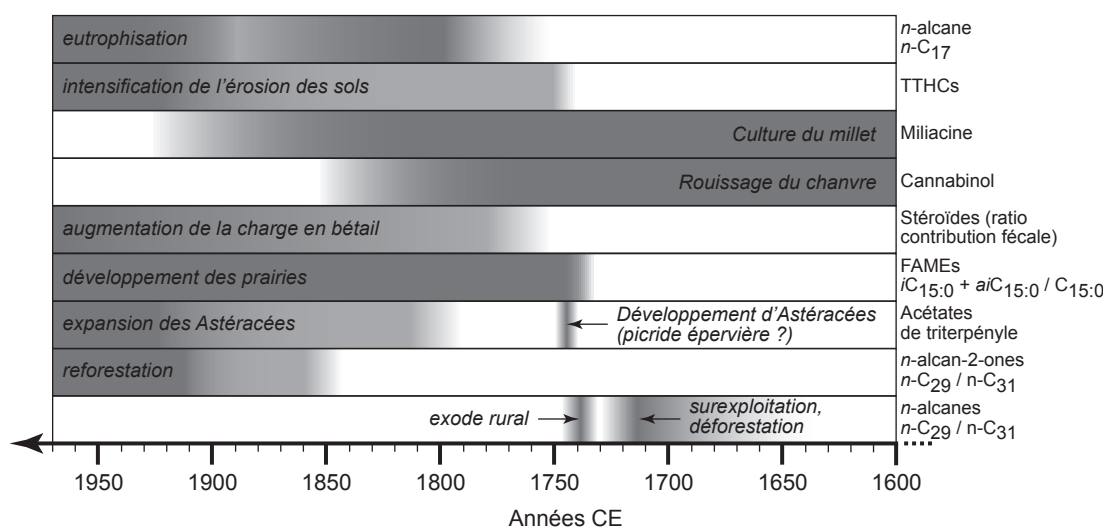


FIG. 8.5 – Synthèse des interprétations fournies par les différents biomarqueurs, montrant les tendances générales depuis 1600 CE. L'intensité des événements est d'autant plus élevée que la nuance de gris est foncée.

Une seconde étape est franchie au début du 19^e siècle avec l'arrivée d'un indice clair d'eutrophisation: l'alcane $n\text{-C}_{17}$. Cet épisode est rapidement suivi par une progression des Astéracées (acétates de triterpényle), témoins de la surface couverte par les prés et pâtures (30% selon le cadastre napoléonien). Une baisse démographique s'amorce en 2^{nde} partie du 19^e siècle, ainsi qu'une reforestation (indiquée par les n -alcan-2-ones) motivée par les politiques de préservation des territoires.

Le début du 20^e siècle est paradoxalement marqué par une forte chute de population et par une augmentation de l'érosion des sols, soulignée par les TTHCs. Les acétates de triterpényle témoignent de l'installation en grand nombre d'Astéracées, dès la fin de la 1^{re} Guerre Mondiale.

La concordance de l'évolution de ces différents biomarqueurs plaide en faveur de leur

origine principalement terrestre, y compris ceux pour lesquels une possible contamination d'origine autochtone a été évoquée (FAMEs, stéroïdes).

8.4 Conclusions

Les assemblages de biomarqueurs ayant montré leur potentiel de distinction des sols sous prairies de ceux sous forêts du bassin-versant d'Aydat, constitués de marqueurs univoques de prairies (acétates de triterpényles) ou de forêts (méthoxyserratènes, diterpènes tricycliques oxygénés ou non) ainsi que de composés dont la distribution diffère entre ces deux occupations de sol (esters de cires, stéroïdes, esters méthyliques d'acides gras, *n*-alcanes, *n*-alcan-2-ones) ont été recherchés dans des échantillons de sédiment du lac d'Aydat, couvrant les 760 dernières années. Cette approche a permis d'examiner (1) la part de ce message d'origine terrestre effectivement transmise au sédiment, (2) les éventuelles causes de distorsion de ce message et (3) les potentialités offertes par ces biomarqueurs pour reconstituer l'histoire des changements d'occupation des sols. Malgré un apport autochtone au sédiment conséquent, dû à la large présence de *blooms* de diatomées (chapitre 6), le signal d'origine terrestre est clairement perceptible.

Les dépôts de crue ont tout d'abord été comparés à la sédimentation de fond, et le contenu moléculaire n'a pas permis de mettre en évidence de différences entre ces deux types d'échantillons.

Parmi les familles de molécules constituant les assemblages moléculaires typiques de prairies et de forêts définis dans le chapitre 3, seuls les biomarqueurs univoques de forêts (diterpénoïdes, méthoxyserratènes) n'ont pas été retrouvés. Leur absence est très probablement liée à une dilution de ces composés dans le reste du signal organique, du fait de la faible couverture forestière du bassin-versant. De ce fait, et alors que des diterpènes tricycliques oxygénés ou non ont souvent été signalés parmi les constituants habituels des sédiments, jusqu'à présent aucun méthoxyserratène n'a été observé dans une archive lacustre. Il conviendrait de les rechercher sur d'autres sites d'études, où les forêts de conifères couvrent une plus grande surface, afin de confirmer ou d'infirmer leur potentiel paléoenvironnemental.

En dépit de cela, les autres biomarqueurs présents dans les sédiments considérés se sont avérés suffisamment informatifs pour donner des indications assez précises sur l'évolution de l'occupation du bassin-versant et ce, malgré des différences évidentes entre les usages anciens et l'utilisation actuelle des sols. La densité de points d'échantillonnage étant variable sur la période de temps considérée, certaines des interprétations proposées demeurent sujettes à débat, et certains épisodes cruciaux de changements d'occupation des sols sont peut-être passés inaperçus. Cependant, les transformations du paysage que ces biomar-

queurs laissent entrevoir apparaissent en conformité avec les études historiques régionales (chapitre 2). Ceci valide leur application et conforte la confiance qu'on peut leur accorder. La forte dépendance du bassin lacustre aux arrivées du bassin-versant, qui s'exprime par la surface relativement élevée de ce dernier par rapport à la surface du lac, ainsi que par sa topographie accentuée, peut expliquer le bilan positif de la démarche moléculaire suivie, et ce, malgré d'importants apports autochtones, notamment depuis l'eutrophisation récente du lac.

Des biomarqueurs spécifiques de végétation terrestre (cannabinol, miliacine) ainsi que des TTHCs ont été détectés dans les sédiments, alors qu'ils ne l'avaient pas été dans les sols. Ceci pointe la complémentarité de ces deux archives naturelles, en ce qui concerne l'établissement et l'utilisation de biomarqueurs d'occupation des sols.

La stabilité des acétates de triterpényle est, du moins sur l'échelle de temps considérée, confirmée. Les données phytochimiques actuellement disponibles ont permis de proposer quelques hypothèses de successions végétales, qui ne pourront être validées ou infirmées qu'avec l'acquisition de nouvelles connaissances concernant le contenu moléculaire de diverses essences végétales.

Au total, la reconnaissance d'assemblages moléculaires spécifiques des sols s'avère efficace pour une application paléo-environnementale, les critères proposés au cours de cette étude ayant prouvé leur potentiel d'application pour ce type d'utilisation.

Conclusion générale et perspectives

De nombreuses études ont permis de souligner les potentialités offertes par la matière organique sédimentaire, comme indicatrice de conditions environnementales et d'activité(s) anthropique(s) passées. Parmi les traceurs couramment utilisés et comparativement à d'autres composantes de la matière organique, les lipides s'avèrent d'excellentes cibles du fait de leur grande résistance à la dégradation et des fréquentes possibilités d'associer certains d'entre eux à une source bien définie (très généralement végétale). Par ces propriétés, ces composés répondent ainsi pleinement à l'acceptation de biomarqueurs.

Cependant, les études portant sur le lien entre les lipides détectés dans les milieux naturels (sols, sédiments, ...) et leurs sources, se sont jusqu'à maintenant essentiellement limitées à tenter de préciser le lien entre des espèces ou familles de plantes individuelles et le contenu lipidique de sols et/ou de sédiments, ainsi que, en ce qui concerne ces derniers, la distinction entre les apports terrestres et autochtones. Or, en contexte continental, les sols constituent une source majeure de matériel sédimentaire en conséquence de l'érosion. Les variations climatiques et/ou l'intensité des activités anthropiques sur le bassin-versant dont ils sont issus influencent largement cet approvisionnement. Le signal moléculaire porté par les sols est ainsi intimement lié à celui finalement porté par les sédiments, et s'inscrit donc en comme intermédiaire entre les plantes-sources et ces derniers.

Dans ce contexte général, l'originalité de la présente étude réside dans son aspect intégré, au travers de l'analyse d'un signal moléculaire depuis son origine, dans des sols, jusqu'à son archivage, dans des sédiments. En effet, cette étude a tout d'abord visé à confronter deux types différents d'occupation des sols (prairies / pâtures et forêts - principalement de conifères) et le contenu lipidique qui en est issu et qui se retrouve dans les sols. Ainsi, plutôt que de chercher à attribuer systématiquement une source très précise (taxon) à chaque composé, ce travail a été réalisé à l'échelle de l'occupation des sols, qui intègre à la fois la variété d'essences végétales présentes et les conditions physico-chimiques et micro-biologiques qui règnent au sein des sols considérés. Ceci a permis de sélectionner les composés et familles de composés les plus appropriés au traçage de chaque type d'occupa-

tion. La contribution d'anciennes occupations de sol à un contenu moléculaire plus récent a également été considérée.

Ultérieurement, les acquis de cette phase de calibration ont été utilisés lors d'une comparaison entre les assemblages de biomarqueurs définis dans les sols et le contenu moléculaire de sédiments lacustres issus du même bassin-versant - supposés jouer un rôle intégrateur des apports terrestres -, afin de certifier et qualifier l'origine pédologique des apports. Cette image peut être partiellement biaisée par divers phénomènes de dilution ou de transformation diagénétiques intervenus durant le transport et/ou la sédimentation. *In fine* les reconstitutions proposées à l'aide des traceurs moléculaires ont été confrontées aux informations fournies par la documentation historique disponible.

Les biomarqueurs moléculaires d'occupation des sols :

du sol...

Le contenu lipidique neutre de sols sous prairies et forêts qui a été inventorié représente environ 250 molécules réparties en une quinzaine de familles différentes. Tout d'abord, le lien entre la végétation actuelle et le contenu moléculaire ayant été confirmé, il a de ce fait été possible d'associer un type d'occupation du sol à un assemblage de biomarqueurs donné.

Face aux composés linéaires, ubiquistes, l'accent a été particulièrement mis sur les composés cycliques (notamment les triterpénoïdes), qui se révèlent souvent plus spécifiques que les précédents, mais qui n'ont pourtant jusqu'à maintenant pas bénéficié d'un intérêt aussi marqué. Les critères basés sur la présence ou l'absence d'un composé ou d'une famille de composés se sont révélés plus robustes que ceux basés sur des abondances relatives, marquant ainsi l'opposition entre les composés linéaires et cycliques sur lesquels reposent respectivement ces deux approches. En effet, la distribution des composés linéaires peut non seulement varier selon les essences végétales présentes, mais aussi en fonction des conditions environnementales. Ainsi, alors qu'il a effectivement été possible de proposer un critère de distinction les deux occupations de sol considérées fondé sur le composé majoritaire des *n*-alcane et sur celui des *n*-alcan-2-ones (produits d'altération des *n*-alcane), aucune différence n'a pu être mise en évidence dans le cas des *n*-alcools, dont la distribution est pourtant aussi variable selon les espèces végétales (*e.g.* van Bergen *et al.*, 1997). Bien que s'agissant de composés tout autant ubiquistes que les composés linéaires précédents, des critères de distinction ont également pu être proposés à partir des esters de cires et des esters méthyliques d'acides gras naturels (*i.e.* non méthylés au laboratoire), les différences alors observées entre sols sous prairies/pâtures et sols sous forêts paraissant ici s'expliquer par

une différence d'activité biologique entre ces deux types de sols. Ce dernier résultat confirme l'intérêt de l'étude du contenu moléculaire du sol qui, affecté par différents processus au sein du profil pédologique, se révèle différent du contenu moléculaire des plantes.

A l'opposé, les composés cycliques : stéroïdes, diterpènes tricycliques oxygénés ou non, acétates de triterpényle, méthoxyserratènes, se sont montrés beaucoup plus efficaces pour distinguer les occupations de sol, puisqu'ils sont produits par des végétaux différents. Parmi ces composés cycliques, cet inventaire a mené à la découverte de deux familles de nouveaux biomarqueurs spécifiques, jusqu'alors décrits dans leurs plantes-sources mais jamais détectés dans des archives naturelles, et qui concernent chacun une des occupations de sol considérées :

- d'une part, une dizaine d'acétates de triterpényle, spécifiques des Astéracées (voire, pour 4 d'entre eux décrits dans une seule espèce, la picride épervière ou *Picris hieracioides*), famille de plantes couramment répandues dans les milieux ouverts et/ou anthropisés, et qui peuvent ainsi constituer de nouveaux marqueurs fiables d'activités humaines dans les études paléoenvironnementales ;
- et d'autre part, les méthoxyserratènes, spécifiques de Gymnospermes et plus précisément des Pinacées, d'importance écologique et économique reconnue.

Par ailleurs, la persistance d'une empreinte moléculaire héritée d'une ancienne occupation de sol a pu être mise en évidence, cette fois-ci encore particulièrement à l'aide des composés cycliques. Cette durabilité des signatures lipidiques soulève des interrogations quant à la signification du signal pédologique effectivement exporté vers le lac.

Ainsi, cette étude a confirmé l'intérêt des triterpénoïdes, déjà évoqué dans de nombreuses études antérieures, ainsi que leurs potentialités d'application à des reconstitutions paléoenvironnementales (*e.g.* Cranwell, 1984 ; Hauke, 1994 ; Jacob, 2003 ; Trendel *et al.*, 2010).

... au sédiment

Avant d'aborder l'étude du contenu moléculaire de la carotte extraite des sédiments du lac d'Aydat, celle-ci a fait l'objet d'une caractérisation fine par tout un ensemble d'approches : observations sédimentologiques visuelles, datations radiométriques (^{14}C , ^{137}Cs), mesures de susceptibilité magnétique, de densité, de la composition élémentaire par spectrométrie de fluorescence X, analyse de la MO par pyrolyse Rock-Eval, et aussi consultation d'une documentation portant sur l'histoire et l'évolution paléoenvironnementale du bassin-versant du lac et de sa région. Ceci a avant tout permis d'expliquer l'inattendue dilatation de la série (19 m pour 6700 ans), ce qui s'est en fait avéré être un atout pour toutes les analyses qui ont été réalisées. Cette caractéristique s'explique par la géométrie particulière

de la vallée dans laquelle le lac s'étend. Par ailleurs, les données de l'analyse multi-traceurs a permis de démontrer l'impact prépondérant de l'anthropisation sur le fonctionnement hydrologique du lac et ce, depuis l'époque gallo-romaine, avec une apparition de crues nombreuses et plus ou moins régulières, vers la fin du Haut Moyen-Age. Enfin, deux phases d'eutrophisation du lac ont pu être mises en évidence : une première datée du milieu du Haut Moyen-Age, et la seconde, toujours en cours aujourd'hui, qui aurait débuté il y a 200 ans environ. C'est sur cette base qu'a été entreprise l'analyse moléculaire d'échantillons répartis au long des 8 derniers siècles. Le contenu moléculaire n'a pas permis de distinguer les dépôts de crue, correspondant à une sédimentation événementielle, de la sédimentation de fond, ce qui pourrait peut-être *pro parte* être expliqué par le mode d'échantillonnage utilisé.

La majeure partie du message moléculaire provenant des sols est effectivement transmise aux sédiments, puisque les assemblages de biomarqueurs définis dans les sols y ont été retrouvés, à l'exception marquante des biomarqueurs de forêt (diterpènes tricycliques oxygénés ou non, méthoxyserratènes) et de leurs éventuels produits de dégradation. Cette absence est probablement liée à une trop faible représentativité des forêts sur le bassin-versant, au long de la période considérée, celles-ci n'étant présentes à l'heure actuelle qu'au sommet des puits. Les esters de cire se sont avérés trop peu représentés pour être exploitables dans une analyse temporelle de l'évolution des biomarqueurs. Cependant, les autres biomarqueurs, cycliques ou linéaires, se sont révélés riches d'informations, et ont permis de proposer des hypothèses quant à certains changements d'occupation des sols. Au travers d'une évolution différentielle au cours du temps, ils ont fourni de nombreux indices utiles à cette reconstitution, soulignant l'importance de leur utilisation conjointe. Par ailleurs, les apports autochtones ne semblent pas brouiller de manière significative le signal terrestre, puisque les hypothèses de reconstitutions proposées ont pu être confirmées par les données historiques disponibles, validant ainsi le potentiel d'utilisation à des enregistrements sédimentaires des assemblages de biomarqueurs définis sur des sols dans la première partie de ce travail.

En plus de ces assemblages définis dans les sols, d'autres biomarqueurs de grande utilité paléoenvironnementale ont cependant été détectés dans les sédiments. Ainsi, la miliacine a permis de tracer la culture du millet (*Panicum miliaceum*), tandis que la détection de TTHCs, supposés marqueurs d'érosion des sols, a permis de préciser l'évolution de cette dernière et a apporté de nouveaux éléments au débat sur leurs origines mêmes. Enfin, le cannabinoïde, spécifique du chanvre (*Cannabis* sp.; chanvre textile dans le cas de la zone d'étude), a été détecté pour la première fois dans des archives naturelles et y tracerait la pratique du rouissage. Du fait de la très large utilisation de cette plante par les sociétés humaines depuis plusieurs millénaires, cette découverte ouvre le champ à de plus amples

applications.

Ainsi, l'étude intégrée des assemblages de biomarqueurs moléculaires, depuis leur genèse dans les sols jusqu'à leur archivage dans les sédiments, se solde *a priori* par un bilan positif. L'inventaire des composés présents dans les sols a notamment permis de mettre en évidence de nouveaux biomarqueurs d'intérêt paléoenvironnemental, les acétates de triterpényle et les méthoxyserratènes. La calibration des assemblages sur des occupations de sol suffisamment répandues au long des périodes historiques (prairies/pâtures et forêts) s'est avérée pertinente et cela, même si l'apparence actuelle du bassin-versant est profondément différente des nombreux visages qu'il a pu montrer au cours des siècles. Cela s'explique par exemple, dans le cas des acétates de triterpényle, par les divers milieux que les Astéracées peuvent conquérir (jachères, friches rudérales, bords des chemins et des cultures, ...). Plus largement, la détection du cannabinoïde a permis de montrer que les biomarqueurs sont non seulement des traceurs de sources, mais peuvent également tracer les processus mis en œuvre pour l'utilisation d'une plante.

Perspectives

1 - Meilleure connaissance de l'histoire du bassin-versant du lac d'Aydat

L'arrivée prochaine des résultats de l'analyse pollinique devrait permettre de confirmer ou d'infirmer certaines des hypothèses faites lors de la reconstitution de l'occupation ancienne des sols. Plus particulièrement, la mise en parallèle de ces deux types de traceurs pourrait permettre, dans le cas du cannabinoïde, d'estimer les éventuelles différences d'évolution de la culture du chanvre et du processus de rouissage. Les informations apportées par le pollen de conifères permettraient de compenser l'absence de leurs biomarqueurs spécifiques dans les sédiments.

Les résultats encourageants obtenus sur les reconstitutions des 760 dernières années incitent à pousser les investigations sur des périodes plus anciennes, où les archives historiques sont manquantes. Outre des renseignements sur des périodes *a priori* stables de l'histoire du bassin-versant, cela pourrait permettre d'apporter des éléments de discussion quant aux conséquences de l'évènement de crue majeur, vers 3800 cal. BP, ou encore sur d'éventuelles causes externes à l'apparition de l'évènement gravitaire.

Par ailleurs, tandis que cette étude a pu souligner le rôle des activités humaines sur le signal sédimentaire, le rôle du climat reste flou. L'évolution des conditions hydrologiques est, pour le moment, seulement évaluée à l'aide des dépôts de crues enregistrés. L'acquisition de données paléoclimatiques sur la carotte permettrait de distinguer les impacts respectifs des

conditions hydrologiques et de l'occupation anthropique des sols sur l'intensité des crues dans le lac. Les mesures δD composé-spécifique, qui ont montré leur intérêt en tant que proxy paléohydrologique (*e.g.* Clark et Fritz, 1997; Schefuß *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2011), semblent particulièrement adaptées à ce type de problématique.

2 - Recherche de nouveaux biomarqueurs

Par la détection de plusieurs nouveaux biomarqueurs univoques, cette étude a enrichi la base de connaissances actuelles et encourage à poursuivre les recherches en ce sens. L'application de la même démarche à d'autres occupations de sol, ou aux mêmes occupations de sol mais dans d'autres contextes (notamment climatiques et topographiques), devrait permettre la mise en évidence de biomarqueurs d'autres familles, voire espèces de plantes. Du fait de l'intérêt que présentent les céréales pour l'alimentation humaine et du rôle qu'elles ont joué depuis le Néolithique, la découverte de nouveaux biomarqueurs de ces plantes serait particulièrement intéressante pour les études paléoenvironnementales où la composante anthropique est à prendre en compte.

La détection du cannabinoïde, appartenant à une famille de composés réputée spécifique de *Cannabis* sp. mais pourtant jusqu'alors jamais découvert dans des archives naturelles, incite à rechercher si d'autres cas similaires existent et seraient potentiellement exploitables sur d'autres sites d'études, au sein de séries sédimentaires mais également pour les études archéologiques sur site. Par exemple, les capsaïcinoïdes sont uniques au genre *Capsicum* (piments; Bosland, 1996), légumes utilisés pour l'alimentation humaine depuis 9500 ans (MacNeish, 1964) et largement répandus de par le monde depuis les voyages en Amérique de Christophe Colomb (Heiser, 1976). Parmi cette famille de composés, la capsaïcine, qui serait faiblement mobile dans les sols et serait adsorbée sur les particules en suspension dans l'eau (HSDB, 2011), semble une cible exploitable bien que ses possibilités de biodégradation demeurent largement inconnues (HSDB, 2011). A cet égard, il convient cependant de signaler que Flamini *et al.* (2003) ont détecté cette molécule - ainsi que la dihydrocapsaïcine -, dans des piments datés du 2^e siècle av. J.C., ce qui souligne de ses capacités de préservation à long terme.

3 - Persistance des occupations anciennes des sols à l'échelle moléculaire

En révélant la persistance d'une signature moléculaire d'occupation ancienne au sein d'un profil de sol, cette étude soulève des questions quant à la précision des informations effectivement fournies par les assemblages de biomarqueurs d'occupation de sols, lorsqu'ils sont détectés dans les sédiments. En effet, même si la contribution héritée de l'occupation ancienne s'avère minime en regard de celle liée à l'occupation nouvelle, elle n'est probablement pas négligeable si les changements d'occupation ont affecté simultanément de grandes

superficies de sols, ou si la nouvelle occupation ne génère pas (ou pas suffisamment) de biomarqueurs suffisamment spécifiques pour la caractériser. On peut de plus s'attendre à ce que ce signal soit d'autant plus biaisé que les sols du bassin-versant conservent longtemps des traces moléculaires d'une (ou de plusieurs) occupation(s) ancienne(s). Ainsi, ce type d'études pourrait être appliqué à d'autres types de sol, affectés d'une pédogenèse différente et/ou dont le changement d'occupation serait plus ancien, et ce, afin de déterminer la durée de rémanence d'occupations anciennes, ainsi que l'impact du type de sol considéré sur cette durée. Des datations ^{14}C sur composés spécifiques (*e.g.* Eglinton *et al.*, 1996 ; Smittenberg *et al.*, 2002) constitueraient un moyen efficace pour préciser l'ampleur de ces phénomènes.

4 - Application des cortèges de biomarqueurs établis à d'autres sites d'études

Le bilan positif de l'application des cortèges de biomarqueurs définis durant cette étude à la reconstitution des occupations anciennes des sols en motive l'application à d'autres séries sédimentaires. Après une première étape visant à confirmer la robustesse des reconstitutions réalisées, en se fondant sur les mêmes assemblages mais sur d'autres sites dans des contextes différents mais pour autant bien documentés par des archives historiques et/ou polliniques, ces mêmes cortèges moléculaires pourraient ensuite être appliqués à d'autres sites (en contexte sédimentaire ou archéologique) où de telles archives sont manquantes.

