



**HAL**  
open science

# Isotopes du calcium et paléanthropologie du Paléolithique moyen

Pierre-Jean Dodat

► **To cite this version:**

Pierre-Jean Dodat. Isotopes du calcium et paléanthropologie du Paléolithique moyen. Anthropologie biologique. Ecole normale supérieure de lyon - ENS LYON, 2023. Français. NNT : 2023ENSL0007 . tel-04310132v2

**HAL Id: tel-04310132**

**<https://hal.science/tel-04310132v2>**

Submitted on 2 Jan 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Numéro National de Thèse : 2023ENSL0007

## THESE

en vue de l'obtention du grade de Docteur, délivré par

L'École Normale Supérieure de Lyon

Ecole Doctorale N° 341

Évolution Écosystèmes Microbiologie Modélisation (E2M2)

**Discipline** : Sciences de la Terre

Soutenue publiquement le 23/02/2023, par :

**Pierre-Jean DODAT**

---

# Isotopes du calcium et paléanthropologie du Paléolithique moyen

---

Devant le jury composé de :

SNOECK Christophe	Professeur associé	Vrije Universiteit Brussel	Rapporteur
SORESSI Marie	Professeur	Leiden University	Rapporteuse
DAUJEARD Camille	Chargée de recherche	Muséum National d'Histoire Naturelle	Examinatrice
JAOUEN Klervia	Chargée de recherche	Géoscience Environnement Toulouse	Examinatrice
BALTER Vincent	Directeur de recherche	ENS de Lyon	Directeur de thèse
MAUREILLE Bruno	Directeur de recherche	Université de Bordeaux	Co-directeur de thèse



# Table des matières

Table des matières .....	I
Introduction .....	1
<b>Chapitre 1 : De l'anthropologie à la géochimie : une brève introduction .....</b>	<b>2</b>
A. Les questions de l'anthropologie .....	2
B. Les réponses de la géochimie .....	3
a. Quelques généralités sur la géochimie isotopique .....	3
b. Les outils isotopiques traditionnels .....	4
c. Les nouveaux outils isotopiques non-traditionnels de la bioarchéologie .....	9
C. La physiologie et l'isotopie du calcium .....	10
a. Quelques généralités sur le calcium et ses isotopes stables .....	10
b. Le fractionnement isotopique du calcium d'origine biologique et son utilisation en anthropologie .....	11
<b>Chapitre 2 : Le Paléolithique Moyen ; subsistance aux temps des néandertaliens .....</b>	<b>13</b>
A. Contexte anthropologique et chronologique de l'étude .....	13
a. Origine et évolution des néandertaliens .....	13
b. Contexte chronologique et environnemental .....	16
c. Remplacement et disparition de l'Homme de Néandertal .....	18
B. Un régime alimentaire varié .....	19
a. Les données de l'archéozoologie .....	19
b. Les données des usures dentaires .....	20
c. Les données isotopiques .....	21
d. Les données physiologiques .....	24
e. Les données archéobotaniques .....	25
C. Homme moderne/ Homme de Néandertal, à la recherche des différences .....	28
a. Les espèces animales consommées .....	29
b. Les stratégies de subsistance .....	33
D. Conclusion sur le régime alimentaire des néandertaliens .....	33
<b>Chapitre 3 : Problématiques et plan de la thèse .....</b>	<b>35</b>
Matériels et méthodes .....	37
<b>Chapitre 1 : Cadre anthropologique, environnemental et archéologique .....</b>	<b>38</b>
A. Présentation des sites .....	38
a. Jaurens (Corrèze) .....	38
b. Le Moustier (Dordogne) .....	39
c. Camiac (Gironde) .....	41
d. La grotte du Bison (Yonne) .....	42
e. Les Pradelles (Charente) .....	45
f. Regourdou (Dordogne) .....	47
g. Sirogne (Lot) .....	49
h. Tourville-la-Rivière (Seine-Maritime) .....	50
B. Matériel anthropologique étudié .....	51
C. Matériel faunique étudié .....	52
<b>Chapitre 2 : Description des différents tissus analysés .....</b>	<b>54</b>
A. Prélèvement et préparation des échantillons .....	54
a. Contraintes analytiques liées au matériel archéologique .....	54
b. Méthode de prélèvement .....	55



c.	Impact de la diagenèse sur les tissus minéralisés.....	58
B.	Résolution spatiale, temporelle et justesse des analyses des tissus minéralisés.....	67
a.	Les différents tissus minéralisés.....	67
b.	Variations intra-individuelles de la composition isotopique du calcium des tissus minéralisés.....	70
<b>Chapitre 3 : Principe général d'analyses isotopiques et élémentaires.....</b>		<b>73</b>
A.	Séparation et purification des échantillons.....	73
a.	Pré-traitement et digestion des échantillons.....	73
b.	Extraction et purification du calcium dans les différents tissus analysés.....	74
B.	Mesure des concentrations et des isotopes du calcium.....	76
a.	Mesures des concentrations des éléments majeurs et traces.....	76
b.	Mesure des rapports isotopiques du calcium.....	78
C.	Qualité des mesures isotopiques.....	79
a.	Reproductibilité des mesures isotopiques.....	79
b.	Justesse des mesures isotopiques.....	82
c.	Standard de référence et compilation des données de la littérature.....	84
<b>Sources de calcium environnemental.....</b>		<b>87</b>
<b>Chapitre 1 : Distribution des isotopes du calcium au sein des différentes sources</b>		
<b>environnementales.....</b>		<b>88</b>
A.	Le calcium d'origine animale.....	88
a.	Le muscle.....	90
b.	Os et moelle osseuse.....	91
c.	Dents.....	93
d.	Le lait et impact de la lactation, un bref rappel.....	97
e.	Mise à jour du schéma bilan.....	98
B.	Le calcium d'origine végétale.....	99
a.	État actuel des connaissances.....	100
b.	Les espèces végétales à organes de stockage souterrains.....	101
c.	Le cas des fruits.....	103
d.	Analyse multivariée, répartition chimique au sein des végétaux.....	104
e.	Conclusion sur les végétaux.....	106
f.	Le calcium de l'eau de boisson et son influence sur la végétation.....	107
<b>Chapitre 2 : Répartition des différentes sources de calcium de l'environnement : Bilan.....</b>		<b>109</b>
A.	Conclusion générale.....	109
B.	Application à un écosystème fossile sud-africain.....	110
<b>Reconstitution des stratégies de subsistance des populations néandertaliennes</b>		
<b>de France, entre le MIS 7 et le MIS 3.....</b>		<b>113</b>
<b>Chapitre 1 : Étude comparative des différents sites étudiés.....</b>		<b>114</b>
A.	Comparaisons inter-sites.....	114
B.	Pertinence du principe d'actualisme pour l'utilisation des végétaux.....	118
C.	Facteurs de variabilité chez les herbivores.....	119
D.	Remarques sur les principaux groupes analysés.....	123
a.	Les ursidés.....	124
b.	Les équidés.....	126
a.	Rhinocéros et mammoth.....	127
b.	Les cervidés.....	129
c.	Les bovidés.....	129
d.	Les carnivores.....	130
E.	Conclusion sur les principaux groupes analysés.....	131
<b>Chapitre 2 : La place de Néandertal dans son écosystème.....</b>		<b>133</b>
A.	Le Moustier.....	133
B.	Regourdou 1.....	136

a.	Introduction .....	136
b.	Article " <i>Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil</i> " .....	136
C.	Regourdou et la Grotte du Bison .....	149
a.	Introduction .....	149
b.	Article " <i>Diverse bone calcium isotope compositions in Neandertals suggest different dietary customs</i> " .....	149
c.	Diversité inter-individuelle à Regourdou .....	172
D.	Les Pradelles .....	174
a.	Individus LP09 D6 2a-4 415, LP06 D12 2a 1434 et LP10 D13 2a 232 .....	175
b.	Individu M67 c10 G12 3 .....	176
c.	Individu LP06 C6 5-4b 273.....	176
d.	Estimation de l'alimentation des néandertaliens des Pradelles.....	177
E.	Tourville-la-Rivière .....	179
	<b>Chapitre 3 : Conclusion sur l'évolution des stratégies alimentaires des néandertaliens au cours du Paléolithique moyen .....</b>	<b>182</b>
	<b>Conclusions et perspectives.....</b>	<b>185</b>
	<b>Annexes.....</b>	<b>189</b>
	<b>Annexe A.....</b>	<b>189</b>
	<b>Annexe B.....</b>	<b>197</b>
	Suppléments à l'article : <i>Limits of calcium isotopes diagenesis in fossil bone and enamel</i> .....	197
	<b>Annexe C.....</b>	<b>201</b>
	Suppléments à l'article : <i>Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil</i> .....	201
	<b>Annexe D.....</b>	<b>216</b>
	Suppléments à l'article : <i>Neandertal diverse bone calcium isotopes compositions suggest different dietary behaviours.</i> .....	216
	<b>Références.....</b>	<b>231</b>



# Remerciements

Je tiens ici à remercier vivement l'ensemble des personnes qui ont participé directement ou indirectement à l'aboutissement de ce travail de thèse.

Avant tout je tiens à remercier ceux grâce à qui ce travail a été possible, Vincent Balter et Bruno Maureille. Cette aventure a commencé il y a déjà 5 ans et malgré quelques difficultés vous avez su soutenir ce projet et le faire évoluer pour aboutir à cette thèse. Merci Vincent d'avoir dirigé cette thèse, merci surtout de la liberté que tu m'as offerte dans la réalisation de celle-ci et pour tout ce que tu m'as appris. Bruno merci pour ta disponibilité et ce malgré la distance. Surtout merci d'avoir cru et soutenu ce projet depuis le début.

Je tiens à grandement remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail. D'abord merci à Christophe Snoeck et Marie Soressi pour avoir évalué ce manuscrit de thèse. Je remercie vivement Camille Deaujard qui a suivi l'ensemble de ma thèse, d'abord au travers des comités de suivi de thèse et enfin en tant qu'examinatrice, ses nombreuses remarques et conseils ainsi que son œil extérieur ont su accompagner le développement scientifique de cette thèse. Enfin je remercie Klervia Jaouen d'abord pour avoir été examinatrice de cette thèse et ensuite pour nos nombreuses collaborations en cours et à venir je l'espère.

Je pense que cette thèse n'aurait jamais eu lieu si Théo et Manue ne m'avaient pas si magnifiquement ouvert aux joies et plaisirs de la géochimie. Grâce à vous mon acclimatation à la géochimie mais aussi dans ce labo s'est déroulée du mieux possible et pour ça je ne vous remercierai jamais assez.

Merci à l'ensemble des membres de mon comité de thèse : Yvan Moëgne-Loccoz, Antoine Zazzo, Estelle Herrscher et Camille Deaujeard pour avoir suivi et accompagné la progression de cette thèse.

Cette thèse a surtout été une histoire d'échantillons et pour les avoir il a fallu parcourir la France mais il a surtout fallu le soutien de nombreuses personnes et institutions que je voudrais remercier ici pour leur confiance. D'abord merci au Musée National de la Préhistoire et Priscilla Bayle qui ont été les premiers à nous apporter leur soutien, merci à Stéphane Madeleine et Caroline Masset pour leur accueil et leur aide dans les prélèvements. Je remercie aussi le Musée d'Aquitaine, le musée de site du Regourdou et le musée de Pergieux pour leur accueil et l'accès aux collections. Je remercie aussi Emmanuel Robert pour son accueil dans les collections de Lyon. Je remercie l'ensemble des SRA des régions Nouvelle Aquitaine, Occitanie et Franche-Comté ainsi que la

DRAC de Basse Normandie pour les autorisations de prélèvements. Je remercie enfin l'ensemble des équipes qui m'ont accueilli ou apporté leur soutien : Maurice Hardy et toute l'équipe de la Grotte du bison, Emmanuelle Discamps pour son accueil à Toulouse, Dominique Cliquet pour son accueil et sa disponibilité, Michel Lenoir pour son soutien dans le prélèvement de Camiac. J'adresse un grand merci à Cédric Beauval pour le temps passé sur le matériel de la Grotte du Bison ainsi que ses conseils.

Je remercie l'ensemble de l'équipe DIET-Scratches pour les collaborations et l'accès aux nombreux échantillons, je remercie notamment Antoine Souron pour les échantillons de suidés et Camille Grohé pour sa collaboration sur les carnivores de l'Omo.

J'adresse un grand remerciement à Jeremy Martin pour les collaborations riches ainsi que les conseils toujours avisés.

Je remercie le CNRS ainsi que la région Nouvelle Aquitaine pour le soutien financier qu'ils ont apporté à cette thèse.

Je remercie également toutes les personnes du laboratoire avec qui j'ai pu échanger au cours de ces 3 ans : Florent, Philippe, Eléonore, Clémentine, Marie-Jeanne, Hervé, Gilles D., Gilles M., Bruno, Guillemette, Janne, Francis, Stéphane et Mathieu.

Si ma thèse s'est aussi bien passée c'est aussi grâce à Marie-Jeanne, la thèse devient tout de suite beaucoup plus agréable lorsque les méandres administratifs sont gérés d'une main de maître. Je remercie aussi l'équipe des gestionnaires de PACEA qui ont grandement facilité mes nombreuses missions malgré des deadlines rarement respectées.

Pour qu'une thèse se passe bien il faut savoir prendre le temps de se reposer et pour ça rien de mieux qu'une bière et des copains et ça j'ai su en trouver quelques-uns au cours de cette thèse. D'abord merci à Sam le meilleur co-bureau et co-beaucoup d'autres choses grâce à qui supporter la thèse et Vincent fut beaucoup plus simple. Même si la bière n'était pas toujours très bonne, l'équipe des brasseurs était toujours au rendez-vous pour passer de bons moments, ☆Team Bierrasse ☆. Merci Jean et Chloé d'être vous. Bien sûr il n'y a pas qu'eux, merci à toutes les superbes personnes que j'ai rencontrées et avec qui j'ai passé de supers moments : Quentin, Mélie, Momo, Thibault, Ségolène, Arnaud, Maude, Auguste, Marianne, Marine, Robin, Fanny, ...

Mille mercis à celle que j'ai rencontrée en début de thèse et qui m'accompagne depuis, Delphine. Merci pour ta joie de vivre et ton énergie solaire qui reconforte en toutes circonstances, merci aussi pour les nombreuses relectures de la thèse et tout ce que tu m'apportes.

Quoi de mieux que des doctorants qui vivent la même galère pour se remonter le moral, merci

à tous ceux qui sont passés par là ou qui y sont encore: Marwane, Alexandra, Valentine, Valentin, Laetitia, Asma, Enguerrand, Line, Thibaut, Anaïs, Nathalie, Danaé.

Merci à la nouvelle team thé, Aline et Salomé, dont la bonne humeur n'a d'égale que la quantité de commérages débitée en 1 h.

Merci Eve pour avoir broyé à la main une centaine d'échantillons, t'avoir en stage a été un vrai plaisir et j'espère que tu continueras sur ta lancée.

Merci aussi aux amis que j'ai peu vus pendant ces trois ans mais qui répondent toujours présent quand l'occasion se présente : Martin, Alexandre, Tania, Mathilde, Thomas, Manon et Quentin C.

Enfin j'adresse les derniers remerciements de cette thèse à ma famille car même si je ne suis pas sûr qu'ils aient compris la différence entre un isotope et un ZZ top ils ont toujours été là. Merci d'abord à mes parents qui m'ont offert la liberté de devenir qui je suis. Merci à ma mère pour son soutien de tous les jours pour les très très nombreuses relectures. Merci à mon père pour avoir toujours été là, pour le temps passé à parcourir les champs pluvieux à la recherche des meilleurs échantillons et encore pour avoir été le fournisseur officiel de sanglier, il a su être apprécié à sa juste valeur que ce soit en tant qu'échantillon, repas de Noël ou encore pâté. Merci à mes sœurs toujours incapables de chanter sous le vent sans fausses notes mais dont la bonne humeur et la joie permettent d'oublier tous les soucis.

Je suis conscient que cette liste ne peut pas rendre justice à tous ceux qui ont contribué à ma thèse, mais je tiens à exprimer ma gratitude à toutes celles et ceux qui ont apporté leur aide de quelque manière que ce soit.



# Partie I

## Introduction

---

### Sommaire

Chapitre 1 : De l'anthropologie à la géochimie : une brève introduction .....	2
<b>A. Les questions de l'anthropologie .....</b>	<b>2</b>
<b>B. Les réponses de la géochimie.....</b>	<b>3</b>
a. Quelques généralités sur la géochimie isotopique .....	3
b. Les outils isotopiques traditionnels.....	4
c. Les nouveaux outils isotopiques non-traditionnels de la bioarchéologie.....	9
<b>C. La physiologie et l'isotopie du calcium.....</b>	<b>10</b>
a. Quelques généralités sur le calcium et ses isotopes stables .....	10
b. Le fractionnement isotopique du calcium d'origine biologique et son utilisation en anthropologie.....	11
Chapitre 2 : Le Paléolithique Moyen ; subsistance aux temps des néandertaliens .....	13
<b>A. Contexte anthropologique et chronologique de l'étude .....</b>	<b>13</b>
a. Origine et évolution des néandertaliens .....	13
b. Contexte chronologique et environnemental.....	16
c. Remplacement et disparition de l'Homme de Néandertal.....	18
<b>B. Un régime alimentaire varié .....</b>	<b>19</b>
a. Les données de l'archéozoologie .....	19
b. Les données des usures dentaires .....	20
c. Les données isotopiques .....	21
d. Les données physiologiques .....	24
e. Les données archéobotaniques .....	25
<b>C. Homme moderne/ Homme de Néandertal, à la recherche des différences .....</b>	<b>28</b>
a. Les espèces animales consommées .....	29
b. Les stratégies de subsistance.....	33
<b>D. Conclusion sur le régime alimentaire des néandertaliens.....</b>	<b>33</b>
Chapitre 3 : Problématiques et plan de la thèse .....	35



## Chapitre 1 : De l'anthropologie à la géochimie : une brève introduction

### A. Les questions de l'anthropologie

En Europe, la période comprise entre 350 000 et 45/42 000 ans avant le présent (BP) est dite du Paléolithique moyen, elle est l'objet d'un intérêt toujours croissant de la part des archéologues et anthropologues. Cette période voit l'émergence, l'apogée et la disparition de celui qui est aujourd'hui considéré à bien des égards comme notre parent le plus proche, l'Homme de Néandertal.

L'Homme de Néandertal, qui sera étudié lors de cette thèse et dont l'histoire de la découverte accompagne la naissance de l'anthropologie biologique, rassemble à lui seul une grande partie des difficultés et des questions auxquelles est confrontée l'anthropologie.

En 1856, suite à la découverte de seize ossements dans une grotte lors de la création d'une carrière de la vallée de Neander en Allemagne, scientifiques et non-scientifiques débattent de l'origine et de l'attribution de ces restes à la parenté de l'Homme moderne. La première question à laquelle ont dû répondre ces précurseurs est celle de l'ancienneté des différents vestiges. A Neander, l'époque de la découverte et l'absence de tout contexte archéologique rendent difficile toute interprétation. Mais la multiplication des découvertes en Europe va peu à peu amener à la reconnaissance d'une humanité antérieure à celle des humains du Paléolithique récent et participer ainsi au développement de la paléoanthropologie. Les questions de datation alimentent encore aujourd'hui bien des débats lors de nouvelles découvertes (pour un exemple récent voir Hawks et Berger, 2016). Les associations fauniques et stratigraphiques ont fait les premiers temps de l'archéologie, le développement de méthodes géochimiques apporte aujourd'hui un soutien majeur à ces problématiques.

Rapidement, la question de la chronologie va être rejointe par celles de la parenté entre les taxons fossiles et les Humains modernes. Si les premières études et reconstitutions donnent une image déformée de l'Homme de Néandertal (Boule, 1909) elle n'en pose pas moins les bases de la reconstitution des hominines anciens. De nombreuses études paléoanthropologiques vont par la suite s'attacher à comparer les ossements néandertaliens et ceux des Hommes modernes sans qu'un véritable consensus quant au statut phylogénétique de l'Homme de Néandertal n'émerge. C'est avec le développement des méthodes de séquençage génétique de haut débit qu'un début de réponse,

basées sur le décryptage de l'ADN peut être apporté (Green *et al.*, 2006).

Mais la paléoanthropologie ne se limite pas à l'étude des ossements ou dents des humains fossiles. Leurs industries, habitudes, pratiques funéraires et mobilités sont autant de points qui nous permettent d'appréhender leurs modes de vie et donc leur organisation sociale. L'union de l'archéologie et de la paléoanthropologie permet d'établir une véritable biographie de ces taxons. D'abord tournée principalement vers les études ostéologiques et ostéobiographiques la paléoanthropologie va connaître dans les années soixante-dix un bouleversement avec l'arrivée de la *New Archeology* (ou archéologie processuelle). L'intérêt porté au quotidien et aux modes de subsistance des sociétés anciennes va être bouleversé par ces nouvelles approches. On va ainsi voir émerger de nouvelles approches méthodologiques telles que l'analyse isotopique (DeNiro et Epstein, 1981) avec pour but d'obtenir des informations métaboliques nouvelles, différentes de celles apportées par la seule ostéologie.

Depuis le développement des méthodes géochimiques, celles-ci se sont essentiellement concentrées sur trois domaines : les datations absolues, l'étude de la mobilité des groupes humains et l'étude de leur alimentation. La géochimie représente aujourd'hui des pans entiers de la recherche en paléoanthropologie. Les méthodes physico-chimiques et biologiques nourrissent depuis maintenant plus de 40 ans presque tous les grands domaines de la paléoanthropologie, qu'elles viennent en soutien à des méthodes plus classiques ou anciennes ou bien en apportant leurs propres problématiques.

### B. Les réponses de la géochimie

Les premiers temps de la collaboration entre la géochimie et l'anthropologie se concentrent sur les questions de datation avant de se tourner vers l'étude plus complexe des migrations et de l'alimentation humaine. En cela, les réponses apportées par la géochimie suivent l'évolution de nos connaissances et de nos technologies. Seul un bref rappel des différentes méthodes les plus marquantes sera fait ici (pour une synthèse plus complète voir Price, 2014 pour les isotopes classiques; Martin *et al.*, 2017 pour les isotopes non traditionnels).

#### a. Quelques généralités sur la géochimie isotopique

Selon la définition du Larousse, la géochimie est « *l'étude de la répartition des éléments chimiques, de leur distribution dans les roches, les minéraux, les eaux et les gaz terrestres, de leur origine, de leur nature et de leur comportement au cours des processus géologiques* ». Cette

définition doit être légèrement modifiée dans le cas de nos recherches puisque nous allons parler de l'utilisation de la géochimie en anthropologie. La définition suivante serait plus appropriée : « *Étude de la répartition des éléments chimiques, de leur distribution dans les différents tissus biologiques, de leur origine, de leur nature et de leur comportement au cours des processus biologiques* ».

Dans ce cadre nous nous intéressons tout particulièrement à la répartition et à la distribution des éléments chimiques et de leurs différents isotopes. « Iso » signifiant « même » et « topes » « places » sous-entendues dans le tableau périodique, un isotope va donc concerner un seul et même élément chimique.

Un élément chimique est caractérisé par un noyau composé de protons (chargés positivement) et de neutrons (non chargés). Le nombre de neutrons va définir le numéro atomique ( $Z$ ) caractéristique de l'élément étudié. Le nombre de protons quant à lui peut être amené à varier au sein d'un même élément, c'est ce qui va donner naissance aux différents isotopes. Chaque isotope se verra donc caractérisé par un numéro atomique  $Z$  et un nombre de masse différent ( $A =$  nombre de neutrons + nombre de protons). Les différents isotopes d'un même élément posséderont ainsi une configuration électronique identique, mais une masse légèrement différente. Cette différence de masse va induire des propriétés légèrement différentes en affectant notamment ses propriétés cinétiques et thermodynamiques, ce sont ces propriétés qui sont mises en évidence par l'analyse des compositions isotopiques et utilisées en géochimie. Ainsi au cours des processus biologiques, l'abondance naturelle des isotopes d'un élément peut être amenée à être modifiée entre différents compartiments biologique Afin de quantifier les enrichissements ou appauvrissements isotopiques des différents compartiments on utilise la notation  $\delta$  exprimée en ‰ et normalisée par rapport à un standard international dont le calcul est exprimé ci-dessous.

*Équation 1 : Calcul du  $\delta$ .  $X$  représente l'élément d'intérêt,  $i$  est par convention l'isotope le plus lourd et  $j$  le plus léger.  
Calculation of  $\delta$ ,  $X$  represents the element of interest,  $i$  is the heaviest isotope and  $j$  the lightest one.*

$$\delta^i X = \left( \frac{(^i X / ^j X)_{\text{ech}} - (^i X / ^j X)_{\text{std}}}{(^i X / ^j X)_{\text{std}}} - 1 \right) \times 1000$$

### b. Les outils isotopiques traditionnels

On distingue deux groupes d'isotopes utilisés dans le domaine de l'archéologie, d'une part les isotopes radiogéniques largement utilisés en datation et d'autre part les isotopes stables dont l'utilisation est plus variée.

i. Exemple d'utilisation des isotopes radiogéniques, le cas du carbone 14

Probablement le plus connu des systèmes isotopiques permettant la datation absolue, le système du carbone 14 (Libby *et al.*, 1949) est basé sur la vitesse de désintégration du carbone quatorze ( $^{14}\text{C}$ ) en azote quatorze ( $^{14}\text{N}$ ). Le  $^{14}\text{C}$  se forme dans l'atmosphère terrestre sous l'effet des rayonnements solaires. Du fait de son instabilité, il se désintègre en  $^{14}\text{N}$  à une vitesse connue (temps de demi-vie = 5 730 ans). Comme les autres atomes de carbone il va se combiner pour former du  $\text{CO}_2$  et ainsi être intégré par les organismes vivants. A la fermeture du système (qui correspond le plus souvent à la mort de l'organisme), le  $^{14}\text{C}$  va continuer sa désintégration radioactive sans être renouvelé, entraînant une diminution de sa concentration par rapport au carbone douze ( $^{12}\text{C}$ ) qui est lui stable. La comparaison de la quantité de  $^{12}\text{C}$  et de  $^{14}\text{C}$  permet ainsi d'obtenir un âge calendaire après comparaison à une courbe étalon.

ii. Isotopes du carbone et azote, des traceurs alimentaires

Les rapports isotopiques en carbone et azote du collagène de l'os sont les premiers à avoir été exploités pour l'étude de l'alimentation et du milieu de vie (DeNiro et Epstein, 1978, 1981). Le lien est rapidement établi entre la position dans l'échelle trophique et la composition isotopique en azote ( $\delta^{15/14}\text{N}$ , DeNiro et Epstein, 1978, 1981, voir la Figure 1 pour un exemple d'application), les isotopes du carbone ( $\delta^{13/12}\text{C}$ ) vont eux être sensibles au type de végétaux à l'origine de la chaîne trophique (végétaux à photosynthèse dit en C3, C4 ou CAM, Ambrose et DeNiro, 1986, voir la Figure 1 pour un exemple d'application).

La reconstruction de réseau trophique par les isotopes du carbone et de l'azote a très vite été généralisée sans toutefois « s'aventurer » dans des périodes antérieures à l'Holocène. La première étude réalisée sur des restes âgés de plus de 10000 ans a été celle des restes de mammifères dont un fossile humain du gisement de Marillac ou Les Pradelles (Marillac-le-Franc, Charente, Fizet *et al.*, 1995 ; Bocherens *et al.*, 1991) datés de près de 60 000 ans BP (Frouin *et al.*, 2017).

Depuis les années 80, la compréhension et les apports de l'analyse isotopique ont considérablement progressé. Ils permettent aujourd'hui d'étudier la part de l'alimentation issue de l'environnement marin (Schoeninger *et al.*, 1983), les limites d'âge d'utilisation des isotopes ont aussi été repoussées avec notamment l'utilisation des analyses en isotope du carbone sur la fraction minérale de vestiges de Paranthrope datés entre 1,9 et 1,4 Ma (Cerling *et al.*, 2011) ou encore d'Australopithèque daté entre 2,5 et 2,0 Ma (van der Merwe *et al.*, 2003).

C'est aujourd'hui au tour des isotopes de l'azote, longtemps limités par la conservation de la matière organique dans l'os de voir leurs limites repoussées grâce à de nouvelles méthodes permettant l'analyse des compositions isotopiques de l'azote dans l'émail dentaire (Lüdecke *et al.*, 2020; Leichliter *et al.*, 2022).

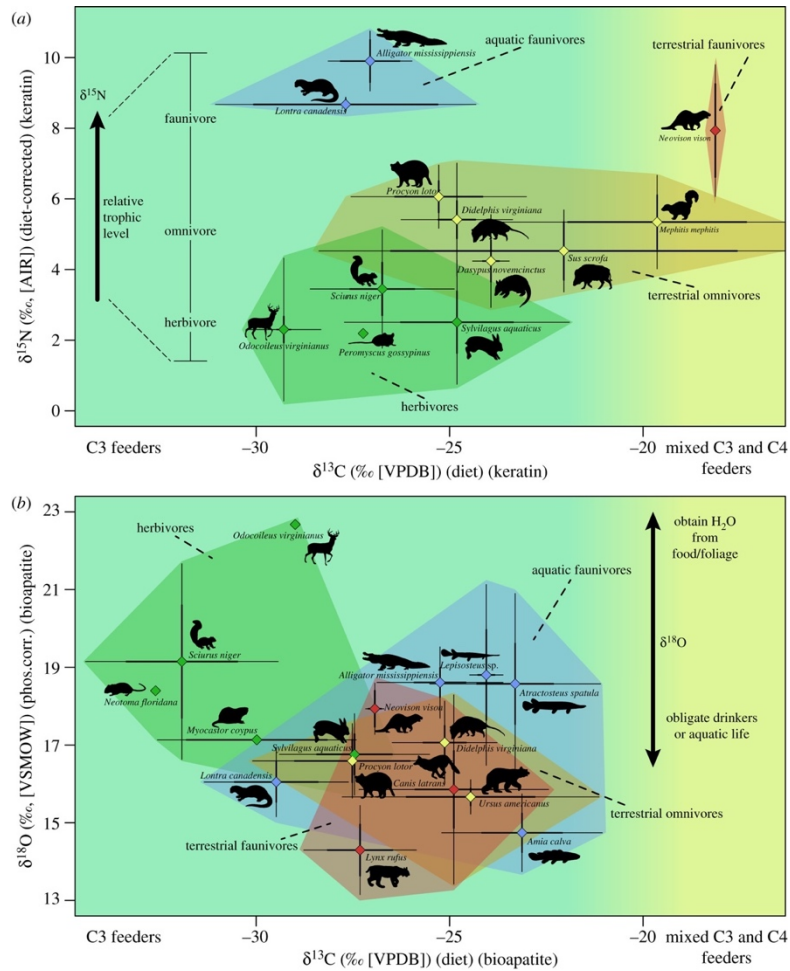


Figure 1 :  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  et  $\delta^{18}\text{O}$  dans la kératine (a) et dans l'os (b) pour un échantillon de faune actuelle du bassin de la rivière Atchafalaya en Louisiane. Figure de Cullen *et al.*, 2019.  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  in keratin (a) and bone (b) for a present-day fauna assemblage from the Atchafalaya River Basin, Louisiana. Figure from Cullen *et al.*, 2019.

### iii. L'oxygène, des applications multiples

Les isotopes de l'oxygène (O) fractionnent selon plusieurs critères, ce qui en fait un outil complexe mais permettant de répondre à de nombreuses questions.

Le fractionnement de l'oxygène au cours des processus d'évaporation/précipitation de l'eau est largement utilisé pour les reconstructions paléo-climatiques (Dansgaard, 1964, Figure 2).

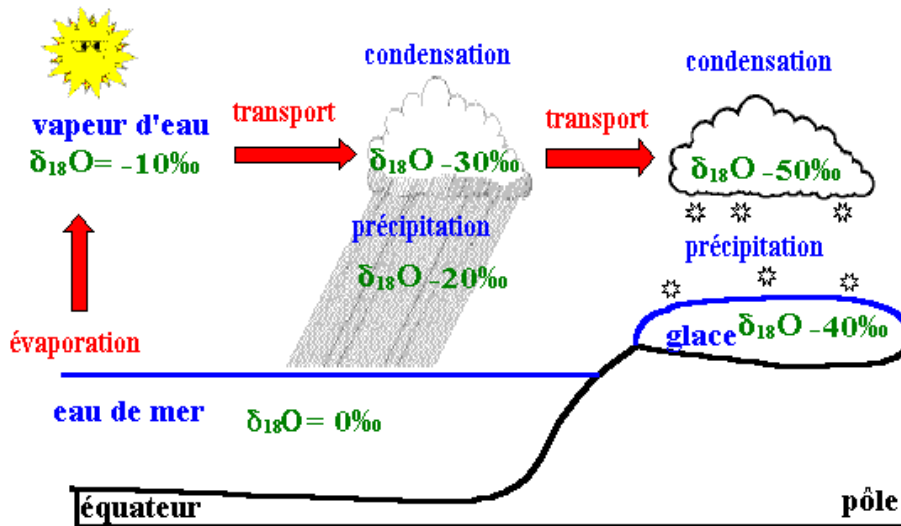


Figure 2 : Évolution de la composition isotopique en oxygène au cours du processus d'évaporation/précipitation. (Plateforme ACCES pour enseigner les sciences de la vie et de la terre). Evolution of oxygen isotopic composition during the evaporation/precipitation process. (ACCES platform for teaching life and earth sciences).

Ainsi il est possible d'avoir des informations sur la topographie locale (influence des reliefs sur les précipitations), mais aussi sur l'évolution du climat (l'évolution des températures va impacter le taux d'évaporation et de précipitations). C'est notamment à l'aide des isotopes de l'oxygène que sont établies les courbes de températures issues des carottes de glace (Figure 3).

De plus, la composition isotopique des phosphates contenues dans les os et les dents est liée à celle de l'eau absorbée (Chenery *et al.*, 2012). Il est donc possible de « remonter » à l'origine de l'eau de boisson (pour un exemple voir Cullen *et al.*, 2019, Figure 2). Enfin, le fractionnement entre l'eau consommée et les phosphates de l'os est dépendant de la température, il est donc possible d'étudier à l'échelle de l'individu le métabolisme de régulation thermique notamment chez les ectothermes (Séon *et al.*, 2022)

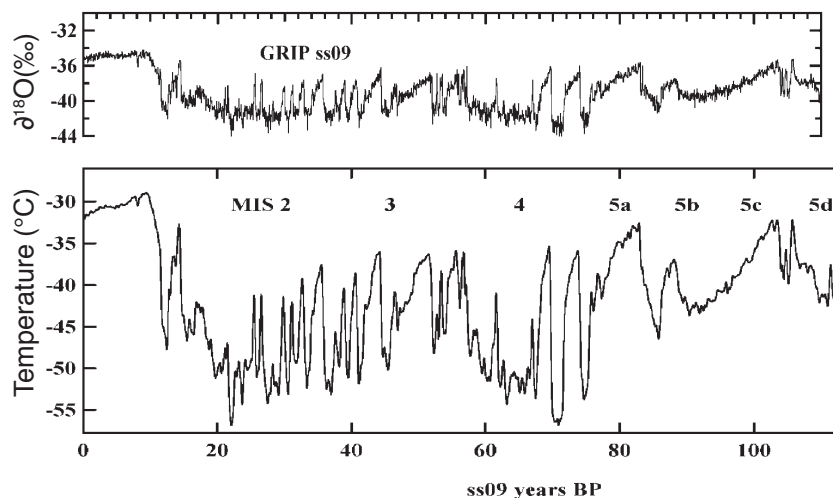


Figure 3 : Enregistrement des isotopes de l'oxygène et des paléo-températures dans la carotte de glace GRIP du Groenland (modifié d'après Johnsen *et al.*, 2001). Oxygen isotope and paleo-temperature record from the Greenland GRIP ice core (modified from Johnsen *et al.*, 2001).

iv. Le soufre et le strontium, une histoire de mobilité

La majorité du soufre (S) de l'écosystème est introduit dans le réseau trophique par l'intermédiaire des plantes (Rand et Nehlich, 2018). Si la partie la plus importante est absorbée par les racines, les plantes captent une partie du soufre atmosphérique, ce dernier pouvant provenir de l'eau de mer (embruns) ou de pollution (gaz, pluie). Comme l'oxygène, le soufre subit un fractionnement isotopique au cours du processus d'évaporation/précipitation ce qui conduit à un enrichissement en  $^{34}\text{S}$  à proximité des côtes qui diminue avec l'éloignement à la côte (Privat *et al.*, 2007; Nehlich, 2015, pour un exemple voir Figure 4).

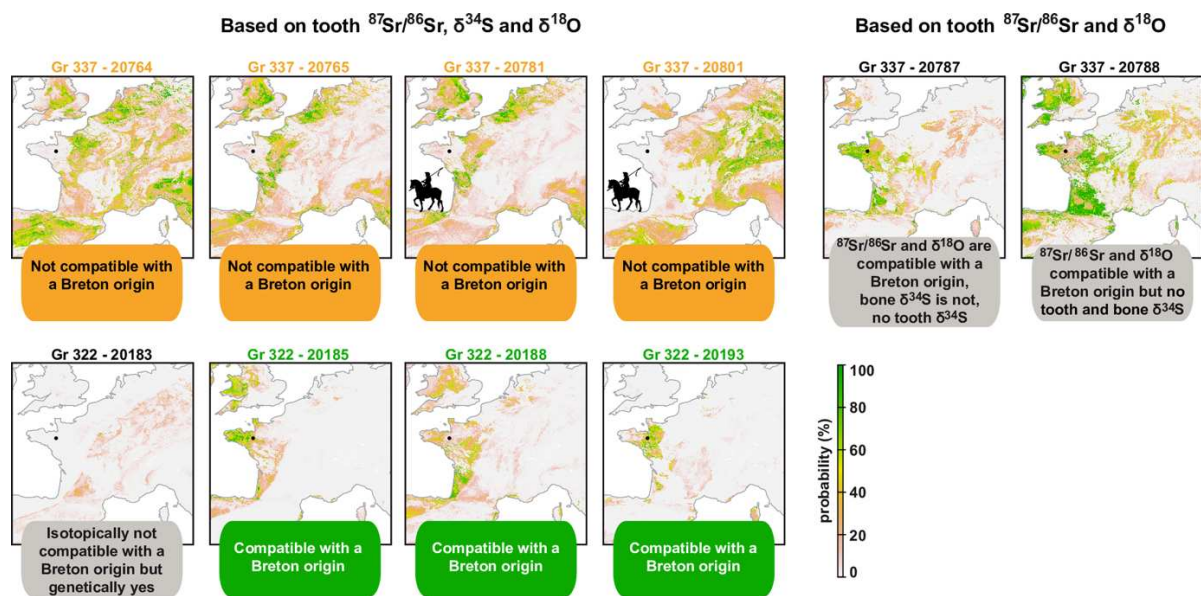


Figure 4 : Carte montrant la probabilité d'origine infantile des individus provenant des 2 fosses commune du couvent des Jacobins à Rennes. Les cartes des origines géographiques possibles sont calculées en comparant les variations isotopiques prédites dans le paysage avec les analyses isotopiques de l'émail des dents pour les isotopes du strontium et de l'oxygène et du collagène des dents pour les isotopes soufre. (D'après Colleter *et al.*, 2021). **Maps showing the probability of childhood origin of individuals from two mass graves in the Jacobins convent.** Maps of possible geographical origins are calculated by comparing predicted isotope variations on the landscape with isotope analyses from tooth enamel for strontium and oxygen isotopes and from tooth's collagen for S isotopes (from Colleter *et al.*, 2021).

L'utilisation la plus classique du strontium (Sr) en archéologie consiste en l'étude des rapports du strontium 86 ( $^{86}\text{Sr}$ ), un isotope stable du strontium, par rapport à l'isotope strontium 87 ( $^{87}\text{Sr}$ ), un isotope radiogénique issu de la décroissance radioactive du rubidium 87 ( $^{87}\text{Rb}$ ). Le rapport  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  va être lié à celui de la roche constituant le substrat sous-sol (Montgomery *et al.*, 2006; Willmes *et al.*, 2018), les roches plus anciennes ont un rapport  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  plus élevé, tandis que les roches plus jeunes ont un rapport plus faible. Ce rapport ne sera pas modifié le long de la chaîne trophique. Ainsi, à tout niveau du réseau trophique le rapport  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  sera lié à l'origine géologique des aliments ingérés par l'individu (Bentley, 2006). Le strontium étant présent dans tous les tissus

minéralisés il sera possible d'étudier la mobilité des individus en fonction de l'époque de formation du tissu analysé. Par exemple, si la composition isotopique varie entre émail et os, alors l'individu a migré entre l'époque de formation de la dent et celle de l'os (voir Wright, 2005; Knudson *et al.*, 2010; Colleter *et al.*, 2021 pour des exemples d'application en archéologie, Figure 4).

### c. Les nouveaux outils isotopiques non-traditionnels de la bioarchéologie

Le développement de nouvelle technique de spectrométrie de masse ainsi que l'amélioration de certaines techniques, ont progressivement permis d'ouvrir la voie à l'étude de nouveaux systèmes isotopiques ou/et à de nouvelles problématiques par l'exploration de nouveaux tissus. Regroupés sous le terme d'isotopes « non traditionnels » par opposition aux éléments historiquement utilisés décrit précédemment, ces nouveaux outils réunissent notamment les isotopes stables du strontium, du zinc (Zn), du magnésium (Mg) ou encore du calcium (Ca).

Le zinc et le magnésium jouent des rôles essentiels dans de nombreuses fonctions métaboliques ce qui induit une régulation très forte, mais aussi une sensibilité plus importante aux modifications physiologiques. Le strontium stable ( $\delta^{88/86}\text{Sr}$ ) pouvant se substituer au calcium, il est régulé dans une moindre mesure selon le même schéma que celui-ci (Guiserix *et al.*, 2022). Des études récentes ont ainsi mis en évidence que les isotopes du zinc, du magnésium et du strontium pouvaient être utilisés pour la reconstruction paléo-écologique d'environnements continentaux ou marins (Martin *et al.*, 2014; Bourgon *et al.*, 2021; Guiserix *et al.*, 2022 ; Figure 5).

Au-delà de la possibilité de reconstituer les écosystèmes, ces nouveaux isotopes se différencient des isotopes traditionnels car ils s'affranchissent ou viennent en complément de certaines limites dans l'utilisation d'autres systèmes isotopiques tels que l'azote. Il a ainsi pu être mis en évidence que certains taxons herbivores ou certains végétaux possèdent des compositions isotopiques en azote extrêmement basses « imitant » celles des carnivores, introduisant ainsi un biais méthodologique important (Schwartz-Narbonne *et al.*, 2015). De plus, alors que l'azote est dépendant de la bonne conservation du collagène les éléments tels que le zinc, le magnésium, le strontium ou le calcium sont analysés directement à partir de la fraction minérale de l'os dont la conservation est indépendante de celle du collagène. Ces nouveaux systèmes isotopiques ouvrent la voie à des problématiques inédites notamment pour des périodes ou climats impropres à la conservation du collagène. Le couplage de méthodes « traditionnelles » et « non traditionnelles » offre de nouvelles clefs pour comprendre la complexité de l'alimentation des hominines anciens.



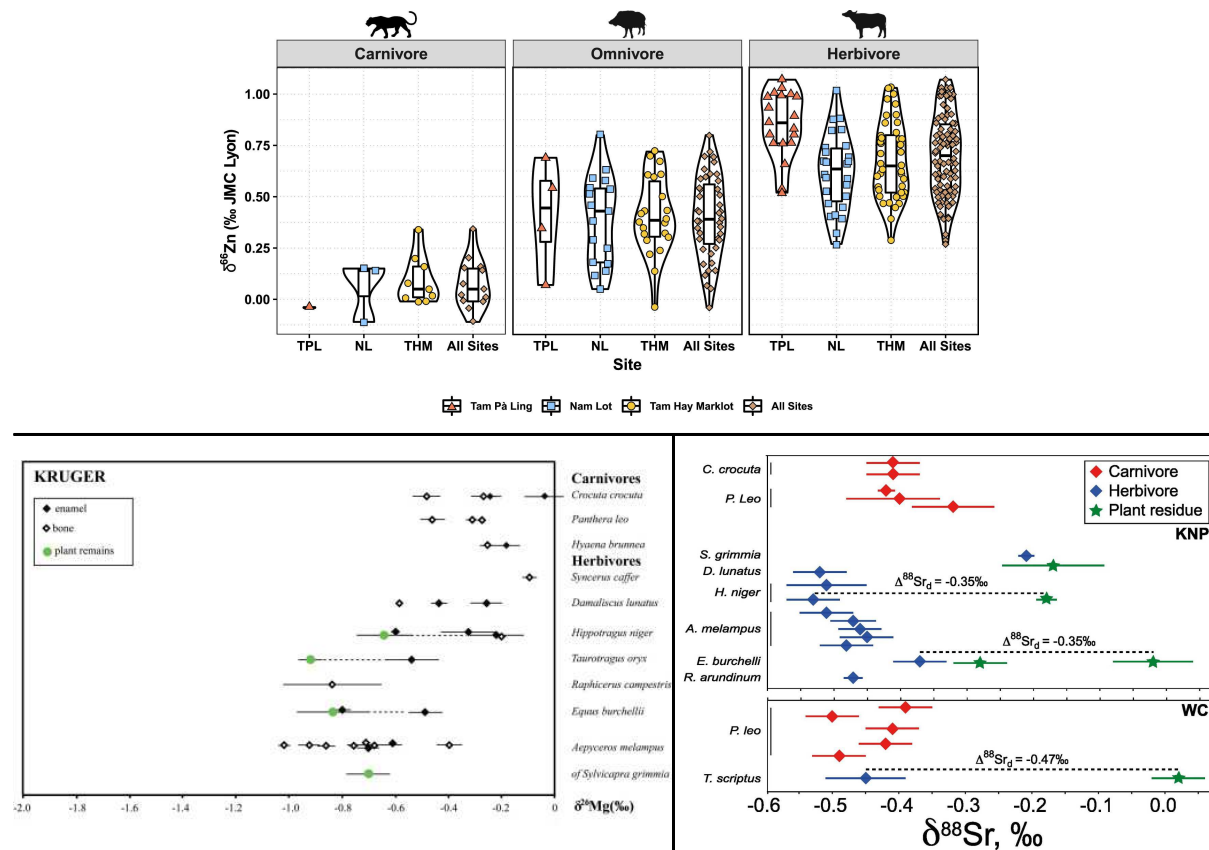


Figure 5 : **Composition isotopique du zinc** (en haut, d'après Bourgon et al., 2021), **du magnésium** (en bas à gauche, d'après Martin et al., 2014) **et du strontium** (en bas à droite, d'après Guiserix et al., 2022) **pour trois écosystèmes différents. Isotopic composition of Zn** (top, from Bourgon et al., 2021), **Mg** (bottom left, from Martin et al., 2014) **and Sr** (bottom right, from Guiserix et al., 2022) **for three different ecosystems.**

## C. La physiologie et l'isotopie du calcium

### a. Quelques généralités sur le calcium et ses isotopes stables

L'élément qui nous intéressera au cours de cette thèse est le calcium. Il possède le numéro atomique 20 et est caractérisé par 6 isotopes stables (ou substables : dont la durée de demi-vie est extrêmement longue) :  $^{40}\text{Ca}$ ,  $^{42}\text{Ca}$ ,  $^{43}\text{Ca}$ ,  $^{46}\text{Ca}$  et  $^{48}\text{Ca}$ . Son isotope le plus abondant est le  $^{40}\text{Ca}$  qui représente 96,941 % du calcium retrouvé sur terre, les autres possédant des abondances moindres : le  $^{42}\text{Ca}$  représente 0,647 %, le  $^{43}\text{Ca}$  0,135 %, le  $^{44}\text{Ca}$  2,086 %, le  $^{46}\text{Ca}$  0,004 % et le  $^{48}\text{Ca}$  0,187 %. En raison de facteurs divers liés à des processus analytiques, les variations de compositions isotopiques du calcium sont classiquement étudiées par l'analyse des rapports  $^{44}/^{40}\text{Ca}$  et  $^{44}/^{42}\text{Ca}$  (Voir Partie II. Chapitre 3. B. b. Mesure des rapports isotopiques du calcium). Il est le cinquième élément le plus abondant du corps humain (environ 1,5 %) après l'oxygène (65 %), le carbone (85 %), l'hydrogène (9,5 %) et l'azote (3,2 %). Ce chiffre grimpe même à  $\approx 25$  % lorsque l'on considère

uniquement le squelette osseux qui stocke 99 % du calcium.

## b. Le fractionnement isotopique du calcium d'origine biologique et son utilisation en anthropologie

Le développement d'analyses précises des rapports isotopiques en géochimie, notamment grâce au spectromètre de masse à torche plasma et multi-collection (MC-ICP-MS pour Multiple Collectors Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer), a permis d'obtenir les variations de composition isotopique du calcium sur des restes fossiles (e.g. Martin, 2017a, 2017b). Les isotopes du Calcium ainsi que les autres éléments non traditionnels de type alcalino-terreux (Mg, K, Ca), ou métaux de transition (Cu, Zn, Fe), se distinguent des isotopes d'éléments traditionnels (C, H, O, N, S) par des amplitudes de fractionnement isotopique plus faibles, et nécessitent donc une précision supérieure, apportée par le MC-ICP-MS.

Dès les premières analyses ICP-MS, le potentiel des éléments non traditionnels pour l'archéologie a été testé (Longerich *et al.*, 1987). Cependant, il faudra attendre la fin des années 90 et la « démocratisation » de la méthode d'analyse par MC-ICP-MS pour voir se multiplier les analyses concernant les isotopes non traditionnels (Alimonti *et al.*, 1995; Halliday *et al.*, 1995; Maréchal *et al.*, 1999).

En 1997, Skulan *et al.* (1997) publient les premières études concernant le fractionnement isotopique du Calcium induit par les organismes vivants. Contrairement aux autres éléments non traditionnels, les premières analyses du Calcium sont réalisées par un spectromètre de masse à thermo-ionisation (TIMS pour Thermo-Ionization Mass Spectrometer). L'utilisation du MC-ICP-MS pour des mesures du Calcium portant sur les mammifères et des restes archéologiques ne sera mis en place qu'à partir de la fin des années 2000 (e.g. Chu *et al.*, 2006 ; Hirata *et al.*, 2008 ; Reynard *et al.*, 2010 ; Tacail *et al.*, 2016, 2017 ; Martin *et al.*, 2017 ; Tacail, 2017).

C'est lors de ces études de 1997 ( Skulan *et al.*, 1997; Skulan et DePaolo, 1999 ) que sont comparés les rapports isotopiques du calcium des tissus mous de plusieurs espèces de vertébrés à la biologie très variable (des mammifères marins aux oiseaux). Ces études concluent quant à un appauvrissement en isotope lourd du calcium le long de la chaîne trophique (Figure 6) qui pourrait avoir lieu lors de la minéralisation osseuse. Ces études posent les bases de la réflexion sur le fractionnement des isotopes du calcium au cours du cycle biologique chez les vertébrés. Cela a permis le développement d'un axe de recherche autour de la reconstitution des régimes alimentaires actuels ou passés (e.g. Martin *et al.*, 2017a, 2017b ; Melin *et al.*, 2014 ; Heuser *et al.*, 2011).

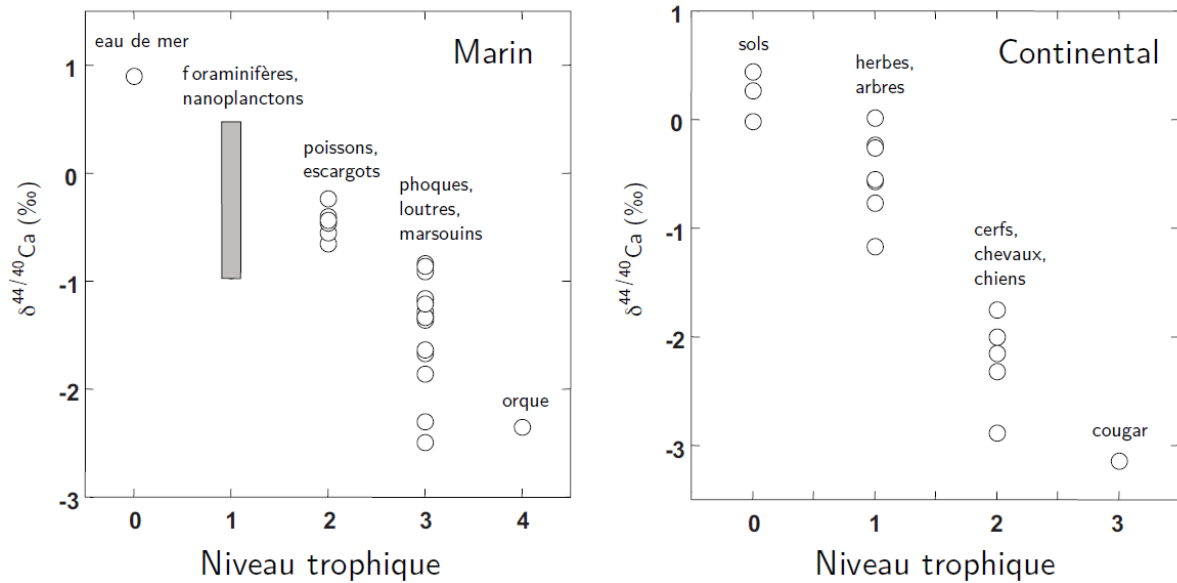


Figure 6 : Compositions isotopiques du Ca (relativement au carbonate de Ca) en fonction du niveau trophique en milieux marins et continentaux (d'après Tacail, 2017). Données provenant de Skulan et al.(1997), Skulan et DePaolo (1999), Skulan (1999). Ca isotopic composition (relative to Ca carbonate) as a function of trophic level in marine and continental environments (from Tacail, 2017). Data from Skulan et al.(1997), Skulan et DePaolo (1999), Skulan (1999).

L'intérêt nouveau pour les isotopes du calcium a permis de mieux connaître son cycle biologique (Tacail *et al.*, 2014; Heuser *et al.*, 2016a; Tacail, 2017). Ainsi que de revenir sur l'hypothèse du fractionnement isotopique lors de la minéralisation au profit de l'hypothèse d'un fractionnement isotopique du calcium au moment de la réabsorption rénale (Tacail, 2017). Un autre fractionnement lors du passage de l'épithélium intestinal n'étant pas à exclure mais reste à documenter (Tacail, 2017).

L'utilisation des isotopes du calcium dans le cadre paléontologique et anthropologique, s'est grandement accrue ces dernières années, avec une multiplication des publications et des domaines d'application (Tacail *et al.*, 2014 ; Heuser *et al.*, 2016a ; Martin *et al.*, 2017a, 2017b ; Hassler *et al.*, 2021). Deux grandes questions restent toutefois au cœur des problématiques liées à l'utilisation des isotopes du calcium, toutes deux « discutant » les régimes alimentaires. L'étude de la consommation des produits laitiers que ce soit dans le cadre de problématiques liées à l'allaitement, telles que l'âge au sevrage ou encore la différence entre sexe ou des problématiques liées à la néolithisation et à l'incorporation de produits laitiers dans l'alimentation. Le deuxième volet de ces études concerne la reconstruction de niveaux trophiques qu'ils soient aquatiques ou bien continentaux, dans le cadre de contextes culturels ou comportementaux n'impliquant pas la consommation de produits laitiers.

## Chapitre 2 : Le Paléolithique Moyen ; subsistance aux temps des néandertaliens

### A. Contexte anthropologique et chronologique de l'étude

#### a. Origine et évolution des néandertaliens

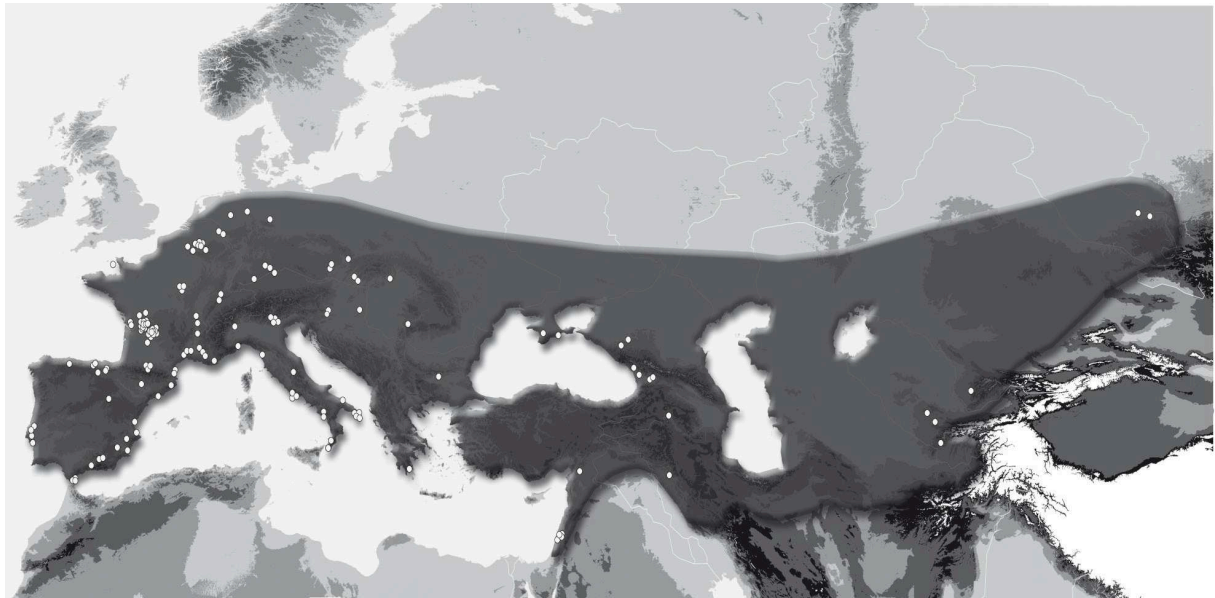


Figure 7 : Répartition des sites ayant fourni des néandertaliens classiques (Serangeli et Bolus, 2008). Distribution of classic Neanderthal site (Serangeli and Bolus, 2008).

En Europe, la fin du stade isotopique 3 est caractérisée par la disparition totale de l'Homme de Néandertal au profit de populations biologiquement modernes. Bien que les néandertaliens soient le genre humain le mieux documenté après l'Homme moderne, les conditions de ce remplacement sont encore largement méconnues et débattues : compétition avec l'Homme moderne, assimilation, faiblesse démographique, changement brusque du climat et de la végétation, agents pathogènes et bien d'autres (e.g. Kolodny et Feldman, 2017; Vaesen *et al.*, 2019; Page et French, 2020; Timmermann, 2020; Dusseldorp et Lombard, 2021).

De nombreux éléments de la biologie et de la culture néandertalienne nous échappent encore, bien que les nouvelles avancées techniques nous permettent chaque jour d'en apprendre un peu plus sur ce taxon. Ayant évolué dans une grande partie de l'Eurasie (des points les plus à l'ouest de l'Europe et jusqu'à l'Asie centrale en passant par le sud de la Sibérie, Figure 7), c'est en Europe que les populations néandertaliennes sont les mieux documentées grâce à l'abondance du registre paléoanthropologiques et la quantité de travaux réalisés. Malgré ces recherches, l'identité des

premiers européens reste relativement obscure, si les restes fossiles et d'industrie lithique attestent de la présence de populations humaines en Europe dès 1,2 à 1,5 millions d'années (Sirakov *et al.*, 2010 ; Toro-Moyano *et al.*, 2013), la mauvaise préservation ne permet pas de les rapporter à une espèce précise. Le peuplement humain de l'Europe au cours du Pléistocène moyen et jusqu'à environ de 400 ka va montrer certaines similitudes morphologiques entre l'Europe et d'Afrique (notamment l'Afrique du nord). Les données paléogénétiques et paléoanthropologiques s'accordent sur une date de séparation de la lignée néandertalienne et de celle menant à l'Homme moderne aux environs de 600-500 ka (Green *et al.*, 2006; Meyer *et al.*, 2016). Dans un premier temps une grande partie des caractéristiques morphologiques des fossiles européens reste commune à celle des fossiles contemporains d'Afrique. Mais on commence aussi à observer un certain nombre de traits néandertaliens, apparaissant de manière isolée et/ou régionale et/ou chronologique (comme illustré avec la Figure 8 d'après Rosas *et al.*, 2019). Selon certains auteurs on pourrait déjà parler d'*Homo heidelbergensis* (s.s.), une chrono-espèce représentant les ancêtres de la lignée néandertalienne. Entre 300ka et 250ka, si les caractéristiques néandertaliennes semblent se fixer petit-à-petit dans les populations européennes, cela dépend bien souvent de la zone anatomique étudiée. A partir des stades isotopiques 7 et/ou 6, les caractéristiques ostéologiques dérivées des fossiles se fixent. Elles s'intègrent au sein de la variabilité des néandertaliens les plus récents. On commence alors à parler de néandertaliens anciens. On peut citer par exemple les restes de la Chaise en France (Condeimi, 2001). Parmi les découvertes les plus récentes de ces néandertaliens anciens on peut aussi signaler l'individu de Tourville-la-Rivière étudié dans cette thèse (Faivre *et al.*, 2014b). Enfin, on finit par considérer les néandertaliens les plus récents (stades isotopiques 5, 4 et 3 ou parfois uniquement 4 et 3) dont l'ensemble des caractères dérivés sont présents et bien exprimés, comme résultante de leur évolution, on les qualifie de « Néandertaliens classiques ». La majorité des individus étudiés dans le cadre de cette thèse appartiennent à cette « catégorie ».

L'évolution qui conduit à ce que certains appelle aujourd'hui un « néandertalien classique » est un processus lent mettant en jeu un très grand nombre de facteurs. Deux forces évolutives semblent toutefois avoir joué un rôle décisif dans la divergence de la lignée néandertalienne relativement aux autres lignées humaines africaines ou d'Asie du Sud-Est : (1) malgré une présence hors d'Afrique constatée depuis 2 millions d'années (en Asie), la présence d'humains en continu sur le territoire européen est probablement plus récente. Les épisodes de « colonisations » précédentes étant tous issus du berceau africain, les possibilités de différenciation en deux populations restent limitées. L'évolution des populations en Europe avec des contacts plus limités

avec les populations d'Afrique à partir de 600 ka aurait favorisé une adaptation évolutive des populations européennes à leurs environnements de manière plus marquée que précédemment. (2) La succession d'évènements climatiques poussant les populations vers des zones refuges (notamment la péninsule Ibérique) aurait conduit, suite à une accumulation d'isolements successifs des populations européennes et à l'augmentation des pressions de sélection au niveau d'un goulot d'étranglement génétique fixant progressivement les caractères néandertaliens dans ces populations.

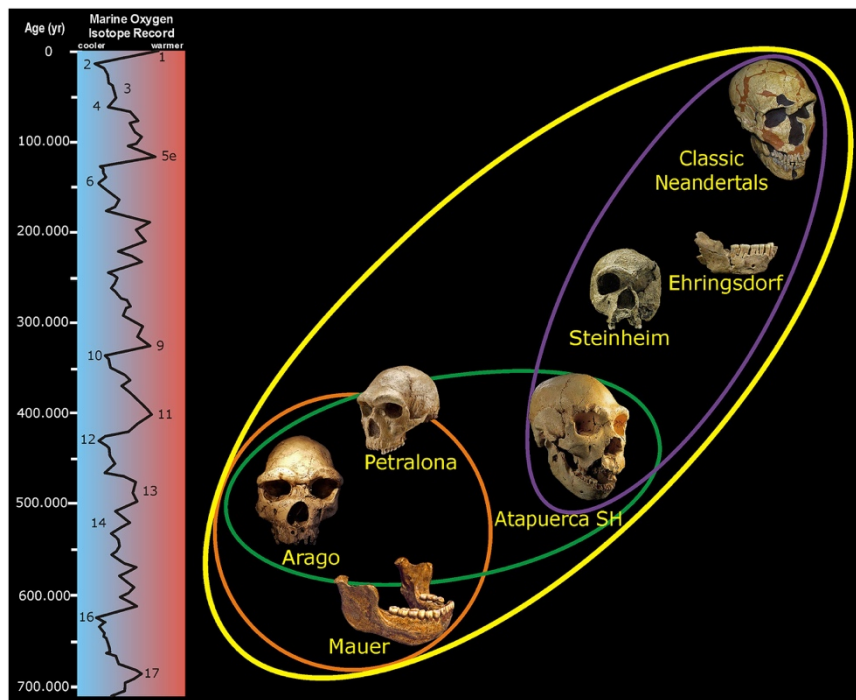


Figure 8 : Modèle de proximité résultant de l'analyse successive de similarité par paires dans lequel une seule espèce polytypique d'Homo est reconnue au Pléistocène moyen d'Europe. L'échantillon d'Atapuerca-SH offre des contreparties morphologiques à d'autres spécimens d'hominiens du Pléistocène moyen européen. Les mandibules de Mauer et d'Arago 2 partagent une forme similaire, faisant partie du large spectre de variabilité faciale verticale à la base de la lignée évolutive des Néandertaliens. Mauer et Atapuerca-SH pourraient être apparentés en tant que membres de la même espèce et pourraient compléter l'ancestralité de la lignée évolutive des Néandertaliens (d'après Rosas et al., 2019). A model resulting from the successive pairwise similarity inclusion analyses in which only one polytypic species of Homo is recognized in the Middle Pleistocene of Europe. The Atapuerca-SH sample offers morphological counterparts to other European Middle Pleistocene Hominin specimens. Mauer and Arago 2 mandibles share a similar form, as part of the wide spectrum of vertical facial variability at the base of the Neandertal evolutionary lineage. Mauer and Atapuerca-SH may be related as members of the same species and may complete the ancestry of the Neandertal evolutionary lineage (from Rosas et al. 2019).

Nos connaissances sur le développement et la croissance des néandertaliens restent limitées. En effet la préservation des restes rend un grand nombre de critères du développement inaccessibles. C'est notamment le cas de la plupart des traits d'histoire de vie qui permettraient pourtant de mieux comprendre les sociétés dans lesquelles ont évolués les néandertaliens. Les dents ainsi que les restes remarquablement conservés de plusieurs jeunes individus néandertaliens nous permettent

toutefois d'avoir un aperçu de leur croissance et développement (Weaver *et al.*, 2016). Le calendrier d'émergence dentaire semble être plus rapide chez les jeunes néandertaliens, avec un début de formation et une émergence des dents de lait plus précoce que chez les humains actuels. Bien que controversé du fait des différents modèles d'éruption dentaire utilisés, il est généralement considéré que les néandertaliens possèdent un développement plus rapide et atteignent un développement adulte de manière plus précoce que les groupes modernes (pour l'hypothèse d'un taux de croissance identique à l'Homme moderne voir Macchiarelli *et al.*, 2006 et voir Smith *et al.*, 2010 pour l'hypothèse d'une croissance accélérée). L'âge au sevrage ainsi que de nombreux traits d'histoire de vie semblaient impossible à estimer il y a encore quelques années. Mais le développement de nouvelles méthodes d'analyse offre l'espoir de les caractériser de manière précise dans les prochaines années. L'analyse des isotopes du Calcium fait partie de ces nouvelles méthodes (Tacail *et al.*, 2019). Nous nous intéresserons à cette question lors de l'étude du périnatal mis au jour dans le gisement du Moustier.

### b. Contexte chronologique et environnemental

L'évolution de la lignée néandertalienne a été rythmée par des périodes de refroidissement et de réchauffement climatique comme on peut le voir au travers de la Figure 9. L'intervalle chronologique pendant lequel ont évolué les groupes néandertaliens que nous étudions dans cette thèse ne déroge pas à cette règle. Il intègre deux périodes glaciaires (MIS 4 et MIS 6) et trois interglaciaires (MIS 3, MIS 5 et MIS 7). L'amplitude et la durée de ces « variations » climatiques ont eu impact durable sur la faune et la flore locales, entraînant la migration d'espèces auparavant majoritaires dans un milieu ou encore ouvrant ou fermant des territoires. Ainsi, lors d'un interglaciaire, les néandertaliens ont dû s'adapter à des changements de végétation transformant en quelques milliers d'années les vastes prairies sèches occupées par de rares arbrisseaux du nord de l'Europe en forêts denses suite à l'augmentation des précipitations et de températures concomitantes. Au-delà de la flore c'est aussi la faune qui se modifie au gré des variations climatiques (Griggo, 1996). Ainsi les sangliers abondants lors des interglaciaires s'isolent dans de rares zones refuges à l'arrivée des périodes glaciaires, tandis que les troupeaux de rennes redescendent des régions septentrionales. Les différentes espèces de cervidés accompagnent les néandertaliens en fonction du biotope, les hardes de rennes parcourent les steppes à mammoths lors des épisodes les plus froids, tandis que les cerfs et les chevreuils abondent dans les forêts des périodes tempérées. Nombre de ces espèces végétales et animales existent toujours dans nos régions

ou ont migré en raison de préférences climatiques. Cela nous permet de documenter au mieux leurs écologies. On peut distinguer trois grands types de climats durant la période couverte par cette étude : (1) climat tempéré avec un couvert forestier dense lors des MIS 5e et 7 ; (2) climat tempéré froid avec un couvert forestier moins important sous forme de prairies arbustives lors de MIS 5 ; (3) climat froid à glacial avec un couvert végétal restreint principalement composé de steppe et toundra lors des MIS 3, 4 et 6.

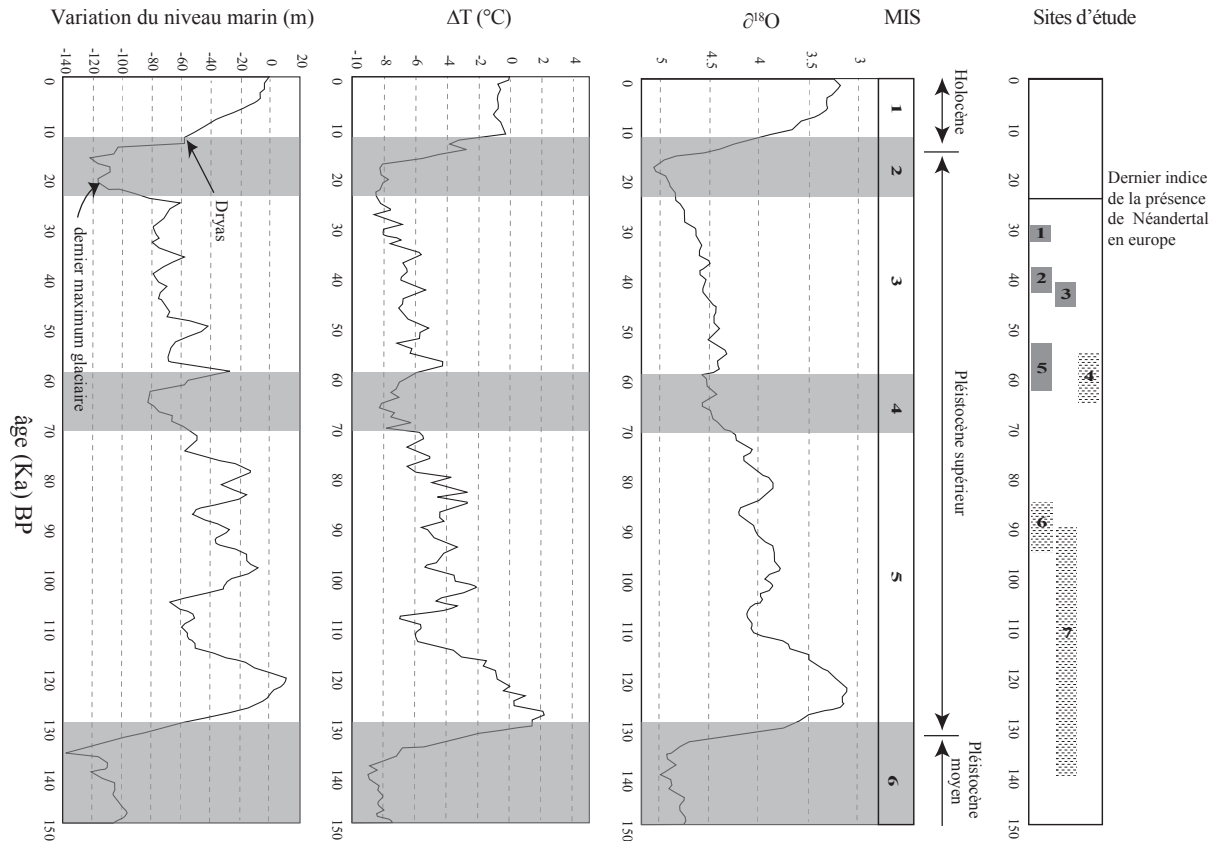


Figure 9: *Évolution climatique des derniers 150 ka d'après les variations du niveau marin (Menier et Ballevre, 2005), en comparaison avec l'enregistrement dans une carotte de glace de Vostok (Petit et al., 1999) et avec la courbe des isotopes de l'oxygène des carottes de l'océan Atlantique (Lisiecki et Raymo, 2005). Les stades isotopiques marins sont indiqués, les zones grisées sont les phases glaciaires. Les périodes d'occupation des différents sites étudiés dans cette thèse sont indiqués (les zones grisées correspondent aux datations absolues et les zones en pointillé aux datations relatives). Climate evolution over the last 150 ka from sea level variations (Menier and Ballevre, 2005), in comparison with the Vostok ice core record (Petit et al., 1999) and with the oxygen isotope curve of Atlantic Ocean cores (Lisiecki and Raymo, 2005). The marine isotope stages are indicated, the shaded areas are the glacial phases. The periods of occupation of the different sites studied during this thesis are indicated (shaded areas correspond to absolute dates and dotted areas to relative dates).*

1.Jaurens; 2.Le Moustier; 3. Camiac; 4.La Grotte du Bison;

5. Les Pradelles; 6. Regourdou; 7. Sirogne; 8. Tourville-la-Rivière (non représenté)

Ces périodes de changements climatiques ont eu un impact durable sur les stratégies de subsistance des populations humaines vivant dans ces milieux. C'est un des aspects que nous chercherons à étudier au cours de ces travaux.



### c. Remplacement et disparition de l'Homme de Néandertal

Présent depuis 300 ka en Afrique (Hublin *et al.*, 2017), l'Homme moderne ne va commencer sa conquête du monde que tardivement, puisqu'il faudra attendre 100 ka pour voir l'implantation de populations d'humains anatomiquement modernes hors d'Afrique. Nous ne considérons pas ici la présence d'*Homo sapiens* en Eurasie aux alentours de 210 000 Ka étant donné les avis contradictoires sur la diagnose taxinomique du fossile Apidima 1 (Grèce ; Harvati *et al.*, 2019, de Lumley *et al.*, 2020). Du fait de sa localisation géographique aux portes de l'Europe et de l'Asie, le Proche-Orient constitue un lieu de passage obligatoire pour atteindre l'Eurasie. C'est donc par le Proche-Orient que débute la sortie d'Afrique de l'Homme moderne, avec une première implantation en Israël dès 194-177Ka (Hershkovitz *et al.*, 2018) ou encore le site de Nesher 140-120ka (Hershkovitz *et al.*, 2021). Contrairement à l'Europe occidentale, où l'Homme de Néandertal occupe tous les biotopes, Howell soulignait dès 1959 que le Proche-Orient semblait révéler la présence des deux types humains : Homme moderne et Homme de Néandertal en des lieux et époques très proches sans qu'il soit possible de déterminer si les deux populations ont coexisté ou si elles ont occupé la région de manière alternée. Mais ce sont surtout les grandes similitudes dans leur répertoire technique et comportemental qui a suscité l'intérêt pour ces populations. Ainsi l'on constate que "*les méthodes de débitage identifiées ici dans les industries des premiers Hommes modernes sont celles fréquemment adoptées par les néandertaliens d'Europe de l'ouest*" (Meignen, 2007), mais aussi que les stratégies de subsistance sont sensiblement identiques entre les deux groupes (Meignen, *ibidem*). Si l'Europe occidentale reste le territoire de Homme de Néandertal pendant encore un certain temps, l'Homme moderne poursuit sa conquête du monde et arrive au moins dès 80 ka en Asie (Liu *et al.*, 2015) et vers 65 ka en Australie (Clarkson *et al.*, 2017).