5 - Stabilité des méthoxyserratènes

L'absence des méthoxyserratènes dans les sédiments n'a pas permis de préciser leur stabilité à de longues échelles de temps. Il conviendrait de les rechercher dans d'autres archives sédimentaires, enregistrant le signal provenant d'un bassin-versant plus largement couvert de conifères. Ce type d'étude permettrait de confirmer ou d'infirmer le potentiel d'utilisation de ces molécules pour les études paléoenvironnementales

Références

- van Aarsen, B.G.K., Alexander, R., Kagi, R.I., 2000. Higher plant biomarkers reflect palaeovegetation changes during Jurassic times. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 1417-1424.
- Abbott, T.P., Peterson, R.E., Tjarks, L.W., Palmer, D.M., Bagby, M.O., 1990. Major extractable components in *Asclepias linaria* (Asclepiadaceae) and *Ilex verticillata* (Aquifoliaceae), two potential hydrocarbons crops. *Economic Botany* 44, 278-284.
- Ageta, H., Arai, Y., 1983. Fern constituents: pentacyclic triterpenoids isolated from *Polypodium niponicum* and *P. formosanum*. *Phytochemistry* 22, 1801-1808.
- Ageta, H., Shiojima, K., Arai, Y., Masuda, K., 1987. Chemical and chemosystematical studies on fern triterpenoids. *Journal of pharmaceutical sciences* 76, S213.
- Ahmad, V.U., Fizza, K., 1986. Chemical constituents of *Euphorbia granulaia*. *Fitoterapia* 57, 280.
- Ahmad, V.U., Ismail, N., 1991. 5-Hydroxy-3,6,7,2',5'-pentamethoxyflavone from *Inula grantioides*. *Phytochemistry* 30, 1040-1041.
- Alfonso, S., 2000. Etude de paléoenvironnements littoraux. Contribution à l'établissement d'une échelle chronostratigraphique à partir des retombées atmosphériques de métaux lourds. Thèse de l'Université Bordeaux 1, 260 pp.
- Allison, F.E., 1973. Soil organic matter and its role in crop production. Amsterdam : Elsevier Scientific Publishing Company, 645 pp.
- Almendros, G., Sanz, J., Velasco, F., 1996. Signatures of lipid assemblages in soils under continental Mediterranean forests. *European Journal of Soil Science* 47, 183-196.
- Amblès, A., Jambu, P., Jacquesy, J.C., Parlanti, E., Secouet, B., 1993. Changes in the ketone portion of lipidic components during the decomposition of plant debris in a hydromorphic forest-podzol. *Soil Science* 156, 49-56.
- Amblès, A., Jambu, P., Parlanti, E., Joffre, J., Riffe, C., 1994. Incorporation of natural monoacids from plant residues into an hydromorphic forest podzol. *European Journal of Soil Science* 45, 175-182.

- Amblard, C., 1992. Seasonal periodicity in lacustrine phyto-plankton and the theory of ecological succession. *International Revue der gesamten Hydrobiologie* 77, 121-134.
- Andrieu, V., de Beaulieu, J.L., Ponel, P., Reille, M., 1997. Les distorsions de l'enregistrement pollinique de l'histoire de la végétation du dernier cycle climatique : exemples de séquences lacustres du Sud de la France. *Geobios* 21, 195-202.
- Anjaneyulu, B., 1965. Chemical investigation of some Indian plants. *Indian Journal of Chemistry* 3, 237-238.
- Anonymous, 1772. *Commentaire sur l'ordonnance des eaux et forêts, du mois d'août 1669*. Debure l'aîné, Paris, 516 pp.
- Antonetti, P., Brugel, E., Kessler, F., Barbe, J.P., Tort, M., 2006. *Atlas de la Flore d'Auvergne*. Conservatoire botanique national du Massif Central, Chavaniac-Lafayette (France), 981 pp.
- Apollinaire, S., 477. *Lettres*. Livre II, 21, 5.
- Armstroff, A., Wilkes, H., Schwarzbauer, J., Littke, R., Horsfield, B., 2006. Aromatic hydrocarbon biomarkers in terrestrial organic matter of Devonian to Permian age. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 240, 253-274.
- Arnaud, F., Revel, M., Chapron, E., Desmet, M., Tribovillard, N., 2005. 7200 years of Rhône river flooding activity in Lake Le Bourget, France: a high-resolution sediment record of NW Alps hydrology. *The Holocene* 15, 420-428.
- Auriat, S., 1957. Etude des sondages et captages dans plusieurs coulées de la Chaîne des Puys (Balmet, Côme, Louchadières, Aydat, Tiretaine). *Revue des sciences naturelles d'Auvergne* 23, 3-4, 97-141.
- Bai, E., Boutton, T.W., Wu, X.B., Lieu, F., Archer, S.R., 2009. Landscape-scale vegetation dynamics inferred from spatial patterns of soil $\delta^{13}\text{C}$ in a subtropical savanna parkland. *Journal of Geophysical Research*, 114, G01019.
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, B., Archer, S.R. Spatial patterns of soil $\delta^{13}\text{C}$ reveal grassland-to-woodland successional processes. *Organic Geochemistry*, sous presse.
- de Ballainvilliers, S.C.S.B., 1846. *Etat de l'Auvergne en 1765*. Bouillet, Clermont-Ferrand, 201 pp.
- Baldock, J.A., Nelson, P.N., 1999. Soil Organic Matter. In : Sumner, M.E. (Ed.). *Handbook of soil science*. Boca Raton : CRC Press Inc, 2148 pp.
- Ballut, C., Michelin, Y., Miras, Y., 2011. Landscape human shaping and spatial mobility of agropastoral practices in the Chaîne des Puys during historical times (Massif Central, France). *Quaternary International*, sous presse.
- Bard, E., Rostek, F., Turon, J.L., Gendreau, S., 2000. Hydrological impact of Heinrich events in the subtropical Northeast Atlantic. *Science* 289, 1321-1324.

- Baudin, F., Tribouvillard, N., Trichet, J., 2007. Géologie de la matière organique. Paris : Vuibert, 264 p.
- Bauernfeind, W, Woitek, U, 1999. The influence of climatic change on price fluctuations in Germany during the 16th century price revolution. *Climatic Change*, 43, 303-321.
- Bazin, G., Larrère, G.R., De Montard, F.X., Lafarge, M., Loiseau, P., 1983. Systèmes agraires et pratiques paysannes dans les Monts Dômes. INRA (éd.), Paris, 318 p.
- de Beaulieu, J. L., Pons, A., Reille, M., 1988. Histoire de la flore et de la végétation du Massif Central (France) depuis la fin de la dernière glaciation. *Cahier de Micropaléontologie* 3, 5-36.
- Behringer, W., 1999. Climatic change and witch-hunting: the impact of the Little Ice Age on mentalities. *Climatic Change* 43, 335-351.
- Belnap, J., 2003. Comparative structure of physical and biological soil crusts. In : Belnap, J., Lange, O.L. (Eds.). *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*. Ecological Studies Series 150, Second Edition. Berlin : Springer-Verlag, pp. 177-191.
- van Bergen, P.F., Bull, I.D., Poulton, P.R., Evershed, R.P., 1997. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments. I - Total lipid extracts, solvent insoluble residues and humic acids from Broadbalk wilderness. *Organic Geochemistry* 26, 117-135.
- van Bergen, P.F., Nott, C.J., Bull, I.D., Poulton, P.R., Evershed, R.P., 1998. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments - IV. Preliminary results from a study of the effect of soil pH on organic matter decay. *Organic Geochemistry* 29, 1779-1795.
- Berglund, B.E., 1991. The cultural landscape during 6000 years in southern Sweden: the Ystad Project. *Ecological bulletin* 41, 495 pp.
- Bernoux, M., Cerri, C.C., Neill, C., de Moraes, J.F.L., 1998. The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. *Geoderma* 82, 43-58.
- Biedenbender, S.H., McClaran, M.P., Quade, J., Wertz, M.A., 2004. Landscape patterns of vegetation change indicated by soil carbon isotope composition. *Geoderma* 119, 69-83.
- Bohlmann, F., Méller, L., King, R.M., Robinson, H., 1981. A guaianolide and other constituents from *Lychnophora* species. *Phytochemistry* 20, 1149-1151.
- Boivin, P., Besson, J.-C., Briot, D., Gourgaud, A., Labazuy, P., de Larouzière, F.D., Livet, M., Mergoïl, J., Miallier, D., Morel, J.-M., Vernet, G., Vincent, P., 2004. *Volcanologie de la chaîne des Puys*, 4e édition. Clermont Ferrand : Parc Naturel Régional des volcans d'Auvergne, 179 pp.
- Boon, J.J., de Leeuw, J.W., van den Hoek, G.J., Vosjan, J.H., 1977. Significance and taxonomic value of iso and anteiso monoenoic fatty acids and branched β -hydroxy acids in

- Desulfovibrio desulfuricans*. Journal of Bacteriology 129, 1183-1191.
- Bosland, P.W., 1996. Capsicums: Innovative uses of an ancient crop. In : Janick, J. (Ed.). Progress in new crops. Arlington : ASHS Press, pp. 479-487.
- Bouby, L., Billaud, Y., 2001. Economie agraire à la fin de l'Âge du Bronze sur les bords du Lac du Bourget (Savoie, France). Comptes Rendus de l'Académie des Sciences II A 333, 749-756.
- Bouby, L., Billaud, Y., 2005. Identifying prehistoric collected wild plants: a case study from Late Bronze Age settlements in the French Alps (Grésine, Bourget Lake, Savoie). Economic Botany 59, 255-267.
- Bouchet, C., 1987. Hydrogéologie en milieu volcanique. Le Bassin de la Veyre. Thèse de l'Université d'Avignon, 360 pp.
- Bourbonniere, R.A., Meyers, P.A., 1996. Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. Limnology and Oceanography 41, 352-359.
- Boutton, T.W., 1996. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In : Boutton, T.W., Yamasaki, S.I. (Eds.). Mass Spectrometry of Soils. New York : Marcel Dekker, pp. 47-82.
- Boutton, T.W., Archer, S.R., Midwood, A.J., Zitzer, S.F., Bol, R., 1998. $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. Geoderma 82, 5-41.
- Bradley, R.S., 2005. Climate forcing during the Holocene. In : Mackay, A.W., Battarbee, H.J.B., Oldfield, F. (Eds.). Global change in the Holocene. London : Arnold, 544 pp.
- Brassell, S.C., Eglinton, G., Marlowe, I.T., Pflaumann, U., Sarnthein, M., 1986. Molecular stratigraphy: a new tool for climatic assessment. Nature 320, 129-133.
- Brousse, M., 1827. Code forestier. Paris : Charles Béchét, 420 pp.
- Brown, D.T., 1998. Non-medicinal uses of Cannabis sativa. In : Brown, D.T. (Ed.). Cannabis. The genus Cannabis. Harwood Academic Publishers, 284 pp.
- Buckley, S.A., Clark, K.A., Evershed, R.P., 2004. Complex organic chemical balms of Pharaonic animal mummies. Nature 431, 294-299.
- Bull, I.D., van Bergen, P.F., Poulton, P.R., Evershed, R.P., 1998. Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments. II - Soils from the Hoosfield Spring Barley Experiment treated with different quantities of manure. Organic Geochemistry 28, 11-26.
- Bull, I.D., Lockheart, M.J., Elhmmali, M.M., Roberts, D.J., Evershed, R.P., 2002. The origin of faeces by means of biomarker detection. Environment International 27, 647-654.

- Bull, I.D., Berstan, R., Vass, A., Evershed, R.P., 2009. Identification of a disinterred grave by molecular and stable isotope analysis. *Science and Justice* 49, 142-149.
- Cadastre de France, 1808. Plans cadastraux parcellaires des communes d'Aydat et de Saulzet-le-Froid, Canton de St-Amand-Tallende.
- Campy, M., Macaire, J.J., 2003. Géologie de la surface. Erosion, transfert et stockage dans les environnements continentaux. 2e édition. Paris : Dunod, 440 pp.
- Cava, M.P., Shubber, A.K., Rao, K.V., 1967. Triterpene constituents of *Tabernaemontana laurifolia* and *Haplophyton cimicidum*. *Phytochemistry* 6, 1301-1303.
- Cerling, T.E., Quade, J., Wang, Y., Bowman, J.R., 1989. Carbon isotopes in soils and paleosols as ecology and paleoecology indicators. *Nature* 341, 138-139.
- Chambre d'Agriculture du Puy de Dôme, 2002. Contrat de rivière Veyre - Monne - Lac d'Aydat. Etude de l'agriculture. Document 1 : Présentation et pratiques agricoles. Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 120 pp.
- Chamley, H., 2000. Bases de sédimentologie. 2e édition. Paris : Dunod, 178 p. Champion, M., 1858-1864. Les inondations en France du VIe siècle à nos jours. 4 tomes. Dunod, Paris.
- Chapron, E., Desmet, M., De Putter, T., Loutre, M.F., Beck, C., Deconinck, J.F., 2002. Climatic variability in the northwestern Alps, France, as evidenced by 600 years of terrigenous sedimentation in Lake Le Bourget. *The Holocene* 12, 59-68.
- Chapron, E., Alberic, P., Jezequel, D., Versteeg, W., Bourdier, J.L., Sitbon, J., 2010. Multi-disciplinary characterisation of sedimentary processes in a recent maar lake (Lake Pavin, French Massif Central) and implication for natural hazards. *Natural Hazards and Earth System Sciences* 10, 1815-1827.
- Charbonnier, P., 1980. Une autre France. La seigneurie rurale en Basse-Auvergne du XIe au XVIe siècle. Thèse de l'Université Clermont-Ferrand, 1294 pp.
- Chassagne, M., 1956. Inventaire Analytique de la Flore d'Auvergne et Contrées Limitrophes des Départements Voisins. Tome 1. P. Lechevalier, Paris.
- Chatterjee, A., Mukhopadhyay, S. et Chattopadhyay, K., 1976. Lewis acid catalysed rearrangement of triterpenoids. *Tetrahedron* 32, 3051-3053.
- Cho, K.Y., Salton, M.R.J., 1964. Fatty acid composition of the lipids of membranes of gram-positive bacteria and "walls" of gram-negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta* 84, 773-775.
- Choi, S.Z., Choi, S.U., Lee, K.R., 2004. Phytochemical constituents of the aerial parts from *Solidago virga-aurea* var. gigantea. *Archives of Pharmaceutical Research* 27, 164-168.
- Ciccio-Alberti, J.F., Hoet, P., 1981. Algunos constituyentes de los frutos y de las hojas de *Tabernaemontana longipes* Donn. Smith. Congreso Latinoamericano de Química. XV, San

- José, CR, Febrero 1981, 89-90.
- Clark, I.D., Fritz, P., 1997. Environmental Isotopes in Hydrogeology. New York : Lewis Publishers, 328 pp.
- Clarke, G.K.C., Leverington, D.W., Teller, J.T., Dyke, A.S., 2004. Paleohydraulics of the last outburst flood from glacial Lake Agassiz and the 8200 BP cold event. Quaternary Science Reviews 23, 389-407.
- Coates, R. M., 1967. On the friedelane-oleanane rearrangement. Tetrahedron Letters 42, 4143-4146.
- Cochet, G., 1952. Le rôle et l'extension de la subvention pour reboisement dans le Massif Central et notamment dans le Puy-de-Dôme. Revue Forestière Française 9, 595-602.
- Cojan, I., Renard, M., 2006. Sédimentologie. 2e édition. Paris : Dunod, 444 p.
- Colbert, J.B., 1669. Ordonnance de Louis XIV, Roy de France et de Navarre, sur le fait des Eaux et Forests. Paris : Le Petit, Langlois, Foucault et Mabre-Cramoisy, 178 pp.
- Connor, H.E., Purdie, A.W., 1976. Triterpene methyl ether differentiation in *Chionochoa* (Gramineae). New Zealand Journal of Botany 14, 315-326.
- Cooper, W.J., Blumer, M., 1968. Linear, iso and anteiso fatty acids in Recent sediments of the North Atlantic. Deep Sea Research 15, 535-540.
- Coque, R., 2002. Géomorphologie. 6e édition. Paris : Armand Colin, 2002, 504 p.
- Coquillard, P., 1993. Dynamisme des systèmes agro-pastoraux de l'étage montagnard des Massifs du Sancy et des Puys : Variations biologiques et fonctionnelles ; Exemple d'application au modèle à *Calluna vulgaris* Hull. Thèse de l'Université d'Aix-Marseille, 1993, 293 pp.
- Corbet, B., 1980. Origine et transformation des triterpènes dans les sédiments récents. Thèse de l'Université de Strasbourg, France. 106 p.
- Corine Land Cover, 2006. Union européenne - SOes (Service de l'observation et des statistiques).
- Courtney, J. L., Gascoigne, R. M., Szumer, A. Z., 1958. Triterpenoids of the friedelane series. Part III. The course of friedelane-oleanane rearrangement. Journal of the Chemical Society, 881-886.
- Court-Picon, M., Buttler, A., de Beaulieu, J.L., 2006. Modern pollen/vegetation/land use relationships in mountain environments: an example from the Champsaur valley (French Alps). Vegetation History and Archaeobotany 15, 151-168.
- Cranwell, P.A., 1973a. Chain-length distribution of *n*-alkanes from lake sediments in relation to post-glacial environmental change. Freshwater Biology 3, 259-265.
- Cranwell, P.A., 1973b. Lipid geochemistry of sediments from Upton Broad, a small productive lake. Organic Geochemistry 7, 25-37.

- Cranwell, P.A., 1978. Extractable and bound lipid components in a freshwater sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 1523-1532.
- Cranwell, P.A., 1981. Diagenesis of free and bound lipids in terrestrial detritus deposited in a lacustrine sediment. *Organic Geochemistry* 3, 79-89.
- Cranwell, P.A., 1982. Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. *Progress in Lipid Research* 21, 271-308.
- Cranwell, P.A., 1984. Organic geochemistry of lacustrine sediments: triterpenoids of higher plant origin reflecting post-glacial vegetational succession. In : Haworth, E.Y., Lund, J.W.G. (Eds.). *Lakes Sediments and Environmental History*. Leicester : University Press, pp. 69-92.
- Crockford, S.J., Frederick, S.G., 2007. Sea ice expansion in the Bering Sea during the Neoglacial: evidence from archaeozoology. *The Holocene* 17, 699-706.
- Cronquist, A., 1977. On the taxonomic significance of secondary metabolites in Angiosperms. *Plant Systematics and Evolution*, supplement 1, 179-189.
- Cronquist, A., 1980. *Vascular Flora of the Southeastern United States. Volume 1: Asteraceae*. University of North Carolina Press, Chapel Hill.
- Crutzen, P.J., 2002. Geology of mankind. *Nature* 415, 23.
- Dahlgren, R.A., Saigusa, M., Ugolini, F.C., 2004. The nature, properties and management of volcanic soils. *Advances in Agronomy* 82, 113-182.
- Dansgaard, W., Johnsen, S. J., Clausen, H. B., Dahl-Jensen, C. S., Gundestrup, N. S., Hammer, C. U., Hvidberg, C. S., Steffensen, J. P., Sveinbjörnsdottir, A. E., Jouzel, J., Bond, G., 1993. Evidence for general instability of past climate from a 250-kyr ice-core record. *Nature* 364, 218-220.
- Danzeglocke, U., Jöris, O., Weninger, B., 2011. CalPal-2007online. [en ligne, référence du 05 octobre 2011] <http://www.calpal-online.de/>
- Davis B. A. S., Brewer S., Stevenson A. C., Guiot J., Data Contributors, 2003. The temperature of Europe during the Holocene reconstructed from pollen data. *Quaternary Science Reviews* 22, 1701-1716.
- De Pasquale, A., Tumino, G., Costa De Pasquale, R., 1974. Micromorphology of the epidermic surfaces of female plants of *Cannabis sativa* L. *Bulletin on Narcotics* 26, 27-40.
- Dearing, J.A., 2006. Climate-human-environment interactions: resolving our past. *Climate of the Past* 2, 187-203.
- Deblaère, J.C., Fabry, M.H., 1998. Inventaire des situations à précipitations remarquables en Auvergne, Bourgogne et Rhône-Alpes. Météo-France, Direction Interrégionale Centre-Est, 106 pp.
- Debret, M., Chapron, E., Desmet, M., Rolland-Revel, M., Magand, O., Trentesaux, A., Bout-

- Roumazeille, V., Nomade, J., Arnaud, F., 2010. Northwestern Alps Holocene paleohydrology recorded by flooding activity in Lake Le Bourget, France. *Quaternary Science Reviews* 29, 2185-2200.
- Delaygue, G., Bard, E., 2011. An Antarctic view of Beryllium-10 and solar activity for the past millennium. *Climate Dynamics* 36, 2201-2218.
- deMenocal, P.B., 2001. Cultural Responses to Climate Change During the Late Holocene. *Science* 292, 667-673.
- Denton G. H., Karlén W, 1973. Holocene climatic variations: their pattern and possible cause. *Quaternary Research* 3, 155 - 205.
- Diamond, J.M., 1999. *Guns, Germs, and Steel: The Fates of Human Societies*. New York : W. W. Norton & Company, 496 pp.
- Diderot, D., d'Alembert, J.L.R., 1778. *Encyclopédie, ou Dictionnaire raisonné des sciences, des arts et des métiers*. Tome septième. Genève : Pellet, 894 pp.
- Di-Giovanni, C., Disnar, J.R., Macaire, J.J., 2002. Estimation of the annual yield of organic carbon released from carbonates and shales by chemical weathering. *Global and Planetary Change* 32, 327-343.
- Dinel, H., Schnitzer, M., Mehuys, G.R., 1990. Soil lipids: origin, nature, content, decomposition, and effect on soil physical properties. In : Bollag, J.M., Stotzky, G. (Eds.). *Soil Biochemistry*, vol. 6. New York : Marcel Dekker, pp. 397-426.
- Ding, Y., Liang, C., Kim, J.H., Lee, Y.M., Hyun, J.H., Kang, H.K., Kim, J.A., Min, J.A., Kim, Y.H., 2010. Triterpene compounds isolated from *Acer mandshuricum* and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 20, 1528-1531.
- Disnar, J.R., Héroux, Y., 1995. Dégradation et lessivage des hydrocarbures de la formation ordovicienne de Thumb Mountain encaissant le gîte Zn-Pb de Polaris (Territoires du Nord-Ouest, Canada). *Canadian Journal of Earth Sciences* 32, 1017-1034.
- Disnar, J.R., Guillet, B., Kéravis, D., Di Giovanni, C., Sebag, D., 2003. Soil organic matter (SOM) characterization by Rock-Eval pyrolysis: scope and limitations. *Organic Geochemistry* 34, 327-343.
- Disnar, J.R., Stefanova, M., Fatima, S.B., Laggoun-Défarge, F., 2005. Sequential fatty acid analysis of a peat core covering the last two millennia (Tritrivakely lake, Madagascar): Diagenesis appraisal and consequences for palaeoenvironmental reconstruction. *Organic Geochemistry* 36, 1391-1404.
- Disnar, J.R., Jacob, J., 2008. Marqueurs organiques et impact des activités humaines sur la sédimentation lacustre récente du lac d'Aydat (Puy-de-Dôme). 7e Congrès International de Limnologie et Océanographie, Rouen, 14-16 octobre 2008.

- Disnar, J.R., Jacob, J., Morched-Issa, M., Lottier, N., Arnaud, F., 2008. Assessment of peat quality by molecular and bulk geochemical analysis; application to the Holocene record of the Chautagne marsh (Haute Savoie, France). *Chemical Geology* 254, 101-112.
- Disnar, J.R., Stefanova, M., Bréheret, J.G., Macaire, J.J., 2011a. Microbial mat development and dolomite formation under pre- evaporitic conditions during the Atlantic in a temperate area: the Sarliève Lake (French Massif Central). *Organic Geochemistry* 42, 1089-1098.
- Disnar, J.R., Stefanova, M., Lavrieux, M., Jacob, J., Bréheret, J.G., Arnaud, F., Reyss, J.L., 2011b. Les TTHCs, des marqueurs organiques de l'impact des activités humaines ? Acquis et questions. 13e Congrès de l'Association des Sédimentologues Français, Dijon, 14-16 novembre 2011.
- Duchaufour, P., 2001. Introduction à la science du sol. Sol, végétation, environnement. 6e édition. Paris : Editions Dunod, 331 pp.
- Dupouey, J.L., Dambrine, E., Laffite, J.D., Moares, C., 2002. Irreversible impact of past land use on forest soils and biodiversity. *Ecology* 83, 2978-2984.
- Dutta, C.P., Ray, L.P.K., 1972. Taraxasterol and its derivatives from *Cirsium arvense*. *Phytochemistry* 11, 2267-2269.
- Duvergier, J.B., 1830. Collection complète des lois, décrets, ordonnances, réglemens et avis du Conseil-d'Etat (de 1788 à 1824 inclusivement, par ordre chronologique). Paris : Guyot, Scribe et Charles-Béchet, 872 pp.
- Ecole des hautes études en sciences sociales, 2011. Des villages de Cassini aux communes d'aujourd'hui. [en ligne, référence du 02 septembre 2011]. <http://cassini.ehess.fr/>
- Eglinton, G., Hamilton, R.J., 1967. Leaf epicuticular waxes. *Science* 156, 1322-1335.
- Eglinton, G., Calvin, M., 1967. Chemical fossils. *Scientific American* 216, 32-43.
- Eglinton, G., 1969. Organic Geochemistry - The organic chemist's approach. In : Eglinton, G., Murphy, M.T.J. (Eds.) *Organic Geochemistry. Methods and results*. Berlin-Heidelberg : Springer-Verlag, pp 20-73.
- Eglinton, T.I., Aluwihare, L.I., Bauer, J.E., Druffel, E.R.M., McNichol, A.P., 1996. Gas chromatographic isolation of individual compounds from complex matrices for radiocarbon dating. *Analytical Chemistry* 68, 904-912.
- Eglinton, T.I., Eglinton, G., 2008. Molecular proxies for paleoclimatology. *Earth and Planetary Science Letters* 275, 1-16.
- Elhmmali, M. M., 1998. Complementary use of bile acids and sterols as sewage pollution indicators. Thèse de l'Université de Bristol, 205 pp.
- ElSohly, M.A., Slade, D., 2005. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sciences* 78, 539-548.

- Ertlen, D., Schwartz, D., Trautmann, M., Webster, R., Brunet, D., 2010. Discriminating between organic matter in soil from grass and forest by near-infrared spectroscopy. *European Journal of Soil Science* 61, 207-216.
- Escarré, J., Lepar, J., Sans, X., Sentuc, J.J., Gorse, V., 1999. Effects of herbivory on the growth and reproduction of *Picris hieracioides* in the Mediterranean region. *Journal of Vegetation Science* 10, 101-110.
- Espitalié, J., Derro, G., Marquis, F., 1985. La pyrolyse Rock-Eval et ses applications. *Revue de l'Institut français du Pétrole* 40, 563-579.
- European Soil Bureau Network, European Commission, 2005. Soil Atlas of Europe. Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities, 128 pp.
- Evershed, R.P., Berstan, R., Grew, F., Copley, M.S., Charmant, A.J.H., Barham, E., Mottram, H.R., Brown, G., 2004. Formulation of a Roman cosmetic. *Nature* 432, 35-36.
- Evershed, R.P., 2008. Organic residue analysis in archaeology: the archaeological biomarker revolution. *Archaeometry* 50, 895-924.
- Evershed, R.P., Payne, S., Sherratt, A.G., Copley, M.S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Özdoğan, M., Özdoğan, A.E., Nieuwenhuyse, O., Akkermans, P.M.M.G, Bailey, D., Andeescu, R.R., Campbell, S., Farid, S., Hodder, I., Yalman, N., Özbaşaran, M., Biçakci, E., Garfinkel, Y., Levy, T., Burton, M.M., 2008. Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature* 455, 528-531.
- Fægri, K., Iversen, J., 1989, Textbook of pollen analysis. Chichester : John Wiley and Sons, 328 p.
- Feng, X., Simpson, M.J., 2007. The distribution and degradation of biomarkers in Alberta grassland soil profiles. *Organic Geochemistry* 38, 1558-1570.
- Fischer, G.A., Sauk, J.J., Kabara, J.J., 1966. The occurrence of natural and artificial methyl esters in lipid extracts. *Microchemical Journal* 11, 461-468.
- Fisher, E., Oldfield, F., Wake, R., Boyle, J., Appleby, P., Wolff, G.A., 2003. Molecular marker records of land-use change. *Organic Geochemistry* 34, 105-119.
- Flamini, G., Morelli, I., Piacenza, L., 2003. Archaeobotanic evidence of the Preincaic Chiribaya Culture. Determination of Capsaicinoids in archaeological samples of *Capsicum frutescens* and votive foods. *Phytochemical Analysis* 14, 325-327.
- Foley, J.A., DeFries, R., Asner, G.P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S.R., Chapin, F.S., Coe, M.T., Daily, G.C., Gibbs, H.K., Helkowski, J.H., Holloway, T., Howard, E.A., Kucharik, C.J., Monfreda, C., Patz, J.A., Prentice, I.C., Ramankutty, N., Snyder, P.K., 2005. Global Consequences of Land Use. *Science* 309, 570 - 574.
- Foucault, A., Raoult, J.F., 2005. Dictionnaire de Géologie. 6e édition. Paris : Dunod, 382 pp.

- Fourmont, A., 2005. Quantification de l'érosion et de la sédimentation dans le bassin de Sarliève (Massif central, France) au Tardiglaciaire et à l'Holocène. Impact des facteurs naturels et anthropiques. Thèse de l'Université de Tours, 420 pp.
- Fournier, G., 1962. Le peuplement rural en Basse-Auvergne durant le Haut Moyen-Age. Thèse de l'Université de Paris, 678 pp.
- Fraterrigo, J.M., Pearson, S.M., Turner, M.G., 2009. The response of understory herbaceous plants to nitrogen fertilization in forests of different land-use history. *Forest Ecology and Management* 257, 2182-2188.
- Gadant, J., 1968. Le reboisement en Auvergne. *Revue forestière française* 7/8, 449-457.
- Gasparetto, A., Lapinski, T.F., Zamuner, S.R., Khouri, S., Alves, L.P., Munin, E., Salvador, M.J., 2010. Extracts from *Alternanthera maritima* as natural photosensitizers in photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 99, 15-20.
- Gay, I., Macaire, J.J., 1999. Estimation of Late Glacial and Holocene chemical erosion rates, Lake Chambon watershed, Massif Central, France. *Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, Série II, Fascicule A - Sciences de la Terre et des Planètes* 328, 6, 387-392.
- Genet, F., 2007. Indomptable Loire. Mémoire des grandes crues. JP Neuville, 96 pp.
- Georlette, R., 1957. Quelques aspects de l'histoire des forêts françaises depuis la fin du Moyen-Age jusqu'à la promulgation de l'Ordonnance de 1669. *Revue Forestière Française* 2, 113-127.
- Google Earth. [Logiciel, Version 6.0.3.2197], 2011. Mountain View, CA: Google Inc.
- Grasset, L., Amblès, A., 1998. Aliphatic lipids released from a soil humin after enzymatic degradation of cellulose. *Organic Geochemistry* 29, 893-897.
- Graz, Y., Di-Giovanni, C., Copard, Y., Laggoun-Défarage, F., Boussafir, M., Lallier-Vergès, E., Baillif, P., Perdereau, L., Simonneau, A., 2010. Quantitative palynofacies analysis as a new tool to study transfers of fossil organic matter in recent terrestrial environments. *International Journal of Coal Geology* 84, 49-62.
- Grootes P.M., Stuiver M., White J. W. C., Johnsen S., Jouzel J., 1993. Comparison of oxygen isotope records from the GISP2 and GRIP Greenland ice cores. *Nature* 366, 552-554.
- Hänsel, R., Kartarahardja, M., Huang, J.T., Bohlmann, F., 1980. Sesquiterpenlacton- β -D-glucopyranoside sowie ein neues eudesmanolid aus *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* 19, 857-861.
- Haba, H., Lavaud, C., Harkat, H., Magid, A.A., Marcourt, L., Benkhaled, M., 2007. Diterpenoids and triterpenoids from *Euphorbia guyoniana*. *Phytochemistry* 68, 1255-1260.
- Hanson, J.R., 1972. The di- and sesterterpenes - Part I. In : Newman, A.A. (Ed.). *Chemistry*

- of terpenes and terpenoids. Londres : Academic Press, pp 155-199.
- Hassan, F.A., 2000. Holocene environmental change and the origins and spread of food production in the Middle East. *Adumatu* 1, 7-28.
- Hassan, F.A., 2001. The collapse of the old kingdom: low floods, famines, and anarchy. *Monsoon*, 3, 39.
- Hauke, V., 1994. Reconstruction de paléoenvironnements de dépôts en séries sédimentaires : Etude au moyen de marqueurs biologiques. Thèse de l'Université de Strasbourg, France. 252 pp.
- Hazardous Substances Data Bank (HSDB), 2011. Capsaicin. Bethesda (Maryland, Etats-Unis) : U.S National Library of Medicine. [en ligne, référence du 10 octobre 2011] <http://toxnet.nlm.nih.gov/>
- Heiser, C.B., 1976. Peppers *Capsicum* (Solanaceae). In : Simmonds, N.W. (Ed.). The evolution of crops plants. Londres : Longman Press, pp. 265-268.
- Hernandez, M.E., Mead, R., Peralba, M.C., Jaffé, R., 2001. Origin and transport of *n*-alkane-2-ones in a subtropical estuary: potential biomarkers for seagrass-derived organic matter. *Organic Geochemistry* 32, 21-32.
- Hicks, S., 1992. Modern pollen deposition and its use in interpreting the occupation history of the island Hailuoto, Finland. *Vegetation History and Archaeobotany* 1, 75-86.
- Hilfinger, M.F., Mullins, H.T., Burnett, A., Kirby, M.E., 2001. A 2500 year sediment record from Fayetteville Green Lake, New York: evidence for anthropogenic impacts and historic isotope shifts. *Journal of Paleolimnology* 26, 293-305.
- Hjulström, B., Isaksson, S., 2009. Identification of activity area signatures in a reconstructed Iron Age house by combining element and lipid analyses of sediments. *Journal of Archaeological Science* 36, 174-183.
- Holzhauser, H., Magny, M., Zumbühl, H.J., 2005. Glacier and lake-level variations in west-central Europe over the last 3500 years. *The Holocene* 15, 6, 789-801.
- Hooke, R. LeB., 2000. On the history of humans as geomorphic agents. *Geology* 28, 843-846.
- Huang, Y.S., Bol, R., Harkness, D.D., Ineson, P., Eglinton, G., 1996. Post-glacial variations in distributions, ¹³C and ¹⁴C contents of aliphatic hydrocarbons and bulk organic matter in three types of British acid upland soils. *Organic Geochemistry* 24, 273-287.
- Huang, X., Meyers, P.A., Wu, W., Jia, C., Xie, S., 2011. Significance of long chain *iso* and *anteiso* monomethyl alkanes in the Lamiaceae (mint family). *Organic Geochemistry* 42, 156-165.
- Hurt, G.C., Frothingham, S., Fearon, M.G., Moore, B., Shevliakova, E., Malyshev, S., Pacala, S.W., Houghton, R.A., 2006. The underpinnings of land-use history: three centuries of global gridded land-use transitions, wood-harvest activity, and resulting secondary lands.

- Global Change Biology 12, 1208-1229.
- Institut Géographique National (1946). F2432-2532_ 0076 [photographie aérienne analogique, numérisée]. 1 : 25 000, noir et blanc.
- IPCC, 2007. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva: IPCC, 104 pp.
- Jacob, J., 2003. Enregistrement des variations paléoenvironnementales depuis 20000 ans dans le Nord Est du Brésil (Lac Caçó) par les triterpènes et autres marqueurs organiques. Thèse de l'Université d'Orléans, 296 pp.
- Jacob, J., Disnar, J.R., Boussafir, M., Ledru, M.P., Albuquerque, A.L.S., Sifeddine, A., Turcq, B., 2004. Onocerane attests to dry climatic events during the Quaternary in the tropics. *Organic Geochemistry* 35, 289-297.
- Jacob, J., Disnar, J.R., Boussafir, M., Albuquerque, A.L.S., Sifeddine, A., Turcq, B., 2005. Pentacyclic triterpene methyl ethers in recent lacustrine sediments (Lagoa do Caçó, Brazil). *Organic Geochemistry* 36, 449-461.
- Jacob, J., Disnar, J.R., Boussafir, M., Albuquerque, A.L.S., Sifeddine, A., Turcq, B., 2007. Contrasted distributions of triterpene derivatives in the sediments of Lake Caçó reflect paleoenvironmental changes during the last 20,000 yrs in NE Brazil. *Organic Geochemistry* 38, 180-197.
- Jacob, J., Disnar, J.R., Arnaud, F., Chapron, E., Debret, M., Lallier-Vergés, E., Desmet, M., Revel-Rolland, M., 2008. Millet cultivation history in the French Alps as evidenced by a sedimentary molecule. *Journal of Archaeological Science* 35, 814-820.
- Jacob, J., Disnar, J.R., Arnaud, F., Gauthier, E., Billaud, Y., Chapron, E., Bardoux, G., 2009. Impacts of new agricultural practices on soil erosion during the Bronze Age in the French Prealps. *The Holocene* 19, 241-249.
- Jaffé, R., Elismé, T., Cabrera, A.C., 1996. Organic geochemistry of seasonally flooded rain forest soils: molecular composition and early diagenesis of lipid components. *Organic Geochemistry* 25, 9-17.
- Jakupovic, J., Tschirntz, F., Zdero, C., Hahn, A., Lipp, W., Smalla, B., Berendsohn, W.G., 2011. The Bohlmann-Files - A database of natural substances in the Compositae. [en ligne, référence du 12 avril 2011] <http://www.bgbm.org/BioDivInf/projects/bohlmannfiles/>
- Jambu, P., Bilong, P., Amblès, A., Ntsikoussalabongui, B., Fustec, E., 1987. Influence d'apports minéraux sur l'évolution des lipides naturels de sols acides. *Science du Sol* 25, 161-172.
- Jambu, P., Amblès, A., Diné, H., Secouet, B., 1991. Incorporation of natural hydrocarbons from plant residues into an hydromorphic humic podzol following afforestation and fertilization. *Journal of Soil Science* 42, 629-636.

- Jambu, P., Amblès, A., Jacquesy, J.C., Secouet, B., Parlanti, E., 1993. Incorporation of natural alcohols from plant residues into an hydromorphic forest-podzol. *Journal of Soil Science* 44, 135-146.
- Jandl, G., Leinweber, P., Schulten, H.R., Ekschmitt, K., 2005. Contribution of primary organic matter to the fatty acid pool in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1033-1041.
- Jandl, G., Leinweber, P., Schulten, H.R., 2007. Origin and fate of soil lipids in a Phaeozem under rye and maize monoculture in Central Germany. *Biology and Fertility of Soils* 43, 321-332.
- Jansen, B., Haussmann, N.S., Tonneijck, F.H., Verstraten, J.M., de Voogt, P., 2008. Characteristic straight-chain lipid ratios as a quick method to assess past forest-páramo transitions in the Ecuadorian Andes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 262, 129-139.
- Jardé, E., Gruau, G., Mansuy-Huault, L., 2007a. Detection of manure-derived organic compounds in rivers draining agricultural areas of intensive manure spreading. *Applied Geochemistry* 22, 1814-1824.
- Jardé, E., Gruau, G., Mansuy-Huault, L., Peu, P., Martinez, J., 2007b. Using sterols to detect pig slurry contribution to soil organic matter. *Water, Air and Soil Pollution* 178, 169-178.
- Jenny, H., 1941. *Factors of Soil Formation. A system of quantitative pedology*. New York : McGraw-Hill, Inc., 191 pp.
- Jewers, K., Manchanda, A.H., 1970. The constituents of the Apocynaceae III. The triterpenoids of *Paravallaris maingayi* bark. *Phytochemistry* 9, 2249.
- Johnson, D.L., Keller, E.A., Rockwell, T.K., 1990. Dynamic pedogenesis: new views on some key soil concepts, and a model for interpreting Quaternary soils. *Quaternary Research* 33, 306-319.
- Jones, P.D., Mann, M.E., 2004. Climate over past millennia. *Reviews of Geophysics* 42, RG2002.
- Jones, A., Montanarella, L., Jones, R., 2005. *Soil Atlas of Europe*. European Soil Bureau Network. European Commission, Luxembourg.
- Jordon-Thaden, I.E., Louda, S.M., 2003. Chemistry of *Cirsium* and *Carduus*: a role in ecological risk assessment for biological control of weeds? *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 1353-1396.
- Journal Officiel de la République Française n°1195, 1961. Auvergne - Plan régional de développement et d'aménagement. Décret du 16 septembre 1961 portant approbation du plan régional de développement économique et social et d'aménagement du territoire établi en application du décret ° n 55-873 du 30 juin 1955, pour la circonscription Auvergne. Paris : Journaux officiels, 260 pp.

- Kögel-Knabner, I., 2000. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Organic Geochemistry* 31, 609-625.
- Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 139-162.
- Kataria H., 1995. Phytochemical investigation of medicinal plant *Cnicus wallichii* and *Cnicus benedictus* L. *Asian Journal of Chemistry* 7, 227-228.
- Kerfourn, C., Garrec, J.P., 1992. Modifications in the alkane composition of the cuticular waxes from spruce needles (*Picea abies*) and ivy leaves (*Hedera helix*) exposed to ozone fumigation and acid fog. Comparison with needles from declining spruce trees. *Canadian Journal of Botany* 70, 861-869.
- Kessler, J., Chambraud, A., 1990. *Météo de la France. Tous les climats, localité par localité.* Paris : JC Lattès, 391 pp.
- Khalilova, L.M., Khalilova, A.Z., Shakurova, E.R., Nuriev, I.F., Kachala, V.V., Shashkov, A.S., Dzhemilev, U.M., 2003. PMR and ¹³C NMR spectra of biologically active compounds. XII. Taraxasterol and its acetate from the aerial part of *Onopordum acanthium*. *Chemistry of Natural Compounds* 39, 285-288.
- Khalilova, A.Z., Litvinov, I.A., Beskrovnyi, D.V., Gubaidullin, A.T., Shakurova, E.R., Nuriev, I.R., Khalilov, L.M., Dzhemilev, U.M., 2004. Isolation and crystal structure of taraxasteryl acetate from *Onopordum acanthium*. *Chemistry of Natural Compounds* 40, 254-257.
- Killops, S.D., Killops, V.J., 2004. *An Introduction to Organic Geochemistry, 2nd Edition.* Blackwell Publishing, Oxford 408 pp.
- Killops, S.D., Killops, V.J., 2005. Chemical stratigraphic concepts and tools. In : Killops, S.D., Killops, V., (éd.). *Introduction to Organic Geochemistry.* Oxford : Blackwell Publishing, pp. 166-245.
- Koch, B.P., Souza Filho, P.W.M., Behling, H., Cohen, M.C.L., Kattner, G., Rullkötter, J., Scholz-Böttcher, B., Lara, R.J., 2010. Triterpenols in mangrove sediments as a proxy for organic matter derived from the red mangrove (*Rhizophora mangle*). *Organic Geochemistry* 42, 62-73.
- Kvenvolden, K.A., 2008. Origins of organic geochemistry. *Organic Geochemistry* 39, 905-909.
- Lafargue, E., Marquis, F., Pillot, D., 1998. Rock-Eval 6 applications in hydrocarbon exploration, production, and soil contamination studies. *Revue de l'Institut français du Pétrole* 53, 421-437.
- Lao, A., Fujimoto, Y., Tatsuno, T., 1983. Studies on the constituents of *Artemisia rubripes* Nakai. *Yakugaku Zasshi* 103, 696-699.
- Lao, A., Fujimoto, Y., Tatsuno, T., 1984. Studies on the constituents of *Artemisia argyi* Levl

- et Vant. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 32, 723-727.
- Lavrieux, M., Jacob, J., Le Milbeau, C., Zocatelli, R., Masuda, K., Bréheret, J.G., Disnar, J.R., 2011. Occurrence of triterpenyl acetates in soils and their potential as chemotaxonomical markers of Asteraceae. *Organic Geochemistry* 42, 1315-1323.
- Lavrieux, M., Disnar, J.R., Jacob, J., Le Milbeau, C., Zocatelli, R., Bréheret, J.G., in prep. An inventory of neutral lipid biomarkers in soils under grassland and forest (Lake Aydat catchment, French Massif Central).
- Lavrieux, M., Bréheret, J.G., Disnar, J.R., Jacob, J., Le Milbeau, C., Zocatelli, R., in prep. Molecular evidence for recent soil land use change from grassland to forest in the French Massif Central.
- Lavrieux, M., Disnar, J.R., Chapron, E., Bréheret, J.G., Jacob, J., Arnaud, F., in prep. 6,700-year sedimentary record of climatic and anthropic signals in Lake Aydat (French Massif Central).
- Lavrieux, M., Jacob, J., Disnar, J.R., Bréheret, J.G., Le Milbeau, C., in prep. Fossil cannabinol tracks the history of hemp retting.
- Le Métayer, P., Schaeffer, P., Düringer, P., Rouse, S., Albrecht, P., 2005. 4,4"-dimethyldinaphtho-[a,d]cycloheptane, a naturally occurring polyaromatic derivative related to triterpenoids of the serratane series. *Organic Letters* 7, 3041-3044.
- Le Milbeau, C., Lavrieux, M., Jacob, J., Zocatelli, R., Disnar, J.R., in prep. Diversity of methoxy-serratanes in a soil developed under a conifer forest.
- Leroux, A., Bichet, V., Walter-Simonnet, A.V., Magny, M., Adate, T., Gauthier, E., Richard, H., Baltzer, A., 2008. Late Glacial-Holocene sequence of Lake Saint-Point (Jura Mountains, France): Detrital inputs as records of climate change and anthropic impact. *Comptes-Rendus Geosciences* 340, 883-892.
- Li, C., Sessions, A.L., Valentine, D.L., Thiagarajan, N., 2011. D/H variation in terrestrial lipids from Santa Barbara Basin over the past 1400 years: A preliminary assessment of paleoclimatic relevance. *Organic Geochemistry* 42, 15-24.
- Liu, W.Z., He, F.L., Ruan, Z.Y., Gu, X.F., Wu, X.Y., Qin, G.W., 2001. Studies on chemical constituents from *Euphorbia fischeriana Steud.* *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 26, 180-182.
- Logan, G.A., Smiley, C.J., Eglinton, G., 1995. Preservation of fossil leaf waxes in association with their source tissues, Clarkia, northern Idaho, USA Clarkia, northern Idaho, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 4, 751-763.
- Lohmann, F., 1988. Aromatisations microbiennes de triterpènes végétaux. Thèse de l'Université de Strasbourg, France, 105 p.
- Lu, T., Cantrell, C.L., Vargas, D., Fronczek, F.R., Franzblau, S.G., Fischer, N.H., 1994. Ter-

- penes from *Liatris ohlingerae*. *Phytochemistry* 37, 1295-1299.
- van Maarseveen, C., Jetter, R., 2009. Composition of the epicuticular and intracuticular wax layers on *Kalanchoe daigremontiana* (Hamet et Perr. De la Bathie) leaves. *Phytochemistry* 70, 899-906.
- Macaire, J.J., Fourmont, A., Argant, J., Bréheret, J.G., Hirschberger, F., Trément, F., 2010. Quantitative analysis of climate versus human impact on sediment yield since the Late glacial: The Sarliève palaeolake catchment (France). *The Holocene* 20, 4, 497-516.
- MacNeish, R.S., 1964. Ancient Mesoamerican civilization. *Science* 143, 531-537.
- Madrigal, R.V., Plattner, R.D., Smith Jr., C.R., 1975. *Carduus nigrescens* seed oil - a rich source of pentacyclic triterpenoids. *Lipids* 10, 208-213.
- Magny, M., 1995. Successive oceanic and solar forcing indicated by Younger Dryas and early Holocene climatic oscillations in the Jura. *Quaternary Research* 43, 279-285.
- Magny, M., 2004. Holocene climate variability as reflected by mid-European lake-level fluctuations and its probable impact on prehistoric human settlements. *Quaternary International* 113, 65-79.
- Mannheimer, C.A., 1998/1999. An overview of chemotaxonomy, and its role in creating a phylogenetic classification system. *Agricola* 10, 87-90.
- Marseille, F., Disnar, J.R., Guillet, B., Noack, Y., 1999. *n*-Alkanes and free fatty acids in humus and A1 horizons of soils under beech, spruce and grass in the Massif-Central (Mont-Lozère), France. *European Journal of Soil Science* 50, 433-441.
- Maxwell, J.R., Pillinger, C.T., Eglinton, G., 1971. Organic Geochemistry. *Quarterly Reviews* 25, 571-628.
- Mayewski, P.A., Rohling, E.E., Stager, J.C., Wibjörn, K., Maasch, K.A., Meeker, L.D., Meyerson, E.A., Gasse, F., van Kreveld, S., Holmgren, K., Lee-Thorp, J., Rosqvist, G., Rack, F., Staubwasser, M., Schneider, R.R., Steig, E.J., 2004. Holocene climate variability. *Quaternary Research* 62, 243-255.
- McCalla, T.M., Guenzi, W., Norstadt, F., 1963. Microbial studies of phytotoxic substances in the stubble-mulch system. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie* 3, 202-210.
- McPartland, J. M., Guy, G. W., 2004. The evolution of cannabis and coevolution with the cannabinoid receptor - a hypothesis. In : Guy, G.W., Whittle, B. A., Robson, P. (Eds.) *The medicinal uses of cannabis and cannabinoids*. Londres : Pharmaceutical Press, pp. 71-102.
- Medeiros, W.L.B., Vieira, I.J.C., Mathias, L., Braz-Filho, R., Schripsema, J., 2001. A new natural quaternary indole alkaloid isolated from *Tabernaemontana laeta* Mart. (Apocynaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 12, 368-372.

- Menessier-Jouannet, C., Milcent, P.Y., 2007. L'occupation du sol en Basse-Auvergne du Bronze final à la fin de la Tène ancienne. In : Menessier-Jouannet, C., Deberge, Y. (Eds.). L'archéologie de l'âge du Fer en Auvergne, XXVIIe colloque de l'AFEAF, Clermont-Ferrand. Lattes : Association pour le développement de l'archéologie en Languedoc-Roussillon 434 pp.
- Mermoud, F., Wünsche, L., Clerc, O., Gülaçar, F.O., Buchs, A., 1984. Steroidal ketones in the early diagenetic transformations of Δ^5 sterols in different types of sediments. *Organic Geochemistry* 6, 25-29.
- Messerli, B., Grosjean, M., Hofer, T., Nunez, L., Pfister, C., 2000. From nature-dominated to human-dominated environmental changes. *Quaternary Science Reviews* 19, 459-479.
- Meyers, P.A., 2003. Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. *Organic Geochemistry* 34, 261-289.
- Meyers, P.A., Ishiwatari, R., 1993. Lacustrine organic geochemistry - an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry* 20, 867-900.
- Meyers, P.A., Lallier-Vergès, E., 1999. Lacustrine sedimentary organic matter records of Late Quaternary paleoclimates. *Journal of Paleolimnology* 21, 345-372.
- Meyers, P.A., Teranes, J.L., 2002. Sediment organic matter. In : Last, W.M., Smol, J.P. (Eds.) *Tracking environmental change using lake sediments. Volume 2 - Physical and Geochemical methods*. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, pp 239-269.
- Michard, G., Sarazin, G., Jézéquel, D., Albéric, P., Ogier, S., 2001. Annual budget of chemical elements in a eutrophic lake, Lake Aydat (Puy-de-Dôme), France. *Hydrobiologia* 459, 27-46.
- Michelin, Y., 1996. Les jardins de Vulcain. Paysages d'hier, d'aujourd'hui et de demain dans la chaîne des Puys du Massif Central Français. Paris : Maison des Sciences de l'Homme, 155 pp.
- Minasny, B., McBratney, A.B., Salvador-Blanes, S., 2008. Quantitative models for pedogenesis - a review. *Geoderma* 144, 140-157.
- Miras, Y., Laggoun-Défarge, F., Guenet, P., Richard, H., 2004. Multi-disciplinary approach to changes in agro-pastoral activities since the Sub-Boreal in the surroundings of the "narse d'Espinasse" (Puy de Dôme, French Massif Central). *Vegetation History and Archaeobotany* 13, 91-103.
- Misra, T.N., Singh, R.S., Upadhyay, J., Srivastava, R., 1984. Chemical constituents of *Vernonia cinerea*, Part I. Isolation and spectral studies of triterpenes. *Journal of Natural Products* 47, 368-372.