Finalement l'Homme moderne n'arrive en Europe occidentale qu'aux environs de 45-43 ka (Benazzi *et al.*, 2011; Hublin *et al.*, 2020), bien que cette période pourrait être reculé suite à la découverte d'une dent déciduale dans la couche E dans la grotte de Mandrin en France (Slimak *et al.*, 2022). Cette « incursion » dans le territoire néandertalien n'a peut-être pas eu de conséquence au niveau de l'histoire globale du peuplement mais ouvre la voie à l'arrivée de l'Homme moderne en Europe. Contrairement au proche orient les techno-complexes néandertaliens et modernes d'Europe semblent plus distincts l'un de l'autre, l'Aurignacien ancien étant attribué à l'Homme moderne tandis que le Moustérien final reste l'apanage de Néandertal, l'artisan du Châtelperronien reste quant à lui l'objet de débat (voir par exemple Gravina *et al* 2022 pour une synthèse récente).

De nombreuses questions restent en suspens concernant les technocomplexes lithiques dits de transition pour lesquelles la faiblesse de la documentation paléoanthropologique rend l'attribution délicate. En Europe de l'Ouest, aucune preuve de la cohabitation entre Homme de Néandertal et Homme moderne n'a pu être mise en évidence par les preuves archéologiques ou anthropologiques, les occupations modernes se superposant à celle attribuées aux néandertaliens. Mais la paléogénétique nous apprend que des rencontres et des métissages ont bien eu lieu, et probablement de façon plus nombreuses que supposé jusqu'alors (Villanea et Schraiber, 2019). Le remplacement progressif des populations néandertaliennes d'Europe de l'Ouest par l'Homme moderne venu du Proche-Orient alimente de nombreuses hypothèses au sein de la communauté scientifique sans qu'aucune ne fasse consensus.

L'analyse des stratégies de subsistance d'un grand nombre de néandertaliens européens provenant de différents environnements et de diverses périodes chronologiques pourra apporter de nouvelles connaissances sur la réponse des néandertaliens aux changements écologiques et environnementaux qu'ils ont connu au cours de leurs évolutions.

### B. Un régime alimentaire varié

Cette partie a pour but de faire un état des connaissances actuelles concernant le régime alimentaire des néandertaliens au travers des différentes méthodes d'analyse utilisées.

#### a. Les données de l'archéozoologie

Avant les années 90 et l'essor de la géochimie isotopique en archéologie, les preuves les plus manifestes de l'alimentation des néandertaliens étaient fournies par l'observation minutieuse des restes fauniques issus des recherches de terrain. La mauvaise conservation des restes organiques a conduit les archéologues à se concentrer sur la part épargnée, constituée très majoritairement des parties minéralisées (os, dents et bois d'ongulés principalement).

Si la consommation de viande par l'Homme de Néandertal laissait peu de doute tant les indices étaient nombreux : traces de découpe sur les fragments osseux, accumulations des restes, sélection des parties anatomiques et bien d'autres (Hublin et Richards, 2009; Rendu, 2022), la manière dont la viande est acquise ainsi que la part qu'elle représente dans le régime alimentaire des néandertaliens reste un débat à part entière, même si la démonstration de l'existence de chasses organisées s'est peu à peu imposée.

En effet, la question de l'acquisition de la viande suite à une chasse active a longtemps été

discutée. Pour de nombreux auteurs, les néandertaliens n'étaient pas des chasseurs très perfectionnés et obtenaient la majorité de leurs ressources de manière opportuniste. La faculté de chasser les mammifères de grandes tailles aurait été propre à l'Homme moderne. Cette idée est notamment soutenue jusque dans les années 80 par l'archéologue américain L. Binford (Binford, 1985) qui établit une série de critères qu'il applique à des restes fauniques de séries archéologiques en provenance de sites européens. L'argument selon lequel les néandertaliens étaient contraints de charogner fut rapidement mis à mal par de nombreuses analyses visant à tester cette hypothèse (e.g. Lupo, 1994). Si l'hypothèse d'un groupe survivant uniquement grâce au charognage fut écartée, il n'en reste pas moins complexe de démontrer l'existence d'une chasse active. Il n'y a que peu de sites qui livrent des preuves directes d'une chasse active par l'Homme de Néandertal. La découverte en 1948 à Lehringen, en Allemagne d'une lance en bois « entre » les côtes d'un éléphantidé reste l'une des plus probantes (Movius, 1950; Thieme, 1997). Si de telles découvertes restent plutôt rares du fait de la faible conservation de la matière organique végétale, ce genre de découverte n'est pas un cas isolé (e.g. Rios-Garaizar *et al.*, 2018).

Si les preuves directes sont donc rares, les preuves indirectes sont nombreuses. Ces dernières sont souvent retrouvées lors de l'étude des restes fauniques, les profils de mortalité, les représentativités des différents éléments anatomiques, les traces de découpes ou autres traces d'origine anthropique (Gaudzinski-Windheuser *et al.*, 2018) sont de solides arguments montrant que les néandertaliens maîtrisaient des stratégies de chasse complexes et organisées (voir Rendu, 2022 pour une synthèse récente). Les néandertaliens étaient donc des chasseurs efficaces capables de s'attaquer à une palette variée de gibiers. Mais la part de cette chasse dans l'alimentation, la mise en place de ces chasses, la répartition de la viande entre les individus du groupe sont quelques-unes des nombreuses questions auxquelles nous n'avons pas de réponse. L'essor de nouvelles techniques analytiques pourrait permettre de lever ces difficultés.

### b. Les données des usures dentaires

L'analyse des micro- et macro-usures dentaires est un élément essentiel des reconstructions paléo-écologiques. En tant qu'interface privilégiée avec l'environnement, les dents sont soumises à de nombreuses contraintes et dégradations naturelles. Ces dégradations sont à l'origine de motifs différents (strie, surface d'usure, fosse, ponctuation, ...) sur la couronne dentaire et vont se retrouver « imprimés » sur l'émail (Scott *et al.*, 2006; Calandra et Merceron, 2016). Ces motifs sont générés par les mouvements spécifiques liés au régime alimentaire (degré plus ou moins abrasif du bol

alimentaire) et à la mastication. Ainsi l'étude de l'ensemble de ces motifs est utilisée pour retracer des comportements alimentaires et para-masticatoires chez de nombreuses espèces fossiles et chez l'humains actuels. Cette méthodologie a notamment été utilisée pour l'étude du comportement alimentaire de divers néandertaliens (e.g. Lalueza *et al.*, 1996; Perezperez, 2003; Fiorenza *et al.*, 2019) . Ces analyses ont permis de mettre en évidence un grand nombre de comportements para-masticatoires chez les néandertaliens (e.g. Estalrriich *et al.*, 2017; Belcastro *et al.*, 2018; Estalrriich et Marín-Arroyo, 2021), mais aussi des différences de comportements alimentaires (Droke *et al.*, 2020). Les spécimens néandertaliens étudiés présentent, de manière générale, des motifs de micro-usure très hétérogènes par rapport aux autres groupes humains considérés (Homme moderne du Paléolithique, ou de périodes plus récentes). Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse selon laquelle les néandertaliens avaient un régime strictement carnivore tandis que les Hommes modernes semblent avoir un régime alimentaire plus abrasif, probablement avec une plus forte consommation de matières végétales (Lalueza *et al.*, 1996). Cependant en fonction de l'époque et de l'environnement considérés, il est possible d'observer, chez certains néandertaliens, une variabilité des micro-usures dentaires compatibles avec une exploitation plus variée des aliments disponibles qu'ils soient végétaux et/ou carnés. Des motifs d'usure dentaire plus généralistes sont notamment trouvés chez des individus provenant de périodes et zones plutôt tempérées (Fiorenza *et al.*, 2011).

Les données de macro et/ou micro-usure dentaire semblent en accord avec l'ensemble des résultats obtenus quant au caractère très carné de l'alimentation néandertalienne et indiquent une forte variation alimentaire éco-géographique en lien avec la disponibilité des ressources.

### c. Les données isotopiques

Depuis 1991/1995 et l'étude isotopique de restes néandertaliens de Marillac en Charente (Bocherens *et al.*, 1991; Fizet *et al.*, 1995), la quantité de fossiles néandertaliens analysés ne cesse d'augmenter et permet aujourd'hui d'émettre des hypothèses solides sur leurs alimentations. Le Tableau 1 regroupe les publications concernant la reconstruction de l'alimentation néandertalienne à partir des études géochimiques. Les conclusions varient peu en fonction des publications : l'Homme de Néandertal était au sommet de la chaîne trophique avec une préférence pour les herbivores. Si l'étude isotopique semble confortée l'image communément admise que l'on se fait du régime alimentaire de Néandertal, elle souffre d'un certain nombre de limites qu'il convient de rappeler.

Site	Type d' échantillon	Âge	Isotopes étudiés	Conclusion sur la subsistance de Néandertal	Source	
Marillac (Les Pradelles)	Os	60000 BP [1]	$\delta^{13}C$ ; $\delta^{15}N$	Carnivore moins spécialiste que le loup	Bocherens <i>et al.</i> , 1991, fizet <i>et al.</i> 1995	
Vindija	Os	44000 BP [2]		Carnivore	Smith <i>et al.</i> , 1999 ; Richards <i>et al.</i> , 2000	
Scladina	Os	Couche 4 130-80000 BP		Carnivore, consommateur de grands herbivores d'environnement ouvert	Bocherens <i>et al.</i> , 1999	
	Os	Couche 1 40000 BP		Carnivore, consommateur de grands herbivores de type mammouth ; ou poisson d'eau douce	Bocherens <i>et al.</i> , 2001	
Engis II	Os	35000-40000 BP		Carnivore, consommateur d' herbivores : type renne ; animaux allaités ou omnivores type ours		
Spy I	Os	36350±310/-280 BP [3]		Carnivore, consommateur de grands herbivores : type mammouth ou rhinocéros laineux		Bocherens et Drucker, 2003
Saint-Césaire (La roche à Pierrot)	Os	36200±750 BP [4]		Carnivore, consommateur de grands herbivores	Bocherens <i>et al.</i> , 2005	
Les Rochers-de- Villeneuve 1	Os	45200±1100 BP		Carnivore	Beauval <i>et al.</i> , 2006	
Saint-Césaire 1 (La Roche à Pierrot)	Os	36200±750 BP [4]		$Sr/Ca$ ; $Ba/Ca$ ; $\delta^{13}C$ ; $\delta^{15}N$	Carnivore, consommateur de poisson 30 %; bovidé 58 %; cheval/rhinocéros 22 %; renne 13 %; mammouth 7 %	Balter et Simon, 2006
Feldhofer 1	Os	39900±620 BP [5]		$\delta^{13}C$ ; $\delta^{15}N$	Carnivore, consommateur d' herbivores terrestres, pas de preuve de poissons ou plantes	Richards et Schmitz, 2008
Jonzac 1 (Chez Pinaud)	Dents (émail)	55-40000 BP	Carnivore, consommateur d' herbivores de type bovidé ou cheval		Richards <i>et al.</i> , 2008	

Spy I et II	Dents (émail)	36350±310/-280 BP [3]	δ13C; δ15N	Carnivore, consommateur de grands herbivores type mammoth, rhinocéros laineux	Bocherens, 2013			
	Os	33940±220/-210 BP [3]						
Payre	Dents (émail)	251000±2500 BP [6]						
Okladinkov	Os	40000 BP	δ13C; δ15N	Absence de différence de régime alimentaire entre les différentes classes d' âge et de sexe ; Chasse herbivores, chasse aux jeunes fait partie des stratégies	Dobrovolskaya et Tiunov, 2013			
Spy I et II	Dents (émail)	36350±310/-280 BP [3]				δ15N d'acide aminé	Carnivore, consommateur de bovidés, chevaux, renne et de 20 % végétaux	Naito <i>et al.</i> , 2016
	Os	33940±220/-210 BP [3]						
Payre	Dents (émail)	251000±2500 BP [6]	δ13C; δ18O	Exploitation différente de l' environnement en fonction de l' époque	Bocherens <i>et al.</i> , 2016			
Goyet (troisième caverne)	Os	40-45000 BP [7]	δ13C; δ15N	Carnivore, consommateur de mammoth : 30-40 %; rhinoceros:20 %; renne: 25 %; cheval/ boviné:0- 10 %	Wißing <i>et al.</i> , 2016			
Arcy-sur-Cure (Grotte du Renne)	Os	36 840 ± 660 BP	δ15N d'acide aminé	Trace d' allaitement, par une mère avec une alimentation de type carnivore	Welker <i>et al.</i> 2016			
Les Cottés		39 485 ± 271 BP		Consommation de viande de mammifères	Jaouen <i>et al.</i> 2019			
Chagyrskaya Cave	Os	60-50000 BP	δ13C; δ15N	Niveau trophique élevé, mais présence de végétaux dans l' alimentation	Salazar-García <i>et al.</i> 2021			
Gabasa	Dents (émail)		δ66Zn, δ13C, δ18O, δ87Sr, Sr/Ca, Ba/Ca	Consommation de viande de mammifères, alimentation distincte des autres carnivores	Jaouen <i>et al.</i> 2022			

**Tableau 1 : Résumé des données isotopiques sur l'Homme de Néandertal ayant fait l'objet d'une publication et conclusion sur la subsistance. Datation ([1] Frouin *et al.*, 2017 ; [2] Devèse *et al.*, 2017) ; [3] Semal *et al.*, 2009 ; [4] Hublin *et al.*, 2012 ; [5] Schmitz *et al.*, 2002 ; [6] Valladas *et al.*, 2008 ; [7] Rougier *et al.*, 2016). Summary of published Neandertal isotope data and conclusion on subsistence.**

La majorité des analyses concerne une période de temps récente, c'est-à-dire autour de 50 000 ans cal BP. De plus elles fournissent des informations sur la provenance des sources protéiniques grâce à l'utilisation des isotopes stables de l'azote. Ainsi, les aliments pauvres en protéines (tel que le miel, les tubercules, ou des végétaux riches en vitamines) ne sont pas estimés lors de ces analyses (Richards et Trinkaus, 2009) ou leurs apports sont grandement sous-estimés car contribuant trop faiblement aux apports en azote. Il faut, par exemple, dix fois plus de végétaux que de viande pour intégrer la même quantité d'azote (Balter, 2007). C'est pourquoi, de nouvelles méthodes d'analyses se mettent en place, telles que l'étude de l'azote des acides aminés (Naito et al., 2016), de nouveaux systèmes isotopiques (Zn, Ca) ou rapports élémentaires (Sr/Ca et Ba/Ca ; Balter et Simon, 2006). De telles études suggèrent que la part végétale de l'alimentation des néandertaliens serait plus importante que celle estimée auparavant, pouvant atteindre jusqu'à 20 % (Naito et al., 2016). Si les analyses isotopiques du carbone et de l'azote ont confirmé que l'Homme de Néandertal était un chasseur compétent, consommant régulièrement de la viande, les interrogations concernant la part végétale ou la consommation d'espèces marines ou d'oiseaux restent entières.

### d. Les données physiologiques

Comme nous avons pu le voir précédemment, l'ensemble des informations isotopiques et archéozoologiques permettent de déterminer que l'Homme de Néandertal était un grand prédateur concentrant ses chasses sur des herbivores, grands ou petits ongulés. Mais ces méthodes n'auraient-elles pas tendance à sous-estimer la proportion de plantes ? Plusieurs études démontrent qu'il existe des limites physiologiques à la quantité de protéines animales qui peut être consommées (Cordain *et al.*, 2000; Hardy, 2010; Fiorenza *et al.*, 2015), le dépassement d'un certain seuil pouvant être toxique.

Il existe plusieurs modèles visant à calculer le métabolisme de base et la dépense énergétique totale des néandertaliens (voir par exemple Steegmann *et al.*, 2002; Snodgrass et Leonard, 2009; Ocobock, 2020). Bien qu'une certaine variabilité existe, ces modèles le situent toujours à des valeurs supérieures à celles obtenues pour l'Homme moderne. Seules les populations indigènes arctiques et certains athlètes possèdent, selon le modèle, des valeurs proche ou dans la limite base des néandertaliens (Churchill 2006). Malgré leur forte demande énergétique, les membres de la lignée néandertalienne ont évolué durant un peu plus de 300 000 ans. Ils étaient donc capables de trouver suffisamment de sources d'énergie dans leur environnement. La consommation de viande s'est rapidement imposée chez les chercheurs comme l'hypothèse la plus simple. Elle était de plus

soutenue par les preuves archéozoologiques et isotopiques.

La « face obscure », si je peux m'exprimer ainsi, des protéines a depuis été mise en évidence dans divers travaux (Cordain *et al.*, 2000; Hardy, 2010; Fiorenza *et al.*, 2015). Si la consommation de protéines d'origine carnée est un moyen efficace de fournir de l'énergie au corps, elle ne doit pas être la seule source car elle n'apporte pas tous les micronutriments nécessaires, créant ainsi des carences (notamment en vitamine A, C, et E, en niacine, zinc, sélénium ou encore fer ; Hardy, 2010). Cela peut avoir un fort impact sur la fertilité et la mortalité fœtale (Hockett, 2012) et peut aussi être responsable du « mal du caribou » (appelé aussi jeûne du lapin ou intoxication protéinée) pouvant causer la mort (Fiorenza *et al.*, 2015). L'Homme n'est pas adapté à tolérer une alimentation composée de plus de 35-40 % de protéines (Cordain *et al.*, 2000; Hardy, 2010; Fiorenza *et al.*, 2015). Les études ethnographiques ont pu démontrer que si une grande partie des groupes de chasseurs cueilleurs (73 %) obtiennent plus de 50 % (>56-65 %) de leur énergie à partir d'espèces animales (Cordain *et al.*, 2000), c'est la consommation de graisse animale ne contenant pas ou peu de protéines qui permet de ne pas saturer l'organisme. La part restant d'énergie est fournie par les glucides contenus dans les végétaux (Cordain *et al.*, 2000; Fiorenza *et al.*, 2015). En prenant en compte ces arguments métaboliques, il devient très peu probable que les néandertaliens aient possédé une alimentation composée de 100 % de viande animale. Une proportion de l'ordre de 70 % serait plus en adéquation avec les données métaboliques et ethnographiques (Speth and Spielmann, 1983; Cordain *et al.*, 2000; Speth, 2010).

### e. Les données archéobotaniques

Longtemps resté mystérieux, la place des plantes dans le régime alimentaire de l'Homme de Néandertal commence petit à petit à être documenté. Le Tableau 2 regroupe les données concernant la consommation de végétaux par l'Homme de Néandertal. Une grande partie des connaissances sur la part des végétaux dans l'alimentation néandertalienne est due aux récentes études sur le tarte dentaire. Ce sont d'abord les traces d'usures retrouvées sur des outils moustériens qui ont montré que certains d'entre eux avaient servi à la préparation de matériel végétal (Hardy, 2004).



Tableau 2 : Compilations des données directes concernant l'utilisation de végétaux par Néandertal. Compilations of direct evidences on Neandertal plant use

Site/Individu	Référence	Transformation des végétaux	Conclusion sur la subsistance	Datation	Échantillon
Kebara	Albert <i>et al.</i> 2000		Bois, écorce et herbacé utilisés comme combustible + autres végétaux non nécessaires au feu	48.300±3500 a 59.900±3500 BP	Phytolithes des sédiments, fruits et graines brûlées
Amud	Madella <i>et al.</i> 2002		Herbes de type poaceae utiliser comme litière, combustible et alimentation, espèces ligneuses utilisées comme combustible et pour fruit (datte et figue)	70.000-55.000 BP	Phytolithes des sédiments
Kebara	Lev <i>et al.</i> 2005		Très nombreuses légumineuses, présence de noix, gland et pistache, rares graminées	65.000-48.000 B.P.	Graines et fruits carbonisé
Shanidar III	Henry <i>et al.</i> 2010	Schéma de cuisson en présence d'eau	Phytolithes de triticeae potentiellement de l'orge ( <i>Horeum spontaneum</i> ou <i>horeum hexastichin</i> ), Phytolithes d'arbre à fruit type palmier dattier amidon de légumineuse type <i>Pisum spp</i> ou <i>Cicer spp</i> , amidon d'organe de stockage souterrain	50.000 B.P.	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
Spy I et II	Henry <i>et al.</i> 2010		Amidon d'organe de stockage souterrain de type nénuphar, amidon de graminées de la famille des andropogoneae (Sorgho)	36.000 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
El Sidron (5 individus)	Hardy <i>et al.</i> 2012	Traces de féculent cuit et d'éléments moulus, potentiels aliments fumées	Inhalation de fumée d'espèces ligneuse, achillée mille-feuille et camomille	47.300-50.600 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
El Salt	Sistiaga <i>et al.</i> 2014		Consommation élevée de viande mais présence des marqueurs de consommation de végétaux	60.700 ± 8.900 BP à 45.200±3.400 BP	Biomarqueur de feces humain
Kulna	Henry <i>et al.</i> 2014		Herbes de la famille des Triticeae	50.000-40.000 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire

Quina	Henry <i>et al.</i> 2014		Herbe de la famille des Triticeae	71.000-48.000 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
Abri des merveilles	Henry <i>et al.</i> 2014		Herbe de la famille des Triticeae et herbe de la famille des Andropogoneae ou Paniceae	49.000-39.000 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
Gorham's Cave	Henry <i>et al.</i> 2014		Herbe de la famille des Triticeae et herbe de la famille des Andropogoneae ou Paniceae	47.000-33.000 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
Grotte des fée, Goyet, la chapelle au saint, Malarnaud, la ferrassie	Henry <i>et al.</i> 2014		Traces de d'amidon non déterminées	Entre 40 000 et 70 000 BP	Phytolithes et amidon de tartre dentaire
Abrigo de la Quebrada	Esteban <i>et al.</i> 2015		Biomasse aérienne d'herbes et dicotylédone lié au feu (cendres très nombreuses)	Du 40.500±530 BP au MIS5b	Phytolithes des sédiments
El Sidron	Radini <i>et al.</i> 2016		Bois de conifère non lié a l'alimentation	47.300-50.600 BP	Tartre dentaire
El Sidron 1 et 2	Weyrich <i>et al.</i> 2017		Traces d'ADN de Rhinoceros, mouton et champignon	47.300-50.600 BP	ADN de tartre dentaire
Spy I et II	Weyrich <i>et al.</i> 2017	Herbe moulu	Pas d'ADN animal, traces d'ADN de champignon, pignon de pin, mousse, peuplier et d'herbes	36.000 BP	ADN de tartre dentaire
Chagyrskaya Cave	Salazar-García <i>et al.</i> 2021		Les plantes étaient également exploitées, probablement pour les micronutriments ou comme source d'énergie saisonnière mineure	60-50000 BP	Micro reste du tartre dentaire
Grotte de Shanidar	Kabukcu <i>et al.</i> 2022	Broyage grossier des graines de légumineuse, et possible cuisson	Préparation de légumineuse associé a la cuisson, utilisation d' herbe aromatique, moutarde. Possible présence de noix, pistache	≈ 40 000 BP et 70-75 000BP	Macro restes végétales carbonisées

Puis des sites du proche Orient se sont révélés être de très bons conservateurs de matière organique végétale moustérienne. Ainsi, on a pu trouver plus de 4000 restes de graines carbonisées à Kébara en Israël (Albert et Weiner, 2000; Lev *et al.*, 2005). Une telle accumulation ne peut qu'être la conséquence de pratiques alimentaires des occupants de la cavité (Lev *et al.*, 2005). S'il s'agit là de l'exemple le plus marquant, la présence de restes végétaux est aussi attestée au sein de nombreux sites européens. Il reste toutefois difficile d'associer ces vestiges à une pratique alimentaire car ils sont souvent trouvés lors de la fouille d'aires de combustion ou à proximité de foyers. Leur utilisation pouvait donc s'être limitée à celle de combustible (Esteban *et al.*, 2015). L'analyse des phytolithes et de l'amidon contenus dans le tartre dentaire (voir par exemple Henry *et al.*, 2011, 2014) apporte non seulement la preuve que des végétaux ont été consommés par l'Homme de Néandertal, mais nous renseigne aussi sur ses pratiques culinaires (aliments cuits en présence d'eau, moulus ou encore fumés; Henry *et al.*, 2011; Hardy *et al.*, 2012). Il est donc indubitable que des végétaux aient fait partie intégrante du régime alimentaire des Néandertaliens même s'il reste difficile d'en estimer la proportion. Ce sont les champignons et mousses, les amylacées (plantes riches en amidon) notamment les graminées (*Triticeae*, *Andropogoneae* et *Paniceae*) et les organes de stockage souterrain qui semblent avoir été les plus consommés par les néandertaliens d'Europe (voir Tableau 2). Mais il ne faut pas négliger les données montrant la consommation de fruits et d'éléments aux vertus aromatiques et/ou médicinales (Hardy *et al.*, 2012). Si les néandertaliens conservent leur statut de chasseurs de grand gibier, ce serait une erreur de considérer qu'ils ont ignoré la richesse que pouvait leur fournir leur environnement. Leurs stratégies de subsistance semblent donc se complexifier au gré des nouvelles avancées scientifiques et techniques (voir Salazar-García *et al.*, 2021 pour une approche combinant isotopie et analyse du tartre dentaire).

### C. Homme moderne/ Homme de Néandertal, à la recherche des différences

Le passage entre le Paléolithique moyen et le Paléolithique supérieur est un point majeur de l'évolution humaine. Il marque la fin de la pluralité du genre *Homo* et l'expansion presque sans limite de l'Homme moderne (Demeter *et al.*, 2015; Clarkson *et al.*, 2017; Westaway *et al.*, 2017). Cette période de remplacement est précédée par une longue période de cohabitation entre l'Homme de Néandertal et l'Homme moderne (Higham *et al.*, 2014). Bien qu'indiscutables, les rencontres entre ces deux groupes pourraient n'avoir été que ponctuelles (Villanea et Schraiber, 2019; Hajdinjak *et al.*, 2021), en témoigne les évolutions culturelles, techniques, matérielles ou géographiques décrites comme différentes sur de nombreux points. Si les hypothèses concernant le

remplacement de l'Homme de Néandertal par l'Homme moderne sont nombreuses, aucune ne fait encore consensus. Une différence dans les pratiques alimentaires est l'une des hypothèses parmi les plus retenues servant à expliquer le remplacement de Néandertal. Deux zones géographiques se prêtent particulièrement bien à l'étude comparative de l'alimentation des néandertaliens et des Hommes modernes. Du fait de sa position géographique, le Proche-Orient, porte d'entrée en Europe pour les groupes modernes, représente aussi la zone d'extension maximale vers le Sud des territoires néandertaliens. Cette région représente ainsi une zone de cohabitation potentielle. L'abondance de sites ainsi qu'une présence quasi continue des néandertaliens font de l'Europe de l'ouest une seconde zone privilégiée pour l'étude du remplacement de l'Homme de Néandertal au profit de l'Homme moderne.

### a. Les espèces animales consommées

Lorsque l'on considère les différences alimentaires qui peuvent exister entre l'Homme de Néandertal et l'Homme moderne, une des premières hypothèses est de considérer qu'il existe un spectre différent de proies (Mellars, 1996). On considère souvent les néandertaliens comme moins « plastiques » avec un spectre écologique plus restreint focalisé sur la viande de grands mammifères tandis que l'Homme moderne possède un spectre écologique plus large incluant notamment des ressources maritimes, des rivières ou des proies de petites tailles, avec un apport végétal plus important. De plus, la spécialisation de l'Homme moderne dans la chasse (ultra spécialisation dans la chasse du renne à l'Aurignacien par exemple) a souvent été opposée à un plus grand opportunisme de la part de l'Homme de Néandertal. Ces deux hypothèses sont aujourd'hui largement critiquées par l'analyse à plus grande échelle des sites et de nombreuses découvertes récentes, on peut notamment citer les travaux récents (Grayson and Delpech, 2002; Daujeard et al., 2019) pour l'Europe de l'Ouest. Cependant, il reste difficile d'établir une véritable comparaison entre les deux groupes. Le plus souvent les restes étudiés concernent de grands intervalles chronologiques ou des localisations géographiquement différentes. Les niches écologiques étant fortement influencées par l'environnement, ces comparaisons sont à prendre avec précaution. Une telle différence quant aux capacités cynégétiques sera étudiée ici à travers plusieurs exemples traitant des proies dont la prédation a longtemps été considérée comme l'apanage de l'Homme moderne.

Si on considère l'exploitation des petits mammifères, l'analyse faite par Fa *et al.* en 2013 de l'évolution de la quantité de lapins dans les assemblages fauniques espagnols sur une longue période de temps tend à démontrer que les néandertaliens n'ont pas opté pour un changement de proies

depuis les grands herbivores vers ces petits rongeurs (représentés par le lapin dans le cadre de son étude ; Figure 10). Le Lapin présente un grand intérêt dans l'étude des proies de petites tailles car en raison de sa vivacité, il représente une proie difficile à capturer pour des chasseurs spécialisés dans la chasse au grand gibier. Ainsi, les petits mammifères (tels que le lapin ou le lièvre) nécessitant une organisation particulière pour leur capture semblent n'avoir été que peu exploités par les néandertaliens. A l'inverse, les proies de petites tailles facilement disponibles telles que les tortues semblent faire partie intégrante du régime alimentaire néandertalien (pour une revue récente sur les proies de petite taille voir Blasco *et al.*, 2022). Ces résultats restent toutefois à nuancer car il existe plusieurs sites attestant de la consommation de lagomorphe (Morin *et al.*, 2019)

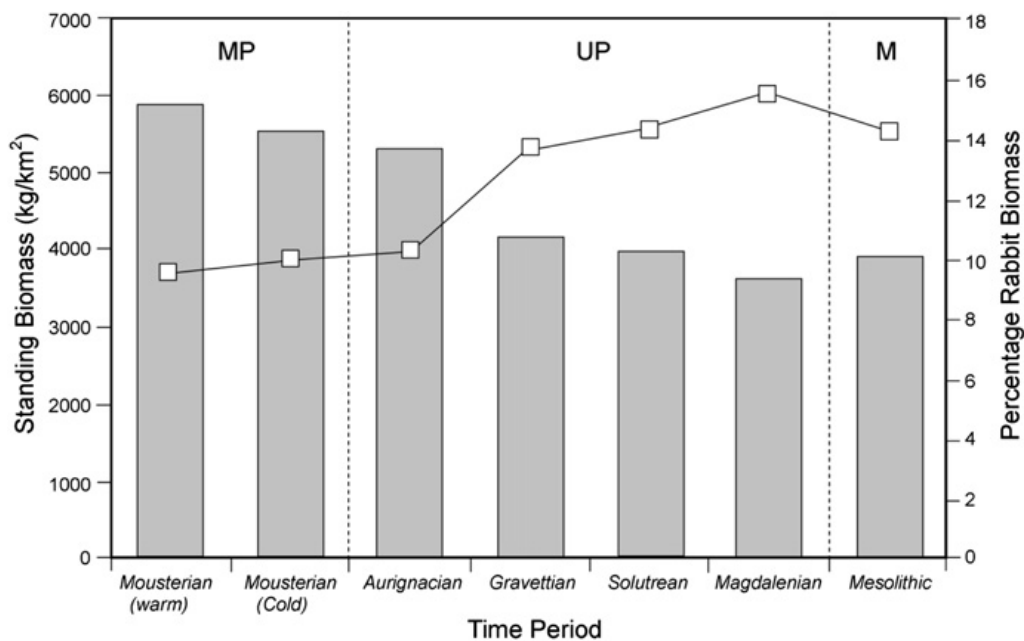


Figure 10 : Évolution de la biomasse des mammifères terrestres provenant de différents assemblages fauniques entre le moustérien et le Mésolithique. Les carrés et la ligne noire représente la contribution du lapin à la biomasse globale (en %). MP correspond au Paléolithique moyen et à la présence de l'Homme de Néandertal en Europe. UP correspond au Paléolithique supérieur et signe le remplacement total de l'Homme de Néandertal par les populations modernes. M correspond au Mésolithique (d'après Fa *et al.*, 2013). Evolution of terrestrial mammal biomass from different faunal assemblages between the Mousterian and Mesolithic periods. The square and the black line represent the contribution of rabbit to the overall biomass (in %). MP corresponds to the Middle Paleolithic and the presence of Neandertals in Europe. UP corresponds to the Upper Paleolithic and indicates the total replacement of Neandertals by modern populations. M corresponds to the Mesolithic (from Fa *et al.*, 2013)

La propension à exploiter le milieu aquatique est aussi souvent décrite comme une des grandes différences comportementales entre Homme moderne et Homme de Néandertal. L'étude présentée sur la Figure 11 fait « l'état des lieux » des restes de poissons retrouvés sur une sélection de sites du paléolithique moyen (Guillaud *et al.*, 2021). Les auteurs ont mis au point un ensemble de critères permettant d'identifier les accumulations de poissons liées à l'activité humaine et celles liées à

l'activité d'autres espèces telles que les oiseaux (*Corvidea*, *Falconidea*, *Strigidae*) ou certains carnivores (*Canidea*, *Mustelidea*, *Ursidea*).

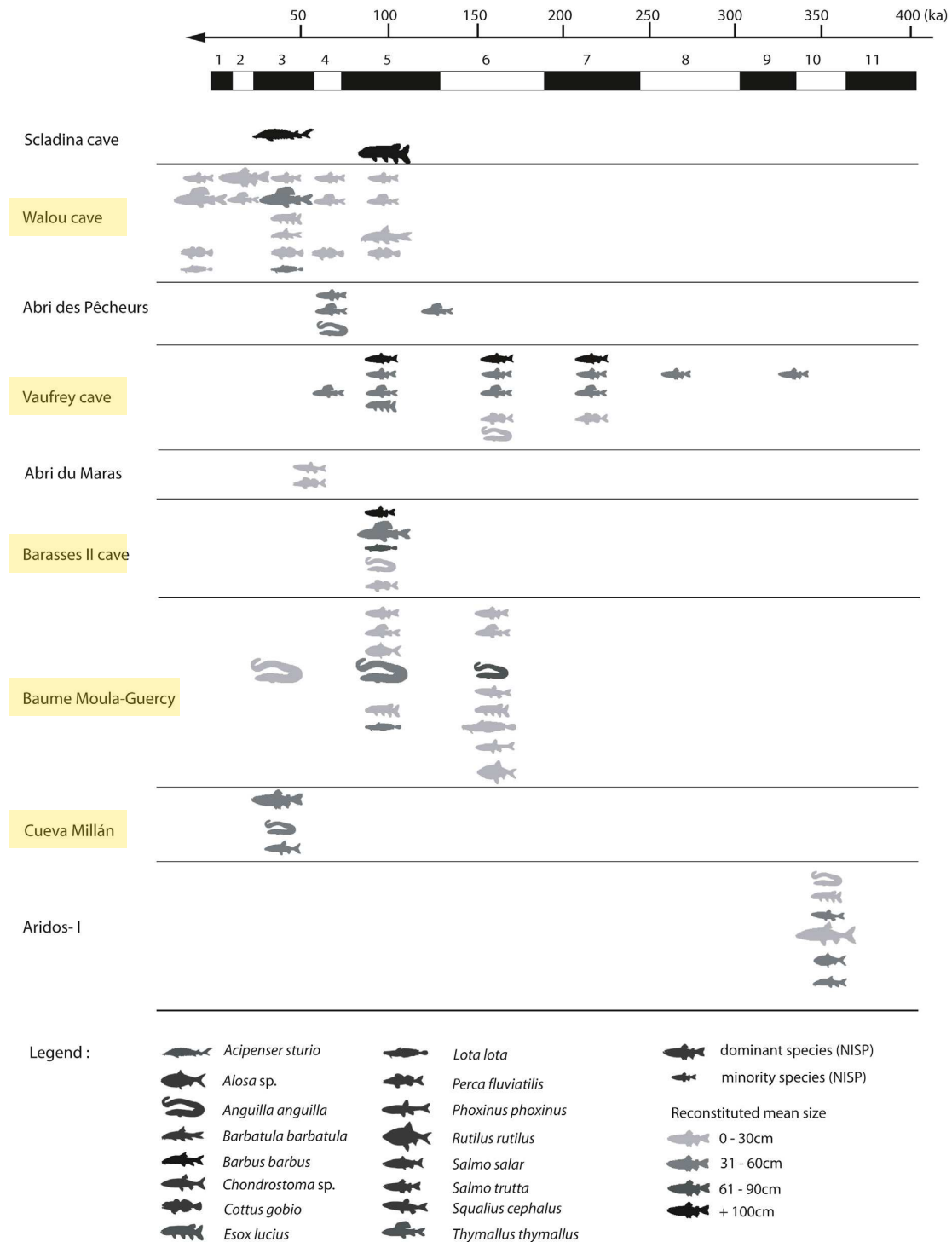


Figure 11 : Distribution des espèces de poissons au sein de différents sites du Paléolithique moyen selon la période chronologique (d'après Guillaud et al., 2021). Les sites identifiés en jaune sont ceux pour lesquels l'Homme de Néandertal a joué un rôle significatif dans l'accumulation. Distribution of fish species at different Middle Palaeolithic sites according to chronological period (from Guillaud et al., 2021). The sites identified in yellow are those for which Neandertal played a significant role in the accumulation.

Après avoir écarté le mieux possible les assemblages pouvant résulter de l'accumulation par

des prédateurs autres que l'Homme, les auteurs arrivent à la conclusion que 5 des 9 sites étudiés semblent convaincants et suggèrent que les néandertaliens pourraient avoir joué un rôle dans l'accumulation de certains des restes de poissons. Si l'ensemble des sites présentés dans cette étude peut sembler limité, il faut rappeler que les variations du niveau marin compliquent grandement l'étude des ressources côtières par l'Homme de Néandertal car de nombreux sites sont aujourd'hui totalement submergés (Dutton et al., 2015).

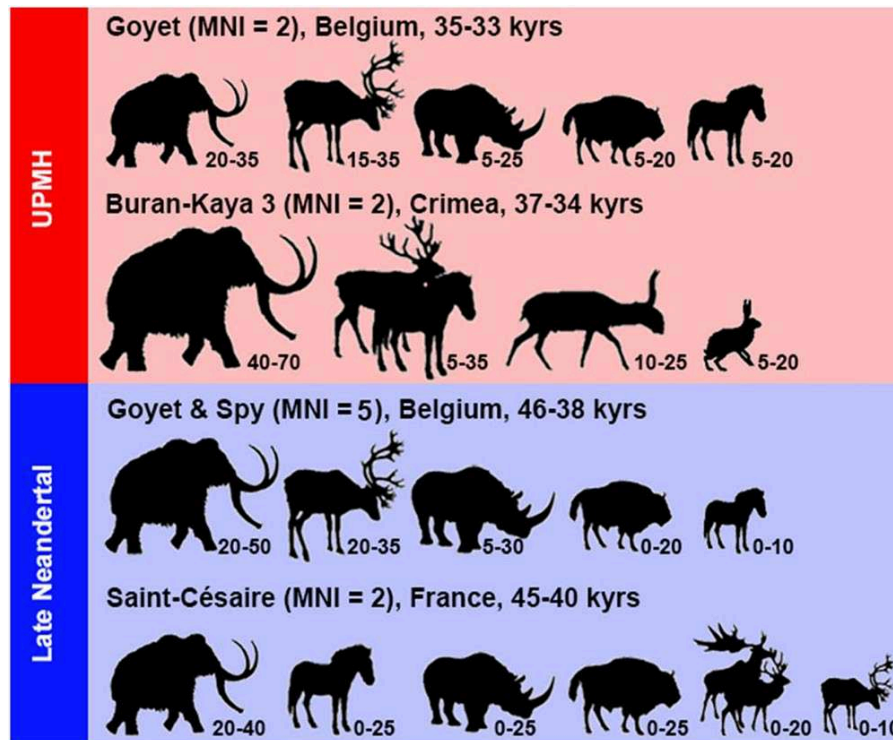


Figure 12 : Proportions relatives (en %) des différentes proies pour l'Homme moderne du Paléolithique supérieur (UPMH) et pour les néandertaliens tardifs (d'après Wißing et al., 2019). Relative proportions (in %) of different prey items for Upper Paleolithic Modern Man (UPMH) and Late Neandertals (from Wißing et al., 2019).

Les deux études présentées précédemment nous ont permis de mettre en évidence que le spectre de proies consommées par les néandertaliens était bien plus vaste que celui estimé auparavant. Toutefois les proies aquatiques et autres proies de petites tailles ne semblent pas représenter une part importante de l'alimentation des néandertaliens. Elles pourraient plutôt venir en complément, comme ressource d'appoint, la plus grande partie de l'alimentation animale restant associée aux grands herbivores terrestres. L'analyse présentée ci-dessus (Wißing et al., 2019) cherche à établir s'il existe des différences entre les derniers néandertaliens et les premiers Hommes modernes d'Europe. L'avantage de cette étude vient de la comparaison d'Hommes modernes et de néandertaliens provenant du même site, la troisième caverne de Goyet, en Belgique. Cette étude

montre un régime alimentaire très proche entre les deux groupes, en matière de proies chassées, avec une large dominance du mammoth suivie par le renne ou le cheval. La seule distinction vient de la présence de lapin chez les UPMH (Upper Paleolithic Modern Human). Cette distinction vient corroborer l'hypothèse présentée précédemment d'une moins grande proportion de petits mammifères au sein de l'alimentation des néandertaliens. Cette étude met aussi en avant des différences dans les stratégies d'acquisition des proies (voir Partie I. Chapitre 2. B. b. Les stratégies de subsistance).

Comme nous avons pu le voir avec les différentes études présentées ci-dessus, la différence de stratégie alimentaire entre l'Homme de Néandertal et l'Homme moderne n'est pas aussi « simpliste » que celle qui est généralement présentée. Il est incontestable que des différences ont pu exister entre les proies préférentielles des deux groupes, mais celles-ci doivent être reliées aux stratégies de chasse ainsi qu'à une évolution des biotopes.

### b. Les stratégies de subsistance

Bien qu'un certain nombre de différences puisse exister entre le spectre faunique des néandertaliens et celui des Hommes modernes qui les remplacent, celles-ci semblent se limiter à l'exploitation de proies de petite taille. La différence est peut-être à chercher au niveau des stratégies de chasse mises en place par les deux groupes. Là encore, les indices de différences entre Hommes de Néandertal et Hommes modernes sont peu nombreux. Il est clairement établi que les néandertaliens possèdent une certaine organisation dans leurs activités de chasse (e.g. Delagnes and Rendu, 2011; Marín et al., 2017; Gaudzinski-Windheuser et al., 2018; Romandini et al., 2018). Les profils de mortalité semblent indiquer que des animaux spécifiques sont prélevés, avec une sélection des cibles les plus rentables.

La présence dans le registre des proies de grands herbivores impossibles à chasser seul ou encore d'abattages en masse de certaines espèces témoignent d'une coopération importante au sein du groupe de chasseurs, et révèlent des stratégies de chasse bien adaptées au milieu. Une exploitation de l'environnement dans une plus grande globalité semble être envisagée pour l'Homme moderne en comparaison avec l'Homme de Néandertal (Wißing *et al.*, 2019). Mais il reste toujours difficile de faire la distinction entre une évolution des proies chassées en lien avec l'environnement et les stratégies de sélection et de chasse mises en place.

## D. Conclusion sur le régime alimentaire des néandertaliens



Il est important de ne pas exclure de nos conclusions sur les stratégies de subsistance des néandertaliens la question des traditions culturelles. Aujourd'hui, les préférences et tabous alimentaires représentent une part importante de l'identité culturelle et sociale des individus, mais qu'en était-il chez l'Homme de Néandertal ? S'il nous sera probablement impossible de saisir certaines variations dans les pratiques culinaires des néandertaliens, d'autres aspects sont quant à eux à notre portée. Ainsi, il a pu être mis en évidence que certaines pratiques bouchères divergent entre les groupes de néandertaliens. Il peut s'agir de différences techniques comme montrées sur les ensembles de l'abri du Maras ou de la grotte de Saint-Marcel avec la mise en évidence de schémas standardisés de fracturation osseuse très différents de ceux retrouvés pour la même période à Riparo Tagliente (Vettese *et al.*, 2022).

Chaque jour de nouvelles informations viennent enrichir nos connaissances sur le régime alimentaire des néandertaliens. Ainsi, ils sont passés en quelques décennies de charognards carnivores à des chasseurs organisés avec une diversité d'acquisition de ressources alimentaires importante dont une grande part d'origine animale (probablement plus de la moitié des ressources), mais aussi une part de végétaux sous diverses formes ainsi que des produits issus d'environnements aquatiques (voir Partie I. Chapitre 2. C.a. Les espèces). Le choix des proies semble être dicté principalement par la disponibilité locale, en fonction des saisons et des environnements.

## Chapitre 3 : Problématiques et plan de la thèse

Cette thèse cherche à montrer le potentiel que peuvent présenter les isotopes du Calcium dans le cadre de la reconstitution de réseaux trophiques en contexte anthropologique et plus particulièrement dans celui concernant l'évolution de la lignée néandertalienne en Europe. L'histoire évolutive de l'Homme est complexe. Elle met en jeu une multitude de facteurs dont l'alimentation semble être un des plus importants. Comme nous avons pu le voir, l'alimentation de l'Homme de Néandertal est extrêmement plus complexe que ce que l'on pourrait le penser de prime-abord. Mais même si nous possédons aujourd'hui un certain nombre de certitudes, beaucoup d'hypothèses restent encore à tester.

Dans un premier temps nous allons exposer les différents protocoles mis en place durant cette thèse, le but est de pouvoir analyser un maximum de tissus biologiques possible, qu'ils soient fossiles ou non. Cela comprend notamment les tissus mous d'animaux et des végétaux. Le but est de permettre l'établissement d'une base de données de tissus biologiques qui sera utilisée dans un second temps. Dans cette première partie, nous mettons aussi l'accent sur le tissu osseux et notamment son état de préservation en contexte archéologique et son traitement dans le cadre de l'utilisation des isotopes du calcium. La méthodologie de traitement mise en place dans cette première partie sera ensuite appliquée tout au long de la thèse.

Dans un second temps nous présenterons les résultats obtenus sur les différents tissus biologiques analysés. Nous discuterons des liens qui peuvent exister entre les différents organes d'un même végétal, ou encore entre différents tissus d'un même individu dans le but d'établir une carte des différentes sources de calcium présentes dans l'environnement et pouvant influencer la composition isotopique d'un réseau trophique. L'influence de la localité sur les compositions isotopiques du calcium sera discutée au regard des nouvelles informations obtenues sur la végétation provenant de différentes localités connues notamment d'Afrique du Sud. Les informations obtenues sur les compositions isotopiques des végétaux d'Afrique du sud seront appliquées à un réseau trophique fossiles déjà analysé (Tacaïl *et al.*, 2019).

Enfin nous appliqueront la méthodologie mise en place dans les deux premières parties à l'étude d'échantillons archéologiques et paléanthropologiques provenant de 8 gisements archéologiques distincts dont 6 ont livrés au moins un individu néandertalien. Alors, nous nous intéresserons aux possibilités qu'offrent les isotopes du calcium dans le cas d'études archéozoologiques. Puis, une analyse site par site sera effectuée afin de comprendre le

positionnement des différents individus néandertaliens au sein de leur écosystème. Les données obtenues dans la partie précédente sur les compositions isotopiques des organes végétaux et des différents tissus animaux seront exploitées en se basant sur le principe d'actualisme afin de mieux comprendre les relations sources/consommateurs. Enfin nous chercherons à mettre en perspective ces résultats dans le cadre plus vaste d'une meilleure compréhension de l'évolution des pratiques alimentaires chez l'Homme de Néandertal et ces liens avec l'évolution de cette lignée.

## Partie II

# Matériels et méthodes

---

## Sommaire

Chapitre 1 : Cadre anthropologique, environnemental et archéologique.....	38
<b>A. Présentation des sites.....</b>	<b>38</b>
a. Jaurens (Corrèze).....	38
b. Le Moustier (Dordogne).....	39
c. Camiac (Gironde).....	41
d. La grotte du Bison (Yonne).....	42
e. Les Pradelles (Charente).....	45
f. Regourdou (Dordogne).....	47
g. Sirogne (Lot).....	49
h. Tourville-la-Rivière (Seine-Maritime).....	50
<b>B. Matériel anthropologique étudié.....</b>	<b>51</b>
<b>C. Matériel faunique étudié.....</b>	<b>52</b>
Chapitre 2 : Description des différents tissus analysés.....	54
<b>A. Prélèvement et préparation des échantillons.....</b>	<b>54</b>
a. Contraintes analytiques liées au matériel archéologique.....	54
b. Méthode de prélèvement.....	55
c. Impact de la diagenèse sur les tissus minéralisés.....	58
<b>B. Résolution spatiale, temporelle et justesse des analyses des tissus minéralisés.....</b>	<b>67</b>
a. Les différents tissus minéralisés.....	67
b. Variations intra-individuelles de la composition isotopique du calcium des tissus minéralisés.....	70
Chapitre 3 : Principe général d'analyses isotopiques et élémentaires.....	73
<b>A. Séparation et purification des échantillons.....</b>	<b>73</b>
a. Pré-traitement et digestion des échantillons.....	73
b. Extraction et purification du calcium dans les différents tissus analysés.....	74
i. Principe de la chromatographie.....	74
ii. Protocole de purification du calcium.....	75
<b>B. Mesure des concentrations et des isotopes stables du calcium.....</b>	<b>76</b>
a. Mesures des concentrations des éléments majeurs et traces.....	76
b. Mesure des rapports isotopiques du calcium.....	78
<b>C. Qualité des mesures isotopiques.....</b>	<b>79</b>
a. Reproductibilité des mesures isotopiques.....	79
b. Justesse des mesures isotopiques.....	82
c. Standard de référence et compilation des données de la littérature.....	84

## Chapitre 1 : Cadre anthropologique, environnemental et archéologique

Ce chapitre a pour objectif de présenter les différents sites étudiés, dans l'état actuel des connaissances puis de les replacer dans leurs contextes environnementaux, chronologiques et archéologiques.

### A. Présentation des sites



Figure 13 : Localisation des gisements étudiés du Sud-Ouest de la France. Location of the studied archaeological sites coming from the South-West of France.

#### a. Jaurens (Corrèze)

Le gisement de Jaurens situé sur la commune de Nespoules en Corrèze est un des gisements paléontologiques les plus importants de la région (Figure 13). Il est très connu pour sa richesse en fossiles de vertébrés du Pléistocène. Suite à sa découverte lors de l'ouverture d'une carrière de calcaire (Guérin *et al.*, 1979), il a fait l'objet d'une fouille de sauvetage conduite par le département

de sciences de la terre de l'Université Claude-Bernard et le muséum de Lyon entre 1968 et 1972. Le gisement est paléontologique sans trace d'activité humaine, seule une canine néandertalienne est présente dans l'assemblage fauniques (Bouvier et Mein, 1983 ; Guérin *et al.*, 2002). Cette dernière s'avère être en fait une incisive inférieure d'ursidé, confusion relativement fréquente dans de tels assemblages (B. Maureille, com. pers). La grotte de Jaurens est une galerie simple d'une cinquantaine de mètres se terminant par une salle, le remplissage comporte 7 couches dont seules les deux supérieures sont fossilifères (Debard, 1979). La majorité des fossiles ont été mis au jour au sein de la couche I et en surface (Figure 14). Les dépôts de surface et ceux de la couche I ont probablement eu lieu en deux temps, d'abord une accumulation de cadavres en amont de la grotte suivie d'un dépôt dans la grotte suite à une crue violente (Guérin *et al.*, 1979).

Les espèces dominantes sont le bison, le cheval et le renne dont l'assemblage présentent des individus de tous âges (Guérin *et al.*, 2002). L'étude du spectre faunique a permis de définir l'environnement comme relativement ouvert avec un climat frais et humide (Guérin *et al.*, 2002). Une datation relative, réalisée sur la base de l'association faunique attribuée à l'assemblage un âge « würmien supérieur » (David, 1968). Cette estimation a été trouvée confirmée par une série de datations par radiocarbone de vestiges fauniques qui placent l'assemblage au sein de l'intervalle chronologique  $32\ 630 \pm 2\ 900$ - $29\ 300 \pm 1\ 400$  BP (Guérin *et al.*, 1979).

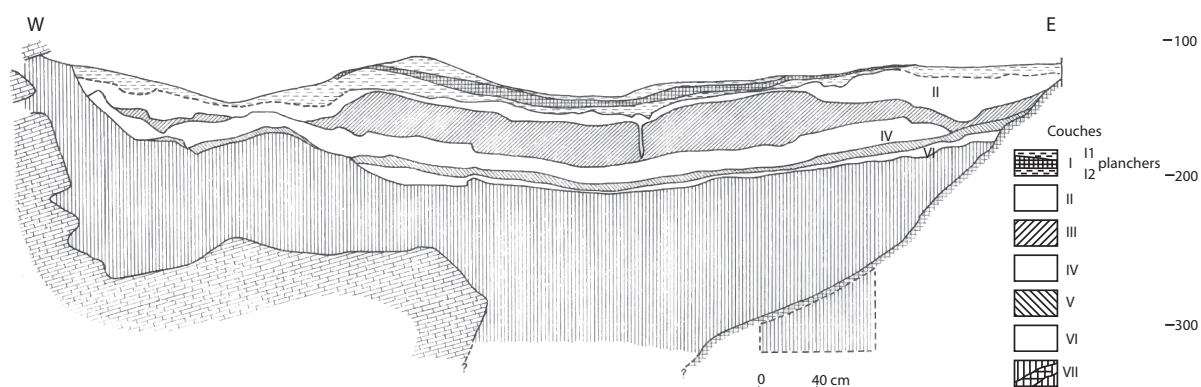


Figure 14 : **Stratigraphie du remplissage de Jaurens**, relevé de Guérin en 1971 (d'après Guérin *et al.* 1979). **Stratigraphy of Jaurens deposit**, taken by Guérin in 1971 (from Guérin *et al.* 1979).

## b. Le Moustier (Dordogne)

Les gisements du Moustier se situent sur les communes de Peyzac-le-Moustier et Saint-Léon-sur-Vézère à la confluence des vallées de la Vézère et du Vimont (Figure 13). Ils représentent trois abris distincts : au sommet de la falaise se trouve un petit abri, puis à un niveau intermédiaire de la

falaise nous trouvons l'abri supérieur (ou classique) et enfin au pied de la falaise l'abri inférieur (ou abri Peyrony ; Gravina et Discamps, 2015). L'abri supérieur est bien connu des préhistoriens car il s'agit du site éponyme du Moustérien (de Mortillet, 1867). Il fut totalement vidé de son contenu au cours des différentes « fouilles » durant le XIX<sup>e</sup> siècle et le premier quart du XX<sup>e</sup>. Les collections les plus importantes et les mieux documentées scientifiquement proviennent de l'abri inférieur. C'est au sein de celui-ci que furent mis au jour des restes néandertaliens (Hauser, 1909; Peyrony, 1921). L'abri inférieur est d'abord exploité par O. Hauser qui récolte une industrie à bifaces et y exhume le squelette d'un adolescent néandertalien, le Moustier 1 (Hauser, 1909). Les conditions de cette découverte sont déplorables (plusieurs fois exhumé puis ré-enseveli). De vraies fouilles scientifiques sont entreprises par D. Peyrony de 1912 à 1914 et en 1930 (Peyrony, 1930). Elles ont permis la mise au jour d'un nouveau-né néandertalien inhumé depuis la couche J, la fosse funéraire atteignant la couche H (Figure 15; Peyrony, 1921). Les vestiges humains issus de l'abri inférieur connurent par la suite une histoire « mouvementée », l'adolescent néandertalien le Moustier 1 conservé au musée d'ethnographie de Berlin en Allemagne fut presque totalement détruit lors d'un incendie durant la Seconde Guerre mondiale (Vallois, 1967), seul le crâne conservé séparément existe encore en relativement bon état (Heberer, 1956). Le très jeune enfant le Moustier 2 exhumé en 1914 fut quant à lui considéré comme perdu durant de nombreuses années avant d'être redécouvert dans les collections du Musée national de la préhistoire (Les Eyzies) en 1996 par B. Maureille (Maureille, 2002a, 2002b). Il a pu faire l'objet d'une étude anthropologique complète (Maureille et Majoufre-Lefebvre, 2003; Maureille, 2005; Weaver *et al.*, 2016).

L'abri inférieur du Moustier est par ailleurs un des sites les mieux datés de la région puisqu'il a bénéficié dès les années 1986 et 1987, d'une série de premières dates par thermoluminescences (Valladas *et al.*, 1986). Puis en 1991, une série de dates par résonance de spin électronique (ESR) a été publiée par P. Mellars et R. Grün (Mellars et Grün, 1991). Enfin, plus récemment, Higham *et al.* (2014) ont également publié une série de datation C14. Pour le moment, le nouveau-né néandertalien Le Moustier 2 peut être considéré comme chronologiquement associé aux occupations de la couche J soit être âgé de près de  $40\,300 \pm 2\,600$  ans BP (thermoluminescence) à  $42\,000 - 48\,700$  ans BP (C14)(Gravina et Discamps, 2015)



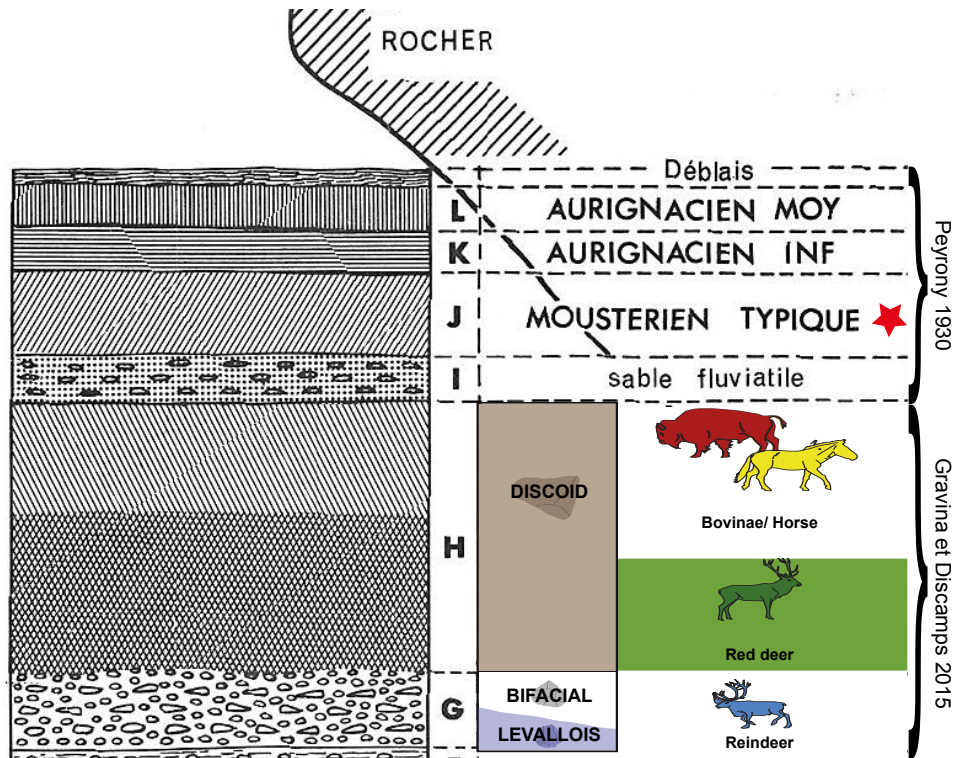


Figure 15 : A gauche, lithostratigraphie de l'abri inférieur du Moustier. A droite, attributions lithique et faunique d'après Peyrony 1930 pour les lithofaciès L à J et d'après Gravina et Discamps 2015 pour les lithofaciès H et G. L'étoile rouge représente le lithofaciè d'où proviennent les restes néandertaliens analysés dans cette thèse. On the left, lithostratigraphy of the Le Moustier lower shelter. On the right, lithic and faunal attribution according to Peyrony 1930 for the lithofacies L to J and according to Gravina and Discamps 2015 for the lithofacies H to G. The red stars represent the lithofacies which has delivered the Neandertal remains analysed in this thesis.

### c. Camiac (Gironde)

Le gisement de Camiac se situait sur la commune de Camiac-et-Saint-Denis en Gironde sur la rive gauche de la Dordogne (Figure 13). Il n'existe malheureusement plus aujourd'hui ayant été détruit par l'extension d'une carrière de la cimenterie d'Espiet. Il a fait l'objet d'une fouille de sauvetage par M. Lenoir entre décembre 1973 et mars 1974. Il s'agissait d'une petite cavité effondrée, prolongée par une terrasse rocheuse. Le site a surtout fonctionné comme un repaire de Hyènes des cavernes (Guadelli, 1989). Seule l'unité stratigraphique D a livré des vestiges archéologiques, dont d'importants restes fauniques et quelques pièces lithiques (Figure 16). La faible quantité de traces anthropiques (sur 0.4 % des restes d'après Discamps, 2011a) ainsi que la faible quantité d'outils lithiques ne permettent pas « une attribution définitive, mais il pourrait s'agir d'une industrie de transition entre le Paléolithique moyen et le Paléolithique supérieur » et indiquer une utilisation par l'Homme de type halte de chasse (Lenoir, 1980). L'assemblage osseux est dominé par les restes de chevaux, bovinés puis de rhinocéros laineux (Guadelli, 1989; Discamps,



2011a). Il résulte majoritairement des activités d'hyènes des cavernes.

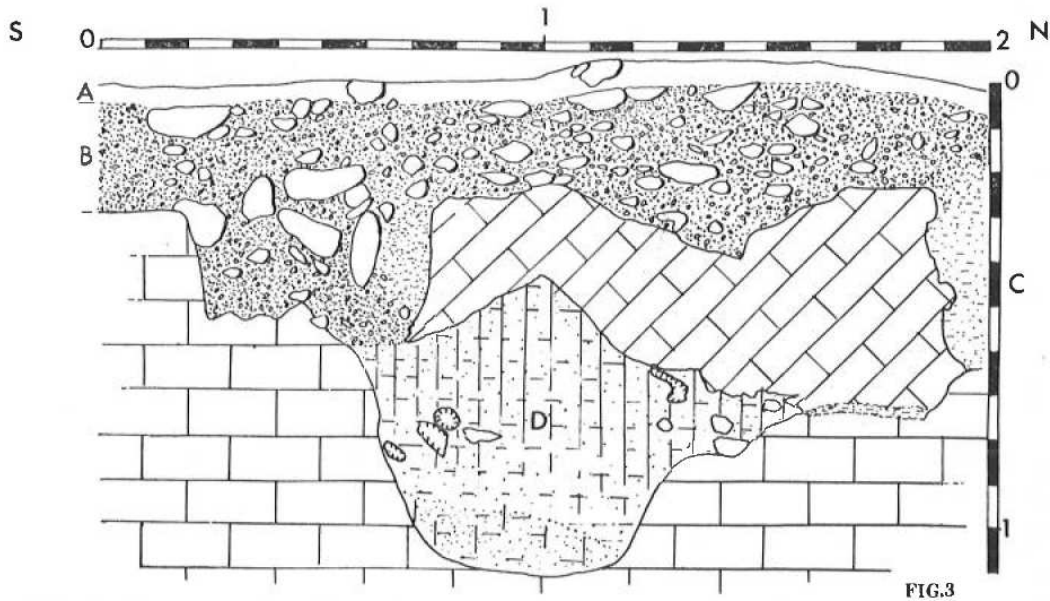


Figure 16 : Stratigraphie de Camiac à la limite des carrés C et D (d'après Lenoir 1980). Stratigraphy of Camiac at the limit of square C and D (from Lenoir, 1980)

L'ancienneté de l'accumulation de Camiac a été discutée, sur la base de critères biostratigraphiques, archéostratigraphiques et palynologiques le site est rapporté à l'interstade würmien selon Guadelli (Guadelli, 1987, 1989). Sur la base d'une datation radiocarbone sur collagène osseux, une pièce a donné le résultat de  $35\,100 \pm 2\,000 / -1\,500$  ans BP (Lenoir, 1980). Plus récemment, cinq datations radiocarbones AMS (pour spectrométrie de masse par accélérateur) ont été obtenues (Discamps, 2011a). En prenant en compte la distribution, il est possible de placer le site à 45-40 ka cal. BP (Discamps, 2011a).

#### d. La grotte du Bison (Yonne)

La grotte du Bison appartient à l'ensemble beaucoup plus vaste des grottes d'Arcy-sur-Cure (Figure 17). Situées actuellement en rive gauche de la Cure (affluent de l'Yonne), les grottes d'Arcy forment un réseau de près de 4 km de long pour une surface de près de 60 ha (Baffier et Girard, 1997). Seules les grottes dites basses (0 à 6 m au-dessus de la Cure) ont été occupées par des groupes humains durant la préhistoire (Baffier et Girard, 1997). Certaines grottes d'Arcy sont connues de longue date, car visitées et exploitées pour leurs spéléothèmes. C'est dès le milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle que l'intérêt archéologique de certaines cavités d'Arcy-sur-Cure va être mis en évidence avec en 1858 la découverte d'une mandibule attribuée à un néandertalien à la grotte des Fées (De Vibraye,

1860) trois ans seulement après la découverte de la calotte crânienne de la vallée de Néander. Les fouilles des grottes d'Arcy-sur-Cure vont connaître un tournant avec la découverte en 1946 de gravures dans la grotte du cheval (Bailloud *et al.*, 1946) et l'arrivée d'A. Leroi-Gourhan et son équipe. Ils vont entreprendre de nouvelles fouilles et créer à Arcy le « *chantier-école du Centre de recherches préhistoriques* » une structure pionnière où A.Leroi-Gourhan tentera d'établir les bases techniques et méthodologies d'une archéologie scientifique.



Figure 17 : Localisation des gisements étudiés du Nord et Nord-Est de la France. Location of the studied archaeological sites coming from the North and North-East of France.

L'existence de la grotte du Bison a été identifiée en 1959 par P.Poulain (Leroi-Gourhan, 1961). Située entre la grotte du Loup et la grotte du Renne, dont elle est presque la « sœur jumelle », la grotte du Bison a permis la conservation d'une importante accumulation de niveaux moustériens et châtelperroniens (Leroi-Gourhan, 1964). La cavité devait être, durant le Pléistocène supérieur, une

longue galerie, basse et étroite. un petit foyer moustérien, trouvé à plus de deux mètres de l'entrée suspectée, est une des très rares structures anthropiques des niveaux moustériens (Baffier et Girard, 1997).

La dernière campagne de recherche de terrain fut conduite par A. Leroi-Gourhan puis elles furent reprises par F. David de 1995 à 2010 puis par M. Hardy jusqu'en 2020. Elles autorisèrent la mise au jour de nombreux restes néandertaliens dans les couches moustériennes I et J (Figure 18). Deux échantillons datés par radiocarbone AMS placent la couche I entre  $46\,534 \pm 1\,838$  et  $43\,571 \pm 1\,354$  ans BP (Tillier *et al.*, 2013). La majorité des restes trouvés sont des dents isolées (plus qu'à la grotte du Renne et les niveaux châtelperroniens ; J. Henrion, com. pers.), on compte aussi un fragment de mandibule, deux fragments de maxillaires, cinq fragments de voûte crânienne et trois fragments du squelette infracrânien dont une diaphyse presque complète de fibula droite d'un néandertalien mature. L'étude du maxillaire le mieux conservé fait état de traces de dents de carnivore, probablement l'hyène des cavernes (David *et al.*, 2009; Enloe, 2012).

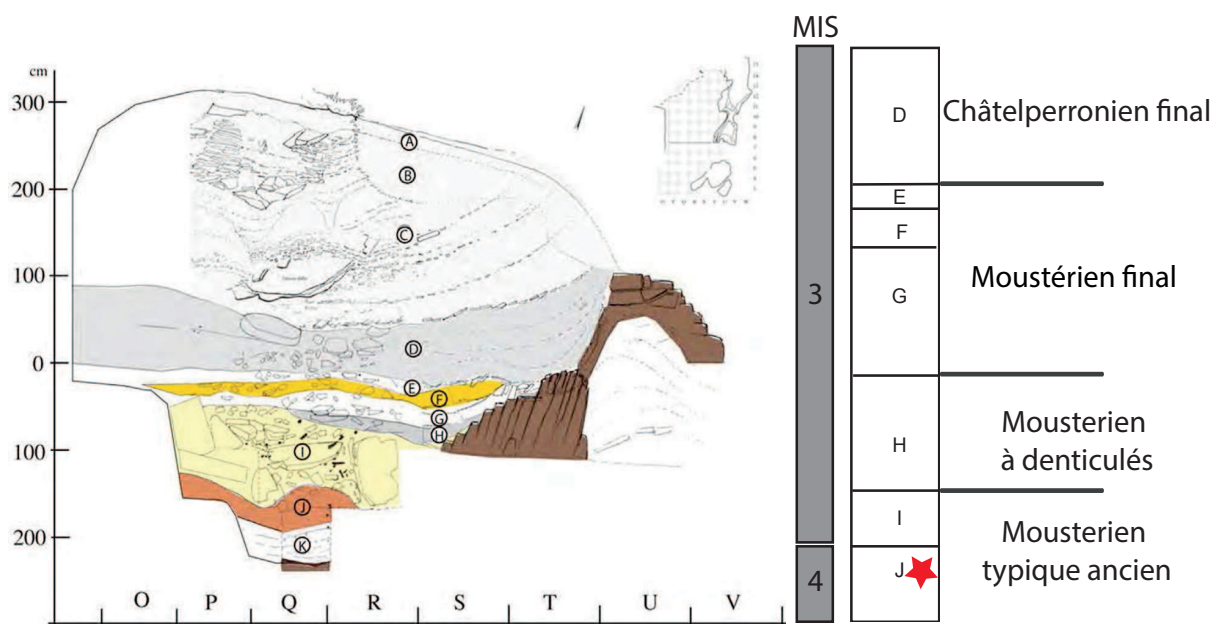


Figure 18 : A gauche, lithostratigraphie de la grotte du Bison. A droite, schéma des différents lithofaciés sédimentaires avec les principales interprétations lithiques. Les étoiles rouges représentent les lithofaciés d'où proviennent les restes néandertaliens analysés dans cette thèse (Modifié d'après Roblin-Jouve *et al.*, 2018). On the left, lithostratigraphy of the Grotte-du-Bison site. On the right, schema of the different sedimentary lithofacies with the main lithic interpretations. The red stars represent the lithofacies which contain the Neandertal remains analysed in this thesis (Modified from Roblin-Jouve *et al.*, 2018).

L'économie de subsistance des néandertaliens des couches I et J est en cours d'étude. Toutefois, la fréquentation de la cavité par de grands carnivores (Hyènes et Ours des cavernes) lors de la mise en place des couches I et J est attestée par les vestiges fauniques de ces deux carnivore

(utilisation de type *repaire*) et un ratio carnivore/ongulé inhabituel suggérant que les restes fauniques de ces couches résultent d'une accumulation conjointe part des carnivores et des néandertaliens (Pothier Bouchard, 2016). Les traces de rongements de carnivores superposées à une strie de découpe anthropique sur les fragments osseux, apportent la preuve d'une fréquentation par les hyènes postérieure à l'occupation néandertalienne. Parmi les trois taxons d'herbivores les plus représentés au moins deux (Rennes et chevaux) présentent des traces anthropiques suggérant une consommation par les néandertaliens. L'accumulation des restes de bovinés pourrait, quant à elle être plutôt due aux carnivores (Pothier Bouchard, 2016). L'analyse récente du tarte dentaire présent sur le fragment du maxillaire P11-8 a mis en évidence la consommation de nombreux végétaux, le plus notable étant les *Poaceae* (avec possible consommation de graines), des traces d'épidermes (pouvant provenir de bulbe ou de fruit) ainsi que de nombreuses traces d'amidon (Aline Emery-Barbier, dans Hardy 2020). L'ensemble de ces éléments nous dépeint une alimentation variée contenant une part non déterminée de végétaux et une part carnée d'ongulés de taille moyenne, peut-être le renne et le cheval.

### e. Les Pradelles (Charente)

Le site des Pradelles situé sur la commune de Marillac-le-Franc en Charente est connu dès 1898 (Figure 13). Mais les « fouilles » réalisées au XIX<sup>ème</sup> siècle ne révèlent pas d'intérêt pour la préhistoire. Le gisement sera alors utilisée comme une carrière de pierres (Ragout et Balout, 1942). En 1932, P. Richeboeuf qui exploite le gisement pour en extraire de la pierraille récolte suffisamment de matériel lithique moustérien et faunique pour intéresser les préhistoriens (Ragout et Balout, 1942). Ainsi, une brève intervention de P. David en 1934 permettra de découvrir une mandibule néandertalienne au sein des collections du carrier et l'identification sous 4 à 5 m d'éboulis d'un niveau avec de nombreux vestiges de rennes et du matériel lithique moustérien (Maureille *et al.*, 2010b). Il faudra attendre 1967 pour que le site fasse l'objet de véritables recherches scientifiques de terrain sous la direction de B. Vandermeersch (Vandermeersch, 1980). Celles-ci se poursuivront jusqu'en 1980. Puis une seconde série de recherche de terrain se déroulèrent sous la codirection de B. Maureille et A. E. Mann de 2001 à 2012 (Maureille *et al.*, 2010).

Les Pradelles est un gisement qui résulte de l'ouverture par le plafond d'un ensemble de cavités karstiques. La totalité du matériel archéologique qu'il livre se rapporte au Paléolithique moyen (Maureille *et al.*, 2007). L'industrie lithique des niveaux les plus riches est un Moustérien de type

Quina. Les lithofaciès 2a et 2b très riches en vestiges fauniques livrent aussi de nombreux restes humains (Figure 19; Vandermeersch, 1980; Maureille *et al.*, 2007; Mussini, 2011). Ainsi au moins sept individus se rapportant à la lignée néandertalienne : trois adultes, deux adolescents et deux enfants ont pu être identifiés aux Pradelles (Mussini, 2011). La présence sur plusieurs restes humains de traces de décarnisation, fracturations sur os frais similaires à celles observées sur les vestiges de rennes ainsi que la surreprésentation de certaines parties anatomiques des ongulés et des humains suggère la pratique de cannibalisme alimentaire par les néandertaliens qui ont fréquenté le site. Un cannibalisme dont la cause serait potentiellement "symbolique" ne peut être exclu (Costamagno *et al.*, 2006; Mussini, 2011).

La première étude des isotopes du carbone et de l'azote de vestiges du Pléistocène a été réalisée sur des restes fauniques de mammifères et un vestige humain du gisement des Pradelles, probablement la mandibule identifiée en 1934 (B. Maureille, com. Pers ; Bocherens *et al.*, 1991). Au total, trois études utilisant les isotopes du carbone et de l'azote ont été réalisées aux Pradelles (Bocherens *et al.*, 1991, 2005; Fizet *et al.*, 1995). Elles font toutes état d'une alimentation de type carnivore centrée sur la consommation de grands herbivores toutefois moins spécialisée que celle des loups du même site (Bocherens *et al.*, 1991, 2005; Fizet *et al.*, 1995).