- Mitaine-Offer, A.C., Sauvain, M., Petermann, C., Zéches-Hanrot, M., 2001. Constituents of the trunk bark of *Maquira coriacea*. *Fitoterapia* 72, 841-843.
- Morrison, R.I., 1969. Soil Lipids. In : Eglinton, G., Murphy, M.T.J. (Eds.). *Organic Geochemistry, methods and results*. Berlin : Springer-Verlag, pp. 558-576.
- Moucawi, J., Fustec, E., Jambu, P., Amblès, A., Jacquesy, R., 1981. Biooxidation of added and natural hydrocarbons in soils: effects of iron. *Soil Biology and Biochemistry* 13, 335-342.
- Mouradian, M., Panetta, R.J., de Vernal, A., Gélinas, Y., 2007. Dinosterols or dinocysts to estimate dinoflagellate contributions to marine sedimentary organic matter? *Limnology and Oceanography* 52, 2569-2581.
- Mulder, T., Chapron, E., 2010. Flood deposits in continental and marine environments: Character and significance. In : Slatt, R.M., Zavala, C. (Eds.). *Sediment transfer from shelf to deep water - Revisiting the delivery system: AAPG Studies in Geology* 61, 1-30.
- Mulder, T., Cochonat, P., 1996. Classification of offshore mass movements. *Journal of Sedimentary Research* 66, 43-57.
- Ndlebe, V.J., Crouch, N.R., Mulholland, D.A., 2008. Triterpenoids from the African tree *Phyllanthus polyanthus*. *Phytochemistry Letters* 1, 11-17.
- Nierop, K.G.J., 1998. Origin of aliphatic compounds in a forest soil. *Organic Geochemistry* 29, 1009-1016.
- Nierop, K.G.J., Naafs, D.F.W., van Bergen, P.F., 2005. Origin, occurrence and fate of extractable lipids in Dutch coastal dune soils along a pH gradient. *Organic Geochemistry* 36, 555-566.
- Nierop, K.G.J., Jansen, B., Hageman, J.A., Verstraten, J.M., 2006. The complementarity of extractable and ester-bound lipids in a soil profile under pine. *Plant Soil* 286, 269-285.
- Nishimoto, K., Ito, M., Natori, S., Ohmoto, T., 1968. The structures of arundoin, cylindrin and fernenols. Triterpenoids of fernane and arborane groups of *Imperata cylindrical* var. *koenigii*. *Tetrahedron* 24, 735-752.
- Nishimura, M., 1982. 5β -isomers of stanols and stanones as potential markers of sedimentary organic quality and depositional paleoenvironments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 46, 423-432.
- Noble, R.A., Alexander, R., Kagi, R.I., Knox, J., 1985. Identification of some diterpenoid hydrocarbons in petroleum. *Advances in organic geochemistry* 10, 825-829.
- O'Sullivan, P., 2008. The 'collapse' of civilizations: what palaeoenvironmental reconstruction cannot tell us, but anthropology can. *The Holocene* 18, 45-55.
- Ogier, S., 1999. Diagenèse précoce en domaine lacustre : étude des composés minéraux et organiques des sédiments récents du lac d'Aydat (Puy de Dôme, France). Thèse de l'Université

d'Orléans, 245 pp.

- Ogier, S., Disnar, J.R., Albéric, P., Bourdier, G., 2001. Neutral carbohydrate geochemistry of particulate material (trap and core sediments) in an eutrophic lake (Aydat, France). *Organic Geochemistry* 32, 151-162.
- Ohmoto, T., Ikuse, M., Natori, S., 1970. Triterpenoids of the Gramineae. *Phytochemistry* 9, 2137-2148.
- Okogun, J.I., Spiff, A.I., Ekong, D.E.U., 1976. Triterpenoids and betaines from the latex and bark of *Antiaris Africana*. *Phytochemistry* 15, 826-827.
- Oros, D.R., Simoneit, B.R.T., 2001a. Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning Part 1. Temperate climate conifers. *Applied Geochemistry* 16, 1523-1544.
- Oros, D.R., Simoneit, B.R.T., 2001b. Identification and emission factors of molecular tracers in organic aerosols from biomass burning Part 2. Deciduous trees. *Applied Geochemistry* 16, 1545-1565.
- Otto, A., Shunthirasingham, C., Simpson, M., 2005. A comparison of plant and microbial biomarkers in grassland soils from the Prairie Ecozone of Canada. *Organic Geochemistry* 26, 425-448.
- Otto, A., Simpson, M.J., 2005. Degradation and preservation of vascular plant-derived biomarkers in grassland and forest soils from Western Canada. *Biogeochemistry* 74, 377-409.
- Otto, A., Simpson, M.J., 2007. Analysis of soil organic matter biomarkers by sequential chemical degradation and gas chromatography - mass spectrometry. *Journal of Separation Science* 30, 272-282.
- Otto, A., Wilde, V., 2001. Sesqui-, di-, and triterpenoids as chemosystematic markers in extant conifers - a review. *The Botanical Review* 67, 141-238.
- Ourisson, G., 1990. The general role of terpenes and their global significance. *Pure & Applied Chemistry* 62, 1401-1404.
- Ourisson, G., Albrecht, P., Rohmer, M., 1979. Hopanoids - Palaeochemistry and biochemistry of a group of natural products. *Pure and Applied Chemistry* 51, 709-729.
- Oyo-Ita, O.E., Ekpo, B.O., Oros, D.R., Simoneit, B.R.T., 2010. Occurrence and sources of triterpenoid methyl ethers and acetates in sediments of the Cross-River system, Southeast Nigeria. *International Journal of Analytical Chemistry*. doi:10.1155/2010/502076.
- Pancost, R.D., Boot, C.S., 2004. The palaeoclimatic utility of terrestrial biomarkers in marine sediments. *Marine Chemistry* 92, 239-261.
- Pansu, M., Gautheyrou, J., 2006. Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods. Berlin Heidelberg New York : Springer Verlag, 993 pp.

- Paull, R., Michaelsen, B.H., McKirdy, D.M., 1998. Fernenes and other triterpenoid hydrocarbons in *Dicroidium*-bearing triassic mudstones and coals from South Australia. *Organic Geochemistry* 29, 1331-1343.
- Pereira, P.S., Franéa, S.d.C., de Oliveira, P.V.A., de Souza Breves C.M., Vaz Pereira, S.I., 2008. Chemical constituents from *Tabernaemontana catharinensis* root bark: a brief NMR review of indole alkaloids and *in vitro* cytotoxicity. *Quémica Nova* 31, 20-24.
- Peterken, G.F., Game, M., 1984. Historical factors affecting the number and distribution of vascular plant species in the woodlands of central Lincolnshire. *Journal of Ecology*, 72, 155-182.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M., 1993. The biomarker guide. Interpreting molecular fossils in petroleum and ancient sediments. London : Prentice-Hall, 363 pp.
- Peters, K.E., Walters, C.C., Moldowan, J.M., 2005. The biomarker guide: biomarkers and isotopes in petroleum exploration and Earth history. Cambridge University Press, Cambridge.
- Peuchet, J., 1800. Dictionnaire universel de la géographie commerçante. Tome Quatrième. Blanchon, Paris, 797 pp.
- Pfister, C., 1988. Fluctuations climatiques et prix céréalières en Europe du 16e au 20e siècle. *Annales Economies, Sociétés, Civilisations*, 43, 25-53.
- Picher, M.T., Seoane, E., Tortajada, A., 1985. Components of hexane extracts of the flowers of *Centaurea aspera* L. ssp. *stenophylla* (Dufour) Nyman. *Anales de Quimica Serie C. Quimica Organica y Bioquimica* 81, 211-21.
- de la Platière, R., 1784. Encyclopédie méthodique. Manufacture et arts. Tome Second. Paris : Panckoucke, 315 pp.
- Poitrineau, A., 1965. La vie rurale en Basse-Auvergne au XVIII^e siècle (1726-1789). Thèse de l'Université de Paris, 929 pp.
- Prévosto, B., Curt, T., Moares Domínguez, C., Dambrine, E., Poutier, F., Pollier, B., 2002. Soils in silver birch and scots pine natural woodlands on a mid-elevation volcanic mountain (La Chaîne des Puys, French Massif Central). Influence of tephra chemistry and past land use, effects on vegetation composition. (Les sols sous boisements spontanés de bouleau et de pin sylvestre dans la Chaîne des Puys. Influence du substratum et de l'utilisation ancienne, conséquences sur la végétation). *Etude et gestion des sols* 9, 251-267.
- Quénéa, K., 2004. Etude structurale et dynamique des fractions lipidiques et organiques réfractaires de sols d'une chronoséquence forêt / maïs (Cestas, Sud-Ouest de la France). Thèse de l'Université Paris VI, 191 pp.
- Quénéa, K., Derenne, S., Largeau, C., Rumpel, C., Mariotti, A., 2004. Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil. *Organic*

- Geochemistry 35, 1355-1370.
- Quantin, P., 2004. Volcanic soils of France. *Catena* 56, 95-109.
- Raman, A., 1998. The Cannabis plant: botany, cultivation and processing for use. In : Brown, D.T. (Ed.). *Cannabis. The genus Cannabis*. Harwood Academic Publishers, 284 pp.
- Rampen, S.W., Abbas, B.A., Schouten, S., Damsté, J.S.S., 2010. A comprehensive study of sterols in marine diatoms (Bacillariophyta): Implications for their use as tracers for diatom productivity. *Limnology and Oceanography* 55, 91-105.
- Rasse, D.P., Rumpel, C., Dignac, M.F., 2005. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilisation. *Plant and Soil* 269, 341-356.
- Reille, M., de Beaulieu, J.L., 1988. History of the Würm and Holocene vegetation in western velay (Massif Central, France): A comparison of pollen analysis from three corings at Lac du Bouchet. *Review of Palaeobotany and Palynology* 54, 233-248.
- Rieley, G., Collier, R.J., Jones, D.M., Eglinton, G., 1991. The biogeochemistry of Ellesmere Lake, U.K. - I: source correlation of leaf wax inputs to the sedimentary lipid record. *Organic Geochemistry* 17, 901-912.
- Ries-Kautt, M., Albrecht, P., 1989. Hopane-derived triterpenoids in soils. *Chemical Geology* 76, 143-151.
- Romero-Sarmiento, M.F., Riboulleau, A., Vecoli, M., Versteegh, G.J.M., 2011. Aliphatic and aromatic biomarkers from Gondwanan sediments of Late Ordovician to Early Devonian age: An early terrestrialization approach. *Organic Geochemistry* 42, 605-617.
- Rullkötter, J., Peakman, T.M., ten Haven, H.L, 1994. Early diagenesis of terrigenous triterpenoids and its implications for petroleum geochemistry. *Organic Geochemistry* 21, 215-233.
- Rumpel, C., Kögel-Knabner, I., Bruhn, F., 2002. Vertical distribution, age, and chemical composition of organic carbon in two forest soils of different pedogenesis. *Organic Geochemistry* 33, 1131-1142.
- Rumpel, C., Chabbi, A., Nunan, N., Dignac, M.F., 2009. Impact of land use change on the molecular composition of soil organic matter. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 85, 431-434.
- Rushdi, A.I., DouAbul, A.A., Mohammed, S.S., Simoneit, B.R.T., 2006. Compositions and sources of extractable organic matter in Mesopotamian marshland surface sediments of Iraq: II. Polar compounds. *Environmental Geology* 50, 1171-1181.
- Russo, E.B., 2007. History of Cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chemistry and Biodiversity* 4, 1614-1648.
- Sachs, J.P., Pahnke, K., Smittenberg, R., Zhang, Z., 2007. Paleoceanography, biological proxies - biomarkers. In : Elias, S.A. (Ed.) *Encyclopedia of Quaternary Science*. Amsterdam :

- Elsevier, pp. 1627-1634.
- Sachse, D., Gleixner, G., Wilkes, H., Kahmen, A., 2010. Leaf wax *n*-Alkane dD values of field-grown barley reflect leaf water dD values at the time of leaf formation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74, 6741-6750.
- Sambamurty, A.V.S.S., 2005. A Textbook of Algae. New Delhi : I.K. International, 336 pp.
- Sarazin, G., Devaux, J., 1991. Diagenèse précoce de la matière organique dans la colonne d'eau et le sédiment d'un lac eutrophe : le lac d'Aydat (Puy-de-Dôme). *Oceanis* 17, 533-560. Sarazin, G., Michard, G., Al Gharib, I., Bernat, M., 1992. Sedimentation rate and early diagenesis of particulate organic nitrogen and carbon in Lake Aydat (Puy-de-Dôme, France). *Chemical Geology* 98, 307-316.
- Sarazin, G., Gaillard, J.F., Philippe, L., Rabouille, C., 1995. Organic matter mineralization in the pore water of a eutrophic lake (Lake Aydat, Puy de Dôme, France). *Hydrobiologia* 315, 95-118. Schaetzl, R. T., Anderson, S., 2005. Soils: genesis and geomorphology. Cambridge : University Press, 832 pp.
- Schefuß, E., Schouten, S., Schneider, R.R., 2005. Climatic controls on central African hydrology during the past 20,000 years. *Nature* 437, 1003-1006.
- Schwark, L., Zink, K., Lechterbeck, J., 2002. Reconstruction of postglacial to early Holocene vegetation history in terrestrial Central Europe via cuticular lipid biomarkers and pollen records from lake sediments. *Geology*, 30, 463-466.
- Schwartz, D., Mariotti, A., Lanfranchi, R.E., Guillet, B., 1986. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of soil organic matter as indicator of vegetation changes in the Congo. *Geoderma* 39, 97-103.
- Sen, S., Sahu, N.P., Mahato, S.B., 1992. Flavonol glycosides from *Calotropis gigantea*. *Phytochemistry* 31, 2919-2921.
- Shi, H.M., Long, B.S., Cui, X.M., Min, Z.D., 2005. A new bisabolane sesquiterpenoid from *Euphorbia chrysocoma*. *Journal of Asian Natural Products Research* 7, 857-860.
- Shinozaki, J., Nakane, T., Onodera, N., Takano, A., Masuda, K., 2011. Composite constituent: lactucenyl acetate, a novel migrated lupane triterpenoid from *Lactuca indica* L. Revision of structure of tarolupenyl acetate. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 59, 767-769.
- Shiojima, K., Masuda, K., Lin, T., Suzuki, H., Ageta, H., Inoue, M., Ishida, T., 1989a. Composite constituents: three gammacer-16-ene derivatives, novel triterpenoids isolated from roots of *Picris hieracioides* L. subsp. *japonica*. *Tetrahedron Letters* 30, 4977-4980.
- Shiojima, K., Masuda, K., Ooishi, Y., Suzuki, H., Ageta, H., 1989b. Composite constituents: new migrated gammacerane triterpenoids from roots of *Picris hieracioides* L. subsp. *Japonica*. *Tetrahedron Letters* 30, 6873-6874.
- Shiojima, K., Arai, Y., Masuda, K., Takase, Y., Ageta, T., Ageta H., 1992. Mass Spectra of

- Pentacyclic Triterpenoids. *Chemical Pharmacology Bulletin* 40, 1683-1690.
- Shiojima, K., Suzuki, H., Kodera, N., Kubota, K.I., Tsushima, S., Ageta, H., Chang, H.C., Chen, Y.P., 1994. Composite constituent: novel triterpenoid, 17-epi-lupenyl acetate, from aerial parts of *Ixeris chinensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 42, 2193-2195.
- Shiojima, K., Masuda, K., Suzuki, H., Lin, T., Ooishi, Y., Ageta, H., 1995. Composite constituents: forty-two triterpenoids including eight novel compounds isolated from *Picris hieracioides* subsp. *japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 43, 1634-1639.
- Shoeb, M., Celik, S., Nahar, L., MacManus, S.M., Kong-Thu-Lin, P., Jaspars, M., Sarker, S.D., 2007. Two salonitenolide derivatives from the aerial parts of *Centaurea gigantea* inhibit the growth of colorectal cancer cells in vitro. *Natural Products Communications* 2, 121-125.
- Shoji, S., Nanzyo, M., Dahlgren, R.A., 1993. *Volcanic Ash Soils-Genesis, Properties and Utilization*. Amsterdam : Elsevier, 288 pp.
- Simoneit, B.R.T., 1977. Diterpenoid compounds and other lipids in deep-sea sediments and their geochemical significance. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41, 463-476.
- Simoneit, B.R.T., 1986. Cyclic terpenoids of the geosphere. In : Johns, R.B. (Ed.). *Biological markers in the Sedimentary Record*. Amsterdam : Elsevier, pp. 43-100.
- Simoneit, B.R.T., 2002. Molecular indicators (biomarkers) of past life. *The Anatomical Record* 268, 186-195.
- Simoneit, B.R.T., 2004. Biomarkers (molecular fossils) as geochemical indicators of life. *Advances in Space Research* 33, 1255-1261.
- Simoneit, B.R.T., 2005. A review of current applications of mass spectrometry for biomarker / molecular tracer elucidations. *Mass Spectrometry Reviews* 24, 719-765.
- Simoneit, B.R.T., Grimalt, J.O., Wang, T.G., Cox, R.E., Hatcher, P.G., Nissenbaum, A., 1986. Cyclic terpenoids of contemporary resinous plant detritus and of fossil woods, ambers and coals. *Organic Geochemistry* 10, 877-889.
- Simoneit, B.R.T., Otto, A., Wilde, V., 2003. Novel phenolic biomarker triterpenoids of fossil laticifers in Eocene brown coal from Geiseltal, Germany. *Organic Geochemistry* 34, 121-129.
- Smittenberg, R.H., Hopmans, E.C., Schouten, S., Damsté, J.S.S., 2002. Rapid isolation of biomarkers for compound specific radiocarbon dating using high-performance liquid chromatography and flow injection analysis-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 978, 129-140.
- Spyckerelle, C., 1975. *Constituants aromatiques de sédiments*. Thèse de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, 134 pp.
- Staubwasser, M., Weiss, H., 2006. Holocene climate and cultural evolution in late prehistoric - early historic West Asia. *Quaternary Research* 66, 372-387.

- Stebich, M., Brüchmann, C., Kulbe, T., Negendank, J.F.W., 2005. Vegetation history, human impact and climate change during the last 700 years recorded in annually laminated sediments of Lac Pavin, France. *Review of Palaeobotany and Palynology* 133, 115-133.
- Stefanova, M., Disnar, J.R., 2000. Composition and early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments, lake Aydat (France). *Organic Geochemistry* 31, 41-55.
- Stefanova, M., Oros, D.R., Otto, A., Simoneit, B.R.T., 2002. Polar aromatic biomarkers in the Miocene Maritza-East lignite, Bulgaria. *Organic Geochemistry* 33, 1079-1091.
- Stefanova, M., Markova, K., Marinov, S., Simoneit, B.R.T., 2005. Biomarkers in the fossils from the Miocene-aged Chukurovo lignite, Bulgaria: sesqui- and diterpenoids. *Bulletin of Geosciences* 80, 93-97.
- Stenseth, N.C., Samia, N.I., Viljugrein, H., Linné Kausrud, K., Begon, M., Davis, S., Leirs, H., Dubyanskiy, V.M., Esper, J., Ageyev, V.S., Klassovskiy, N.L., Pole, S.B., Chang, K.S., 2006. Plague dynamics are driven by climate variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 13110-13115.
- Stevens, J.F., Hart, H., Bolck, A., Zwaving, J.H., Malingré, T.M., 1994a. Epicuticular wax composition of some European *Sedum* species. *Phytochemistry* 35, 389-399.
- Stevens, J.F., Hart, H., Pouw, A.J.A., Bolck, A., Zwaving, J.H., 1994b. Epicuticular waxes of *Sedum* series *Rupestris*. *Phytochemistry* 36, 341-348.
- Stevenson, F.J., 1966. Lipids in soil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 43, 203-210.
- Streibl, M., Herout, V., 1969. Terpenoids - especially oxygenated mono-, sesqui-, di- and tri-terpenes. In : Eglinton, G., Murphy, M.T.J. (Eds.). *Organic Geochemistry, methods and results*. Berlin : Springer-Verlag, pp. 401-424.
- Sundborg A., 1986. Problèmes d'érosion, transport solide et sédimentation dans les bassins versants. Paris : UNESCO, 161 pp.
- Surmely, F., Miras, Y., Guenet, P., Nicolas, V., Savignat, A., Vannière, B., Walter-Simonnet, A.V., Servera, G., Tzortzis, S., 2009. Occupation and land-use history of a medium mountain from the Mid-Holocene: A multidisciplinary study performed in the South Cantal (French Massif Central). *Comptes-Rendus Paleovol* 8, 737-748.
- Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 2005. Contrat de rivière "vallée de la Veyre - Lac d'Aydat" - Convention. Saint-Saturnin : Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 43 pp.
- Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 2007. Projet de reméandrage. Communes d'Aydat et de Saulzet le Froid. Saint-Saturnin : Syndicat Mixte de la Vallée de la Veyre, 10 pp.
- Thakur, S., Das, P., Itoh, T., Imai, K., Matsumoto, T., 1984. Latex extractables of *Calotropis gigantea*. *Phytochemistry* 23, 2085-2087.
- Tissot, B., Welte, D.H., 1984. Petroleum formation and occurrence. 2nd Edition. Berlin :

Springer - Verlag, 699 pp.

- Torn, M.S., Trumbore, S.E., Chadwick, O.A., Vitousek, P.M., Hendricks, D.M., 1997. Mineral control of soil organic carbon storage and turnover. *Letters to Nature* 389, 170-173.
- Trendel, J., 1985. Dégénération de triterpènes dans les sédiments. Aspects photochimiques et microbiologiques. Thèse de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, 134 pp.
- Trendel, J.M., Schaeffer, P., Adam, P., Ertlen, D., Schwartz, D., 2010. Molecular characterisation of soil surface horizons with different vegetation in the Vosges Massif (France). *Organic Geochemistry* 41, 1036-1039.
- Tsao, C.C., Shen, Y.C., Su, C.R., Li, C.Y., Liou, M.J., Dung, N.X., Wu, T.S., 2008. New diterpenoids and the bioactivity of *Erythrophleum fordii*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 16, 9867-9870.
- Tulloch, A.P., 1976. Chemistry of waxes and higher plants. In : Kolattukudy, P.E. (Ed.). *Chemistry and biochemistry of natural waxes*. Amsterdam : Elsevier, pp. 235-287.
- Tulloch, A.P., Hoffman, L.L., 1982. Epicuticular wax of *Cirsium arvense*. *Phytochemistry* 21, 1639-1642.
- Tyagi, P., Edwards, D.R., Coyne, M.S., 2008. Use of sterol and bile acid biomarkers to identify domesticated animal sources of fecal pollution. *Water, Air and Soil Pollution* 187, 263-274.
- Tyson, R.V., 1995. Sedimentary organic matter. Organic facies and palynofacies. Londres : Chapman et Hall, 615 p.
- Ulubelen, A., Berkan, T., 1977. Triterpenic and steroidal compounds of *Cnicus Benedictus*. *Planta Medica* 31, 375-377.
- Vancampenhout, K., Wouters, K., Caus, A., Buurman, P., Swennen, R., Deckers, J., 2008. Fingerprinting of soil organic matter as a proxy for assessing climate and vegetation changes in last interglacial palaeosols (Veldwezelt, Belgium). *Quaternary Research* 69, 145-162.
- Vilegas, J.H.Y., Lanéas, F.M., Vilegas, W., Pozetti, G.L., 1997. Further triterpenes, steroids and furocoumarins from Brazilian medicinal plants of *Dorstenia* genera (Moraceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 8, 529-535.
- Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human domination of Earth's ecosystems. *Science* 277, 494-499.
- Volkman, J.K., 1986. A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Organic Geochemistry* 9, 83-99.
- Volkman, J.K., 2006. Lipids markers for marine organic matter. In : Hutzinger, O. (Ed.). *Handbook of Environmental Chemistry, Volume 2: Reactions and Processes, Part N*. Berlin-Heidelberg : Springer-Verlag, pp 27-70.
- Volkman, J.K., Allen, D.I., Stevenson, P.L., Burton, H.R., 1986. Bacterial and algal hydrocar-

- bons in sediments from a saline Antarctic lake, Ace Lake. In : Leythaeuser, D., Rullk etter, J. (Eds.). *Advances in Organic Geochemistry*. Oxford : Pergamon Press, pp. 671-681.
- Volkman, J.K., Jeffrey, S.W., Nichols, P.D., Rogers, G.I., Garland, C.D., 1989. Fatty-acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of experimental marine biology and ecology* 128, 219-240.
- Wada, H., Tachibana, H., Fuchino, H., Tanaka, H., 1998. Three new diarylheptanoid glycosides from *Alnus japonica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 46, 1054-1055.
- Wakeham, S.G., Schaffner, C., Giger, W., 1980. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments. - II. Compounds derived from biogenic precursors during early diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 415-429.
- Wanner, H., Beer, J., B utikofer, J., Crowley, T.J., Cubasch, U., Fl uckiger, J., Goosse, H., Grosjean, M., Joos, F., Kaplan, J.O., K uttel, M., M uller, S.A, Prentice, I.C., Solomina, O., Stocker, T.F., Tarasov, P., Wagner, M., Widmann, M., 2008. Mid- to Late Holocene climate change: an overview. *Quaternary Science Reviews* 27, 1791-1828.
- Weete, J.D., 1976. Algal and fungal waxes. In : Kolattukudy, P.E. ( ed.). *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes*. Amsterdam : Elsevier, pp. 349-418.
- Wiesenberg, G.L.B., Schwartzbauer, J., Schmidt, M.W.J., Schwark, I., 2004. Sources and turnover of organic matter in agricultural soils derived from *n*-alkane / *n*-carboxylic acid compositions and C-isotope signatures. *Organic Geochemistry* 35, 1371-1393.
- Wiesenberg, G.L.B., Lehndorff, E., Schwark, L., 2009. Thermal degradation of rye and maize straw: Lipid pattern changes as a function of temperature. *Organic Geochemistry* 40, 167-174.
- Wiesenberg, G.L.B., Dorodnikov, M., Kuzyakov, Y., 2010. Source determination of lipids in bulk soil and soil density fractions after four years of wheat cropping. *Geoderma* 156, 267-277.
- Wilkinson, B.H., 2005. Humans as geologic agents: A deep-time perspective. *Geology* 33, 161-164.
- Wilkinson, B.H., McElroy, B.J., 2007. The impact of humans on continental erosion and sedimentation. *Geological Society of America Bulletin* 119, 140-156.
- Wills, S., 1998. Cannabis use and abuse by man: an historical perspective. In : Brown, D.T. (Ed.). *Cannabis. The genus Cannabis*. Harwood Academic Publishers, 284 pp.
- Woldu, Y., Abegaz, B., Botta, B., Delle Monache, G., Delle Monache, F., 1988. Styrenes from *Dorstenia barnimiana*. *Phytochemistry* 27, 1227-1228.
- Xoplaki, E., Fleitmann, D., Diaz, H., von Gunten, L., Kiefer, T. (Eds), 2011. Medieval Climate Anomaly. *PAGEs news* 19-1, num ero sp ecial.

- Xu, Y., Jaffé, R., Simoneit, B.R.T., 2008. Oxygenated spiro-triterpenoids possibly related to arborenes in sediments of a tropical, freshwater lake. *Organic Geochemistry* 39, 1400-1404.
- Yadagiri, B., Raj, K., Subba Rao, G.S.R., 1984. Triterpenoids from *Balanophora abbreviata* and *Balanophora indica*. *Journal of Natural Products* 47, 182-191.
- Yang, F.Q., Ou, Q.Y., Yu, W.L., 1994. Chemical constituents of *Artemisia dalailamae* Kra-schen. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 19, 166-167.
- Yin, M., Chen, Y., Wang, M., Dong, Y.F., Xia, B., Feng, X., 2007. Chemical constituents in the root of *Cynanchum auriculatum*. *Zhong Yao Cai* 30, 1245-1247.
- Yoshizumi, S., Murakami, T., Kadoya, M., Matsuda, H., Yamahara, J., Yoshikawa, M., 1998. Medicinal foodstuffs. XI. Histamine release inhibitors from wax gourd, the fruits of *Benin-casa hispida* Cogn. *Yakugaku Zasshi* 118, 188-192.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., 1995. Composition and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mackenzie River and on the Beaufort Sea shelf. *Arctic* 48, 118-129.
- Zhang, J.F., Li, Y.B., Li, C.L., Jiang, J.Q., 2006. Studies on chemical constituents in root tuber of *Cynanchum auriculatum*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 31, 814-816.
- Zhang, P., Cheng, H., Edwards, R.L., Chen, F., Wang, Y., Yang, X., Liu, J., Tan, M., Wang, X., Liu, J., An, C., Dai, Z., Zhou, J., Zhang, D., Jia, J., Jin, L., Johnson, K.R., 2008. A Test of Climate, Sun, and Culture Relationships from an 1810-Year Chinese Cave Record. *Science* 322, 940-942.
- Zocatelli, R., Jacob, J., Turcq, B., Boussafir, M., Sifeddine, A., Bernardes, M.C., 2010. Bio-marker evidence for recent turf cultivation in Northeast Brazil (Lagoa do Boqueirão, RN State). *Organic Geochemistry* 41, 427-430.
- Zocatelli, R., Lavrieux, M., Disnar, J.R., Le Milbeau, C., Jacob, J., Bréheret, J.G. Free fatty acids in Lake Aydat catchment soils (French Massif Central): sources, distributions and potentialities as sediment biomarkers. Soumis à *Journal of Soils and Sediments*.

Annexes

Annexe A

Les méthoxyserratènes, biomarqueurs discriminants des sols développés sous forêts de conifères

*Poster présenté durant le 25^e IMOG (International Meeting on Organic Geochemistry),
18-23 septembre 2011, Interlaken (Suisse)*

Methoxy-serratenes as discriminant biomarkers for soils developed under conifer forests

Claude Le Milbeau, Marlène Lavrieux, Jérémy Jacob, Renata Zocatelli, Jean-Robert Disnar

Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, ISTO, Université d'Orléans, UMR 6113 du CNRS/INSU, Orléans, France

(corresponding author: claudle.le-milbeau@univ-orleans.fr)

The evolution of landscapes through time constitutes a challenge for both archaeologists and paleoenvironmentalists. For example, human deforestation (for cultivation and building) strongly affected the shape of continental surfaces with supposed impacts on the global carbon cycle of which the timing and extent remains controversial.

Molecular biomarkers detected in soils can provide clue information on the past local vegetation, and thus on past land uses. In addition, if these biomarkers are transferred from soils to sedimentary archives, they can be used to reconstruct the evolution of ecosystems through time. Higher plant pentacyclic triterpenes are commonly associated with angiosperms and are increasingly used in environmental reconstructions. Due to their wide diversity of structures, functions and configurations, they constitute valuable chemo-taxonomic targets, considering that a restricted number of organisms are able to synthesize specific structures. For example, pentacyclic triterpene methyl ethers can be related to Gramineae [1], [2] whereas triterpenyl acetates are mainly produced by Asteraceae [3]. Both reflect the development of open vegetation, either under the influence of climate or due to human activities.

In order to search for such compounds, we have analysed the lipid content of soils developed under conifer forest (spruces and pines) in the catchment of Lake Aydat (Massif Central, France). Lipids were extracted by ASE with DCM:MeOH 9:1 and then separated into classes by flash chromatography with solvents of increasing polarity before being analysed by GC-MS.

Apart from n-alkanes and diterpenoids, a series of 11 original compounds were detected in the ketone and alcohol fractions (Figure A.1). These compounds are unsaturated pentacyclic triterpenes with a serratane structure, a methoxy group and various additional oxygenated functions (methoxy, acetoxy, ketone or alcohol). Their concentrations range from 1 to 20 $\mu\text{g/g}$ of soil.

Serratane compounds are biosynthesized by many plants such as pines, spruces, ferns and club mosses. Reversely, serratane triterpenes bearing a methoxy group have, up to now, only been reported in Pinaceae.

Methoxy-serratenes constitute novel tracers of conifers that are far more specific than classical diterpenoids. In addition, considering their lower volatility, they are likely to be preserved in lacustrine archives, although their resistance to early diagenetic processes remains to be documented. If resistant, there are likely to provide crucial information on the evolution of pine and spruce forests over decadal to millennial timescales.

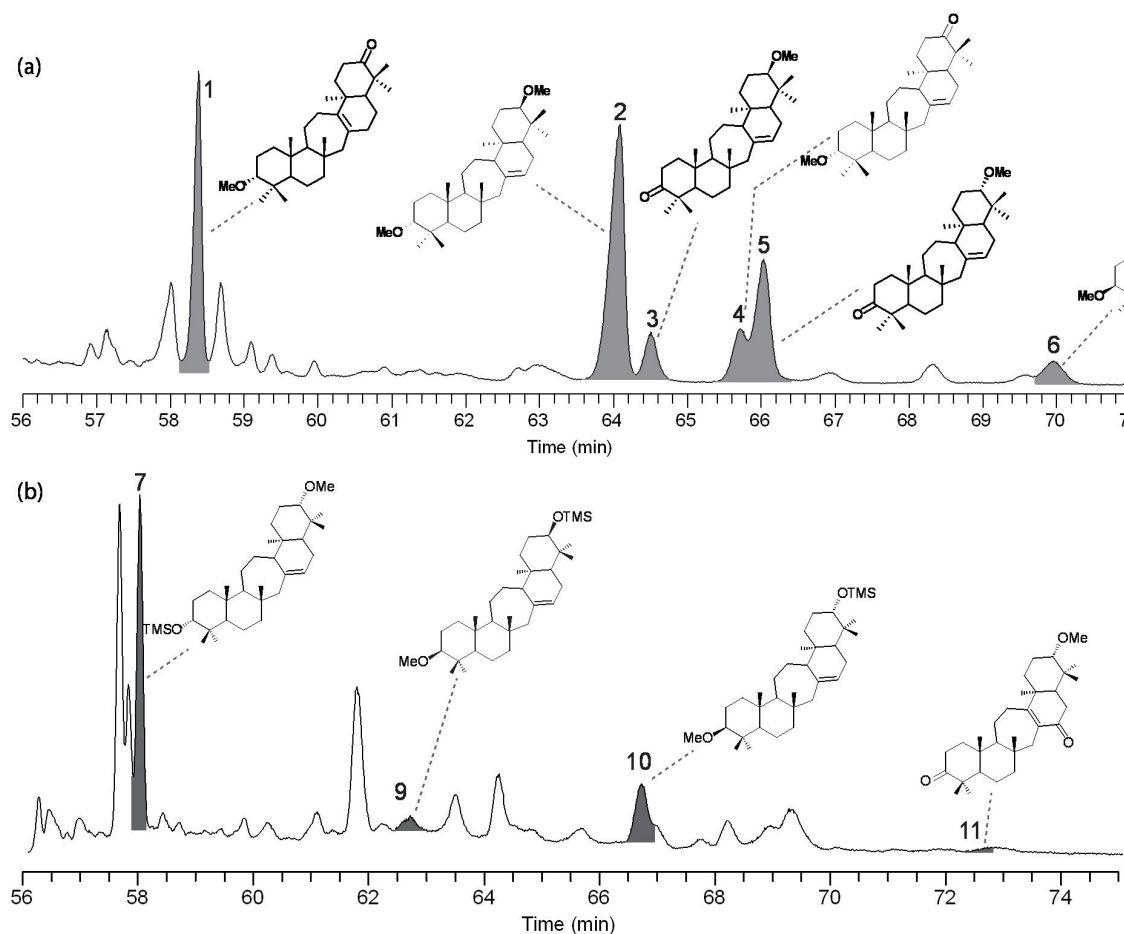


FIG. A.1 – GC-MS Total Ion Chromatogram (TIC) of (a) the ketone fraction and (b) the alcohol fraction from the lipid extract of a soil developed under a conifer forest : 1: 3 α -methoxyserrat-13-en-21-one; 2: 3 α ,21 β -dimethoxyserrat-14-ene; 3: 21 β -methoxyserrat-14-en-3-one; 4: 3 α -methoxyserrat-14-en-21-one; 5: 21 α -methoxyserrat-14-en-3-one; 6: 3 β -methoxyserrat-14-en-21-yl acetate; 7: 21 α -methoxyserrat-14-en-3 α -ol; 9: 3 β -methoxyserrat-14-en-21 β -ol; 10: 3 β -methoxyserrat-14-en-21 α -ol; 11: 21 α -methoxyserrat-13-en-3,15-dione

References:

- [1] Jacob J., Disnar J.R., Boussafir M., Albuquerque A.L.S., Siffedine A., Turcq B., 2005. Pentacyclic triterpene methyl ethers in recent lacustrine sediments (Lagoa do Caço, Brazil). *Organic Geochemistry*, 36, 449-461.
- [2] Zocatelli R., Jacob J., Turcq B., Boussafir M., Siffedine A., Bernades M.C., 2010. Biomarker evidence for recent turf cultivation in Northeast Brazil (Lagoa do Boqueirao, RN State). *Organic Geochemistry*, 41, 427-430.
- [3] Lavrieux M., Jacob J., Le Milbeau C., Disnar J.R., Zocatelli R., Bréheret J.G., Masuda K., 2011. First detection of triterpenyl acetates in soils: sources and potential as new palaeo-environmental biomarkers. 25th IMOGE. Interlaken (Switzerland).

Methoxy-serratenes as discriminant biomarkers for soils developed under conifer forests

Claude Le Milbeau^a, Marlène Lavrieux^{a,b}, Jérémy Jacob^a, Rénata Zocattelli^a, Jean-Robert Disnar^a

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans (ISTO), Université d'Orléans/Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 du CNRS/INSU, 1A rue de la Fêrolierie, F45071 Orléans Cedex 2, France.

^b Institut des Sciences de la Terre d'Orléans (ISTO), Université d'Orléans/Université François Rabelais de Tours, UMR 6113 du CNRS/INSU, UFR Sciences & Techniques, Parc Grandmont, F37200 Tours, France.

INTRODUCTION

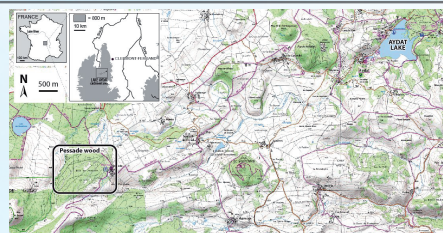
The evolution of landscapes through time constitutes a challenge for both archaeologists and paleoenvironmentalists. For example, human deforestation (for cultivation and building) strongly affected the shape of continental surfaces with supposed impacts on the global carbon cycle of which the timing and extent remains controversial.

Molecular biomarkers detected in soils can provide clue information on the past local vegetation, and thus on past land uses. In addition, if these biomarkers are transferred from soils to sedimentary archives, they can be used to reconstruct the evolution of ecosystems through time. Higher plant pentacyclic triterpenes are commonly associated with angiosperms and are increasingly used in environmental reconstructions. Due to their wide diversity of structures, functions and configurations, they constitute valuable chemotaxonomic targets, considering that a restricted number of organisms are able to synthesize specific structures. For example, pentacyclic triterpene methyl ethers can be related to Gramineae [1], [2] whereas triterpenyl acetates are mainly produced by Asteraceae [3]. Both reflect the development of open vegetation, either under the influence of climate or due to human activities.

MATERIALS AND METHODS

Soil samples were taken in the autumn of 2008 from Pessade forest, located on the north-eastern side of Sancy Massif (volcanic French Massif Central) in the Lake Aydat catchment, ca. 25 km SW Clermont Ferrand and mainly constituted by spruces and pines.

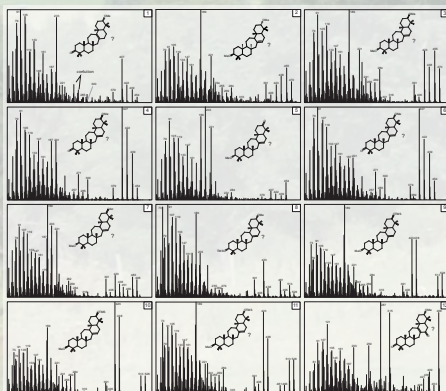
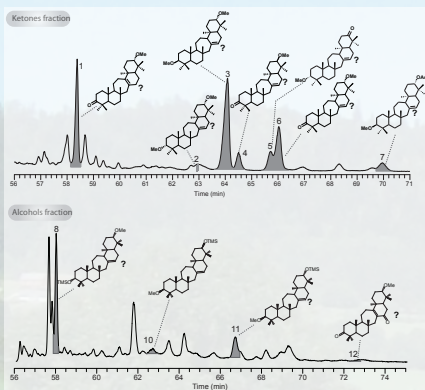
Samples were extracted using Accelerated Solvent Extraction (Dionex ASE 200) with DCM:MeOH (9:1) and separated into neutral, acidic and polar compounds by flash chromatography on aminopropyl-bonded silica. The neutral fraction was separated into five fractions (aliphatics, aromatics, ethers, ketones and alcohols) on silica gel column with solvent of increasing polarity before be analysed by GC-MS.



RESULTS

Neutral lipids are mainly composed by n-alkanes, sterols, stanones, stenones, diterpenes and diterpenols. A series of 12 original compounds were detected in the ketone and alcohol fractions :

- Unsaturated pentacyclic triterpenes with :
- seven membered ring C
 - ➔ serratane structure
 - a methoxy group
 - additional oxygenated groups
 - ➔ methoxy,
 - ➔ acetoxy,
 - ➔ ketone,
 - ➔ alcohol.



Concentrations range from 1 to 20 µg/g of soil.

DISTRIBUTION OF METHOXY-SERRATENES IN PLANTS

Bibliographic inventory of distribution of methoxy-serratenes in plants is summarized in the following tab :

	Pinaceae													
	Picea				Pinus									
	abies	glauca	mariana (millers)	obovata	europaea	resinosa	sylvestris	taeda	resinosa	resinosa	resinosa	resinosa	resinosa	resinosa
21α-methoxyserrat-13-en-3-one (1)				X										
3α,21β-dimethoxyserrat-14-ene (2)														
3β,21β-dimethoxyserrat-14-ene (3)														
21β-methoxyserrat-14-en-3-one (4)														
3α-methoxyserrat-14-en-21-one (5)														
21α-methoxyserrat-14-en-3-one (6)														
3β (or 3α)-methoxyserrat-14-en-21-yl acetate (Z)														
21α-methoxyserrat-14-en-3-ol (8)														
3α-methoxyserrat-14-en-21β-ol (9)														
3β-methoxyserrat-14-en-21β-ol (10)														
3β-methoxyserrat-14-en-21α-ol (11)														
21α-methoxyserrat-13-en-3,15-dione (12)														
3α,21β-dimethoxyserrat-14-ene														
3β,21β-dimethoxyserrat-14-ene														
3α-methoxyserrat-14-en-21-yl formate														
3β-methoxyserrat-13-en-21-one														
3β-methoxyserrat-14-en-21-one														
21β-methoxyserrat-14-en-3β-ol														
3α-methoxyserrat-14-en-21β-ol														
3α-methoxyserrat-14-en-21α-ol														
21-acetoxy-3β-methoxyserrat-14-en-21α-ol														
3α-methoxy-21α-hydroxyserrat-14-en-15-one														
3α-methoxyserrat-14-ene-21α,30-diol														
3β-methoxyserrat-14-ene-21α,29-diol														
3β-methoxyserrat-14-ene-21β,29-diol														
29-hydroxy-3β-methoxyserrat-14-en-21-one														
3β-methoxyserrat-14-ene-21α,30-diol														
29-nor-3α-methoxyserrat-14-en-21-one														
29-nor-3β-methoxyserrat-14-en-21-one														
21-oxo-3β-methoxyserrat-14-en-29-al														
21α-hydroxy-3β-methoxyserrat-14-en-29-al														
21α-hydroxy-3β-methoxyserrat-14-en-30-al														
Jaccarinal A and B														
Piceanonol A														
Piceanonol B														
13α,14α-epoxy-3β-methoxyserrat-21β-ol														
13α,14α-epoxy-21α-methoxyserrat-3-one														
14β,15β-epoxy-3β-methoxyserrat-21-one														
14β,15β-epoxy-3α-methoxyserrat-21β-ol														
14β,15β-epoxy-3β-methoxyserrat-21β-ol														

Serratane compounds are biosynthesized by many plants such as pines, spruces, ferns and club mosses. Methoxy-serratenes are mainly biosynthesized by spruces and pines.

CONCLUSION

Methoxy-serratenes constitute novel tracers of conifers that are far more specific than classical diterpenoids. In addition, considering their lower volatility, they are likely to be preserved in lacustrine archives, although their resistance to early diagenetic processes remains to be documented. If resistant, there are likely to provide crucial information on the evolution of pine and spruce forests over decadal to millennial timescales.

REFERENCES:
 [1] Jacob J., Disnar J.R., Boussafir M., Albuquerq A.L.S., Siffedine A., Turcq B., 2005. Pentacyclic triterpene methyl ethers in recent lacustrine sediments (Lagoa do Capô, Brazil). Organic Geochemistry, 36, 449-461.
 [2] Zocattelli R., Jacob J., Turcq B., Boussafir M., Siffedine A., Bernades M.C., 2010. Biomarker evidence for recent turf cultivation in Northeast Brazil (Lagoa do Boqueirão, RN State). Organic Geochemistry, 41, 427-430.
 [3] Lavrieux M., Jacob J., Le Milbeau C., Disnar J.R., Zocattelli R., Bréheret J.G., Masuda K., 2011. First detection of triterpenyl acetates in soils: sources and potential as new palaeo-environmental biomarkers. 25th IMOG. Interlaken (Switzerland)

Annexe B

Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

Article soumis à Journal of Soils and Sediments

Free fatty acids in Lake Aydat catchment soils (French Massif Central): sources, distributions and potentialities as sediment biomarkers

Renata Zocatelli • Marlène Lavrieux • Jean-Robert Disnar • Claude Le Milbeau •
Jérémy Jacob • Jean Gabriel Bréheret

R. Zocatelli* • M. Lavrieux • J.-R. Disnar • C. Le Milbeau • J. Jacob
Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, 1A rue de la Férellerie,
45071 Orléans Cedex 2, France
e-mail: renata.zocatelli@cnrs-orleans.fr

M. Lavrieux • J. G. Bréheret
Université François-Rabelais de Tours, CNRS/INSU, Laboratoire de Géologie, Faculté des
Sciences et Techniques, Parc Grandmont, 37200 Tours, France

* Corresponding author:
Renata Zocatelli
e-mail: renata.zocatelli@cnrs-orleans.fr

Abstract

Purpose: 18 soils were sampled in Lake Aydat catchment in order to analyze their content in free fatty acids (FAs), which are considered to be among the biomarkers the most amenable to mobilisation by runoff waters. The studied soils have been occupied by grasslands or forest since at least World War II, some having changed use more recently.

Material and methods: The soil studied all developed on volcanic rocks (andisols). The bulk organic matter (OM) content of the samples was characterized by Rock-Eval (RE) pyrolysis. The FAs were determined by Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of isolated and derivatized (methylation and trimethylsilylation) fractions.

Results and discussion: Few low molecular weight compounds (LMW; i.e., $<C_{20}$) were detected, FA distributions being usually dominated by even-carbon-numbered high molecular weight (HMW; $\geq C_{20}$) normal FAs and difunctionalized FAs: diFAs, β - and ω -hydroxy-fatty acids (β HOFAs and ω HOFAs). The distributions and abundances of HMW terms of all families (which can all be considered as representative of terrestrial OM source) display only slight differences. These differences can be rationalized by the following ratios: $(C_{26:0}+C_{28:0})/\sum C_{even}$ nFAs, C_{22}/C_{24} di-FAs, and $C_{20-}/C_{20+\omega}$ -HOFAs). Soils from areas that have changed use recently consistently display intermediate ratio values typical of their double inheritance. All grassland soils and some samples from intermediate areas contain notable amounts of the bile acid deoxycholic acid that testifies to their present or recent use for cattle breeding.

Conclusions: Despite the variety and the abundance of all HMW FAs, only nFAs were previously found in Lake Aydat sediments (Stefanova, M. and Disnar, J. R. 2000. Composition and early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments, Lake Aydat (France). Org

Geochem 31, 41-55), which strongly questions the importance of the watershed contribution, the source (plant or soil) and mode of transportation of the FAs to the Lake sediments.

Keywords: Biomarkers • Conifer • Fatty acids • French Massif Central • Grassland • Sediments • Soils

1 Introduction

Fatty acids (FAs) are major components of the lipids of living organisms. They mostly occur in the form (i) of esters (of alkanols, sterols and glycerol) as components of cell membranes of bacteria and eukaryotes, (iia) as polyesters in the protective tissues of higher plants (namely cutin in leaves and suberin in barks and roots), and also (iib) in the free or combined state (waxes) at the outer surface of leaves (Feng et al. 2010 and references therein). Like other lipid compounds, FAs have been extensively studied by organic geochemists as tracers of plant input to marine and lacustrine sediments (Cranwell 1977, 1978, 1981; Meyers and Ishiwatari 1993; Ho and Meyers 1994; Prartono and Wolff 1998; Ficken et al. 2000; Fisher et al. 2003; Jacob et al. 2007). While the FAs incorporated into phospholipids have received considerable attention as specific tracers of soil microorganisms (Zelles 1997, 1999; Ruess and Chamberlain 2010 and references therein), soil lipids including FAs have been little investigated. This paucity of data was pointed out by Bull et al. (2000a), and still remains fully valid, despite the publication of a few papers in the meantime (see below). Most papers on soil lipids in general and FAs in particular deal with the fate or turnover of lipid components of the soil organic matter (SOM) in cultivated or uncultivated soils (Dinel et al. 1998; Nierop et al. 2003; Otto and Simpson 2006; Wiesenberg and Schwark 2006; Wiesenberg et al. 2008, 2010; Amelung et al. 2008; Feng et al. 2008 and references therein). Only a very few papers deal with FAs as plant source indicators (Almendros et al. 1996; van Bergen et al. 1997; Bull et al. 2000b; Gleixner et al. 2001; Marseille et al. 1999). Both these objectives are considered together in studies in which lipids are used for tracking changes in soil use (Lichtfouse et al. 1994; Wiesenberg et al. 2004; Quénea et al. 2006).

Like soil scientists, sediment geochemists usually directly base the identification of the source organisms of FAs (and other lipid compounds) on the composition of the putative living organism (e.g., Cranwell 1974; Rieley et al. 1991). The possibility that original FA distributions might be altered during compound transfer from the source plant to the sediment - and especially in the soil where they can remain for a rather long time - is generally totally overlooked (e.g., Kusch et al. 2010).