Aux Pradelles, les néandertaliens ont majoritairement amenés les éléments de carcasses de rennes les plus riches en ressources alimentaire, soit les membres et extrémités céphaliques. Leur présence est liée à l'utilisation du site comme une halte de chasse destinée aux activités de boucheries. Pour les lithofaciès 2a et 2b il est possible de déterminer l'ordre d'intervention des différents agents accumulateurs. Les néandertaliens ont été les principaux acteurs pour amener des morceaux de carcasses de rennes dans le gisement. Nous savons aussi que les Néandertaliens ont eu la volonté d'exploiter toutes les ressources disponibles sur les ongulés (peau, tendon, moelle). Étant donné qu'une énorme majorité de fragments osseux provient d'ossements des membres de rennes, le site est ainsi interprété comme une halte de chasse ultra spécialisée dans l'exploitation du renne (Costamagno *et al.*, 2006; Mussini, 2011).

Une datation par thermoluminescence d'un silex brûlé a donné un résultat de  $58\ 000 \pm 4\ 800$  ans avant le présent pour le lithofaciès 2b, riches en restes humains. Les autres résultats obtenus nous permettent de considérer que les néandertaliens ont fréquenté le site entre la fin du MIS 4 et le début du MIS 3 (Frouin *et al.*, 2018).



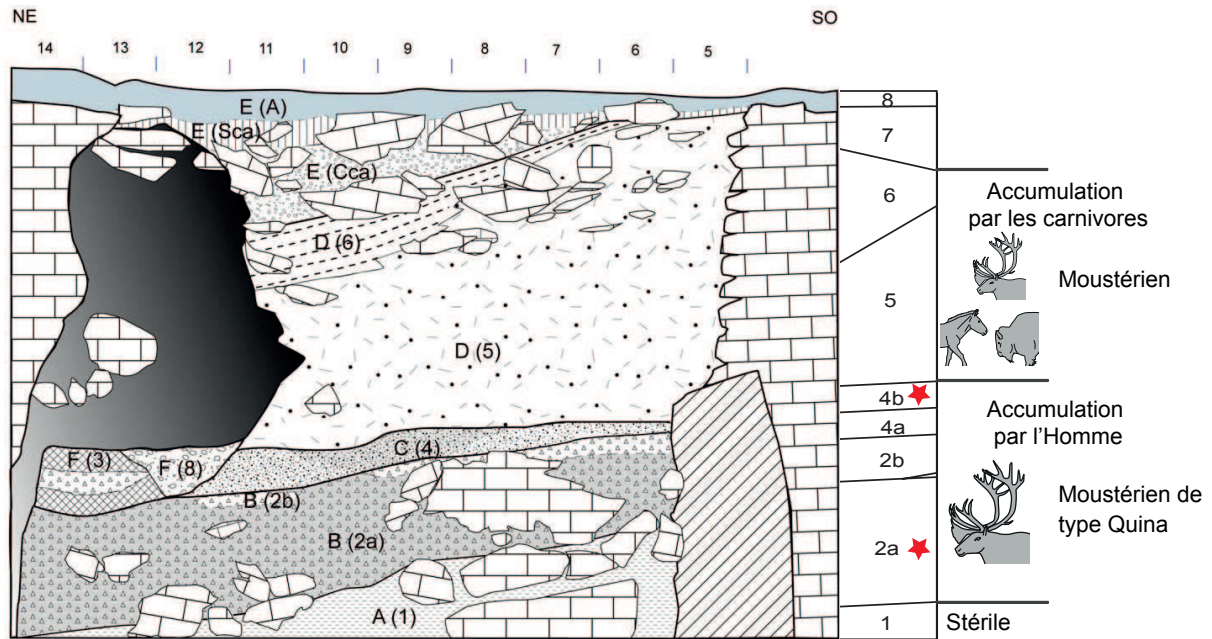


Figure 19 : A gauche, lithostratigraphie du locus Est du site des Pradelles. A droite, schéma des différents lithofaciès sédimentaires au milieu du locus Est avec les principales interprétations lithique et faunique. Les étoiles rouges représentent les lithofaciès d'où proviennent les restes néandertaliens analysés dans cette thèse (modifié d'après Maureille et al., 2013). On the left, lithostratigraphy of the eastern locus of Les Pradelles site. On the right, schema of the different sedimentary lithofacies in the middle of the eastern locus with the main lithic and faunal interpretations. The red stars represent the lithofacies which contain the Neandertal remains analysed in this thesis (Modified from Maureille et al., 2013).

## f. Regourdou (Dordogne)

La grotte de Regourdou se trouve non loin de l'entrée de la grotte de Lascaux à Montignac-sur-Vézère en Dordogne (Figure 13). Regourdou est célèbre car, en septembre 1957, Roger Constant, le propriétaire, y découvre différents éléments osseux d'un squelette néandertalien : Regourdou 1 (Sahly, 1958; Piveteau, 1959). À la suite d'une fouille de sauvetage par E. Bonifay et G. Laplace sous la direction de F. Bordes, les restes humains purent être sauvés (Piveteau, 1959). Il s'agit actuellement d'un des individus néandertaliens parmi les mieux conservés en ce qui concerne l'infra-crânien (en effet on note l'absence de la boîte crânienne). Les seules recherches de terrain scientifiques eurent lieu de 1961 à 1964 sous la direction d'E. Bonifay.

Le site est, dès sa découverte, considéré comme hébergeant une sépulture néandertalienne (Piveteau, 1959). La couche 4 livrant l'individu Regourdou 1 (Figure 20) a fourni des vestiges lithiques attribuables à du Moustérien (débitage discoïde) avec production de pointes pseudo-Levallois (Madelaine et al., 2008) et se serait mise en place durant le MIS 5. Cela en ferait la plus vieille sépulture d'Europe (Vandermeersch, 2008). Cependant, la sépulture et l'histoire du site sont aujourd'hui remises en question (Maureille et al., 2010a, 2015; Pelletier et al., 2017).

Une autre particularité du site réside dans la présence de nombreux restes d'ours bruns dont

certaines ont été mis en relation avec les vestiges néandertaliens. Il s'agirait d'après E. Bonifay, de l'une des caractéristiques principales du site (Bonifay et Vandermeersch, 1962). En effet, le site a livré 2560 restes d'ours bruns, répartis sur presque tous les niveaux archéologiques pour un NMIF de 36 (nombre minimum d'individus par fréquence d'éléments ; Cavanhié, 2011). L'ours brun étant une espèce rare au Pléistocène sa présence conforte l'attribution chronologique de la couche 4 au stade isotopique 5 (Bonifay, 2008). Les causes de l'accumulation osseuse de faune à Regourdou sont complexes. L'accumulation des restes d'ours est expliquée par un schéma de mortalité naturelle, au moins pour la partie inférieure des dépôts (soit les couches 8, 7, 6, 5, 4 ; Fosse *et al.*, 2002; Cavanhié, 2011). Pour les couches supérieures (couches 3, 2) même si l'action anthropique est attestée (Cavanhié, 2011), un fonctionnement majoritaire de type aven piège semble plus probable. Parmi l'ensemble des ossements découverts à Regourdou un deuxième individu (Regourdou 2) est identifié en raison de l'existence d'un second calcanéus droit en plus de celui de Regourdou 1. Le travail de réévaluation des collections de Regourdou entrepris depuis 2008 a permis de faire la description détaillée du calcanéus Regourdou 2. Cet individu est lui aussi attribué à la couche 4 bien que son contexte de découverte soit flou (Figure 20).

Le site de Regourdou et l'individu Regourdou 1 ont déjà fait l'objet d'une tentative d'étude des isotopes du carbone et de l'azote. Cependant, la mauvaise conservation du collagène n'a pas fourni de résultat exploitable (H. Bocherens, com. pers.).

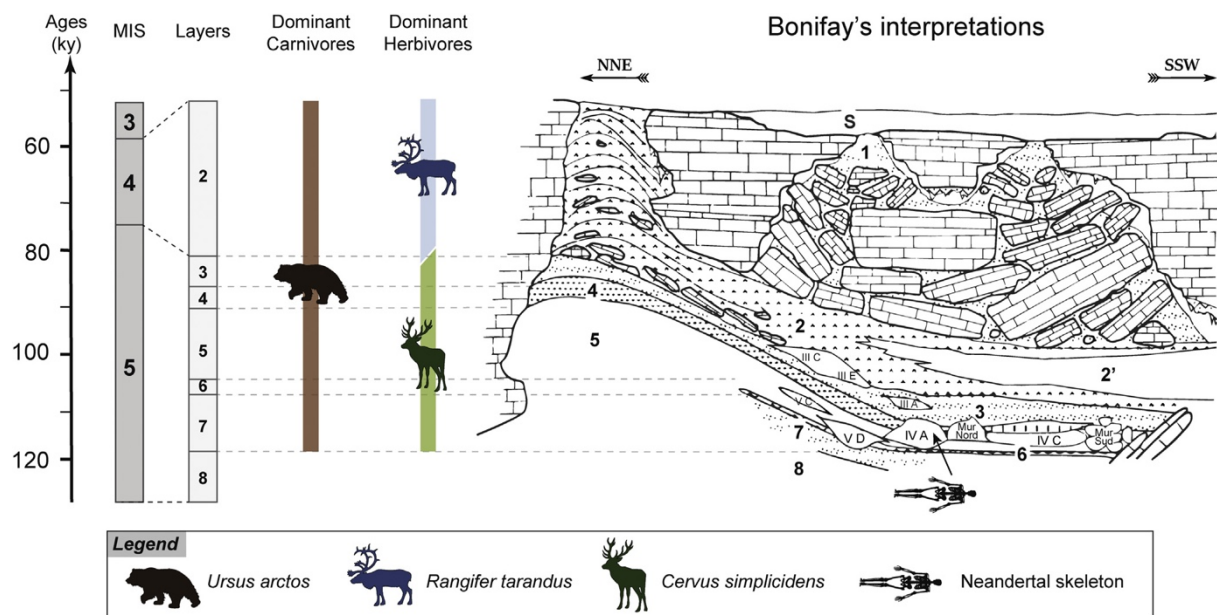


Figure 20 : Stratigraphie de la grotte de Regourdou selon les interprétations de E. Bonifay (d'après Pelletier *et al.*, 2017). Stratigraphy of Regourdou Cave following E. Bonifay's interpretation (from Pelletier *et al.* 2017).

### g. Sirogne (Lot)

La Grotte Sirogne est située dans le département du Lot près de Rocamadour sur la rive droite de l'Alzou (Figure 13). Il s'agit très probablement de la redécouverte d'un site "fouillé" au début du XXe s. par A. Niederlander, connu sous le nom de la Crozo del Dua, où des vestiges néandertaliens et une industrie moustérienne avaient été mis à jour. La grotte de dimension modeste a été visitée par D. Mancel en 2006 lors d'une prospection spéléologique. Il mit au jour de nombreux restes fauniques, os et dents d'aspects anciens, dont un corps mandibulaire gauche identifié comme appartenant à un néandertalien (Maureille, expertise pour le MNP, novembre 2011 ; Bayle, 2012). Ce n'est qu'en 2011 qu'il fait part de sa découverte au MNP (Maureille, *ibidem*). C'est ainsi que se met en place des recherches de terrain de 2013 à 2018 sous la direction de P. Bayle (Bayle *et al.*, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017). Le site est très riche en vestiges néandertaliens, puisque ce sont au moins 69 restes qui ont été découverts au cours des différentes opérations dont une majorité de dents isolées (Bayle *et al.*, 2017). Malheureusement à cause de l'important pillage auquel a été soumise la grotte Sirogne avant sa sécurisation, l'ensemble des vestiges collectés jusqu'à présent provient de sédiments remaniés (Bayle *et al.*, 2017). Les restes humains correspondent à au moins quatre enfants, un adolescent ou jeune adulte, deux jeunes adultes et deux adultes d'âges plus avancés (Bayle *et al.*, 2017). Au moins deux de ces vestiges présentent des traces anthropiques à leur surface sans qu'aucune interprétation puisse être proposée pour le moment (Bayle *et al.*, 2017b).

À ce jour, le site a livré de nombreux vestiges fauniques, dont 1300 éléments squelettiques d'ours des cavernes (Albouy dans Bayle *et al.*, 2017). Les principales caractéristiques d'une grotte-repaire d'ours des cavernes ont été mises en évidence à Sirogne. De plus la présence d'un grand nombre de dents déciduales d'ursidés permet de considérer que la grotte du Sirogne a eu un fonctionnement de type grotte-pouponnière (Albouy dans Bayle *et al.*, 2017). L'ours est aussi décrit comme un potentiel agent accumulateur des vestiges fauniques d'ongulés (Albouy dans Bayle *et al.*, 2017). Les autres carnivores semblent très peu présents dans la grotte et seul l'Homme de Néandertal serait l'agent accumulateur de certains restes de rennes, de bovinés, de caprinés, d'équidés portant des traces anthropiques (Bayle *et al.*, 2017).

En l'absence de contexte archéostratigraphique fiable, il est très difficile de dater la période d'occupation de la grotte par les néandertaliens. Cependant certains éléments morphométriques des restes humains mais aussi géologiques, biochronologiques et taphonomiques suggèrent que les fossiles néandertaliens de Sirogne proviennent de l'unité stratigraphique 3 (Figure 21), récemment



identifiée, pour laquelle la datation uranium/thorium obtenue indique un âge maximal du début du stade isotopique 6 (Bayle *et al.*, 2017).

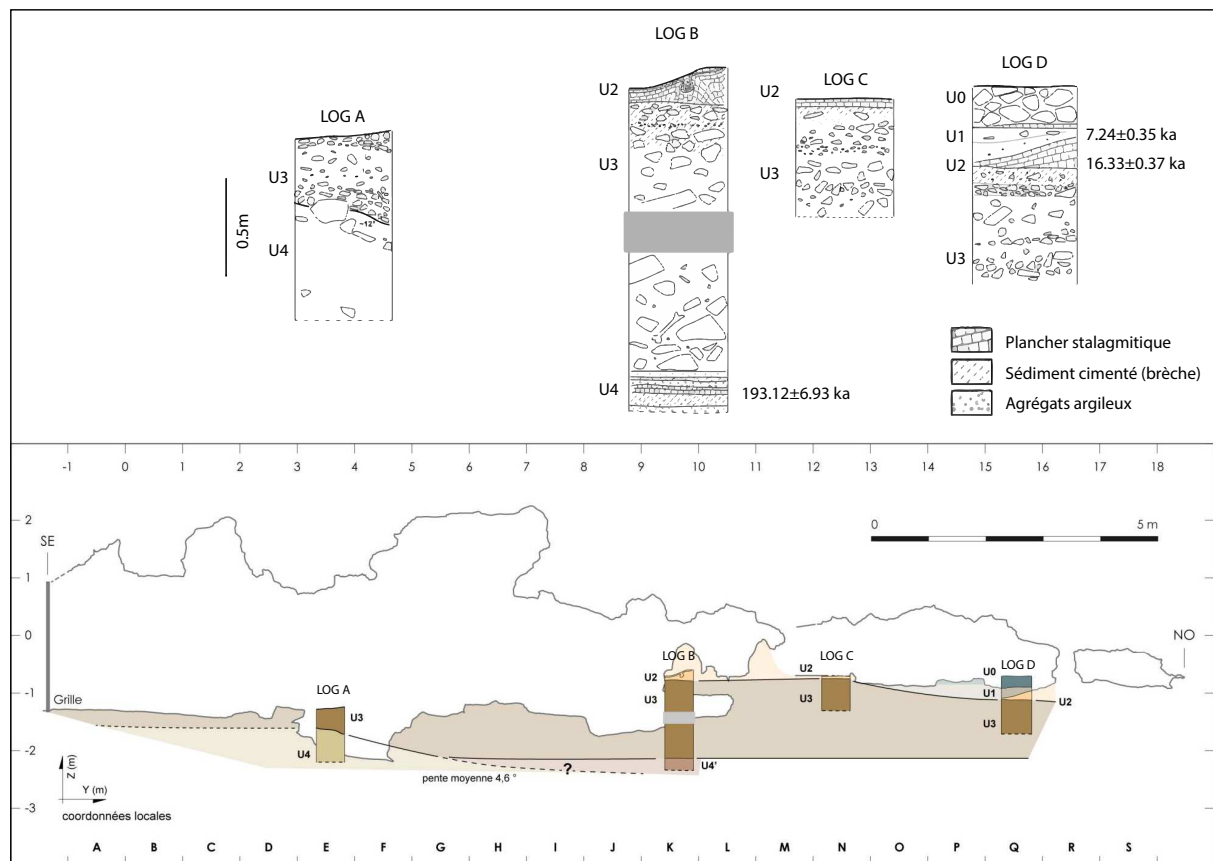


Figure 21 : En haut, stratigraphies schématiques des différentes sections de la fouille. En bas, report des levées simplifiées sur profil topographique avec interpolations de la géométrie des unités stratigraphiques. Des dates uranium/thorium sont obtenues pour trois prélèvements ( un dans le LOG B et deux dans le LOG D; modifié d'après Bayle *et al.*, 2017). On the top, schematic stratigraphic survey of the different sections of the excavation. On the bottom, simplified survey of topographic profiles with interpolation of the geometry of the stratigraphic units. Uranium/thorium dates are obtained for three samples (one in the LOG B and two in the LOG D; modified from Bayle *et al.* 2017).

## h. Tourville-la-Rivière (Seine-Maritime)

Le site de plein air de Tourville-la-Rivière est situé en Seine-Maritime, sur la rive droite d'un des nombreux méandres de la Seine (Figure 17). Cette importante séquence archéologique située sur une terrasse inférieure de la Seine, en bordure d'une falaise crétacée, a été découverte en 1967 suite à l'exploitation d'une carrière de graviers (Carpentier *et al.*, 1992). Cette formation de plus de 30 mètres couvre une période allant du MIS 10 au MIS 2 ce qui en fait une référence pour l'étude des changements environnementaux du Pléistocène en Europe de l'ouest (Alduc et Auffret, 1979; Descombes, 1983; Stremme, 1985; Balescu *et al.*, 1997). C'est lors d'une opération de sauvetage menée par l'Inrap (Institut national de recherches archéologiques préventives) en 2010 qu'ont été mis au jour les restes humains attribués à la lignée néandertalienne (Faivre *et al.*, 2014b). Ils se

composent des trois os longs du bras gauche d'un même individu dont le positionnement suggère un transport par l'eau de tout le membre supérieur (Faivre *et al.*, 2014b). S'il est impossible de déterminer le sexe de l'individu, compte tenu des dimensions des diaphyses des trois os, ils pourraient avoir appartenu à un adulte ou à un adolescent âgé (Faivre *et al.*, 2014b).

Malgré de nombreuses découvertes depuis la fin du XIXe siècle, l'association de restes lithiques et fauniques avec des restes anthropiques datant du Pléistocène moyen reste très rare particulièrement en Europe du Nord-Ouest. Bien que la fouille de Tourville-la-Rivière se soit étendue sur plusieurs hectares le matériel archéologique reste rare. La couche D2 (Figure 22), qui a livré le fossile humain, est dominée par des herbivores qui évoluaient dans un paysage boisé durant un interglaciaire tempéré (Faivre *et al.*, 2014b).

Cinq fragments osseux humains ont été datés par la méthode des isotopes de l'uranium/thorium (U/Th), ainsi que huit dents de cheval ou de bovidés analysés à la fois par la méthode U/Th et par ESR (Faivre *et al.*, 2014b). Bien qu'impactés par les processus taphonomiques les restes dentaires fauniques ont fourni des informations permettant d'obtenir une fourchette d'âge comprise entre 183 000 et 226 000 ans avant le présent (Faivre *et al.*, 2014b). L'étude combinée des données malacologiques, paléoenvironnementaux et fauniques permet de dater la couches D2 à la transition entre le MIS 7 et le MIS 6 (Faivre *et al.*, 2014b).

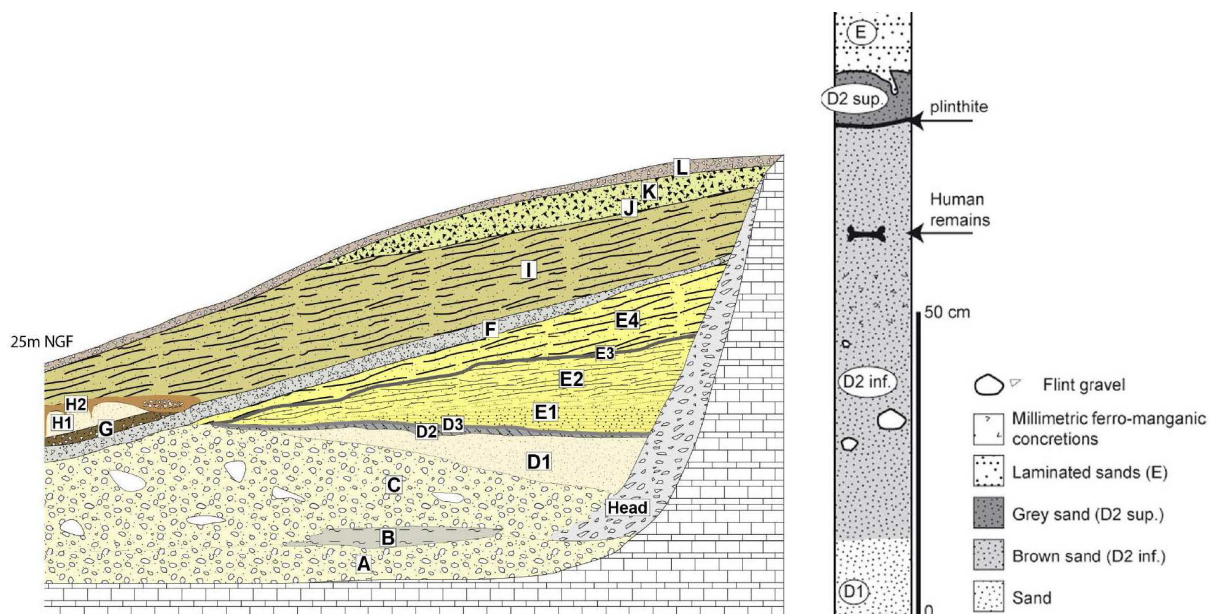


Figure 22 : A droite, stratigraphie générale de Tourville-la-Rivière. A gauche, stratigraphie de la zone ayant fournis les restes humains (d'après Faivre *et al.*, 2014). On the right, general stratigraphy of Tourville-la-Rivière. On the left stratigraphy of the area that yields the human remains (from Faivre *et al.* 2014).

## B. Matériel anthropologique étudié

L'ensemble du matériel étudié au cours de ce travail de thèse est référencé en annexe A. Il convient toutefois de rappeler quelques données essentielles sur les individus qui ont été prélevés dans le cadre de nos recherches. L'ensemble des caractéristiques connues est référencé dans le tableau suivant (Tableau 3).

*Tableau 3: Liste des différents individus néandertaliens prélevés et certaines de leurs caractéristiques principales. List of the different Neandertal specimens collected and some of their main characteristics.*

Site	Individu	Classe d'âge	Élément prélevé	Autres remarques
Regourdou	Regourdou 1	Individu adulte	Humérus gauche et fémur droit	∅
	Regourdou 2	Individu adulte	Calcanéus droit	∅
Les Pradelles	M67 G12 couche rouge	9-10 ans	Fémur droit	Traces de fracturation sur os frais
	LP06 C6 5-4b n° 273	Probablement mature	Diaphyse fémorale gauche	Très nombreuses traces anthropiques : fracturation sur os frais, traces de découpe
	LP09 D06 2a/4 n415	Probablement mature, mais pas adulte	Diaphyse fémorale droite	Pas de traces d'origine anthropique
	LP06 D12 2a n1434	Probablement mature	Diaphyse fémorale droite	Utilisé en retouchoir Fracturation sur os frais
	LP10 D13 2a n362	Ossements matures, individu adulte	Diaphyse fémorale gauche	Fracturation sur os frais, nombreuses traces de découpe
Le Moustier	Le Moustier 2	Péri-natale dont l'âge ne peut excéder quatre mois après la naissance.	Côte n°7, écaille occipitale et paroi alvéolaire de canine	∅
La grotte du bison	Arcy Bison J2 R12# 31(1) et 31(2)	Individu adulte	Diaphyse de fibula droite	∅
Tourville-la-Rivière	OIS7	Individu adulte	Fragment d'humérus gauche	Charrié par la Seine. Atteinte taphonomique importante

### C. Matériel faunique étudié

Les taxons les plus représentatifs de chaque site ont été prélevés, tout en cherchant à mettre en avant les espèces communes aux différents sites (Tableau 4). Les bovidés, les équidés et les cervidés sont les seuls groupes présents sur l'ensemble des sites et pourront être utilisés comme base de comparaison entre les différents gisements. Le site du Moustier est le seul à n'avoir pas fourni de reste de carnivore.

## Chapitre 1 : Cadre anthropologique, environnemental et archéologique

Tableau 4: Liste des espèces présentes par site. List of species present by site.

	Regourdou	Les Pradelles	Grotte du Bison	Le Moustier	Tourville	Sirogne	Camiac	Jaurens
Néandertalien	2 ✓	4 ✓	1✓	1 ✓	1 ✓			
Loup	✓	✓	✓		✓	✓		✓
Hyène		✓	✓				✓	✓
Lion/panthère	✓		✓		✓	✓	✓	✓
Renard			✓		✓			
Ours brun	✓				✓			
Ours des cavernes			✓			✓		
Cerf	✓		✓		✓	✓	✓	
Mégacéros			✓				✓	
Chevreuril	✓				✓	✓		
Mammouth		✓	✓				✓	
Rhinocéros			✓		✓		✓	
Renne	✓	✓	✓	✓		✓		✓
Équidé	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Bovidé	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Sanglier	✓				✓		✓	
Capriné				✓		✓		
Petits herbivores					✓			

## Chapitre 2 : Description des différents tissus analysés

### A. Prélèvement et préparation des échantillons

#### a. Contraintes analytiques liées au matériel archéologique

Le matériel archéologique est très précieux tant du point de vue de sa rareté, sa fragilité et son unicité. En cela, l'analyse des isotopes du calcium bien que destructrice, offre une alternative avantageuse sur plusieurs points qui seront mis en évidence tout au long de cette thèse. Il convient lorsque l'on souhaite étudier la composition isotopique en calcium de fossiles, de porter attention aux points suivants.

À des degrés variables liés à l'histoire propre de chaque échantillon, la structure et la composition chimique des différents tissus peuvent être modifiées. L'ensemble de ces processus sont regroupés sous le terme de taphonomie (Efremov, 1940), à savoir "l'ensemble des processus physico-chimiques et biochimiques qui interviennent suite à la mort de l'individu". La première partie de ce processus est liée à l'action des êtres vivants notamment des carnivores. La mort de vieillesse étant rare dans le milieu naturel, l'accident ou la prédation sont des causes plus fréquentes qui ont déjà un impact sur la préservation des restes, que ce soit par le transport, la fracturation des ossements ou bien leurs ingestions. Si la fracturation ne crée qu'une modification structurelle des vestiges, l'ingestion quant à elle crée une modification tant structurelle que chimique. Ce genre d'altération est peu étudié mais doit être pris en considération lors de l'étude de restes présentant des traces de digestion ou simplement de rongement, l'impact de la salive des carnivores sur l'intégrité chimique n'étant pour le moment pas caractérisé. Enfin, l'action des micro-organismes et insectes ne doit pas être oubliée puisqu'ils sont en grande partie responsables de la destruction de la matière organique. Leur impact semble se limiter à la composition chimique de la matière organique et à l'intégrité structurelle des vestiges. La seconde partie de ce processus est qualifiée de diagenèse est probablement celle qui a le plus d'impact sur la composition chimique des restes. Elle est liée à la nature et à la géologie du sédiment dans laquelle va être conservé le reste, ainsi qu'à la durée de son séjour dans le sédiment qui va aussi avoir un impact (voir Kendall *et al.*, 2018 pour une review récente des facteurs chimiques influençant la diagenèse). Les tissus qui offrent la meilleure résistance à la diagenèse sont l'os et la dent du fait de leur forte minéralisation. Les deux éléments chimiques majeurs de ces tissus sont le calcium et le phosphore. D'autres éléments sont présents en plus faibles quantités (Mn, U...) ils sont donc souvent utilisés comme indicateurs de

diagenèse (Trueman et Tuross, 2002; Kohn et Moses, 2013; Trueman, 2013). La dernière partie du processus de diagenèse est liée à la découverte et à la conservation des restes, l'utilisation de vernis ou de colle afin de restaurer et de préserver les vestiges (pratique habituelle au début du XX<sup>e</sup> siècle, qui tend à se raréfier) peut modifier leurs compositions chimiques (Schoeninger *et al.*, 1989 ; Johnson, 1994), il convient donc de se renseigner sur le traitement qu'ont pu subir les vestiges.

L'analyse des isotopes du calcium offre l'avantage de nécessiter très peu de matière (de l'ordre du µg). Ainsi, bien que destructrice cette méthode permet de préserver l'intégrité morphologique et structurelle des vestiges. La capacité d'analyse d'un site à l'aide des isotopes du calcium va cependant être limitée par deux éléments majeurs. Le premier étant l'identification des vestiges, la proximité morphologique et la forte fragmentation des ossements rendent parfois l'attribution taxonomique de ceux-ci difficile et peuvent conduire à des erreurs d'attribution. Les dents possèdent un certain nombre de caractéristiques qui les rend plus faciles à identifier au moins du point de vue du régime alimentaire ce qui en fait un élément à privilégier dans le cas de restes fragmentaires.

Enfin, l'analyse du réseau trophique d'un gisement va être conditionnée par la préservation des différentes espèces et des différentes parties anatomiques. Il est nécessaire pour reconstruire le réseau trophique d'un site de pouvoir se baser sur des espèces dont la biologie est connue par d'autre analyse et qui couvrent le plus de niveaux trophiques possibles. Ceci peut être un facteur limitant, car les carnivores sont souvent sous représentés dans les niveaux archéologiques où l'accumulation est d'origine anthropique.

### b. Méthode de prélèvement

La nature variée des échantillons analysés au cours de cette thèse a nécessité d'adapter les méthodes de prélèvement, elles sont décrites ci-dessous.

#### i. Échantillons archéologiques

Les prélèvements d'os et de dents archéologiques ont été réalisés sur le lieu de stockage des échantillons ou directement en laboratoire, au LGL-TPE (Laboratoire de géologie de Lyon : terre, Planètes, Environnement) ou à PACEA (de la Préhistoire à l'Actuel : Culture, Environnement et Anthropologie). Les échantillons sont d'abord débarrassés des contaminations par le sédiment de manière mécanique à l'aide d'un scalpel ou d'outils de dentiste. Les échantillons ont ensuite été prélevés par B. Maureille ou par moi-même suivant les différentes modalités ci-dessous :

- À l'aide d'un scalpel, un fragment d'os inférieur à 5 mm de long sur 1 mm de large a été

prélevé sur de l'os cortical (Figure 23. A) ;

- À l'aide d'une micro-fraiseuse (Micro-Drill), un fraisage de l'ordre de 350 à 400 µm de diamètre et d'autant de profondeur a été effectué. Cette méthode a été utilisée sur toutes les dents et la grande majorité des os corticaux (Figure 23. B) ;
- Par prélèvement direct de fragment d'os spongieux dans la cavité médullaire ou au niveau d'épiphyse osseuse ;
- Par prélèvement direct d'un fragment osseux de petite taille présentant un faible intérêt archéologique (fragments se détachant ou présent dans le sac de stockage).

Les échantillons provenant de pièces ayant déjà fait l'objet d'un prélèvement ont été privilégiés et ceux-ci ont été prélevés dans la zone de l'ancien prélèvement afin d'impacter le moins possible la pièce. Lorsque les échantillons proviennent de pièces n'ayant pas fait l'objet de prélèvements antérieurs, la zone de prélèvement a été sélectionnée afin de privilégier les zones présentant des cassures fraîches liées à la fouille ou à l'histoire post-fouille des vestiges. L'ensemble des zones prélevées ont fait l'objet d'une photo avant et après le prélèvement qui ont été transmises aux institutions muséales en charge des vestiges et/ou au service régional de l'archéologie associé.



**Figure 23 : Photographie des différents types de prélèvement.** A. à droite, moitié distale de l'humérus gauche de Regourdou 1. En haut à gauche, photographie prise avant le prélèvement pour cette étude, en bas à gauche photo prise après l'échantillonnage. (Photo et échantillonnage B. Maureille, février, 2018) ; B. à gauche, fibula droite de la Grotte du Bison. En haut à gauche, photographie prise avant le prélèvement pour cette étude, en bas à gauche photo prise après l'échantillonnage. (Photo et échantillonnage P. Dodat, octobre 2020). **Photo of the different types of sampling.** A. right, distal half of the left humerus from Regourdou 1. Top left, photo taken before sampling for this study, bottom left photo taken after sampling. (Photo and sampling B. Maureille, February, 2018); B. left, right fibula from Grotte du Bison. Top left, photograph taken before sampling for this study, bottom left photo taken after sampling. (Photo and sampling P. Dodat, October 2020)

## ii. Échantillons de faune moderne

Afin de mieux contraindre la distribution des isotopes du calcium chez les vertébrés nous avons analysé des espèces actuelles. L'échantillonnage total composé de 6 espèces différentes comprend trois porcs (*Sus scrofa domesticus*), un sanglier (*Sus scrofa*), quatre vaches (trois adultes, un veau ; *Bos torus*), un chevreuil (*Capreolus capreolus*), une poule (*Gallus gallus*), et un lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*). Les échantillons d'espèces domestiques (cochons et vaches/veau) ont été prélevés sur les pièces de viande achetées chez un boucher, les échantillons d'espèce sauvage (chevreuil, lapin et sanglier) ont été prélevés sur des pièces de viande issues de la chasse et les échantillons de poules proviennent d'élevage de particulier. Comme les différents échantillons sont issus de boucheries ou de chasses aucune information concernant le régime alimentaire de ces individus n'est disponible. Cependant, les informations sur le régime alimentaire ne sont pas nécessaires pour évaluer les différences de composition isotopique des tissus.

En fonction de la disponibilité quatre tissus ont été prélevés sur les pièces :

- un ou plusieurs échantillons de muscle ;
- un ou plusieurs échantillons de moelle osseuse provenant de la cavité médullaire ;
- un ou plusieurs échantillons d'os spongieux ;
- un ou plusieurs échantillons d'os cortical.

L'ensemble des individus échantillonnés l'ont été sur des os long, sauf un échantillon de bœuf et l'échantillon de veau qui sont des côtes.

## iii. Échantillons de végétaux

Du fait de la mauvaise conservation de la matière organique dans le registre fossile, il n'a pas été possible d'effectuer d'analyses sur des végétaux fossiles, nous nous sommes tout de même intéressés à la répartition des isotopes du calcium au sein des différents types de végétaux sur différentes localités. Pour cela, nous avons pu disposer d'échantillons provenant d'Afrique du Sud qui ont été prélevés par V. Balter sur des plantes en bonne santé dont l'identification a été réalisée par un guide local. Nous avons aussi disposé d'échantillons européens que j'ai prélevés sur des plantes en bonne santé, l'identification a été réalisée par moi-même ou une personne tierce présente lors du prélèvement.

En fonction de la disponibilité, un maximum de tissus différents ont été prélevés et identifiés :

- une ou plusieurs feuilles complètes ;
- l'intégralité de la tige, un fragment d'écorce dans le cas d'espèces ligneuses ou/et un fragment



de branche verte de l'année en cours ;

- l'intégralité de la racine ou un fragment dans le cas d'espèce ligneuse ou avec un réseau souterrain trop développé ;
- un fruit ou une fleur entière lorsqu'il ou elle était disponible ;
- tout ou une partie des organes de stockage souterrain chez les espèces en possédant un ;
- un échantillon de terre associé à chaque espèce ou zone géographique a aussi été prélevé.

L'ensemble des plantes ont été prélevées à des périodes de vie et degrés de maturité différentes qui n'ont pas été renseignés dans cette thèse.

### c. Impact de la diagenèse sur les tissus minéralisés

#### i. Introduction

La diagenèse est l'ensemble des processus post-mortem par lesquels les compositions chimiques initiales (biogénique) des éléments de l'os ou de la dent fossile peuvent être amenées à varier (Wang et Cerling, 1994). Il convient donc de caractériser cet impact avant toute interprétation des rapports élémentaires et isotopiques des matériels fossiles. L'analyse de certains éléments traces, tel que les terres rares, présents en faible quantité dans l'os et l'émail biogénique mais s'accumulant pendant la diagenèse, permet de caractériser en partie ces modifications (Trueman et Tuross, 2002; Reynard et Balter, 2014). C'est pourquoi, en plus de la mesure des compositions isotopiques du calcium, la composition en éléments traces, majeurs et en terres rares a été effectuée sur l'ensemble des échantillons.

Bien qu'il s'agisse d'un processus complexe, il est possible de considérer deux grandes étapes dans les processus diagénétiques :

- la diagenèse de type additive qui intervient de manière précoce dans les processus de diagenèse. Elle se caractérise par l'addition dans la porosité de l'os et de la dent fossile de contaminations physiques sous forme particulaire ou cristallisée.

- la diagenèse substitutive dont les mécanismes se mettent en place plus tardivement. Elle se caractérise par l'altération de l'intégrité chimique par rééquilibrage (incorporation et/ou élimination d'éléments) entre l'os et la dent, les contaminations physiques et plus généralement le milieu de dépôt.

Dans ce chapitre, nous chercherons à montrer qu'il est possible de mettre en place un système efficace permettant d'éliminer les effets de la diagenèse de type additive dans l'os et nous testerons

aussi la résistance des différentes biominéralisations (os et l'émail dentaire) à la diagenèse de type substitutive. Cette étude est présentée dans un article publié chez *Geochimica et Cosmochimica Acta* exposé dans la partie suivante.

Notre étude révèle le potentiel de conservation du signal biogénique du  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  de l'os lorsque seule une diagenèse additive précoce est présente. L'impact de la diagenèse précoce pouvant être minimisé dans l'os par la mise en place de traitement chimique spécifique (Wathen *et al.*, 2022), dans cette thèse nous avons utilisé la méthode de prétraitement à l'acide acétique ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) à 0.1N en proportion de 0.5 ml par mg d'échantillon. L'utilisation des éléments traces ou terres rares a souvent été proposée comme marqueur de la diagenèse (Trueman et Tuross, 2002; Reynard et Balter, 2014) du fait de leur quasi-absence dans les tissus biominéralisés (concentration inférieure au ppm). On montrera dans cet article comment il est possible d'utiliser les rapports du La/Sm et du La/Yb afin de caractériser le type de diagenèse et de définir son impact sur la composition en calcium de l'os et de l'émail. De plus, nous avons pu montrer au travers de cette étude la très grande résistance de l'émail au processus de diagenèse, offrant donc un potentiel de conservation très important et ce sans nécessité de prétraitement.

### ii. « *Limits of Ca isotopes diagenesis in fossil bone and enamel* »

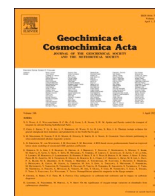
Résumé français : Il est reconnu depuis longtemps que la diagenèse modifie de manière significative les profils biogéniques des éléments traces dans l'émail et les os fossiles, profils couramment utilisés pour les reconstitutions paléobiologiques et paléoenvironnementales. Pour une diagenèse de type additif, ou précoce, les profils biogéniques des éléments traces peuvent être restaurés par la lixiviation (*leaching*) des minéraux secondaires, mais cette technique est inefficace pour une diagenèse de type substitutif, ou extensive, pour laquelle les éléments traces secondaires sont incorporés dans le minéral biogénique. Ce schéma n'est cependant pas clair pour le calcium, cation majeur de l'émail dentaire et de l'os, dont la composition isotopique stable ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) véhicule également des informations biologiques et environnementales. Nous présentons une série d'expériences de *leaching* pour contrôler les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  dans l'émail et l'os fossiles synthétiques et naturels provenant de différents milieux. Les résultats montrent que les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  de l'émail sont insensibles à une diagenèse du Calcium contenant du  $\text{CO}_3$  de type additif, tandis que l'os montre un décalage constant vers des valeurs enrichies en  $^{44}\text{Ca}$ , qui peuvent être restaurées par une procédure de *leaching*. Dans le contexte d'une diagenèse de type substitutive, l'os présente des valeurs constantes de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$ , insensibles au *leaching*, et présente un profil de terre

rare (REE=*rare earth element*) symptomatique d'une diagenèse étendue. Un tel schéma de REE peut être observé dans l'émail fossile, mais les valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  associées sont toujours fluctuantes et suivent un schéma trophique. Nous concluons que les isotopes du Calcium dans l'émail fossile sont probablement protégés d'une diagenèse extensive et nous soutenons que cette immunité est due à la très faible porosité de l'émail qui ne peut pas accueillir suffisamment de minéraux secondaires pour modifier de manière significative la composition isotopique du Calcium massif de l'émail.

NB : Les suppléments à cet article sont présentés en Annexe B

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

# Geochimica et Cosmochimica Acta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/gca](http://www.elsevier.com/locate/gca)

## Limits of calcium isotopes diagenesis in fossil bone and enamel

Pierre-Jean Dodat<sup>a,b</sup>, Jeremy E. Martin<sup>a</sup>, Sébastien Olive<sup>a,c</sup>, Auguste Hassler<sup>a,1,2</sup>,  
Emmanuelle Albalat<sup>a</sup>, Jean-Renaud Boisserie<sup>d,e</sup>, Gildas Merceron<sup>d</sup>, Antoine Souron<sup>b</sup>,  
Bruno Maureille<sup>b</sup>, Vincent Balter<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> LGL-TPE, UMR 5276, ENS de Lyon, CNRS, Univ. Lyon 1, 46 Allée d'Italie, 69342 Lyon Cedex 07, France

<sup>b</sup> PACEA UMR 5199, Univ. Bordeaux, CNRS, MC, F-33600 Pessac, France

<sup>c</sup> Directorate Earth & Life History, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Rue Vautier 29, 1000 Brussels, Belgium

<sup>d</sup> PALEVOPRIM, UMR 7262, CNRS, Univ. Poitiers, 86073 Poitiers, France

<sup>e</sup> CFEE UAR 3137, CNRS, Ministère de l'Europe et des affaires étrangères, PO BOX 5554, Addis Ababa, Ethiopia

### ARTICLE INFO

Associate editor: Adrian Immenhauser

#### Keywords:

Calcium isotope  
Fossil bone  
Fossil enamel  
Diagenesis

### ABSTRACT

Diagenesis has been recognized for decades to significantly alter the trace elements biogenic signatures in fossil tooth enamel and bone that are routinely used for paleobiological and paleoenvironmental reconstructions. This signature is modified during diagenesis according to a complex continuum between two main processes, addition and substitution. For an additive-like, or early diagenesis, the trace elements biogenic profiles can be restored by leaching secondary minerals, but this technique is inefficient for a substitutive-like, or extensive diagenesis for which secondary trace elements are incorporated into the biogenic mineral. This scheme is however unclear for Ca, the major cation in tooth enamel and bone hydroxylapatite, whose stable isotope composition ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) also conveys biological and environmental information. We present a suite of leaching experiments for monitoring  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values in artificial and natural fossil enamel and bone from different settings. The results show that enamel  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are insensitive to an additive-like diagenesis that involves the formation of secondary Ca-carbonate mineral phases, while bone shows a consistent offset toward  $^{44}\text{Ca}$ -enriched values, that can be restored to the biogenic baseline by a leaching procedure. In the context of a substitutive-like diagenesis, bone exhibits constant  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, insensitive to leaching, and shows a REE pattern symptomatic of extensive diagenesis. Such a REE pattern can be observed in fossil enamel for which  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are still fluctuating and follow a trophic pattern. We conclude that Ca isotopes in fossil enamel are probably not prone to extensive diagenesis and argue that this immunity is due to the very low porosity of enamel that cannot accommodate enough secondary minerals to significantly modify the isotopic composition of the enamel Ca pool.

### 1. Introduction

Bone, dentin, and enamel are valuable archives for recording information about the life history and environment of fossil and extant vertebrates. The information is embedded as trace elements or isotopic ratios signature during the genesis of the mineralized tissue, a signature that is further obfuscated by diagenesis during fossilization. Regarding trace elements, the comprehension of diagenetic mechanisms has greatly benefited from in-situ laser ablation measurements (Kohn and Moses, 2013; Kral et al., 2022), highlighting the complex interplay of the diffusion, adsorption, and transport reaction processes. However, while

sophisticated techniques are now deployed to fully integrate all the hallmarks of diagenesis (Suarez and Kohn, 2020; Weber et al., 2021; Kral et al., 2022), the results still recognize the central importance of porosity which was already suspected in the 2000's (Hedges, 2002; Trueman and Tuross, 2002; Kral et al., 2021). Porosity mediates fluid circulation and secondary mineral deposition, and increases as a result of collagen degradation, augmenting the exposure of carbonated hydroxylapatite (HAp) crystallites in the first stages of bone diagenesis. Because porosity is forty times higher in bone than in enamel (Wang and Cerling, 1994), the latter is widely accepted to be far more resistant to diagenesis than bone and is nowadays the tissue of reference for measuring trace

\* Corresponding author.

E-mail address: [vincent.balter@ens-lyon.fr](mailto:vincent.balter@ens-lyon.fr) (V. Balter).

<sup>1</sup> Present address: Department of Archaeology, University of Aberdeen, Aberdeen, United Kingdom.

<sup>2</sup> Present address: Department of Earth and Environmental Sciences, University of Ottawa, Ottawa, ON, Canada.

<https://doi.org/10.1016/j.gca.2023.04.012>

Received 18 November 2022; Accepted 19 April 2023

Available online 29 April 2023

0016-7037/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

elements concentration (Le Houedec et al., 2013; Joannes-Boyau et al., 2019; Nava et al., 2020; Funston et al., 2022) and/or isotope composition (Martin et al., 2014, 2015; Jaouen et al., 2017; McCormack et al., 2022).

In all types of tissue, some diagenetic overprints can be reverted using leaching pretreatment (Sillen and LeGeros, 1991; Koch et al., 1997; Nielsen-Marsh and Hedges, 2000; Balter et al., 2002a; Wathen et al., 2022). When formation of secondary mineral phases is thought to have occurred (additive-like diagenesis), leaching is potentially efficient at removing these minerals. One issue is that leaching is often performed in batch, leading samples to be leached more than necessary, therefore dissolving the most soluble HAp fraction that is the most pristine (Sillen and LeGeros, 1991; Balter et al., 2002a). The efficiency of the leaching method is even more questionable when diffusion of diagenetic elements (substitutive-like diagenesis) into the HAp has occurred.

All told, these considerations hold for trace elements, but the situation is unclear for major elements. Traditionally, the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  values of  $\text{CO}_3$  present in HAp (~5 wt%) are measured in leached samples due to the widespread presence of calcite in the porosity, but the  $\delta^{18}\text{O}$  value of HAp  $\text{PO}_4$  (~55 wt%) is always measured in raw samples. The isotope composition of Ca of HAp (~40 wt%) varies according to trophic position (Skulan and DePaolo, 1999; Heuser et al., 2011; Martin et al., 2018; Hu et al., 2022) and physiology (Tacail et al., 2017; Hassler et al., 2021; Koutamanis et al., 2021; Li et al., 2022), but deserves an assessment of potential diagenetic effects on  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values in bone and tooth enamel. Simple mass balance calculations already show that changes of the original  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values in bone and tooth enamel by secondary Ca minerals are either small or would require an uncommonly fractionated Ca isotopes diagenetic pool (Heuser et al., 2011; Martin et al., 2017).

Here, we attempt to resolve this issue by studying how Ca isotopes behave during controlled experiments of artificial fossil bone and enamel leaching and in different diagenetic case studies. The Ca isotope compositions are measured along with Ca concentrations and Ca/P ratios to monitor the origin of Ca, and Rare Earth Elements (REE) to decipher the type (additive or substitutive) and extrapolate the extent of diagenetic alteration (Reynard et al., 1999; Trueman and Tuross, 2002).

## 2. Material and methods

First, we analyzed the Ca isotope composition in leached and unleached artificial samples mimicking fossil bone and enamel that have undergone an additive-like diagenesis. These samples consist of mixtures of HAp and calcite powder whose  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are distinct and constrained. An artificial fossil bone was prepared using the bone ash certified reference material (SRM-1400, NIST;  $\delta^{44/42}\text{Ca} = -1.21 \pm 0.04\%$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 3$ ) to which was added various proportions of the calcite certified reference material SRM-915b (NIST,  $\delta^{44/42}\text{Ca} = -0.28 \pm 0.04\%$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 21$ ). The SRM-1400 certified reference material has been ashed and is devoid of organic matter and has a high crystallinity, both being characteristics of fossil bone. Because enamel certified reference material does not exist, we prepared artificial fossil enamel by mixing a sample of extant enamel from an isolated and partial molar tooth of modern elephant (*Elephas maximus*;  $\delta^{44/42}\text{Ca} = -1.43 \pm 0.07\%$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 10$ ) with various proportions of SRM-915b. Second, we analyzed a suite of natural samples from different localities and ages that were selected according to their potential degree of diagenetic alteration. Pleistocene bone and tooth enamel samples were chosen to be representative of weak diagenesis, with preserved trace elements compositions, and Devonian bone of more pronounced diagenesis. A first set of material is composed by a suite of fossil bone samples ( $n = 13$ ) from the Camiac cave (Gironde, France). The site is a hyena den from the upper Pleistocene (Mousterian period,  $35.1 \pm 2$  ka BP Balter et al., 2002b). Taxonomic information is given in Table S2. This material is characterized by trace elements (Sr/Ca and Ba/Ca) distributions that reflect a trophic pattern (Balter et al., 2002b). A suite of fossil enamel samples ( $n = 14$ ) from the Plio-Pleistocene of the Shungura Formation in

the Lower Omo Valley (Ethiopia, sample age bracketed between 3.6 and 1.76 Ma; Boisserie et al., 2008) represents the second set of material. Here, the material is composed by only two extinct genera of large African suids (*Metridiochoerus* sp. and *Notochoerus* sp., Table S2). Leached fossil bone at Shungura exhibit Sr/Ca ratios characteristic of a trophic pattern (Sillen, 1986). A third set of samples gather vertebrate (fish and tetrapod) fossil bone ( $n = 25$ , Table S2) from the Devonian locality of Strud (360 Ma, Belgium; Olive et al., 2015). To our knowledge, no geochemical studies have already been performed on this material.

The samples were processed in the clean room and analyzed on the facilities at the Laboratoire de Géologie de Lyon: Terre, Planètes, Environnements (LGL-TPE, ENS de Lyon). All the samples (ca. ~5 mg) were leached using 0.5 mL of 0.1 M acetic acid per mg of sample during 30 min in an ultrasonic bath and rinsed with 18.2 MΩ/cm grade MilliQ water. This represents 2.5-fold the quantity of acid necessary to dissolve an equivalent amount of pure calcite. The samples were dissolved in distilled concentrated  $\text{HNO}_3$  and an aliquot measured for major elements (P and Ca) by ICP-OES (Thermo Scientific, iCap 6000 Radial) and trace elements (REE) by ICP-MS (Thermo Scientific, iCap-Q) according to Balter and Lécuyer (2004). Calcium from the remaining solution was purified by ion-exchange chromatography and Ca isotope composition measured by MC-ICP-MS (Thermo Scientific, Neptune Plus) according to Tacail et al. (2014). Briefly, three ion-exchange chromatography steps are necessary, the first allowing the recovery of Ca, Fe, and Sr only, the second purifying Ca from Fe and the third removing Sr (Table 1). Blanks for the procedure did not exceed 100 ng of Ca.

Calcium isotope abundance ratios ( $^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$  and  $^{43}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ ) were measured using a Neptune Plus multi-collector ICP-MS using the standard-sample-standard bracketing method. All Ca isotope compositions are expressed using the delta notation, calculated as follows:

$$\delta^{44/42}\text{Ca} = \left( \frac{\left( ^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}_{\text{Sample}} \right)^n}{0.5 \times \left( ^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca} \right)_{\text{ICP Ca Lyon}}^{n-1} + 0.5 \times \left( ^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca} \right)_{\text{ICP Ca Lyon}}^{n+1}} - 1 \right) \times 1000$$

The ICP Ca Lyon standard, used routinely in Lyon, was used as the bracketing standard. The results can be converted relative to the SRM915a with an offset of  $-0.52\%$ .

**Table 1**  
Detailed procedure for Ca extraction and purification.

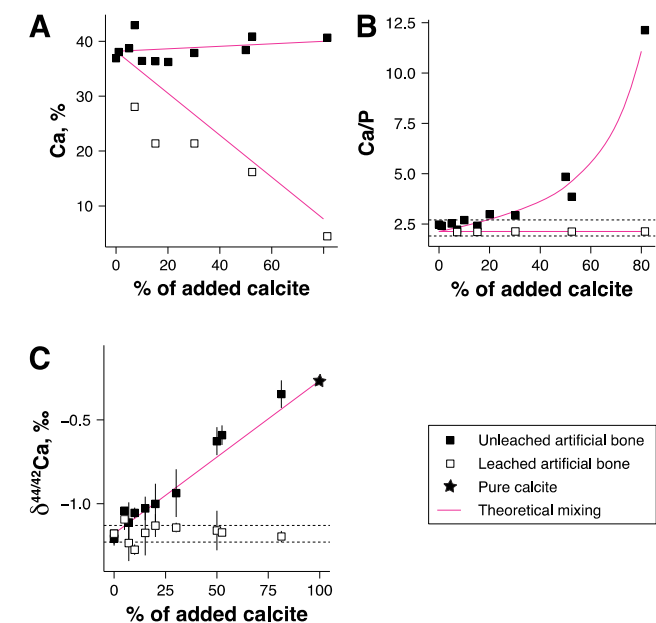
1. Matrix elimination		
AG50W-X12 resin (200–400 mesh) ~ 0.21 mL		
Step	Eluent	Vol. (mL)
Condition	1 M HCl	2.5
Load	1 M HCl	0.3 + 0.7
Elution (matrix)	1 M HCl	5
<b>Ca elution (Ca, Sr, Fe)</b>	<b>6 M HCl</b>	2.5
2. Fe elimination if necessary		
AG1-X8 resin (100–200 mesh) ~ 1 mL		
Step	Eluent	Vol. (mL)
Condition	6 M HCl	5
Load	6 M HCl	0.25 + 0.75
<b>Elution (Ca, Sr)</b>	<b>6 M HCl</b>	3.5
3. Sr elimination		
Sr-Specific resin (Eichrom) ~ 0.25 mL		
Step	Eluent	Vol. (mL)
Condition	3 M $\text{HNO}_3$	2.5
Load	3 M $\text{HNO}_3$	0.3
<b>Elution (Ca)</b>	<b>3 M <math>\text{HNO}_3</math></b>	3.5

### 3. Data presentation and interpretation

Results are given in Table S1 for artificial fossil bone and enamel and in Table S2 for natural fossil bone and enamel. The mass fractionation measured in this study agrees with the 0.5 slope predicted by the linear approximation of mass-dependent fractionation (Fig. S1).

We first test the effect of leaching on the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the certified reference material SRM-1400 and found no difference after leaching ( $\delta^{44/42}\text{Ca} = -1.21 \pm 0.03\text{‰}$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 3$ ) compared to unleached material ( $\delta^{44/42}\text{Ca} = -1.21 \pm 0.04\text{‰}$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 3$ ). Absence of difference between the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of unleached and leached enamel is also observed as we measured a constant  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of  $-1.43\text{‰}$  (Table S1). Because of the very small amount of processed material ( $\sim 5$  mg), the remaining bone or enamel residue after leaching is so small that it is impossible to weigh it, so Ca concentration for leached material is underestimated. Nevertheless, using in 0.1 M acetic acid for 30 min generally leads to a loss of about 30% of initial material. The absence of Ca isotope fractionation during leaching therefore indicates that the dissolution of HAP is quantitative and that leaching *per se* does not affect fossil bone and enamel  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values.

In the mixtures of bone HAP with increasing proportions of added calcite, the slight theoretical increase of Ca concentration is barely detected in unleached mixtures, probably due to the  $\sim 5\%$  error inherent to ICPMS measurements (Fig. 1A), but the decrease of Ca content is unambiguous in leached mixture (Fig. 1A). In leached mixtures, the Ca content is generally lower than predicted particularly for low calcite content (Fig. 1A). This suggests partial dissolution of HAP that further occurs after complete dissolution of calcite (Balter et al., 2002b). The leaching restores the Ca/P ratio of the mixture to the pure bone value (Fig. 1B). The leaching also restores the original bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value even up to 80% of added calcite (Fig. 1C). The deviation of the bulk  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value can be detectable with  $\geq 10\%$  added calcite and generally follows the theoretical balance between the HAP and the calcite end-members.

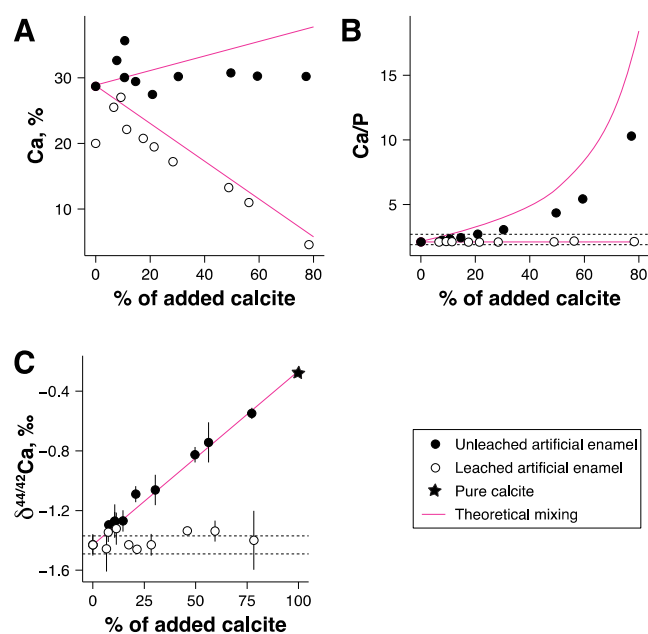


**Fig. 1.** Effect of leaching on the Ca concentration (A), Ca/P ratio (B), and the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  (C) value of artificial fossil bone material (SRM-1400 + SRM-915b). Percentage of added calcite is relative to the initial total mass of the mixture. Error bars are typically  $< 5\%$  in panel A. Dotted lines in panel B represent the natural range of the Ca/P ratio from 1.9 to 2.7 in biological HAP. Dotted lines in panel C represent the 2 standard deviations of the mean  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of raw material. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is reported relative to ICP-Ca Lyon.

In the mixtures of enamel with increasing proportions of calcite, the Ca concentration and Ca/P ratio between unleached and leached samples follow the same pattern than for bone (Fig. 2A, 2B). Dissolution of enamel is also observed for low calcite content as measured Ca concentrations stand below theoretical values (Fig. 2A). Similar to bone, deviation of the bulk  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is detected with  $\geq 10\%$  added calcite, which follows the theoretical balance between the HAP and the calcite end-members, and leaching restores the initial enamel  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value even up to 80% of added calcite (Fig. 1C). Porosity in bone and enamel is variable (see Kral et al., 2021 for a discussion) but is grossly 40% in bone and one order of magnitude less ( $\sim 1\%$ ) in enamel (Wang and Cerling, 1994). Given that bone and enamel can accommodate calcite to a magnitude equal to porosity, the results from artificial fossil bone and enamel suggest that the incorporation of calcite in natural fossil materials can be detected in the bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value but not for that enamel, except for unrealistic calcite  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value or important secondary porosity (e.g., post burial enamel surface cracks). This assumption is confirmed with results obtained on natural fossil bone and enamel.

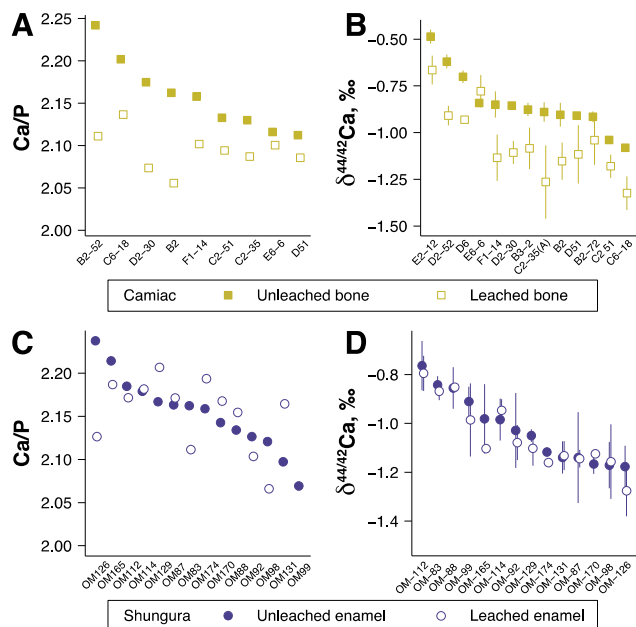
Fossil bone from Camiac (Table S2) shows a Ca/P decrease indicative of efficient removal of additive Ca of calcitic origin (Fig. 3A) along with a consistent decrease ( $-0.21 \pm 0.11$ ,  $n = 12$ ) of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values during the leaching (Fig. 3B), validating the assumption that the added diagenetic Ca from calcite with a higher  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value than bone has been removed accordingly. Fossil enamel unleached and leached samples from Shungura (Table S2) show a Ca/P ratio that remains constant (Fig. 3C) and similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (Fig. 3D), suggesting that non-significant amount of calcite was present in raw samples and that a quantitative fractionation of Ca isotopes occurred during leaching.

Finally, the Devonian bone from Strud (Table S2) show invariable  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values with no preserved trophic information (Fig. 4) despite the leaching procedure. Here, the range of variation of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values ( $0.19\text{‰}$ ,  $n = 25$ ) is much more contracted than at Camiac ( $0.84\text{‰}$ ,  $n = 26$ ) or Shungura ( $0.51\text{‰}$ ,  $n = 28$ ). Note that Shungura samples are

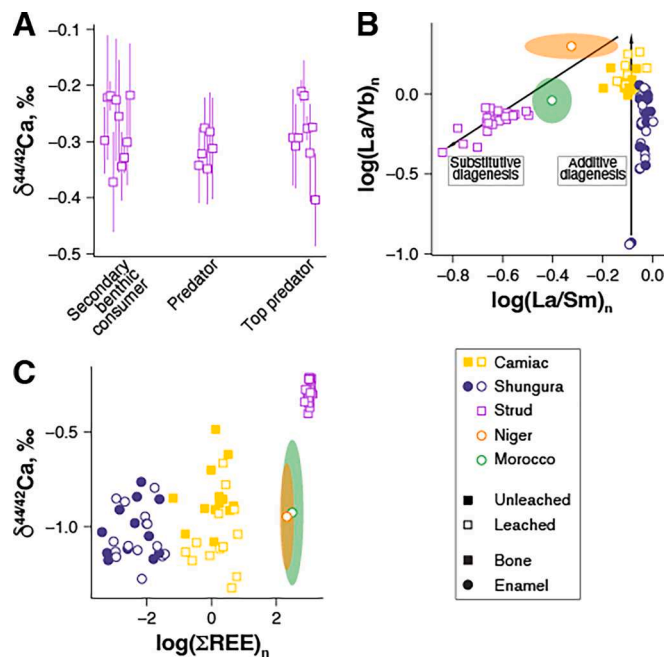


**Fig. 2.** Effect of leaching on the Ca concentration (A), Ca/P ratio (B), and the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  (C) value of artificial fossil enamel material (enamel + SRM-915b). Percentage of added calcite is relative to the initial total mass of the mixture. Error bars are typically  $< 5\%$  in panel A. Dotted lines in panel B represent the natural range of the Ca/P ratio from 1.9 to 2.7 in biological HAP. Dotted lines in panel C represent the 2 standard deviations of the mean  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of raw material. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is reported relative to ICP-Ca Lyon.





**Fig. 3.** Effect of leaching on the Ca/P ratio and  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of natural fossil bone from Camiac (A and B) and fossil enamel from Shungura (C and D). The variability of the Ca/P ratio is in the natural range of the Ca/P ratio in biological Hap. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is reported relative to ICP-Ca Lyon.



**Fig. 4.** (A)  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of leached bone at Strud. Trophic levels are assessed based on ecomorphological features. (B)  $(\text{La}/\text{Sm})_n$  vs  $(\text{La}/\text{Yb})_n$  distribution of fossil samples analyzed in the study. Morocco and Niger samples are from Hassler et al. (2018). REE have been normalized to PAAS. (C)  $(\Sigma\text{REE})_n$  vs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  distribution of fossil samples analyzed in the study. Morocco and Niger samples are from Hassler et al. (2018). REE have been normalized to PAAS. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is reported relative to ICP-Ca Lyon.

represented by two taxa of suids only (*Metridiochoerus* sp. and *Notochoerus* sp.), thus are not representative of the possible full trophic variability. The Ca/P range of variation at Strud ( $2.12 \pm 0.07$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 25$ ) is in the variability of biological HAP and does not indicate any Ca

excess.

Taken together, the results of leaching experiments suggest that Ca isotopes in bone, but not in enamel, are sensitive to an additive-like diagenesis probably because bone porosity is high enough to accommodate significant amount of calcite to modify the original HAP  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value. In case of clear additive-like diagenesis (artificial fossil bone and enamel, Camiac fossil bone) the original HAP  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is restored by leaching. However, in the case of the Strud fossil bones, the original HAP  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value cannot be restored by leaching as suggested by the absence of trophic pattern. At Strud, fossil bone probably experienced a substitutive-like diagenesis that was sufficiently pervasive to reset original HAP  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values.

#### 4. Discussion

The type of fossil bone and enamel diagenesis, additive or substitutive, can be depicted by the REE pattern, and therefore helps to detect whether the Ca isotope composition is potentially reset or not. REE trapping in fossil bone or enamel is a post-mortem phenomenon that occurs through two main processes, namely adsorption and substitution. The suite of REE differs by ionic radius, middle REE (Sm) having an ionic radius close to that of Ca ( $\sim 100$  pm) and thus more liable to incorporate the HAP crystal lattice compared to light (La) or heavy (Yb) REE. The REE pattern can thus typify the nature of diagenetic processes because the relative partitioning among REE will be characteristic of the incorporation process. A quantitative incorporation without relative REE partitioning first occurs during early diagenesis, followed during protracted diagenesis by a non-quantitative adsorption mechanism controlled by surface crystal-chemical properties. Those mechanisms are considered additive in that the REE content increases during diagenesis, constituting an extra burden of trace elements that can be theoretically removed by leaching. While this assumption can be easily accepted concerning fossils that have undergone early diagenesis only, the efficiency of leaching is questionable in case of protracted diagenesis during which recrystallization inevitably occurred (Trueman and Tuross, 2002). Note that Hap recrystallisation, as witnessed by the increase of crystallite size, can occur within a few years post-mortem (Trueman et al., 2004), but is linked to the exposure of HAP crystallite surfaces during the breakdown of collagen (Trueman et al., 2008). Finally, a substitution mechanism, which is controlled by bulk crystal-chemical properties, can occur during extensive diagenesis, leading to strong REE partitioning (Reynard et al., 1999), along with progressive transformation of HAP into francolite (Trueman and Tuross, 2002). The effects of this late-stage substitutive-like diagenesis are anticipated to be insensitive to leaching.

As expected, the Late Pleistocene Camiac bone and Early Pleistocene Shungura enamel samples exhibit  $(\text{La}/\text{Sm})_n$  and  $(\text{La}/\text{Yb})_n$  ratios characteristic of early diagenesis, supporting the idea that well-preserved  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (Fig. 4B) can be obtained in leached samples, which is necessary for bone (Fig. 3B) but not for enamel (Fig. 3D) due to the presence of secondary Ca-carbonate in bone but not in enamel. Leaching has no influence on the  $(\text{La}/\text{Sm})_n$  and  $(\text{La}/\text{Yb})_n$  ratios for both bone from Camiac and enamel from Shungura (Table S2). The REE pattern at Strud is indicative of a substitutive-like diagenesis (Fig. 4B), and despite leaching, the associated bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$ , which are contracted and invariable among trophic positions, are reset by diagenesis. The picture is however different for fossil enamel. For instance, Cretaceous dinosaur enamel samples from Hassler et al. (2018), which have not been leached, still exhibit highly variable  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (from  $-1.6\text{‰}$  to  $-0.4\text{‰}$ ) with preserved trophic systematics, despite obvious signs of substitutive-like diagenesis, i.e., hat-shaped REE patterns (Hassler et al., 2018) and low  $(\text{La}/\text{Sm})_n$  ratios (Fig. 4B). Fossil bone or enamel are open systems that accumulate REE during diagenesis, either through adsorption and/or substitution processes. The REE concentration  $(\Sigma\text{REE})_n$  thus increases during diagenesis, spanning four orders of magnitude between Shungura enamel samples ( $0.009 \pm 0.020$   $\mu\text{g}/\text{g}$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 28$ , Table S2) and

Strud bone samples ( $1028 \pm 724 \mu\text{g/g}$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 25$ , Table S2, Fig. 4C). Dinosaur enamel samples from Morocco ( $417 \pm 581 \mu\text{g/g}$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 23$ ) and from Niger ( $237 \pm 282 \mu\text{g/g}$ ,  $\pm 2\text{SD}$ ,  $n = 49$ ) display high  $(\Sigma\text{REE})_n$  concentrations, but still variable  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values despite the absence of leaching.

The substitutive-like REE pattern is thus not a good proxy of Ca isotope extended diagenesis in fossil enamel. An explanation is that the enamel one percent of porosity is insufficient to accommodate enough Ca in diagenetic fluids and/or secondary minerals that will further substitute with HAp to significantly modify the isotopic composition of the enamel bulk Ca. This assumption holds providing a realistic  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the diagenetic pool (fluid or mineral), which must stand close to the value of river water, i.e.,  $\sim 0\text{‰}$  (Heuser et al., 2011; Martin et al., 2017). A simple mass balance calculation indicates that a 1% porosity full of Ca necessitates the diagenetic pool to be  $\pm 4\text{‰}$  different from the HAp to modify the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value by  $\pm 0.1\text{‰}$ . In bone, the situation is clearly different because the porosity ( $\sim 40\%$ ) grossly equals the HAp Ca content, so the diagenetic pool can have realistic  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value, i.e., close to that of HAp. Taking all the above results into account, we conclude that Ca isotopes are largely immune to diagenesis in fossil enamel, but not in fossil bone.

## 5. Conclusion

We demonstrate that an addition of a diagenetic phase containing Ca in the form of Ca-carbonate significantly modifies the bulk  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of artificial fossil bone and enamel, whose initial composition can be restored using leaching. For fossils that have undergone weak diagenesis, this process is reproduced in fossil bone, but not in fossil enamel, which cannot accommodate enough diagenetic Ca in the porosity to modify the bulk  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value. For fossils that have undergone extensive diagenesis, as typified by the REE patterns, leaching is unable to restore the initial bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value, while enamel can still contain non-significantly modified  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, even in the absence of leaching. The diagenetic Ca content that can be added in the porosity during early diagenesis of enamel is too low and is further unable to modify its bulk  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value by substitution. The REE pattern of fossil enamel is thus not a reliable proxy for extensive diagenetic alteration of Ca isotopes, which remains to be potentially uncovered by crystal-chemical means.

## Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgements

Pierre-Jean Dodat received financial supports from the CNRS 80|PRIME program and Research Program of the Nouvelle Aquitaine Region: Isotopes du calcium et anthropobiologie au Paléolithique moyen, convention n° 2019-1R40208. Sébastien Olive received funding from Fonds de la recherche scientifique (FNRS) and the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 101032456-TNT. Kani Bayez, Gaël Clément, Cécilia Cousin, Valentin Fischer, Annelise Folie, Vincent Mistrot, Emmanuel Robert, and the Omo Group Research Expedition (OGRE) are thanked for helping with the processing of fossil samples. Sampling authorization was delivered to the OGRE by the Ethiopian Heritage Authority/National Museum of Ethiopia, and a fossil sampling session in Addis Ababa was funded by the project ANR-17-CE27-0002 'DIET-Scratches'. We thank two anonymous reviewers and the Associate Editor Adrian Immenhauser for their in-depth reviews and constructive comments that greatly improved the quality of this article.

## Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.gca.2023.04.012>.