A few years ago, Stefanova and Disnar (2000) published a study on the free and bound FA content in the recent sediments of Lake Aydat. This lake is located in the French Massif Central, in an area covered by grasslands and woods. It is presently eutrophic, and accordingly, the previous authors evidenced only a minor organic contribution from the watershed to the sediment. The present study deals with the analysis of the free FAs extracted from 18 soils developed under different vegetation cover in the lake catchment. The main aim of the work is to appraise the variations in the content and composition of free FAs-the most likely to be mobilized by runoff water-in the soils of the watershed, under different plant cover (i.e., grass and trees) and other environmental factors (soil nature,

elevation, slope, etc.). Some of the studied soils that have changed in use during the last century should also allow us to assess the persistence of FAs of former cover in soils and, accordingly, to test the potential of lipids to track such changes.

2 Setting

Soil samples were taken from the catchment of Lake Aydat, located in the French Massif Central about 25 km SW of Clermont-Ferrand (Fig. B.1). The catchment is at an altitude ranging from 825 m (lake level) to about 1300 m above sea level. The highest points are volcanoes of the Chaîne des Puys. Between the volcanic domes flows the Veyre River, the major tributary of Lake Aydat. The volcanoes are covered by forests (mainly *Picea* sp.), most of them artificial, whereas the rest of the catchment is covered by pastures (grassland) and, of lesser abundance, by shrubs. The geological substratum is mostly basaltic, accompanied by basaltic trachyandesite and Quaternary alluvium near the Veyre River. Aydat soils are andisols, constituted by lightly-textured basic lava. Sand-silt constituted the only horizon (A, organo-mineral) above the C horizon. These soils are well drained and slightly acid. The volcanic rocks have shallow soils, between 30 and 40 cm depth.

3 Materials and methods

3.1 Sampling, soil characterization and slope calculation

18 soil monoliths, representative of the diversity of soil occupation encountered in the catchment of Lake Aydat, were sampled in autumn 2008 (see Fig. B.1). The location and context of the eighteen sites are described in Fig. B.1 and the vegetation cover and the main characteristics of the selected soils are described in Table B.1. Slope calculations were performed according to Kasel and Bennett (2007). Samples of the top of superficial organo mineral horizon (2-4 cm) were dried in an oven (40°C) and sieved at 2 mm. The < 2 mm fractions were analysed

3.1.1 pH and granulometry

Soil pH was determined as described by Margesin and Schinner (2005). Granulometry was performed on airdried samples on the <2 mm fraction. The size distribution of particles was determined using the pipette method after dispersion with NaOH 1N (Embrapa 1997).

3.1.2 Rock-Eval (RE) analyses

Approximately 60 mg of dried and crushed soils were used for RE analysis. The RE parameters used in this study were: (i) Total organic carbon (TOC; %) which accounts for the quantity of OC present in the soil; (ii) the Hydrogen Index (HI, in mg hydrocarbons.g TOC⁻¹), which is the amount of HC released during pyrolysis, normalized to TOC whereas (iii) the Oxygen Index OI (OI, in mg CO₂. g⁻¹ TOC) corresponds to the oxygen content

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

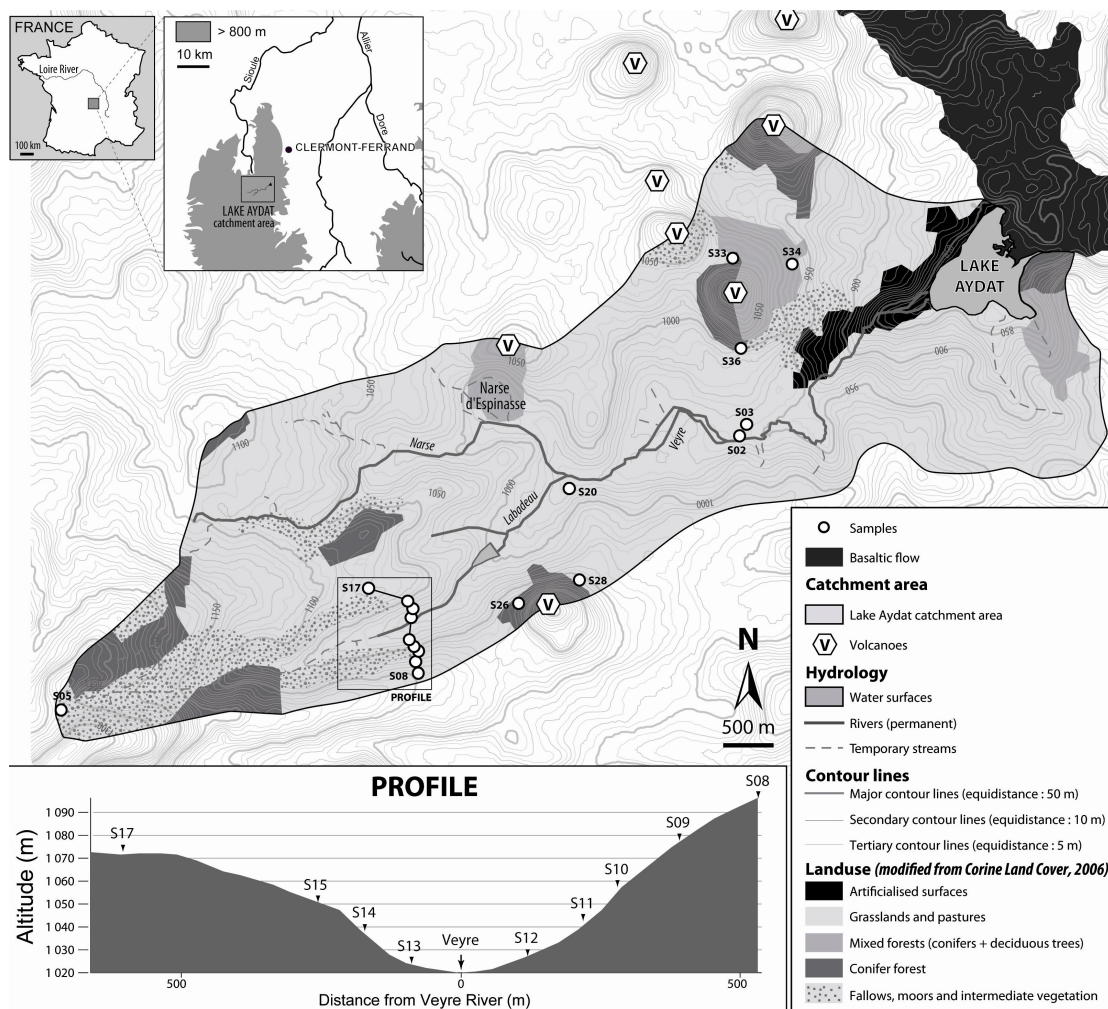


FIG. B.1 – Location of lake Aydat catchment area (French Massif Central). Soil sampling sites are represented by white circles. The profile shows the topography of a transect from S08 to S17 sites

of the OM released during pyrolysis, normalized to TOC (Espitalié et al. 1985; Lafargue et al. 1998; Disnar et al. 2003).

3.2 Lipid extraction and analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Lipids were extracted from ca. 2.0 g of dried and crushed soil samples using accelerated solvent extraction with $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (1:1 v/v; ASE 200 Dionex®) at 100°C and 1000 psi for 5 min in 3 cycles (5 ml cells, 60% flush volume). The total extract was dried under N_2 and then fractionated into neutral and acidic compounds using solid phase extraction on Aminopropyl Bond Elute phase according to Jacob et al. (2005). Acid fractions were dried under N_2 and methylated by adding a mixture of anhydrous MeOH and acetyl chloride kept

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

TAB. B.1 – Inventory of triterpenyl acetates in soil samples with peak number, retention time and mass spectral data.

Site	Vegetation (humus type)	Geological substratum	Granulometry			Slope (°)	pH _{CaCl2}	TOC (%)	HI	OI	FA conc. ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ soil ⁻¹)	FA conc. ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ TOC-1)
			Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)							
S08	grassland	Basaltic				3.4	5.27	12.5	310	178	186	1491
S09	grassland	Basaltic				9.0	5.48	14.3	322	230	150	1048
S10	(+ shrubs) grassland	Basaltic				13.2	4.96	13.7	257	188	113	823
S11	(+ shrubs)	Basaltic				13.4	4.66	11.2	267	197	145	1303
S12	grassland	Basaltic				9.3	5.78	25.7	322	209	317	1230
S13	grassland	Basaltic				2.4	5.26	6.6	327	176	120	1813
S14	grassland	Basaltic				9.8	5.53	5.2	271	209	63	1210
S15	grassland	Basaltic				10.4	5.24	6.2	262	255	312	5029
S17	grassland	Basaltic				3.4	5.52	7.1	286	182	485	6794
S02	grassland	Quat. Alluv.				0.5	5.54	10.6	285	206	322	3025
S03	grassland	Basaltic				2.4	5.27	6.6	218	207	236	3583
S20	grassland	Basaltic	22	75	4	5.7	5.76	9.4	271	192	146	1561
S05	intermediate	Doreit				2.4	4.52	16.2	352	167	843	5216
S28	intermediate	Basaltic				8.7	5.32	7.5	236	208	501	6636
S33	intermediate	Basaltic				4.0	5.01	29.7	378	176	486	1639
S34	intermediate	Basaltic	49	47	4	11.0	5.20	10.8	232	211	370	3418
S26	forest	Basaltic				16.6	4.20	38.2	364	248	317	833
S36	forest	Basaltic	58	40	2	14.9	5.45	8.0	220	378	1877	23349

Legend: Quat. Alluv. = Quaternary Alluvion, HI = hydrogen index, OI = oxygen index

at room temperature for 1 hour. The methyl esters were then further derivatized by reacting with 125 μl BSTFA in 250 μl pyridine at 60°C during 1 hour. Standard (5 α -cholestane) was added prior to GC-MS analysis.

Esterified and silylated acid fractions were analyzed by GC-MS with a Polaris TRACE-GCQ. The chromatograph was fitted with an Rtx-5MS column (30 m, 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness). The GC operating conditions were: 40°C (hold 1 min) to 120°C at 30°C min⁻¹, then from 120° to 300°C at 5°C min⁻¹, hold 30 min. The samples were injected in splitless mode, with the injector temperature set at 280°C. He was the carrier gas at 1 ml.min⁻¹. The mass spectrometer was operated in the electron ionization (EI) mode at 70 eV and scanned from 50 to 650 m/z. Identifications were based on GC retention times and comparison of mass spectra with published data. Because of possible coelution, the concentrations were estimated by measuring peak areas on ion specific chromatograms. Acid concentrations were estimated after calculating a correction factor between the peak area on the ion specific chromatogram and the peak area on the Total Ion Current (TIC) and then reported to the area of standard peak (5 α -cholestane) on the TIC. The Pearson product moment correlation was used to test for correlation with Statistica (Statsoft 2008). The level of significance of all tests was set at /P/<0.05.

4 Results

The samples analysed were separated into 3 groups depending on their present and past plant cover: forests, grasslands and intermediate areas that have changed occupation during the past century. In most cases these intermediate areas correspond to abandoned grasslands that were colonized by shrubs and/or planted with trees (mostly conifers).

4.1 Soil samples main characteristics (see Table B.1)

All the samples are rich in TOC, i.e. $\geq 5.2\%$, the value obtained for grassland soil S14, and up to 38.2 % in the forest sample S26 (see Table B.1). Slope values are low to moderate, ranging from 0.5 to 16.6°, the largest slopes being reached by forest soils located at rather high elevation. Sample S26 that has the greatest slope and high HI and OI values also has the lowest pH value (B.4.2). Grassland soils in general show lower TOC values than forest soils, except for site S12 (25.7%) which is located in a swampy area. OI values are relatively higher in forest soil samples. Granulometry shows a gradient from grassland to forest soils, characterized by a decreasing amount of silts compensated by an increase in sand, accompanied by a slight decrease in pH (see Table B.1).

4.1.1 Identification, composition and distribution of lipids in the acid fraction of soil samples

The free FA fraction of the soil total lipid extract (TLE) contains the following groups of aliphatic compounds: nFAs, diFAs, ω - and α -HOFAs. Total FA concentrations vary between 803 and 6794 $\mu\text{g/g}$ TOC for grassland soils, between 1640 and 6636 $\mu\text{g/g}$ TOC for intermediate soils, and between 831 and 23346 $\mu\text{g/g}$ TOC in forest soils (see Table 1). Characteristic chromatograms of the acid extractable fractions from grassland and forest soils are shown in Fig. B.2.

***n*-alkylcarboxylic acids (nFAs)** The total abundance of nFAs ranges from 396 to 6318 $\mu\text{g/g}$ TOC/sample. It is the most abundant family of free FA in grassland and intermediate soils (53 to 68% of total sample extract). Fig. B.3 summarizes the distributions of nFAs from each group of vegetation cover studied. In all cases, nFAs range from *n*-C_{16:0} to *n*-C_{34:0} and display an even-over-odd predominance. In grassland samples (see Fig. B.3a; B.3b), nFAs show a monomodal distribution, with a maximum at *n*-C_{26:0}. In forest soils and sample S34 (intermediate vegetation; see Fig. B.3d), nFAs show a non modal distribution, with similar concentrations of *n*-C_{22:0}, *n*-C_{24:0}, *n*-C_{26:0} and *n*-C_{28:0} (see Fig. B.3e; B.3f).

***ω*-hydroxycarboxylic acids (ω HOFAs)**

ω HOFAs represent between 34 to 65% of the TLE for forest soils. In grassland and intermediate soils this compound family is less abundant than nFAs and represents up to 28% of the TLE. All samples present a homologous compound series ranging from C₁₂- ω HOFA to C₂₉- ω HOFA with an even-over-odd predominance. The distribution is monomodal in grassland soils and bimodal in intermediate and forest soils. High abundances of the C₂₂- ω HOFA and C₂₄- ω HOFA homologues are recorded in grassland and intermediate soils (Fig. B.4a; B.4d), with higher concentrations than the *n*-C_{22:0} and *n*-C_{24:0} nFAs, respectively. Forest soil samples (see Fig. B.4e; B.4f) exhibit an exceptionally high abundance of C₁₂, C₁₄ and C₁₆- ω HOFA. Intermediate soil sample S34 (see Fig. B.4d) shows the characteristics of both grassland and forest soils, the major compounds being C₂₂, C₂₄ and C₁₆- ω HOFA, respectively.

α -hydroxycarboxylic acids (α HOFAs)

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

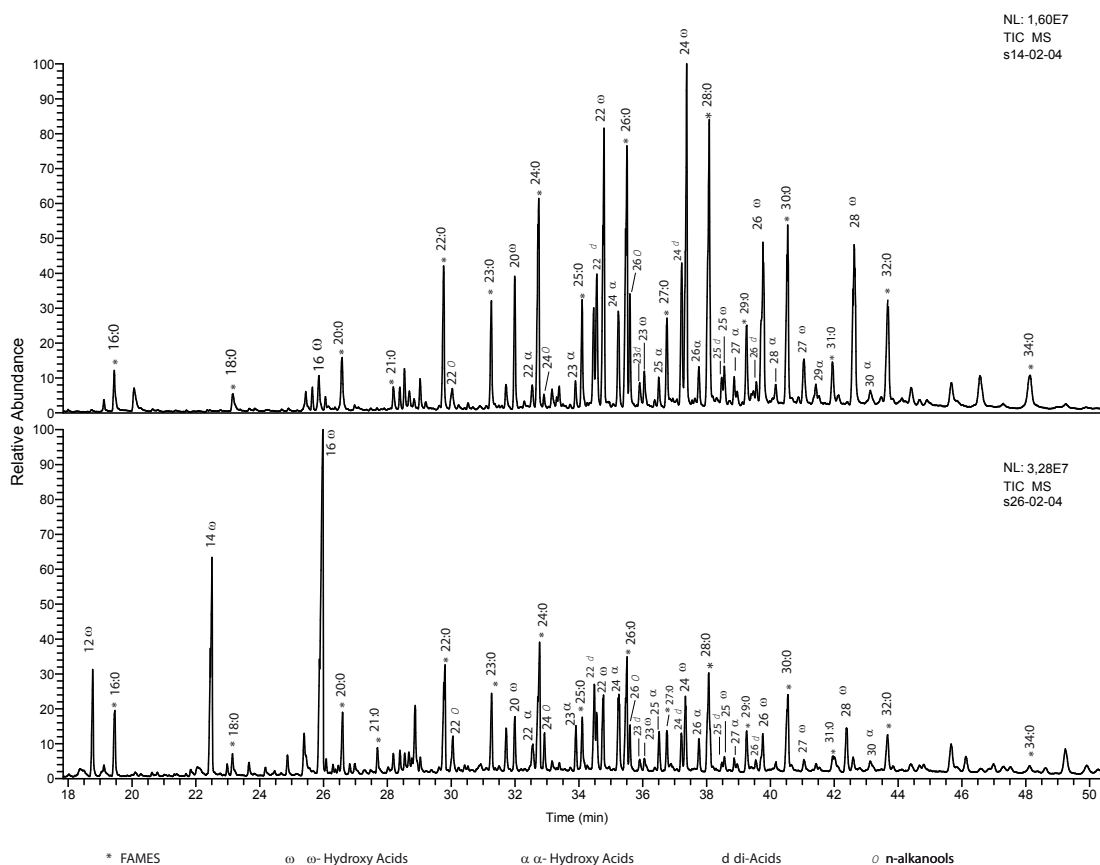


FIG. B.2 – Partial GC-MS chromatograms (TIC) of the methylated and silylated acid fractions of soil lipid extracts from Lake Aydat catchment. S14: grassland soil sample; S26: forest soil sample

α -Hydroxycarboxylic acids (α HOFA) represent between 8 and 22% of aliphatic acids in grassland soil TLE, between 11 and 23% in intermediate soils and between 5 and 12% in forest soils. Homologous series range from C₂₀ to C₃₀. In all samples, C₂₄- α HOFA is the dominant homologue, followed by notable and comparable levels of all homologues in C₂₂ to C₂₆, either even or odd (Fig. B.5).

Di-carboxylic acids (diFAs)

All samples display a homologous series of diFAs extending from C₂₀ to C₂₆ with a marked even-over-odd predominance. diFA distributions maximize at C₂₄, with high C₂₂-diFA proportions in grassland and intermediate soils (Fig. B.6a; B.6d). In forest soil samples, diFA distributions are dominated by C₂₂-diFA followed by C₂₄ and C₂₀-diFAs (see Fig. B.6e,f).

Other compounds

In the Aydat catchment area, traces of nC₂₂, nC₂₄ and nC₂₆ alkanols were observed

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

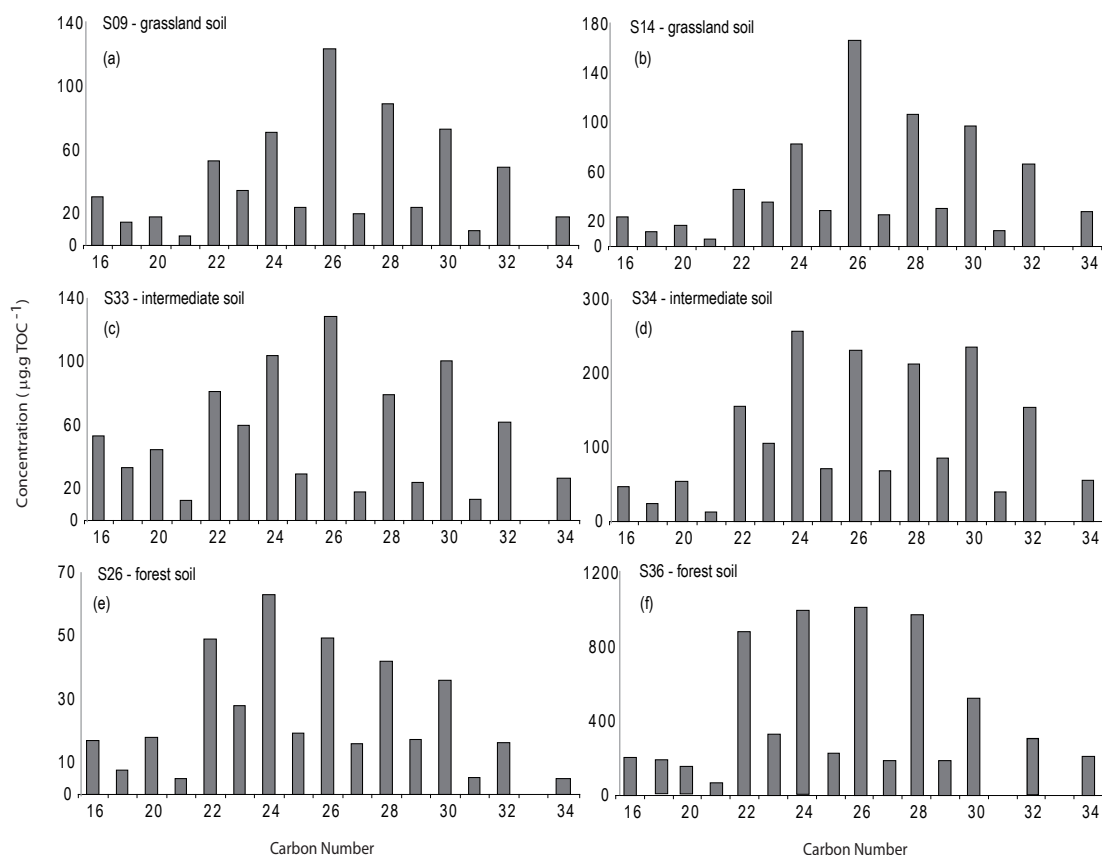


FIG. B.3 – Histograms showing the distributions of nFAs in lipid extracts of soil collected in Lake Aydat catchment. S09 and S14: grassland soils; S33 and S34: intermediate soils; S26 and S36: forest soils

in some soil samples regardless of the vegetation cover. These compounds represent a simple and modest contamination by dominant compounds of the neutral lipid fraction (this contamination was only approximately 0.04% of the TLE). Deoxycholic acid, a bile acid, was found at notable levels in all grassland soils but one (from a shrubby area), and in most of those from intermediate areas (Fig. B.8).

5 Discussion

The Lake Aydat catchment comprises rather shallow soils developed on recent volcanic rocks (i.e. younger than 70 000 years, one of the latest manifestations of this volcanic activity being the basaltic flow that dammed the Veyre river valley about 8600 years ago, giving birth to Lake Aydat). The area was most certainly covered by forest until intensive exploitation of the forest for the development of agriculture, from the middle of the first millennium (Michelin 1996).

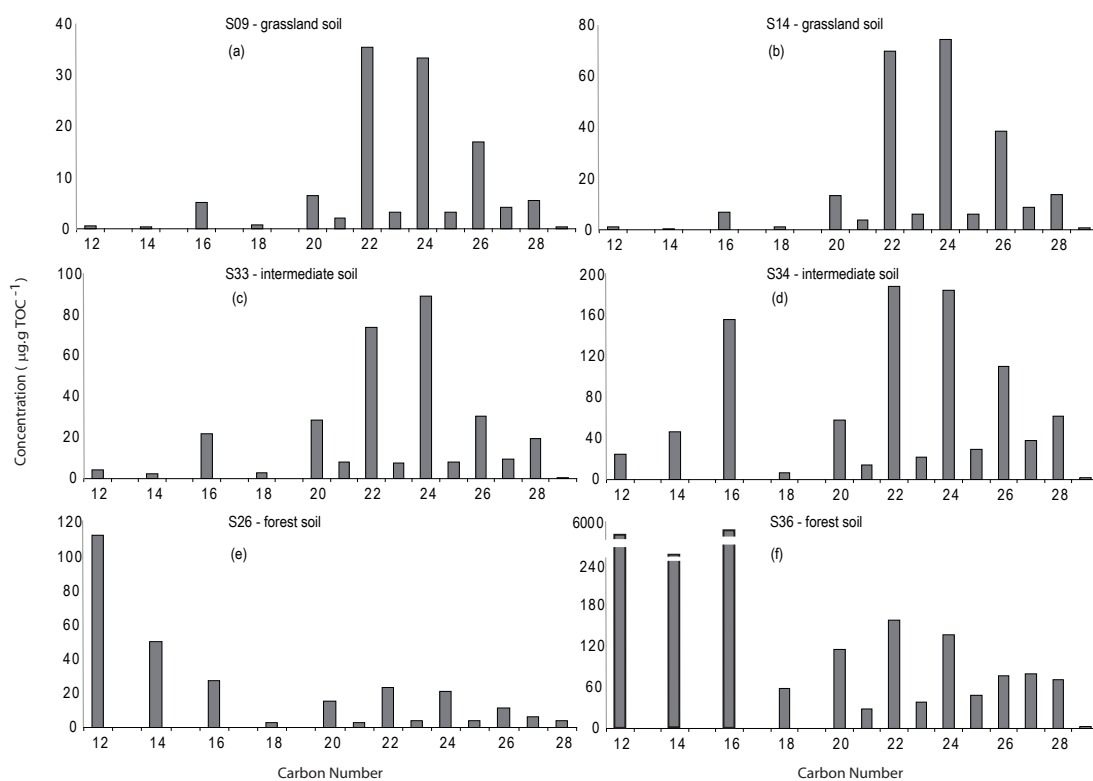


FIG. B.4 – Histograms showing the distributions of ω HOFAs in lipid extracts of soil collected in Lake Aydat catchment. S09 and S14: grassland soils; S33 and S34: intermediate soils; S26 and S36: forest soils

5.1 Abundance and preservation of SOM and FAs

With TOC contents that are always greater than 5% and that rise to 38.2 %, all the studied samples are rich in OM irrespective of their vegetation cover (grassland S12: 25.7 %; forest S26: 38.2 %; intermediate S33: 29.7% TOC; see Table B.1). This richness provides preliminary evidence for a rather long residence time of SOM and consequently for a good OM preservation. More direct indications are provided by the values of the RE HI and OI parameters. For example, samples S26 and S33, which are among the richest in OM, also present rather high HI and low OI values (namely in the 360-380 mgHC.gTOC⁻¹ and 160-250 mgCO₂.gTOC⁻¹ ranges; see Table B.1). Such HI and OI values that are commonly found in forest litter in temperate areas are typical for well-preserved type III OM (i.e., derived from lignocellulosic plants; Disnar et al. 2003). In contrast, sample S36, which also originates from a forest soil and which contains only 8% TOC, presents lower HI and higher OI values (i.e. 220 mgHC.gTOC⁻¹ and 378 mgCO₂.gTOC⁻¹, respectively; see Table B.1) that constitute clear indices of a rather intensive alteration. Despite this alteration, sample S36 has a high FA content that underlines a better preservation of these compounds than bulk SOM, in agreement with general knowledge on the greater resistance of lipids compared to other biochemical compounds to (bio-)degradation (namely proteins and polysaccharides; Tissot and Welte 1984).