## References

- Balter, V., Bocherens, H., Person, A., Labourdette, N., Renard, M., Vandermeersch, B., 2002a. Ecological and physiological variability of Sr/Ca and Ba/Ca in mammals of West European mid-Würmian food webs. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 186, 127–143.
- Balter, V., Lécuyer, C., 2004. Determination of Sr and Ba partition coefficients between apatite and water from 5°C to 60°C: a potential new thermometer for aquatic paleoenvironments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68, 423–432.
- Balter, V., Saliège, J.-F., Bocherens, H., Person, A., 2002b. Evidence of physico-chemical and isotopic modifications in archaeological bones during controlled acid etching. *Archaeometry* 44, 329–336.
- Boisserie, J.-R., Guy, F., Delagnes, A., Hlukso, L.J., Bibi, F., Beyene, Y., Guilleminot, C., 2008. New palaeoanthropological research in the Plio-Pleistocene Omo Group, Lower Omo Valley, SNNPR (Southern Nations, Nationalities and People Regions), Ethiopia. *C. R. Palevol.* 7, 429–439.
- Funston, G.F., dePolo, P.E., Sliwinski, J.T., Dumont, M., Shelley, S.L., Pichevin, L.E., Cayzer, N.J., Wible, J.R., Williamson, T.E., Rae, J.W.B., Brusatte, S.L., 2022. The origin of placental mammal life histories. *Nature* 610, 107–111.
- Hassler, A., Martin, J.E., Amiot, R., Tacaïl, T., Godet, F.A., Allain, R., Balter, V., 2018. Calcium isotopes offer clues on resource partitioning among Cretaceous predatory dinosaurs. *Proc. R. Soc. B* 285, 20180197.
- Hassler, A., Martin, J.E., Merceron, G., Garel, M., Balter, V., 2021. Calcium isotopic variability of cervid bioapatite and implications for mammalian physiology and diet. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 573, 110418.
- Hedges, R.E.M., 2002. Bone diagenesis: an overview of processes. *Archaeometry* 44, 319–328.
- Heuser, A., Tütken, T., Gussone, N., Galer, S.J.G., 2011. Calcium isotopes in fossil bones and teeth — Diagenetic versus biogenic origin. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 3419–3433.
- Hu, Y., Jiang, Q., Liu, F., Guo, L., Zhang, Z., Zhao, L., 2022. Calcium isotope ecology of early *Gigantopithecus blacki* (~2 Ma) in South China. *Earth Planet. Sci. Lett.* 584, 117522.
- Jaouen, K., Herrscher, E., Balter, V., 2017. Copper and zinc isotope ratios in human bone and enamel. *Am. J. Phys. Anthropol.* 162, 491–500.
- Joannes-Boyau, R., Adams, J.W., Austin, C., Arora, M., Moffat, I., Herries, A.I.R., Tonge, M.P., Benazzi, S., Evans, A.R., Kullmer, O., Wroe, S., Dosseto, A., Fiorenza, L., 2019. Elemental signatures of *Australopithecus africanus* teeth reveal seasonal dietary stress. *Nature* 572, 112–115.
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The Effects of Sample Treatment and Diagenesis on the Isotopic Integrity of Carbonate in Biogenic Hydroxylapatite. *J. Archaeol. Sci.* 24, 417–429.
- Kohn, M.J., Moses, R.J., 2013. Trace element diffusivities in bone rule out simple diffusive uptake during fossilization but explain in vivo uptake and release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 419–424.
- Koutamanis, D., Roberts, G.L., Dosseto, A., 2021. Inter- and intra-individual variability of calcium and strontium isotopes in modern Tasmanian wombats. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 574, 110435.
- Kral, A.G., Ziegler, A., Tütken, T., Geisler, T., 2021. Experimental aqueous alteration of cortical bone microarchitecture analyzed by quantitative micro-computed tomography. *Front. Earth Sci.* 9, 609496.
- Kral, A.G., Lagos, M., Guagliardo, P., Tütken, T., Geisler, T., 2022. Rapid alteration of cortical bone in fresh- and seawater solutions visualized and quantified from the millimeter down to the atomic scale. *Chem. Geol.* 609, 121060.
- Le Houedec, S., Girard, C., Balter, V., 2013. Conodont Sr/Ca and  $\delta^{18}\text{O}$  record seawater changes at the Frasnian-Famennian boundary. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 376, 114–121.
- Li, Q., Nava, A., Reynard, L.M., Thirlwall, M., Bondioli, L., Müller, W., 2022. Spatially-Resolved Ca Isotopic and Trace Element Variations in Human Deciduous Teeth Record Diet and Physiological Change. *Environ. Archaeol.* 27, 474–483.
- Martin, J.E., Vance, D., Balter, V., 2014. Natural variation of magnesium isotopes in mammal bones and teeth from two South African trophic chains. *Geochim. Cosmochim. Acta* 130, 12–20.
- Martin, J.E., Desri, U., Liard, R., Wattanapituksakul, A., Suteethorn, S., Lauprasert, K., Tong, H., Buffetaut, E., Suteethorn, V., Suan, G., Têlouk, P., Balter, V., 2015. Strontium isotopes and the long-term residency of thalattosuchians in the freshwater environment. *Paleobiology* 42, 143–156.
- Martin, J.E., Tacaïl, T., Balter, V., 2017. Non-traditional isotope perspectives in vertebrate palaeobiology. *Palaeontology* 60, 485–502.
- Martin, J.E., Tacaïl, T., Cerling, T.E., Balter, V., 2018. Calcium isotopes in enamel of modern and Plio-Pleistocene East African mammals. *Earth Planet. Sci. Lett.* 503, 227–235.
- McCormack, J., Griffiths, M.L., Kim, S.L., Shimada, K., Karnes, M., Maisch, H., Pederzani, S., Bourgon, N., Jaouen, K., Becker, M.A., Jöns, N., Sisma-Ventura, G., Straube, N., Pollerspöck, J., Hublin, J.-J., Eagle, R.A., Tütken, T., 2022. Trophic position of *Otodus megalodon* and great white sharks through time revealed by zinc isotopes. *Nat. Comm.* 13, 2980.
- Nava, A., Lugli, F., Romandini, M., Badino, F., Evans, D., Helbling, A.H., Oxilia, G., Arrighi, S., Bortolini, E., Delpiano, D., Duches, R., Figus, C., Livraghi, A.,



- Marciani, G., Silvestrini, S., Cipriani, A., Giovanardi, T., Pini, R., Tuniz, C., Bernardini, F., Dori, I., Coppa, A., Cristiani, E., Dean, C., Bondioli, L., Peresani, M., Müller, W., Benazzi, S., 2020. Early life of Neanderthals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 117, 28719–28726.
- Nielsen-Marsh, C.M., Hedges, R.E.M., 2000. Patterns of Diagenesis in Bone I: The Effects of Site Environments. *J. Archaeol. Sci.* 27, 1139–1150.
- Olive, S., Clément, G., Daeschler, E.B., Dupret, V., 2015. Characterization of the placoderm (Gnathostomata) assemblage from the tetrapod-bearing locality of Strud (Belgium, upper Famennian). *Palaeontology* 58, 981–1002.
- Reynard, B., Lécuyer, C., Grandjean, P., 1999. Crystal-chemical controls on rare-earth element concentrations in fossil biogenic apatites and implications for paleoenvironmental reconstructions. *Chem. Geol.* 155, 233–241.
- Sillen, A., 1986. Biogenic and Diagenetic Sr/Ca in Plio-Pleistocene Fossils of the Omo Shungura Formation. *Paleobiology* 12, 311–323.
- Sillen, A., LeGeros, R., 1991. Solubility profiles of synthetic apatites and of modern and fossil bones. *J. Archaeol. Sci.* 18, 385–397.
- Skulan, J., DePaolo, D.J., 1999. Calcium isotope fractionation between soft and mineralized tissues as a monitor of calcium use in vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 13709–13713.
- Suarez, C.A., Kohn, M.J., 2020. Caught in the act: A case study on microscopic scale physicochemical effects of fossilization on stable isotopic composition of bone. *Geochim. Cosmochim. Acta* 268, 277–295.
- Tacail, T., Albalat, E., Télouk, P., Balter, V., 2014. A simplified protocol for measurement of Ca isotopes in biological samples. *J. Anal. At. Spectrom.* 29, 529.
- Tacail, T., Thivichon-Prince, B., Martin, J.E., Charles, C., Viriot, L., Balter, V., 2017. Assessing human weaning practices with calcium isotopes in tooth enamel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 114, 6268–6273.
- Trueman, C.N.G., Behrensmeyer, A.K., Tuross, N., Weiner, S., 2004. Mineralogical and compositional changes in bones exposed on soil surfaces in Amboseli National Park, Kenya: diagenetic mechanisms and the role of sediment pore fluids. *J. Archaeol. Sci.* 31, 721–739.
- Trueman, C.N., Privat, K., Field, J., 2008. Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeogr., Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 266, 160–167.
- Trueman, C.N., Tuross, N., 2002. Trace Elements in Recent and Fossil Bone Apatite. *Rev. Mineral. Geochem.* 48, 489–521.
- Wang, Y., Cerling, T.E., 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 107, 281–289.
- Wathen, C.A., Isaksson, S., Lidén, K., 2022. On the road again—a review of pretreatment methods for the decontamination of skeletal materials for strontium isotopic and concentration analysis. *Archaeol. Anthropol. Sci.* 14, 45.
- Weber, K., Weber, M., Menneken, M., Kral, A.G., Mertz-Kraus, R., Geisler, T., Vogl, J., Tütken, T., 2021. Diagenetic stability of non-traditional stable isotope systems (Ca, Sr, Mg, Zn) in teeth - An in-vitro alteration experiment of biogenic apatite in isotopically enriched tracer solution. *Chem. Geol.* 572, 120196.

## B. Résolution spatiale, temporelle et justesse des analyses des tissus minéralisés

### a. Les différents tissus minéralisés

#### i. Tissu minéralisé osseux

L'os est le plus grand tissu minéralisé chez les mammifères ce qui en fait un des tissus les plus retrouvés dans le contexte archéologique. L'os est un tissu dynamique qui évolue tout au long de la vie d'un individu. Sa fonction principale est le support de la structure corporelle et la protection mécanique des organes, mais il joue aussi un rôle essentiel de protection de la cavité médullaire, lieu de l'hématopoïèse (différenciation des cellules sanguines) et de réservoir pour les ions minéraux. Le tissu osseux est un matériau composite constitué d'une fraction minérale et d'une fraction organique. La fraction organique est composée majoritairement de collagène qui fournit à l'os son élasticité, sa flexibilité et qui dirige son organisation. Il faut aussi noter la présence de protéines autres que le collagène, de lipides, et de cellules dont le rôle est essentiel dans la minéralisation de l'os et son renouvellement. La fraction minérale de l'os qui représente environ 70 % du poids sec de l'os est constituée d'hydroxyapatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .

On distingue généralement deux parties dans le tissu osseux. **L'os cortical** (périphérique ou compact) représente environ 85 % du squelette, il est majoritaire dans les os longs. C'est une partie osseuse très dense et résistante plus ou moins épaisse qui constitue la partie extérieure de l'os et remplit principalement un rôle mécanique de protection. **L'os spongieux** (ou trabéculaire) représente quant à lui 15 % du squelette. Il est majoritaire dans les os courts et les os plats, c'est une partie osseuse constituée de lamelles et de travées qui lui confèrent un aspect d'éponge dont il tire son nom. Bien que moins résistant que l'os cortical, il offre une forte résistance tridimensionnelle pour un poids minime, c'est pourquoi on le retrouve dans la partie centrale de l'os où il est entouré de cellules conjonctives adipeuses et d'éléments sanguins. Il joue aussi un rôle prépondérant dans les échanges métaboliques permettant l'équilibre phosphocalcique.

L'os étant constamment soumis à des contraintes structurelles qui évoluent tout au long de la vie de l'individu, il se doit d'être en constante évolution, c'est ce qu'on appelle la remobilisation osseuse. Ce mécanisme met en jeu les ostéoclastes qui vont détruire la matrice minérale anciennement formée par sécrétion de protons et digérer la matrice organique par sécrétion d'enzyme. Puis les ostéoblastes entrent en scène, ils vont remplacer l'os par sécrétion d'une

nouvelle matrice organique (Figure 24). Le taux de remodelage osseux est très important pendant la croissance de l'individu ce qui permet une forte adaptation aux contraintes mécaniques. Une fois la croissance terminée le taux de remodelage décline. Le temps de renouvellement de l'ensemble du tissu osseux est estimé à 10 % par an chez l'adulte. Ce mécanisme est très actif au niveau de l'os spongieux avec un taux de renouvellement d'environ 25 % par an, l'os cortical possédant quant à lui un taux de renouvellement de 3 à 4 % par an chez l'Homme. Ce taux est amené à varier en fonction des os considérés, mais aussi des contraintes mécaniques subies et de la proportion des différents types osseux (voir Partie 2. Chapitre 2. b. i. Remobilisation différentielle du squelette).

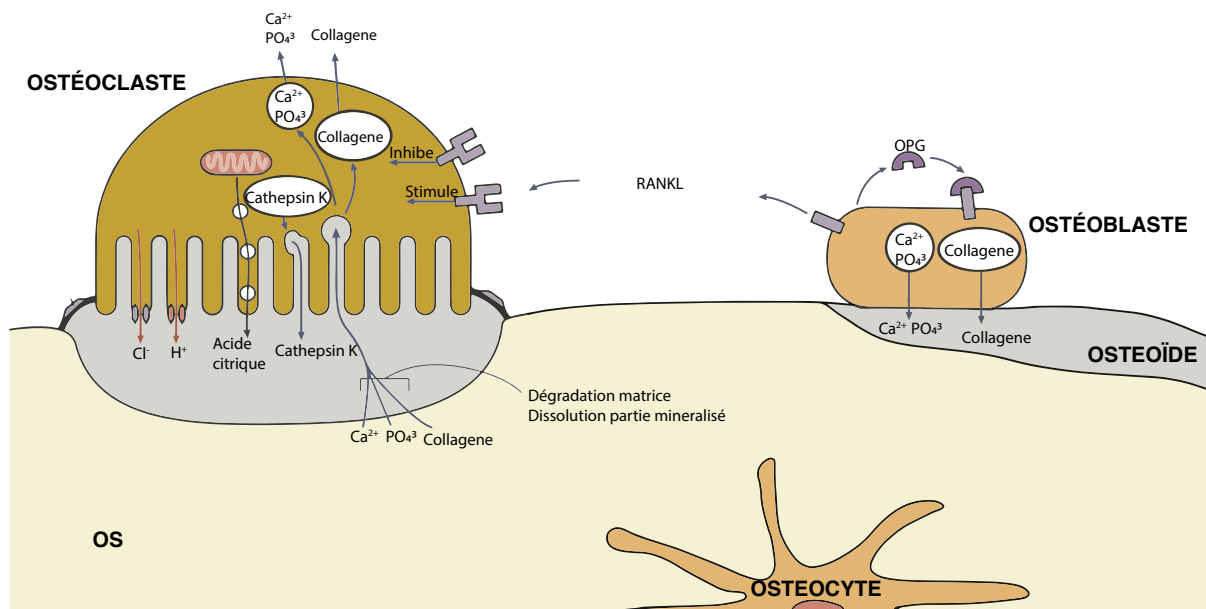


Figure 24: **Remodelage osseux et relation entre ostéoblastes et ostéoclastes** (modifiée d'après Kennedy et al. 2018). La liaison RANKL à son récepteur stimule les ostéoclastes. Les ostéoclastes créent un environnement acide dans la fosse de résorption ( $\text{pH} = 3$ ) pour dissoudre la fraction minérale, des enzymes (exemple : Cathepsin K) décomposent la matrice organique. Les ostéoblastes sécrètent l'ostéoïde, précurseur de l'os. Les ostéocytes sont emprisonnés dans la matrice osseuse et participent aussi au renouvellement quotidien de l'os. **Bone remodeling and the relationship between osteoblasts and osteoclasts** (modified from Kennedy et al. 2018). RANKL bound to its receptor stimulates osteoclasts. Osteoclasts create an acidic environment in the resorption pit ( $\text{pH} = 3$ ) to dissolve the mineral fraction, enzymes (e.g. Cathepsin K) break down the organic matrix. The osteoblasts secrete osteoid, the precursor of bone. The osteocytes are trapped in the bone matrix and also participate in the daily renewal of the bone.

## ii. Tissu minéralisé dentaire

On distingue chez les mammifères deux grands types de dents, les dents hypsodontes dont la couronne haute et la croissance prolongée ou continue compense une usure importante (chevaux), et les dents brachyodontes dont la croissance est limitée avec une couronne au-dessus de la ligne gingivale. On retrouve des dents brachyodontes chez de nombreuses espèces notamment chez les

carnivores et les primates, donc chez l'ensemble des représentants de la lignée humaine. Les dents des mammifères sont composées de trois tissus principaux : l'émail, la dentine et le ciment (Figure 25).

L'émail est la partie externe de la couronne dentaire qui recouvre la dentine. Il s'agit du tissu le plus minéralisé du corps humain avec 96 % de matière minérale, formé par un réseau de cristaux d'hydroxyapatite, les 4 % restants étant composés de matière organique et d'eau. Sa forte minéralisation en fait le tissu le plus dur du corps humain, supérieur à l'os. La dentine qui se situe juste en dessous est bien moins minéralisée (70 % d'hydroxyapatite,  $\pm 20$  % de matière organique,  $\pm 10$  % d'eau). Elle constitue néanmoins la plus grande partie de la dent et lui offre une plasticité importante venant compenser les défauts de l'émail. Enfin, le ciment qui recouvre la dentine au niveau de la racine. C'est le tissu dentaire qui possède la minéralisation la moins importante ( $> 65$  %) mais il joue un rôle essentiel dans l'implantation de la dent au sein de l'os.

L'émail est le seul de ces tissus à posséder une croissance incrémentielle limitée dans le temps. En effet chez l'Homme, la formation de l'émail se fait à une vitesse de 4  $\mu\text{m}$  par jour jusqu'à la mise en place complète de la couronne. Le déroulement temporel précis de la formation des dents à l'échelle d'un individu est bien documenté et sera présenté dans la Partie 2. Chapitre 2. b. iii. Croissance et développement dentaire.

À l'image de l'émail, la dentine se forme dans un premier temps par une formation par couches successives qui s'achève lors de la formation de l'apex, c'est la dentine primaire. Moins régulière que la formation de l'émail (4 à 8  $\mu\text{m}$  par jour) elle se caractérise par des lignes appelées lignes de Von Ebner. Contrairement à l'émail, l'achèvement de la forme extérieure de la dent ne signe pas l'arrêt de la formation de la dentine, une dentine secondaire se forme à un rythme beaucoup plus lent durant toute la durée de vie de la dent. Une dentine tertiaire (minoritaire) est sécrétée en réponse à des agressions.

Enfin, le ciment comme les autres tissus connaît une croissance incrémentielle sous forme d'anneaux. Contrairement à l'émail, il continue de croître tout au long de la vie de l'individu sous forme d'une série d'anneaux cémentaires, chacune étant constituée d'une bande sombre et d'une bande claire dont le rythme de dépôt est annuel. Cette caractéristique est abondamment utilisée en archéozoologie pour étudier la période d'abatage des proies (cémentochronologie).

L'ensemble de ses caractéristiques font des dents un tissu largement étudié en archéologie car vecteur de nombreuses informations sur l'ensemble de la vie de l'individu.

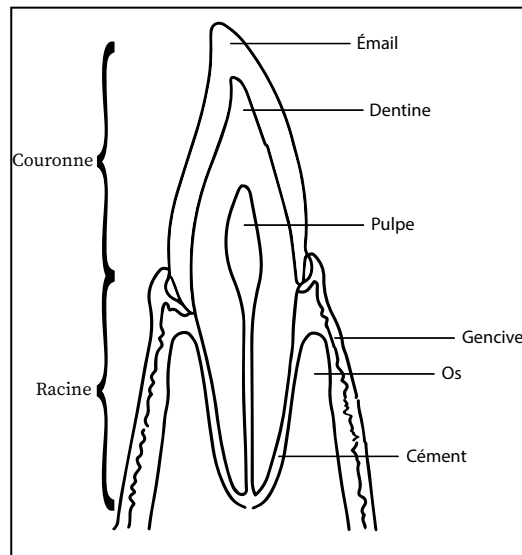


Figure 25 : Schéma d'un dent, modifié d'après White et Folkens, 2005. *Tooth scheme, modified from White and Folkens, 2005*

## b. Variations intra-individuelles de la composition isotopique du calcium des tissus minéralisés

### i. Remobilisation différentielle du squelette

La pratique la plus courante concernant la remobilisation du squelette consiste à considérer un taux de renouvellement moyen de 10 % par an, et ainsi considérer que l'intégralité du squelette est renouvelée tous les 10 ans chez l'Homme (e.g. Libby *et al.* 1969 ; Manolagos 2000). Cette théorie ne fait pas consensus et de nombreux auteurs proposent des taux de renouvellement plus ou moins long. Le point le plus important à prendre en considération lorsque l'on parle du renouvellement du squelette est qu'il sera forcément très approximatif, puisqu'il a été démontré que la vitesse de remobilisation d'un élément dépend de nombreuses contraintes (niveau de vie, localisation, fonction, type, contraintes).

Ainsi, les chercheurs semblent s'accorder sur le fait que l'os endostéale (interne) connaît un renouvellement plus rapide que le périoste (externe) ou encore que les os centraux du squelette connaissent un renouvellement plus rapide que les éléments plus périphériques. Aucune différence n'a pour le moment été mise en évidence au niveau de la latéralisation. Mais l'élément central de la différence dans le taux de renouvellement d'un os reste la différence du taux de renouvellement entre os cortical et os spongieux (3 à 10 fois supérieures pour l'os spongieux d'un adulte) et les contraintes physiques subies par l'os.

Les os qui connaissent le plus haut taux de renouvellement sont les vertèbres puis les os plats ou courts tel que l'ilium, les métatarses ou encore les côtes (largement utilisées en bio-archéologique

car peu informatives d'un point de vue anthropologique, mais reflétant la dernière période de vie de l'individu ; e.g. Parfitt 2002). Bien que certaines études montrent que le taux de renouvellement des côtes et du fémur est identique, le fémur est souvent considéré comme ayant un taux de renouvellement plus lent. Le tibia est considéré comme ayant un taux de renouvellement plus lent que celui du fémur. Mais c'est au niveau des os du crâne que l'on retrouve les taux de renouvellement les plus lents, notamment le calvarium, car composé d'os cortical très dense. Le pétreux est l'os du corps humain qui possède probablement le taux de renouvellement osseux le plus faible (Jørkov *et al.* 2009).

Ainsi, l'étude d'un ensemble varié d'éléments osseux nous renseignera sur des plages de temps d'importances variables. Il convient donc de prendre ce paramètre temporel en compte lors des interprétations qui pourront être faites sur le régime alimentaire des individus étudiés.

## ii. Âge et vitesse de remobilisation

La partie précédente s'intéresse à la remobilisation chez l'adulte, la situation est beaucoup plus complexe lorsque l'on s'intéresse à un individu en croissance. Ainsi, le taux de renouvellement du calcium osseux est très variable selon la classe d'âge de l'individu. S'il est de 150 % à la naissance et encore de 100 % à deux ans, ce taux fini rapidement par décroître pour atteindre 50 % à sept ans puis 25 % à 16 ans et atteindre à 20 ans son taux adulte de 10 % (Figure 26). À l'âge adulte, ce sont ainsi 300 mg de calcium qui sont déposés chaque jour dans le tissu osseux et la même quantité qui est libérée. Il convient aussi de noter que la perte de masse osseuse avec l'âge est un mécanisme couramment observé chez l'Homme et de nombreux autres mammifères.

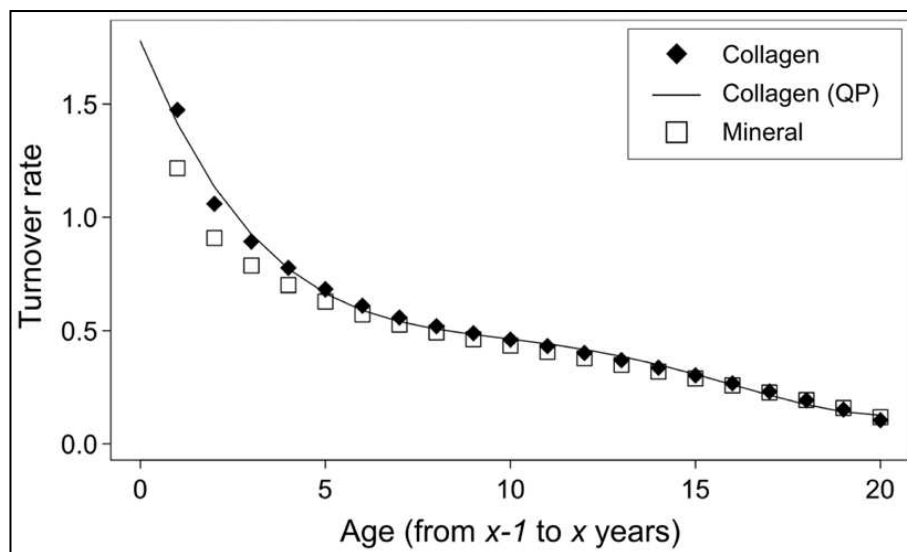


Figure 26 : Évolution du taux de renouvellement de la fraction minérale de l'os et du collagène. (Tsutaya et Yoneda, 2013).  
Changes in the turnover rate of the bone mineral fraction and collagen (Tsutaya and Yoneda, 2013).

Ces chiffres doivent être utilisés avec précaution dans le cadre de ce travail. En effet, bien que l'Homme de Néandertal et l'Homme moderne, sur lequel ont été réalisées ses observations, soit très proches, la croissance des individus néandertaliens est souvent décrite comme plus rapide que celle de l'Homme moderne. De plus, les individus du Pléistocène semblent présenter un taux de renouvellement osseux moins important que celui des Hommes modernes.

### iii. Croissance et développement dentaire

Si le squelette nous en apprend beaucoup sur les dernières parties de la vie d'un individu, les dents nous apportent de nombreux indices sur les premières années de vie. Le développement dentaire a été largement étudié, que ce soit pour des applications médicales (odontologie), vétérinaires, médico-légales ou bien archéologiques. La chronologie de formation et d'éruption des dents est ainsi largement documentée chez de nombreuses espèces actuelles. Moins sensible que l'os aux conditions de vie, les dents sont régulièrement utilisées afin d'estimer l'âge au décès d'un individu, ou pour étudier certains événements de la vie de l'individu. En effet, du fait de leur croissance incrémentielle limitée dans le temps (Voir Partie 2. Chapitre 2. E. b. ii Tissu minéralisé dentaire) il est possible d'avoir accès à des fenêtres de vie très précises. Il a notamment été démontré qu'il était possible d'utiliser l'analyse isotopique du calcium sur des échantillons dentaires afin d'estimer l'âge au sevrage de certains individus de la lignée humaine (Tacail *et al.*, 2017). Il conviendra donc de prendre certaines précautions lors de l'étude des restes dentaires qu'ils soient humains ou non-humains. Du fait de l'enregistrement par certaines dents de la consommation de laits maternel, il est nécessaire d'apporter une attention particulière au choix des dents étudiées. Pour l'étude de l'alimentation « adulte », il faudra privilégier les dents dont la mise en place se fait le plus tardivement possible afin de refléter au mieux l'alimentation adulte. Il est aujourd'hui largement admis que les 3èmes molaires sont les dents dont la minéralisation de l'émail est la plus tardive. Les études présentées dans la suite de cette thèse se sont concentrées sur l'analyse de l'émail dentaire, seule la chronologie de l'amélogenèse a donc été prise en compte dans le choix des dents à étudier.

## Chapitre 3 : Principe général d'analyses isotopiques et élémentaires

### A. Séparation et purification des échantillons

#### a. Pré-traitement et digestion des échantillons

Du fait du grand nombre de matrices différentes analysées dans cette étude, plusieurs protocoles de pré-traitement et de digestion des échantillons ont été utilisés.

**Les échantillons archéologiques** prélevés en morceau sont d'abord broyés sous une hotte à flux laminaire à l'aide d'un mortier en agate puis pesés. Lorsque cela est possible les poudres prélevées par micro-fraisage sont aussi pesés. Les échantillons en poudre vont ensuite subir une étape dite de *leaching* dont le but est d'éliminer les carbonates de calcium secondaire (pour plus de détails voir Partie II. Chapitre 2. A. c. Impact de la diagenèse sur les tissus minéralisés). Les échantillons sont ensuite dissous dans 2 ml d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) concentré auxquels on ajoute de l'eau oxygénée. Cette étape a pour but d'éliminer les traces de matières organiques présentes dans les os. Les échantillons sont ensuite évaporés à sec en attendant l'étape suivante.

**Les échantillons de sols.** Afin d'analyser uniquement la fraction disponible des échantillons de sols, ceux-ci sont dilués dans 10 ml d'acide chlorhydrique à 6 N, agités pendant 30 minutes à l'aide d'un bac à ultrasons puis centrifugés à 7 800 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant a ensuite été prélevé et évaporé sur plaque à 100 °C.

**Tous les échantillons biologiques actuelles** (viande, moelle osseuse, végétaux) ont été congelés dans les 24 heures après le prélèvement puis lyophilisés. La lyophilisation des échantillons a pour but de protéger les tissus de l'hydrolyse, en éliminant l'eau contenue dans ceux-ci et ainsi fournir une meilleure conservation. Toutes les données de concentration exprimées dans la suite de la thèse le sont par unité de masse sèche.

**Les échantillons biologiques et de sols** ont ensuite été dissous à l'aide d'acide nitrique concentré et d'eau oxygénée. Contrairement aux os archéologiques qui contenaient une faible quantité de matière organique, une attaque plus importante est nécessaire afin d'obtenir une minéralisation complète de l'échantillon et une élimination totale de la matière organique. Pour cela un micro-onde de type Milestone Ethos (Milestone, Sorisole, Italie) a été utilisé. Il permet une digestion complète des échantillons en un temps restreint. Une fois la digestion réalisée, les échantillons sont évaporés sur plaque à 90-100 °C.

**L'ensemble des échantillons** (fossiles et modernes) secs obtenus peuvent maintenant être



repris dans un volume connu d'acide dont 10 % a été réservé à l'analyse des concentrations élémentaires et 90 % à la purification du calcium en vue de l'analyse isotopique.

### b. Extraction et purification du calcium dans les différents tissus analysés

#### i. Principe de la chromatographie

La chromatographie sur colonne est une méthode de séparation des éléments chimiques très répandue en géochimie. Ce processus a pour but d'isoler l'élément d'intérêt, ici le calcium, des autres éléments présents dans l'échantillon. En effet la présence d'élément chimique de même masse que l'élément d'intérêt va créer des interférences dites isobariques au cours de la mesure par spectrométrie de masse, empêchant ainsi la bonne mesure de nos échantillons. Des interférences dites polyatomiques ou de doubles charges peuvent aussi perturber les mesures. Enfin, la charge matricielle de l'échantillon peut induire un fractionnement lors de la mesure par spectrométrie de masse. L'objectif est d'extraire totalement le calcium de l'échantillon dans une fraction la plus pure possible.

Afin que le travail de purification ne soit pas perturbé par des contaminations exogènes, l'ensemble des procédures de purification ont été réalisées en salle blanche sous une hotte à flux laminaire. Il s'agit d'une salle sous pression dont l'air est entièrement filtré. De plus, l'intégralité des réactifs utilisés sont purs : H<sub>2</sub>O milliQ (eau deionisée, 18.2 M Ω.cm), acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) et chlorhydrique (HCl) distillés, eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suprapur®).

La chromatographie sur colonne échangeuse d'ions comprend deux phases principales, la première est stationnaire (la résine) tandis que la seconde est mobile (éluant). En fonction de la différence d'affinité des éléments entre la résine et l'éluant, les ions vont migrer plus ou moins rapidement au sein de la résine, on parle d'élution.

Plusieurs paramètres permettent de faire varier l'affinité des ions à la résine. C'est par un choix minutieux d'éluants et de résines que les différents éléments chimiques présents dans les échantillons pourront être séparés. Les résines échangeuses d'ions sont composées de polymères de forme sphérique liés à des groupements chargés : NH<sup>+</sup><sub>3</sub> (résine anionique) et SO<sup>2-</sup><sub>3</sub> (résine cationique). Pour isoler le calcium, la résine anionique Biorad AG1-X8® (100-200mesh) ainsi que la résine cationique Biorad AG AG50W-X12 (200–400mesh) ont été utilisées.

La résine chromatographique Sr-specific (Eichrom®) a aussi été utilisée au cours de cette thèse, il s'agit d'une chromatographie par extractant solvant et chélatant dont l'extractant utilisé est un

éther-couronne qui permet à une concentration en HNO<sub>3</sub> de 3 N de retenir le Sr (fiche technique résine Sr).

## ii. Protocole de purification du calcium

Afin de purifier le calcium trois étapes de chromatographie sur colonne sont nécessaires.

La première permet de séparer la grande majorité de la matrice et de ne conserver que les éléments Ca, Fe et Sr. Elle est réalisée à l'aide de colonnes à chromatographie en téflon, contenant 210 µl de résine cationique Biorad AG AG50W-X12. La seconde étape consiste à séparer le strontium de l'échantillon à l'aide de colonnes de 3.5 ml remplies de 250 µl de résine de type Eichrom® Sr-spécifique. La dernière, permet l'élimination du fer, du cuivre et du zinc n'est nécessaire que lorsque le rapport Fe/Ca dans l'échantillon dépasse 0,01 (Hassler, 2021). Par mesure de précaution cette séparation a toujours été réalisée dans le cas des échantillons de la thèse. La séparation est réalisée à l'aide de colonnes Biorad de 250 ml remplies de 1 ml de résine anionique Biorad AG1-X8®. Pour les protocoles détaillés se référer au tableau ci-dessous.

Tableau 5 : *Étapes d'éluion pour la purification du Ca; protocole adapté de Tacail et al., 2014. Elution steps for Ca purification; protocol adapted from Tacail et al. 2014.*

Étapes	Éluant	Vol (ml)
<b>1. Élimination de la matrice</b>		
<i>Résine AG50W-X12 (200–400 mesh)</i>		0,210
Conditionnement	1N HCl	2,5
Chargement	1N HCl	0,3+0,7
Éluion de la matrice	1N HCl	5
Éluion du Ca (+ Fe et Sr)	6N HCl	2,5
<b>2. Élimination du Sr</b>		
<i>Résine Sr-Specific (Eichrom)</i>		0,25
Conditionnement	3N HNO <sub>3</sub>	2,5
Chargement	3N HNO <sub>3</sub>	0,3
Éluion du Ca	3N HNO <sub>3</sub>	3,5
<b>3. Élimination du Fe</b>		
<i>Résine AG1-X8 (100–200 mesh)</i>		1
Conditionnement	6N HCl	5
Chargement	6N HCl	0,25+0,75
Éluion du Ca	6N HCl	3,5

## B. Mesure des concentrations et des isotopes du calcium

Les trois spectromètres utilisés lors de cette étude sont des ICP pour Inductively Coupled Plasma. Le début de la procédure d'analyse est identique pour les trois types de spectromètre. Elle ne sera donc décrite qu'une seule fois, mais a toujours été appliquée.

L'échantillon en solution est introduit dans un nébuliseur afin d'être transformé en aérosol. L'aérosol est ensuite introduit dans le plasma d'argon par une torche à plasma. La température élevée du plasma (6 000 à 8 000 K) ainsi que les propriétés atomiques spécifiques de l'argon permettent de casser les molécules en atomes (atomisation) qui sont à leur tour ionisés et excités. Selon que l'on travaille en ICP-MS ou ICP-OES on utilise l'une ou l'autre des propriétés (ionisation ou excitation).

### a. Mesures des concentrations des éléments majeurs et traces

Le Q-ICP-MS Quadrupole Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (Figure 27) permet d'analyser les éléments traces, les terres rares, Mn et les métaux de transition (Cu, Zn, Fe). Cette analyse repose sur le fait que les éléments possèdent des charges et des masses différentes dont le rapport masse ( $m$ ) sur charge ( $z$ ) est spécifique.

Ici, c'est la propriété d'ionisation du plasma qui est utilisée, le faisceau d'ions passe par deux cônes successifs : le *sampler* (échantillonneur), puis le *skimmer* (écrêteur) grâce à une lentille qui extrait les ions chargés positivement. Les ions sont ensuite accélérés et focalisés. Un vide partiel est créé afin de limiter les interactions avec l'air. Le faisceau d'ions traverse ensuite une cellule de collision, dans laquelle est introduit un gaz inerte, l'hélium, ce qui permet d'éliminer significativement les interférences poly-atomiques (Tanner *et al.*, 2002, interférences poly-atomiques : résultant de la recombinaison de l'argon du plasma avec un ou plusieurs éléments de la matrice et qui possède des rapports  $m/z$  identiques à l'élément d'intérêt). En sortant de la chambre de collision les ions arrivent au niveau du filtre de masse quadripolaire. Les ions de la masse sélectionnée sont autorisés à passer vers le détecteur (en fonction de leur rapport  $m/z$ ), tandis que les autres ions sont éjectés. À la sortie du quadrupôle, l'ion d'intérêt va émerger et être converti en une impulsion électrique par le détecteur. Pour chaque élément, l'intensité de l'impulsion va être comparée avec celle de solutions de concentrations connues analysées lors de la même session afin de réaliser une gamme d'étalonnage pour déterminer la concentration de l'élément dans la solution d'étude.

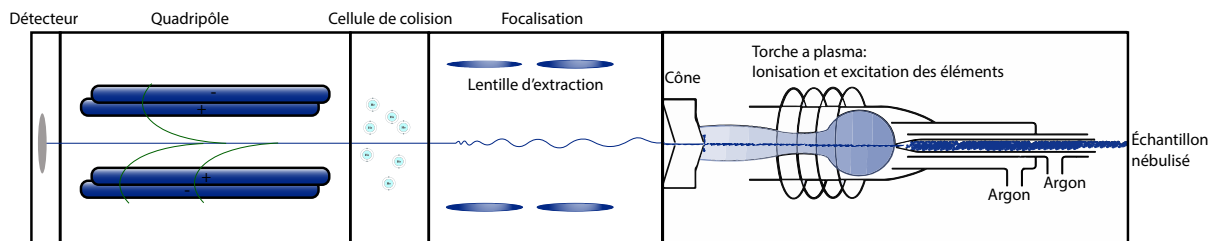


Figure 27 : Schéma simplifié du fonctionnement d'un spectromètre de masse à quadripôle (Q-ICP-MS). Simplified schema of the functioning of a quadrupole mass spectrometer (Q-ICP-MS).

L'ICP-OES pour Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Figure 28) permet d'analyser les éléments « majeurs ». Lors de cette étude nous nous sommes concentrés sur les éléments suivants : Ca, P, Mg, S, Sr, Ba, Na, K et Fe. Après que l'échantillon ait été excité par le plasma, l'atome va retourner à son état fondamental (non excité) en émettant un photon dont l'énergie est caractéristique de l'élément. Le photon est alors collecté par un monochromateur. L'intensité de l'émission va être comparée avec les solutions de concentrations connues analysées lors de la même session afin de déterminer la concentration de l'élément dans la solution (Frayret *et al.*, 2012).

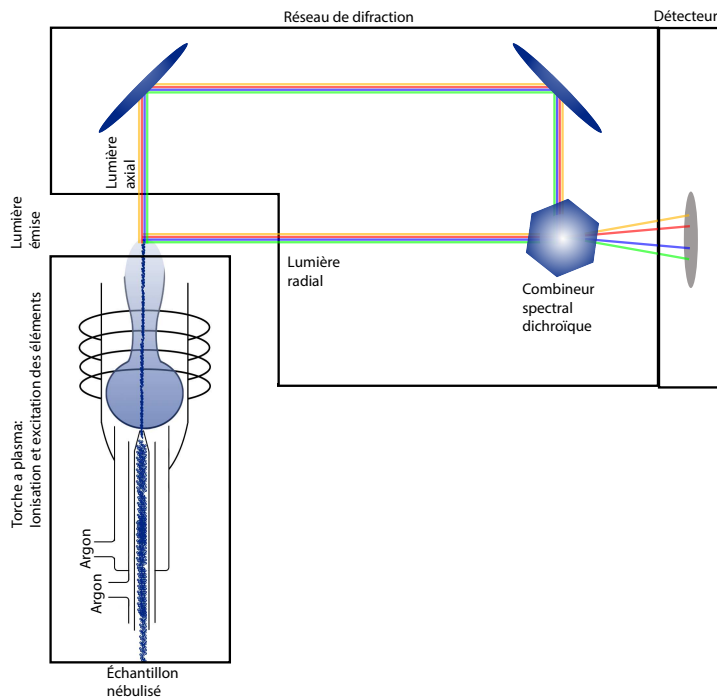


Figure 28: Schéma simplifié du fonctionnement d'un spectromètre à émission optique (ICP-OES). Simplified scheme of the functioning of an optical emission spectrometer (ICP-OES).

## b. Mesure des rapports isotopiques du calcium

Après purification, la fraction calcium de l'échantillon issu de la séparation avec le fer est évaporée sur plaque à 100°C. Les échantillons secs sont mis en solution dans 300 µl de HNO<sub>3</sub> concentré avant d'être de nouveau évaporés. Les échantillons sont ensuite remis en solution dans 1 ml de HNO<sub>3</sub> 0.05N. Afin d'obtenir des concentrations en calcium identiques pour tous les échantillons et égales à la concentration du standard, une première dilution est réalisée. Elle se base sur les données de concentration obtenues lors de l'analyse par ICP-OES. Une première estimation de la concentration en calcium est réalisée sur l'ICP-MS à multicollection (MC-ICP-MS) qui sera utilisée afin d'affiner la dilution par la suite. Cette opération est nécessaire afin de correctement corriger le fractionnement instrumental lors du calcul de la composition isotopique. Une fois les dilutions correctes réalisées, les échantillons sont analysés selon le modèle décrit ci-après.

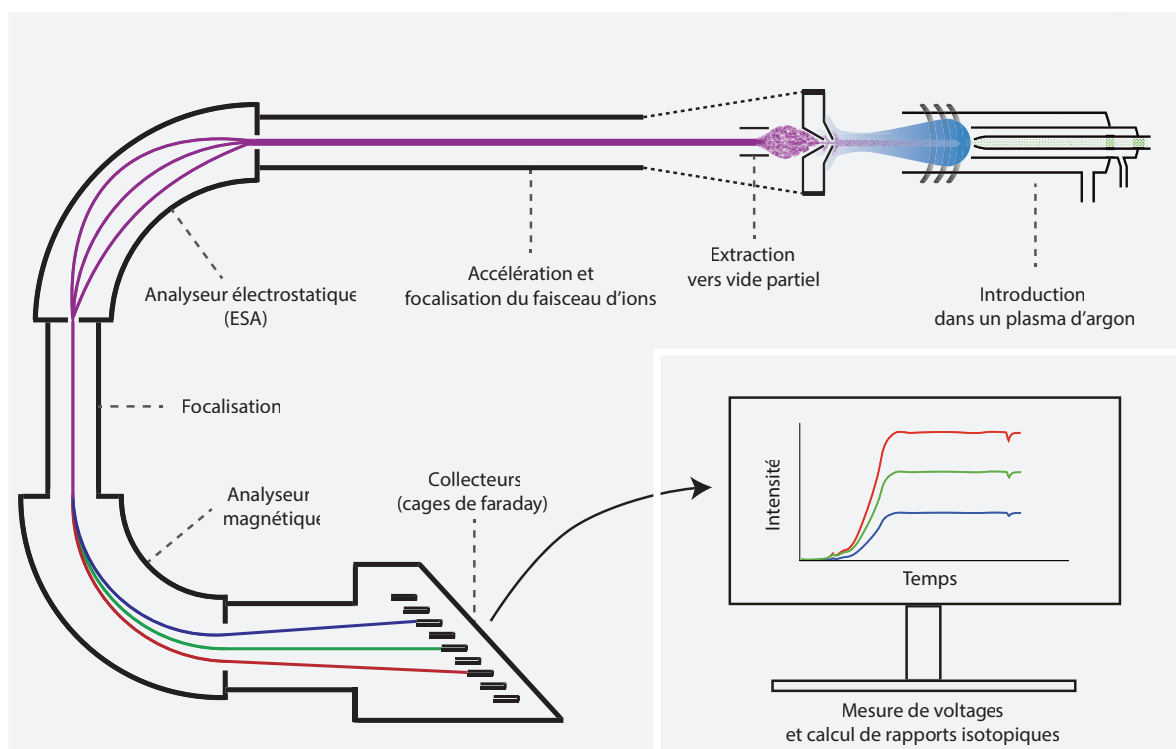


Figure 29 : **Étapes principales de l'analyse de compositions isotopiques par MC-ICP-MS.** L'échantillon est introduit par nébulisation dans la torche à plasma d'argon d'un spectromètre de masse à torche plasma et multi collecteurs. Les courants produits par la collecte des faisceaux d'ions sont mesurés et permettent le calcul des rapports isotopiques. (Adapté de Martin et al., 2017). **Main steps in the analysis of isotopic compositions by MC-ICP-MS.** The sample is introduced by nebulisation into the argon plasma torch of a multi-collector plasma torch mass spectrometer. The currents produced by the collection of the ion beams are measured and allow the calculation of isotope ratios. (Adapted from Martin et al., 2017)

Les ions sont accélérés et focalisés de la même façon que pour le Q-ICP-MS. Les ions passent ensuite dans un secteur électrostatique qui permet leur tri en fonction de leur énergie cinétique

(Figure 29). Ils sont ensuite séparés lors de leur passage dans le champ magnétique d'un électroaimant. Les différents ions sont séparés en fonction de leurs rapports masse (m) sur charge (z). Bien que possédant une charge similaire, les isotopes possèdent des masses légèrement différentes qui seront différenciées lors de cette étape. Chaque ion formera un faisceau qui atteindra une cage de faraday permettant la mesure simultanée des différents isotopes d'un même élément.

## C. Qualité des mesures isotopiques

### a. Reproductibilité des mesures isotopiques

La mesure des rapports d'abondance isotopique du calcium est soumise à de nombreuses contraintes dont il est important de s'affranchir ou d'en minimiser au maximum l'impact. Le trajet des isotopes dans l'instrument depuis la solution jusqu'aux collecteurs induit un fractionnement isotopique qui produit un rapport d'abondance isotopique ne correspondant pas à celui de l'échantillon : c'est le fractionnement instrumental. C'est pourquoi, afin de monitorer et corriger les erreurs induites par le passage dans l'instrument, la méthode du « standard-sample-standard bracketing », qui consiste à encadrer toutes les mesures d'échantillon par deux mesures de standard, a été utilisée. Elle permet de s'affranchir de ce fractionnement en masse induit lors de la mesure.

Dans le cas des analyses du calcium il n'existe pas de standard international généralisé. Le standard ICP Ca Lyon, utilisé à Lyon, a été choisi. Ce standard a déjà fait l'objet d'une étude ayant fourni les formules de conversion vers les standards les plus utilisés lors d'analyse isotopique du calcium (Tacail, 2017).

*Équation 2: Calcul du  $\delta$  selon la méthode du standard-sample-standard bracketing. X représente l'élément d'intérêt, i est par convention l'isotope le plus lourd et j le plus léger. n-1 et n+1 renvoient respectivement aux mesures réalisées avant et après l'échantillon. Calculation of  $\delta$  according to the sample standard bracketing method, X represents the element of interest, i is the heaviest isotope and j the lightest one. n-1 and n+1 refer to measurements taken before and after the sample.*

$$\delta^{i/j}X = \left( \frac{(^iX/^jX)_{ech}}{0.5 \times (^iX/^jX)_{std}^{n-1} + 0.5 \times (^iX/^jX)_{std}^{n+1}} - 1 \right) \times 1000$$

Afin de garantir la qualité des données, plusieurs points de contrôle peuvent être surveillés pour juger du bon déroulement de l'analyse.

**La concentration en strontium** doit être surveillée. Bien que le protocole de purification des échantillons mis en place dans le cadre de cette étude comporte une étape d'élimination du strontium, il peut être présent à l'état de traces dans les échantillons. Cette contamination peut générer des interférences de double-charge non-négligeable dont la résolution ne permet pas de

s'affranchir. La concentration du strontium dans les échantillons est contrôlée par la mesure du signal  $^{87}\text{Sr}^{2+}$  dont le rapport  $m/z=43,5$  peut être mesuré simultanément au signal des isotopes du calcium. Dans le cadre de faibles concentrations en strontium, il est possible d'appliquer la correction de la mesure des rapports  $^{44/42}\text{Ca}$  et  $^{43/42}\text{Ca}$  décrit par Tacail *et al.*, 2014, 2016. La correction des signaux peut ainsi être calculée comme suit :

Équation 3 : **Calcul de la correction du strontium, cas de l'isotope 44.** *V est l'intensité du signal mesuré, M la masse de l'élément et f est le coefficient de fractionnement en masse. Calculation of the strontium correction, example of the 44 isotope. V is the measured signal intensity, M is the mass of the element and f is the mass fractionation coefficient.*

$$^X\text{Ca} = V_X - V_{43.5} \times \frac{^{2X}\text{Sr}}{^{87}\text{Sr}} \times \left( \frac{M_{2X}\text{Sr}}{M_{87}\text{Sr}} \right)^{f_{\text{Sr}^{2+}}}$$

Où X correspond au nombre de masse de l'isotope du calcium considéré (42, 43 ou 44), où V est l'intensité du signal mesuré et M la masse de l'élément.  $f_{\text{Sr}^{2+}}$  est le coefficient de fractionnement en masse du  $\text{Sr}^{2+}$  décrit par la loi exponentielle de fractionnement dépendant de la masse mesurée par Tacail *et al.*, 2016.

**L'importance de la concentration** en calcium de l'échantillon par rapport à celle du standard de bracketing a été évoquée précédemment : il convient de prêter une attention particulière à celle-ci, car le rapport isotopique mesuré est dépendant de la concentration en calcium de la solution. Une concentration trop basse ayant tendance à faire augmenter la composition isotopique tandis qu'une concentration trop haute la fait diminuer (Figure 30). Afin d'éviter ce biais, il est généralement convenu d'accepter uniquement les échantillons dont la concentration s'écarte de 10-15 % par rapport à celle du standard (Schiller *et al.*, 2012; Tacail *et al.*, 2014).

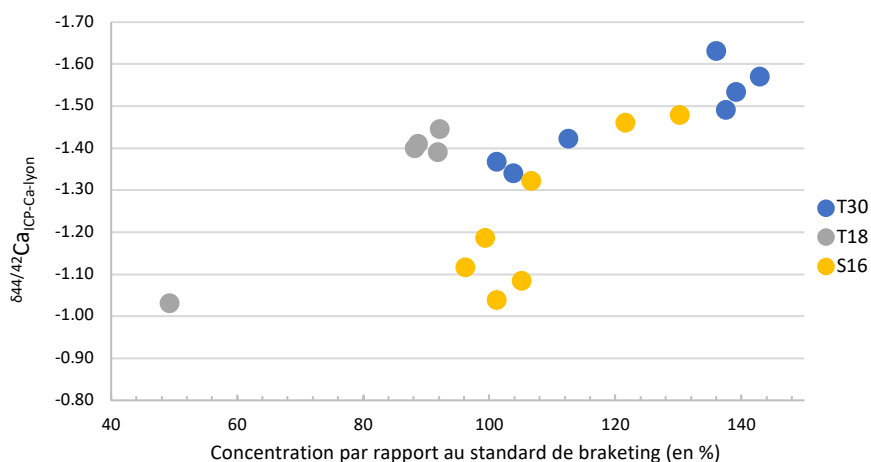


Figure 30 : **Évolution de la composition isotopique en calcium en fonction de la concentration** de l'échantillons par rapport au standard de bracketing pour trois échantillons (T30, T18, S16). *Evolution of Ca isotopic composition as a function of the sample concentration relative to the bracketing standard for three samples (T30, T18, S16).*

**La dépendance en masse** est enfin utilisée. Afin de vérifier la bonne qualité des mesures du  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  il est possible de mesurer conjointement les valeurs du  $\delta^{43/42}\text{Ca}$ . La droite de dépendance en masse entre  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  et  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  prédit une corrélation linéaire dont le coefficient directeur est de l'ordre de 0.5 en fonction de la loi de fractionnement de masse considérée ; 0.501 pour la loi puissance de fractionnement de masse, 0.507 pour la loi exponentielle et 0.512 pour la loi inverse (Maréchal *et al.*, 1999; Tacail, 2017). Un écart significatif à ces valeurs est la marque d'une interférence affectant significativement les mesures ou d'un défaut dans le réglage de l'instrument. La pente de dépendance en masse calculée pour les 604 échantillons de cette thèse (standard secondaire non compris) est reportée sur la Figure 31, elle correspond aux valeurs attendues et témoigne d'une bonne qualité des données obtenues au cours de cette thèse.

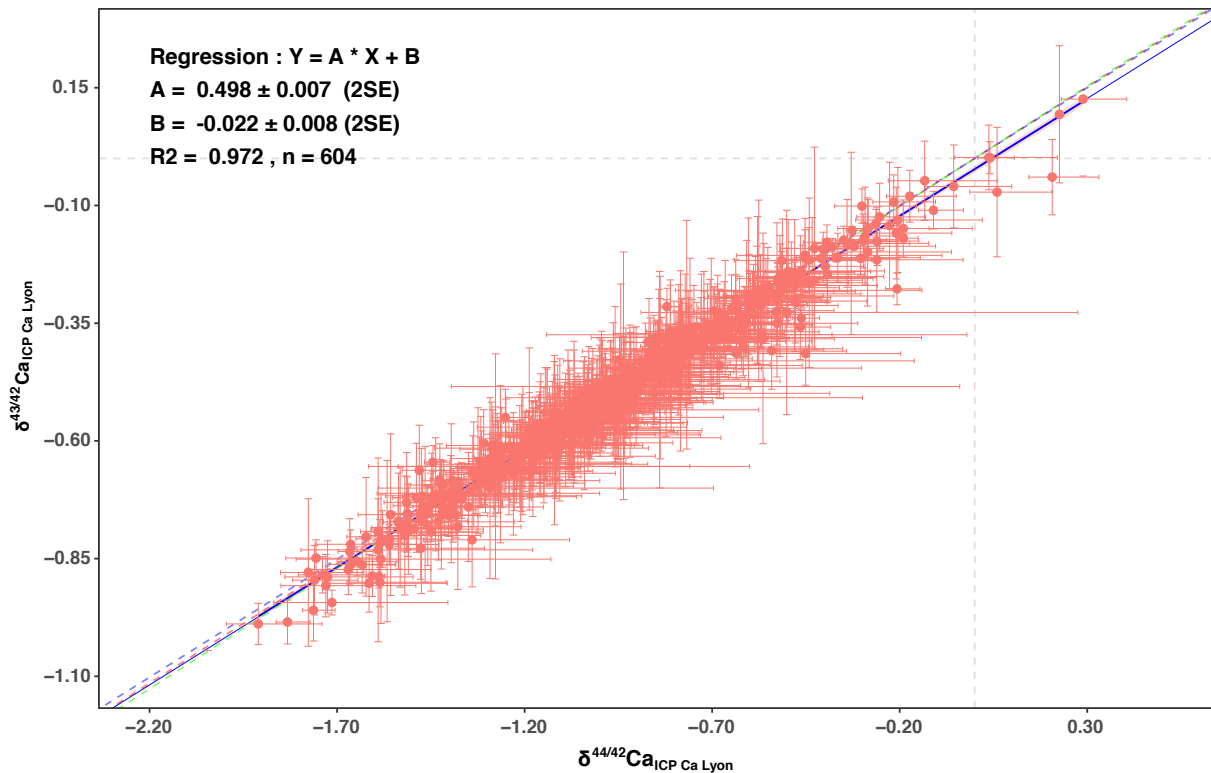


Figure 31 : **Droite de dépendance en masse.** Valeur de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  en fonction de  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  pour les 604 échantillon analysé au cours de cette thèse. Les lignes pointillées représentent les trois lignes théoriques décrivant un fractionnement isotopique dépendant de la masse selon les lois exponentielles (rouge), inverses (vert) et puissances (bleu) du fractionnement isotopique dépendant de la masse. **Mass dependency line.** Value of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  as a function of  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  for the 604 samples analysed during this thesis. The dotted lines represent the three theoretical lines describing a mass-dependent isotope fractionation according to the exponential (red), inverse (green) and power law (blue) mass-dependent fractionation laws.



## b. Justesse des mesures isotopiques

Des standards secondaires sont utilisés pour valider l'ensemble de la méthode en termes de justesse. Les standards secondaires sont des matériaux de référence dont les concentrations en différents éléments ainsi que la composition isotopique en calcium sont certifiés. Ils ont pour but de suivre l'ensemble des étapes auxquelles les échantillons sont soumis afin d'offrir un contrôle de l'analyse et donc d'être un indicateur de la bonne réalisation du traitement de l'échantillon. Afin de se rapprocher au mieux du comportement de la matrice étudiée, différents standards secondaires ont été analysés au cours de cette thèse.

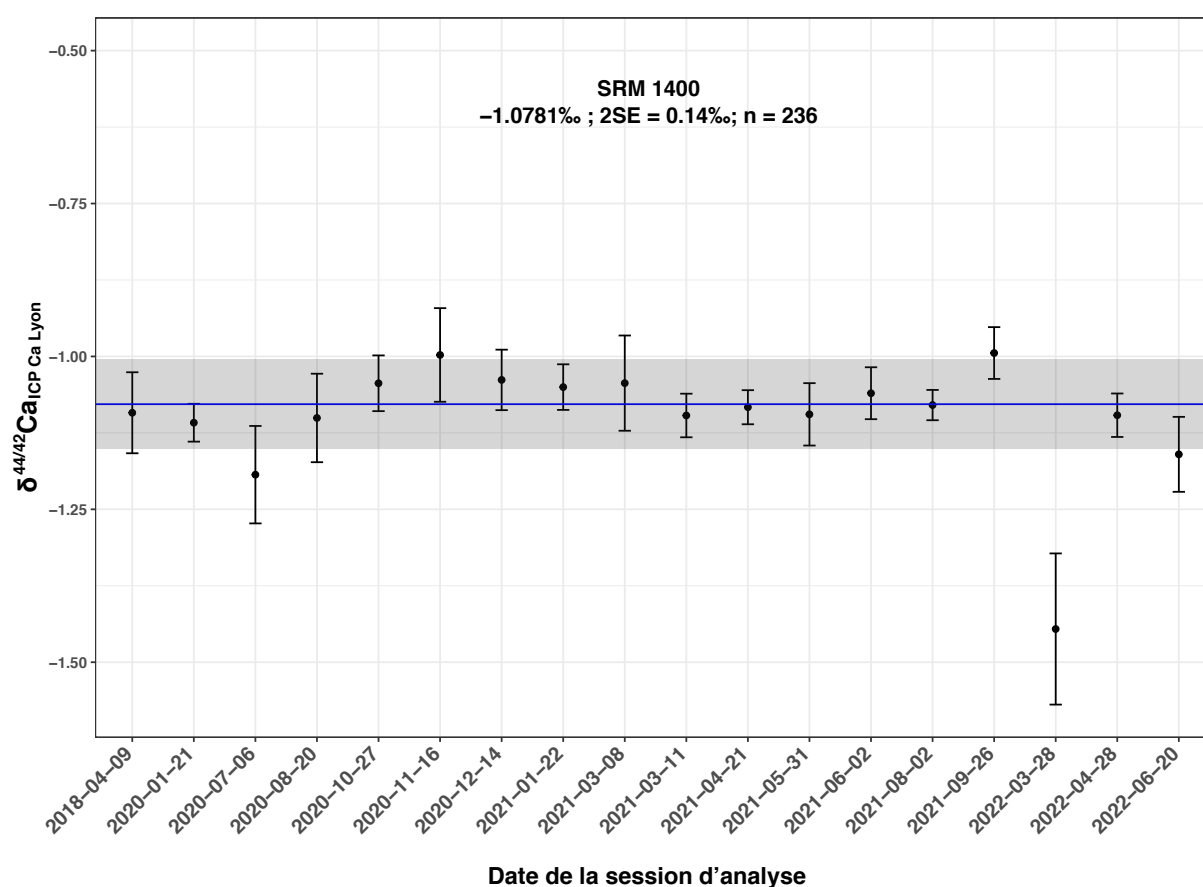


Figure 32 :  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  du SRM 1400 au cours des différentes sessions d'analyse. Chaque point correspond à une session d'analyse, les barres d'erreurs associées correspondent au 2SD. La droite bleue est la moyenne sur l'ensemble des analyses (en excluant la session du 28/03/2022), la zone grisée correspond au double de l'erreur standard (2SD).  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  of the SRM 1400 during the different analysis sessions. Each point corresponds to an analysis session, the associated error bars correspond to the 2SD. The blue line is the average over all analyses (excluding the 28/03/2022 session), the grey area corresponds to the double standard error (2SD).

Le SRM 1400 a été le plus analysé (Figure 32 ; 236 mesures), il s'agit d'un standard d'os brûlé de vache, il contient donc peu de matière organique, ce qui en fait le candidat idéal pour valider les mesures des os fossiles. On peut constater sur la Figure 32 que lors de la session d'analyse du

28/03/2022, le SRM 1400 possède une valeur de composition isotopique totalement inattendue. Après vérification un problème semble avoir eu lieu durant la séparation chimique, le standard et l'ensemble des échantillons associés ont donc dû être retraité et ré-analysé (session du 28/04/2022). La composition isotopique moyenne du SRM 1400 sur l'ensemble des mesures réalisées dans cette thèse est de -1,08 ‰ (2SE=0.14) ce qui est similaire aux données de la littérature pour cet échantillon (-1,07 ± 0.03 ‰, 2 SE, n = 10 par Koutamanis *et al.*, 2021; -1,06 ± 0.04 ‰, 2 SE, n =4 par Romaniello *et al.*, 2015; et -1,02 ± 0.07 ‰, 2 SE, n = 4 par Lanping *et al.*, 2018).

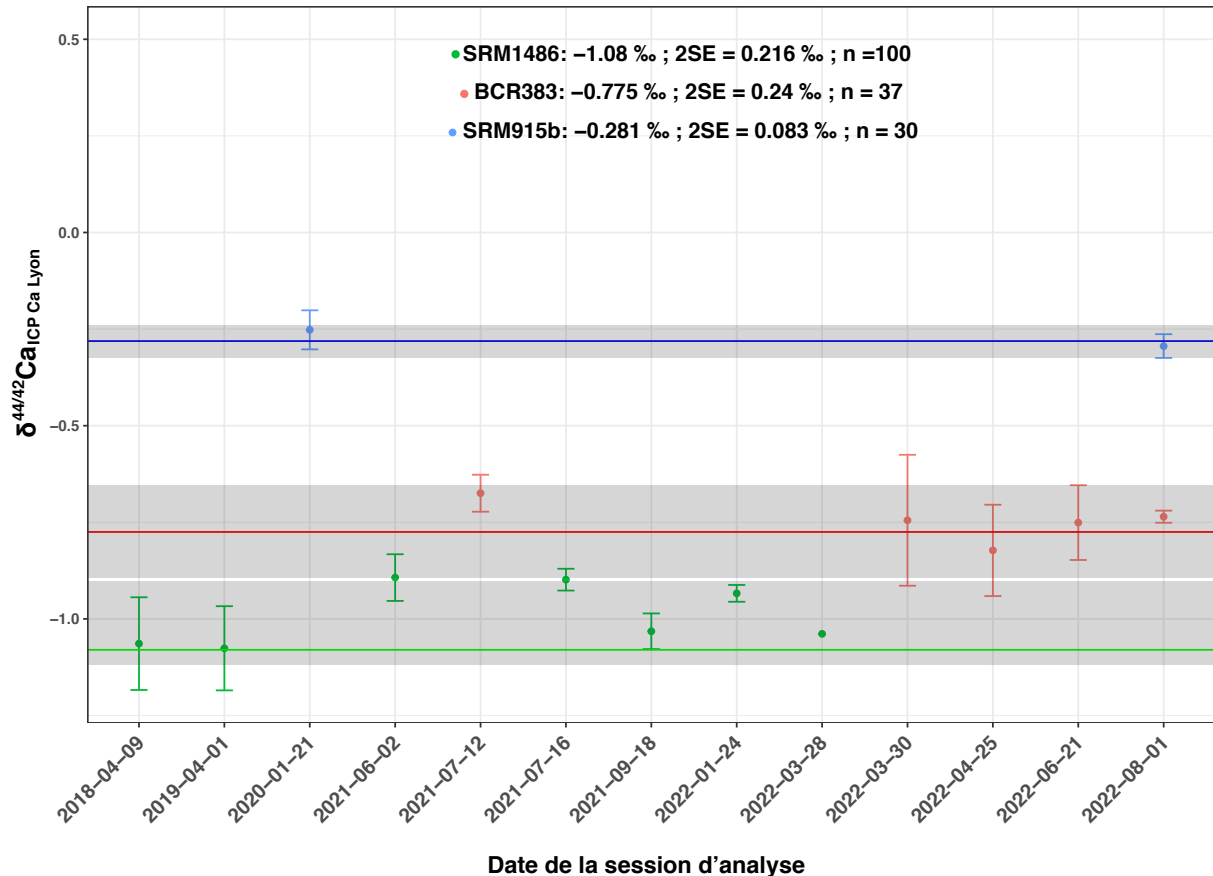


Figure 33 :  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  du SRM 1486, du BCR 383 et du SRM915b au cours des différentes sessions d'analyse. Chaque point correspond à une session d'analyse, les barres d'erreurs associées correspondent au 2SD. La droite bleue est la moyenne sur l'ensemble des analyses pour le SRM 915b, en rouge la moyenne sur l'ensemble des analyses pour le BCR383, en vert la moyenne sur l'ensemble des analyses pour le SRM 1486, la zone grisée correspond au double de l'erreur standard pour chacun des standards.  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  of SRM 1486, BCR 383 and SRM915b during the different analysis sessions. Each point corresponds to an analysis session, the associated error bars correspond to the 2SD. The blue line is the average over all analytical session for SRM 915b, the red line is the average over all analytical session for BCR383, the green line is the average over all analytical session for SRM 1486, and the grey area corresponds to the double standard error for each standard.

Le SRM 1486 a quant à lui été analysé en tant que contrôle de l'os frais, car il s'agit d'un os non brûlé contenant donc une fraction organique plus importante. La composition isotopique moyenne du SRM 1486 sur l'ensemble des mesures réalisées dans cette thèse est de -1,08 ‰ (2 SE=0,21) ce qui est similaire aux données de la littérature pour cet échantillon (-0,96 ± 0.14 ‰, 2

SE, n=17 par Tacail *et al.* 2014;  $-1,04 \pm 0,11$  ‰, 2 SE, n=25, par Martin *et al.*, 2015 ;  $-1,01 \pm 0,05$  ‰, 2 SE, données compilées par Martin *et al.*, 2015).

Le BCR 383, un standard de petit-pois, a lui été analysé conjointement aux échantillons de végétaux. Aucune donnée de composition isotopique publiée n'est disponible pour ce standard cependant, nous l'avons mesuré 37 fois lors de cinq sessions d'analyses différentes et sa composition moyenne est de  $-0,74$  ‰ (2SE=0,22).

Le SRM 915b est un standard de carbonate de calcium, il a été analysé dans le cadre de l'étude sur l'impact du leaching (Partie II. Chapitre 2. A. c. Impact de la diagenèse sur les tissus minéralisés).

### c. Standard de référence et compilation des données de la littérature

L'absence de standard de bracketing commun pour les mesures de compositions isotopiques du calcium pose la question de la comparabilité des données entre les différentes études. Comme il a été précisé dans la partie précédente, le standard utilisé au LGL-TPE est l'ICP Ca Lyon. Il s'agit d'une solution standard Specpure de calibration pour ICP-MS ( $10\,000\ \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  de calcium) de chez Alfa Aesar qui ne nécessite qu'une purification du strontium (protocole adapté depuis celui présenté en Partie 2. Chapitre 3. A. b. ii. Protocole de purification du calcium). Sauf indication contraire, l'ensemble des données présentées dans cette thèse sont exprimées relativement à l'ICP Ca Lyon. Pour faciliter la comparaison de l'ensemble de données avec d'autres études, les valeurs obtenues peuvent également être exprimées par rapport au standard SRM-915a en utilisant une différence constante de  $0,518 \pm 0,025\%$  (2 SD).

Afin de faciliter la comparaison avec les autres études concernant les isotopes du calcium les données d'intérêt de la littérature ont été converties vers  $\delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{ICP-CaLyon}}$  selon les modalités suivantes.

Dans le cas de conversion des données TIMS exprimé en  $\delta^{44/40}\text{Ca}$  vers des données en  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  la relation décrite par Tacail, 2017 a été utilisée :

Équation 4 : *Calcul de conversion des données  $\delta^{44/40}\text{Ca}$  vers  $\delta^{44/42}\text{Ca}$ . Calculation of data conversion from  $\delta^{44/40}\text{Ca}$  to  $\delta^{44/42}\text{Ca}$*

$$\delta^{44/40}\text{Ca} \approx \frac{\ln\left(\frac{M_{44}}{M_{40}}\right)}{\ln\left(\frac{M_{44}}{M_{42}}\right)} \times \delta^{44/42}\text{Ca} \approx 2,048 \times \delta^{44/42}\text{Ca}$$

De la même manière lors de la conversion depuis d'autres standards que l'ICP Ca Lyon, les valeurs de conversion des données de la littérature se base sur les données de Tacail, 2017 (Tableau 6).

Tableau 6 : *Valeurs de conversion des données de la littérature utilisées dans la suite de la thèse relativement aux standards considérés, d'après Tacail, 2017. Conversion values of the literature data used in the rest of the thesis in relation to standard considered, according to Tacail, 2017*

Standard	$\delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{ICP-CaLyon}}$	2SD
SRM 915a	-0,518	0,1
Seawater	0,412	0,107
BSE (bulk silicate earth)	-0,036	0,021
Ca CO <sub>3</sub>	-0,023	0,041



## Partie III

# Sources de calcium environnemental

---

## Sommaire

Chapitre 1 : Distribution des isotopes du calcium au sein des différentes sources environnementales.....	88
<b>A. Le calcium d'origine animale.....</b>	<b>88</b>
a. Le muscle.....	90
b. Os et moelle osseuse.....	91
c. Dents.....	93
d. Le lait et impact de la lactation, un bref rappel.....	97
e. Mise à jour du schéma bilan.....	98
<b>B. Le calcium d'origine végétale.....</b>	<b>99</b>
a. État actuel des connaissances.....	100
b. Les espèces végétales à organes de stockage souterrains.....	101
c. Le cas des fruits.....	103
d. Analyse multivariée, répartition chimique au sein des végétaux.....	104
e. Conclusion sur les végétaux.....	106
f. Le calcium de l'eau de boisson et son influence sur la végétation.....	107
Chapitre 2 : Répartition des différentes sources de calcium de l'environnement :Bilan.....	109
<b>A. Conclusion générale.....</b>	<b>109</b>
<b>B. Application à un écosystème fossile sud-africain.....</b>	<b>110</b>

## Chapitre 1 : Distribution des isotopes du calcium au sein des différentes sources environnementales

Ce chapitre a pour objectif de présenter l'état actuel de nos connaissances sur la répartition des isotopes du calcium dans l'environnement. Ces connaissances ont pu être complétées par un certain nombre de mesures acquises au cours de cette thèse.

### A. Le calcium d'origine animale

En 2020, Tacail *et al.* proposent un schéma du cycle du calcium dans l'organisme des vertébrés (Figure 34), synthétisant ainsi nos connaissances actuelles sur les flux et les fractionnements isotopiques du calcium chez les animaux.

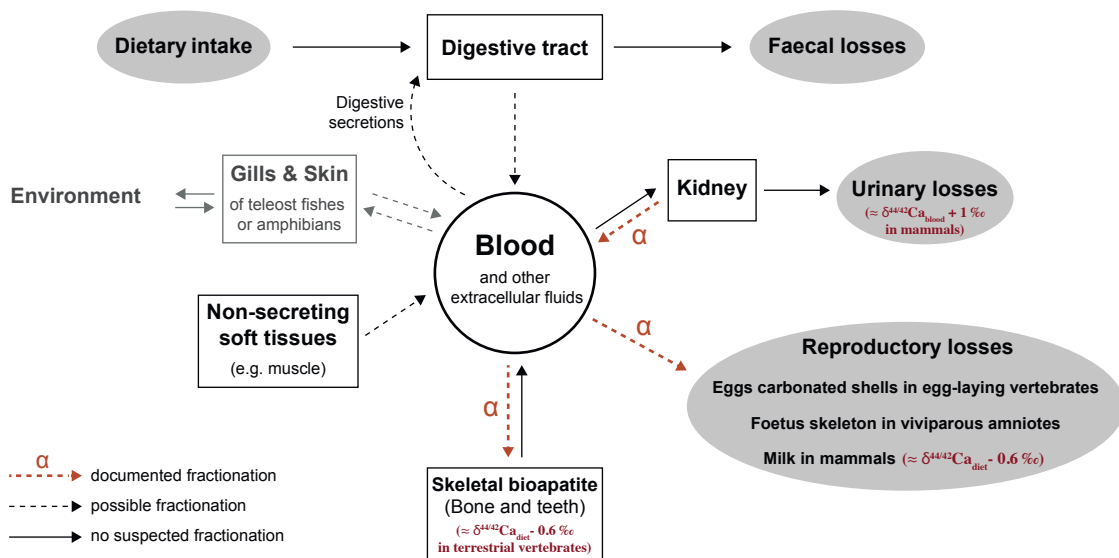


Figure 34 : Cycle du calcium dans un organisme vertébré. Les flux de calcium pour lesquels le fractionnement isotopique du calcium est documenté, possible ou non suspecté sont indiqués respectivement par des flèches rouges, des flèches noires en pointillées et une ligne noire pleine (Tacail *et al.*, 2020). **Typical Ca cycle in vertebrate organisms.** The Ca fluxes for which Ca isotope fractionation is documented, possible or not suspected are indicated with red dashed arrows, black dashed arrows and black solid line respectively (Tacail *et al.* 2020).

Si un certain nombre de flux sont correctement documentés, on constate un manque d'informations pour certains d'entre eux. Afin de mieux contraindre la distribution des isotopes du calcium chez les vertébrés nous avons analysé conjointement les trois matrices composant l'os frais soit l'os cortical, l'os spongieux et la moelle osseuse, ainsi que les muscles associés d'animaux domestiques et sauvages (Figure 35). L'échantillonnage des espèces modernes a été décrit précédemment (voir Partie 2. Chapitre 2. A.a.ii. Échantillons de faune moderne). Les différents échantillons sont issus de boucheries ou de chasses, aucune information concernant le régime

alimentaires de ces animaux n'était donc disponible.

Nous ferons un simple rappel des résultats principaux concernant les valeurs de  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{os-muscle}}$  définis par la différence de composition isotopique en calcium mesurée dans l'os et le muscle associé. Les résultats détaillés sont présentés dans l'article : *Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones : application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil* (Partie 3. Chapitre 2. B. Regourdou 1) L'ajout de nouvelles mesures de moelle osseuse permet de nouvelles interprétations qui seront quant à elles détaillées dans une partie spécifique.

Une fois la distribution des isotopes du calcium contrainte au sein des réservoirs d'intérêt nutritif, nous nous sommes intéressés à l'enregistrement du signal alimentaire dans les deux grands réservoirs minéralisés : l'os et la dent. Nous nous sommes concentré autour de la différence de bio-minéralisation qui peut exister entre l'émail dentaire et l'os ainsi que la façon dont le signal alimentaire doit être interprété dans ces deux tissus. Pour cela, nous nous sommes appuyé sur la comparaison de ces deux tissus au sein d'un même écosystème sur deux sites différents.