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

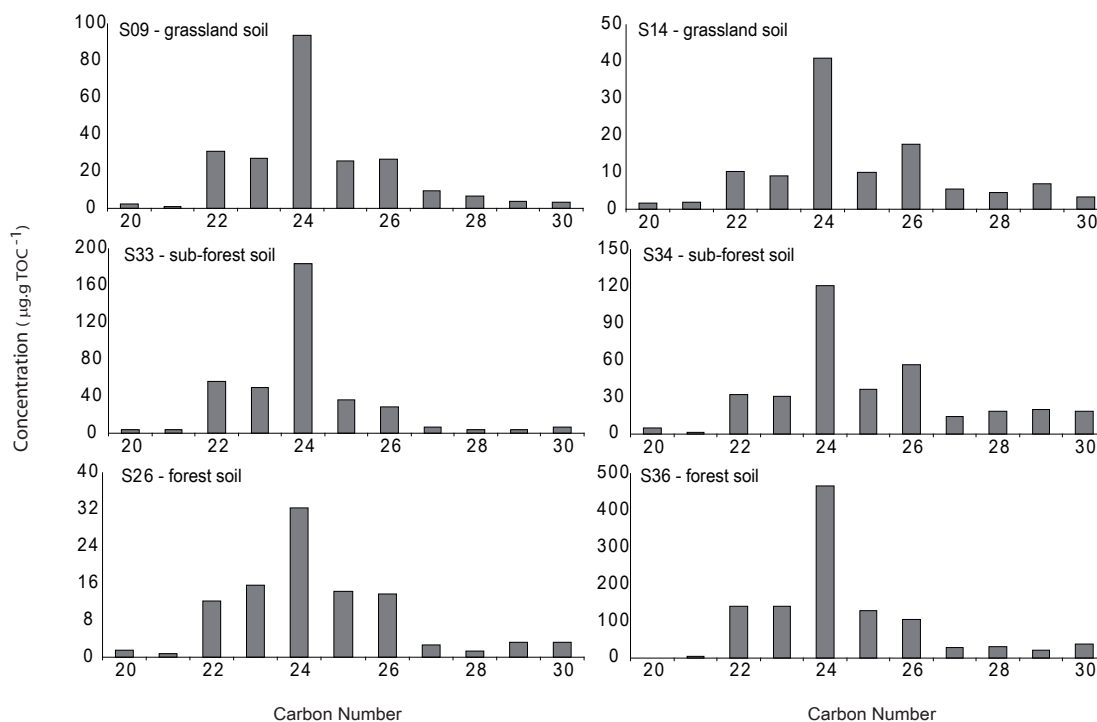


FIG. B.5 – Histograms showing the distributions of α HOFAs in lipid extracts of soil collected in Lake Aydat catchment. S09 and S14: grassland soils; S33 and S34: intermediate soils; S26 and S36: forest soils

At the molecular scale, the overall good FA preservation is first evidenced by high even-over-odd compound predominance in the four compound families examined (Zelles 1997; Jandl et al. 2005; Disnar et al. 2005). The low contents of odd C numbered FAs strongly suggest that there has been no significant contribution from products of the oxidative degradation of alkanols or *n*-alkanes, *via* methyl ketones (Amblès et al. 1993; Bull et al. 2000b). From a general point of view, soil lipids can indeed be affected by chemical processes such as hydrolysis and transesterification of lipid esters and further by oxidation and reduction. The latter processes are dependent on soil pH and moisture, but also on other environmental factors such as the clay content, the nature of the microbial biomass, and the vegetation types (van Bergen et al. 1997). In the present case, two of these factors might immediately be suspected of having played a notable role in the preservation of FAs, and more generally of SOM. The first one is acidity since, as has long been observed, the preservation of soil lipids is primarily favored by a low pH (Moucawi et al. 1981; Jambu et al. 1985, 1987; van Bergen et al. 1998), even if acidity favours the hydrolysis of biopolymers (Nierop et al. 2005) and might also favour the selective preservation of certain types of FAs, especially aliphatic compounds (Bull et al. 2000a; Nierop and Verstraten 2003). The second factor is the volcanic nature of the soil parent material, which might have given rise to abundant non-crystalline minerals thought to be capable of forming stable organo-mineral complexes that might favour physical protection of SOM (Torn et al. 1997). In fact, this hypothesis has been contradicted by recent work (Buurman et al. 2007) and thus

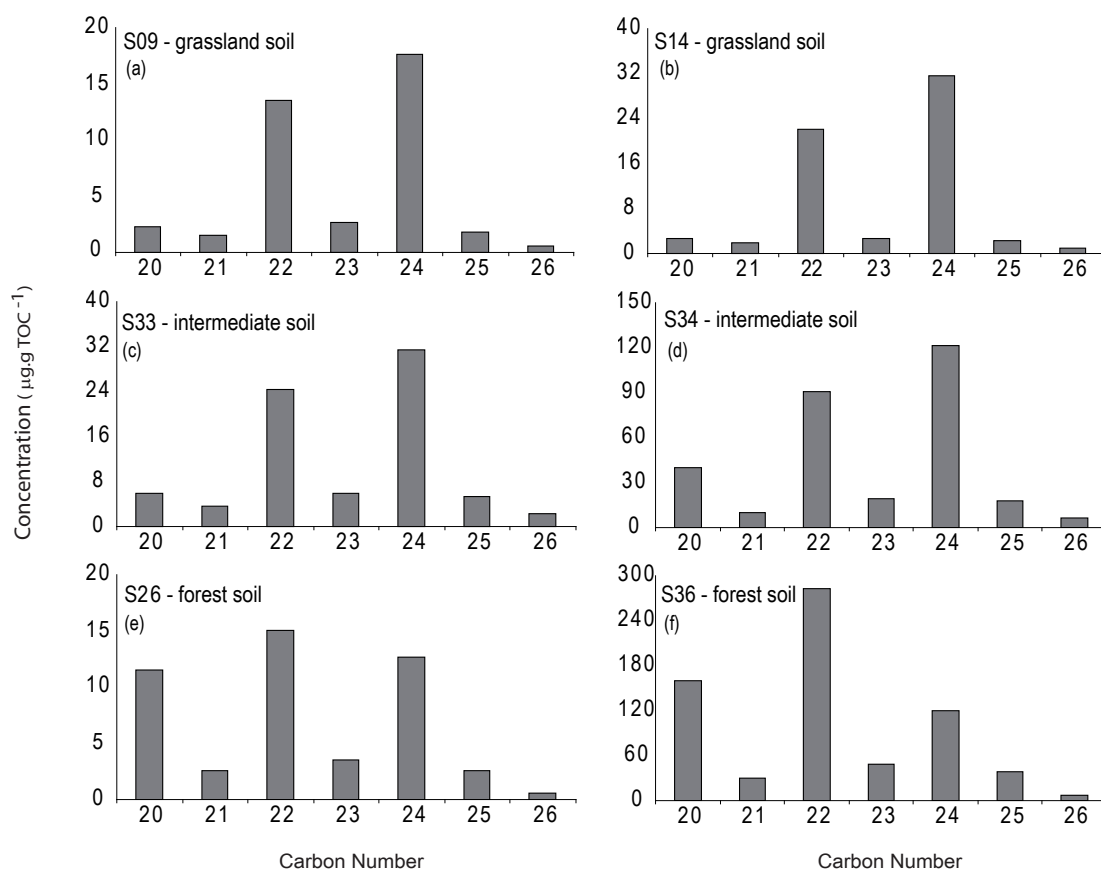


FIG. B.6 – Histograms showing the distributions of diFAs in lipid extracts of soil collected in Lake Aydat catchment. S09 and S14: grassland soils; S33 and S34: intermediate soils; S26 and S36: forest soils

remains to be confirmed. Nevertheless, the role played by minerals in OM preservation is a generally well admitted concept (e.g., Six et al. 2002).

5.2 Acid compounds as potential biomarkers

First, it is worth noting the low proportion of LMW nFAs C_{16:0} and C_{18:0}, and above all the absence of their unsaturated counterparts such as *n*-C_{18:1} and/or *n*-C_{18:2} (i.e., linoleic acid). The latter compounds are frequently detected at variable concentrations in plant lipids, for example in the TLE as well as in the hydrolysate of the residue of the grass *Holcus lanatus* (Bull et al. 2000b). In contrast, both these compounds and especially *n*-C_{18:2} were only present at very low levels in the soil where this grass grew, which is consistent with the high biodegradability of the LMW saturated and unsaturated FAs (Marseille et al. 1999).

With the exception of the LMW ω HOFAs that are particularly abundant in soil sample S36 (cf. section 5.1; see Fig. B.4), all Aydat catchment soils display similar or at least

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

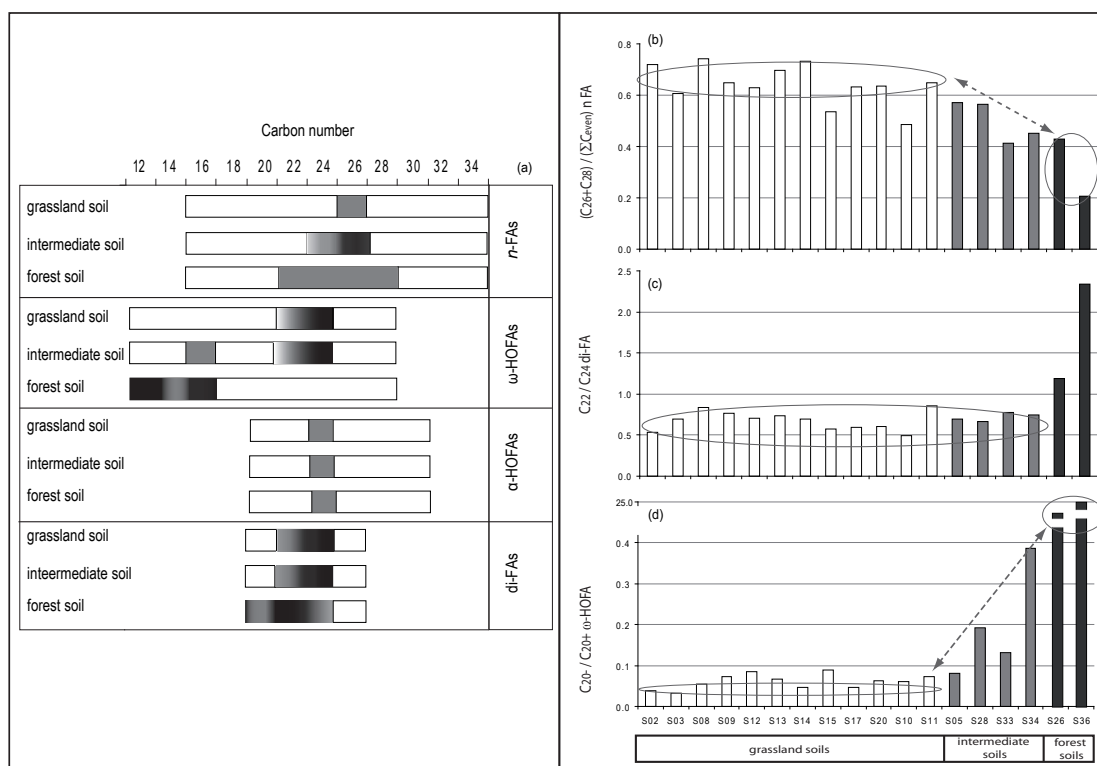


FIG. B.7 – Summary of the most informative parameters yielded by the analysis of free lipids extracted from soils developed in the catchment of Lake Aydat. (a) Distribution of nFAs, ω HOFAs, α HOFAs and diFAs homologues according to the type of soil. Darker greys indicate the predominance of distinct homologues (b) Distribution of selected parameters [$(C_{26:0} + C_{28:0}) / \sum C_{\text{even}}$ nFAs, (c) C_{22} / C_{24} diFAs, and (d) C_{20-} / C_{20+} ω -HOFAs] depending on soil type

comparable FA distributions, whatever their plant cover or the compound family considered (see Figs B.3-6).

Among all the compound families examined, nFAs display the widest distribution of homologues, at least from n - $C_{16:0}$ to n - $C_{34:0}$ (see Fig. B.3). This family of compounds is usually divided into LMW and HMW compounds [i.e. n - C_{20-} and n - C_{20+} (including n - C_{20})], which is consistent with the reputed origin of these two sub-groups: the cellular membrane for the former and epicuticular waxes for the latter (Tissot and Welte 1984). In contrast to the former that are ubiquitous and rather easily biodegraded as a result of their biological location and of their rather low molecular weight (e.g., Marseille et al. 1999), the latter are quite resistant and are thus frequently used as plant source indicators in sediment studies. However, in such a case they are generally considered as markers of higher plants without any further detail (Tissot and Welte 1984; Baudin et al. 2010), disregarding the fact that compound distributions are also known to vary depending on the species studied (e.g., Rieley et al. 1991), but also on the age of the plant (Martins et al. 1999; Lecomte 2009), and many abiotic factors (Shepherd and Griffiths 2006).

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

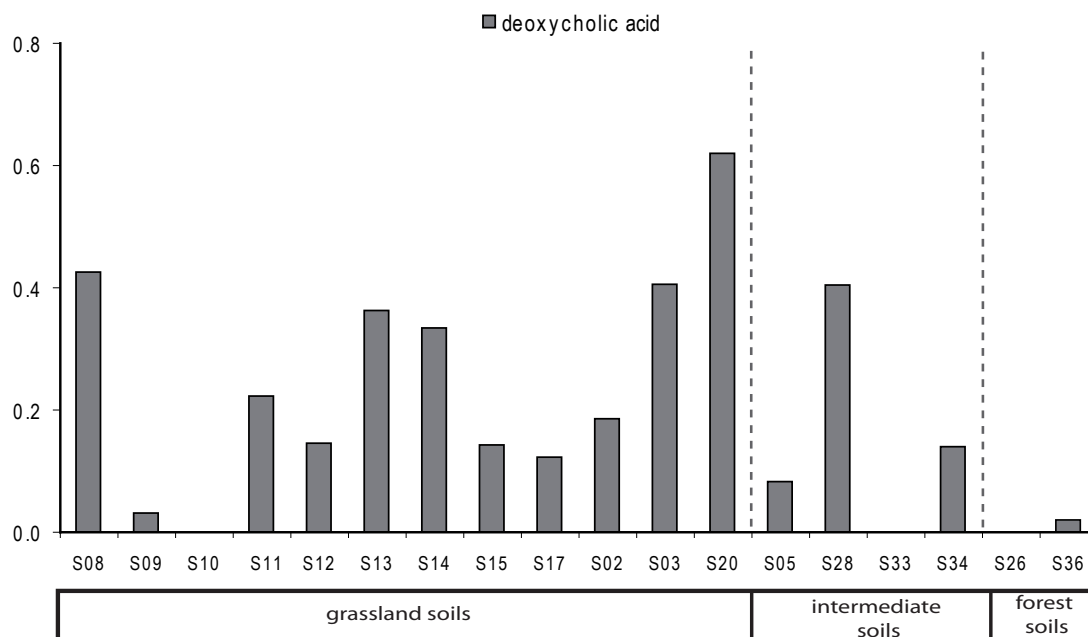


FIG. B.8 – Concentrations in deoxycholic acid in grassland, intermediate and forest soil samples from Lake Aydat catchment

Among the various other FA families evidenced in the studied samples ω HOFAs are frequently present at high concentration levels, i.e. almost identical to those of nFAs (see Fig. B.2). As is particularly well exemplified by the altered forest sample S36 (cf. previous section), this compound family presents a bimodal distribution similar to that of nFAs, with a first mode in the LMW range (i.e., at C₁₆) and a second mode in the HMW range, at C₂₂ (see Fig. B.4). Based on early studies (Eglinton and Hunneman 1968; Holloway 1982), authors usually assume that ω HOFAs are cutin and/or suberin derivatives, whether they found them in sediment samples (e.g., Huang et al. 1996; Wakeham 1999; Stefanova and Disnar 2000) or soils (van Bergen et al. 1998; Naafs et al. 2004; Bull et al. 2000b). In fact, the "long chain" [as designated by Eglinton and Hunneman (1968)] HOFAs constitutive of cutin are almost exclusively C₁₆ and/or C₁₈ mono, di and trihydroxy FAs (Espelie and Kolattukudy 1979; Holloway 1982; Goni and Hedges 1990; Järvinen 2010). Here, such LMW ω HOFAs are present in all samples but especially in soils developed under forest. The absence of the C₁₈ HOFA is also consistent with the distribution of ω HOFAs of two spruce species, including *P. abies*, the dominant tree species in the study area (Priügel and Lognay 1996). This source assignment does not hold for the HMW ω HOFAs (C₂₀₊). However, in contrast to cutin, which comprises only LMW FAs (\leq C₁₈), suberin contains notable proportions of heavier terms. For example, Matzke and Riederer (1991) compared the chemical constitution of cutin and suberin from the leaves and the periderm (bark) of three major tree species (*Picea abies* L., *Quercus robur* L. and *Fagus sylvatica* L.), and found that the suberin-rich periderm from stems and branches of the three species (plus roots of *Picea*) yielded notable proportions of C₂₀ ω HOFAs (up to *n*-C_{24:0} for *Picea* and to *n*-C_{26:0} for *Fagus* and *Quercus*). These results strongly suggest that the HMW ω HOFAs

(C₂₀₊) in Aydat soils probably originate from the suberin of twigs, branches and/or roots of trees and/or grasses.

Among the various families examined, diFAs present the smallest number of homologues (namely, even C numbered diFA in C₂₀ to C₂₆; Fig. B.6 and Fig. B.7c). An even smaller distribution of diFAs (i.e., C₂₂diFA + C₂₄diFA only) was found in the grass *Holcus lanatus* and the underlying soil by Bull et al. (2000b). Among the plant samples analysed by Bull et al. (2000b) the almost exclusive presence of diFAs in the hydrolysates of roots and lipid extract of aerial parts of grasses substantiate their contribution to plant constitutive polymers, and especially to the suberin of roots. In addition, the absence of such compounds in non hydrolysed plant samples and their presence in the soil provides clear evidence that the original polymers only start to undergo degradation (i.e., hydrolysis) once they have been incorporated in soils. According to Amblès et al. (1994) diFAs may well be formed by oxidation of ω HOFAs. However, the similarity in chain length of the dominant components in both families would here cause little alteration in component distribution. Suberin is probably also the source for the α HOFAs (see Fig. B.6; Matzke and Riederer 1991). In addition to the case of trees that has been well documented (see refs here above), C₁₆ to C₂₄- α HOFAs have also been found in the roots and leaves of the herbaceous angiosperm *Arabidopsis thaliana* (Franke et al. 2005). As schematized in Fig. B.5, all the samples, whether they were taken in grassland or forest, show a similar distribution of α HOFAs with notable amounts of even-carbon-numbered components in the C₂₂-C₂₆ range, and a maximum at C₂₄.

5.3 Grassland vs. forest differentiation

The greatest differentiation between grassland and forest is provided by the ω HOFAs and especially by the abundance of the LMW terms (Fig. B.7), even in the absence of extensive alteration such as that suffered by sample S36. In forest soils, the importance of the annual needle litterfall (notwithstanding the contribution of rather resistant suberin-rich branches and roots) could explain the dominance of LMW ω HOFAs (i.e. C₁₂ to C₁₆- ω HOFAs; see Fig. B.4). In contrast, in grassland and intermediate area soils, the abundance of HMW ω HOFAs (i.e. C₂₄- ω HOFAs and C₂₂- ω HOFAs; see Fig. B.7a) might underline a significant contribution of grass root suberin to SOM. In the latter case, most of the cutin-rich aerial plant production is either harvested (to make hay) or grazed by cattle. Although the residual matter can return to the soil after a transit through the cattle gut, either directly or thanks to manuring practices, the contribution of cutin from aerial parts of grasses to SOM might be minor when compared to suberin from roots. This distinction between cutin and suberin and their biomarkers is probably the most marked in an area such as that of Lake Aydat where forest litters that are prone to mobilisation by running waters are rich in leaves and/or needles-and consequently in cutin-whereas, in contrast, the suberin from plant roots of grasslands probably contributes predominantly to SOM formation, most of the cutin-rich aerial plant production being either grazed or harvested.

The major differences between grasslands and forests have been tentatively rationalised by the following ratios: $(n\text{-C}_{26:0} + n\text{-C}_{28:0}) / \sum \text{Ceven nFAs}$, C₂₂/C₂₄ di-FAs, and C₂₀₋/C₂₀₊ ω -HOFAs (see Fig. B.7). For all of these ratios, a gradient between these two vegetation types emphasizes the characteristics of the intermediate area, sometimes near to grasslands,

sometimes to forests. n -C_{26:0}, which constitutes the mode of nFA distributions in grassland soils, is also accompanied by n -C_{24:0} in intermediate soils. In contrast, spruce forest soils do not display clear modal distributions, the even-C-numbered nFA homologues being all present at similar levels in the n -C_{22:0}- n -C_{28:0} range. Accordingly, the $(n\text{-C}_{26:0}+n\text{-C}_{28:0})/\sum\text{nFA}$ ratio values decrease from an average of 0.65 in grassland soils ($n = 12$; see Fig. B.7b) to 0.50 in intermediate soils ($n = 4$) and down to 0.32 in forest soils ($n = 2$). Grasslands and intermediate soils present higher concentrations of C₂₄diFA followed by C₂₂diFA, while forest soils have higher concentrations of C₂₂diFA followed by C₂₀diFA and C₂₄diFA homologues. This allows us to propose the C₂₂/C₂₄ diFA ratio as a simple tool to differentiate grassland and intermediate soils from those of forest, in the Aydat catchment. The dominant ω HOFA homologues are C₁₂, C₁₄ and C₁₆ in forest soils, and C₂₄ and C₂₂ in grassland soils (see Fig. B.7a). In intermediate area soils, the relatively high abundance of C₁₆- ω HOFA, C₂₂- ω HOFA and C₂₄- ω HOFA, expressed as the C₂₀-/C₂₀+ ω HOFA ratio (see Fig. B.7d), denotes their mixed grassland/forest influence.

5.4 FA signatures and land use change

Carbon accumulation in soils depends on many factors, both anthropogenic and environmental (Kasel and Bennett 2007 and references therein). The Aydat catchment has been used by humans for forest exploitation and agriculture, at least since the fifth century (Michelin 1996). A large part of the areas now mainly covered by grasslands or even forests was extensively used for agriculture beyond the 2nd World War. A general problem in the consequences of land-use appraisal is that the landscape is not used at random but with a preferential selection of soil types or positions best adapted for particular uses (e.g. Powers and Veldkamp 2005). Nowadays, in the Aydat catchment, the areas of greatest slope are no longer used as pasture and are covered by forest or by shrubby meadows (see Table B.1 and Fig. B.1). Here, the areas designated as "intermediate" were used as grasslands until the end of the 1940's and are presently abandoned (namely S05, S28, S33 and S34; IGN 1946). Changes in vegetation cover affect soil properties, with consequential modifications on the OM content and molecular composition, which have retroactive impacts on the plant cover, e.g. plant communities developed after the afforestation of abandoned lands differ from ancient forests depending on the related modification of the soil properties (Glatzel 1991; Compton and Boone 2000; Heim et al. 2010). This behaviour has been shown to control vegetation diversity in forests (Foster 1992; Hermy 1994; Koerner et al. 1997) even 300 years after afforestation, and it has even been suggested that this situation could persist indefinitely (Dupouey et al. 2002). As already stressed in the previous section, even though the relevant criteria are not really outstanding, plant-derived organic acids permit some distinction of soils based on their respective uses (see Fig. B.7). In contrast, deoxycholic acid, the major bile acid excreted in the faeces of bovines clearly identifies grasslands used as pastures and/or for manure spreading at present and in the recent past in the Aydat catchment (see Fig. B.8). This compound was found in notable/rather high levels in almost all grassland soils and intermediate areas except two of the latter, probably more or less abandoned, as denoted by a rather dense shrub cover (see Fig. B.8). The persistence of relatively high levels of deoxycholic acid in areas that have been abandoned for 5 to 6 decades is fully consistent with the previous statement that this biomarker might even be

preserved over thousands of years in soils and sediments (Bull et al. 2002, 2003).

In addition to land-use, the slope of the soil could also play an important role in the accumulation of carbon and acid compounds. However, at Aydat, no significant correlation could be deduced from the comparison of slopes (see Fig. B.1 and Table B.1) with TOC values (all $P > 0.05$, $R = 0.26$) or slopes with soil FA contents ($P > 0.05$, $R = 0.19$).