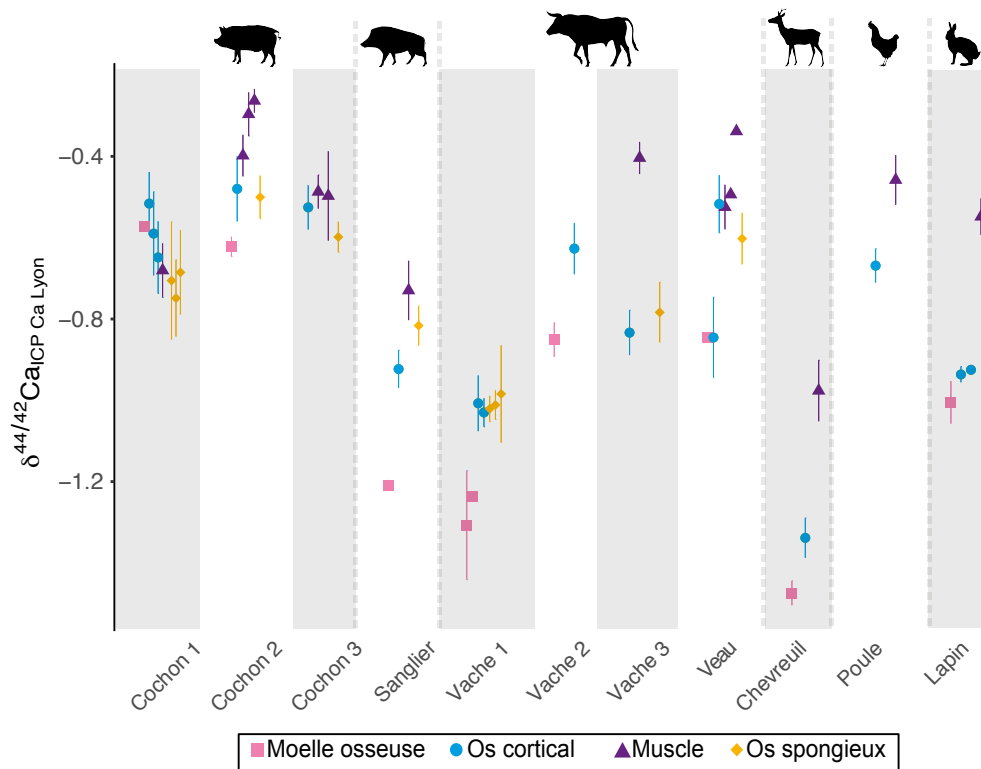


Figure 35 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  pour les échantillons de faune moderne. Les individus sont regroupés par espèces. Les formes et les couleurs correspondent aux différents tissus (données dans Dodat et al. 2021 avec l'ajout de 6 échantillons non publiés). Values of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  for modern fauna samples. Individuals are grouped by species. Shapes and colors correspond to the different tissues (data in Dodat et al. 2021 plus 6 unpublished samples).



a. Le muscle

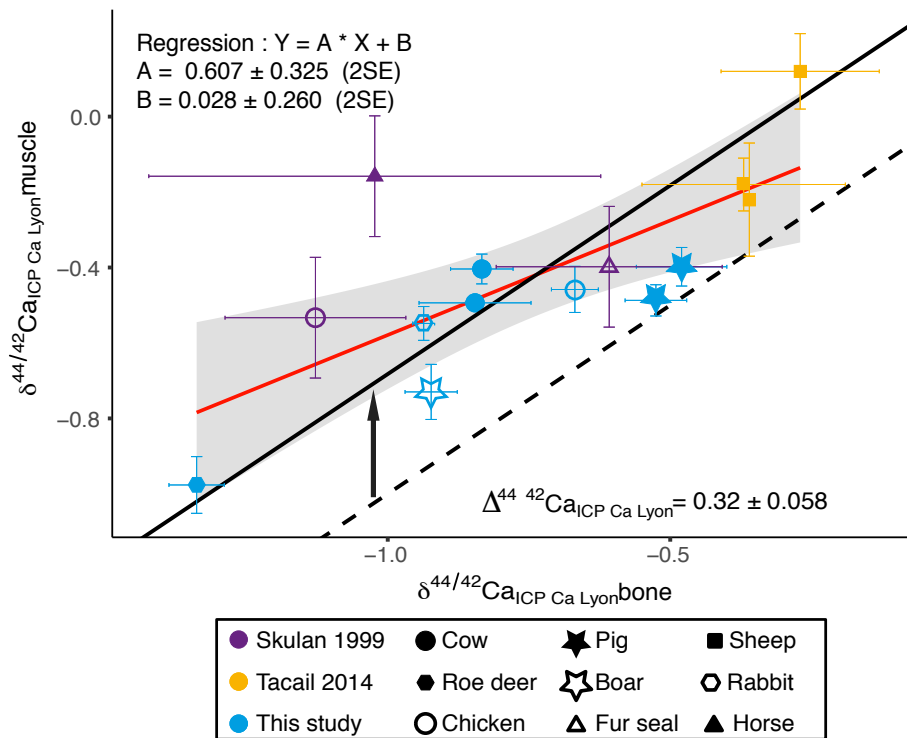


Figure 36: Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  osseux par rapport aux valeurs du  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  du muscle. La ligne rouge correspond à la régression linéaire calculée pour les échantillons analysés dans cette étude et de la littérature (Skulan et DePaolo, 1999 ; Tacail et al. 2014). L'aire grisée représente l'intervalle de confiance à 95 % pour la régression linéaire. La ligne pointillée est 1:1 et la ligne noire représente la droite d'équation  $y = x + 0,32$ , correspondant au décalage moyen entre l'os cortical et son muscle apparié. (D'après Dodat et al. 2021). Bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values compared to muscle  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. The red line is the calculated linear regression for the samples analysed in this study and from the literature (Skulan and DePaolo, 1999; Tacail et al. 2014). The gray area represents the 95 % confidence interval for the linear regression. The dotted line is 1:1 and the black line represents the straight line of the equation  $y = x + 0.32$ , corresponding to the mean offset between the cortical bone and its paired muscle. (From Dodat et al. 2021).

Le muscle est le tissu qui présente le plus grand intérêt dans le cadre de reconstitutions paléo-environnementales, car il représente la ressource alimentaire la plus importante sur une carcasse. Il est certain qu'il a joué un rôle important dans l'alimentation des différentes populations de chasseurs-cueilleurs du paléolithique (Rivals *et al.*, 2022). Le nombre de données concernant la composition isotopique des muscles en condition naturelle est relativement limité, c'est pourquoi nous avons mesuré la composition isotopique des muscles ainsi que l'os associé sur chaque individu.

En considérant nos données et celles de la littérature, nous pouvons estimer une valeur moyenne de  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{os-muscle}}$  de 0,32‰ ( $\pm 0,12$  ; 2SE ; Figure 36). Cette valeur complète le décalage  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{os-alimentation}}$  de 0,6‰ et l'effet de saut de niveau trophique entre la composition isotopique de l'os de carnivore et de l'os des herbivores de 0,3‰ (Figure 37). Cette différence est légèrement

supérieure à celle qu'il existe entre le sang et l'os ( $+0,11 \pm 0,1\%$  ; Tacail, 2017) et tend à confirmer l'hypothèse selon laquelle il existe un fractionnement isotopique entre le sang et le muscle (Tacail *et al.*, 2020).

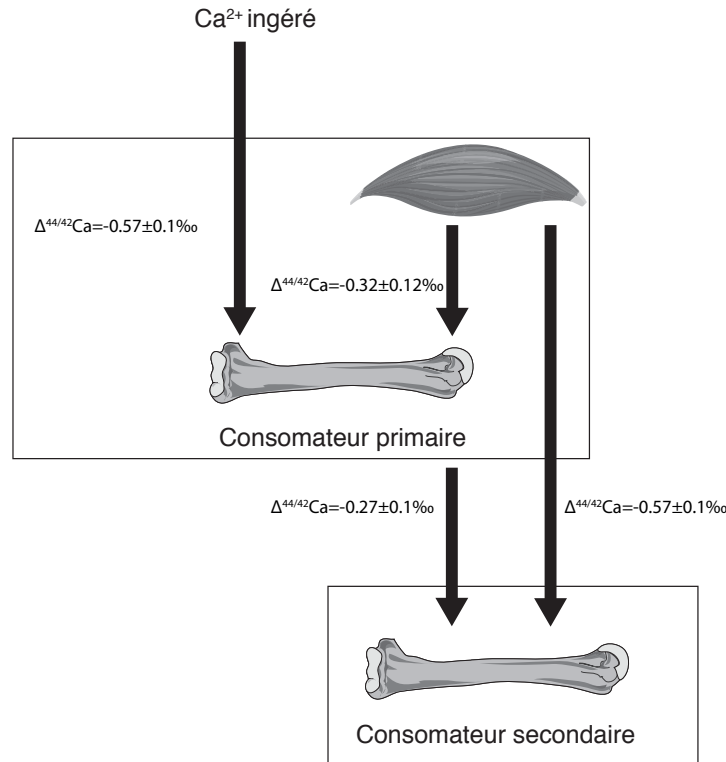


Figure 37 : Modèle des flux de calcium au sein d'un réseau trophique. Model of calcium fluxes into a trophic chain.

## b. Os et moelle osseuse

L'os est la plus grande source de calcium de l'organisme et, quand il est conservé, l'os constitue la majorité du matériel retrouvé en contexte archéologique. On distingue deux grandes entités dans l'os, l'os cortical et l'os spongieux (décrits dans la Partie II. Chapitre 2. B. a. Les différents tissus minéralisés). Bien que l'os ne présente pas un intérêt nutritif de premier ordre, il est largement consommé dans le règne animal, notamment lors de la consommation de proie entière tel chez les reptiles et les petits mammifères (Massare, 1987; Baquedano *et al.*, 2012). Chez les grands mammifères (tels que l'hyène, le loup ou le lion), la consommation des proies entières est un événement plus rare. Mais les parties osseuses des proies sont régulièrement soumises à des processus de rongements ou de fracturations afin d'accéder à différentes parties de la carcasse ou à la cavité médullaire contenant la moelle osseuse riche en graisse. C'est aussi le cas lors de différentes pratiques culinaires humaines (e.g. Cordain *et al.*, 2000; Morin, 2020).

Cette analyse est présentée en détail dans l'article : *Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones : application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil* (Partie III. Chapitre 2. B. Regourdou 1). Du fait de l'ajout de nouvelles données, certaines conclusions sont différentes de celles présentées dans cet article.

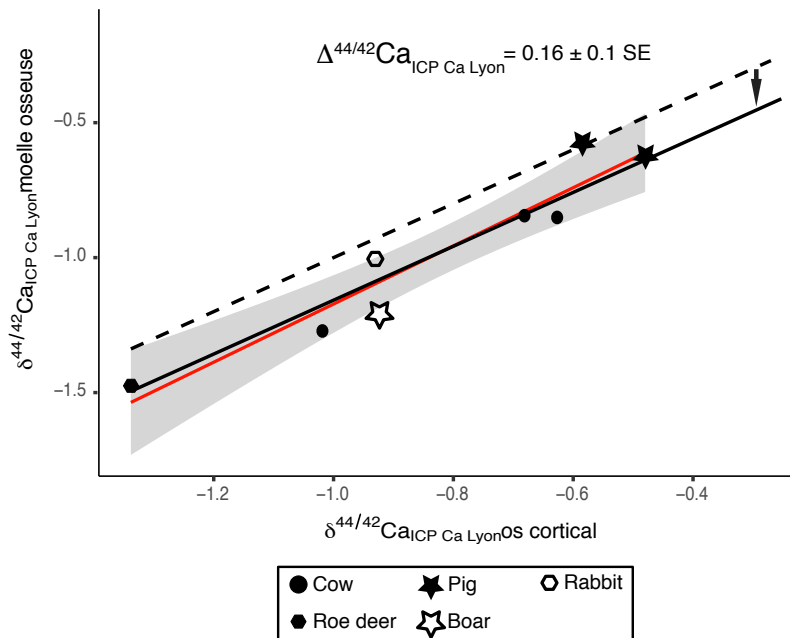


Figure 38 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  osseux par rapport aux valeurs du  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  de la moelle osseuse. La ligne rouge correspond à la régression linéaire calculée pour les échantillons analysés dans cette étude. L'aire grisée représente l'intervalle de confiance à 95 % pour la régression linéaire. La ligne pointillée est 1:1 et la ligne noire représente la droite d'équation  $y = x + 0,16$ , correspondant au décalage moyen entre l'os cortical et la moelle osseuse appariée. Bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values compared to bone marrow  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. The red line is the calculated linear regression for the samples analysed in this study. The gray area represents the 95 % confidence interval for the linear regression. The dotted line is 1:1 and the black line represents the straight line of the equation  $y = x + 0.16$ , corresponding to the mean offset between the cortical bone and its paired muscle.

La concentration en calcium de la moelle osseuse (moelle jaune) est extrêmement faible en comparaison de celle de l'os et des autres tissus de l'organisme ( $\approx 0,01$  % par unité de masse sèche contre  $\approx 25$  % dans l'os ou  $\approx 0,6$  ‰ dans le muscle), son apport à la composition isotopique du mélange alimentaire est donc limité. Nous avons pu, pour la première fois, mesurer la composition isotopique de la moelle osseuse. On constate un enrichissement en isotope léger de la moelle osseuse par rapport à l'os, cette différence peut être estimée à  $-0,16 \pm 0,2$  ‰ (2SE, Figure 38). Les mesures d'os spongieux associées ne montrent, quant à elles, pas de différence de composition isotopique par rapport à l'os cortical. Lorsque cela est possible, nous avons analysé plusieurs échantillons provenant d'un même os, et nous avons pu constater que la composition isotopique de l'os cortical ne varie que très peu au sein d'un même os. Seul l'échantillon de veau présente une différence marquée de composition isotopique au sein du même os. Elle peut s'expliquer par un fort taux de

remobilisation de l'os cortical chez les jeunes individus, rendant donc celui-ci plus sensible aux variations ponctuelles de régime alimentaire. Ainsi la valeur très basse d'un des échantillons de veau pourrait traduire un effet d'allaitement ou une variation alimentaire rapide non enregistrée par l'ensemble du squelette.

### c. Dents

Les dents représentent le second tissu minéralisé le plus important du corps humain. Elles sont composées de trois tissus décrits précédemment (l'émail, la dentine et le ciment ; Partie II. Chapitre 2. B. a. Les différents tissus minéralisés). Contrairement à ce qui a été présenté par Tacail *et al.* en 2020 (Figure 34), il existe une différence de composition isotopique entre l'os, la dentine et l'émail. Cette différence semble respecter une certaine constance, mais peut être influencée par les modifications de style de vie, car l'os est en constante remobilisation et enregistre les changements les plus récents contrairement aux dents qui ne minéralisent qu'une fois au cours de la vie (sauf pour le ciment et la dentine secondaire).

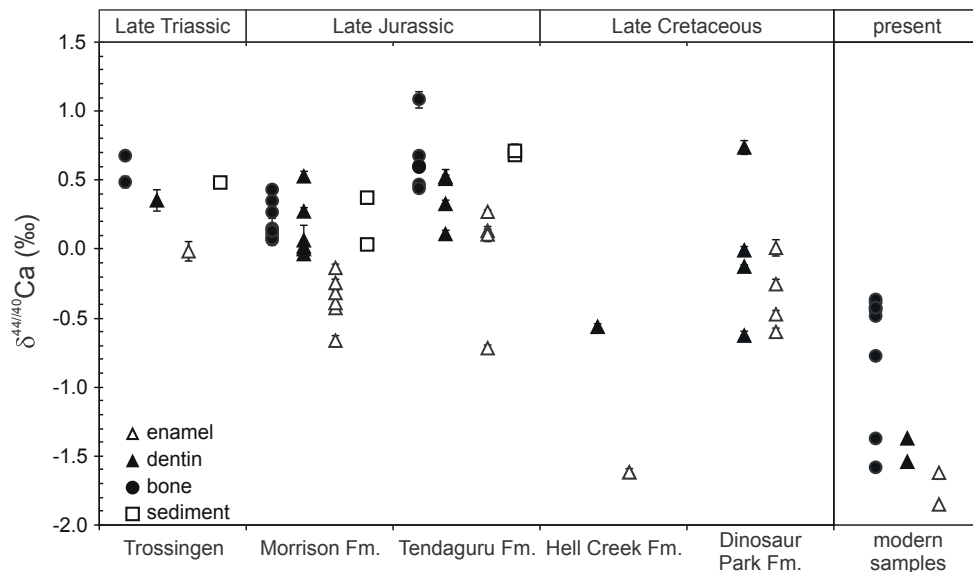


Figure 39 : Compositions isotopiques en calcium de l'émail (triangles ouverts), de la dentine (triangles pleins) et des os (cercles pleins) de dinosaures provenant de cinq localités différentes et d'échantillons de reptiles modernes, exprimés en  $\delta^{44/40}\text{Ca}$  normalisé par rapport au standard SRM 915a. Les barres d'erreur représentent le 2SE pondéré (D'après Heuser *et al.*, 2011). *Ca isotope ratios of enamel (open triangles), dentin (filled triangles) and bones (filled circles) of dinosaurs from five localities and samples from modern reptiles, expressed in  $\delta^{44/40}\text{Ca}$  normalized to SRM 915a. Error bars represent the weighted 2SE (From Heuser *et al.*, 2011).*

Heuser *et al.*, 2011 ont montré par l'analyse de restes de dinosaures et de reptiles modernes qu'il existe une différence systématique de compositions isotopiques en calcium entre l'os, l'émail et la dentine. L'émail possède les valeurs de compositions isotopiques les plus basses, les os les

plus hautes et la dentine des valeurs intermédiaires (les valeurs de dentine et d'os se chevauchant largement, voir Figure 39). La différence observée par Heuser *et al.*, (2011) entre l'émail et la dentine est de  $0,35 \pm 0,1\%$  (1sd). Elle est attribuée par les auteurs à un signal biogénique provenant de différences dans la bio-minéralisation de ces tissus. Selon les auteurs, cette différence peut être utilisée comme un indicateur d'altération diagénétique. Du fait de la mise en place quasi-simultanée de la dentine et d'une partie de l'émail ainsi que du non-renouvellement (ou faible renouvellement) de la dentine, l'existence d'une différence constante n'était pas un résultat attendu.

Du fait de sa proximité de composition et de mise en place (Veis, 2009) on peut considérer que les processus de minéralisation de la dentine et de l'os sont plus proches entre eux que de l'émail (Huang *et al.*, 2008; Opsahl Vital *et al.*, 2012). On peut donc supposer que la différence observée entre l'émail et la dentine devrait être égale à celle entre l'émail et l'os ce qui est contraire à ce qui a été observé par Heuser *et al.* 2011.

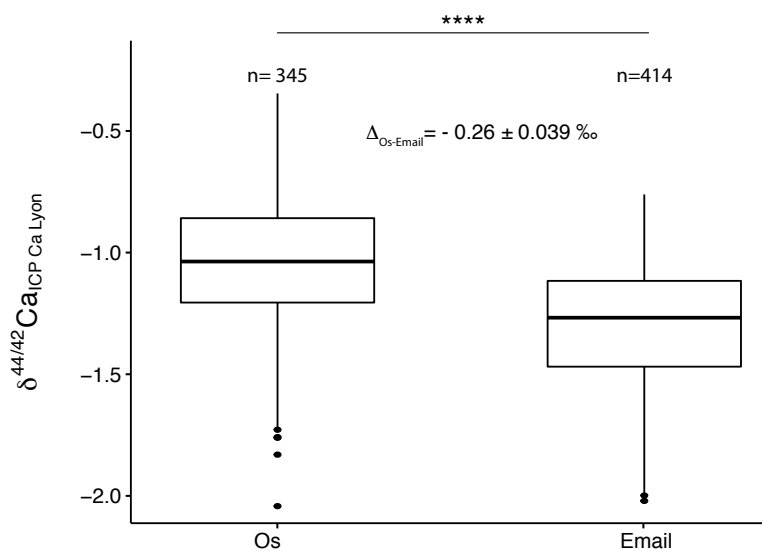


Figure 40 : **Box plot comparant les compositions isotopiques de l'os et de l'émail chez les mammifères terrestres**, les données proviennent de notre recherches et de Martin *et al.* (2017, 2018, 2020) ; Hu *et al.* (2022). Un test de Wilcoxon a été réalisé avec ajustement de Bonferroni afin de mettre en évidence l'existence d'une différence entre les compositions isotopiques de l'os et de l'émail. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,005$  ; \*\*\* $p < 0,0005$  et \*\*\*\* $p < 0,00005$ . **Box plot comparing the isotopic compositions of bone and enamel in terrestrial mammals**, data from our PhD reserches and Martin *et al.* (2017, 2018, 2020) ; Hu *et al.* (2022). A Wilcoxon test was carried out with Bonferroni adjustment in order to highlight the existence of a difference between the isotopic compositions of bone and enamel. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,005$  ; \*\*\* $p < 0,0005$  et \*\*\*\* $p < 0,00005$ .

Une première analyse a été réalisée en utilisant les données de la littérature et les données obtenues durant nos recherches sur l'émail et l'os de mammifères (Figure 40). On constate une différence entre la moyenne des valeurs de compositions isotopiques de l'os et la moyenne des

valeurs de l'émail qui peut être estimée à  $-0,26 \pm 0,04$  (intervalle de confiance calculé par t-test, variante de Welch), cette valeur est similaire à celle observée par Heuser *et al.*, 2011 entre l'émail et la dentine. Afin d'aller plus loin dans la compréhension des mécanismes mis en jeu et afin de pouvoir établir une valeur de conversion entre l'os cortical et l'émail, nous nous sommes intéressés de manière précise à la différence entre l'os et l'émail. Pour cela, la différence os/émail a pu être mesurée sur deux des sites étudiés au cours de cette thèse : Jaurens et Camiac. Les résultats présentés ci-dessous (Figure 41) montrent qu'il existe un décalage systématique entre l'os et l'émail, les valeurs d'émail étant systématiquement inférieures à celle de l'os à l'exception des cerfs de Camiac. Nous avons cherché à quantifier ce décalage afin de savoir s'il correspondait à la valeurs de  $\Delta_{\text{dentine-émail}}$  mesuré par Heuser *et al.*, 2011 et/ou au  $\Delta_{\text{os-émail}}$  observé sur l'ensemble des données compilées.

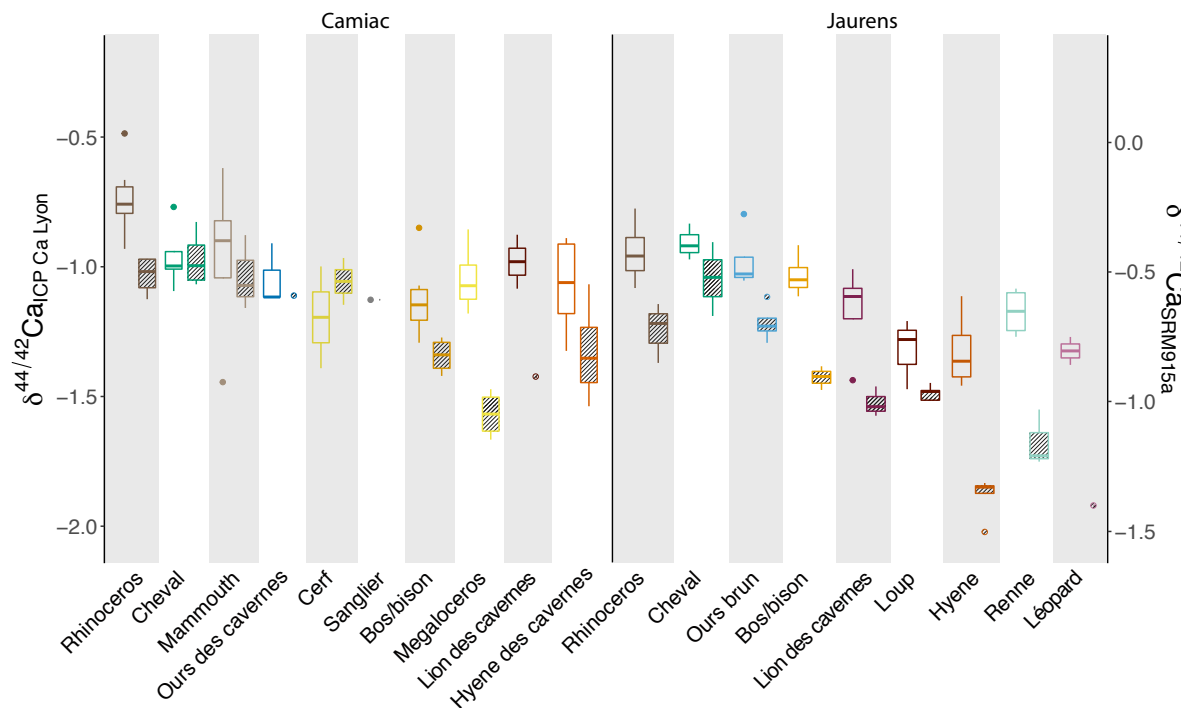


Figure 41 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  pour les échantillons de Camiac (à gauche) et Jaurens (à droite). Les individus sont regroupés par espèces et rangés par ordre décroissant de compositions isotopiques. Les boxplots vides représentent les valeurs d'os « leachés » et les boxplots hachurées représentent les valeurs d'émail non « leachés ». Values of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  for samples from Camiac (left) and Jaurens (right). Individuals are grouped by species and arranged in descending order of isotopic composition. Empty boxplots represent leached bone values and hatched boxplots represents enamel values.

L'analyse des différents échantillons a été réalisée selon le protocole d'analyse des échantillons archéologiques décrit précédemment. Il n'a pas été possible de prélever systématiquement des échantillons d'émail et d'os provenant d'un même individu. Afin de calculer la valeur de  $\Delta_{\text{os-émail}}$  les échantillons pour lesquels il a été possible de mesurer les tissus sur un même individu ont été

considérés séparément, et lorsqu'il n'a pas été possible d'effectuer les deux prélèvements sur un même individu, une moyenne des valeurs a été faite par taxon. Les dents ont été sélectionnées de manière à refléter une alimentation 'adulte' (détaille des dents prélevé Annexe A). La différence observée entre l'os et l'émail sur ces deux sites est de  $-0,27 \pm 0,23\text{‰}$  (2SE), ce qui est proche de la valeur de  $-0,26 \text{‰}$  que nous avons observé sur l'ensemble des données compilée et de celle de  $-0,35 \text{‰}$  observée par Heuser *et al.* (2011) entre l'émail et la dentine.

Bien que l'on puisse mettre en évidence une diminution de la composition isotopique entre l'émail et l'os, celui-ci montre une grande variabilité (Figure 42). Il semble donc que le signal biogénique provenant de la bio-minéralisation de l'émail et de l'os ne puisse expliquer à lui seul la différence de composition observée. L'existence de processus biologiques ou diagénétiques doit donc être envisagée. Il a été démontré précédemment que le risque d'une modification diagénétique pouvait être écarté (Partie II. Chapitre 2. A. c. Impact de la diagenèse sur les tissus minéralisés), les variations observées résultent donc de modifications du régime alimentaire survenu après la minéralisation de la dentine.

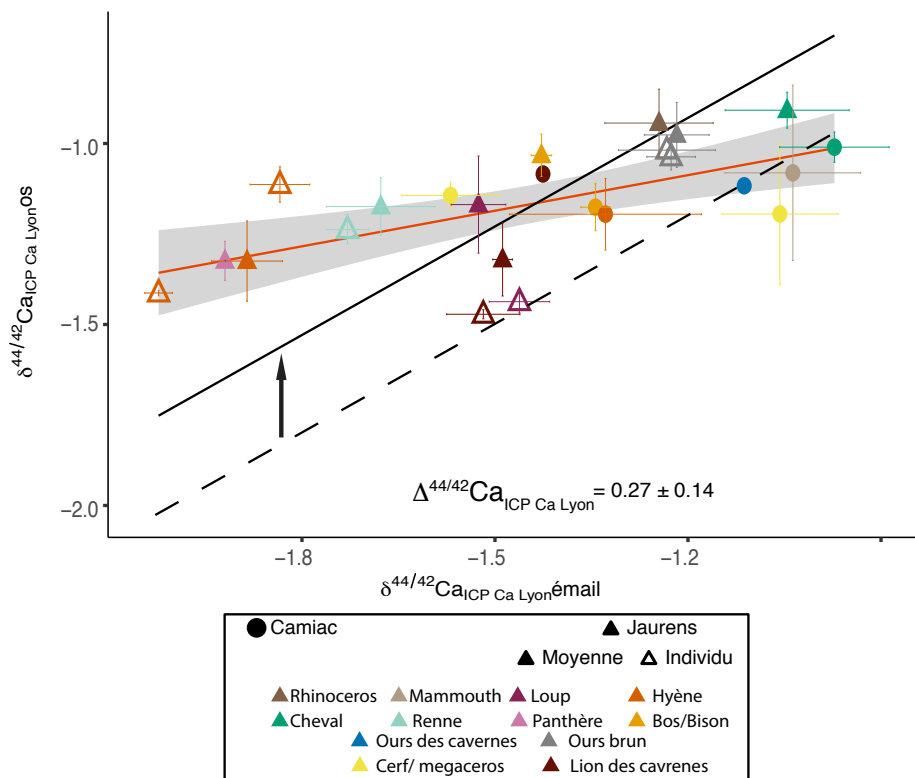


Figure 42 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  de l'émail en fonction de la valeur de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  de l'os. La ligne rouge correspond à la droite de régression calculée pour tous les échantillons analysés au cours de cette étude. La ligne pointillée est 1:1 et la ligne noire représente la droite d'équation  $y = x + 0,27$ , correspondant au décalage moyen entre l'os et l'émail. Enamel  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values as function of bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. The blue line is the regression line calculated for all samples analysed in this study. The dotted line is 1:1 and the black line represents the straight line of the equation  $y = x + 0.27$ , corresponding to the average offset between cortical bone and enamel.

Deux éléments peuvent affecter la bonne évaluation du  $\Delta_{\text{os-émail}}$ . Tout d'abord, il faut considérer que l'utilisation de la moyenne des valeurs de composition isotopique pour les taxons dont on ne possède pas de prélèvement venant du même individu introduit un biais significatif. L'hypothèse d'une contamination du prélèvement d'émail par de la dentine ne doit pas être écartée. Enfin, bien qu'une sélection des dents analysées ait eu lieu, il n'est pas à exclure que des traces d'allaitement soient encore visibles et conduisent à de fausses interprétations comme cela a déjà été mis en évidence (A. Hassler *et al.*, 2021).

Les résultats obtenus, ainsi que nos connaissances actuelles en matière d'isotopie du calcium nous permettent de soulever plusieurs points auxquels il conviendra de porter attention selon que l'on travaille avec les données de compositions isotopiques issues d'os ou d'émail. La différence de composition isotopique entre l'alimentation et l'os ( $-0,57 \pm 0,1\%$  établie par Tacail *et al.*, 2014) doit être décrétementée d'environ  $0,3\%$  relativement à la différence entre alimentation et émail. Cet écart doit impérativement être pris en compte lors de reconstructions paléo-écologiques afin de ne pas faire de mauvaise interprétation en comparant des résultats obtenus sur l'os ou sur l'émail. Une étude plus poussée doit être conduite afin d'établir une valeur de  $\Delta_{\text{os-émail}}$  plus précise et ainsi permettre la comparaison de matériel osseux et dentaire provenant d'un même site. Enfin, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires, on peut considérer que le signal isotopique enregistré par la dentine est proche de celui enregistré par l'os. Ces observations vont à l'encontre des principes généralement admis concernant la répartition des isotopes du calcium chez les mammifères (Tacail *et al.*, 2020).

#### d. Le lait et impact de la lactation, un bref rappel

Le lait est une source majeure de calcium alimentaire. Une consommation, même de manière ponctuelle, de produits laitiers influence de manière significative la composition isotopique du consommateur (Auguste Hassler *et al.*, 2021; Tacail *et al.*, 2021). Dès 2006, Chu *et al.* montrent que les valeurs de compositions isotopiques du calcium diminuent entre l'alimentation, l'os et le lait des mammifères. Cette diminution est estimée à  $-0,6\%$  entre l'alimentation et le lait d'un mammifère. Cette diminution est plus marquée que celle qu'il existe lors d'un saut trophique, les isotopes du calcium ont ainsi été proposés par Chu *et al.* comme un indicateur de la consommation de produit laitier.

Les premières études concernant la consommation de produits laitiers n'ont apporté de résultats concluants (Reynard *et al.*, 2013). La multiplication des données ainsi que de nouvelles approches



populationnelles ont par la suite permis de démontrer que les isotopes du calcium pouvaient être utilisés comme marqueurs de la néolithisation (Tacail *et al.*, 2021) mais aussi à l'échelle individuelle pour l'étude du sevrage chez les hominines anciens (Tacail, 2017; Tacail *et al.*, 2019).

De récentes études approfondies sur l'impact de la lactation et sur la composition isotopique en calcium des mammifères ont permis d'établir un certain nombre de généralités concernant l'impact de la lactation sur la composition isotopique des mammifères (Hassler, 2021).

Lors de la croissance fœtale et/ou de la lactation, on constate une augmentation de la composition isotopique en calcium de l'os, jusqu'à  $+0,19 \pm 0,09$  ‰ chez les cervidés (A. Hassler *et al.*, 2021). En gestation, la différence de composition isotopique entre l'alimentation et l'os a tendance à diminuer pour passer de  $-0,57$  ‰ à  $-0,28$  ‰, ce qui pourrait, entre autre, être à l'origine de l'augmentation de la composition isotopique globale de l'individu (Auguste Hassler *et al.*, 2021).

La lactation semble avoir un impact plus important sur la composition isotopique du calcium que la gestation avec notamment une mobilisation accrue du calcium léger. Cependant, les études réalisées jusqu'à maintenant semblent exclure un impact significatif de la lactation et de la gestation sur la composition isotopique de l'os cortical. L'impact de ces deux processus n'a jamais été évalué sur l'os spongieux qui, en tant qu'interface métabolique privilégiée entre éléments sanguins et partie minéralisée, pourraient être fortement impactés par les variations métaboliques liées à la gestation et à l'allaitement. Cette hypothèse peut notamment être corroborée par de nombreuses études qui montrent le fort impact de gestation sur la perte osseuse (ou l'augmentation du turnover osseux) notamment au niveau de l'os spongieux des os longs (López *et al.*, 1996; Shahtaheri *et al.*, 1999). Un impact de la gestation et de la lactation sur l'os spongieux n'est donc pas à exclure mais doit être documenté.

### e. Mise à jour du schéma bilan

Au regard des nouvelles données obtenues lors des études présentées ci-dessus, il nous est possible de compléter le schéma établi par Tacail *et al.* (2020) de la manière suivante.

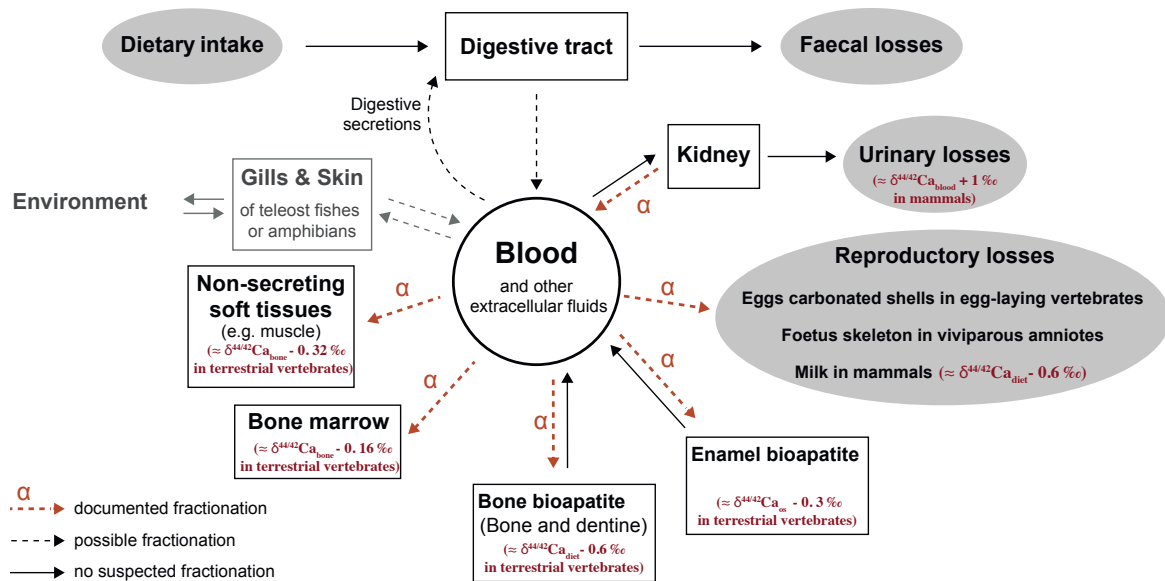


Figure 43 : Cycle du calcium dans un organisme vertébré. Les flux de calcium pour lesquels le fractionnement isotopique du calcium est documenté, possible ou non suspecté sont indiqués respectivement par des flèches rouges, des flèches noires en pointillés et une ligne noire pleine. *Typical Ca cycle in vertebrate organisms. The Ca fluxes for which Ca isotope fractionation is documented, possible or not suspected are indicated with red dashed arrows, black dashed arrows and black solid line respectively.*

## B. Le calcium d'origine végétale

Si le calcium des vertébrés provient principalement de l'alimentation, celle-ci peut être marquée par une grande hétérogénéité des compositions isotopiques, directement liée à la grande variabilité des producteurs primaires que sont les végétaux. La composition isotopique en calcium des végétaux a déjà fait l'objet de nombreuses publications (e.g., Holmden et Bélanger, 2010; Hindshaw *et al.*, 2013; Schmitt *et al.*, 2018). Cependant, le type de végétaux analysés et les environnements étudiés restent limités et n'intégraient pas de problématique liée à l'alimentation. Dans le cadre de notre recherche doctorale et afin de mieux comprendre la répartition du calcium dans les environnements occupés par les populations humaines, nous avons analysé la composition isotopique d'une sélection de végétaux actuels provenant de deux biotopes différents :

- un écosystème sud-africain situé proche du Cradle of Human Kind;
- un écosystème de bord de rivière européenne, l'Allier.

Le but de cette démarche est d'étudier et comparer la distribution des isotopes du calcium dans ces deux biotopes et de déterminer l'influence du type de biotope sur la composition isotopique du calcium.

De plus, afin d'étudier l'impact de l'environnement local sur la composition isotopique du calcium, nous avons analysé des échantillons végétaux actuels provenant de l'environnement direct des différents sites archéologiques investis au cours de ce travail. De plus, un certain nombre

d'organes (fruits, fleurs et bulbes) jusqu'à présent jamais étudiés ont ainsi pu être analysés.

a. État actuel des connaissances

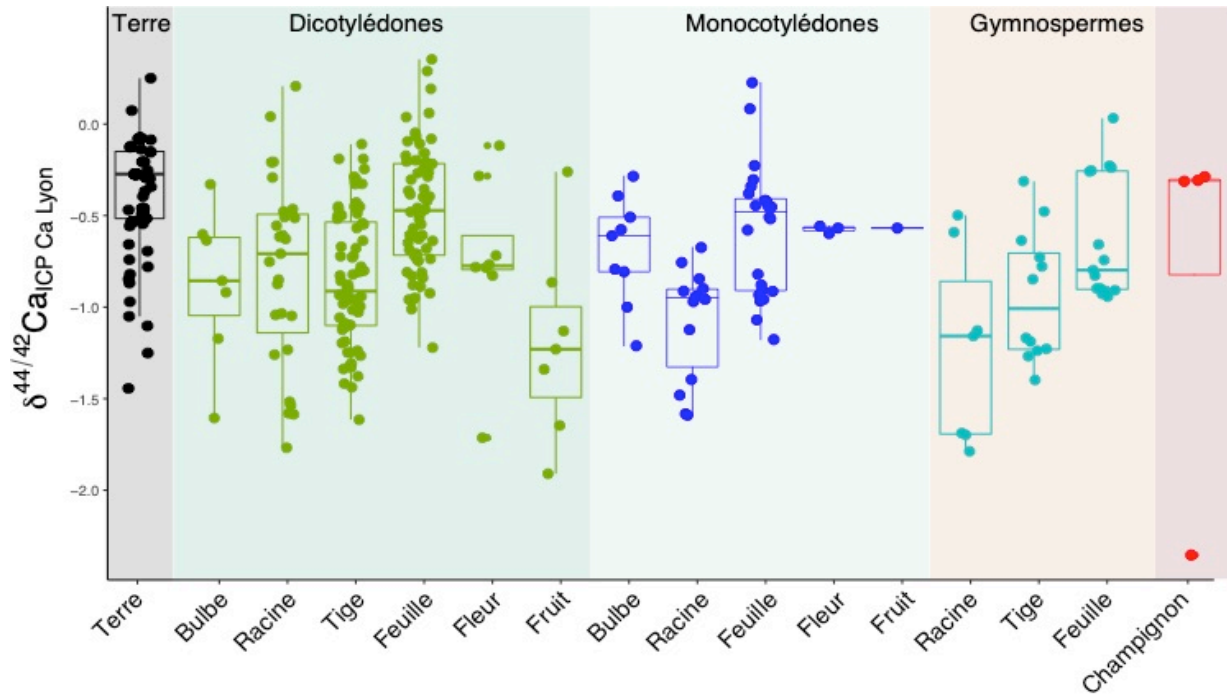


Figure 44 : Compositions isotopiques des organes de plantes dicotylédones (à gauche), monocotylédones (au centre), et gymnosperme (à droite) et de la terre associée. Données issues de cette thèse et de la littérature. *Isotopic compositions of dicotyledonous (left), monocotyledonous (centre) and gymnosperm (right) plant organs and associated soils. Data from this thesis and the literature.*

Les végétaux constituent le premier niveau de tout réseau trophique terrestre. Il convient donc de le caractériser correctement avant toute tentative de reconstitution de régime alimentaire. Il existe une grande variabilité de compositions isotopiques du calcium au sein des végétaux, cette variabilité est plurifactorielle mais peut être décomposée en trois grandes composantes :

- une première part de la variabilité est imputable à la composition isotopique du substrat d'où la plante tire son calcium ;

- une seconde part de la variabilité est due à l'existence d'un fractionnement entre le sol et les plantes qui semble être lié au type de plante ainsi qu'à l'environnement (Holmden et Bélanger, 2010). Ce fractionnement est difficile à quantifier car il dépend de nombreux paramètres tel que la profondeur des racines ou le type de sol, un prélèvement préférentiel des isotopes légers par les racines peut toutefois être mis en évidence (Figure 44) ;

- enfin de nombreuses études (e.g. Page *et al.* 2009 ; Hindshaw *et al.* 2013) suggèrent qu'il existe un fractionnement isotopique entre les organes des plantes . Ce fractionnement d'amplitude

variable tend à créer un enrichissement en isotopes lourds lorsque l'on monte dans la plante (racine appauvrie par rapport à la tige elle-même appauvrie par rapport aux feuilles). L'ensemble des données collectées est en accord avec les données issues de la littérature (Figure 44).

### b. Les espèces végétales à organes de stockage souterrains

L'hypothèse de la consommation d'organe de stockage souterrain (USO= underground storage organe) par les hominines est largement soutenue, notamment dans le cadre des hominines sud-africains (Laden et Wrangham, 2005; Ungar *et al.*, 2006; Cerling *et al.*, 2011). Les USO sont des candidats particulièrement intéressants pour expliquer certaines phases clés de l'évolution humaine. Trois arguments sont ainsi avancés : (1) l'expansion des espèces géophytes (végétaux dont les organes vitaux enfouis dans le sol subsistent durant la mauvaise saison) à la fin du Miocène qui font du sud de l'Afrique une des zones en abritant la plus grande diversité au monde (Laden et Wrangham, 2005) ; (2) les USO présentent des propriétés mécaniques compatibles avec les adaptations dentaires observées chez certains hominines, tel que l'augmentation de l'épaisseur de l'émail des molaires comparativement aux autres grands singes africains (McHenry, 1994; Cerling *et al.*, 2011; Yeakel *et al.*, 2014) ; (3) un retour énergétique intéressant (énergie apportée supérieure à celle dépensée pour l'acquisition, voir Singels, 2013, pour un étude complète sur les USO Sud-Africain).

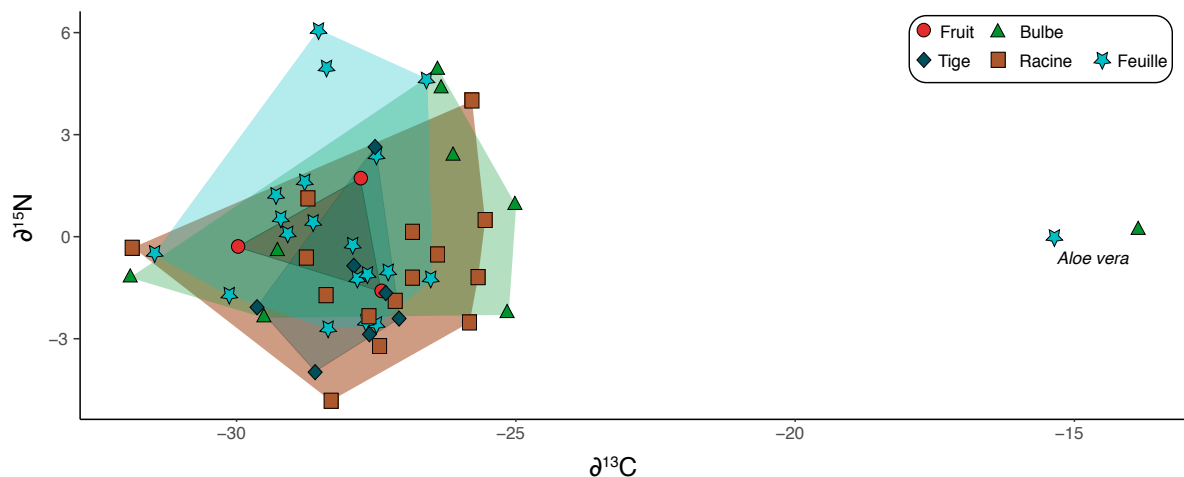


Figure 45 : **Composition isotopique en C et N des différents organes de plantes sud-africaines.** Les groupes correspondent aux différents organes. Seul l'Aloe vera (plantes en CAM) n'est pas pris en considération. *C and N isotopic composition of different South African plant organs. The groups correspond to the different organs. Only Aloe vera (CAM plants) is not considered*

Si la place des USO dans l'alimentation des hominines reste encore sujet à débats, ressources préférentielles ou ressources de secours, leur consommation semble faire consensus. Dans notre étude

nous avons analysé des plantes modernes possédant des organes de stockage souterrains provenant des deux biotopes décrits précédemment (Afrique du Sud et Europe continentale). L'ensemble des échantillons a pu être analysé en concentrations élémentaires et composition isotopique du calcium. Les échantillons d'Afrique du Sud ont aussi été analysés pour déterminer leurs compositions isotopiques en carbone et en azote (Figure 45). Les résultats de l'analyse de la composition en carbone ( $\delta^{13}\text{C}$ ) et en azote ( $\delta^{15}\text{N}$ ) des différents organes ne permettent pas d'identifier de tendance claire de la répartition de ces isotopes au sein des plantes. Seuls les différents métabolismes du carbone peuvent être observés. L'ensemble des plantes étudiées sont des plantes dont le type de photosynthèse est en C3 sauf l'*Aloe vera* qui est une plante à photosynthèse de types CAM (Métabolisme Acide Crassulacéen). Il existe plusieurs types d'organes de stockage souterrain dont le but est sensiblement identique, stocker de l'énergie (sous forme de glucide principalement) et de l'eau. Il en existe une très grande variété que l'on peut regrouper en trois grandes catégories :

- les racines modifiées (tubéreuses ou sous forme de racines pivotantes tubérisées) ;
- les tiges modifiées (cormes, tubercules, rhizomse, caudex, pseudobulbes) ;
- les bulbes.

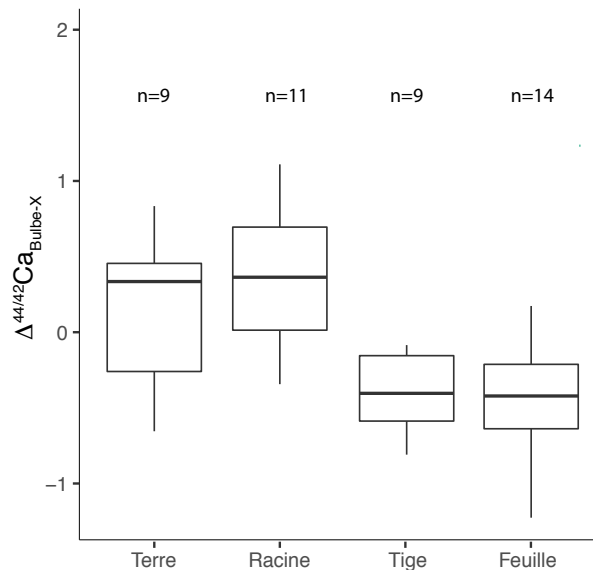


Figure 46 : Distribution de la composition isotopique en calcium ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) chez les plantes possédant des USO, représenté par la différence  $\Delta_{\text{Bulbe-X}}$  de chaque organe pour chaque individu. La figure représente les différences de composition isotopique entre les organes et la composition isotopique du bulbe, une valeur positive signifie une composition isotopique supérieure au bulbe et une valeur négative une composition isotopique inférieure. *Distribution of calcium isotopic composition ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) in plants with USO represented by the  $\Delta_{\text{Bulbe-X}}$  of each organ for each individual. The figure represents the difference of the isotopic composition between the organs and the isotopic composition of the bulb, a positive value meaning a higher isotopic composition than the bulb, a negative value meaning a lower isotopic.*

L'analyse des concentrations élémentaires met en évidence une concentration des métaux de transition dans les racines tandis que les alcalino-terreux se concentrent dans les feuilles (voir Partie III. Chapitre 1. B. d. Analyse multivariée, répartition chimique au sein des végétaux). Celle des compositions isotopiques du calcium relève, comme attendu, une composition qui varie de manière inverse entre racine et feuille, les bulbes se situant à des valeurs intermédiaires avec une composition isotopique enrichie en isotopes légers par rapport aux racines ( $-0,37 \pm 0,47 \text{ ‰ } 2SE$ ,  $n=11$ ) et appauvrie par rapport aux tiges et feuilles (Figure 46 et Tableau 7). Aucune tendance claire n'a pu être mise en évidence entre la catégorie d'USO et la composition isotopique.

### c. Le cas des fruits

La bibliographie est riche en données sur les plantes mais elle l'est beaucoup moins pour certains organes comme les fruits.

Le fruit est un aliment essentiel dans le régime alimentaire de nombreux grands singes (McGrew *et al.*, 1988; Wich *et al.*, 2006). Il doit donc être pris en considération pour l'étude de l'évolution des pratiques alimentaires au cours de l'évolution humaine. De plus, certains fruits présentent un grand potentiel de conservation (dans le temps) pour peu qu'ils soient stockés dans des conditions favorables (fruits à coque ou fruits secs). Nous avons déjà pu rappeler que certains d'entre eux ont pu être consommés par les populations néandertaliennes, notamment au Proche Orient (Partie I. Chapitre 2. B.e. Les données archéobotaniques).

Comme les USO, il existe une très grande variété de fruits différents que l'on peut regrouper en deux catégories, pour lesquelles nous possédons au moins un spécimen :

- les fruits secs (trois échantillons) : fruits dont le péricarpe est sec ;
- les fruits charnus (quatre échantillons) : fruit dont le mésocarpe a la consistance d'une pulpe.

On constate que les fruits possèdent des compositions isotopiques très différentes des feuilles de leur plante. Cela témoignant d'un enrichissement en isotopes légers du calcium dans le fruit. Les fruits se situent à des valeurs de compositions isotopiques inférieures à l'ensemble des autres organes de leur plante (Figure 47).

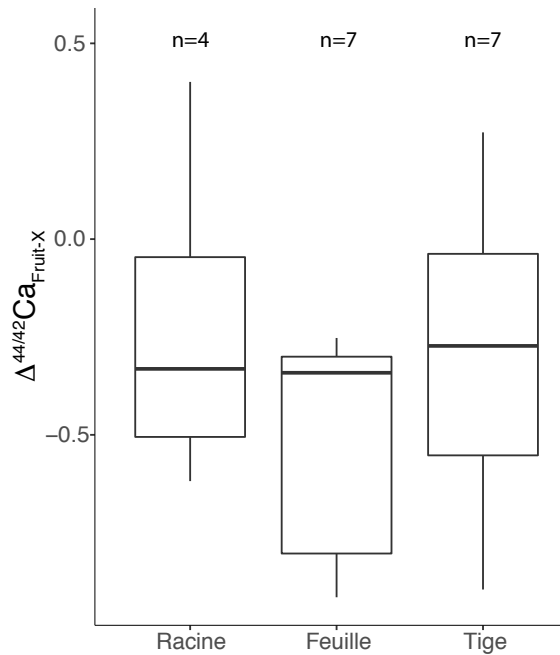


Figure 47 : Distribution de la composition isotopique en calcium  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  chez les plantes, représenté par la différence  $\Delta_{\text{Fruit-X}}$  de chaque organe pour chaque individu, la figure représente la différence de composition isotopique entre les différents organes et le fruit associé, une valeur positive signifie une composition isotopique supérieure du fruit considéré et une valeur négative une composition isotopique inférieure. Distribution of calcium isotopic composition  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  in plants, represented by the  $\Delta_{\text{Fruit-X}}$  of each organ for each individual, the figure represents the difference in isotopic composition between the different organs and associated fruit, a positive value mean an higher isotopic composition than the fruit, a negative value mean a lower isotopic composition.

### d. Analyse multivariée, répartition chimique au sein des végétaux

Au-delà du calcium, les végétaux sont une source nutritive importante. Ils fournissent notamment de nombreux éléments essentiels à l'organisme. Notre thèse a permis l'analyse d'un grand nombre d'éléments ainsi que leurs répartitions au sein des végétaux. L'étude de la répartition des métaux au sein du règne végétal est devenue une préoccupation majeure, notamment pour évaluer les risques écotoxicologiques associés aux problématiques de pollutions des sols. Ainsi le déplacement de certains éléments chimiques est aujourd'hui correctement caractérisé au sein d'espèces d'intérêts (Planquart *et al.*, 1999; Singh et Agrawal, 2010).

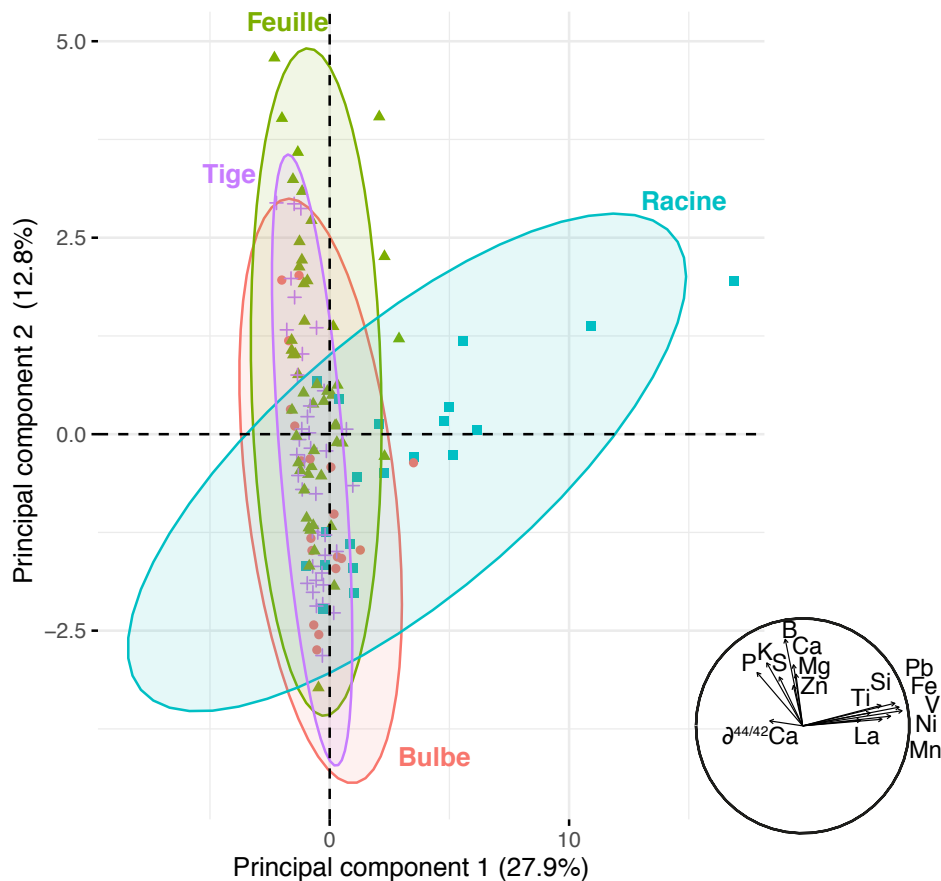


Figure 48 : **Analyse en composantes principales** (ACP) représentant les concentrations de divers éléments chimiques mesurés dans les différents organes végétaux, en rouge les bulbes, en verts les feuilles, en violet les tiges et en bleu les racines, Les 10 éléments contribuant le plus et la composition isotopique du calcium sont indiqués en bas à droite. **Principal component analysis** (PCA) representing the concentrations of various chemical elements measured in the different plant organs, in red the bulbs, in green the leaves, in purple the stems and in blue the roots, the 10 most contributing elements and the isotopic composition of calcium are indicated on the bottom right.

L'analyse en composantes principales (Figure 48) des données de concentrations met en évidence deux tendances globales liées aux familles chimiques des éléments : (1) les métaux de transition et les métaux pauvres ont tendance à se répartir de manière similaire tandis que (2) les non-métaux, les alcalins et les alcalino-terreux montrent une tendance commune (Figure 48). Ainsi les métaux pauvres et les métaux de transition s'accumulent préférentiellement au sein des racines tandis que les non-métaux, les alcalins et les alcalino-terreux vont eux se répartir au sein des organes aériens avec une augmentation de leurs concentrations tandis que l'on augmente au sein de la plante (les feuilles étant les organes les plus enrichies). Aucune corrélation forte n'a pu être mise en évidence entre les bulbes et les métaux de transition ou les métaux pauvres. Le comportement des bulbes semble plus s'accorder avec celui des tiges qu'avec celui des racines.

Les observations faites à propos des isotopes du calcium sur les différents organes ne semblent pas pouvoir être mis en lien avec l'évolution de la concentration en calcium, on suppose donc les



deux mécanismes indépendants.

La covariation ainsi que les concentrations plus élevées de certains éléments en fonction des organes sont autant de proxys envisageables pour la recherche anthropologique, la consommation de certains organes végétaux fortement enrichis pouvant avoir un impact significatif sur la répartition chimique dans les tissus minéralisés. Le lithium a notamment été proposé comme potentiel marqueur de variabilité alimentaire saisonnière chez *Australopithecus africanus* (Joannes-Boyou *et al.*, 2019) et nous avons d'ailleurs pu constater sa forte concentration dans les éléments souterrains de divers végétaux, ce qui soutient l'utilisation du lithium comme marqueur alimentaire chez les humains.

### e. Conclusion sur les végétaux

L'analyse des végétaux réalisée aux cours de notre thèse a permis d'enrichir nos connaissances sur les mécanismes de fractionnement des isotopes du calcium ayant lieu au sein des végétaux. Deux organes d'intérêt pour l'étude de l'alimentation humaine ont pu être analysés : le bulbe et le fruit.

Tableau 7 : Différence moyenne entre les différents compartiments végétaux présentés dans la Figure 44. Average difference between the different plant compartments shown in Figure 45.

	Terre	Feuille	Tige	Racine	Bulbe
Feuille	0,05±0,47 ‰, n=71	-	-	-	-
Tige	0,55±0,47‰, n=57	0,29±0,29‰, n= 72	-	-	-
Racine	0,37±0,55‰, n=40	0,44±0,53‰, n=46	0,09±0,38‰, n=36	-	-
Bulbe	-0,16±0,47‰, n=9	0,44 ± 0,4 ‰, n = 14	0,39±0,28‰, n=9	-0,37±0,47‰, n=11	-
Fruit	0,12±0,7‰, n=3	0,53±0,29‰, n=7	0,30±0,4‰, n=7	0,21±0,45‰, n=5	-0,67‰, n=1

Les bulbes respectent la règle générale déjà établie qui veut que la composition isotopique augmente lorsque l'on monte au sein de la plante. Dans ce contexte les bulbes viennent s'intercaler entre les racines (élément enrichi en isotopes légers) et la tige (élément enrichi en isotopes lourds). On constate que l'amplitude du fractionnement entre les racines et les feuilles est augmenté lorsque l'on est en présence d'une plante possédant un organe de stockage souterrain. Les fruits quant à eux

ne respectent pas cette règle et présentent des compositions isotopiques systématiquement enrichies en isotopes légers du calcium par rapport aux feuilles associées.

Pour l'ensemble des spécimens pour lesquels les combinaisons de plusieurs organes étaient disponibles, nous avons estimé la différence moyenne entre ces derniers.

#### f. Le calcium de l'eau de boisson et son influence sur la végétation

Les données de compositions isotopiques du calcium des eaux de boisson ont déjà fait l'objet de nombreuses études (e. g. Tipper et al. 2010 ; Griffith *et al.*, 2020). L'eau de petits cours d'eau est décrite par la littérature comme possédant une composition isotopique proche de 0‰ avec une variabilité globale de 0,7‰ (allant de -0,39 à 0,31‰, compilation de Griffith *et al.*, 2020). Cette dernière est affectée de manière locale par de nombreux paramètres tels que le changement du niveau ou du débit du cours d'eau, ainsi que la végétation locale ou le mélange des sources alimentant le cours d'eau. Cette variabilité se réduit de plus de moitié pour se rapprocher de 0‰ lorsque le débit du cours d'eau augmente (allant de -0,19 à 0,09‰, pour l'embouchure des grandes rivières, compilation de Griffith *et al.*, 2020). Les eaux souterraines représentent une source non négligeable de l'hydrosphère globale. Si en moyenne leur composition isotopique est proche de celle des grandes rivières, leur variabilité est beaucoup plus importante (allant de -0,43 à 0,5‰, compilation de Griffith *et al.*, 2020). Enfin, les dépôts atmosphériques (eau de pluie, neige, précipitations) sont une source variable de calcium, leur variabilité globale va de -0,39 à 0,14‰ (compilation de Griffith *et al.*, 2020).

L'analyse comparative présentée en Figure 49 a cherché à savoir s'il existe un lien entre la composition isotopique du calcium de la végétation et celle des cours d'eau actuels.

À grande échelle, on constate qu'il n'existe aucun lien entre la composition isotopique de l'eau de boisson et celle des plantes associées. La végétation nord-américaine possède une grande variabilité et des valeurs de compositions isotopiques des végétaux globalement inférieures à celles de l'Europe sans qu'il soit possible de faire de telles observations sur les compositions isotopiques des grandes rivières d'Amérique du Nord. De la même façon, la végétation sud-africaine présente des valeurs de compositions isotopiques du calcium globalement plus élevées que celles d'Europe sans qu'il soit possible d'obtenir les mêmes observations sur les compositions isotopiques des grandes rivières de ces deux régions.

## Le calcium d'origine végétale

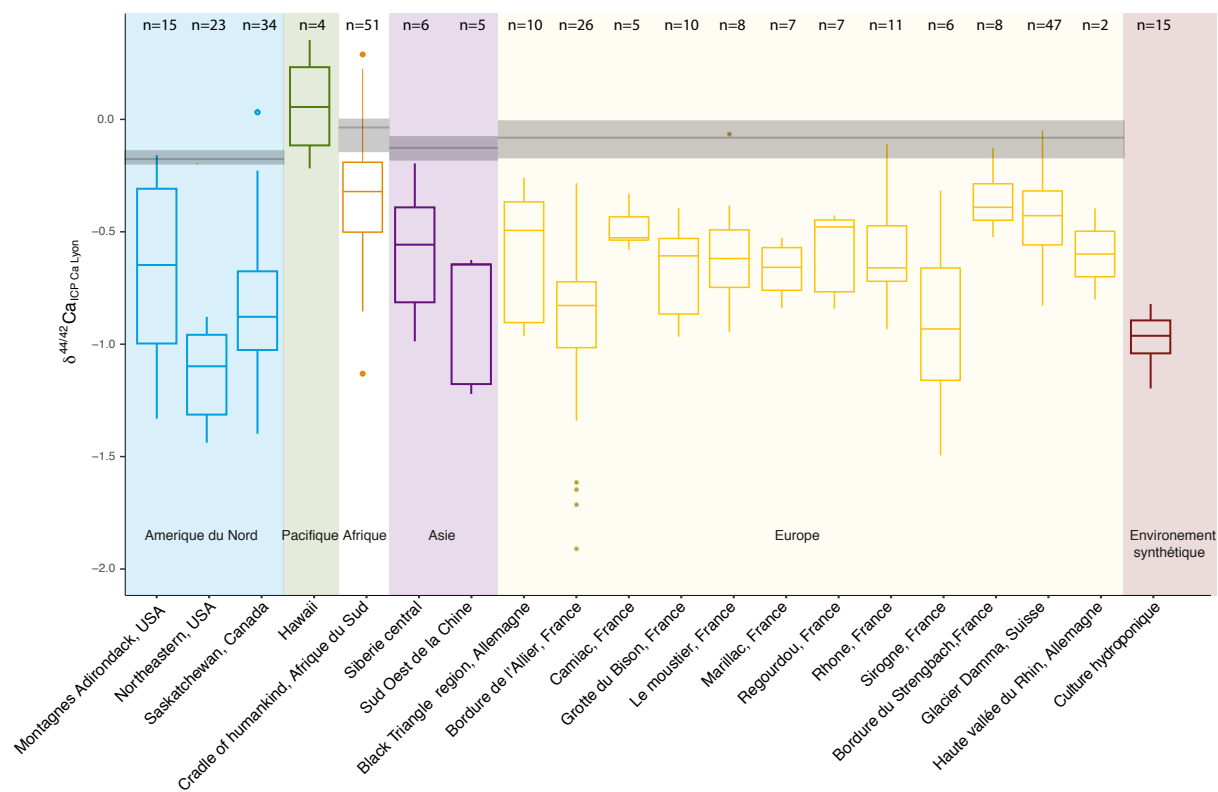


Figure 49 : Distribution de la composition isotopique en Ca de l'eau des principales rivières (d'après Tipper et al., 2010, zone grisée) et de la végétation en fonction de la localisation. Map of Ca isotopic composition of main river water (from Tipper et al., 2010, shaded area) and vegetation according to location

## Chapitre 2 : Répartition des différentes sources de calcium de l'environnement : Bilan

### A. Conclusion générale

L'analyse des différentes sources de calcium dans l'environnement est essentiellement représentée par l'eau, les roches, la végétation et la répartition du calcium au sein des individus (végétaux ou animaux). Cette diversité des sources primaires de calcium peut expliquer à elle seule les grandes variabilités intraspécifiques ou interspécifiques observées. La relation entre niveau trophique et composition isotopique doit donc s'accommoder de facteurs de variations externe qui ne doivent pas être sous-estimés, on peut toutefois hiérarchiser l'impact de ces facteurs.

- (1) La concentration en calcium de l'os est très importante. La consommation d'une faible quantité de calcium est suffisante pour masquer les autres apports (Heuser *et al.*, 2011). La consommation d'os peut donc conduire à une surestimation de la quantité d'os (proie animale) ingérée, par rapport à d'autres sources moins riches. L'ingestion d'os de manière accidentelle ou volontaire lors de la consommation d'une proie est un élément essentiel à l'utilisation des isotopes du calcium comme traceur de niveau trophique.
- (2) À l'échelle globale la variabilité inter-organe des végétaux est plus importante que la variabilité inter-spécifique (Figure 44), l'impact de la composition isotopique des producteurs primaires (végétaux) sur les consommateurs primaires (herbivores) selon leurs écologies et leurs comportements alimentaires doit donc être pris en considération.
- (3) Si l'on considère l'ensemble du spectre des producteurs primaire (végétaux) et les muscles (viande) des consommateurs primaires (herbivores) leurs concentrations et les compositions isotopiques en calcium peuvent être confondues dans une certaine mesure. Il sera donc difficile de faire la distinction dans la consommation de l'un ou l'autre de ces éléments.
- (4) Bien que son origine ne soit pas encore totalement contrainte, il existe un impact de la localité sur les producteurs primaires qui s'étend à l'ensemble du réseau trophique et qui doit être pris en compte dans la comparaison de localités différentes. Cela peut être liée à variabilité de la végétation ainsi qu'aux différences environnementales. Les comparaisons sur des grandes échelles de temps doivent donc être utilisées avec précaution même à une échelle locale.
- (5) L'eau de boisson varie très peu au sein d'un même milieu. Elle ne représente pas une source de variabilité majeure. La composition isotopique de l'eau comme des roches est proche de

zéro (Griffith *et al.*, 2020). En cas de contamination diagenétique, une substitution du calcium par du calcium exogène conduirait à rapprocher la composition isotopique de l'élément contaminé de zéro (dans le cas de composition isotopique exprimée par rapport à l'ICP Ca Lyon)

- (6) La moelle osseuse (moelle jaune) possède une concentration en calcium très faible. Sa participation à la composition isotopique d'un consommateur secondaire (carnivore) est donc négligeable bien que sa composition isotopique soit faible par rapport à l'os associé.

### B. Application à un écosystème fossile sud-africain

La fraction végétale de l'alimentation des hominines sud-africains est un élément récurrent des hypothèses sur les régimes alimentaires ou les stratégies de subsistance de ces membre de la lignée humaine. Lombard et Van Aardt en 2022 ont réalisé un inventaire des plantes consommables par l'Homme qui poussent actuellement dans la zone du Cradle of Humankind. Ils ont montré qu'un grand nombre de ces espèces pourrait avoir été disponible tout au long du Quaternaire et donc représenter une source alimentaire non-négligeable pour les hominines de l'époque. Cette étude est parue après la collecte des échantillons utilisés dans le cadre de cette thèse, elle n'a donc pas pu être prise en compte lors de la sélection des échantillons. Cependant, un certain nombre de plantes sont communes (à minima au niveau de la famille).

L'étude des différents organes de ces plantes a été présentée précédemment (Partie II. Chapitre 1. B. Le calcium d'origine végétale). En se basant sur le principe d'actualisme et sur la similitude de l'environnement, on a pu proposer l'hypothèse que les végétaux analysés pouvaient se replacer dans un écosystème passé sans application de correction. Pour cela, nous avons utilisé les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  et Sr/Ba mesurées par Tacail *et al.* (2019) pour retracer un écosystème sud-africain complet auquel nous avons ajouté les données de compositions isotopiques des végétaux sud-africains obtenues précédemment (Figure 50). Du fait de l'absence de méthodologie permettant d'étudier la fraction végétale de l'alimentation des hominines sud-africains celle-ci a probablement été sous-estimée.

Si on a pu voir qu'il n'y avait pas de lien entre la composition isotopique en calcium et les isotopes du carbone, un lien semble pouvoir être établi avec le rapport Sr/Ba. On constate que la seule plante non C3 de l'échantillonnage, l'*Aloé vera*, possède un rapport Sr/Ba qui se distingue nettement des autres végétaux. L'augmentation du rapport Sr/Ba observée chez de nombreux hominines de cette étude ne peut être mise en lien avec la seule quantité de viande de l'alimentation,

un lien avec des plantes de type CAM peut être considéré au vu des résultats préliminaires que nous avons obtenus (Partie III. Chapitre 1. B. b. Les espèces végétales à organes de stockage souterrains).

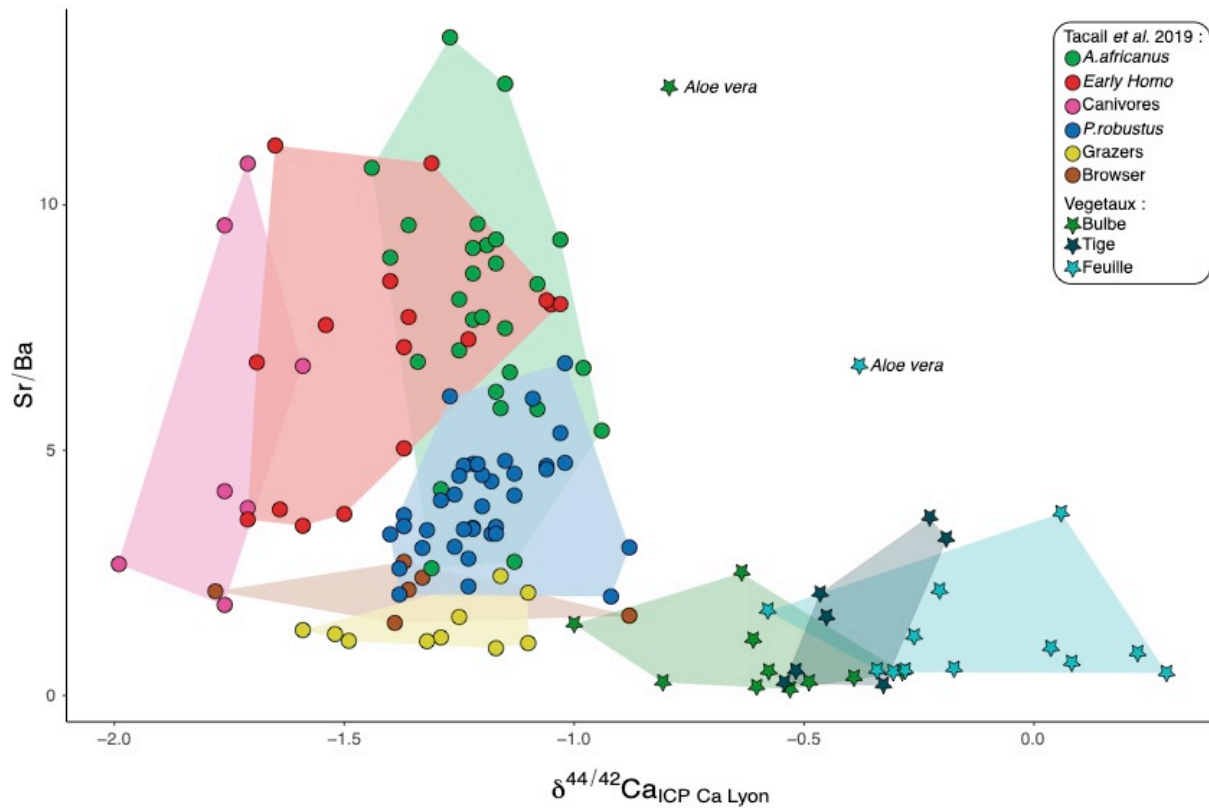


Figure 50 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  en fonction du rapport Sr/Ba pour les données des hominines d'Afrique du Sud et de la faune associée d'après Tacail et al. (2019). Les données obtenues au cours de cette thèse sur les végétaux actuels sud-africains ont été ajoutées. Values of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  as a function of Sr/Ba ratio for data from early South African hominins and associated fauna from Tacail et al. (2019). Data obtained during our thesis on present-day South African plants have been added.

Dans leurs analyses de plusieurs écosystèmes africains actuels et fossiles, Martin *et al.* (2018) ont émis l'hypothèse qu'il serait possible de faire une distinction entre *grazer* et *browser* sur la base des isotopes du calcium. Cette hypothèse est en accord avec les résultats préliminaires obtenus sur la composition isotopique du calcium des végétaux. En effet, les feuilles possèdent une composition isotopique plus haute en moyenne que celle des tiges. Les *browsers* consommant préférentiellement les feuilles et les *grazers* ne faisant qu'une faible distinction entre les deux (Chapman et Reiss, 1999), on peut supposer que cette différence de composition isotopique se retrouve dans le réseau trophique en fonction du type d'herbivores à sa base, *browsers* ou *grazers*. Cette hypothèse ne semble pas être vérifiée dans le cadre de notre étude. En effet, si l'on constate bien une différence de composition isotopique entre les tiges et les feuilles chez les espèces sélectionnées, une telle différence de composition isotopique n'est pas visible entre les *grazers* et les *browsers*.

On remarque donc que la végétation se situe à des valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  haute (proche de zéro) et

des valeurs de Sr/Ba basses (elle aussi proche de zéro). Lorsque l'on augmente dans le réseau trophique la composition isotopique en calcium diminue tandis que le rapport Sr/Ba augmente. On retrouve ainsi, d'abord les herbivores puis les Australopithèques et les Paranthropes, enfin les early Homo qui sont les plus proches des carnivores. En haut de la chaîne, avec des valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  basses et des valeurs de Sr/Ca hautes on retrouve les carnivores. L'augmentation du rapport Sr/Ba chez les hominés est non concomitante d'une diminution de la composition isotopique en calcium, ce qui nous pousse à émettre l'hypothèse que cette augmentation n'est pas uniquement due à l'augmentation dans l'échelle trophique, un impact des végétaux (notamment CAM) n'est pas à exclure.

Ainsi, grâce à l'analyse conjointe des compositions isotopiques et élémentaires des restes fossiles et des végétaux modernes, on a pu reconstruire une partie du milieu de vie des hominines d'Afrique du sud.

---

## Partie IV

# Reconstitution des stratégies de subsistance des populations néandertaliennes de France, entre le MIS 7 et le MIS 3

---

## Sommaire

Chapitre 1 : Étude comparative des différents sites étudiés.....	114
<b>A. Comparaisons inter-sites .....</b>	<b>114</b>
<b>B. Pertinence du principe d’actualisme pour l’utilisation des végétaux.....</b>	<b>118</b>
<b>C. Facteurs de variabilité chez les herbivores .....</b>	<b>119</b>
<b>D. Remarques sur les principaux groupes analysés .....</b>	<b>123</b>
a. Les ursidés .....	124
b. Les équidés .....	126
a. Rhinocéros et mammoth.....	127
b. Les cervidés.....	129
c. Les bovidés .....	129
d. Les carnivores .....	130
<b>E. Conclusion sur les principaux groupes analysés.....</b>	<b>131</b>
Chapitre 2 : La place de Néandertal dans son écosystème .....	133
<b>A. Le Moustier.....</b>	<b>133</b>
<b>B. Regourdou 1 .....</b>	<b>136</b>
a. Introduction.....	136
b. Article “ <i>Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil</i> ” .....	136
<b>C. Regourdou et la Grotte du Bison.....</b>	<b>149</b>
a. Introduction.....	149
b. Article “ <i>Diverse bone calcium isotope compositions in Neandertals suggest different dietary customs</i> ” .....	149
c. Diversité inter-individuelle à Regourdou.....	172
<b>D. Les Pradelles .....</b>	<b>174</b>
a. Individus LP09 D6 2a-4 415, LP06 D12 2a 1434 et LP10 D13 2a 232.....	175
b. Individu M67 c10 G12 3.....	176
c. Individu LP06 C6 5-4b 273 .....	176
d. Estimation de l’alimentation des néandertaliens des Pradelles .....	177
<b>E. Tourville-la-Rivière.....</b>	<b>179</b>
Chapitre 3 : Conclusion sur l’évolution des stratégies alimentaires des néandertaliens au cours du Paléolithique moyen .....	182



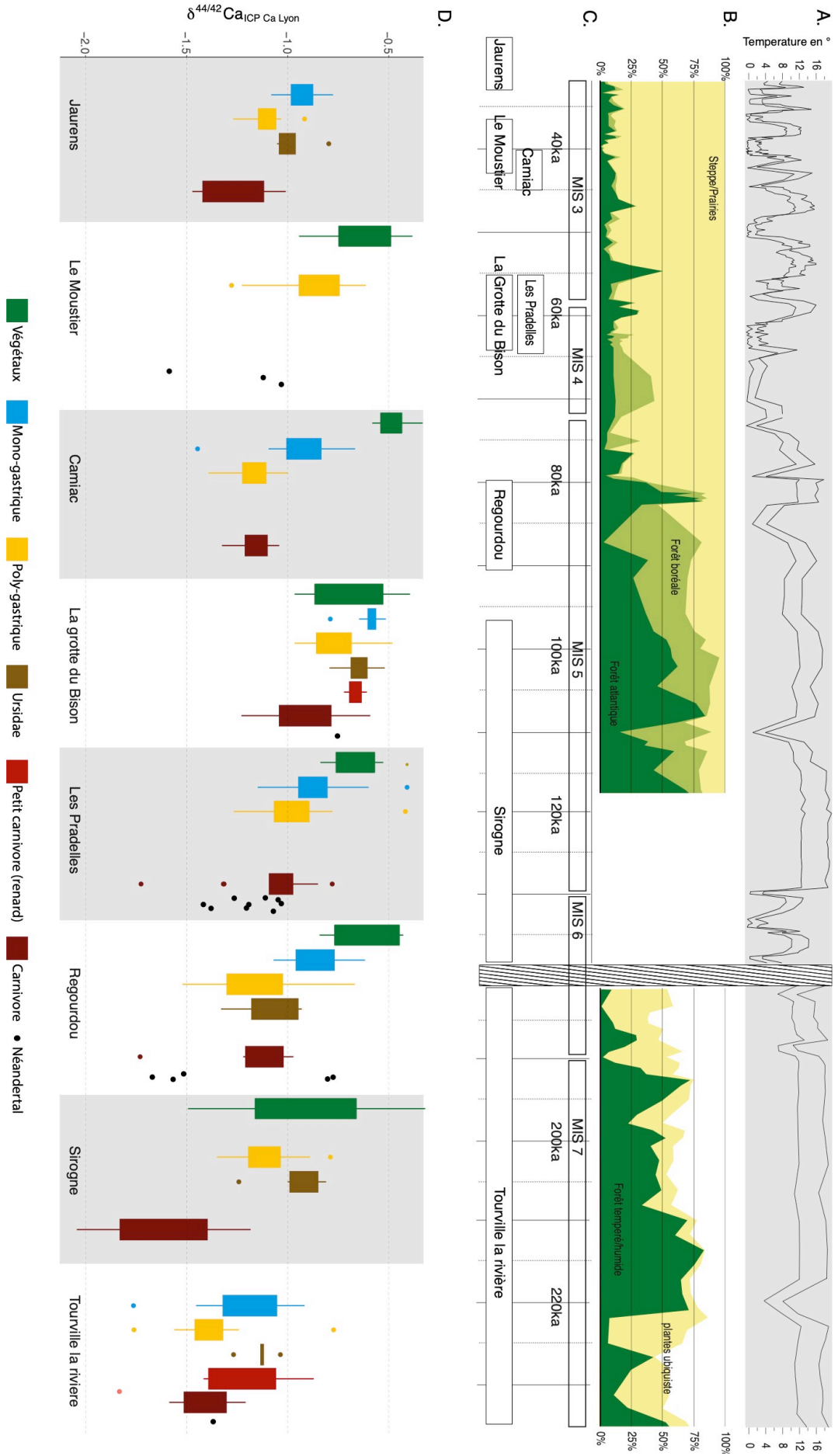
## Chapitre 1 : Étude comparative des différents sites étudiés.

### A. Comparaisons inter-sites

L'ensemble des sites archéologiques étudiés au cours de cette thèse sont présentés avec la Figure 51 en étant replacés dans leur contexte climatique et écologique. Il existe une variation systématique de la valeur isotopique du calcium sur l'ensemble des sites. Les espèces monogastriques ont les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  les plus élevées (*Coelodonta antiquitatis*, *Sus scrofa*, *Equus caballus*), les espèces digastriques ont des valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  intermédiaires (bovidés et cervidés) dont la variabilité chevauche parfois sur celle des carnivores. Ces derniers ont les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  les plus basses (Figure 51). Les ursidés montrent des compositions isotopiques du calcium souvent proches de celles des herbivores monogastriques (à Jaurens, la Grotte du Bison, Sirogne et Tourville-la-Rivière). Seuls les ours de Regourdou ont une composition isotopique variable plus proche de la variabilité des herbivores digastriques et des carnivores. L'étude des différences existantes entre les taxons d'ursidés a été réalisée et est présentée dans une partie spécifique (voir Partie IV. Chapitre 1. D. a. Les ours). Enfin, les petits carnivores (groupes réunissant ici uniquement le renard et le chat sauvage) montrent des valeurs de composition isotopique plus élevées que les autres carnivores. Leur cas sera aussi étudié dans une partie spécifique (voir Partie IV. Chapitre 1. D. d. Les carnivores).

Cette variation systématique des isotopes du calcium observée dans l'assemblage faunique est similaire à celle rapportée par les précédentes études des isotopes du calcium en milieu continental (Martin *et al.*, 2017; Martin *et al.*, 2018; Tacaïl *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2022).

*Figure 51 : Correspondance entre les compositions isotopiques du Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) et les enregistrements paléo-climatiques et paléo-environnementaux de la carotte MD04-2845 (golfe de Gascogne) pour la période 35ka-140ka (Goñi *et al.*, 2008; Discamps, 2011b) et de la carotte MD01-2447 (péninsule ibérique) pour la période 180ka-235ka (Desprat *et al.*, 2006). A, la température des eaux de surface en été et en hiver (en °C); B, la proportions des pollens selon le type de biotope (exprimée en %); C, la chronologie absolue avec les différents sites étudiés au cours de cette thèse; D, la composition isotopique en Ca des différentes espèces étudiées regroupées selon leur appartenance aux groupes des monogastriques (en bleu), des digastriques (en jaune), des carnivores (deux groupes selon qu'il s'agisse de petits carnivores ou de grands carnivores) et les néandertaliens (en noir). Correspondence between Ca isotopic compositions ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) and palaeo-climatic and palaeo-environmental records of core MD04-2845 (Gascogne Bay) for the period 35ka-140ka (Goñi *et al.*, 2008; Discamps, 2011) and core MD01-2447 (Iberian Peninsula) for the period 180ka-235ka (Desprat *et al.*, 2006). A, surface water temperature in summer and winter (in °C); B, pollen proportions according to biotope type (expressed in %); C, absolute chronology with the different sites studied during this thesis; D, Ca isotopic compositions of the different species studied, grouped according to whether they belong to the monogastric (blue), digastric (yellow), carnivorous (two groups depending on whether they are small or large carnivores) and Neandertal groups (black).*



Si ce schéma est cohérent et répétable sur l'ensemble des sites, la composition isotopique globale des différents sites montre des différences significatives (test de Kruskal et wallis,  $p= 2.2e^{-16}$ , Figure 52). On peut regrouper les différents sites selon au moins trois groupes distincts :

- Le premier groupe est composé des sites de Jaurens, Camiac, les Pradelles, Regourdou et Sirogne. Ils possèdent des valeurs d'individus monogastriques légèrement supérieures à -1 ‰ en moyenne et des valeurs d'individus digastriques légèrement inférieures à -1 ‰ en moyenne ;
- Le second groupe se compose du site du Moustier et de celui de la grotte du Bison, pour lesquels les herbivores digastriques possèdent des compositions isotopiques supérieures à -1 ‰ en moyenne (du fait de l'absence d'individus monogastriques la différence montrée par le test de wilcoxon est considérée comme non-valide) ;
- Enfin le site de Tourville-la-rivière constitue un dernier ensemble avec des valeurs de compositions isotopiques des herbivores monogastriques inférieures à -1 ‰ en moyenne.

Il était jusqu'alors admis que la composition en isotopes du calcium au sein d'un réseau trophique n'était pas influencée par son origine géographique (Heuser *et al.*, 2016b; Hu *et al.*, 2022). On peut constater ici que ce n'est pas le cas. Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer ce résultat et un certain nombre d'entre elles peuvent être écartées, au moins en partie :

- L'impact de la géologie locale, en tant que premier contributeur au réservoir végétal. On peut supposer que la composition isotopique du sol a un impact direct sur celle des écosystèmes présents. Cette hypothèse peut être soutenue par la variabilité observée dans les roches sédimentaires. Elles présentent une variabilité de 1,3‰, la plus importante parmi les roches (de 0.4‰ à -0.9‰, compilation par Tacail, 2017). Cependant, le regroupement de sites le plus important provient d'environnements géologiques variés, tous composés de roches sédimentaires sans impact sur la variabilité (Jaurens et Sirogne : Jurassique ; Camiac : Tertiaire et Les Pradelles et Regourdou : Crétacé). De plus, le site du Moustier devrait se rapprocher de ce groupe de par sa localisation dans le bassin aquitain, dans une zone sédimentaire crétacée. Or ce n'est pas le cas.
- Le climat pourrait avoir un impact fort sur le cycle isotopique du calcium en influant sur les interfaces entre eau roche et végétation (Cenki-Tok *et al.*, 2009; Hindshaw *et al.*, 2013), bien que la mesure de cet effet ne soit pas encore bien quantifiée. Comme précédemment, cette hypothèse ne semble pas applicable à notre étude. En effet, les sites de Jaurens, Le

Moustier et Camiac proviennent d'une période climatique proche. Mais ils présentent des différences notables. De la même manière, le site des Pradelles et de la Grotte du Bison proviennent de la même période climatique. Pourtant, ils présentent une différence importante. Enfin Regourdou et Tourville-la-Rivière bien que séparés par près de 100 ka correspondent à un environnement climatique assez similaire, mais ils montrent une différence significative.

- Comme nous avons pu le voir dans la partie précédente (Partie III. Chapitre 2. A. Conclusion générale), l'eau des grands fleuves et rivières ne semble pas présenter une variabilité suffisante pour expliquer, à elle seule, la différence existante entre les sites. Une étude, à une échelle plus locale des cours d'eau devrait toutefois être envisagée afin de tester cette hypothèse.
- L'impact du couvert végétal sur la composition isotopique des réseaux trophiques. On a pu voir, lors de la compilation des valeurs de végétaux réalisée précédemment, qu'il existe au sein des végétaux une grande variabilité et ce même au sein de taxons identiques. Cette variabilité semble être indépendante de la variabilité des cours d'eau principaux des régions concernées et pourrait expliquer, en grande partie, la différence entre les sites.

Au regard de ces quatre hypothèses, il semble qu'un facteur unique ne puisse pas être à l'origine de la différence qui existe entre les sites. C'est plutôt une multitude de facteurs dont l'impact varie en fonction des conditions qui sont en cause. Il conviendra donc de ne pas comparer, de manière directe, les différents sites entre eux, mais plutôt de comparer l'ordre relatif des différents taxons entre eux. On constate que, dès la première étape du réseau trophique (les végétaux), une grande diversité existe déjà tant d'un point de vue inter- que intra-individuelle. On peut donc émettre l'hypothèse que ce n'est pas un facteur géologique ou environnemental qui est la cause principale de la différence observée entre les sites, mais un processus lié aux fractionnements isotopiques interne des différentes espèces végétales.

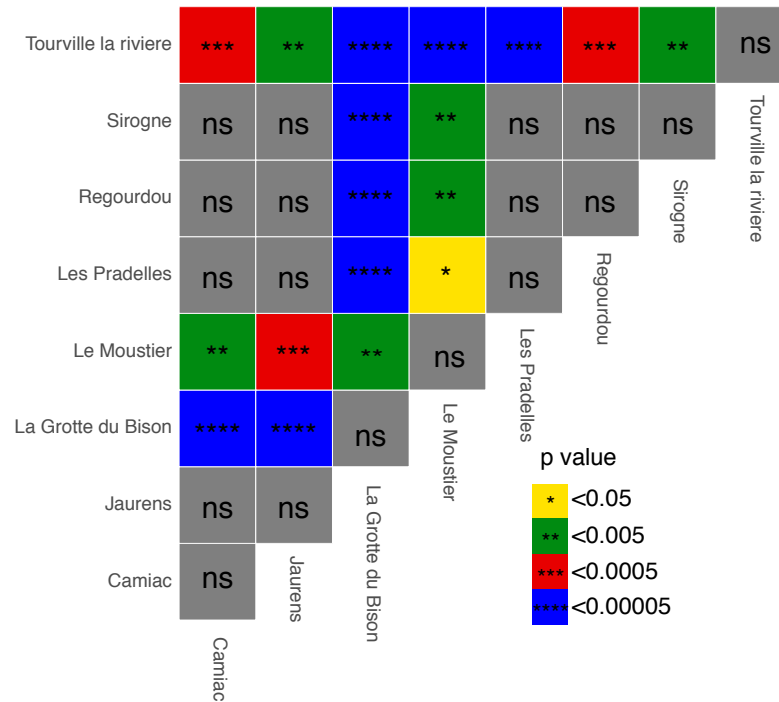


Figure 52 : Heatmap de la p value du test de Wilcoxon avec ajustement de Bonferonni et Holm entre les compositions isotopique du Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) des différents sites. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,005$  ; \*\*\* $p < 0,0005$  et \*\*\*\* $p < 0.00005$ . Heatmap of the p-value of the Wilcoxon test with Bonferonni and Holm adjustment between the isotopic compositions in Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) of the different sites. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,005$  ; \*\*\* $p < 0,0005$  and \*\*\*\* $p < 0.00005$ .

## B. Pertinence du principe d'actualisme pour l'utilisation des végétaux

L'actualisme peut être défini comme la méthodologie consistant à déduire la nature d'événements passés par analogie avec des processus observables et en action dans le présent. Son utilisation première est rattachée à la géologie (pour une synthèse récente, Romano, 2015) mais il est aujourd'hui grandement utilisé pour la reconstruction paléo-écologique .

Nous avons choisi d'analyser des végétaux provenant de l'environnement actuel direct des différents sites étudiés au cours de cette thèse, seuls six d'entre eux ont pu être échantillonnés (Figure 51). En considérant que la géologie locale était le facteur de variabilité principale entre les différents sites, il aurait été possible d'utiliser des végétaux actuels comme des indicateurs de la composition isotopique des végétaux d'époque. Cependant on peut constater que cette utilisation est inadaptée car on observe une très grande stabilité des compositions isotopiques végétales entre les différents sites tandis qu'on observe des différences de positionnement des chaînes trophiques (Figure 51). Ainsi les végétaux se placent à des valeurs trop basses ou trop hautes pour être considérés dans l'alimentation des herbivores analysés.

Les végétaux du Moustier, de la grotte du Bison, des Pradelles et de Regourdou ont des compositions isotopiques proches alors qu'ils appartiennent à deux des groupes précédemment

distingués pour ce qui est de la faune fossile (Partie IV. Chapitre 1. A. Comparaison inter-sites), tandis que Camiac se distingue par une composition de sa végétation globalement plus élevée et Sirogne une composition globalement plus basse qui ne correspond pas aux conclusions faites sur la base des données d'écosystèmes fossiles.

La mauvaise intégration des végétaux actuels dans les écosystèmes fossiles nous conduit à conclure qu'ils ne sont pas un bon indicateur de la composition isotopique des végétaux des époques paléolithiques en ce qui concerne les écosystèmes européens. On peut expliquer cette disparité de compositions isotopiques par des « types » de végétation et plus particulièrement des espèces totalement différentes lorsque l'on compare les végétations actuelles et les reconstitutions environnementales des différents sites. De plus, l'environnement géologique de surface a été largement modifié par les évolutions climatiques et environnementales qui ont eu lieu entre l'époque de formation du gisement et l'époque actuelle. L'utilisation de la végétation actuelle afin de reconstruire la paléoécologie locale doit donc être utilisée avec précaution. Pour la suite de notre thèse on préférera donc une approche plus globale avec l'utilisation de la moyenne des compositions isotopiques mesurées pour l'ensemble des végétaux européens (d'après la compilation bibliographique réalisée en Partie III. Chapitre 2. et les données de cette thèse).

### C. Facteurs de variabilité chez les herbivores

Plusieurs études portant sur les isotopes du calcium chez les mammifères terrestres ont mis en évidence qu'il existe une différence de composition isotopique significative au sein des différents groupes d'herbivores (Martin *et al.*, 2018, 2020; Tacail *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2022). Les études précédentes ont ainsi mis en évidence un lien entre la composition isotopique en carbone et la composition isotopique en calcium, « *le couplage de  $\delta^{13}C$  et  $\delta^{44/42}Ca$  permet de résumer efficacement la structure des écosystèmes* » (Tacail *et al.*, 2020), l'ajout des données  $\delta^{18}O$  permet elle aussi de fournir de nombreuses informations sur l'écosystème (Hu *et al.*, 2022). En l'absence de mesures de la composition isotopique du carbone et de l'oxygène nous avons choisi de séparer les herbivores selon deux catégories, monogastriques d'un côté et digastriques de l'autre.

Il est en effet possible de mettre en évidence une différence de composition isotopique entre ces deux groupes, les monogastriques étant systématiquement enrichis en isotopes lourds par rapport aux digastriques (Figure 53).

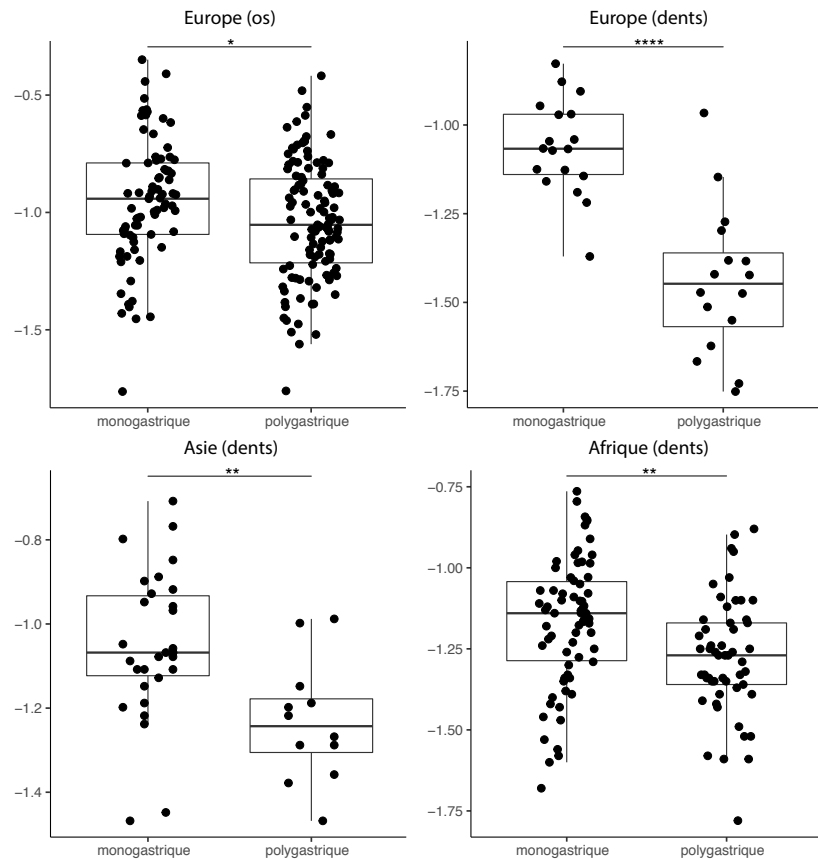


Figure 53 : **Comparaison de la composition isotopique du Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) des herbivores en fonction de leurs systèmes digestifs**, en haut à gauche pour les os provenant de sites européens, en haut à droite pour les dents provenant de sites européens (Nos recherche et les données d'après Martin *et al.* 2017), en bas à gauche pour les dents provenant d'un site asiatique (données dans Hu *et al.* 2022) et en bas à droite pour les dents provenant de sites africains (données dans Martin *et al.* 2018, Tacail *et al.* 2019), les primates humains et non-humains ainsi que les hippopotamidae n'ont pas été pris en considération pour notre étude. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,005$  ; \*\*\* $p < 0,0005$  et \*\*\*\* $p < 0,00005$ . **Comparison of the isotopic composition of Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) from herbivores according to their digestive systems**, top left for bones from European sites, top right for teeth from European sites (our research and data in Martin *et al.* 2017), bottom left for teeth from Asian sites (data in Hu *et al.* 2022) and bottom right for teeth from African sites (data in Martin *et al.* 2018, Tacail *et al.* 2019). human and non-human primates and hippopotamids were not considered in our research. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,005$  ; \*\*\* $p < 0,0005$  and \*\*\*\* $p < 0,00005$ .

La séparation selon les différentes catégories évoquées (mono/digastriques et consommateurs de plantes en C3/C4) semble être pertinente puisqu'elles montrent chacune des différences significatives de compositions isotopiques (Figure 53, Figure 54). Martin *et al.* (2018) ont montré qu'il existe un lien entre le type d'alimentation (grazer/browser) déterminé à partir de la composition isotopique en carbone et la composition isotopique en calcium. Les grazers, consommateurs de plantes en C3 possèdent des compositions isotopiques globalement plus basses que les browsers consommateurs de plantes en C4. Cependant un regroupement selon les mêmes critères semble peu concluant lorsqu'on cherche à transposer ces résultats à nos données (Figure 54). En effet, les chevaux étudiés dans cette thèse possèdent les compositions isotopiques parmi les plus élevées des sites étudiés alors que l'on considère généralement que les chevaux sont des grazers

spécialisés (compilation des exigences écologiques des ongulés dans Discamps, 2011; Rivals *et al.*, 2022).

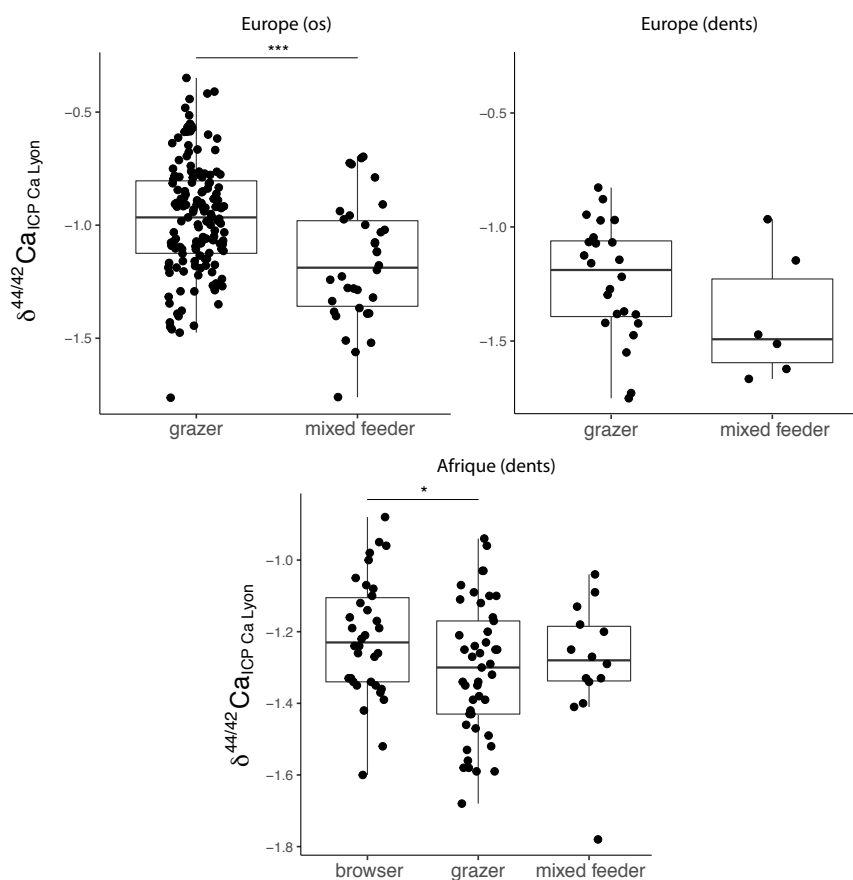


Figure 54 : **Comparaison de la composition isotopique du Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) des herbivores en fonction de leurs écologies**, en haut à gauche pour les os provenant de sites européens, en haut à droite pour les dents provenant de sites européens (nos recherche et les données dans Martin *et al.* 2017) et en bas pour les dents provenant de sites africains (données dans Martin *et al.* 2018, Tacail *et al.* 2019), les primates humains et non-humains ainsi que les hippopotamidae non pas été pris en considérations dans notre étude. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,0005$  et \*\*\*\* $p < 0,00005$ . **Comparison of the isotopic composition of Ca ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) from herbivores according to their ecology**, top left for bone from European sites, top right for teeth from European sites (our research and data in Martin *et al.* 2017) and bottom right for teeth from African sites (data in Martin *et al.* 2018, Tacail *et al.* 2019), human and non-human primates and hippopotamids were not considered in our research. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,005$ ; \*\*\* $p < 0,0005$  and \*\*\*\* $p < 0,00005$ .

Si l'on considère uniquement les données acquises au cours de notre thèse, on peut mettre en avant les résultats suivants (Figure 53, Figure 54). La composition isotopique des grazers est supérieure à celle des mix feeders. L'écologie des espèces est basée sur nos connaissances actuelles. Les cerfs, chevreuils, mégalocéros et les caprinés sont considérés comme des mix feeders (considération basée sur la compilation de Rivals *et al.*, 2022) tandis que les autres espèces sont considérées comme des grazers majoritaires conformément à ce qui est communément admis pour ces espèces (selon la compilation de Rivals *et al.*, 2022). Si l'on cherche à mettre en évidence une différence basée sur le type de système digestif, alors il est possible d'observer des compositions



isotopiques moins importante chez les digastriques que chez les monogastriques.

Si l'on considère uniquement les données obtenues sur l'émail dentaire pour des échantillons africains (données de nos recherches et dans Martin *et al.*, 2018; Tacail *et al.*, 2019), il est difficile de mettre en évidence une différence de composition isotopique entre les groupes, bien que les grazers soient le groupe avec la composition isotopique la plus basse. De plus, l'application du critère de différenciation mono/digastrique conduit à l'observation d'une différence claire entre les deux groupes, les polygastriques présentant des compositions inférieures.

La compilation des données de végétaux réalisée (Partie III. Chapitre 1. B. Le calcium d'origine végétale) n'a pas permis de mettre en évidence une différence claire entre monocotylédone et dicotylédone contrairement à ce qui avait été avancé par Tacail *et al.* (2020) pour expliquer la différence observée entre grazers et browser au Kenya. La compilation des données de végétaux a permis de mettre en avant qu'il existe une différence de composition isotopique entre les différents organes de la plante, les feuilles étant toujours l'organe le plus enrichi en isotopes légers. On peut donc émettre l'hypothèse que c'est l'organe consommé et non le type de plantes qui est à l'origine de la différence observée entre les herbivores.

Les observations décrites ci-dessus et la différence entre les écosystèmes d'Europe et d'Afrique nous amènent à conclure qu'il existe bien un impact fort de l'écologie des herbivores sur leur composition isotopique en calcium. Mais, lors de la finalisation de la rédaction de notre manuscrit de thèse, il est difficile de mettre en cause un facteur biologique lié au type de digestion ou des facteurs écologiques liés aux végétaux consommés. Les espèces digastriques ayant toutes un comportement de type browser (en proportion variable, Hackmann et Spain, 2010) une combinaison de deux facteurs n'est pas à exclure.

Pour conclure, différents phénomènes peuvent induire des variations dans la composition isotopique en calcium des herbivores. Tout d'abord le type de photosynthèse puisque le couplage des données  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  permet de résumer efficacement les écosystèmes (Tacail *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2022). L'impact du type de végétation sur la composition isotopique des herbivores en lien avec le type d'organe consommé est fortement suspecté. Enfin, on ne peut pas exclure un impact du type de digestion sur la composition isotopique de l'herbivore considéré, d'autant plus que même si l'existence d'un fractionnement isotopique lors du passage de l'épithélium intestinal reste à documenter (Tacail, 2017), les différences de digestion entre digastriques et monogastriques pourraient être à l'origine d'un tel fractionnement. Des études avec une alimentation contrôlée au sein des deux classes de système digestif d'herbivores pourraient fournir un début de réponse.

D. Remarques sur les principaux groupes analysés

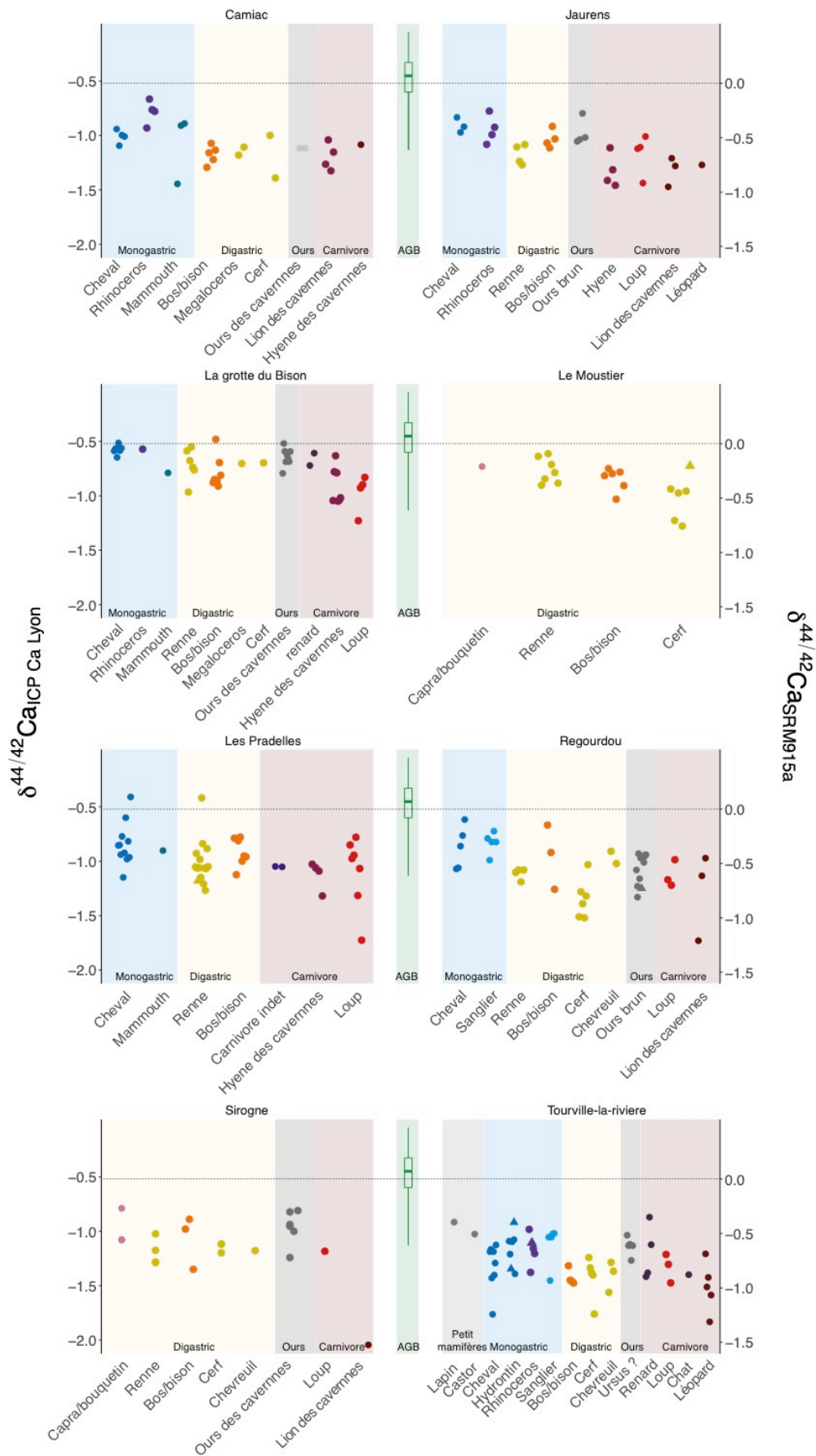


Figure 55 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des restes fossiles provenant de l'ensemble des sites étudiés (% par rapport à ICP Ca Lyon à gauche et par rapport au SRM 915a à droite). Les ronds représentent les données d'os cortical, les triangles les données d'os spongieux. Au milieu, la distribution de la composition isotopique moyenne des plantes européennes actuelles (compilée à partir de Skulan et DePaolo, 1999; Schmitt et al., 2003; Chu et al., 2006; Page et al., 2008; Bagard et al., 2013; Hindshaw et al., 2013; Moore et al., 2013; Christensen et al., 2018). Fossil remains  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (% relative to ICP Ca Lyon and SRM 915b) from all studied sites. Circles represent cortical bone data, triangle represent cortical bone data. In the middle, the distribution of the average isotopic composition of actual European plants (compiled from Skulan and DePaolo, 1999; Schmitt et al., 2003; Chu et al., 2006; Page et al., 2008; Bagard et al., 2013; Hindshaw et al., 2013; Moore et al., 2013; Christensen et al., 2018).

### a. Les ursidés

Nous avons étudié deux espèces d'ours, l'une connue uniquement par ses restes fossiles, l'ours des cavernes (*Ursus spalaeus*), l'autre toujours présente aujourd'hui, l'ours brun (*Ursus arctos*).

Il s'agit de deux espèces proches d'un point de vue phylogénétique (Bon *et al.*, 2008). L'ours des cavernes a occupé une grande partie de l'Europe et son aire de répartition s'est étendue jusqu'aux frontières de l'Altaï de 358 000 à 25 000 BP (datations compilées dans Pacher et Stuart, 2009). L'ours brun est quant à lui toujours présent en Asie, en Europe et en Amérique du Nord, où il possède de nombreuses variétés géographiques.

Bien qu'appartenant à l'ordre des Carnivores, seule l'espèce *Ursus maritimus* (ours blanc) a un régime alimentaire essentiellement carné (e.g. Thiemann *et al.*, 2008). Les autres espèces ont des régimes alimentaires omnivores avec des proportions variables de la fraction végétale au sein d'une même espèce et au cours du temps. C'est notamment le cas de l'ours brun actuel (Pacher et Stuart, 2009).

« Quelle était l'alimentation de l'ours des cavernes ? », cette question alimente encore aujourd'hui de nombreux débats (Robu *et al.* 2017). Selon une majorité de chercheurs, l'alimentation de l'ours des cavernes est composée d'une très forte fraction végétale (e.g. Bocherens *et al.*, 1994, 2006 ; Kurtén, 1976). Ces interprétations sont basées sur des critères morphologiques de l'appareil masticateur et isotopiques (notamment  $\delta^{15}\text{N}$ ). Cependant, les données isotopiques montrent parfois des rapports correspondants à des niveaux trophiques de type omnivore voire carnivore (e.g. Richards *et al.*, 2008 ; Robu *et al.*, 2013; 2017).

Nous avons choisi dans un premier temps de nous intéresser, site par site, à ces différentes espèces (Tableau 8).

L'analyse de la composition isotopique des différentes espèces d'ours nous permet de mettre en avant deux comportements alimentaires différents : un groupe dont tous les individus sont herbivores et un groupe présentant une diversité importante. Le groupe des ours ayant une

alimentation à majorité végétale (ou n'influençant pas la composition isotopique en calcium) est composé des ours des cavernes (la Grotte du Bison et Sirogne) et aussi d'ours bruns (Jaurens et Tourville-la-Rivière). Le groupe dont l'alimentation est variable est composé des ours bruns de Regourdou. Les données de Camiac posent question car les résultats obtenus sur l'os donnent des valeurs basses associées à un régime carnivore tandis que les résultats obtenus sur l'émail dentaire montrent des valeurs plus hautes associées à une alimentation plus herbivore. Cependant les données de Camiac montrent une faible différenciation des données de carnivores et d'herbivores digastriques, il est donc difficile de conclure quant au régime alimentaire des ours de ce site.

Si l'on exclut les individus de Camiac pour lesquels il est difficile de fournir une interprétation claire, alors les interprétations concernant l'alimentation des différentes espèces d'ours apportées par les isotopes du calcium sont proches de celles admises : les ours des cavernes possèdent une alimentation composée d'une fraction importante de végétaux tandis que l'ours brun montre une plasticité de régimes alimentaires plus importante variant d'une forte proportion de végétaux à une forte proportion de matière d'origine animale. Les conclusions concernant les ours bruns semblent très dépendantes du milieu d'origine, ainsi les ours bruns de Jaurens et de Tourville-la-Rivière ne présentaient aucune prédisposition à la consommation de viande, tandis que ceux de Regourdou possédaient une grande variabilité de régimes alimentaires. De plus, le faible effectif analysé sur certains sites ne nous permet pas de nous faire une idée globale de la variabilité des comportements des ursidés. En effet, nous avons vu avec les résultats de Regourdou que, même à l'échelle d'un site, la variabilité peut être très importante. L'analyse d'un grand nombre d'individus est donc essentielle pour saisir la complexité du régime alimentaire des ours. Les résultats obtenus à Camiac ainsi que le faible échantillonnage sur certains sites nous poussent aussi à émettre un certain nombre de réserves quant à l'attribution d'un régime purement herbivore à l'ours des cavernes. Enfin, il convient de rappeler que la signature isotopique en calcium des espèces aquatiques est toujours mal documentée mais qu'elle peut être supposée proche de zéro (Tacail *et al.*, 2020). Dans ce cas, la consommation de poissons, souvent au menu des ours (au moins ceux actuel) aurait pour effet d'augmenter les compositions isotopiques de ces derniers et donc de rapprocher leur signature isotopique de celles des herbivores.

Tableau 8 : Conclusions sur la composition isotopique des différentes espèces d'ours en fonction de leur site d'appartenance. Conclusions on the isotopic composition of bear species according to their site.

Site	Espèce d' ours	Nombre d' individus	Remarques	Tendance alimentaire général
Jaurens	Ours brun	Os n=4	Dans la variabilité des herbivores, chevauche légèrement celle des loups tendance plutôt herbivore.	Herbivore
		Dents n=4		
Camiac	Ours des cavernes	Os n=3	Dans la variabilité des carnivores ; mais réseau trophique basé sur l' os très écrasé	Carnivore
		Dents n=1	Dans la variabilité des herbivores	Herbivore
Grotte du bison	Ours des cavernes	Os n=8	Dans la variabilité des herbivores, très peu de chevauchement avec les carnivores, faible variabilité par rapport aux autres taxons	Herbivore, faible variabilité
Regourdou	Ours brun	Os n=9	Variabilité importante chevauche les herbivores et les carnivores, alimentation très variable pouvant varier rapidement en fonction de la disponibilité, un individu avec une forte mobilité	Variable
Sirogne	Ours des cavernes	Os n=6	Plutôt regroupé mais un individu qui se différencie des autres, les valeurs parmi les plus hautes ne chevauchent pas les carnivores sauf un individu, globalement herbivore mais un individu potentiellement mixte	Herbivore, avec un mixte
Tourville-la-Rivière	Ours sp., potentiellement ours brun	Os n=5	Bien que le réseau de Tourville-la-Rivière soit relativement écrasé les données obtenues sur les ours ne chevauche que faiblement celle des carnivores	Herbivore

### b. Les équidés

La plupart des équidés analysés au cours de cette thèse sont rattachés au groupe de chevaux dits « vrais », *Equus caballus*, sauf pour le site de Tourville-la-Rivière où on note la présence du genre *Equus hydruntinus* en plus d'*E. caballus*. Sur l'ensemble des sites étudiés au cours de cette thèse (Figure 55), les *E. caballus* possèdent les compositions isotopiques parmi les plus élevées, venant renforcer les observations antérieures (e.g. Martin *et al.*, 2017), ce qui témoigne d'une

relative unicité dans les pratiques alimentaires de ce groupe ainsi que d'une constance de celle-ci au cours des saisons et de l'environnement. Du fait de cette constance, les chevaux pourraient être utilisés comme point pivot lors de la comparaison de plusieurs sites entre eux ou afin d'établir une valeur de référence pour la végétation.

Toutefois, un point doit être soulevé dans cette relative constance. À Tourville-la-rivière la composition isotopique de *E. caballus* est enrichie en isotopes lourds par rapport à celle observée pour l'*E. hydrontinus*. Bien que toujours parmi les plus élevées, les valeurs d'*E. caballus* de Tourville-la-rivière chevauchent de manière plus importante les valeurs d'individus digastriques. La différence de compositions isotopiques observée entre les hydrontins et les chevaux de Tourville-la-rivière peut témoigner de l'existence de niches écologiques distinctes entre ces deux taxons. L'hydrontin est décrit dans la littérature comme moins flexible écologiquement (ou plus spécialisé) que les chevaux vrais (Boulbes et van Asperen, 2019). De plus la cohabitions, en sympatrie, de ces deux espèces est courante (Eisenmann et Mashkour, 1999 ; Boulbes et van Asperen, 2019). Ces informations sont en accord avec nos données. Les *E. caballus* occupaient une niche écologique relativement restreinte lorsqu'il n'était pas en « compétition » avec l'hydrontin et sa plus forte plasticité écologique (Boulbes et van Asperen, 2019) lui permettait de laisser la place à l'hydrontin quand celui-ci était présent.

### a. Rhinocéros et mammoth

Ces deux l'espèces sont celles pour lesquelles nous possédons le moins d'individus analysés (Figure 55). Appartenant tous les deux à la classe de la « méga-faune ». Ils sont inféodés à des milieux ouverts. Selon différents critères de morphologies dentaires et/ou géochimiques, leur alimentation est souvent associée au statut de grazers spécialisé (Figure 56, Tiunov et Kirillova, 2010; Pushkina *et al.*, 2014; Stefaniak *et al.*, 2021). Si l'on se base sur nos données, la composition isotopique enrichie en isotopes légers du rhinocéros et du mammoth est en accord avec leur statut d'herbivore monogastrique de type grazer spécialisé (Figure 56, Rivals *et al.*, 2022).

Les données isotopiques des rhinocéros laineux les positionnent régulièrement à proximité des chevaux comme cela a déjà été constaté pour d'autres systèmes isotopiques tels que l'azote (Pushkina *et al.*, 2014), ce qui nous amène à conclure à la proximité des niches écologiques de ces deux espèces.

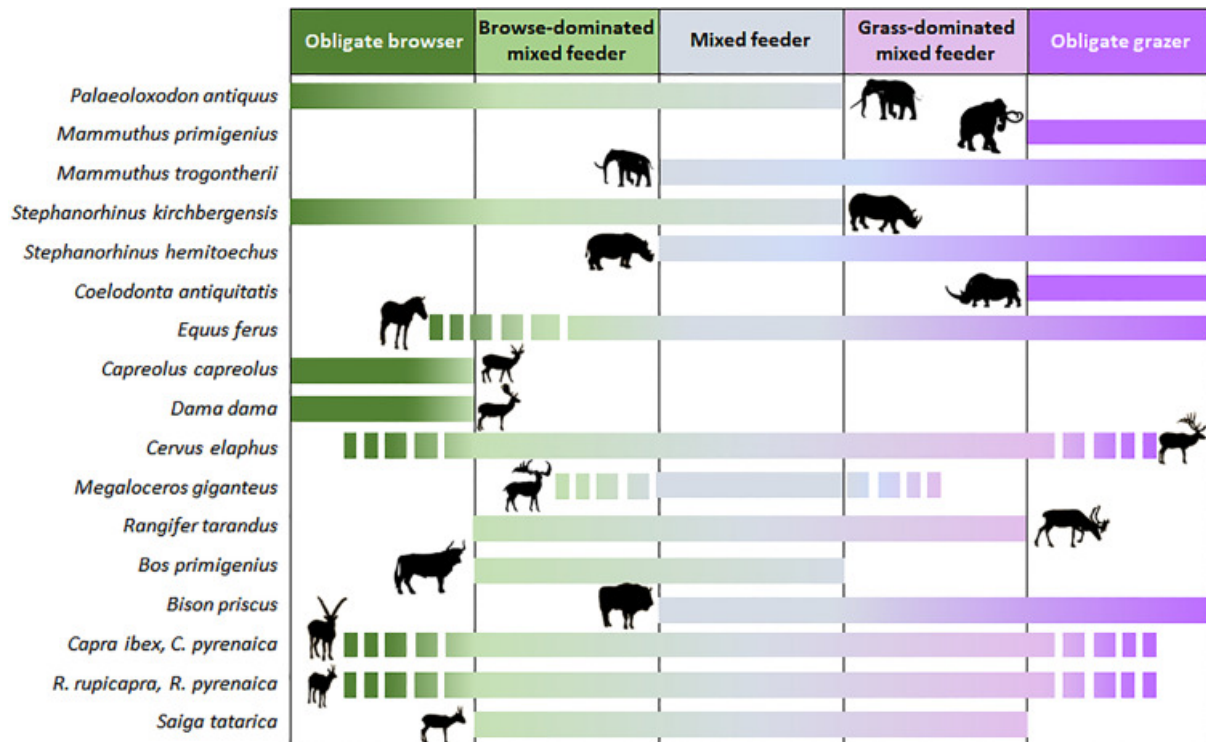


Figure 56 : Résumé synthétique des niches alimentaires des principaux gibiers exploités par les néandertaliens (figure de Rivals et al., 2022) . Synthetic summary of dietary niches of the main games exploited by Neandertals (figure from Rivals et al., 2022).

Le mammouth est l'espèce pour laquelle nous possédons le moins d'individus analysés, les résultats le placent souvent à des valeurs intermédiaires à proximité des chevaux au Pradelles, ou bien à proximité des rennes à la Grotte du Bison. En tant que grazer spécialisé évoluant dans un environnement de steppe, ses valeurs devraient être situées à proximité immédiate de celles des chevaux et des rhinocéros. C'est majoritairement le cas. Mais, on constate malgré tout au moins un individu avec des valeurs extrêmement négatives à Camiac (Figure 56). Une observation similaire déjà été réalisée par Martin *et al.* (2017) pour un échantillon de mammouth ou encore par Schwartz-Narbonne *et al.* (2015) lors d'analyses isotopiques de l'azote. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette particularité sans qu'aucune ne soient vérifiables : (1) consommation de végétaux enrichis en azote 15 et en calcium 44 (Schwartz-Narbonne *et al.*, 2015; Jeremy E. Martin *et al.*, 2017) ; (2) pratique de la coprophagie (Clementz *et al.*, 2009; van Geel *et al.*, 2011) ; (3) pratique de supplémentation minérale telle que l'ostéophagie (A. Hassler *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2022).

## b. Les cervidés

Au regard des compositions isotopiques obtenues au cours de cette thèse (Figure 55), on peut isoler deux groupes chez les cervidés. Le premier groupe est composé des cerfs, chevreuils et mégalocéros. Ce groupe possède systématiquement les valeurs de compositions isotopiques d'herbivores les plus basses. Rappelons que la présence systématique des cerfs parmi les valeurs les plus basses des herbivores est une observation connue lors des analyses isotopiques du calcium (e.g. Martin *et al.*, 2017; Hassler *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2022). Le positionnement proche des carnivores du groupe composé des cerfs pourrait être mis en lien avec plusieurs facteurs déjà évoqués pour les mammouths. Toutefois, la confusion des cerfs avec les carnivores n'est pas commune à d'autres systèmes isotopiques comme c'est le cas pour le mammouth. On peut donc émettre l'hypothèse que les causes de ces compositions isotopiques inhabituellement basse des cerfs sont différentes. La consommation des parties ligneuses est largement documentée pour les cervidés (Hofmann, 1989; Hearnay et Jennings, 2009), du fait de la différence de compositions isotopiques entre tiges et feuilles, la consommation de tiges (écorces) pourrait expliquer les valeurs basses des cervidés. Les pratiques ostéophagiques largement documentés chez certains cervidés (e.g. Kierdorf, 1993; Cáceres *et al.*, 2013) pourraient influencer les compositions isotopiques en calcium.

Les rennes constituent le second groupe chez les cervidés. Ils possèdent des compositions isotopiques plus proches des monogastriques compatibles avec leur alimentation de type grazer avec une faible part alimentaire de type browser (Figure 57, Hackmann et Spain, 2010).

## c. Les bovidés

Les bovidés étudiés (Figure 55) se répartissent en deux groupes : les bos/bisons et les caprinés.

La catégorie bos/bison rassemble deux espèces, *Bos primigenius* (aurochs) et *Bison priscus* (bisons) qu'il est difficile, sur la base de vestiges osseux, de distinguer dans le registre fossile en raison de leur proximité anatomique. Cependant, ces deux espèces se distinguent par plusieurs caractéristiques comportementales. L'aurochs présente une alimentation de type mix-feeder avec une tendance browser majoritaire tandis que le bison, lui, possède une alimentation de type grazer avec une tendance mix-feeder (Figure 56; Rivals et Lister, 2016; Saarinen *et al.*, 2016; Rivals *et al.*, 2022). Leurs habitats sont souvent considérés comme similaires et de type ouvert. Cette différence dans les comportements alimentaires se traduit par une variabilité entre les différents sites. Parfois leurs compositions isotopiques sont proches de celle des monogastriques (grazer) parfois plus



proches de celle des digastriques. Cette variabilité peut être mise en lien avec les préférences alimentaires de ces deux taxons sans qu'il soit possible de faire une distinction taxinomique sur la base des compositions isotopiques.

Le bouquetin (*Capra ibex*) est présente au sein des collections de deux sites (Sirogne et le Moustier), où elle présente des valeurs de compositions isotopiques globalement supérieures aux autres polygastriques qui la situent à des valeurs proches des monogastriques. Les chèvres possèdent une alimentation mixte alternant selon la saison et la disponibilité entre des comportements garzers et browsers (Rivals et Álvarez-Lao, 2018). On peut donc proposer plusieurs explications à cette composition isotopique plus proche de grazers monogastriques. Du fait de la forte saisonnalité de son comportement alimentaire on peut supposer que la composition isotopique que nous avons mesurée est le reflet d'une période où l'alimentation de cet herbivore était de type grazer. On peut aussi supposer que lors d'un comportement de type browser, les chèvres s'intéressaient uniquement aux feuilles (élément le plus enrichie en isotope lourd).

### d. Les carnivores

Du fait de la grande concentration en calcium de l'os, l'incorporation en très faible quantité d'os dans l'alimentation est responsable d'un changement dans la composition isotopique du calcium du consommateur. Ce principe a été appliqué précédemment pour expliquer la différence qu'il existe entre une proie et son prédateur (e.g. Heuser *et al.*, 2011; Martin *et al.*, 2018; Dodat *et al.*, 2021). En se basant sur cette hypothèse, les carnivores, possédant les compositions isotopiques les plus importantes, devraient être les espèces qui consomment régulièrement les parties osseuses de leurs proies. Le groupe composé des hyènes des cavernes possèdent des compositions isotopiques du calcium très négatives compatibles avec leur propension à consommer de l'os (Figure 55). Le genre *Panthera*, lorsqu'il est présent, montre les valeurs parmi les plus négatives. Mais c'est aussi un groupe possédant une grande variabilité (notamment à Regourdou). Cela témoigne de comportements alimentaires variables en fonction des individus (Figure 55).

Les loups possèdent des valeurs de composition isotopique du calcium qui les placent souvent à la limite entre les carnivores et les herbivores (Figure 55). De plus, ils possèdent la plus grande dispersion observée chez les carnivores. Cette dernière peut être mise en lien avec une plus grande plasticité alimentaire comme cela est largement documenté chez le loup actuel (e.g. Stanek *et al.*, 2017; Gable *et al.*, 2018; Mancinelli *et al.*, 2018).

En 2020 Tacail *et al.* ont proposé de mettre en lien la composition isotopique des carnivores

avec celle de leurs proies. Il est ainsi possible d'estimer quelles proies ont été consommées par quels prédateurs. En se basant sur le principe énoncé par Tacail *et al.* (2020), on peut définir une certaine partition des niches écologiques entre les différentes espèces de carnivores. Les loups semblent plus spécialisés dans la prédation des espèces monogastriques tandis que les hyènes et les félins forment un groupe commun dont l'alimentation est plus centrée sur la consommation d'espèces polygastriques. Cette hypothèse est en accord avec les données précédemment obtenues avec les isotopes de l'azote (Bocherens *et al.*, 2011; Bocherens, 2015).

En plus de l'ensemble des grands carnivores décrits précédemment nous avons pu analyser deux espèces de petits carnivores différents : le renard (*Vulpes vulpes*) et le chat (*Felis sp.*). Les échantillons de renard de la Grotte du bison et de Tourville-la-Rivière le placent à des valeurs parfois hautes compatibles avec celles des herbivores, tandis que le chat (un seul échantillon analysé) se place plutôt dans la variabilité des carnivores. Malheureusement, peu de données concernant les proies de ces petits carnivores ont été collectées. L'analyse d'un lapin (*Oryctolagus cuniculus*) et d'un castor (*Castor fiber*) à Tourville-la-Rivière a permis de montrer qu'ils se situent dans la variabilité haute des herbivores de plus grande taille. Cela pourrait expliquer les différences de compositions isotopiques observées entre grands et petits carnivores.

La documentation actuelle concernant les régimes alimentaires du renard et du chat sauvage montre un spectre de proies très proche pour un environnement similaire (Catling, 1988; Vilella *et al.*, 2020). La grande variabilité des proies chassées (plus de 50 espèces différentes) ainsi que la grande plasticité alimentaire de ces espèces peuvent être mises en lien avec les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  observées. La faible consommation de végétaux par le chat peut expliquer la différence observée à Tourville-la-rivière relativement au renard qui peut consommer une part non négligeable de végétaux, de fruits (Rosalino et Santos-Reis, 2009). Si les deux espèces partagent un grand nombre de proies en commun, il a aussi été montré que les classes d'âge chassées étaient différentes. Ainsi, concernant le lapin, la classe d'âge privilégiée par le renard est celle des adultes tandis que le chat sauvage chasse plutôt les individus jeunes (Catling, 1988). La différence de composition isotopique entre jeune lapin et lapin adulte (trace d'allaitement) pourrait alors accroître l'écart de composition isotopique entre le chat et le renard.

### E. Conclusion sur les principaux groupes analysés

Un des objectifs principaux de notre thèse est d'explorer le potentiel des isotopes du calcium dans le cadre de la reconstruction de la variabilité du régime alimentaire de membres de la lignée

néandertalienne (Partie IV. Chapitre 2. La place de Néandertal dans son écosystème). Mais cette thèse a aussi été l'occasion d'analyser une grande diversité d'espèces fauniques (22 espèces différentes). L'analyse de ces différentes espèces nous a permis de souligner plusieurs niveaux d'application des isotopes du calcium en lien avec les habitudes alimentaires. En effet, il a été possible grâce à l'étude d'un nombre élevé d'herbivores de mettre en lien la composition isotopique des herbivores avec plusieurs facteurs, l'un biologique (système digestif) et l'autre comportemental (types et organes végétaux consommés). Il n'a pas été possible d'estimer correctement la contribution de ces deux facteurs à la composition isotopique des herbivores. Une étude plus poussée sera donc nécessaire. De plus, et en accord avec l'hypothèse émise par Tacail *et al.* (2020), nous avons pu déterminer qu'il est possible d'observer un lien entre la composition isotopique d'un carnivore et celle de ses proies. Les isotopes du calcium montrent donc un potentiel important pour contraindre la structure des écosystèmes en permettant, notamment, d'apporter une meilleure connaissance des relations proies/prédateurs.

Chapitre 2 : La place de Néandertal dans son écosystème

A. Le Moustier

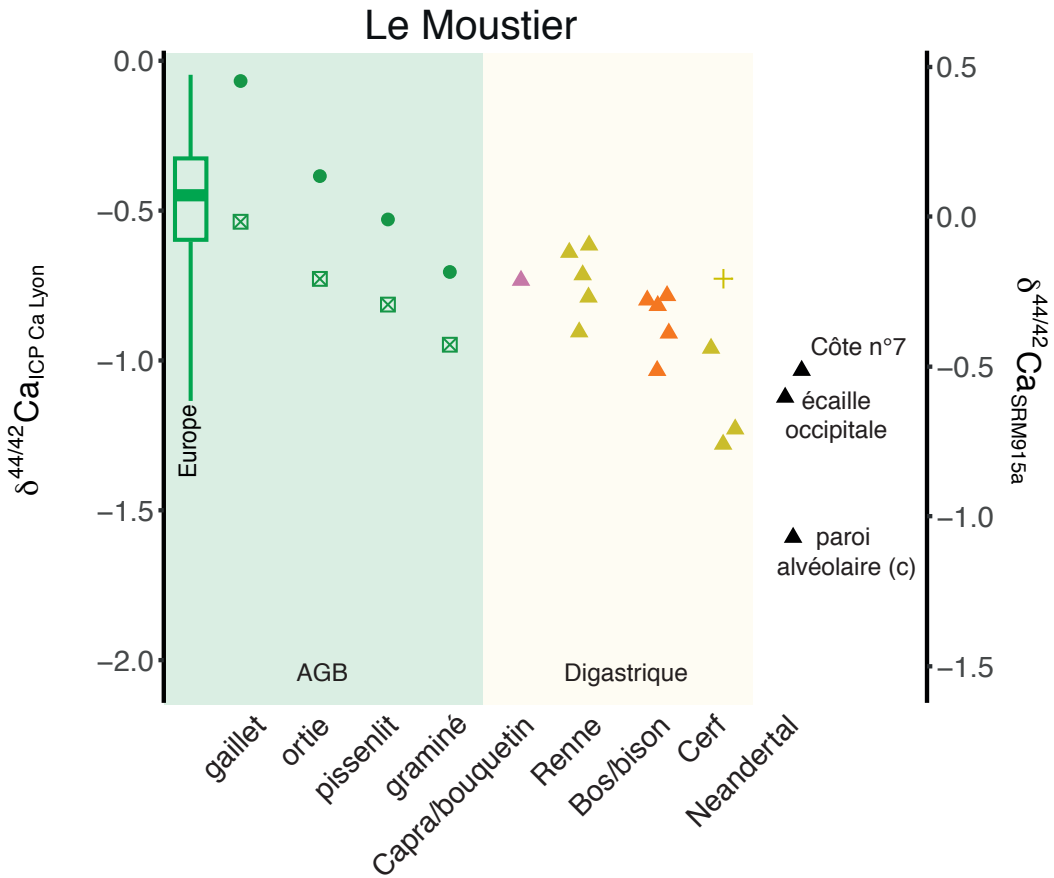


Figure 57 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des restes fossiles provenant du site du Moustier (‰ par rapport à ICP Ca Lyon). Les triangles représentent les données sur l'os cortical, les croix les données sur l'os spongieux. À gauche, distribution de la composition isotopique des plantes actuelles provenant du site et la moyenne des plantes européennes actuelles. Les ronds représentent les données sur les feuilles et les carrés les données sur les tiges, AGB signifie "aboveground biomass" (biomasse aérienne), compilée à partir de Skulan and DePaolo, 1999; Schmitt et al., 2003; Chu et al., 2006; Page et al., 2008; Bagard et al., 2013; Hindshaw et al., 2013; Moore et al., 2013; Christensen et al., 2018.  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of fossil remains (‰ relative to ICP Ca Lyon and SRM 915b) from Le Moustier site. Triangles represent cortical bone data, crosses represent spongy bone data. On the left, isotopic composition of actual plants from the site and the average of actual European plants. Rounds represent leaf data and squares stem data, AGB stands for aboveground biomass, compiled from Skulan and DePaolo, 1999; Schmitt et al., 2003; Chu et al., 2006; Page et al., 2008; Bagard et al., 2013; Hindshaw et al., 2013; Moore et al., 2013; Christensen et al., 2018.

L'individu Le Moustier 2 est un périnatal dont l'âge est estimé à  $9,4 \pm 0,1$  mois d'après les données métriques du radius, de l'ulna et du fémur. De plus, si l'on se base sur les données de développement des germes dentaires déciduales, il ne peut être âgé de plus de quatre mois après la naissance (Maureille, 2002a, 2002b). Il a été attribué de manière certaine à la lignée néandertalienne sur la base de nombreux critères anthropologiques (Maureille, 2002a, 2002b). En l'absence de pathologies visibles, il est impossible d'émettre une hypothèse concernant les causes du décès de cet individu. On sait seulement qu'il est intervenu peu de temps après sa naissance.

Le gisement du Moustier n'a livré que très peu de vestiges dont l'état de préservation permet une identification taxinomique claire, ce qui nous a contraint à analyser un nombre restreint de vestiges. On notera notamment l'absence de restes de carnivores ou encore de spécimens monogastriques. La faible quantité de taxons analysés limite donc les interprétations possibles pour ce site. Toutefois il a été possible d'émettre un certain nombre d'hypothèses.

On constate une différence de presque -0,6‰ entre l'os de la paroi alvéolaire (-1,59‰) et les deux autres échantillons osseux (écaille occipitale = -1,12‰ et côte n°7 = -1,03‰). Cela constitue une différence de composition isotopique inhabituelle au sein d'un même individu. En effet, cette différence excède la variabilité intra- et inter-spécifique de l'ensemble des autres taxons du site (valeur max = -0,61‰ et valeur min = -1,23‰). Du fait de la grande vitesse de remobilisation de l'os cortical chez les très jeunes individus, on pourrait expliquer cette différence par un changement brutal dans l'alimentation de l'individu. Ce changement aurait eu lieu peu de temps avant son décès et n'aurait pas eu le temps de se répercuter sur l'ensemble du squelette.

En considérant cette hypothèse et si l'on se place dans l'hypothèse d'un individu allaité, alors deux hypothèses peuvent expliquer ce changement.

Premièrement, une modification brutale de l'alimentation de la mère. La composition isotopique en calcium du lait maternel est directement reliée à celle de l'alimentation de la mère (avec une différence estimée à -0,6‰, voir Partie III. Chapitre 1. A. d. Le lait et impact de la lactation, un bref rappel). Une modification de l'alimentation de la mère aurait eu un impact sur la composition en calcium de l'enfant allaité par l'intermédiaire du lait maternel.

Deuxièmement, un arrêt de l'allaitement, avec une transition vers une alimentation différente, abrupte, sans période de sevrage. En effet, il a été observé chez des individus pour lesquels la période d'allaitement est très courte une augmentation de la composition isotopique liée au passage à une alimentation non basée essentiellement sur le lait (Tacaïl *et al.* 2017). La différence observée dans l'émail est alors de l'ordre de +0.25‰. Cette différence n'a pas pu être observée sur l'os. Toutefois, on constate que la valeur de  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{alimentation-lait}}$  de 0,6 ‰ correspond à la différence observée entre les pièces osseuses du Moustier 2 ce qui plaide pour l'hypothèse d'un arrêt total de l'allaitement et un passage abrupt vers une alimentation proche de celle de la mère (Figure 58).

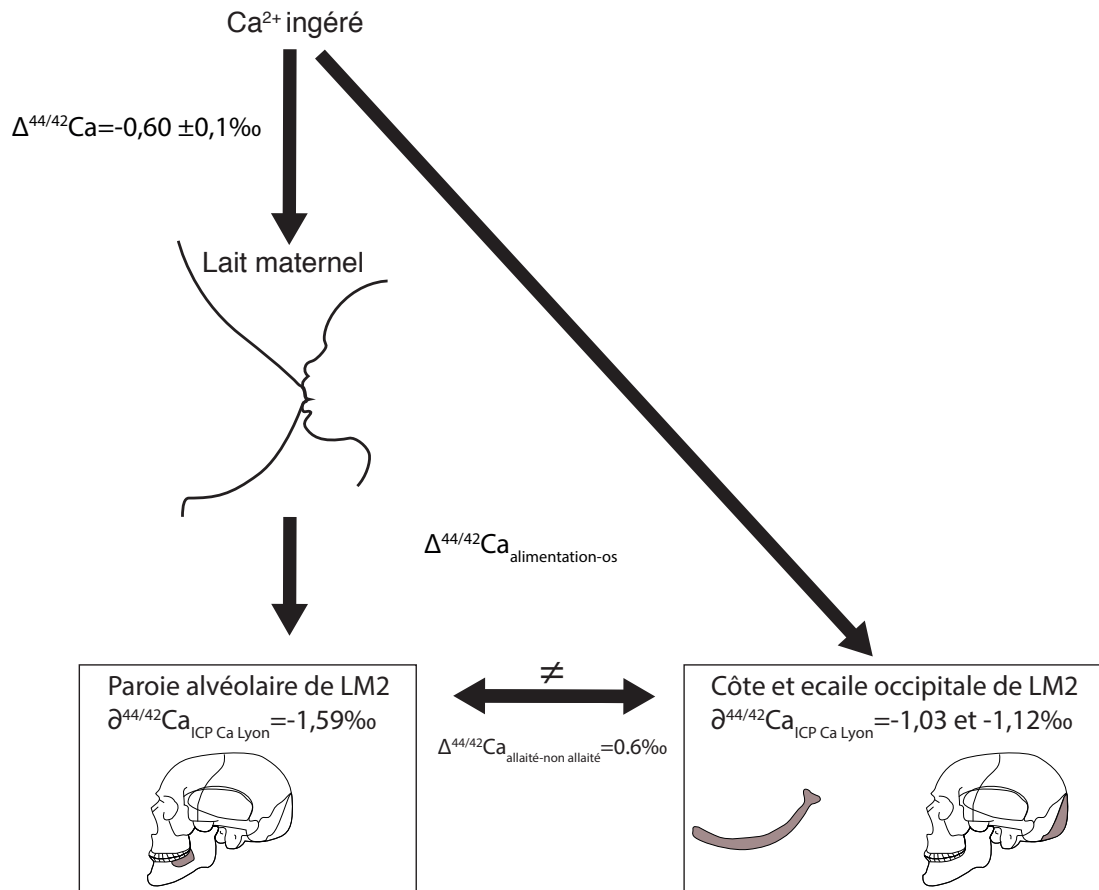


Figure 58 : Schéma de la différence de composition isotopique entre un individu immature allaité et un individu immature non allaité. Le  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{alimentation-os}}$  n'est pas indiqué car il est encore mal contraint chez le nourrisson. Scheme of the difference in isotopic composition between an immature breastfed and an immature non-breastfed individual. The  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{diet-bone}}$  is not indicate as it is still poorly documented in infants.

La variabilité observée entre les pièces osseuses du Moustier 2 témoigne d'un changement brutal de l'alimentation (de la mère ou du nourrisson) dans un laps de temps très court et précédant de peu le décès de cet individu, son intégration rapide à la composition isotopique du nouveau née est liée au fort taux de renouvellement de l'os chez les nourrissons. Une telle hypothèse quant au changement de l'alimentation d'un nouveau-né néandertaliens n'avait jamais été proposée. Naturellement, il ne peut pas être établi de lien entre cette variation de l'alimentation et le décès de l'individu. De plus, la grande proximité des valeurs de compositions isotopiques avec des valeurs d'herbivores suggère que l'alimentation de la mère (et/ou celle du nourrisson) contient une fraction végétale non-négligeable. Cette interprétation doit être nuancée car il a été montré que les périodes d'allaitement (et potentiellement celle de la grossesse) induisent des modifications dans l'absorption du calcium dont l'impact sur le nourrisson ou le fœtus est encore inconnu (Le Goff, 2021).

## B. Regourdou 1

### a. Introduction

Ce chapitre expose les premiers résultats obtenus au cours de cette thèse sur l'alimentation de l'Homme de Néandertal à partir de l'étude de l'individu Regourdou 1. Elle a fait l'objet d'une publication dans *Journal of Human Evolution* publié en 2021. En plus des résultats obtenus sur l'individu Regourdou 1, cette étude permet l'analyse d'échantillons de faunes modernes (évoqués dans la Partie II. Chapitre 2. A. b. Méthode de prélèvement) ainsi que le calcul du bilan massique mettant en évidence l'impact de l'os (ingéré volontairement ou accidentellement) sur la composition isotopique globale du consommateur.

### b. Article "*Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil*"

Résumé français : La composition isotopique du calcium ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) de l'os et de l'émail des dents peut être utilisée pour la reconstruction alimentaire des mammifères existants et disparus. En conditions naturelles, la valeur  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des os et des dents varie en fonction de l'apport alimentaire avec un décalage isotopique constant d'environ 0,6‰. En raison de la mauvaise conservation du collagène, les compositions isotopiques du carbone (C) et de l'azote (N) du site moustérien de Regourdou (MIS 5, Dordogne, France) n'ont pas fourni d'informations alimentaires. Par conséquent, pour reconstruire la chaîne trophique, nous avons mesuré les isotopes du calcium (Ca) à partir d'échantillons d'os fossiles de la faune du site de Regourdou, ainsi que de trois échantillons d'os du spécimen néandertalien Regourdou 1. Les résultats montrent que les compositions isotopiques du Ca dépendent du taxon : les herbivores ont généralement des valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  plus élevées que les carnivores. Toutes les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  de Regourdou 1 sont faibles ( $<-1,6\text{‰}$ ), ce qui place ce spécimen parmi les carnivores. En utilisant un décalage isotopique en calcium os-muscle déterminé chez des animaux existants, nous mettons en évidence que la valeur de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  du régime de Regourdou 1 et celle de la plupart des carnivores ne peut pas être expliquée uniquement par la consommation de viande, puisque les plantes et la viande ont des valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  identiques. Les calculs de bilan massique indiquent que les faibles valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  du régime carnivore du néandertalien s'expliquent par l'ingestion de moelle osseuse contenant une faible quantité ( $\approx 1\%$ ) d'os trabéculaire. Nos résultats montrent que le Néandertalien de Regourdou 1 consommait un

mélange de diverses proies herbivores, ainsi que de l'os trabéculaire, ce qui s'est probablement produit de manière accidentelle ou volontaire lors de l'ingestion de moelle osseuse.

NB : Les suppléments à cet article sont présentés en Annexe C





# Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil

Pierre-Jean Dodat <sup>a, b, \*</sup>, Théo Tacail <sup>c</sup>, Emmanuelle Albalat <sup>a</sup>, Asier Gómez-Olivencia <sup>d, e, f</sup>, Christine Couture-Veschambre <sup>b</sup>, Trenton Holliday <sup>g, h</sup>, Stéphane Madelaine <sup>i, b</sup>, Jeremy E. Martin <sup>a</sup>, Rebeka Rmoutilova <sup>b, j</sup>, Bruno Maureille <sup>b</sup>, Vincent Balter <sup>a</sup>

<sup>a</sup> ENS de Lyon, Univ Lyon 1, CNRS UMR 5276, LGL-TPE, F-69007, Lyon, France

<sup>b</sup> Univ. Bordeaux, CNRS, MC, PACEA, UMR 5199, F-33600, Pessac, France

<sup>c</sup> Bristol Isotope Group, School of Earth Sciences, University of Bristol, Wills Memorial Building, Queen's Road, Bristol, BS8 1RJ, UK

<sup>d</sup> Departamento de Geología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Spain

<sup>e</sup> Sociedad de Ciencias Aranzadi, Donostia-San Sebastián, Spain

<sup>f</sup> Centro UCM-ISCIII de Investigación sobre Evolución y Comportamiento Humanos, Madrid, Spain

<sup>g</sup> Tulane University; Department of Anthropology, 101 Dinwiddie Hall, New Orleans, LA, 70118, USA

<sup>h</sup> University of the Witwatersrand; Evolutionary Studies Institute, Private Bag 3, Wits, 2050, South Africa

<sup>i</sup> Musée national de Préhistoire, 1 rue du Musée, 24620, Les Eyzies-de-Tayac Sireuil, France

<sup>j</sup> Department of Anthropology and Human Genetics, Faculty of Science, Charles University, Viničná 7, 128 44, Prague, Czech Republic

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 11 June 2020

Accepted 25 November 2020

Available online xxx

### Keywords:

Paleodiet

Marrow consumption

Diet

Late Pleistocene

## ABSTRACT

The calcium isotopic composition ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) of bone and tooth enamel can be used for dietary reconstructions of extant and extinct mammals. In natural conditions, the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of bone and teeth varies according to dietary intake with a constant isotopic offset of about  $-0.6\text{‰}$ . Owing to the poor conservation of collagen, carbon (C), and nitrogen (N) isotopic compositions of the Regourdou Moustertian site (MIS 5, Dordogne, France) previously failed to provide any paleodietary information. Therefore, to reconstruct the trophic chain, we have measured calcium (Ca) isotopes from fossil bone samples of the fauna from the Regourdou site, as well as from three bone samples of the Regourdou 1 Neandertal specimen. The results show a taxon-dependent patterning of the Ca isotopic compositions: herbivores generally have higher  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values than carnivores. All the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of Regourdou 1 are low ( $<-1.6\text{‰}$ ), placing this specimen amid carnivores. Using a bone-muscle Ca isotopic offset determined on extant animals, we further show that the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the Regourdou 1 diet, and that of most carnivores, cannot be accounted for by the consumption of meat only, as plants and meat have indistinguishable  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. Mass balance calculations indicate that the low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of the Neandertal's carnivorous diet are explained by the ingestion of bone marrow containing as little as 1% trabecular bone. Our results show that the Regourdou 1 Neandertal consumed a mixture of various herbivorous prey, as well as trabecular bone, which probably occurred when marrow was ingested, by accident or intentionally.

© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

The reconstruction of diet is an important aspect of paleoanthropology, archeology, and prehistory because diet is related to

numerous human behaviors such as hunting practices, social organization, and mobility (e.g., Patou-Mathis, 2000; Costamagno et al., 2006; Hublin and Richards, 2009). Paleoecological reconstructions are traditionally based on the study of faunal assemblages of preserved remains and associated anthropogenic traces (Hublin and Richards, 2009), tooth microwear (Puech et al., 1983), dental size and morphology (Jiménez-Arenas et al., 2014) or more rarely from preserved organic matter (e.g., phytoliths or

\* Corresponding author.

E-mail address: [pierre-jean.dodat@ens-lyon.fr](mailto:pierre-jean.dodat@ens-lyon.fr) (P.-J. Dodat).

DNA in dental calculus; Henry et al., 2011). However, the reconstruction of ancient diet may be biased due to differential transport of anatomical parts of prey, and to taphonomic processes (e.g. chemical process, scavengers, water flow), which can lead to the lack of conservation of flora and other food resources (Faith and Thompson, 2018) and can modify faunal assemblages even in well-preserved sites (Fernandez-Jalvo and Andrews, 2016).