5.5 Recording of acid compounds from the catchment area in the lake sediments

Lake Aydat is eutrophic, with seasonally abundant algal production (diatoms and cyanobacteria). Consequently, the amount of OM produced in the lake water body is certainly much more abundant than that provided by the catchment, thus strongly diluting the latter. A previous study on Aydat lacustrine sediments investigated the major free and bound lipid compounds recently deposited in the center of the lake (Stefanova and Disnar 2000). Among the compounds discussed here above only HMW nFAs (i.e. C_{20+}) were ascribed to higher plants of the watershed. FA distributions of all the other families examined were highly dominated by LMW terms (i.e., C_{20-}). Beginning with the highly dominant nFAs in $n-C_{16:0}$ and $n-C_{18:0}$, all these LMW compounds were attributed either to autochthonous lacustrine production or to microorganisms. In soil samples, only $n-C_{16:0}$ was found and in much lower proportions than HMW nFAs. This is consistent with the already stressed high biodegradability of these light ends (Marseille et al. 1999). In the sediment, diFAs ranging between C_{16} and C_{22} and maximizing at C_{16} were interpreted as originating from diatoms. A microbial source was also considered for the LMW α HOFAs (C_{20-}) that were found in notable proportions in the sediment, not in the free fraction but under the bound form. This origin was also confirmed by the presence of iso and anteiso forms of these components. Without going into further detail, this brief comparison between FA soil and sediment markers clearly demonstrates that despite favorable factors such as high contents of SOM in a generally good state of preservation, a rather wet mountainous climate and relatively steep slopes, few terrestrial plant markers are transported by runoff waters and finally accumulate in the sediments.

6 Conclusions

As depicted by high TOC contents and relatively high and low HI and OI RE index values, respectively, Lake Aydat catchment soils that are presently covered by either grassland or forest (spruce dominant), are all rich in well preserved OM, despite a high biological activity. Their free FA content is globally dominated by various HMW (C_{20+}) compounds: nFAs, diFAs, α HOFAs and ω HOFAs. However, none of these compound families is specific of grasses or trees and consequently all can consistently and without further distinction be used as indicators of terrestrial OM, as most authors usually do. Nevertheless, the forest soils are particularly rich in LMW ω HOFAs probably inherited from the cutin of needles and/or leaves. The abundance of these compounds, which increases with OM alteration - most probably as a result of hydrolysis of cutin esters-, also denotes their relative stability with regard to that of the bulk OM. As generally admitted, HMW nFAs are most

probably derived from plant leaf and needle cuticular waxes, and all the other oxygenated HMW compounds (HOFAs and diFAs) very likely from the suberin of roots and/or twigs and branches. Differences in the abundance of these various compounds between grasslands and forests soils allowed us to make some discrimination that can be rationalized by the following molecular ratios: $(C_{26:0}+C_{28:0})/\sum C_{even}$ nFAs, C_{22}/C_{24} di-FAs, and $C_{20-}/C_{20+\omega}$ -HOFAs. Consistently, soils from areas that have changed use rather recently display values of these ratios that are intermediate between those of grasslands and forests. At Aydat, where agriculture is almost completely devoted to cattle breeding, all the grassland soils contain notable amounts of the bile acid deoxycholic acid. The preservation of this acid compound in soils that have changed use (e.g., from grassland to forest) witnesses their past use as pastures much more clearly than FAs of all kinds. Despite the abundance of various HMW FAs, saturated nFAs are the only ones that have been previously found in sediments taken at the center of the lake (Stefanova and Disnar 2000). The exclusive presence of these compounds strongly suggests that: (i) there is only a very small delivery of FAs from the catchment soils to the reservoir and consequently that (ii) these nFAs were most probably introduced directly by leaves and/or needles brought to the lake by the wind or runoff waters.

Acknowledgments

This work received financial support from the ERODE (EC2CO, Centre National de la Recherche Scientifique/Institut National des Sciences de l'Univers) and OTARIE (Région Centre) projects. M. L. also acknowledges the région Centre for attribution of PhD grant. E. Rowley-Jolivet is greatly thanked for corrections to the English.

References

- Almendros G, Sanz J, Velasco F (1996) Signatures of lipid assemblages in soils under continental Mediterranean forests. *Eur J of Soil Sci* 47:183-196
- Ambles A, Jambu P, Parlanti E, Joffre J, Riffe C (1994) Incorporation of natural monoacids from plant residues into a hydromorphic forest podzol. *Eur J of Soil Sci* 45:175-182
- Amelung W, Brodowski S, Sandahge-Hofmann A, Bol R (2008) Combining biomarker with stable isotope analyses for assessing the transformation and turnover of soil organic matter. In: Sparks DL (ed) *Advances in agronomy*, vol 100. Academic Press, Burlington
- Baudin F, Disnar J R, Martinez P, Dennielou B (2010) Distribution of the organic matter in the channel-levees systems of the Congo mud-rich deep-sea fan (West Africa). Implication for deep offshore petroleum source rocks and global carbon cycle. *Mar and Pet Geol* 27:995-1010
- van Bergen PF, Bull ID, Poulton PR, Evershed, R P (1997) Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments: I total lipid extracts, solvent insoluble residues and humic acids from broadbalk wilderness. *Org Geochem* 26:117-135
- van Bergen PF, Nott CJ, Bull ID, Poulton PR, Evershed RP (1998) Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments. IV. Preliminary results from a

- study of the effect of soil pH on organic matter decay. *Org Geochem* 29:1779-1795
- Bull ID, van Bergen PF, Nott CJ, Poulton PR, Evershed RP (2000a) Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments. V. The fate of lipids in different long-term experiments. *Org Geochem* 31:389-408
- Bull ID, Nott CJ, van Bergen PF, Poulton PR, Evershed RP (2000b). Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted classical experiments. VI. The occurrence and source of organic acids in an experimental grassland soil. *Soil Biol and Biochem* 32:1367-1376
- Bull ID, Betancourt PP, Evershed RP (2002) An organic geochemical investigation of the practice of manuring at a Minoan site on Pseira Island, Crete. *Geoarchaeology* 16:223-242
- Bull ID, Elhmmali MM, Roberts DJ, Evershed RP (2003) Using steroidal biomarkers to track the abandonment of a Roman wastewater course at the Agora (Athens, Greece). *Archaeometry* 45:149-161
- Buurman P, Schellekens J, Fritze H, Nierop KGJ (2007) Selective depletion of organic matter in mottled podzol horizons. *Soil Biol Biochem* 39:607-621
- Compton JE, Boone RD (2000) Long-term impacts of agriculture on soil carbon pools and nitrogen dynamics in New England forests. *Ecology* 81:2314-2330
- Cranwell PA (1974) Monocarboxylic acids in lake sediments: indicators derived from terrestrial and aquatic biota of paleoenvironmental trophic levels. *Chem Geology* 14:1-14
- Cranwell PA (1977) Organic geochemistry of Cam Loch (Sutherland) sediments. *Chem Geology* 20:205-221
- Cranwell PA (1978) Extractable and bound lipid components in a freshwater sediment. *Geochim et Cosmochim Acta* 42:1523-1532
- Cranwell PA (1981) Diagenesis of free and bound lipids in terrestrial detritus deposited in a lacustrine sediment. *Org Geochem* 3:79-89
- Dinel H, Monreal CM, Schnitzer M (1998) Extractable lipids and organic matter status in two soil catenas as influenced by tillage. *Geoderma* 86:279-293
- Disnar JR, Guillet B, Kéravis D, Di-Giovanni C, Sebag D (2003) Soil organic matter (SOM) characterization by Rock-Eval pyrolysis: scope and limitations. *Org Geochem* 34:327-343
- Disnar JR, Stefanova M, Bourdon S, Laggoun-Défarge F (2005) Sequential fatty acid analysis of a peat core covering the last twomillennia (Tritrivakely lake, Madagascar): diagenesis appraisal and consequences for palaeoenvironmental reconstruction. *Org Geochem* 36:1391-1404
- Dupouey JL, Dambrine E, Laffite JD, Moares C (2002) Irreversible impact of past land use on forest soils and biodiversity. *Ecology* 83:2978-2984
- Eglinton G, Hunneman DH (1968) Gas chromatographic-mass spectrometric studies of long chain hydroxy acids-I: The constituent cutin acids of apple cuticle. *Phytochem* 7:313-322
- EMBRAPA (1997) Manual de métodos de análise de solo. 2 ed. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro
- Espelie KE, Kolattukudy PE (1979) Composition of the aliphatic components of 'suberin' from the bundle sheaths of *Zea mays* leaves. *Plant Science Letters* 15:225-230
- Espitalié J, Derro G, Marquis F (1985) La pyrolyse Rock-Eval et ses applications. *Revue de*

l'IFP 40:563-579

- Feng X, Xu Y, Jaffé R, Schlesinger WH, Simpson M J (2010) Turnover rates of hydrolysable aliphatic lipids in Duke Forest soils determined by compound specific ^{13}C isotopic analysis. *Org Geochem* 41:573-579
- Ficken KJ, Li B, Swain DL, Eglinton G (2000) An n-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating aquatic macrophytes. *Org Geochem* 31:745-749
- Fisher E, Oldfield F, Wake R, Boyle J, Appleby P, Wolff G (2003) Molecular marker records of land use change. *Org Geochem* 34:105-119
- Foster DR (1992) Land-use history (1730-1990) and vegetation dynamics in central New England, USA. *J of Ecol* 80:753-772
- Franke R, Briesen I, Wojciechowski T, Faust A, Yephremov A, Nawrath C, Schreiber L (2005) Apoplastic polyesters in Arabidopsis surface tissues - a typical suberin and a particular cutin. *Phytochem* 66:2643-2658
- Glatzel G (1991) The impact of historic land-use and modern forestry on nutrient relations of Central European forest ecosystems. *Fertilizer Research* 27:1-8
- Gleixner G, Czimczik C J, Kramer C, Lühker B, Schmidt MWI (2001) Plant compounds and their turnover and stabilization as soil organic matter. *Global Biogeochemical Cycles in the Climate System*, pp 201-215
- Goñi MA, Hedges JI (1990) The diagenetic behavior of cutin acids in buried conifer needles and sediments from a coastal marine environment. *Geochim et Cosmochim Acta* 54:3083-3093
- Heim A, Hofmann A, Schmidt M (2010) Forest-derived lignin biomarkers in an Australian oxisol decrease substantially after 90 years of pasture. *Org geochem* 41:1219-1224
- Hermly M (1994) Effects of former land use on plant species diversity and pattern in European deciduous woodlands. In: Boyle TJB, Boyle CEB (eds) *Biodiversity, temperate ecosystems, and global change*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp 123-144
- Ho ES, Meyers PA (1994) Variability of early diagenesis in lake sediments. Evidence for the sedimentary geolipid record in an isolated tarn. *Chem Geol* 112: 309-324
- Holloway PJ (1982) The chemical constitution of plant cutins. In: Cutler DF, Alvin K, Price CE (eds) *The Plant Cuticle*. Linnean Society Symposium Series No 10. Academic Press, London, pp 45-85
- Huang Y, Lockheart MY, Logan GA, Eglinton G (1996) Isotope and molecular evidence for the diverse origins of carboxylic acids in leaf fossils and sediments from Miocene lake Clarkia deposit Idaho USA. *Org Geochem* 24:289-299
- Institut Géographique National. Aerial pictures of 1946. <http://www.ign.fr/>. Accessed 10 July 2010
- Jacob J, Disnar JR, Boussafir M, Ledru M-P, Albuquerque ALS, Sifeddine A, Turcq B (2005) Pentacyclic triterpene methyl ethers in recent lacustrine sediments (Lagoa do Caçó, Brazil). *Org Geochem* 36: 449-461
- Jacob J, Huang Y, Disnar JR, Sifeddine A, Boussafir M, Albuquerque ALS, Turcq B (2007) Paleohydrological changes during the last deglaciation in Northern Brazil. *Quat Sci Rev* 26:1004-1015
- Jandl G, Leinweber P, Schulten R, Ekschmitt K (2005) Contribution of primary organic matter

- to the fatty acid pool in agricultural soils. *Soil Biol Biochem* 37:1033-1041
- Jambu P, Mouçawi J, Fustec E, Amblès A, Jacquesy R (1985) Interrelation entre pH et la nature des composés lipidiques du sol: étude comparée d'une rendzine et d'un sol lessivé glossique. *Agrochimica* 29:186-198
- Jambu P, Bilong P, Amblès A, Ntsikoussalabongui B, Fustec E (1987) Influence d'apports minéraux sur l'évolution des lipides naturels des sols acides. *Sci du sol* 25:161-172
- Järvinen R (2010) Cuticular and suberin polymers of edible plants. Analysis by gas chromatographic-mass spectrometric and solid state spectroscopic methods. Dissertation, Turku University
- Kasel S, Bennett L (2007) Land-use history, forest conversion, and soil organic carbon in pine plantations and native forests of south eastern Australia. *Geoderma* 137:401-413
- Koerner W, Dupouey JL, Dambrine E, Benoit M (1997) Influence of past land use on the vegetation and soils of present day forest in the Vosges mountains, France. *J Ecol* 85:351-358
- Kusch S, Rethemeyer J, Schefuß E, Mollenhauer G (2010) Controls on the age of vascular plant biomarkers in Black Sea sediments. *Geochim et Cosmochim Acta* 74:7031-7047
- Lafargue E, Marquis F, Pillot D (1998) Rock-Eval 6 applications in hydrocarbon exploration, production, and soil contamination studies. *Revue de l'IFP* 53:421-437
- Lecomte J (2009) Les cires végétales : sources et applications. *OCL* 16:4, 262-266. doi: 10.1684/ocl.2009.0273
- Margesin R, Schinner F (2005) *Manual of Soil Analysis. Monitoring and Assessing Soils Bioremediation*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany
- Lichtfouse E, Elbisser B, Balesdent J, Mariotti A, Bardoux G (1994) Isotope and molecular evidence for direct input of maize leaf wax n-alkanes into crop soil. *Org Geochem* 22:349-351
- Marseille F, Disnar JR, Guillet B, Noack Y (1999) n-Alkanes and free fatty acids in humus and A1 horizons of soils under beech, spruce and grass in the Massif Central (Mont-Lozère) France. *Eur J of Soil Sci* 50:433-441
- Martins CMC, Mesquita SMM, Vaz WLC (1999) Cuticular Waxes of the Holm (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) and Cork (*Q. suber* L.) Oaks. *Phytochem Anal* 10:1-5
- Matzke K, Riederer M (1991) A comparative study into the chemical constitution of cutins and suberins from *Picea abies* (L.) Karst., *Quercus robur* L. and *Fagus sylvatica* L. *Planta* 185:233-245
- Meyers PA, Ishiwatari R (1993) Lacustrine organic geochemistry - An overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Org Geochem* 20:867-900
- Michelin Y (1996) *Les jardins de Vulcain : Paysages d'hier, d'aujourd'hui et de demain, dans la chaîne des Puys du Massif central français*. Maison des Sciences de l'Homme, Paris
- Mouçawi J, Fustec E, Jambu P (1981) Decomposition of lipids in soils: free and esterified fatty acids, alcohols and ketones. *Soil Biol Biochem* 13:461-468
- Naafs DFW, van Bergen PF, Boogert SJ, de Leeuw JW (2004) Solvent-extractable lipids in an acid andic forest soil; variations with depth and season. *Soil Biol Biochem* 36:297-308
- Verstraten JM (2003) Occurrence and distribution of ester-bound lipids in Dutch coastal dune soils along a pH gradient. *Org Geochem* 34:719-729
- Nierop KGJ, Verstraten JM (2003) Organic matter formation in sandy subsurface horizons of

- Dutch coastal dunes in relation to soil acidification. *Org Geochem* 34:499-513
- Nierop KGJ, Naafs DFW, van Bergen PF (2005) Origin, occurrence and fate of extractable lipids in Dutch coastal dune soils along a pH gradient. *Org Geochem* 36:555-566
- Otto A, Simpson MJ (2006) Sources and composition of hydrolysable aliphatic lipids and phenols in soils from western Canada. *Org Geochem* 37:385-407
- Powers JS, Veldkamp E (2005) Regional variation in soil carbon and $\delta^{13}\text{C}$ in forests and pastures of northeastern Costa Rica. *Biogeochem* 72:315-336
- Prartono T, Wolff GA (1998) Organic geochemistry of lacustrine sediments: evidence for the changing trophic status of the lake, Rostherne Mere, UK. *Org Geochem* 28:729-747
- Priigelt B, Lognay G (1996) Composition of the Cuticular Waxes of *Picea abies* and *P. sitchensis*. *Phytochem Anal* 7:29-36
- Quenea K, Largeau C, Derenne S, Spaccini R, Bardoux G, Mariotti A (2006) Molecular and isotopic study of lipids in particle size fractions of a sandy cultivated soil (Cestas cultivation sequence, southwest France): Sources, degradation, and comparison with Cestas forest soil. *Org Geochem* 37:20-44
- Rieley G, Collier RJ, Jones DM, Eglinton G (1991) The biogeochemistry of Ellesmere Lake, UK-I source correlation of leaf wax inputs to the sedimentary lipid record. *Org Geochem* 17:901-912
- Ruess L, Chamberlain PM (2010) The fat that matters: Soil food web analysis using fatty acids and their carbon stable isotope signature. *Soil Biol Biochem* 42:1898-1910
- Shepherd T, Griffiths DW (2006) The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist* 171: 469-499
- Six J, Conant RT, Paustian PEA (2002) Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant Soil* 241:155-176
- Stefanova M, Disnar JR (2000) Composition and early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments, lake Aydat (France). *Org Geochem* 31:41-55
- Tissot BP, Welte DH (1984) *Petroleum Formation and Occurrence*, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, 700 p
- Torn MS, Trumbore SE, Chadwick OA, Vitousek PM, Hendricks DM (1997) Mineral control of soil organic carbon storage and turnover. *Nature* 389:170-173
- Wakeham SG (1999) Monocarboxylic, dicarboxylic and hydroxy acids released by sequential treatments of suspended particles and sediments of the Black Sea. *Org Geochem* 30:1059-1074
- Wiesenberg GLB, Schwark L (2006) Carboxylic acid distribution patterns of temperate C3 and C4 crops. *Org Geochem* 37:1973-1982
- Wiesenberg GLB, Schwarzbauer J, Schmidt MWI, Schwark L (2004) Source and turnover of organic matter in agricultural soils derived from n-alkane/n-carboxylic acid compositions and C-isotope signatures. *Org Geochem* 35:1371-1393
- Wiesenberg GLB, Schwarzbauer J, Schmidt MWI, Schwark L (2008) Plant and soil lipid modification under elevated atmospheric CO₂ conditions: II. Stable carbon isotopic values ($\delta^{13}\text{C}$) and turnover. *Org Geochem* 39:103-117

Annexe B : Acides gras libres dans les sols du bassin-versant du Lac d'Aydat (Massif Central Français) : sources, distributions et potentialités en tant que biomarqueurs sédimentaires

- Wiesenberg GLB, Dorodnikov M, Kuzyakov Y (2010) Source determination of lipids in bulk soil and soil density fractions after four years of wheat cropping. *Geoderma* 156:267-277
- Zelles L (1997) Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere* 35, 275-294

Annexe C

Les TTHCs, des marqueurs organiques de l'impact des activités humaines ? Acquis et interrogations.

Oral présenté durant le 13^e Congrès Français de Sédimentologie (Congrès de l'ASF), 14-16 novembre 2011, Dijon.

Les TTHCs des marqueurs organiques de l'impact des activités humaines ? Acquis et interrogations.

Jean-Robert Disnar^a, Maya Stefanova^b, Marlène Lavrieux^{a,c}, Jérémy Jacob^a,
Jean-Gabriel Bréheret^c, Fabien Arnaud^d, Jean-Louis Reyss^e

^a Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université d'Orléans, CNRS/INSU UMR 6113, Université François-Rabelais de Tours. 1A rue de la Férellerie, 45071 Orléans Cedex 2, France.

^b Institute of Organic Chemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Laboratory of Fuel Chemistry, Acad. G. Bonchev str., bl. 9, 1113 Sofia, Bulgarie.

^c Institut des Sciences de la Terre d'Orléans, Université François-Rabelais de Tours, CNRS/INSU UMR 6113, Université d'Orléans. Laboratoire de Géologie, Faculté des Sciences et Techniques, Parc Grandmont, 37200 Tours, France.

^d UMR CNRS 5204 "Environnement Dynamique et Territoires de Montagne" ; Bât. Belle-donne, Université de Savoie - Technolac 73370 Le Bourget du Lac, France.

^e LSCE, UMR 1572 ; LSCE-Vallée ; Bât. 12 ; av. de la Terrasse ; 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

Vers la fin des années 1990, une étude de sédiments récents prélevés au centre du lac d'Aydat avait révélé une composition de la matière organique dominée par des apports issus de la production autochtone de cyanobactéries et de diatomées. Un fond relativement constant d'apports terrestres s'y signalait aussi par de faibles teneurs de lignine, avec des apports ponctuels de matériel végétal plus fragile (cellulose/hémicelluloses), vraisemblablement amené lors d'événements exceptionnels (crues...). Dans un contexte *a priori* conforme au statut eutrophe du lac, une forte augmentation du rapport acide/aldéhyde vanillique Vac/Vad s'interprétant *a priori* par une oxydation accentuée de débris de résineux, demeurerait difficile à expliquer. Indépendamment, les distributions des hydrocarbures aromatiques montraient la présence quasi exclusive de tétrahydrochrysènes (TTHCs), avec des variations d'abondance parallèles à celles du rapport Vac/Vad. Les TTHCs sont des composés polycycliques, aromatiques (donc très résistants), qui dérivent de la dégradation partielle, de triterpènes végétaux ubiquistes, les α et β -amyrines. Leur présence au sein de sédiments pouvait donc être supposée liée à celle d'apports pédologiques (Jacob et al., 2008). Dans cette hypothèse, à Aydat, les signaux indépendants portés par la lignine et les TTHCs apparaissaient vraisemblablement liés à des perturbations de l'environnement local induites par des travaux du Remembrement (élimination de haies, modification du cours de la rivière Veyre qui alimente le lac...). Selon ce schéma, cette perturbation aurait débuté vers 1965 pour culminer vers 1976, année aussi marquée par une sécheresse et une crue exceptionnelles.

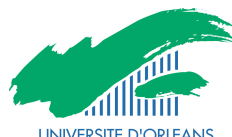
Annexe C : Les TTHCs, des marqueurs organiques de l'impact des activités humaines ?
Acquis et interrogations.

L'ensemble de ces éléments a récemment été vérifié et précisé à la faveur de recherches sur les sols du bassin versant du lac d'Aydat et sur ses sédiments. Ces travaux ont notamment permis de confirmer les dates précédemment évoquées, de préciser la quasi absence des TTHCs dans les sédiments antérieurs à la période invoquée, mais aussi dans les sols. Ce dernier point amène donc à envisager que ces composés se forment plus vraisemblablement dans les sédiments, à partir d'amyrines intactes ou très modérément dégradées (amyrénones ?). Les interrogations qui subsistent sur les TTHCs soulèvent plus largement les questions essentielles qui se posent sur la nature et les modalités du transfert des biomarqueurs moléculaires d'un bassin versant au piège lacustre, voire *in fine* sur leur signification géochimique même.

Jacob J., Disnar J.R., Arnaud F., Gauthier E., Billaud Y., Chapron E., Bardoux G., 2008. Impacts of new agricultural practices on soil erosion during the Bronze Age in the French Prealps. *The Holocene* 19, 241-249.



Marlène LAVRIEUX
Biomarqueurs moléculaires
d'occupation des sols, du sol au
sédiment : exemple du
bassin-versant et du lac d'Aydat
(Puy-de-Dôme)



Résumé : Cette étude propose une analyse intégrée de biomarqueurs moléculaires de sols, depuis leur site de production jusqu'à leur archivage sédimentaire lacustre. Un inventaire des lipides neutres est d'abord réalisé sur des sols d'usages contrastés : prairies/pâtures et forêts. Globalement, cette approche permet de distinguer (1) des composés linéaires ubiquistes, et (2) des composés (poly-)cycliques, généralement spécifiques. Parmi ces derniers figurent les acétates de triterpényle et les méthoxyserratènes, respectivement biomarqueurs d'Astéracées et de Pinacées. La persistance de l'empreinte moléculaire d'un ancien usage des sols est aussi démontrée. Ensuite, l'analyse multi-proxy d'une carotte sédimentaire couvrant les 6700 dernières années révèle l'impact prépondérant des activités humaines sur le fonctionnement hydrologique du lac, depuis l'époque gallo-romaine. Les assemblages moléculaires précédemment définis dans les sols sont globalement retrouvés, associés à un nouveau biomarqueur spécifique du chanvre, d'intérêt paléoenvironnemental. Une tentative de reconstitution des anciennes occupations des sols apparaît conforme aux données historiques et paléoenvironnementales antérieures.

Mots clés : sol, sédiment lacustre, biomarqueurs moléculaires, occupation des sols, anthropisation, Massif Central, prairies/pâtures, forêts de conifères

Abstract : This study proposes an integrated analysis of molecular biomarkers of landuse, from their genesis in soils to their archiving in the lacustrine sediment. An inventory of neutral lipids is realized on soils of two contrasted landuses: grassland/pasture and forest. This approach globally allows to distinguish (1) ubiquist linear compounds and (2) (poly-)cyclic compounds, generally specific. Among these ones, triterpenyl acetates and methoxyserratenes are detected and are respectively biomarkers of Asteraceae and Pinaceae. The persistence of a molecular imprint of an ancient landuse is also demonstrated. Then, the multi-proxy analysis of a sedimentary core, covering the last 6700 years, shows the prominent impact of human activities on the hydrologic functioning of the lake since the gallo-roman period. Molecular assemblages previously defined in soils are globally detected in sediments, associated with a new specific biomarker of hemp, of palaeoenvironmental interest. Hypotheses for the reconstitution of past landuses appear to be consistent with previous historical and palaeoenvironmental data.

Keywords: soil, lacustrine sediment, molecular biomarkers, landuse, anthropication, French Massif Central, grasslands/pastures, conifer forests