Stable isotopes have been a useful supplementary tool for studying the diet of extinct species for over 40 years. Since the 1990s and the first isotopic studies of Neandertal remains from Marillac in Charente (France; Bocherens et al., 1991), the number of studies using collagen C and N isotopic compositions of Neandertals has continually increased (more than 40 remains analyzed having provided interpretable results), allowing researchers to make robust assumptions about the dietary habits of Neandertals. The conclusions do not vary much: Neandertals were at the top of the trophic chain with a dietary preference for large herbivores, such as horse, reindeer, red deer, bovid, rhinoceros and mammoth (Balter and Simon, 2006; Bocherens, 2013; Naito et al., 2016; Wißing et al., 2016), which is consistent with the zooarchaeological evidence, bone accumulation, and cut marks (Patou-Mathis, 2000; Hublin and Richards, 2009; Marín et al., 2017).

However, recent studies of dental calculus (Henry et al., 2011) and N isotopic composition of amino acids (Naito et al., 2016; Jaouen et al., 2019) show that some Neandertals may have consumed plants in sizeable proportion (~20% of their dietary protein source). Isotopes are now used routinely to reconstruct diet, but two main issues limit the use of the C and N isotopic systems in fossil settings. First, the extraction of a sufficient amount of collagen from tooth or bone requires the collection of between 10 mg and 500 mg of fossil material, depending on the state of preservation of the collagen (Drucker et al., 1999; Bocherens et al., 2016). This amount is a limiting factor because it represents a significant fraction, if not the whole root of a tooth, which is a problem for precious material, notably unique hominin remains. Second, while collagen can be preserved for more than 100 kyr in specific environments, cases of good preservation beyond 50 kyr are rare, preventing the use of N isotopic compositions in deep time (Melin et al., 2014). This represents a great handicap for the study of Neandertals, for whom dietary habits throughout the Paleolithic are key to understanding their cultural and biological evolution.

To overcome these difficulties, or to complement C and N isotopic composition studies, new isotopic systems have been developed as dietary proxies using the mineral phase of tooth dentine, enamel, and bone. Generally, these isotopic systems are referred as 'non-traditional' (Martin et al., 2017a) isotopes and involve transition metals including copper, zinc, and iron (respectively,  $^{65}\text{Cu}/^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}/^{64}\text{Zn}$ ,  $^{56}\text{Fe}/^{54}\text{Fe}$  ratios; Jaouen et al., 2012, 2013, 2017; Bourgon et al., 2020), or alkaline-earth metals including magnesium, calcium, and strontium (respectively,  $^{26}\text{Mg}/^{24}\text{Mg}$ ,  $^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ ,  $^{88}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  ratios; Knudson et al., 2010; Martin et al., 2014, 2015, 2017a, b, 2018; Hassler et al., 2018). Calcium is the element that has been the most studied thus far for paleodietary applications because it is the essential element of the mineral fraction of bone and teeth, i.e., hydroxylapatite. This gives the isotopic method two main advantages. First, provided that secondary Ca-bearing carbonates are absent or have been leached using dilute acid, the overprinting of a diagenetic isotopic composition on the original Ca isotopic composition is unlikely. This has been modeled using simple mass balance for Mg, Ca, Fe, Cu and Zn isotopes on continental and marine settings by Martin et al. (2017a). Based on the model, a significant diagenetic alteration of the Ca fraction of bioapatite in terrestrial settings is unlikely because the Ca concentration in groundwater is negligible (15–150 ppm of Ca) compared with that of hydroxylapatite (40%; Martin et al., 2017a). This is not

the case for the isotopic composition of trace elements (i.e., Cu, Zn, Fe, or Sr) which is more sensitive to diagenetic overprinting because the concentrations of trace elements are generally lower in bioapatite than in rivers (Martin et al., 2017a). Second, minute amounts of bone or tooth enamel (typically 100  $\mu\text{g}$ ) are sufficient for a routine measurement of the Ca isotopic composition. This technique can thus be applied to precious fossils while causing minimal damage (Tacail et al., 2019; Martin et al., 2017a).

Skulan and collaborators (Skulan et al., 1997; Skulan and DePaolo, 1999) first described a linear correlation between the Ca isotopic composition of diet and vertebrate tissues including bone. This observation allowed Skulan and DePaolo (1999) to show a decrease in the isotopic composition of Ca along the food chain. Several authors further assessed the extent of this decrease using different animal models, giving an average difference of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values between bone and diet ( $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-diet}}$ ) of  $-0.57\text{‰}$  ( $\pm 0.10$ , 2SE; Tacail et al., 2020). In mammals, the major isotopic fractionation occurs during renal reabsorption, which can be affected by many physiological aspects still poorly understood (Tacail, 2017; Tacail et al., 2020). The effect of lactation is potentially better understood and causes a significant offset of the bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value (Reynard et al., 2010, 2013; Tacail et al., 2019). Other biological processes such as hibernation (cessation of the renal cycle), the presence of a particular digestive system such as for ruminants, or the production of mineralized growths such as antlers or horns, could also affect the bodily distribution of Ca isotopes (Tacail et al., 2020). Despite a body of isotopic evidence consistent with ecological information, the compilation of isotopic data on biological material cannot explain the lower isotopic composition of carnivores compared with herbivores by invoking meat consumption only. Indeed, meat displays  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values close to the range of variation of plants (Tacail et al., 2019). Carnivores and herbivores should therefore have similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, which is not the case. Bone consumption has been proposed to explain the observed difference in  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of herbivores and carnivores (Heuser et al., 2011).

In this work, we use bone Ca isotope composition to investigate the trophic structure of a mammalian fossil assemblage including a single Neandertal individual. Our approach consists first in evaluating the Ca isotopic difference between muscle, bone, and bone marrow on modern samples and second, applying the assessed amplitude of these differences to reconstruct the past trophic chain of the Regourdou fossil assemblage.

## 2. Materials and methods

### 2.1. History of the Regourdou site

The Regourdou cave is located at the top of the Lascaux hill (Montignac-sur-Vézère, Dordogne; Supplementary Online Material [SOM] Fig. S1). Regourdou site 'excavations' began in 1954 at the landowner's (R. Constant) initiative. During the night of the 22nd to the 23rd of September 1957, part of a Neandertal skeleton was discovered (Regourdou 1, Bonifay et al., 2007; Madelaine et al., 2008; Maureille et al., 2015a). A rescue operation for recovery of the hominin remains was set up under the authority of F. Bordes during the 4th and 5th of October 1957 with the participation of E. Bonifay and G. Laplace-Jauretche as the only two excavators. This quick excavation allowed the discovery of faunal and lithic remains and about 50 identified hominin bones or bone fragments belonging to one Neandertal, Regourdou 1 (Madelaine et al., 2008).

Between 1961 and 1964, the site was excavated by E. Bonifay (Bonifay, 1964). The Regourdou 1 skeleton was located in Bonifay's stratigraphic layer 4 (Bonifay, 1964), which contained lithic remains belonging to a Discoid Mousterian techno-complex with the

production of pseudo-Levallois points and a temperate fauna highly dominated by brown bears (*Ursus arctos*). This layer 4 was attributed to MIS 5 based on cultural evidence, and this was confirmed by a recent Optically Stimulated Luminescence date (Bonifay, 1964; Bonifay et al., 2007; Maureille et al., 2017). According to E. Bonifay, the site was interpreted as a highly peculiar Mousterian symbolic cave because of the potential association of a Neandertal burial with anthropic structures (a pit and a pile of stones, or 'pierrier' in French, as well as various grave goods) and buried parts of brown bear corpses in an alleged pit closed by a several-ton flat limestone slab, along with other stone piles within layers 3 and 5 (Bonifay, 1962). However, a recent review (Madelaine et al., 2008) of the 1957 field notes and drawings, as well as the 1961 to 1964 field notebooks and collections (allowing the discovery of 73 new Regourdou 1 hominin remains; Madelaine et al., 2008; Maureille et al., 2015b), questioned the Bonifay interpretation of a unique Mousterian symbolic cave, even if the new scientific team involved in this research still considers Regourdou 1 as a Neandertal intentional burial (Madelaine et al., 2008; Maureille et al., 2015a, 2016; Pelletier et al., 2017). This is an ancient cave that was used as a den for brown bears which are represented in the lower levels (Cavanhié, 2009–2010). Subsequently the cavity collapsed, forming a trap allowing the accumulation of many fauna (Bonifay, 2002; Cavanhié, 2009–2010). The Neandertal is assumed not to be a major accumulating agent because only a small number of bones show anthropic action (Cavanhié, 2009–2010). Owing to age and taphonomic process, resulting in an insufficient quality of collagen, ancient DNA and C and N isotopic compositions failed to provide any paleogenetic or paleodietary information (Bocherens, pers. comm.).

## 2.2. Regourdou fossil bone samples

The Ca isotopic composition was measured for 30 samples obtained from eight different mammalian species, including four reindeer (*Rangifer tarandus*), five red deer (*Cervus elaphus*), two horses (*Equus caballus*), two wild boars (*Sus scrofa*), one cave lion (*Panthera spelaea*), one wolf (*Canis lupus*), one carnivore of indeterminate species, 11 brown bears (*U. arctos*), and three bone samples of the Regourdou 1 Neandertal individual (SOM Table S1). The epiphyseal fusion of the fossil material suggests that the specimens were mature individuals with the exception of one brown bear (R27). Not all samples were obtained from the same layer (SOM Table S1): ten are from layer 2, 16 from layer 4, including the Neandertal specimen, three from layer 5 and one from layer 7. Layers 4, 5, and 7 are thought to be contemporaneous and layer 2 younger (Bonifay et al., 2007; Cavanhié, 2009–2010). All but two of the samples were taken from cortical bone; trabecular bone was sampled from one brown bear and from the left femur of Regourdou 1. Each sample of trabecular bone was paired with a sample of cortical bone taken from an adjacent region of the same piece of bone. Each sample was obtained by excising a fragment of bone <5 mm long and 1 mm wide using a scalpel (SOM Fig. S2). Samples were preferentially taken from parts that were already damaged during excavation or during the postexcavation history or in areas already sampled for previous analyses. This sampling method allowed us to preserve as much as possible the morphological and structural integrity of the pieces.

## 2.3. Modern faunal bone and muscle samples

To better understand the calcium isotopic distribution in mammals, we included modern cortical and trabecular bone associated with bone marrow and muscle of domestic and wild animals (SOM Table S2). These bones were analyzed to evaluate the

bone-muscle Ca isotopic offset and to characterize the mechanism responsible for the decrease in the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values along food chains (SOM Table S2). The total sample of 11 samples includes three pigs (*Sus scrofa domestica*), one boar (*Sus scrofa*), four cows (three adults, one veal; *Bos taurus*), one roe deer (*Capreolus capreolus*), one chicken (*Gallus gallus*), and one rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). As the different samples were obtained from butcher shops, no information concerning the diet of these individuals is available. However, dietary information is not needed to assess muscle-bone differences.

## 2.4. Analytical methods

The analyses of Ca stable isotope compositions were carried out at the Laboratoire de géologie de Lyon, Terre, Planète et Environnement at the Ecole Normale Supérieure de Lyon. All 30 bone samples from Regourdou's faunal and paleoanthropological collections (SOM Table S1) were first ground using an agate mortar and pestle before being leached with diluted ultrapure acetic acid (0.1 M) for 30 min at room temperature in an ultrasonic bath to eliminate Ca-bearing secondary carbonates, particularly calcite (Balter et al., 2002a,b). All modern samples were first freeze-dried and digested in concentrated  $\text{HNO}_3$  acid to dissolve the organic phase.

The concentrations of major and trace elements were measured after a leaching step with acetic acid (SOM Tables S1 and S3) and diagenesis was monitored using the calcium/phosphorus, iron/calcium, manganese/calcium, and uranium/calcium ratios (Ca/P, Fe/Ca, Mn/Ca, and U/Ca, respectively; SOM Table S1) and the sum of all the rare earth elements ( $\Sigma\text{REE}$ ; SOM Table S3). These measurements were performed by quadrupole inductively coupled-plasma mass spectrometry (Q-ICP-MS) for trace elements and by ICP optical emission spectroscopy for major elements, respectively. Methods for the measurement of trace and major elements are briefly described here (for a complete description see Balter and Lécuyer, 2004, 2010). The concentrations of elements were calculated using calibration curves based on multielemental solutions. These solutions were also used to monitor and correct for the instrumental drift over the analytical session. Matrix effects and instrumental drift were also corrected using indium (In) and scandium (Sc) as internal standards for trace and major elements, respectively. Comparison of major and trace element was performed using a simple linear regression model and the correlation coefficient represented with an heatmap (correlation matrix). All the statistical analyses on the Ca isotopes and other elements were performed in R (V3.6.1; R Core Team, 2020).

All samples were processed to extract the bone's Ca based on the protocols established by Tacail et al. (2014). Briefly, this consists of a digestion step in concentrate  $\text{HNO}_3$  and solubilization in 6N HCl. Then, three chromatography steps are necessary, the first to allow the recovery of Ca, Fe and Sr only, the second to isolate Sr, and the third to separate Ca from Fe. The compositions of the Ca isotopes were measured using a neptune plus multicollector ICP-MS using the standard-sample-standard-bracketing method. All Ca isotope compositions are expressed using the delta notation and were calculated using the ICP Ca Lyon standard as bracketing and reference material. A solution of the certified reference material NIST SRM 1400 (bone ash) was repeatedly purified and measured as a sample to control the accuracy of the measurements of archaeological bone and a solution of the certified reference material NIST SRM 1486 (bone meal) was repeatedly measured as a sample to control the accuracy of the measurements of modern bone and muscle samples. The SRM 1486 certified reference material yielded a value of  $-1.07 \pm 0.049$ , (2 SE,  $n = 24$ ), which is undistinguishable from all SRM 1486 reported in other studies ( $-1.009 \pm 0.026$ , 2 SE;

Heuser and Eisenhauer, 2008; Heuser et al., 2011, 2016a, 2016b). The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  annotation is defined according to the following equation:

$$\delta^{44/42}\text{Ca} = \left( \frac{\left( \frac{{}^{44}\text{Ca}}{{}^{42}\text{Ca}} \right)_{\text{Sample}}}{0.5 \times \left( \frac{{}^{44}\text{Ca}}{{}^{42}\text{Ca}} \right)_{\text{ICP-Ca-Lyon}}^{n-1} + 0.5 \times \left( \frac{{}^{44}\text{Ca}}{{}^{42}\text{Ca}} \right)_{\text{ICP-Ca-Lyon}}^{n+1}} - 1 \right) \times 1000$$

To facilitate comparison of our data set with other Ca isotope studies, the values obtained in this study are also expressed relative to the SRM-915a standard using a constant difference of  $-0.518 \pm 0.025\%$  (2 SD).

### 3. Results

#### 3.1. Calcium-normalized ratios and diagenesis

Four samples (R12, R18, R20, and R22) display significant REE enrichments together with a concomitant increase of the Fe/Ca ratio (SOM Fig. S3A) and Mn/Ca ratio (SOM Fig. S3B) but without any U enrichment (SOM Fig. S3C). The comparison of Ba/Ca ratios with REE, U/Ca, and Mn/Ca suggests a diagenetic Ba/Ca overprinting (SOM Figs. S3D and S4). The sample R11 seems to be highly impacted by Mn, U and Ba diagenetic alteration and uptake (SOM Figs. S3B–S3D). The Sr/Ca ratios seem insensitive to REE enrichment (SOM Fig. S3E), and no clear relationship is observed with the either Fe/Ca (SOM Fig. S3F) or the Mn/Ca (SOM Fig. S3G) ratio. None of the diagenesis-sensitive Ca-normalized ratios displays any correlation with the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values and the Ca/P ratios, when highly altered samples (i.e., R11–R12, R18, R20 and R22) are excluded (Fig. S4). Taken together, the results suggest that while the Ba/Ca ratios, and potentially the Sr/Ca ratios, are affected by some diagenetic alteration, the Ca isotopic compositions of specimens included in this study reflect original values and can be used to constrain the paleodiet of species retrieved at Regourdou. Note that the faunal pattern of the Sr/Ca ratio at Regourdou is similar to that reported for the Saint-Césaire assemblage (Balter et al., 2001, 2002a,b), which argues for a minimal diagenetic overprint of the Sr/Ca ratio at Regourdou.

#### 3.2. Calcium isotope analyses

The observed linear correlation between the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  and  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  values for both modern and fossil samples (SOM Fig. S5) agrees with the expected mass-dependent fractionation slope of  $-0.5$  (Tacail et al., 2019). For modern samples, muscle always exhibits a higher  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value than associated bone, whether cortical or trabecular (Fig. 1). Cortical and trabecular bone have similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, which are also similar to associated bone marrow in two of 4 cases (Fig. 1). For fossil samples, the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of herbivorous species (with the exception of red deer) and wild boar are high in comparison with the other species, with values close to  $-1\%$  (from  $-0.79$  to  $-1.19\%$ ; Fig. 2). The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of herbivorous species are  $\sim 0.6\%$  lower than the compiled above-ground biomass data of European grasses/herbs; the difference is smaller with the values of woody plants. Red deer exhibit much more negative  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (from  $-1.28$  to  $-1.52\%$ ; Fig. 2) overlapping with the range of values of carnivores, i.e. from  $-1.17$  to  $-1.73\%$  (Fig. 2). The Regourdou 1 samples display low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, ranging from  $-1.51$  to  $-1.67\%$  (Fig. 2), placing the specimen in the ranges of carnivores. Despite different stratigraphic provenance, the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of red deer from stratigraphic layer 4 are within the range of variation of those of red deer of stratigraphic layer 2, despite different MIS attributions. Similarly, the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of brown bear from layer 2 fall in the range of variation of

those from layers 4–5 and 7. This suggests that the environmental impact on Ca isotopic composition is included in the intraindividual variability.

### 4. Discussion

#### 4.1. The ecological and physiological significance of calcium isotopes in herbivores

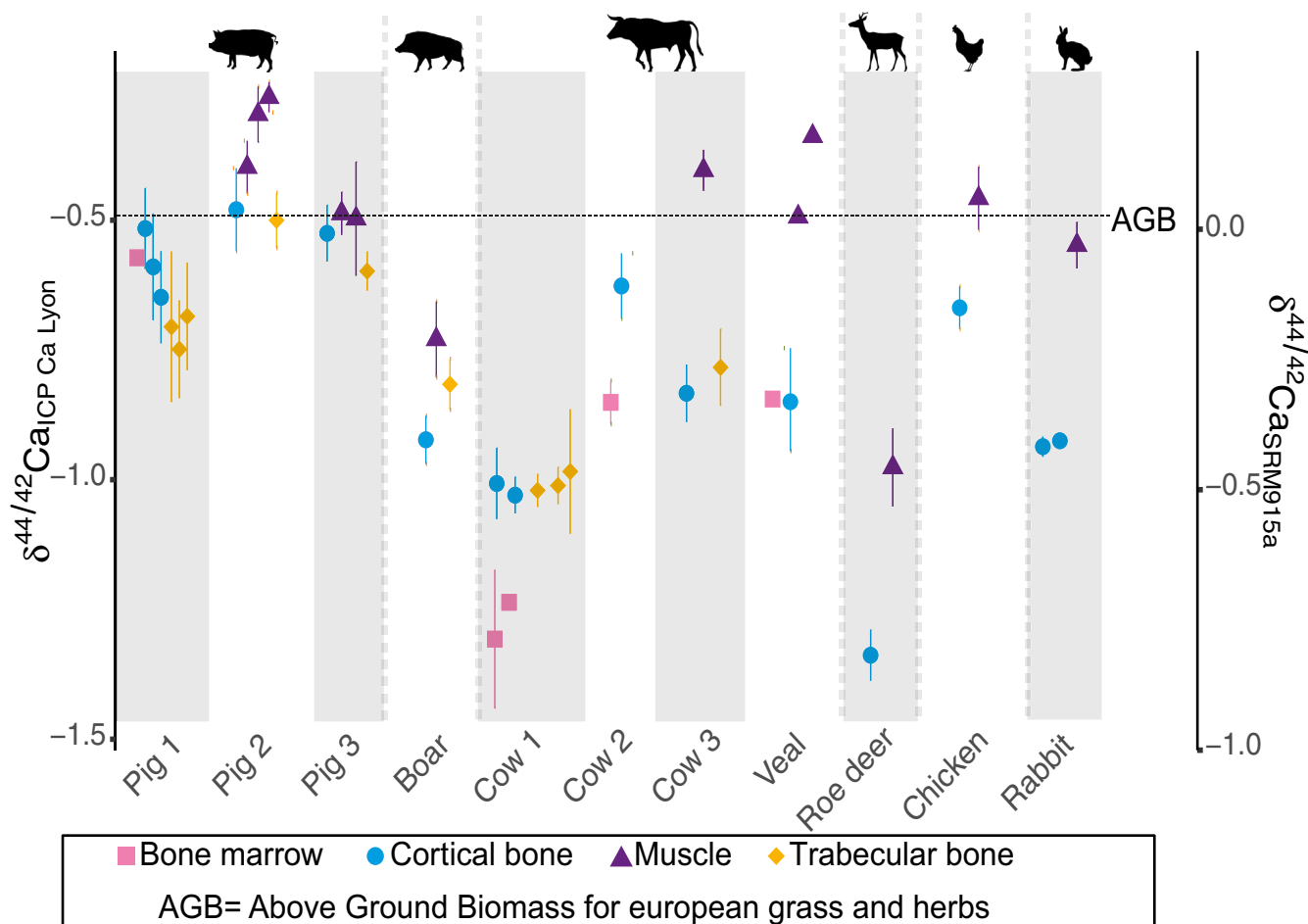
Adding the  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-diet}}$  value to bone (about  $-0.6\%$ ; Tacail et al., 2020) allows us to estimate the average  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the animals' diets (SOM Table S1). The remodeling of the cortical bone is very slow once growth is complete (e.g. Manolagas, 2000), with an average estimation corresponding to the diet of the last years of the individual's life. For herbivores, the reconstructed diet would correspond to plants and plant organs, for which the distribution of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values is known based on several studies and previously compiled data (Martin et al., 2018; Tacail et al., 2019, 2020) which are used in the present study. Some of the plant variability is known, but a continuing effort is necessary to fully depict the Ca isotopic variability in vegetal materials. Only two European Late Pleistocene assemblages have been analyzed isotopically (Martin et al., 2017a). The specimens from Sclayn (Namur, Belgium, from layer 1A, dated  $>36.2$  kyr and  $38.7 \pm 1.5$  kyr BP; Gilot, 1992) and Jaurens (Corrèze, France, dated from 29.7 to 32.6 kyr BP; Guérin et al., 1979) caves are more recent than those from Regourdou, but are nevertheless used here for comparison in this study.

Horses (*E. caballus*) at Regourdou exhibit a mean  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of  $-1.06\%$  ( $\pm 0.01$ , 2SD,  $n = 2$ ; Fig. 2), identical to that obtained at Sclayn ( $-1.06 \pm 0.36\%$ , 2SD,  $n = 2$ ; Martin et al., 2017a). Additional data on horses could challenge the apparent homogeneity of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values at Sclayn and Regourdou and as a consequence, raise questions about the similarity of the dietary niches. The case of cervids raises a number of questions. Here, reindeer (*R. tarandus*) have relatively high  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (from  $-1.08\%$  to  $-1.19\%$ ), while red deer (*C. elaphus*) exhibit much lower values (from  $-1.28\%$  to  $-1.51\%$ ), characteristic of carnivores. The presence of antlers in cervids is likely to represent an additional and significant reservoir of Ca, although it remains to be demonstrated that antler formation (antlerogenesis) is associated with a species-dependent Ca isotope fractionation. In the absence of such information, we have considered that diet-specific behaviors have a prominent effect on the bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value compared with antler formation. Reindeer and red deer are two herbivores whose diets are highly adaptable. Reindeer are mainly grazers and sometimes browsers that consume lichen (Martin, 1982), lichen having high  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (Fig. 2), while red deer are more browsers and tend to consume shrubs (Martin, 1982; Hofmann, 1989; Hearney and Jennings, 2009; Discamps, 2011), with the stem and trunk generally having the highest  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  plant values (Fig. 2). The assimilation of Ca through a non-nutritive source, such as bone or antler chewing, is likely to mimic bone consumption (Kierdorf, 1994; Cáceres et al., 2011). This would be consistent with the low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of modern roe deer compared to other herbivores (Fig. 1). Similar dietary behavior could be at the origin of the observed low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values in red deer (Fig. 2).

#### 4.2. The ecological and physiological significance of calcium isotopes in omnivores

The wild boar (*Sus scrofa*) is the species with the highest average  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value ( $-0.89 \pm 0.28\%$ , 2SD,  $n = 2$ ) in the Regourdou faunal assemblage (Fig. 2). The main components of its current diet include rhizomes, acorns and grains (Fournier-Chambrillon et al., 1995). The consumption of buried tubers can be accompanied by





**Figure 1.**  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values for modern samples (‰, relative to ICP Ca Lyon standard and SRM 915a). Individuals are grouped by species. The shape and colors correspond to the different sampled hard or soft tissues. The above-ground biomass (AGB) line is the mean of AGB for European grass and herbs compiled from Skulan and DePaolo (1999), Chu et al. (2006), Hindshaw et al. (2013), Moore et al. (2013), Christensen et al. (2018). All silhouettes are taken from www.phylopic.org (Public Domain license). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

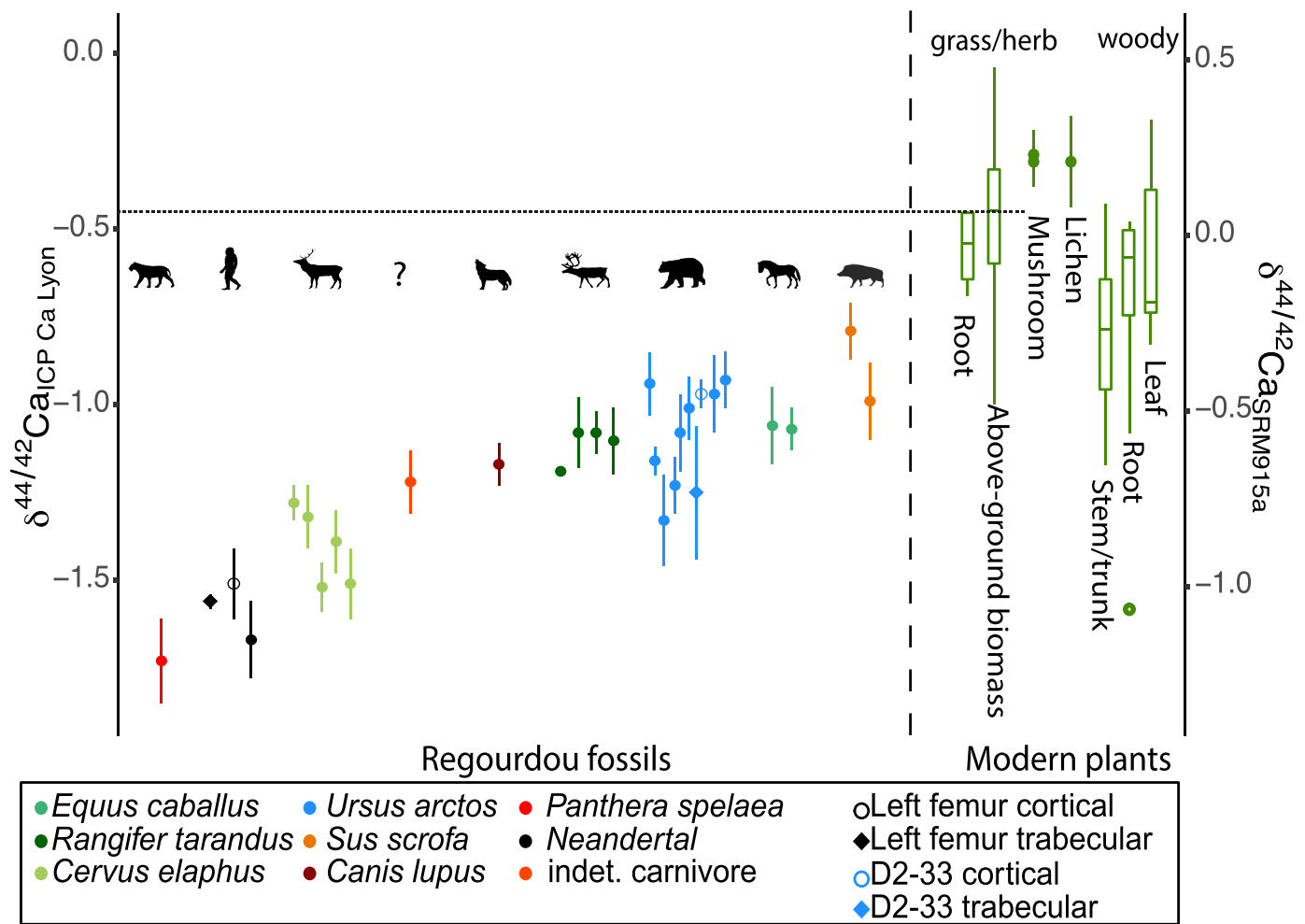
the ingestion of soluble soil particles which have an isotopic composition that is close to zero permil (Tacail, 2017). Fruits and vegetables have generally high  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (Tacail et al., 2019, 2020). The consumption of grains has not been considered in the present study as it is mainly related to agricultural expansion in the Neolithic. Despite a lack of information on the paleoecology of *Sus scrofa*, high  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values in fossil wild boar at Regourdou seem to be in good agreement with current knowledge on the diet of modern boars (Fournier-Chambrillon et al., 1995).

The brown bears (*U. arctos*) display a large variability of their  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, ranging from 0.9‰ to -1.3‰ (SOM Table S1). This can be explained by their highly variable and seasonally omnivorous diet (Robu et al., 2013). The cave bears (*Ursus spelaeus*) at Sclayn (Martin et al., 2017a) do not exhibit such a high Ca isotopic variability because their dietary niche was more restricted than for brown bears. Tooth shape and N isotope suggest an herbivorous diet for this taxon (Bocherens et al., 1994; Pacher and Stuart, 2009). In extant brown bears, meat consumption is described as highly variable depending on the resource (Pacher and Stuart, 2009). Other scavenging behaviors, including necrophagia following hibernation, and bone gnawing, which can be associated with direct bone ingestion, are also reported. The Ca isotope compositions of trabecular and cortical bone of the brown bear (sample D2-33; Fig. 2) support a highly variable diet, their  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values being distinct by about 0.3‰ (Fig. 2), indicating varying Ca dietary sources

during the period of bone formation. Indeed, the turnover is different between trabecular and cortical bone. Patterns of bone remodeling among mammals other than humans, nonhuman primates, or laboratory rodents are poorly documented but are always faster for trabecular than cortical bone. For humans, the bone remodeling rate has been reported to be 25% per year for trabecular bone compared with 3–4% per year for cortical bone (Manolagas, 2000). In addition, hibernation periods could have an impact on the bone Ca isotopic composition. Hibernation induces a physiological period of reduced activity associated with a quantitative turnover of the urea cycle (Barboza et al., 1997). Because the Ca fractionation is most likely driven by renal physiology (Tacail et al., 2020), a possible specific isotopic fractionation could be induced by hibernation. However, the inanition period due to hibernation does not induce bone loss (McGee-Lawrence et al., 2015). Thus, there is little evidence showing that Ca isotope compositions of bone will be affected by hibernation. Collectively, their dietary and hibernation behavior might explain the high Ca isotopic variability observed in brown bears.

#### 4.3. The ecological and physiological significance of calcium isotopes in carnivores

The range of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values among carnivores (~0.6‰) is almost as great as among herbivores (~0.8‰), suggesting highly variable



**Figure 2.** On the left, fossil mammal  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values ( $\text{‰}$  relative to the ICP Ca Lyon standard and SRM915a). Species are ranked from left to right according to their increasing average  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. All samples were measured at least three times; the typical error bar represents the largest 2SD. All silhouettes are taken from [www.phylopic.org](http://www.phylopic.org) (Public Domain license). On the right, distribution of isotope composition of current European plants, compiled from Skulan and DePaolo (1999), Schmitt et al. (2003), Chu et al. (2006) Page et al. (2008), Bagard et al. (2013), Hindshaw et al. (2013), Moore et al. (2013), and Christensen et al. (2018).

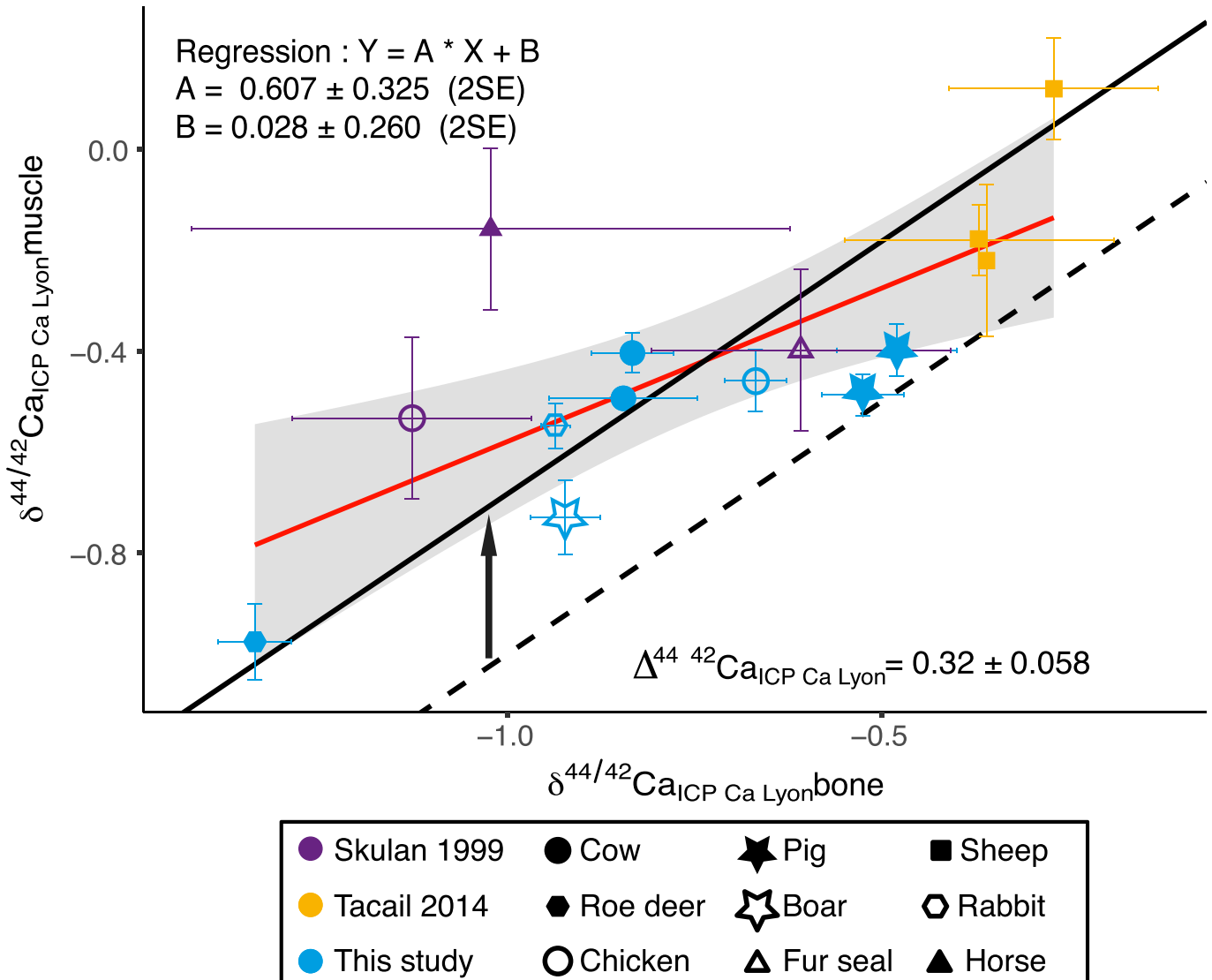
sources of Ca for carnivores. The diet of carnivores is mainly based on meat, i.e., mostly muscle, with possible incorporation of plant matter in smaller quantities (Van Valkenburgh, 1996; Stanek et al., 2017; Gable et al., 2018). Information on the variability of muscle  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values is presently not as robust as for plants. Pairing bone and muscle from a given specimen, considering our values and those compiled from the literature (Skulan and DePaolo, 1999; Tacaïl et al., 2014), allows us to calculate an average  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-muscle}}$  offset value of  $-0.32\text{‰}$  ( $\pm 0.12$ ; 2SE;  $n = 14$ ; Fig. 3). This value complements the spacing between the  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-diet}}$  offset value of  $-0.6\text{‰}$  (Tacaïl et al., 2020) and the trophic level effect between bones of carnivores and herbivores of  $-0.3\text{‰}$  (Tacaïl et al., 2020). Adding  $0.3\text{‰}$  from the bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of herbivores matches the diet  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of carnivores.

Wolves (*C. lupus*) are carnivores but have a generalist diet (Stanek et al., 2017; Gable et al., 2018) being occasional consumers of fish, rodents and berries (Stanek et al., 2017; Gable et al., 2018). The Ca isotopic composition of fish (marine only as there are no data on freshwater fish) and berries is close to  $0\text{‰}$  (Tacaïl, 2017; Tacaïl et al., 2020), and prey such as wild boars and brown bears would explain the relatively high  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of wolf. This holds for the indeterminate carnivore too, which might be a wolf. The

cave lion (*P. spelaea*) has the lowest Ca isotopic composition ( $-1.73\text{‰}$ ) which aligns well with the low Ca isotopic composition of felidae measured by Martin et al. (2018) in the modern ecosystem of Tsavo (Kenya). These low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values evoke a monospecific diet for cave lions as already suggested by C and N isotopes (Bocherens et al., 2011) and could be explained at Regourdou by a diet mainly based on red deer and/or other species with low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, although this must remain speculative as none of these other species are represented in our faunal assemblage.

#### 4.4. The diet of the Regourdou 1 Neandertal

The Regourdou 1 samples display low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values ( $-1.58 \pm 0.16\text{‰}$ ; 2SD;  $n = 3$ ), placing the specimen amid carnivores and supporting the commonly accepted idea that Neandertals mainly relied on meat consumption. Applying a  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-muscle}}$  ( $-0.32 \pm 0.06\text{‰}$ ; SOM Table S1) offset value to bone of herbivores to evaluate their muscle  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value, and a  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-diet}}$  ( $-0.6\text{‰}$ ; SOM Table S1) offset value to the Neandertal, allows us to obtain the theoretical  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the Regourdou 1 diet. Results of this estimate show a diet based on red deer meat and potentially brown bear, wolf and reindeer meat. Although rare, cut marks and

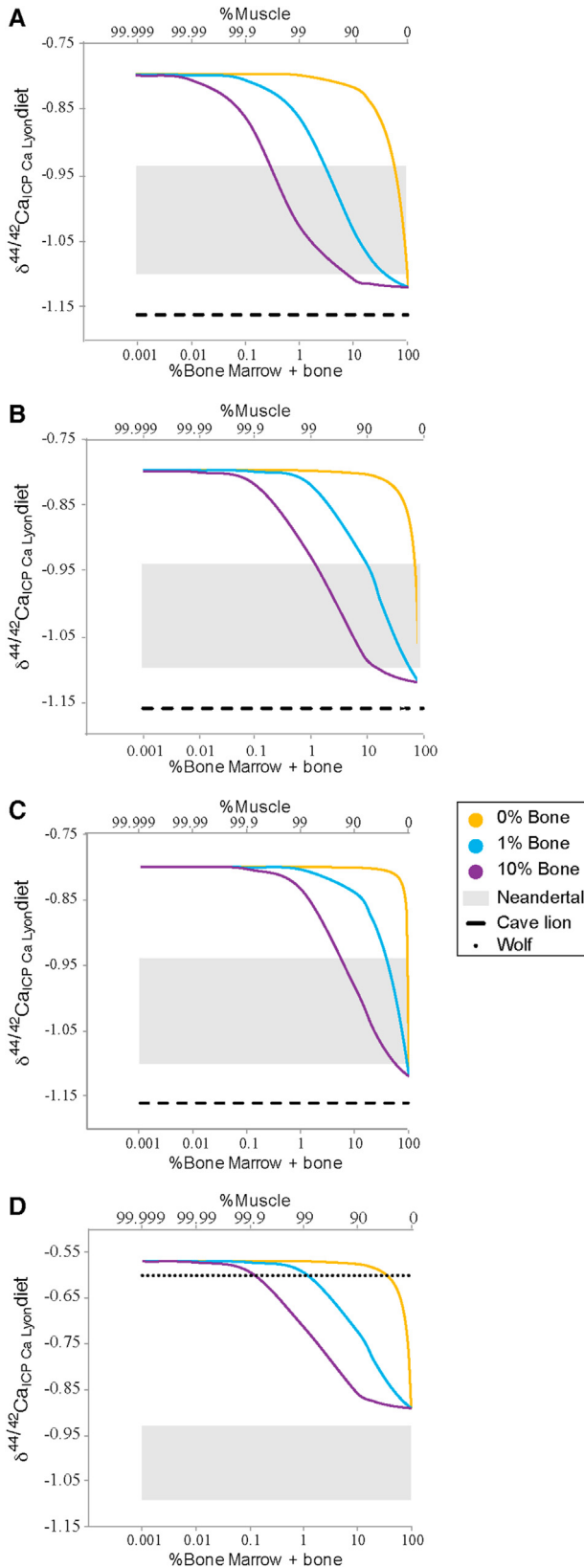


**Figure 3.** Bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values versus muscle  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (‰, relative to ICP Ca Lyon standard). The red line corresponds to the regression line (slope =  $0.607 \pm 0.325$ ; 2SE, intercept =  $0.028 \pm 0.260$ ; 2SE) calculated for all samples analyzed in this study and compiled from the literature (Skulan and DePaolo, 1999; Tacail et al., 2014). The gray area represents the 95% confidence interval for the linear regression. The dotted line is 1:1 and the black line represents the straight line of the equation  $y = x + 0.32$ , corresponding to the average offset between cortical bone and its paired muscle. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)

anthropic fractures of bones of reindeer, red deer and brown bear bones support this estimation (Cavanhié, 2009–2010). Reindeer consumption is excluded because they are only present in layer 2 and absent from the environment of Regourdou 1. Although possible consumption or exploitation of carnivores has been documented at Mousterian sites (Auguste, 1995; Costamagno et al., 2009; Gómez-Olivencia et al., 2018), the generalized consumption of carnivores such as brown bear and wolf seems unlikely given the difficulties of hunting carnivores and the generally low abundance of carnivores in the faunal spectrum of anthropic accumulation. The specialized consumption of red deer is consistent with the C and N isotope studies that have placed Neandertals at the top of the trophic chain and with a dietary preference for large herbivores (Bocherens et al., 2001; Naito et al., 2016).

The fact that the three Neandertal bone samples have similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values is consistent with the bones belonging to the same individual (Madelaine et al., 2008; Gómez-Olivencia et al., 2013; Maureille et al., 2015b). It is interesting to note, however, that the

$\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the trabecular bone sample ( $-1.56\text{‰} \pm 0.02$ ; 2SD) has a  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value that is undistinguishable from that of the cortical bone sample ( $-1.51\text{‰} \pm 0.10$ ; 2SD), contrasting with the large difference for the brown bear. Considering that cortical and trabecular bone tissues have different rates of turnover (Manolagas, 2000), this indicates a relatively stable diet at Regourdou 1 during the time of remobilization of cortical bone and that of trabecular bone. Pairing cortical and trabecular modern bone samples across animal species (Fig. 1; SOM Table S2 and SOM Fig. S6) shows that both tissues have very close  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. This is not surprising because all of these animals, with the exception of wild boars and roe deer, were fed on farms with presumably similar diets. Future studies measuring trabecular and cortical bone from wild mammals will be more informative for testing the existence of possible isotopic heterogeneities that may be characteristic of seasonal dietary adaptations. This could lead to a renewed interest in isotopic signatures of trabecular bone, which reflect recent variation in diet due to its higher rate of remodeling compared with cortical bone



**Figure 4.** Dietary  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (‰, relative to ICP Ca Lyon) as a function of the amount of bone marrow and bone (%) relative to meat, as calculated with a mixed model similar to Heuser et al. (2011). The yellow curve is for 0% by weight of bone in the marrow, the blue curve is for 1% by weight of bone in the marrow and the purple curve is for 10% by weight of bone in the marrow. The gray area represents the expected range of diet  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values for the Regourdou 1 Neandertal individual. The

(Manolagas, 2000), contributing further to our understanding of variation in dietary and hunting behavior.

The great asymmetry between the right and left human femurs found in the Regourdou site raises the possibility that at least two individuals were present (Madelaine et al., 2008; Maureille et al., 2015a). The similarity of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  and the Sr/Ca values of the three samples from the left femur and the left humerus of the Regourdou 1 Neandertal argue for a single individual or implies that both individuals had the same diet. However, there is currently no data on the variability of the Ca isotopic composition for humans at the individual level.

#### 4.5. Calcium isotope trophic shift due to bone consumption

The use of the abovementioned  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-muscle}}$  and  $\Delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{bone-diet}}$  offset values suggest a highly specialized diet, based primarily on red deer, for the Regourdou 1 Neandertal. This monospecific regime is dubious from the standpoint of hunting strategy and other taxa must have been consumed as well (Delpech and Grayson, 2007). Another component needs to be considered to match the very negative  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of the cave lion and the Neandertal. Bone marrow and bone are the most likely candidates (Heuser et al., 2011) and would be consistent with the bone fracture pattern observed at Mousterian sites (Costamagno, 2013; Costamagno and Rigaud, 2013). Using the data obtained on associated bone, bone marrow, and muscle (Fig. 11; SOM Table S2), it is possible to estimate the diet  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value resulting from a mixture of meat and bone or bone marrow (Fig. 4).

The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the dietary source was estimated using a simplified mixing model and compared with the average isotopic composition of the main diet source of Ca of Regourdou 1 ( $-1.01\text{‰} \pm 0.16$ ; 2SD) illustrated by the grayed area in Figure 4. We used the minimum, maximum and average Ca concentrations in muscle ( $[\text{Ca}]_{\text{min}} = 163 \text{ ppm}$ , Fig. 4A;  $[\text{Ca}]_{\text{mean}} = 633 \text{ ppm}$ , Fig. 4B;  $[\text{Ca}]_{\text{max}} = 3228 \text{ ppm}$ , Fig. 4C); on a diet composed with equal proportions of horse, red deer and wild boar, mixed with marrow containing different proportions of bone (0%, 1% and 10% of weight). Changes in the respective contributions of these three taxa will not substantially change the conclusion but will slightly affect the proportion of bone required to explain the Regourdou 1 diet. The consumption of trabecular bone in small proportion (only 0.1 or 1%, being accidental or related to the hominin diet; Costamagno and Rigaud, 2013) during marrow consumption, can explain the isotopic composition of Regourdou 1 and greatly limits the contribution of marrow (<10%) and monospecific hunting. A mixed diet including bone marrow and accidental bone consumption is also probable for the lion. Its lower  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value compared with Regourdou 1, and its stratigraphic position in layer 2, however, suggests a higher proportion of red deer and the presence of reindeer in the diet (Fig. 4A–C). In contrast, the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of the wolf and the indeterminate carnivore  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are incompatible with a mixed diet made up of red deer (Fig. 4A–C). The consumption of prey like boar, brown bear or prey with similar isotope compositions, together with the absence of bone and low marrow ingestion, are more in agreement with the

dashed line represents the expected dietary isotopic composition of the lion. A concentration of 100 ppm of Ca has been used for marrow and a concentration of 40% of Ca for bone. (A) Mixed diet with equal proportion of horse, red deer, and wild boar meat with 163 ppm of Ca. (B) Mixed diet with equal proportion of horse, red deer and wild boar meat with 633 ppm of Ca. (C) Mixed diet with equal proportion of horse, red deer, and wild boar meat with 3228 ppm of Ca. (D) 100% boar diet, meat with 633 ppm of Ca. The average of each species is used for the calculation. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.)



bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of the wolf but not the Regourdou 1 Neandertal (Fig. 4D).

Based on the state of our current knowledge, the Ca isotopic signatures do not allow us to differentiate between meat and plant consumption. As plants and meat have similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, bone consumption thus appears to be the key parameter explaining the generalized decrease in food chains of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values between herbivores and carnivores. The consumption of entire animal prey implies de facto the ingestion of a large part of the skeleton, which is partly digested in the digestive tract of the predator (Massare, 1987; Baquedano et al., 2012). Regarding large mammal carnivores (such as hyena, wolf or lion), the prey is rarely ingested all at once, but bony parts are most often accidentally ingested by the predator along with muscle and organs. For humans, negative  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values will be observed in the case of accidental bone consumption. Archaeological evidence suggests that the ingestion of some trabecular bone during marrow consumption is the most likely explanation. However, the ingestion of other bone parts due to cutting, gnawing or for any social/culinary aspects cannot be excluded. Plant cannot be excluded from the Neanderthal diet (Henry et al., 2011; Hardy et al., 2012) and could replace meat in any proportion, the only constraint being that about 1–10% of the diet must be composed of bone marrow (Fig. 4A–C).

## 5. Conclusions

The use of Ca isotopes allows for the first time the dietary reconstruction of a MIS 5 Neandertal fossil from Southwest of France, Regourdou 1, in the absence of collagen. We show that the Ca isotopic compositions are not affected by diagenesis despite postmortem diagenetic alteration of trace elements (REE, Ba, U, and Mn) of the fossil bones. The results show that the Regourdou 1 Neandertal was predominantly carnivorous, consuming a mixture of various herbivorous prey along with the associated consumption of trabecular bone likely occurring during the ingestion of marrow. The same conclusion can be drawn for the cave lion, with a higher proportion of red deer or other prey with similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values not preserved at Regourdou. In contrast, we show that the wolf and the indeterminate carnivore have a different diet, more enriched in heavy Ca isotopes. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of the fauna exhibit an ecological patterning that awaits further elucidation. Some explanations will probably come from a better knowledge of plant  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  variability, notably in fruits and nuts. Other explanations will arise from an improved understanding of the physiological processes involving Ca metabolism, e.g., kidney function in hibernating species and the influence of rumination and antlerogenesis.

The two main advantages of Ca isotopes over the use of isotopic ratios of trace elements are that the diagenesis of Ca isotopes is unlikely to occur, allowing for the analysis of trabecular bone, and the fact that minute amounts of sample are sufficient for the measurement of the Ca isotopic composition, allowing for collection of material without observable damage to bone and teeth. The potential for renewed interest in trabecular bone isotopic signatures lies in the fact that it could carry information about seasonal dietary changes when studied in comparison with cortical bone. Our preliminary results of cortical versus trabecular bone Ca isotope differences for brown bears suggesting dietary flexibility must be confirmed by further studies on other omnivorous species. Collectively, these advantages are likely to turn Ca isotopes into an essential interpretative tool for studying the evolution of diet in the human lineage.

## Declaration of competing interest

The authors declare no conflict of interest.

## Acknowledgments

We thank an Associate Editor and two anonymous reviewers for their very helpful comments, Jean-Jacques Cleyet-Merle, MNP director, for permission to sample Regourdou's faunal and hominin remains, Véronique Merlin-Anglade, head of the Musée d'Art et d'Archéologie du Périgord and Michèle Constant director of the site museum of Regourdou for permission to sample the Regourdou 1 Neandertal. This project was supported by the ANR (French National Research Agency) project: LabEx Sciences archéologiques de Bordeaux, n° ANR-10-LABX-52, sub-project 'NéMo'. BM and PJD received support from the Research Program of the Nouvelle Aquitaine Region: Neanderthalenses Aquitanensis: Territoires, Chronologie, Humanité convention n° 2016-1R40204-00007349-00007350. BM, VB and PJD received support from the Research Program of the Nouvelle Aquitaine Region: Isotopes du calcium et anthropobiologie au Paléolithique moyen, convention n° 2019-1R40208. AGO received support from the project PGC2018-093925-B-C33 (MCI/AEI/FEDER, UE) of the Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain) and the investigating group IT418–19 of the Eusko Jaurilaritza/Gobierno Vasco. AGO was supported by a Ramón y Cajal fellowship (RYC–2017–22558). TH received support from the Louisiana Board of Regents LEQSF(2015-18)-RD-A-22. PJD, BM and VB received support from the project 80/Prime of the CNRS. JEM was supported by the TelluS Program of CNRS/INSU.

VB and BM designed the project. PJD, TT, and EA designed the isotopic analysis. BM, SM, and AGO helped for sampling. BM, TH, and AGO participated to the global study of Regourdou 1 Neandertal. PJD, BM, and VB wrote the manuscript with contributions from AGO, JEM, and TT.

## Supplementary Online Material

Supplementary online material to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2020.102925>.

## References

- Auguste, P., 1995. Chasse et charognage au Paléolithique moyen: l'apport du gisement de Biache-Saint-Vaast (Pas-de-Calais). *Bull. de la Soc. Préhist. Française* 92, 155–168.
- Bagard, M.-L., Schmitt, A.-D., Chabaux, F., Pokrovsky, O.S., Viers, J., Stille, P., Labolle, F., Prokushkin, A.S., 2013. Biogeochemistry of stable Ca and radiogenic Sr isotopes in a larch-covered permafrost-dominated watershed of Central Siberia. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 114, 169–187.
- Balter, V., Person, A., Labourdette, N., Drucker, D., Renard, M., Vandermeersch, B., 2001. Les Néandertaliens étaient-ils essentiellement carnivores? Résultats préliminaires sur les teneurs en Sr et en Ba de la paléobiocénose mammalienne de Saint-Césaire. Were Neandertaliens essentially carnivores? Sr and Ba preliminary results of the mammalian palaeobiocénosis of Saint-Césaire. *C. R. Acad. Sci. IIA.* 332, 59–65.
- Balter, V., Saliège, J.-F., Bocherens, H., Person, A., 2002a. Evidence of physico-chemical and isotopic modifications in archaeological bones during controlled acid etching. *Archaeometry* 44, 329–336.
- Balter, V., Bocherens, H., Person, A., Renard, M., Labourdette, N., Vandermeersch, B., 2002b. Ecological and physiological variability of Sr/Ca and Ba/Ca in mammals of West European mid-Wurmian foodwebs. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 186, 127–143.
- Balter, V., Lécuyer, C., 2004. Determination of Sr and Ba partitioning coefficients between apatite and water from 5°C to 60°C: A new thermometer for aquatic environments. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 68, 423–432.
- Balter, V., Lécuyer, C., 2010. Determination of Sr and Ba partition coefficients between apatite from fish (*Sparus aurata*) and seawater: the influence of temperature. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 74, 3449–3458.
- Balter, V., Simon, L., 2006. Diet and behavior of the Saint-Césaire Neandertal inferred from biogeochemical data inversion. *J. Hum. Evol.* 51, 329–338.
- Baquedano, E., Domínguez-Rodrigo, M., Musiba, C., 2012. An experimental study of large mammal bone modification by crocodiles and its bearing on the interpretation of crocodile predation at FLK Zinj and FLK NN3. *J. Archaeol. Sci.* 39, 1728–1737.
- Barboza, P.S., Farley, S.D., Robbins, C.T., 1997. Whole-body urea cycling and protein turnover during hyperphagia and dormancy in growing bears (*Ursus americanus* and *U. arctos*). *Can. J. Zool.* 75, 2129–2136.

- Bocherens, H., Fizet, M., Mariotti, A., Lange-Badre, B., Vandermeersch, B., Borel, J.P., Bellon, G., 1991. Isotopic biogeochemistry ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) of fossil vertebrate collagen: Application to the study of a past food web including Neandertal man. *J. Hum. Evol.* 20, 481–492.
- Bocherens, H., Fizet, M., Mariotti, A., 1994. Diet, physiology and ecology of fossil mammals as inferred from stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry: implications for Pleistocene bears. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 107, 213–225.
- Bocherens, H., Billiou, D., Mariotti, A., Toussaint, M., Patou-Mathis, M., Bonjean, D., Otte, M., 2001. New isotopic evidence for dietary habits of Neandertals from Belgium. *J. Hum. Evol.* 40, 497–505.
- Bocherens, H., Drucker, D.G., Bonjean, D., Bridault, A., Conard, N.J., Cupillard, C., Geronpré, M., Höneisen, M., Münzel, S.C., Napierala, H., Patou-Mathis, M., Stephan, E., Uerpman, H.-P., Ziegler, R., 2011. Isotopic evidence for dietary ecology of cave lion (*Panthera spelaea*) in North-Western Europe: Prey choice, competition and implications for extinction. *Quat. Int.* 245, 249–261.
- Bocherens, H., 2013. Stable isotopes. In: *Spy Cave: State of 125 Years of Pluri-disciplinary Research on the Betche-Aux-Rotches from Spy, Anthropologica et Praehistorica*, Bulletin de La Société Royale Belge d'Anthropologie et de Préhistoire. Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Royal Belgian Society of Anthropology and Praehistory & NESPOS Society, Brussels, pp. 357–370.
- Bocherens, H., Diaz-Zorita Bonilla, M., Daujeard, C., Fernandes, P., Raynal, J.-P., Moncel, M.-H., 2016. Direct isotopic evidence for subsistence variability in Middle Pleistocene Neanderthals (Payre, southeastern France). *Quat. Sci. Rev.* 154, 226–236.
- Bonifay, E., 1962. Un ensemble lituel moustérien à la grotte du Regourdou (Montignac, Dordogne). *Actes du IV<sup>e</sup> Congrès de l'UISPP*. II 136–140.
- Bonifay, E., 2002. L'homme de Néandertal et l'ours (*Ursus arctos*) dans la grotte du Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne, France). In: *L'Ours et l'Homme* (Ed.), Actes du Colloque d'Auberivesen-Royans (1997). ERAUL, Liège, pp. 247–254.
- Bonifay, E., 1964. La grotte du Regourdou (Montignac, Dordogne). Stratigraphie et industrie lithique moustérienne. *L'Anthropologie*. 68, 49–64.
- Bonifay, E., Vandermeersch, B., Couture, C., Panattoni, 2007. La sépulture néandertalienne du Regourdou: Montignac-sur-Vézère, Dordogne. Centre d'étude et de recherche sur les lacs, anciens lacs et tourbières du Massif central, Le Puy-en-Velay (Musée Crozatier, Jardins Henri Vinay, 43000).
- Bourgon, N., Jaouen, K., Bacon, A.-M., Jochum, K.P., Dufour, E., Düringer, P., Ponche, J.-L., Joannes-Boyau, R., Boesch, Q., Antoine, P.-O., Hullot, M., Weis, U., Schulz-Kornas, E., Trost, M., Fiorillo, D., Demeter, F., Patole-Edoumba, E., Shackelford, L.L., Dunn, T.E., Zachwieja, A., Duangthongchit, S., Sayavonkhamdy, T., Sichanthongtip, P., Sihanam, D., Souksavathy, V., Hublin, J.-J., Tütken, T., 2020. Zinc isotopes in Late Pleistocene fossil teeth from a Southeast Asian cave setting preserve paleodietary information. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 117 (9), 4675–4681.
- Cáceres, I., Esteban-Nadal, M., Bennàsar, M., Fernández-Jalvo, Y., 2011. Was it the deer or the fox? *J. Archaeol. Sci.* 38, 2767–2774.
- Cavanhié, N., 2009–2010. L'ours qui a vu l'homme? Étude archéozoologique et taphonomique du site paléolithique moyen de Regourdou (Montignac, Dordogne, France). *Paléo* 21, 39–64.
- Christensen, J.N., Qin, L., Brown, S.T., DePaolo, D.J., 2018. Potassium and Calcium Isotopic Fractionation by Plants (Soybean [*Glycine max*], Rice [*Oryza sativa*], and Wheat [*Triticum aestivum*]). *ACS Earth Space Chem.* 2, 745–752.
- Chu, N.-C., Henderson, G.M., Belshaw, N.S., Hedges, R.E.M., 2006. Establishing the potential of Ca isotopes as proxy for consumption of dairy products. *Appl. Geochem.* 21, 1656–1667.
- Costamagno, S., 2013. Bone Grease Rendering in Mousterian Contexts: The Case of Noisetier Cave (Fréchet-Aure, Hautes-Pyrénées, France). In: Clark, J.L., Speth, J.D. (Eds.), *Zooarchaeology and Modern Human Origins, Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 209–225.
- Costamagno, S., Beauval, C., Lange-Badré, B., Mann, A., Maureille, B., Vandermeersch, B., 2009. Homme ou carnivores? Protocole d'études d'ensembles osseux mixtes: L'exemple du gisement moustérien des Pradelles. Marillac-Le-Franc, Charente). *Palethnologie* [online].
- Costamagno, S., Liliane, M., Cédric, B., Bernard, V., Bruno, M., 2006. Les Pradelles (Marillac-le-Franc, France): A mousterian reindeer hunting camp? *J. Anthropol. Archaeol.* 25, 466–484.
- Costamagno, S., Rigaud, J.-P., 2013. L'exploitation de la graisse au Paléolithique. 138e Congrès national des sociétés historiques et scientifiques. Édition électronique du CTHS 134–152.
- Delpéch, F., Grayson, D.K., 2007. Chasse et subsistance aux temps de Néandertal. In: *Les Néandertaliens. Biologie et Cultures, Documents préhistoriques*. Paris, pp. 181–198.
- Discamps, E., 2011. Ph.D. Dissertation. Hommes et hyènes face aux recompositions des communautés d'Ongulés (MIS 5-3): Éléments pour un cadre paléocécologique des sociétés du Paléolithique moyen et supérieur ancien d'Europe de l'Ouest, vol. 1. Université de Bordeaux.
- Drucker, D., Bocherens, H., Mariotti, A., Lévêque, F., Vandermeersch, B., Guadelli, J.-L., 1999. Conservation des signaux isotopiques du collagène d'os et de dents du pléistocène supérieur (Saint-Césaire, France): Implications pour les reconstitutions des régimes alimentaires des néandertaliens. *Bull. Mem. Soc. Anthropol.* Paris 11, 289–305.
- Faith, J.T., Thompson, J.C., 2018. Low-Survival Skeletal Elements Track Attrition, Not Carcass Transport Behavior in Quaternary Large Mammal Assemblages. In: *Giovas, C.M., Lefebvre, M.J. (Eds.), Zooarchaeology in Practice: Case Studies in Methodology and Interpretation in Archaeofaunal Analysis*. Springer International Publishing, Cham, pp. 109–126.
- Fernandez-Jalvo, Y., Andrews, P., 2016. Atlas of vertebrate taphonomic identifications: 1001+ Images of Fossil and Recent Mammal Bone Modification, Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology Series. Springer, Dordrecht Heidelberg New York London.
- Fournier-Chambrillon, C., Maillard, D., Fournier, P., 1995. Diet of the Wild boar (*Sus scrofa L.*) inhabiting the Montpellier garrigue. *J. Mt. Ecol.* 3, 174–179.
- Gable, T.D., Windels, S.K., Bruggink, J.G., Barber-Meyer, S.M., 2018. Weekly Summer Diet of Gray Wolves (*Canis lupus*) in Northeastern Minnesota. *Am. Midl. Nat.* 179, 15–27.
- Gilot, E., 1992. Sclayn: Datation par  $^{14}\text{C}$  du Moustérien final. *Recherches aux grottes de Sclayn. Etudes et Recherches Archéologiques de L'Université de Liège* 1, 173–175.
- Gómez-Olivencia, A., Couture-Veschambre, C., Madelaine, S., Maureille, B., 2013. The vertebral column of the Regourdou 1 Neandertal. *J. Hum. Evol.* 64, 582–607.
- Gómez-Olivencia, A., Sala, N., Núñez-Lahuerta, C., Sanchis, A., Arlegi, M., Rios-Garazar, J., 2018. First data of Neandertal bird and carnivore exploitation in the Cantabrian Region (Axlor; Barandiaran excavations; Dima, Biscay, Northern Iberian Peninsula). *Sci. Rep.* 8, 10551.
- Guérin, C., Philippe, M., Vilain, R., 1979. Le gisement pléistocène supérieur de Jaurès à Nespouls, Corrèze, France: Historique et généralités. *Publications du musée des Confluences* 17, 11–16.
- Hardy, K., Buckley, S., Collins, M.J., Estalrich, A., Brothwell, D., Copeland, L., García-Taberner, A., García-Vargas, S., Rasilla, M. de la, Lalueza-Fox, C., Huguet, R., Bastir, M., Santamaría, D., Madella, M., Wilson, J., Cortés, Á.F., Rosas, A., 2012. Neandertal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. *Naturwissenschaften* 99, 617–626.
- Hassler, A., Martin, J.E., Amiot, R., Tacaïl, T., Godet, F.A., Allain, R., Balter, V., 2018. Calcium isotopes offer clues on resource partitioning among Cretaceous predatory dinosaurs. *Proc. Royal Soc. B*. 285, 20180197.
- Hearney, A.W., Jennings, T.J., 2009. Annual foods of the Red deer (*Cervus elaphus*) and the Roe deer (*Capreolus capreolus*) in the east of England. *J. Zool.* 201, 565–570.
- Henry, A.G., Brooks, A.S., Piperno, D.R., 2011. Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 486–491.
- Heuser, A., Eisenhauer, A., 2008. The Calcium Isotope Composition ( $\delta^{44}\text{Ca}$ ) of NIST SRM 915b and NIST SRM 1486. *Geostand. Geoanal. Res.* 32, 311–315.
- Heuser, A., Eisenhauer, A., Scholz-Ahrens, K.E., Schrezenmeir, J., 2016a. Biological fractionation of stable Ca isotopes in Göttingen minipigs as a physiological model for Ca homeostasis in humans. *Isot. Environ. Health Stud.* 52, 633–648.
- Heuser, A., Schmitt, A.-D., Gussone, N., Wombacher, F., 2016b. Analytical Methods. In: *Calcium Stable Isotope Geochemistry, Advances in Isotope Geochemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 23–73.
- Heuser, A., Tütken, T., Gussone, N., Galer, S.J.G., 2011. Calcium isotopes in fossil bones and teeth — Diagenetic versus biogenic origin. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 75, 3419–3433.
- Hindshaw, R.S., Reynolds, B.C., Wiederhold, J.G., Kiczka, M., Kretzschmar, R., Bourdon, B., 2013. Calcium isotope fractionation in alpine plants. *Biogeochemistry* 112, 373–388.
- Hofmann, R.R., 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia* 78, 443–457.
- Hublin, J.-J., Richards, M.P., 2009. The evolution of hominin diets: integrating approaches to the study of Palaeolithic subsistence, Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology Series. Springer Science & Business Media.
- Jaouen, K., Balter, V., Herrscher, E., Lamboux, A., Teloux, P., Albarède, F., 2012. Fe and Cu stable isotopes in archeological human bones and their relationship to sex. *Am. J. Phys. Anthropol.* 148, 334–340.
- Jaouen, K., Herrscher, E., Balter, V., 2017. Copper and zinc isotope ratios in human bone and enamel. *Am. J. Phys. Anthropol.* 162, 491–500.
- Jaouen, K., Pons, M.-L., Balter, V., 2013. Iron, copper and zinc isotopic fractionation up mammal trophic chains. *Earth Planet Sci. Lett.* 374, 164–172.
- Jaouen, K., Richards, M.P., Cabec, A.L., Welker, F., Rendu, W., Hublin, J.-J., Soressi, M., Talamo, S., 2019. Exceptionally high  $\delta^{15}\text{N}$  values in collagen single amino acids confirm Neandertals as high-trophic level carnivores. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 116, 4928–4933.
- Jiménez-Arenas, J.M., Pérez-Claros, J.A., Aledo, J.C., Palmqvist, P., 2014. On the relationships of postcanine tooth size with dietary quality and brain volume in Primates: Implications for hominin evolution. *BioMed Res. Int.* 1–11.
- Kierdorf, U., 1994. A further example of long-bone damage due to chewing by deer. *Int. J. Osteoarchaeol.* 4, 209–213.
- Knudson, K.J., Williams, H.M., Buikstra, J.E., Tomczak, P.D., Gordon, G.W., Anbar, A.D., 2010. Introducing  $\delta^{88}\text{Sr}/\delta^{86}\text{Sr}$  analysis in archaeology: A demonstration of the utility of strontium isotope fractionation in paleodietary studies. *J. Archaeol. Sci.* 37, 2352–2364.
- Madelaine, S., Maureille, B., Cavanhié, N., Couture-Veschambre, C., Bonifay, E., Armand, D., Bonifay, M.-F., Duda, H., Fosse, P., Vandermeersch, B., 2008. Nouveaux restes humains moustériens rapportés au squelette néandertalien de Regourdou 1 (Regourdou, commune de Montignac, Dordogne, France). *Paléo* 20, 101–114.
- Manolagas, S.C., 2000. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr. Rev.* 21, 115–137.

- Marín, J., Saladié, P., Rodríguez-Hidalgo, A., Carbonell, E., 2017. Neanderthal hunting strategies inferred from mortality profiles within the Abric Romani sequence. *PLoS One* 12, e0186970.
- Martin, J.E., Tacail, T., Balter, V., Smith, A., 2017a. Non-traditional isotope perspectives in vertebrate palaeobiology. *Palaeontology* 60, 485–502.
- Martin, J.E., Tacail, T., Cerling, T.E., Balter, V., 2018. Calcium isotopes in enamel of modern and Plio-Pleistocene East African mammals. *Earth Planet Sci. Lett.* 503.
- Martin, J.E., Vance, D., Balter, V., 2014. Natural variation of magnesium isotopes in mammal bones and teeth from two South African trophic chains. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 130, 12–20.
- Martin, J.E., Vance, D., Balter, V., 2015. Magnesium stable isotope ecology using mammal tooth enamel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112, 430–435.
- Martin, J.E., Vincent, P., Tacail, T., Khaldoune, F., Jourani, E., Bardet, N., Balter, V., 2017b. Calcium isotopic evidence for vulnerable marine ecosystem structure prior to the K/Pg extinction. *Curr. Biol.* 27, 1641–1644.
- Martin, P.J., 1982. Digestive and grazing strategies of animals in the arctic steppe. In: Hopkins, D.M., Matthews Jr., J.V., Schweger, C.E., Young, S.B. (Eds.), *Paleoecology of Beringia*. Academic Press, New York, pp. 259–266.
- Massare, J.A., 1987. Tooth morphology and prey preference of Mesozoic marine reptiles. *J. Vertebr. Paleontol.* 7, 121–137.
- Maureille, B., Gómez-Olivencia, A., Couture-Veschambre, C., Madelaine, S., Holliday, T., 2015a. Nouveaux restes humains provenant du gisement de Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne, France). *Paléo* 26, 117–138.
- Maureille, B., Holliday, T., Royer, A., Pelletier, M., Madelaine, S., Lacrampe-Cuyaubère, F., Muth, X., Le Gueut, E., Couture-Veschambre, C., Gómez-Olivencia, A., 2015b. Importance des données de terrain pour la compréhension d'un potentiel dépôt funéraire moustérien: le cas du squelette de Regourdou 1 (Montignac-sur-Vézère, Dordogne, France). *Paléo* 20, 139–159.
- Maureille, B., Bruxelles, L., Couture-Veschambre, C., Discamps, E., Gomez-Olivencia, A., Holliday, T., Lacrampe-Cuyaubère, F., Le Gueut, E., Lahaye, C., Madelaine, S., Muth, X., Pelletier, M., Royer, A., Texier, J.P., Turq, A., 2017. Regourdou (Commune de Montignac, Dordogne). Rapport de prospection thématique.
- Maureille, B., Holliday, T., Royer, A., Pelletier, M., Couture-Veschambre, C., Discamps, E., Gomez-Olivencia, A., Lahaye, C., Le Gueut, E., Lacrampe-Cuyaubère, F., Madelaine, S., Muth, X., Texier, J.-P., Turq, A., 2016. New data on the possible Neanderthal burial at Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne, France). In: *Qu'est-Ce Qu'une Sépulture? Humanités et Systèmes Funéraires de La Préhistoire à Nos Jours. Actes des XXXVIe rencontres internationales d'archéologie et d'histoire d'Antibes*: éditions APDCA, pp. 175–191.
- McGee-Lawrence, M., Buckendahl, P., Carpenter, C., Henriksen, K., Vaughan, M., Donahue, S., 2015. Suppressed bone remodeling in black bears conserves energy and bone mass during hibernation. *J. Exp. Biol.* 218, 2067–2074.
- Melin, A.D., Crowley, B.E., Brown, S.T., Wheatley, P.V., Moritz, G.L., Yit Yu, F.T., Bernard, H., DePaolo, D.J., Jacobson, A.D., Dominy, N.J., 2014. Calcium and carbon stable isotope ratios as paleodietary indicators. *Am. J. Phys. Anthropol.* 154, 633–643.
- Moore, J., Jacobson, A.D., Holmden, C., Craw, D., 2013. Tracking the relationship between mountain uplift, silicate weathering, and long-term CO<sub>2</sub> consumption with Ca isotopes: Southern Alps, New Zealand. *Chem. Geol.* 341, 110–127.
- Naito, Y.I., Chikaraishi, Y., Drucker, D.G., Ohkouchi, N., Semal, P., Wißing, C., Bocherens, H., 2016. Ecological niche of Neanderthals from Spy Cave revealed by nitrogen isotopes of individual amino acids in collagen. *J. Hum. Evol.* 93, 82–90.
- Pacher, M., Stuart, A.J., 2009. Extinction chronology and palaeobiology of the cave bear (*Ursus spelaeus*). *Boreas* 38, 189–206.
- Page, B.D., Bullen, T.D., Mitchell, M.J., 2008. Influences of calcium availability and tree species on Ca isotope fractionation in soil and vegetation. *Biogeochemistry* 88, 1–13.
- Patou-Mathis, M., 2000. Neanderthal subsistence behaviours in Europe. *Int. J. Osteoarchaeol.* 10, 379–395.
- Pelletier, M., Royer, A., Holliday, T.W., Discamps, E., Madelaine, S., Maureille, B., 2017. Rabbits in the grave! Consequences of bioturbation on the Neanderthal "burial" at Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne). *J. Hum. Evol.* 110, 1–17.
- Puech, P.-F., Albertini, H., Serratrice, C., 1983. Tooth microwear and dietary patterns in early hominids from Laetoli, Hadar and Olduvai. *J. Hum. Evol.* 12, 721–729.
- R Core Team, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. Retrieved from: <https://www.R-project.org/>.
- Reynard, L.M., Henderson, G.M., Hedges, R.E.M., 2010. Calcium isotope ratios in animal and human bone. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 74, 3735–3750.
- Reynard, L.M., Pearson, J.A., Henderson, G.M., Hedges, R.E.M., 2013. Calcium isotopes in juvenile milk-consumers. *Archaeometry* 55, 946–957.
- Robu, M., Fortin, J.K., Richards, M.P., Schwartz, C.C., Wynn, J.G., Robbins, C.T., Trinkaus, E., 2013. Isotopic evidence for dietary flexibility among European Late Pleistocene cave bears (*Ursus spelaeus*). *Can. J. Zool.* 91, 227–234.
- Schmitt, A.-D., Chabaux, F., Stille, P., 2003. The calcium riverine and hydrothermal isotopic fluxes and the oceanic calcium mass balance. *Earth Planet Sci. Lett.* 213, 503–518.
- Skulan, J., DePaolo, D.J., 1999. Calcium isotope fractionation between soft and mineralized tissues as a monitor of calcium use in vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 13709–13713.
- Skulan, J., DePaolo, D.J., Owens, T.L., 1997. Biological control of calcium isotopic abundances in the global calcium cycle. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 61, 2505–2510.
- Stanek, A.E., Wolf, N., Hilderbrand, G.V., Mangipane, B., Causey, D., Welker, J.M., 2017. Seasonal foraging strategies of Alaskan gray wolves (*Canis lupus*) in an ecosystem subsidized by Pacific salmon (*Oncorhynchus spp.*). *Can. J. Zool.* 95, 555–563.
- Tacail, T., 2017. Physiologie isotopique du calcium chez les mammifères. Ph.D. Dissertation. Université de Lyon.
- Tacail, T., Albalat, E., Télouk, P., Balter, V., 2014. A simplified protocol for measurement of Ca isotopes in biological samples. *J. Anal. At. Spectrom.* 29, 529–535.
- Tacail, T., Le Houedec, S., Skulan, J.L., 2020. New frontiers in calcium stable isotope geochemistry: Perspectives in present and past vertebrate biology. *Chem. Geol.* 119471.
- Tacail, T., Martin, J.E., Arnaud-Godet, F., Thackeray, J.F., Cerling, T.E., Braga, J., Balter, V., 2019. Calcium isotopic patterns in enamel reflect different nursing behaviors among South African early hominins. *Sci. Adv.* 5, eaax3250.
- Van Valkenburgh, B., 1996. Feeding behavior in free-ranging, large African carnivores. *J. Mammal.* 77, 240–254.
- Wißing, C., Rougier, H., Crevecoeur, I., Germonpré, M., Naito, Y.I., Semal, P., Bocherens, H., 2016. Isotopic evidence for dietary ecology of late Neanderthals in North-Western Europe. *Quat. Int.* 411, 327–345. Middle Palaeolithic in North-West Europe: Multidisciplinary Approaches.

## C. Regourdou et la Grotte du Bison

### a. Introduction

Comme nous avons pu le voir au cours du résumé sur l'alimentation néandertalienne (Partie I, Chapitre 2. B. Un régime alimentaire varié), les preuves d'une alimentation végétale par les néandertaliens sont nombreuses. Malheureusement les outils géochimiques peinent à démontrer cette diversité. Dans ce chapitre, nous montrons qu'il est possible de concilier les preuves de diversité alimentaire des néandertaliens avec les mesures géochimiques. Cette étude présentée dans un article en cours de révision par *iScience* se propose d'étudier trois individus néandertaliens à l'aide des isotopes du calcium. Afin d'améliorer notre compréhension de l'alimentation des néandertaliens, nous avons intégré à cette étude l'utilisation d'un modèle de mélange bayésien prenant en compte plusieurs sources alimentaires telles que les espèces monogastriques et digastriques présentes sur les sites mais aussi une moyenne de la végétation européenne actuelle. Le modèles de mélanges bayésiens sera par la suite appliquée aux autres individus analysés dans cette thèse selon des paramètres similaires.

### b. Article "*Diverse bone calcium isotope compositions in Neandertals suggest different dietary customs*"

Résumé français : Les preuves archéo-zoologiques et géochimiques suggèrent que les néandertaliens ont toujours été des grands carnivores, mais leur pratique d'un régime strictement carnivore est remise en question. Des études récentes ont démontré le potentiel des isotopes stables du calcium pour évaluer les relations trophiques et écologiques en utilisant une méthode impliquant un échantillonnage destructif minimal du matériel fossile et permettant ainsi d'analyser plusieurs individus. Ici, nous mesurons les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  dans des échantillons osseux provenant des sites moustériens de la Grotte du Bison (MIS 3, Yonne, France) et de Regourdou (MIS 5, Dordogne, France) chez deux individus néandertaliens, de la faune associée et des plantes locales actuelles. Nous utilisons un modèle de mélange bayésien (MixSIAR) pour estimer la composition de l'alimentation des différents individus néandertaliens plus d'un troisième précédemment analysé. Les résultats révèlent trois régimes alimentaires distincts : un régime incluant une consommation accidentelle ou volontaire d'aliments à base d'os, un régime mixte et un régime avec une faible consommation d'aliments à base d'os. Ces résultats constituent la première démonstration de stratégies de subsistance aussi diverses chez les néandertaliens et, à ce titre, « réconcilient » données

archéologiques et géochimiques.

Article:

***“Diverse bone calcium isotope compositions in Neandertals suggest different dietary customs”***

Pierre-Jean Dodat <sup>a, b\*</sup>, Vincent Balter <sup>a</sup>, Emmanuelle Albalat <sup>a</sup>, Juliette Henrion <sup>b</sup>, Trenton Holliday <sup>c, d</sup>, Christine Couture-Veschambre <sup>b</sup>, Maurice Hardy <sup>c</sup>, Bruno Maureille <sup>b</sup>

Addresses

a. Laboratoire de Géologie de Lyon : Terre, Planètes, Environnements. UMR 5276, CNRS, Ecole Normale supérieure de Lyon. 46 Allée d'Italie, 69342 Lyon Cedex 07, France.

b. Univ. Bordeaux, CNRS, MC, PACEA UMR 5199, F-33600 Pessac France.

c. Tulane University; Department of Anthropology, 101 Dinwiddie Hall, New Orleans, Louisiana 70118, USA.

d. University of the Witwatersrand; Centre for the Exploration of the Deep Human Journey, Private Bag 3, Wits 2050, Republic of South Africa.

e. CNRS, UMR 7041, Univ. Nanterre, Ministère de la Culture, ArScAn, 92000 Nanterre, France

\*Correspondence : [pierre-jean.dodat@ens-lyon.fr](mailto:pierre-jean.dodat@ens-lyon.fr)

NB: Dans un souci de clarté les figures et tables ont été intégrés directement dans le corps du texte.

### Summary (<200 words)

Zooarcheological and geochemical evidence suggests Neandertals were top predators, but their adherence to a strictly carnivorous diet has been questioned. Recent studies have demonstrated the potential of calcium stable isotopes to evaluate trophic and ecological relationships, and since this method involves minimal destructive sampling of fossil material, it allowed several individuals to be analyzed. Here, we measure the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values in bone samples from Mousterian contexts at Grotte du Bison (MIS 3, Yonne, France) and Regourdou (MIS 5, Dordogne, France) in two Neandertal individuals, associated fauna, and living local plants. We use a Bayesian mixing model (MixSIAR) to estimate the dietary composition of these Neandertal individuals, plus a third one already analysed. The results reveal three distinct diets: a diet including accidental or voluntary consumption of bone-based food, a mixed diet, and a diet without consumption of bone-based food. This finding is the first demonstration of diverse subsistence strategies among Neandertals and as such, reconciles archaeological and geochemical dietary evidence.

### Introduction

The recent first analysis of calcium stable isotope composition ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ ) of Neandertal remains <sup>1</sup> illustrated how Ca stable isotopes can be used to reconstruct dietary habits of Neandertals. The results of this study agreed with traditional isotopic data (primarily nitrogen) previously obtained on Neandertal remains <sup>2-4</sup>: specifically, the Regourdou 1 individual has a carnivorous diet which must have included a significant proportion of bone or bone marrow <sup>1</sup>. While the nitrogen isotope results are consistent with zooarchaeological data showing that Neandertals were highly competent hunter-gatherers, a primarily meat-based diet raises the conundrum of a diet potentially lacking essential nutrients. In nutritional terms, the consumption of a protein-based diet is an effective way to provide energy to the body but is also a diet that lacks many essential nutrients, vitamins, or carbohydrates <sup>5</sup>, creating potential deficiencies that could impact fertility and foetal mortality <sup>6</sup>. In fact, humans cannot tolerate a diet composed of more than 35-40% protein no matter its origin (animal or vegetal) <sup>5-7</sup>. Ethnographic studies have shown that if hunter-gatherers obtain more than 50% of their energy from animal sources <sup>7</sup>, the consumption of animal fat containing little, or no protein inhibits protein toxicity. Under these conditions, the remaining energy is provided by vegetal sources <sup>6,7</sup>. Taking these metabolic arguments into account, it is unlikely Neandertals had a diet of ca. 100% (primarily ungulate) meat. Rather, a proportion on the order of 60-70% of the energy coming from animal sources (meat and fat) would better fit metabolic and ethnographic data <sup>7</sup>. Recent discoveries at the Figueira Brava site on Portugal's Atlantic coast have even painted

a picture of a very broad food spectrum for Neandertals, including terrestrial (animal and vegetable) and marine resources <sup>8</sup>.

The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is one proxy for studying Neandertal diet <sup>1,9</sup>, but unfortunately, it cannot evaluate the proportion of consumed animal soft tissues versus plant material because the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of these two components is similar <sup>10</sup>. The Ca isotope composition is however a very efficient trophic proxy when applied to predators consuming whole prey, because bone, with its extremely negative  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value, is eaten along with the soft edible parts <sup>11,12</sup>. The situation becomes more complicated in mammals because medium- to large-sized predators do not ingest bone deliberately, except for hyenas and to a lesser degree canids <sup>13-18</sup>. Bone and bone marrow have similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values but because of the distinct Ca concentrations of bone marrow, meat, and fresh bone (0.01%, 0.6% and 20%, respectively), a diet with a negative  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value is indicative of accidental or voluntary bone consumption <sup>1,15-18</sup>. The archaeological evidence suggests that the ingestion of some trabecular bone during yellow marrow consumption, or via social/culinary practice is the most likely hypothesis to explain bone consumption among human populations <sup>6,19</sup>.

Calcium is the main cationic constituent of hydroxylapatite (~40% wt), the primary mineral component of bone and dental tissues. Diagenesis has been recognized for decades to be pervasive for trace elements in fossil hydroxylapatite (e.g., <sup>20,21</sup>). Trace elements generally accumulate in secondary minerals (usually calcite) or ultimately, during hydroxylapatite recrystallisation subsequent to a Ca substitution process. However, the diagenesis of Ca should not be as pervasive as it is for trace elements for two main reasons. First, mass balance calculations between a fossil bone or tooth and the diagenetic soil water predict only limited diagenesis because the Ca concentration in ground water is negligible relative to that in hydroxylapatite, or marked diagenesis would require unrealistic groundwater  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values <sup>16</sup>. Second, the diagenetic Ca in fossil bone and dental tissues can be removed via leaching protocols based on the higher solubility of calcite relative to hydroxylapatite <sup>22-25</sup>. Therefore, the existence of remaining secondary Ca after a leaching protocol is unlikely, unless diagenetic Ca had been incorporated into the hydroxylapatite during recrystallisation <sup>25</sup>. Beyond the potentially strong resistance to diagenesis of bone Ca isotopes, the fact that Ca is the main cationic constituent of hydroxylapatite offers a second advantage – a very small sample requirement. Calcium isotope compositions are routinely measured at 1.5  $\mu\text{g/mL}$  on multi-collection inductively coupled plasma mass spectrometer (MC-ICPMS). Three runs are generally performed and leaching usually induces an initial sample mass loss of 30-50%, so theoretically ca. 20  $\mu\text{g}$  of bone sample is sufficient for processing. However, in practice, such a tiny amount of material cannot be handled during sample preparation. About 200  $\mu\text{g}$  of material, which can be obtained using micro-sampling



techniques<sup>10</sup>, is the amount barely visible to the naked eye, and is therefore easy to handle. This comes, however, with a potential flaw, which is the possible significant variability of the Ca isotope composition. It is likely to take advantage of this variability when using tooth enamel because the position of the micro-sampling can be controlled and reported as a function of dental age and because enamel does not remodel. Tacail et al.<sup>10</sup> for instance use such dental age reconstructions to study the age at weaning of South African hominins. When using bone, it is not possible to infer the age at which bone formed and eventually remodelled, and a tiny sample amount of about 1 mg (which is the typical size used in the present study) might record unusual life-history information. Thus, we are faced with the persistent issue that, in order to get a certain degree of reproducibility for an averaged value, a larger sample size is required the more heterogeneous a material is. A substantial scattering of the Ca isotope compositions is therefore expected, which will depend on lactation, gestation, dietary shift, species-specific metabolic trait, or a combination thereof<sup>9</sup>. During this study a bear bone was collected from two areas of the bone, these are samples R35 and R33, these samples show no significant difference in their isotopic composition.

The present study presents Ca isotope compositions measured on a Neandertal individual and eleven different faunal taxa from the Grotte du Bison archaeological site in Bourgogne (France), and on a second Neandertal individual and two new faunal taxa from the Regourdou archaeological site in the Black Périgord (France)<sup>1</sup>. We also consider another Neandertal individual already analysed<sup>1</sup> and then characterize the diet of these three Neandertals using a Bayesian mixing model (MixSIAR) based on the measured  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (Methods).

### Results

All results are given in Table S1 and are reported in the text with two standard deviations ( $\pm 2\text{SD}$ ) unless otherwise specified. As mentioned above, the measurement of Ca isotope compositions in bone necessitates only the smallest of samples for conservative issues. After leaching, the remaining bone residue was often so small that it was impossible to weigh it (Methods). The concentrations of major and trace elements are thus Ca-normalized.

#### *Calcium diagenesis*

The diagenesis of Ca was evaluated by testing for a correlation between the Ca/P (which could track potential excess Ca) and the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values on the one hand, and diagenetic proxies (Fe/Ca, Mg/Ca, Mn/Ca, U/Ca and  $\Sigma\text{REE}/\text{Ca}$ ) on the other. At the Grotte du Bison, the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are negatively correlated with the  $\Sigma\text{REE}/\text{Ca}$



ratio, albeit not significantly after a Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons (Pearson BH-adjusted  $p$ -value = 0.087, Figure S1). At Regourdou, the Ca/P values are significantly correlated (Pearson BH-adjusted  $p$ -value\* = 0.017), with the  $\sum\text{REE}/\text{Ca}$  ratio (Figure S1). Examination of the individual relationships reveals that these correlations are induced by single values: a wolf specimen (B42, Table S1; Figure S2) at the Grotte du Bison, and a lion specimen (R43, Table S1; Figure S3) at Regourdou. The negative association between the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value and the  $\sum\text{REE}/\text{Ca}$  ratio of the B42 specimen does not suggest diagenetic overprint because altered bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values tend to be more positive, not negative<sup>16</sup>. The Ca/P ratio of the R43 specimen (2.72, Table S1) is at the upper limit of the 1.9 to 2.7 range, indicative of the stoichiometry of hydroxylapatite<sup>26,27</sup>. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of the R43 specimen is also negative (-1.13‰, Table S1). Taken together, these results suggest that bone Ca/P and  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are not affected by significant diagenesis at either the Grotte du Bison or Regourdou.

It is important to note that the Arcy 2015 BIS J T14 12 *Canis lupus* sample has an unexpectedly high  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value ( $-0.50 \pm 0.10\text{‰}$ ) and shows clear signs of digestion (Figure S4). This can be explained by the partial digestion of the bone which would have preferentially removed light Ca isotopes by kinetic fractionation. This sample will therefore not be further considered.

Calcium isotope compositions

The observed linear correlation between the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  and  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  values (Figure S5) agrees with the expected mass-dependent fractionation slope of  $\sim 0.5^{55}$ . All  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are given in Table S1 and shown in Figure 1.

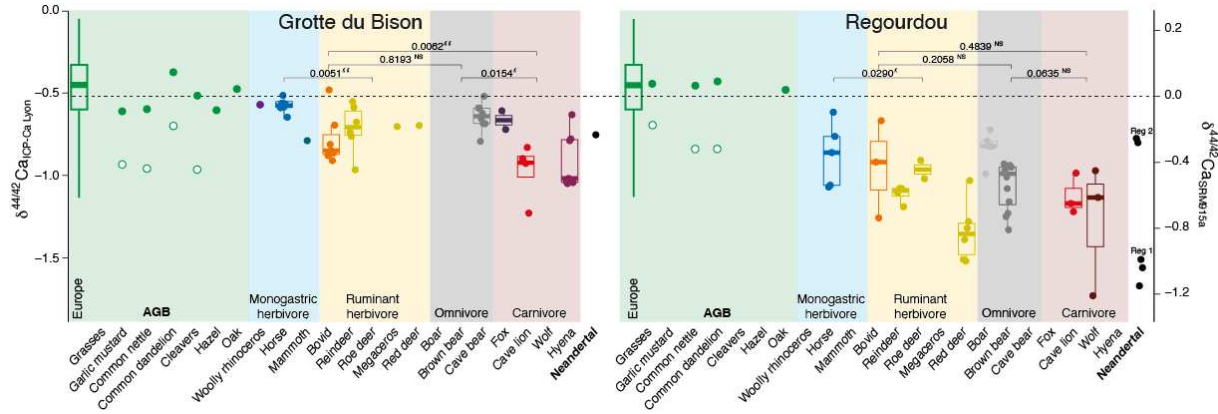


Figure 1: **Distribution par espèce des valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  à la Grotte du Bison et au Regourdou.** La ligne en pointillé donne la correspondance entre les valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  relatives au ICP-Ca Lyon et au SRM915a. AGB signifie "biomasse aérienne". Les symboles vide et plein pour les échantillons végétaux représentent respectivement les tiges et les feuilles. Les valeurs P des tests de Wilcoxon sont indiquées avec NS P non significatif, \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ . *Species-specific distribution of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values at the Grotte du Bison and Regourdou.* The dotted line gives the correspondence between  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values relative to ICP-Ca Lyon and SRM915a. AGB stands for "aboveground biomass". Open and filled symbols for vegetal samples stand for stem and leaf, respectively. P-values of Wilcoxon tests are given with NS P non-significant, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

A first observation is that there is intra-specific  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  variability that can be significant for some ruminant taxa, notably cervids. A second observation is that cervids have generally low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, comparable to carnivores. These two observations have also been made by other authors in cervid's enamel<sup>28</sup>. The variability observed here should be attributable to the small sample size rather than the use of bone material. It is tempting to explain the cervid low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values by the formation of  $^{44}\text{Ca}$ -enriched antlers<sup>29</sup>. A pilot investigation<sup>29</sup> highlighted that one antler of a modern red deer displays  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values significantly higher than the rest of the skeleton (c.a.  $\leq 0.2\text{‰}$ ), but this represents a too small fractionation to account for the very low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of cervids relative to other mammals. Further studies are necessary to clarify the influence of antlerogenesis on cervid bone and enamel low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. An obvious source of Ca isotope variability for herbivores is that of the local vegetal sources. Here, we show that plant stems have significantly lower  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values than leaves (Figure 1), a pattern previously observed by multiple authors and compiled by Tacail *et al.*<sup>8</sup>. Because stems and roots have similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values<sup>9,10</sup>, the intra-organ Ca isotope difference between leaves and roots, the edible parts of a plant, is an additional source of Ca isotope variability among herbivores. The accepted mechanism to explain the decrease of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values up trophic chain is bone consumption<sup>11–18</sup>. Hyenas, and to a lesser degree canids,

are recognized to be regular bone crushers and are known to usually exhibit extremely negative  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values<sup>15,17,29</sup>. This is also the case at the Grotte du Bison, but the absence of hyenas at Regourdou unfortunately prevents us from assessing where this peculiar dietary behaviour stands on the isotopic scale. The range of variation of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values is important for carnivores, e.g., c.a. 0.7‰ for wolf at Regourdou or c.a. 0.8‰ for lion at the Grotte du Bison (Figure 1). This observation has also been made in other studies on enamel<sup>11,28</sup> thus, rather than the usage of bone material, the variability seen here should be attributed to the increased probability of integrating an unusual Ca isotope signal due the small sample size. Finally, a potential drawback of using bone instead of enamel is that an accurate diagnosis is at times ambiguous, especially when a fossil piece lacks diagnostic characters. We took special care to sample only well-diagnosed material, but we cannot discount the possibility of incorrect species attribution, especially for carnivores. Despite this caveat, we note that there is a species-specific distribution of the Ca isotope value at both sites, with monogastric herbivores having the highest  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, ruminant herbivores and omnivores showing intermediate  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values and, carnivores having the lowest  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (Figure 1). The statistical results of pairwise comparisons, which support these observations, are given in Figure 1. The observed Ca isotope systematic variability in the faunal assemblage is similar to that reported at Selayn and Jaurens<sup>16,28</sup>. The absence of significant differences between herbivores and carnivores at Regourdou is due to the very low  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of red deer ( $-1.34 \pm 0.18\%$ ,  $n = 6$ ). A final observation is that the average  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values at Grotte du Bison ( $-0.72 \pm 0.37\%$ ,  $n = 46$ ) are significantly higher (Wilcoxon  $p$ -value\*\*\* =  $10^{-10}$ ) than at Regourdou ( $-1.09 \pm 0.52\%$ ,  $n = 48$ ). The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  offset between the two sites is close to 0.4‰ and affects all taxa present at both sites (0.64‰ for red deer, 0.37‰ for reindeer, 0.34‰ for horse, 0.25‰ for wolf and 0.12‰ for bovid, Table S1). The difference between cave bear from the Grotte du Bison and brown bear from Regourdou is 0.42‰. This difference is compatible with the general offset between the two sites and is not indicative of different dietary patterns, as suggested from nitrogen isotopes<sup>30</sup>. The  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  offset between the two sites could be due to Ca isotope variability at the bottom of the food web (water and/or soil). A range of 0.74‰ is measured in a global compilation of 52 water samples around the world<sup>31</sup>, which is compatible with the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  offset observed between Grotte du Bison and Regourdou. Several studies (e.g.,<sup>31-33</sup>) suggest that the Ca isotope fractionation between plant organs is similar whatever the species. However, these studies also suggest that the Ca isotope fractionation between soil and plant organs is more specific and likely linked to the type of plant or the local soil environment<sup>34</sup>. This suggests that the local geology and vegetation types may have an impact on the initial Ca isotope composition of a trophic chain. To unravel the respective influence of local geology and vegetation types, we analysed vegetal (grasses, garlic mustard, common nettle and dandelion, cleavers, hazel, and

oak; Table S1) collected in the vicinity of the Grotte du Bison and Regourdou archaeological sites. The results reveal similar  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values at both sites, i.e.,  $-0.67 \pm 0.21\text{‰}$  ( $n = 10$ ) and  $-0.60 \pm 0.19\text{‰}$  ( $n = 7$ ) at Grotte du Bison and Regourdou, respectively (Figure 1; Table S1), and therefore do not explain the observed bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  offset between the two sites. A potential explanation is that these living plants are likely not representative of those that grew locally, or were consumed, tens of thousands of years ago. The plant communities must have been different because the Grotte du Bison is dated to the MIS3 glacial environment while Regourdou is dated to the MIS5 interglacial environment. Temperature and aridity have been known to influence Ca isotope cycling at the water-rock-vegetation interface<sup>32-35</sup>. Furthermore, it is well established that environmental changes and food supplies vary between two climatic periods e.g. MIS 3 and MIS 5 in our study. Micro- and macro-wear analysis for taxa, such as cervids and large bovids demonstrates the variability of dietary traits of herbivores that could be conditioned by the environment and food resources<sup>36</sup>, this variability could have repercussions on calcium isotope composition.

Cortical and trabecular bone samples were collected on the Regourdou 1 and Regourdou 2 Neandertals (Table S1). For both individuals, trabecular bone samples have a  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value (Regourdou 1:  $-1.56 \pm 0.02\text{‰}$ ; Regourdou 2:  $-0.78 \pm 0.07\text{‰}$ ) that is undistinguishable from that of cortical bone (Regourdou 1:  $-1.51 \pm 0.10\text{‰}$ ; Regourdou 2:  $-0.80 \pm 0.07\text{‰}$ ). Although bone balance is a complex process, trabecular bone is known to have a faster turnover rate than cortical bone (18%/year and 8%/year, respectively<sup>37</sup>). The absence of a difference between trabecular and cortical bone suggests that the average diet, as measured in the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value, during the shortest bone lifetime ( $0.18^{-1} = 5.5$  year for trabecular bone) is the same as during the longest bone lifetime ( $0.08^{-1} = 12.5$  year for cortical bone). In other words, the similar trabecular and cortical bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values for these two Neandertals are indicative of a relatively stable diet with a duration of several years. Given that variability in bone turnover rate may be high, especially between the axial and appendicular skeleton<sup>37</sup>, this conclusion remains preliminary. Nevertheless, the possibility to track dietary changes using small pieces of bone with contrasting turnover rates is now a distinct possibility given the low sample amounts needed for Ca isotope measurements.

### Discussion

#### *Diet composition of the Grotte du Bison Neandertal*

The Grotte du Bison Neandertal displays a  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of  $0.75 \pm 0.07\text{‰}$ , lying in the middle of the local isotopic variation (Figure 1). Importantly, zooarchaeological data show that among the three most common herbivore taxa (reindeer, horse and bovid), at least two (reindeer and horse) show traces of soft part acquisition

by Neandertals. In the MixSIAR modelling (Methods), we focus on the mean of the identified dietary end-members, i.e., bone of ruminant herbivores (bovid and cervid), bone of monogastric herbivores and European plants or aboveground biomass (AGB), with the latter indistinguishable from meat. Results for the Grotte du Bison Neandertal suggest that the contribution of each potential food source was broadly similar (Figure 2A), ranging from 20% of bovid bone to 30% of AGB or meat. This result is consistent with a Neandertal individual who was not far from the top of the trophic chain, and also reflects the metabolic constraint that its diet cannot solely come from animal sources.

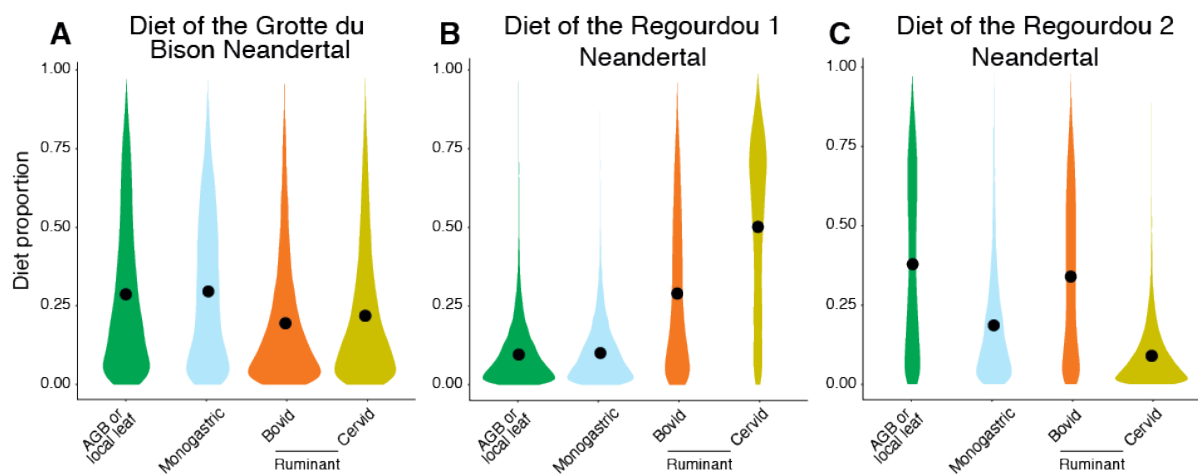


Figure 2: **Violin plots représentant les estimations de régime alimentaire pour les 3 individus de Neandertal** : Grotte du Bison (A), Regourdou 1 (B) et Regourdou 2 (C) en utilisant les valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des os fossiles et la moyenne AGB des plantes européennes actuelles ou les valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des feuilles locales. Les points indiquent l'estimation de la valeur moyenne. **Violin plots representing diet proportion estimates for the 3 Neandertal individuals**: Grotte du Bison (A), Regourdou 1 (B) and Regourdou 2 (C) using  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of fossil bone and AGB average from actual European plants or local leaf  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. Dots indicate the probable mean value.

#### *Estimation of diet composition for the Regourdou 1 Neandertal*

The three Regourdou 1 samples display an average  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of  $-1.58 \pm 0.16\%$ , placing this Neandertal individual at the lower end of local isotopic variability, among carnivores and out of the range of herbivores (Figure 1). The results of the MixSIAR modelling for the Regourdou 1 Neandertal suggest a preponderance of cervid bone consumption (51%), Figure 2B) in the diet. Bovid bone shows a modest contribution (29%), while monogastric bone and AGB (or meat) show a low contribution, 11% and 10%, respectively (Figure 2B). The MixSIAR results, along with the observed consistency of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values between cortical and trabecular bone, suggest a specialization in the frequent consumption of cervids and bovinds. The diet of the Regourdou 1 Neandertal is in agreement with the traditional view drawn from nitrogen isotopic data<sup>2-4,38</sup>.

### *Estimation of diet composition for the Regourdou 2 Neandertal*

The two Regourdou 2 samples display an average  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value of  $0.79 \pm 0.04\text{‰}$ , placing this Neandertal individual at the upper end of the local variability, among herbivores and out of the carnivore range (Figure 1). The results of the MixSIAR modelling for the Regourdou 2 Neandertal suggest that the consumption of AGB (or meat) and bovid bone is predominantly providing, respectively, 38% and 35% of the diet (Figure 2C). Bone of monogastric animals shows a medium contribution (19%), while cervid bone provides a low contribution (9%). This result is unexpected considering the previous studies on Neandertal diet based on nitrogen isotopic data<sup>2-4,38</sup>, even if the AGB contribution is overestimated and instead reflects meat consumption.

### *Dietary diversity among Neandertals*

This study presents Ca isotope compositions for three Neandertal individuals, showing they were probably occupying distinct trophic positions relative to the local fauna, thus suggesting different dietary customs. This finding reconciles metabolic constraints (e.g.,<sup>6,7</sup>), ethnographic studies (e.g.,<sup>39,40</sup>), archaeological evidence (e.g.,<sup>41</sup>) and geochemical results based on nitrogen isotopes (e.g.,<sup>2-4,38</sup>). A Bayesian mixing model used to uncover probable vs improbable diet composition shows that we should consider bone and AGB (or meat) as potential dietary sources to match Neandertal bone  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, at least for the Grotte du Bison and Regourdou 2 individuals. Despite the similarity of the AGB and meat  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values, the present study is the first to consider a vegetal component for paleodietary reconstructions based on stable isotopes. Using an AGB  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  mean value of  $-0.49 \pm 0.26\text{‰}$ , it is possible to estimate a dietary plant fraction of ~10%, ~30%, and ~40% for Regourdou 1, Grotte du Bison, and Regourdou 2 individuals, respectively. Using a local living leaf  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  mean value of  $-0.53 \pm 0.09\text{‰}$  and  $-0.49 \pm 0.02\text{‰}$  for Grotte du Bison and Regourdou, respectively, does not change the overall picture, because these  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values are similar to that of AGB (Figure 1). However, when local living stem  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values ( $-0.89 \pm 0.13\text{‰}$  and  $-0.79 \pm 0.08\text{‰}$  for Grotte du Bison and Regourdou, respectively; Figure 1) are used as a proxy for root<sup>9,10</sup>, the dietary reconstruction is different for the three Neandertal individuals (Figure 3).

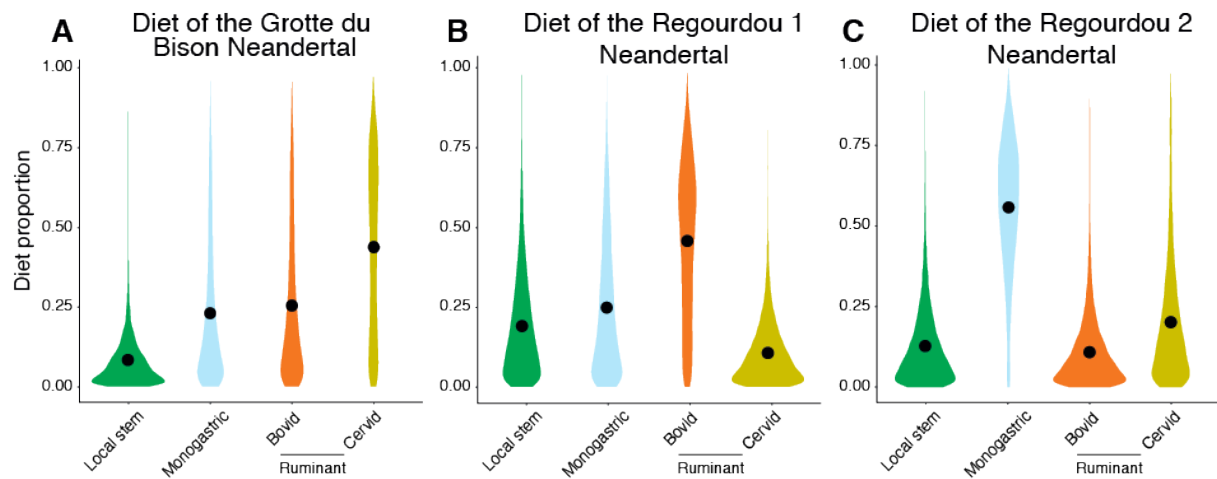


Figure 3: Violin plots représentant les estimations de la proportion du régime alimentaire pour les 3 individus de Neandertal : Grotte du Bison (A), Regourdou 1 (B) et Regourdou 2 (C) en utilisant les valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des os fossiles et les valeurs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des tiges locales (comme proxy pour les racines). Les points indiquent l'estimation de la valeur moyenne. *Violin plots representing diet proportion estimates for the 3 Neandertal individuals: Grotte du Bison (A), Regourdou 1 (B) and Regourdou 2 (C) using  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of fossil bone and local stem (as a proxy for root)  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. Dots indicate the probable mean value.*

The plant proportion increases to 20% for the Regourdou 1 Neandertal, while it decreases for the two other individuals, i.e., 8% and 13% for the Grotte du Bison and Regourdou 2 Neandertals, respectively. These results show that whatever the plant  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value (or that of meat), it is not possible to obtain matching proportions of dietary sources for the three studied Neandertal individuals. Therefore, we conclude these three individuals had possibly diverse dietary customs.

Metabolic arguments mandate that Neandertals could not have had a diet of 100% meat; their diet must have included fat. Animal fat is a highly sought-after resource for hunter-gatherer populations<sup>7,19,39,40</sup>. In ungulates, fat is found as body fat directly beneath the skin or around organs, or as skeletal fat<sup>42</sup>. In winter, hunter-gatherers may have a special interest in skeletal fat because it is kept in reserve even when animals are in poor physical conditions<sup>19,42</sup>. Skeletal fat is found in yellow marrow stored in the medullary cavity of long bones, and as bone grease in the spongy bone. However, the consumption of meat or yellow marrow is insufficient to induce a negative isotopic shift of the dietary  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  value; this comes only with the presence of bone in the diet<sup>1,16,17</sup>. How might this have happened? It could be the case that trabecular bone is present in the medullary cavity of long bones along with yellow marrow. The collection/recovery of yellow marrow does not require sophisticated techniques to break open long bones. Archaeologically, yellow marrow consumption is well-documented since at least the emergence of the genus *Homo* and persists through Mesolithic<sup>43</sup>. In this case, the ingestion of small amounts of bone would have been accidental but likely inevitable. In contrast, the consumption of bone grease requires more processing. Specifically, the epiphyses tend to be comminuted, with the resulting powder boiled to extract grease<sup>19,42</sup>. The

consumption of bone grease, as grease loaves or soup, could also result in the ingestion of a significant quantity of bone. In this case, the consumption of a bone-based food would have been voluntary. This is a provocative conclusion because boiling as a technique is thought by some to have only originated in the Upper Paleolithic<sup>44,45</sup>.

The current work suggests the existence of diverse diets among Neandertals whatever their proportions of plant foods and/or fat. This is the first potential demonstration of substantial diversity in individual dietary behaviours among Neandertals, two of them from the same site. This is even more surprising when one considers that the Regourdou 1 and Regourdou 2 individuals are attributed to the same sedimentary layer 4<sup>46</sup>, as this would suggest that they may have been penecontemporaries. Even if it was not the case, our results suggest that there is a greater heterogeneity in feeding strategies within or between Neandertal groups than previously thought. Whether the differences between these dietary customs were sociocultural, symbolic, seasonal, or personal in nature (or due to some unknown reason) remains an open question.

### *Limitations of the study*

As already mentioned, measuring Ca isotope compositions in bone or tooth enamel necessitates a tiny amount of material, which is of interest for conservative issues. Bone and enamel are heterogeneous materials that integrate varying geochemical signals related to complex life-histories. Thus, sampling a tiny amount of a heterogeneous material increase the variability of the observed geochemical signals. Increasing sample amount should resolve this problem, but you will face conservative issues again. The use of Ca isotope compositions to unravel past biological or dietary traits is still in its infancy, and many mechanisms of fractionation remain to be elucidated. These include a better comprehension of 1) the vegetal baseline isotopic variations in space and time; 2) the diagenesis of Ca in fossil bone, which necessitates to set up an unambiguous proxy of remaining diagenetic effects after leaching; 3) some species-specific fractionation in bone and tooth enamel such as observed for instance in cervid<sup>28,29</sup> or, beyond the present study, in hippopotamid<sup>15</sup>.

### **Acknowledgements**

We thank Jean-Jacques Cleyet-Merle, MNP director, for the permission to sample Regourdou's fauna and the Regourdou 1 femur, Véronique Merlin-Anglade, head of the Musée d'Art et d'Archéologie du Périgord for the permission to sample the Regourdou 1 humerus, and Michèle Constant, who is in charge of the Museum of Regourdou for the permission to sample other Regourdou faunal remains and the Regourdou 2 samples. We thank the Service Régional de l'Archéologie Bourgogne-Franche-Comté and Yves Pautrat for permission to



sample the Neandertal fibula and faunal remains from the Grotte du Bison. BM, PJD and MH received support from the Research Program of the Nouvelle Aquitaine Region: ICAP Isotopes du calcium et anthropobiologie au Paléolithique moyen convention n° 2019-1R40208. PJD, BM and VB received support from the project 80Prime of the CNRS. MH received funds from the Service Régional de l'Archéologie Bourgogne-Franche-Comté to support his programmed fieldwork at the Grotte du Bison. Part of this study also received financial support from the French Government in the framework of the University of Bordeaux's IdEx "Investments for the Future" program / GPR "Human Past".

### Author Contributions

VB and BM designed the project. PJD and EA processed the samples and run isotope analyses. PJD, BM and MH helped for sampling. BM, TH, JH, MH and CVC participated to the global study of the archaeological sites. PJD, BM and VB wrote the manuscript with contributions from all co-authors.

### Declaration of interests

The authors declare no competing interests.

### References

1. Dodat, P.-J., Tacail, T., Albalat, E., Gómez-Olivencia, A., Couture-Veschambre, C., Holliday, T., Madelaine, S., Martin, J.E., Rmoutilova, R., Maureille, B., et al. (2021). Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil. *J. Hum. Evol.* *151*, 102925. [10.1016/j.jhevol.2020.102925](https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2020.102925).
2. Balter, V., and Simon, L. (2006). Diet and behavior of the Saint-Césaire Neanderthal inferred from biogeochemical data inversion. *J. Hum. Evol.* *51*, 329–338. [10.1016/j.jhevol.2006.04.008](https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2006.04.008).
3. Naito, Y.I., Chikaraishi, Y., Drucker, D.G., Ohkouchi, N., Semal, P., Wißing, C., and Bocherens, H. (2016). Ecological niche of Neanderthals from Spy Cave revealed by nitrogen isotopes of individual amino acids in collagen. *J. Hum. Evol.* *93*, 82–90. [10.1016/j.jhevol.2016.01.009](https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2016.01.009).
4. Wißing, C., Rougier, H., Crevecoeur, I., Germonpré, M., Naito, Y.I., Semal, P., and Bocherens, H. (2016). Isotopic evidence for dietary ecology of late Neandertals in North-Western Europe. *Quat. Int.* *411*, 327–345. [10.1016/j.quaint.2015.09.091](https://doi.org/10.1016/j.quaint.2015.09.091).
5. Hardy, B.L. (2010). Climatic variability and plant food distribution in Pleistocene Europe: Implications

- for Neanderthal diet and subsistence. *Quat. Sci. Rev.* 29, 662–679. 10.1016/j.quascirev.2009.11.016.
6. Fiorenza, L., Benazzi, S., Henry, A.G., Salazar-García, D.C., Blasco, R., Picin, A., Wroe, S., and Kullmer, O. (2015). To meat or not to meat? New perspectives on Neanderthal ecology: The Diet of the Neanderthals. *Am. J. Phys. Anthropol.* 156, 43–71. 10.1002/ajpa.22659.
  7. Cordain, L., Miller, J.B., Eaton, S.B., Mann, N., Holt, S.H., and Speth, J.D. (2000). Plant-animal subsistence ratios and macronutrient energy estimations in worldwide hunter-gatherer diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 71, 682–692. 10.1093/ajcn/71.3.682.
  8. Zilhão, J., Angelucci, D.E., Igreja, M.A., Arnold, L.J., Badal, E., Callapez, P., Cardoso, J.L., d’Errico, F., Daura, J., Demuro, M., et al. (2020). Last Interglacial Iberian Neandertals as fisher-hunter-gatherers. *Science* 367, eaaz7943. 10.1126/science.aaz7943.
  9. Tacail, T., Le Houedec, S., and Skulan, J.L. (2020). New frontiers in calcium stable isotope geochemistry: Perspectives in present and past vertebrate biology. *Chem. Geol.* 537, 119471. 10.1016/j.chemgeo.2020.119471.
  10. Tacail, T., Martin, J.E., Arnaud-Godet, F., Thackeray, J.F., Cerling, T.E., Braga, J., and Balter, V. (2019). Calcium isotopic patterns in enamel reflect different nursing behaviors among South African early hominins. *Sci. Adv.* 5, eaax3250. 10.1126/sciadv.aax3250.
  11. Martin, J.E., Tacail, T., Adnet, S., Girard, C., and Balter, V. (2015). Calcium isotopes reveal the trophic position of extant and fossil elasmobranchs. *Chem. Geol.* 415, 118–125. 10.1016/j.chemgeo.2015.09.011.
  12. Hassler, A., Martin, J.E., Amiot, R., Tacail, T., Godet, F.A., Allain, R., and Balter, V. (2018). Calcium isotopes offer clues on resource partitioning among Cretaceous predatory dinosaurs. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 285, 20180197. 10.1098/rspb.2018.0197.
  13. Clementz, M.T. (2012). New insight from old bones: stable isotope analysis of fossil mammals. *J. Mammal.* 93, 368–380. 10.1644/11-MAMM-S-179.1.
  14. Skulan, J., and DePaolo, D.J. (1999). Calcium isotope fractionation between soft and mineralized tissues as a monitor of calcium use in vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 13709–13713.
  15. Martin, J.E., Tacail, T., Cerling, T.E., and Balter, V. (2018). Calcium isotopes in enamel of modern and Plio-Pleistocene East African mammals. *Earth Planet. Sci. Lett.* 503, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2018.09.026>.
  16. Martin, J.E., Tacail, T., Balter, V., and Smith, A. (2017). Non-traditional isotope perspectives in vertebrate palaeobiology. *Palaeontology* 60, 485–502.

17. Heuser, A., Tütken, T., Gussone, N., and Galer, S.J.G. (2011). Calcium isotopes in fossil bones and teeth — Diagenetic versus biogenic origin. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 3419–3433. 10.1016/j.gca.2011.03.032.
18. Reynard, L.M., Henderson, G.M., and Hedges, R.E.M. (2010). Calcium isotope ratios in animal and human bone. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 3735–3750. 10.1016/j.gca.2010.04.002.
19. Morin, E. (2020). Rethinking the emergence of bone grease procurement. *J. Anthropol. Archaeol.* 59, 101178. 10.1016/j.jaa.2020.101178.
20. Trueman, C.N., and Tuross, N. (2002). Trace Elements in Recent and Fossil Bone Apatite. *Rev. Mineral. Geochem.* 48, 489–521. 10.2138/rmg.2002.48.13.
21. Kohn, M.J., and Moses, R.J. (2013). Trace element diffusivities in bone rule out simple diffusive uptake during fossilization but explain in vivo uptake and release. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 419–424. 10.1073/pnas.1209513110.
22. Sillen, A., and LeGeros, R. (1991). Solubility profiles of synthetic apatites and of modern and fossil bones. *J. Archaeol. Sci.* 18, 385–397. 10.1016/0305-4403(91)90073-X.
23. Lee-Thorp, J.A., and van der Merwe, N.J. (1991). Aspects of the chemistry of modern and fossil biological apatites. *J. Archaeol. Sci.* 18, 343–354. 10.1016/0305-4403(91)90070-6.
24. Balter, V., Saliège, J.-F., Bocherens, H., and Person, A. (2002). Evidence of physico-chemical and isotopic modifications in archaeological bones during controlled acid etching. *Archaeometry* 44, 329–336. 10.1111/1475-4754.t01-1-00065.
25. Dodat, P.-J., Martin, J.E., Olive, S., Hassler, A., Albalat, E., Boisserie, J.-R., Merceron, G., Souron, A., Maureille, B., and Balter, V. (2023). Limits of calcium isotopes diagenesis in fossil bone and enamel. *Geochim. Cosmochim. Acta*, S0016703723001801. 10.1016/j.gca.2023.04.012.
26. Tzaphlidou, M., and Zaichick, V. (2004). Sex and age related Ca/P ratio in cortical bone of iliac crest of healthy humans. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 259, 347–349. 10.1023/B:JRNC.0000017316.20693.45.
27. Tzaphlidou, M., and Zaichick, V. (2003). Calcium, Phosphorus, Calcium-Phosphorus Ratio in Rib Bone of Healthy Humans. *Biol. Trace Elem. Res.* 93, 63–74. 10.1385/BTER:93:1-3:63.
28. Hu, Y., Jiang, Q., Liu, F., Guo, L., Zhang, Z., and Zhao, L. (2022). Calcium isotope ecology of early *Gigantopithecus blacki* (~2 Ma) in South China. *Earth Planet. Sci. Lett.* 584, 117522. 10.1016/j.epsl.2022.117522.
29. Hassler, A., Martin, J.E., Merceron, G., Garel, M., and Balter, V. (2021). Calcium isotopic variability of

cervid bioapatite and implications for mammalian physiology and diet. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 573, 110418. 10.1016/j.palaeo.2021.110418.

30. Tacaïl, T., Thivichon-Prince, B., Martin, J.E., Charles, C., Viriot, L., and Balter, V. (2017). Assessing human weaning practices with calcium isotopes in tooth enamel. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 6268–6273. 10.1073/pnas.1704412114.

31. Tipper, E.T., Gaillardet, J., Galy, A., Louvat, P., Bickle, M.J., and Capmas, F. (2010). Calcium isotope ratios in the world's largest rivers: A constraint on the maximum imbalance of oceanic calcium fluxes: riverine Ca isotopes. *Glob. Biogeochem. Cycles* 24. 10.1029/2009GB003574.

32. Cenko-Tok, B., Chabaux, F., Lemarchand, D., Schmitt, A.-D., Pierret, M.-C., Viville, D., Bagard, M.-L., and Stille, P. (2009). The impact of water–rock interaction and vegetation on calcium isotope fractionation in soil- and stream waters of a small, forested catchment (the Strengbach case). *Geochim. Cosmochim. Acta* 73, 2215–2228. 10.1016/j.gca.2009.01.023.

33. Page, B.D., Bullen, T.D., and Mitchell, M.J. (2008). Influences of calcium availability and tree species on Ca isotope fractionation in soil and vegetation. *Biogeochemistry* 88, 1–13. 10.1007/s10533-008-9188-5.

34. Hindshaw, R.S., Reynolds, B.C., Wiederhold, J.G., Kiczka, M., Kretzschmar, R., and Bourdon, B. (2013). Calcium isotope fractionation in alpine plants. *Biogeochemistry* 112, 373–388. 10.1007/s10533-012-9732-1.

35. Holmden, C., and Bélanger, N. (2010). Ca isotope cycling in a forested ecosystem. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 995–1015. 10.1016/j.gca.2009.10.020.

36. Amano, N., Rivals, F., Moigne, A.-M., Ingicco, T., Sémah, F., and Simanjuntak, T. (2016). Paleoenvironment in East Java during the last 25,000 years as inferred from bovid and cervid dental wear analyses. *J. Archaeol. Sci. Rep.* 10, 155–165. 10.1016/j.jasrep.2016.09.012.

37. Parfitt, A.M. (2002). Misconceptions (2): turnover is always higher in cancellous than in cortical bone. *Bone* 30, 807–809. 10.1016/S8756-3282(02)00735-4.

38. Richards, M.P., and Trinkaus, E. (2009). Isotopic evidence for the diets of European Neanderthals and early modern humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 16034–16039. 10.1073/pnas.0903821106.

39. Speth, J.D., and Spielmann, K.A. (1983). Energy source, protein metabolism, and hunter-gatherer subsistence strategies. *J. Anthropol. Archaeol.* 2, 1–31. 10.1016/0278-4165(83)90006-5.

40. Speth, J.D. (2010). Big-Game Hunting: Protein, Fat, or Politics? In *The Paleoanthropology and Archaeology of Big-Game Hunting Interdisciplinary Contributions to Archaeology*. (Springer New York), pp.

149–161. 10.1007/978-1-4419-6733-6\_12.

41. Henry, A.G., Brooks, A.S., and Piperno, D.R. (2011). Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 486–491. 10.1073/pnas.1016868108.
42. Morin, E. (2020). Revisiting Bone Grease Rendering in Highly Fragmented Assemblages. *Am. Antiq.* 85, 535–553. 10.1017/aaq.2020.29.
43. Sahnouni, M., Rosell, J., van der Made, J., Vergès, J.M., Ollé, A., Kandi, N., Harichane, Z., Derradji, A., and Medig, M. (2013). The first evidence of cut marks and usewear traces from the Plio-Pleistocene locality of El-Kherba (Ain Hanech), Algeria: implications for early hominin subsistence activities circa 1.8 Ma. *J. Hum. Evol.* 64, 137–150. 10.1016/j.jhevol.2012.10.007.
44. Morin, E., and Soulier, M.-C. (2017). New criteria for the archaeological identification of bone grease processing. *Am. Antiq.* 82, 96–122. 10.1017/aaq.2016.16.
45. Speth, J.D. When Did Humans Learn to Boil? 14.
46. Nogueira, D.C., Santos, F., Courtaud, P., and Couture-Veschambre, C. (2017). Le calcanéus « Regourdou 2 » : étude morphométrique comparative et discussion autour de sa place dans la variabilité des Néandertaliens. *Paléo* 28, 71–89. 10.4000/paleo.3090.
47. Baffier, D., and Girard, M. (1997). The karst of Arcy-sur-Cure (Yonne) and its palaeolithic human occupations. *Quaternaire* 8, 245–255. 10.3406/quate.1997.1577.
48. Leroi-Gourhan, A. (1961). Les fouilles d’Arcy-sur-Cure (Yonne). *Gall. Préhistoire* 4, 3–16. 10.3406/galip.1961.1182.
49. Maureille, B., Costamagno, S., Beauval, C., Mann, A.E., Garralda, M.D., Mussini, C., Laroulandie, V., Rendu, W., Royer, A., Seguin, G., et al. (2017). The challenges of identifying partially digested human teeth : first description of Neandertal remains from the Mousterian site of Marillac (Marillac-le-Franc, Charente, France) and implications for palaeoanthropolog. *Paléo* 28, 201–212. 10.4000/paleo.3448.
50. Tillier, A., Sansilbano-Collilieux, M., David, F., Enloe, J.G., Girard, M., Hardy, M., D’iatchenko, V., Roblin-Jouve, A., and Tolmie, C. (2013). Les vestiges néandertaliens provenant des niveaux moustériens I et J de la Grotte du Bison à Arcy-sur-Cure (Yonne) : bilan actuel. *Bull. Mém. Société Anthropol. Paris* 25, 39–54. 10.1007/s13219-012-0061-7.
51. Pothier Bouchard, G. (2016). Grotte du Bison : deux chasseurs pour un gibier. Analyse archéozoologique de la couche I-J sur le site moustérien de la Grotte du Bison, Arcy-sur-Cure (Yonne, France)

(Université de Montréal).

52. Pelletier, M., Royer, A., Holliday, T.W., Discamps, E., Madelaine, S., and Maureille, B. (2017). Rabbits in the grave! Consequences of bioturbation on the Neandertal “burial” at Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne). *J. Hum. Evol.* *110*, 1–17. 10.1016/j.jhevol.2017.04.001.
53. Madelaine, S., Maureille, B., Cavanhié, N., Couture-Veschambre, C., Bonifay, E., Armand, D., Bonifay, M.-F., Duday, H., Fosse, P., and Vandermeersch, B. (2008). Nouveaux restes humains moustériens rapportés au squelette néandertalien de Regourdou 1 (Regourdou, commune de Montignac, Dordogne, France). *PALEO Rev. Archéologie Préhistorique* *20*, 101–114.
54. Balter, V., and Lécuyer, C. (2004). Determination of Sr and Ba partition coefficients between apatite and water from 5°C to 60°C: a potential new thermometer for aquatic paleoenvironments. *Geochim. Cosmochim. Acta* *68*, 423–432. 10.1016/S0016-7037(03)00453-8.
55. Tacail, T., Albalat, E., Télouk, P., and Balter, V. (2014). A simplified protocol for measurement of Ca isotopes in biological samples. *J. Anal. At. Spectrom.* *29*, 529. 10.1039/c3ja50337b.
56. Koutamanis, D., Roberts, G.L., and Dosseto, A. (2021). Inter- and intra-individual variability of calcium and strontium isotopes in modern Tasmanian wombats. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* *574*, 110435. 10.1016/j.palaeo.2021.110435.
57. Romaniello, S.J., Field, M.P., Smith, H.B., Gordon, G.W., Kim, M.H., and Anbar, A.D. (2015). Fully automated chromatographic purification of Sr and Ca for isotopic analysis. *J. Anal. At. Spectrom.* *30*, 1906–1912. 10.1039/C5JA00205B.
58. Lanping, F., Zhou, L., Yang, L., Zhang, W., Wang, Q., Shuoyun, T., and Hu, Z. (2018). A rapid and simple single-stage method for Ca separation from geological and biological samples for isotopic analysis by MC-ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* *33*, 413–421. 10.1039/C7JA00370F.
59. Stock, B., and Semmens, B. (2016). *Mixsiar: V3.1.2*.
60. Stock, B.C., Jackson, A.L., Ward, E.J., Parnell, A.C., Phillips, D.L., and Semmens, B.X. (2018). Analyzing mixing systems using a new generation of Bayesian tracer mixing models. *PeerJ* *6*, e5096. 10.7717/peerj.5096.

## **STAR Methods**

### **Resources availability**

#### *Lead contact*

Further information and requests for resources and reagents should be directed to and will be fulfilled by the lead contact, Pierre-Jean Dodat (pierre-jean.dodat@ens-lyon.fr).

#### *Materials availability*

This study did not generate new materials

#### *Data and code availability*

-Isotope compositions and concentrations data are available in Table S1.

-This paper does not report original code.

-Any additional information required to reanalyze the data reported in this paper is available from the lead contact upon request.

## **EXPERIMENTAL MODEL AND SUBJECT DETAILS**

### *Archaeological and anthropological information*

#### *The Grotte du Bison fossil material*

The Grotte du Bison cave belongs to a larger group of prehistoric caves at Arcy-sur-Cure (Yonne) which forms a network of nearly 4 km with a surface area of about 60 ha<sup>47</sup>. The Grotte du Bison cave is a recent discovery in the history of the excavated sites caves of Arcy-sur-Cure. It was identified in 1958 by P. Poulain and was excavated for the first time in 1959 by members of A. Leroi-Gourhan's scientific team until 1963<sup>48</sup>. It was later excavated by F. David (1995 to 2008) and finally by one of us (MH) from 2011 to 2019. The excavation campaigns resulted in discovery of at least 50 Neandertal remains (40 being isolated teeth, 2 maxillary fragments, 6 skull fragments and only two postcranial pieces belonging to two different individuals), plus 4 partially digested teeth (potentially humans;<sup>49</sup> in two (I and J) of the lower sedimentological layers. Two AMS radiocarbon dates place the layer I between  $46,534 \pm 1,838$  years BP and  $43,571 \pm 1,354$  years BP<sup>50</sup>. In 2019, an incomplete right fibula diaphysis attributed to a mature Neandertal individual was recovered in layer J, which is associated with the earlier half of MIS 3. This is the specimen we sampled. The presence in layers I and J of *Crocota crocuta* and an unusual carnivore-to-ungulate ratio together suggest that the faunal remains in these layers resulted from joint

accumulation by hyena and Neandertal<sup>51</sup>. Among the three most represented herbivore taxa, at least two (*Rangifer tarandus* and *Equus caballus*) show anthropic traces suggesting consumption by Neandertals. The accumulation of bovine bone is thought to be due to *Crocota crocuta*<sup>51</sup>.

### *The Regourdou fossil material*

The Regourdou cave is located at the top of Lascaux hill (Montignac-sur-Vézère, Dordogne, France). Excavations at Regourdou began in 1954 at the landowner's (R. Constant) initiative. During the night of the 22<sup>nd</sup> to the 23<sup>rd</sup> of September 1957, part of a Neandertal skeleton (Regourdou 1) was discovered under unprofessional circumstances<sup>52</sup>. A salvage excavation led to the discovery of some faunal and lithic remains, and a small set of bone fragments belonging to one Neandertal specimen, Regourdou 1<sup>53</sup>. The Regourdou 1 skeleton was recovered from Bonifay's stratigraphic layer 4<sup>52</sup>, which contained lithic remains belonging to a Discoid Mousterian technocomplex with the production of pseudo-Levallois points and a temperate fauna dominated by brown bears (*Ursus arctos*). Based on lithic and faunal remains layer 4 was attributed to the first part of MIS 5<sup>52</sup>. Its context is now interpreted as a Neandertal burial<sup>52</sup>. The calcaneus belonging to Regourdou 2 was found near the wall opposite to the Neandertal 1 burial and it is presumed that Regourdou 2, like Regourdou 1, came from layer 4. Regourdou 2 lacks any funerary context, and despite its discovery as early as 1963, it was not studied in detail until 2017, when it was confirmed that it actually belongs to a second adult Neandertal individual<sup>52</sup>.

## METHOD DETAILS

### *Calcium extraction and analysis*

All samples were collected from cortical bone except for three trabecular bone samples (Regourdou 1 and 2 and one from a brown bear). Each trabecular bone sample is paired with a cortical bone sample collected nearby on the same piece. The samples were collected either with a scalpel in the form of a chip of about 5 mm long and 1 mm wide, or with a micro-mill generating a pit less than 1 mm in diameter and 1 mm deep (sample weight <200 µg). Samples were preferentially taken in damaged areas to preserve as much as possible the morphological and structural integrity of the fossil remains.

The analyses were carried out at the Laboratoire de Géologie de Lyon. The samples (n = 98, Table S1) were first ground using an agate mortar and pestle before being leached with diluted ultrapure acetic acid (0.1 M) for 30 min at room temperature in an ultrasonic bath to eliminate Ca-bearing secondary carbonates, particularly present as calcite<sup>22-24</sup>. The residue was then digested in distilled HNO<sub>3</sub> (4.5 M) and about 10% of the solution



saved for concentration measurements following Balter et Lécuyer <sup>54</sup>. Most of the samples were not weighed to avoid sample loss that would have been critical for such small samples. The concentration of major and trace elements was measured on leached bone samples, using ICP-MS (iCap-Q, Thermo Scientific, Bremen) and ICP-OES (iCap pro, Thermo Scientific, Bremen for trace elements (Mn, Fe, U and REE) and major elements (Ca, P, Mg), respectively.

All samples were successfully processed to extract and purify Ca from bone matrix according to the protocol set up by Tacail *et al.* <sup>55</sup>. Briefly, the remaining 90% of the digestion solution was taken up in distilled and titrated HCl (1.0 M), followed by three chromatography steps: the first allows the recovery of Ca, Fe and Sr, the second isolates Sr, and the third separates Ca from Fe. The Ca isotope compositions were measured using a Neptune Plus multi-collector ICP-MS (Thermo Scientific, Bremen) using the standard-sample-standard bracketing method. All Ca isotope compositions are expressed using the delta notation, calculated as following:

$$\delta^{44/42}\text{Ca} = \left( \frac{(^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca})_{\text{Sample}}}{0.5 \times (^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca})_{\text{ICP-Ca-Lyon}}^{n-1} + 0.5 \times (^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca})_{\text{ICP-Ca-Lyon}}^{n+1}} - 1 \right) \times 1000$$

The ICP Ca Lyon standard, used routinely in Lyon, was used as bracketing and reference material, but the results are also expressed relative to the SRM915a certified reference material. The certified reference material NIST SRM1400 (bone ash) was repeatedly purified and measured as a sample to control the accuracy of the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values. During the study, six different aliquots ( $n^* = 6$ ) of the SRM1400 certified reference material were measured which yield a value of  $-1.05 \pm 0.07\text{‰}$ , (2 SD,  $n^* = 6$ ,  $n = 35$ ), indistinguishable from all SRM1400 measurements reported in other studies ( $-1.07 \pm 0.09\text{‰}$ , 2 SD,  $n^* = 1$ ,  $n = 10$  <sup>56</sup>;  $-1.06 \pm 0.04\text{‰}$ , 2 SD,  $n^* = 1$ ,  $n = 4$  <sup>57</sup>;  $-1.02 \pm 0.07\text{‰}$ , 2 SD,  $n^* = 1$ ,  $n = 4$  <sup>58</sup>).

## QUANTIFICATION AND STATISTICAL ANALYSIS

### *MixSIAR modeling*

Calcium stable isotope compositions of Neandertal individuals and potential food sources were analysed with the Bayesian mixing model MixSIAR <sup>59,60</sup>, which estimates the relative contribution of food sources in the composition of diet, taking into account measurement uncertainty and variability. All statistical analyses were conducted with MixSIAR (v 3.1.12) in R (v 4.0.5). The SIAR Markov chain Monte Carlo algorithm was run with the predefined parameter “extreme”. Three types of data are necessary to estimate the contribution of a potential source in the diet using a Bayesian mixing model: (1) the values and associated uncertainties of the consumers of

interest (Neandertal individuals); (2) the values and associated uncertainties of potential sources and, (3) the values and associated uncertainties of the trophic discrimination. Regarding potential animal dietary sources, we focused on the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of the taxa present in the archaeological sites, which were aggregated into three distinct groups, i.e., monogastric herbivores, including woolly rhinoceros, horse, and mammoth, and ruminant herbivores grouped according to the family taxonomic rank, e.g., cervid and bovid. Regarding potential vegetal dietary sources, we have used current data obtained on European plants, in particular on the herb/grass types, or above ground biomass (AGB), and plant leaf or stem samples collected at the vicinity of both archaeological sites. All the  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values used to calculate the AGB average and standard deviation are given in Table S2. We used a trophic discrimination value of  $0.27 \pm 0.1\text{‰}$  for the Ca isotopic offset between bone of herbivores and carnivore <sup>8</sup> and a trophic discrimination value of  $0.57 \pm 0.1\text{‰}$  for the Ca isotopic offset between plant and bone <sup>8</sup>.

### **KEY RESOURCES TABLE**

-Isotope compositions and concentrations data are available in Table S1.

### **Supplemental Material**

Annexe D

### c. Diversité inter-individuelle à Regourdou

Les échantillons néandertaliens de Regourdou ont pu être mesurés pour la composition isotopique de strontium radiogénique (Figure 59). On constate qu'il est possible d'établir au moins trois groupes différents sur la base de la composition isotopique en strontium. (1) Le premier groupe est composé de la grande majorité des échantillons du site dont les échantillons de l'individu Regourdou 1, les valeurs de ces individus se situent aux alentours de 0,710. (2) Un second groupe est constitué des échantillons de l'individu Regourdou 2 et du cerf H4-34, ces deux individus possèdent des valeurs légèrement plus basses que le groupe principal, aux environs de 0,707. (3) Enfin le troisième groupe est composé d'un ours (n°3441), dont la composition isotopique est très différente de l'ensemble de la faune. Un échantillon de cerf (n°2472) possède une composition isotopique supérieure à l'ensemble de celle du groupe 1 sans que cette valeur ne soit comparable à celle de l'ours 3441.

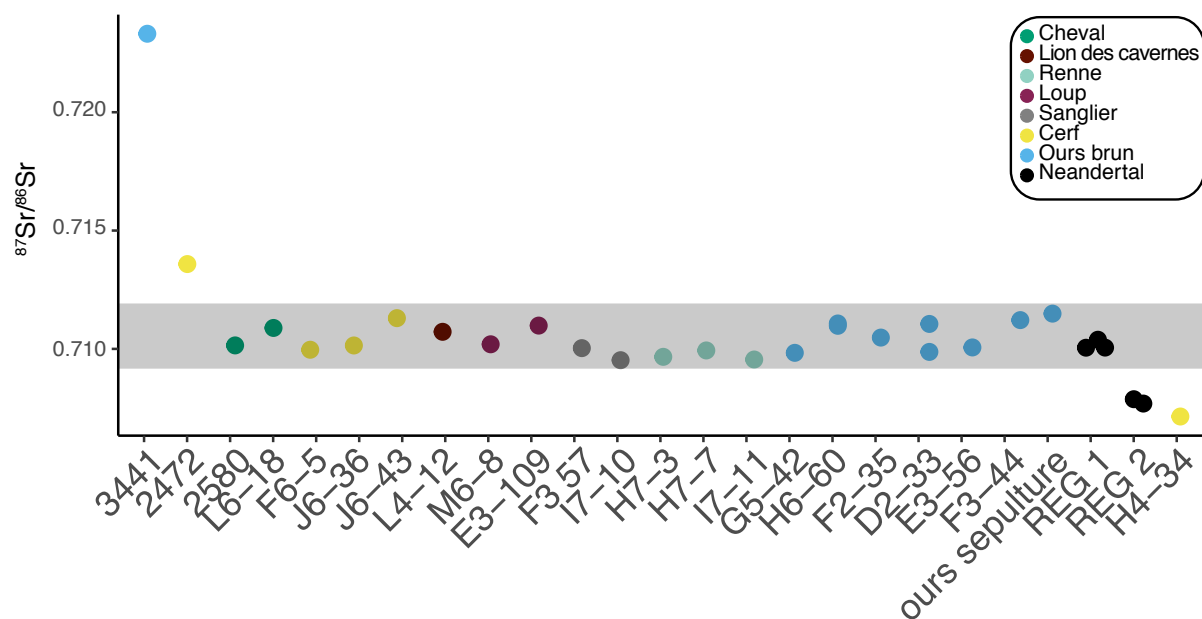


Figure 59 : Composition isotopique en strontium radiogénique de plusieurs échantillons du site de Regourdou dont les deux néandertaliens, Regourdou 1 et Regourdou 2. Radiogenic strontium isotopic composition of several samples from the Regourdou site, including the two neandertals, Regourdou 1 and Regourdou 2

L'écart observé entre les échantillons du groupe 1 et ceux du groupe 2 ainsi que la similitude entre les valeurs d'os cortical et d'os spongieux nous amène à dire que Regourdou 2 pourrait venir d'un environnement différent de celui de la faune et de Regourdou 1. Cependant, Regourdou 2 et le cerf H4-34 se positionnent à des valeurs de compositions isotopiques du strontium qui peuvent aussi correspondre à un environnement proche de celui du site (Figure 60). Il est donc difficile de conclure

quant à l'origine de cet individu. On peut toutefois faire remarquer qu'il est décédé à un endroit qui ne semble pas correspondre à son milieu de vie principale. Si l'on se réfère à la carte du strontium de la région, il est probable que l'ours n°3441 provienne d'une zone proche, au Nord Est du site en direction de Brive la Gaillarde. Sa présence bien qu'inattendue reste cohérente avec les données connues de mobilité des ours bruns (pouvant parcourir plus de 25km, selon Rigg, 2005).

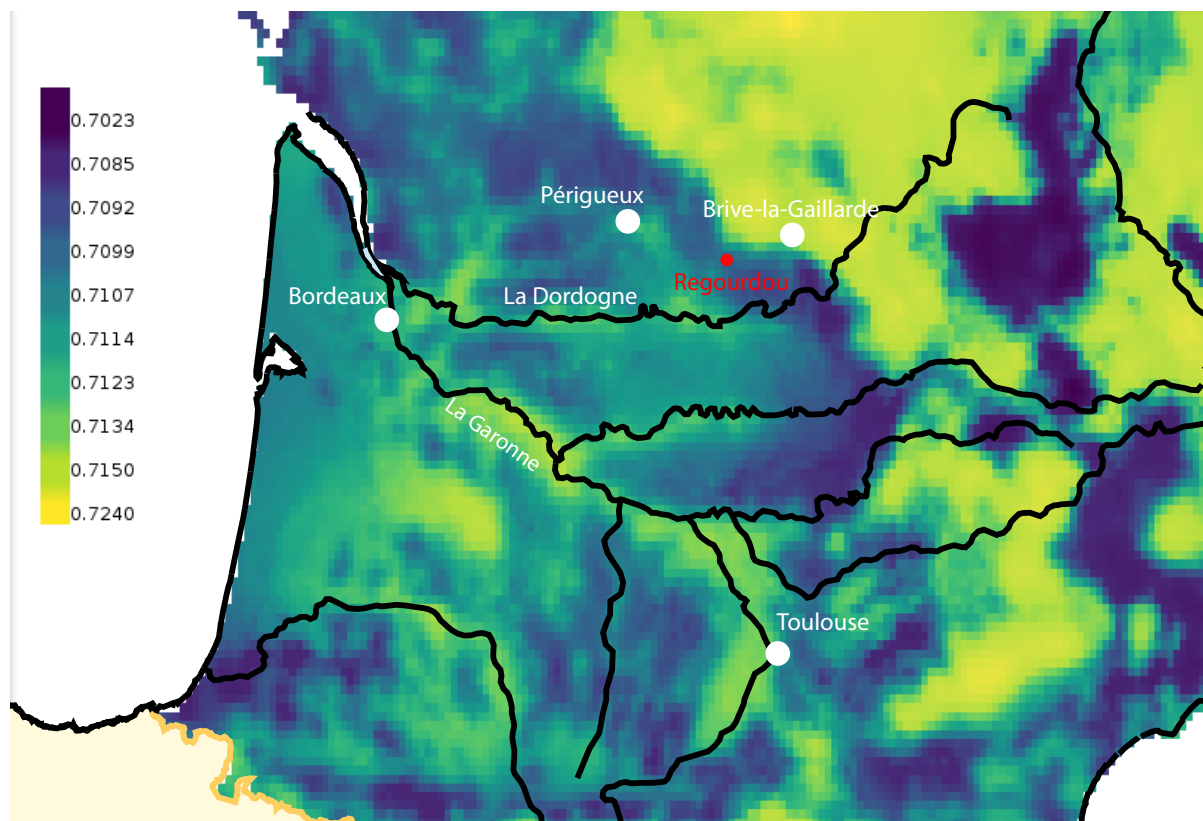


Figure 60 : Carte isoscape du strontium radiogénique ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) du sud-ouest de la France, basée sur les données combinées d'échantillons de sols et de plantes de la base de données IRHUM (www.irhumdatabase.com; Willmes et al. 2018). La localisation du site de Regourdou correspond au point rouge. Sr isoscape map ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) of south-west France, based on combined soil and plant data from the IRHUM database (www.irhumdatabase.com). The location of the Regourdou site corresponds to the red dot.

Le site de Regourdou nous offre l'occasion d'observer deux régimes alimentaires différents pour deux néandertaliens probablement assez proche chronologiquement. L'analyse du Sr nous indique que ces deux individus ont évolué dans un environnement proche du lieu de découverte des restes sans que ces lieux ne soient identiques. Une appartenance à deux groupes distincts d'un point de vue géographique doit donc être prise en considération. Au vu de l'état actuel de nos connaissances, on peut émettre l'hypothèse que l'individu Regourdou 1 a vécu durant la dernière partie de sa vie dans l'environnement immédiat du site et donc qu'il est mort à proximité de son lieu de vie. Tandis que l'individu Regourdou 2 provient d'une région proche ne correspondant pas

à l'environnement immédiat du site. Au vu des données obtenues précédemment concernant les préférences alimentaires de ces deux individus, on peut supposer l'existence de deux groupes sociaux distincts (d'un point de vue géographique *a minima*) n'ayant pas les mêmes pratiques alimentaires, avec un spectre faunique chassé ainsi qu'une proportion de végétaux différents. Cette hypothèse doit cependant être nuancée, en effet, nous avons précédemment mis en évidence que l'environnement géologique et végétal avait un impact significatif sur le niveau de base du réseau trophique. Ainsi le réseau trophique mis en évidence ici pourrait ne pas correspondre à celui de Regourdou 2.

#### D. Les Pradelles

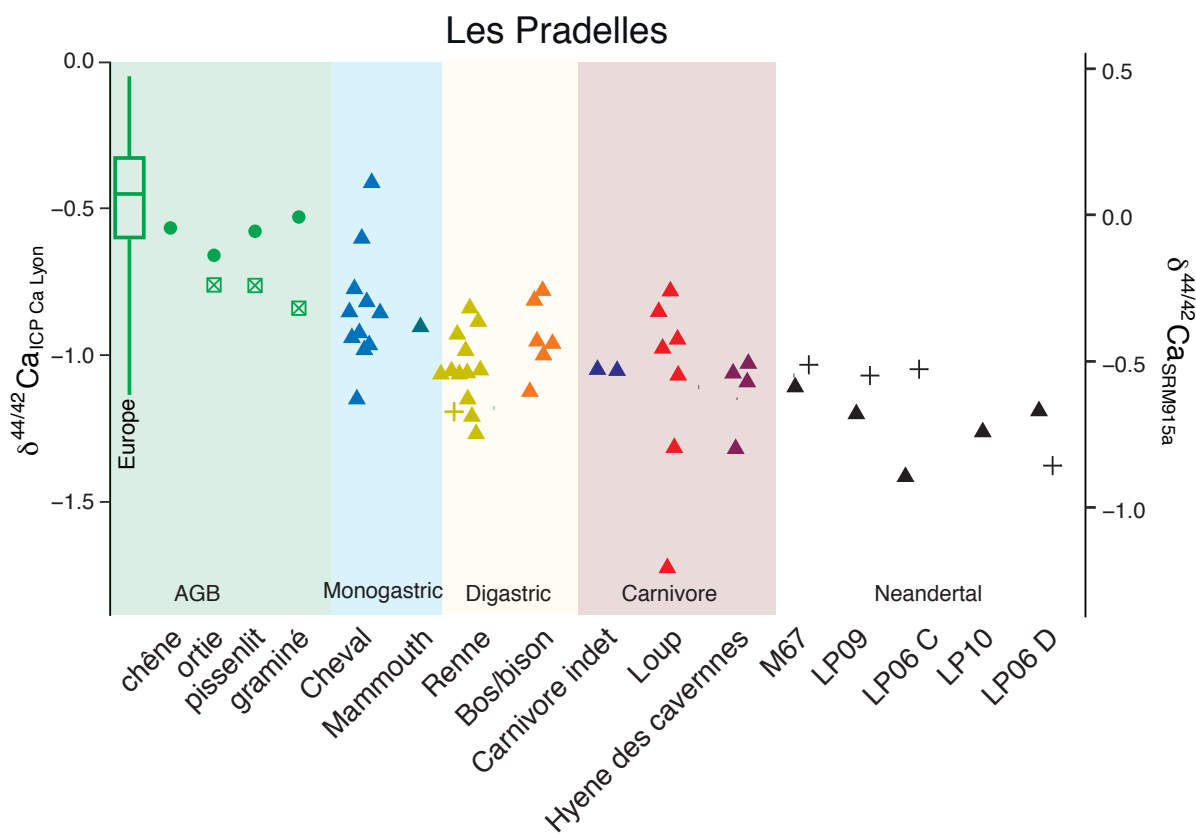


Figure 61 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des restes fossiles provenant du site des Pradelles (‰ par rapport à ICP Ca Lyon). Les triangles représentent les données d'os cortical, les croix les données d'os spongieux. À gauche, distribution de la composition isotopique des plantes actuelles provenant du site et la moyenne des plantes européennes actuelles. Les ronds représentent les données des feuilles et les carrés les données de tige, AGB signifie "aboveground biomass" (biomasse aérienne), compilation à partir des données de Skulan et DePaolo, 1999; Schmitt et al., 2003; Chu et al., 2006; Page et al., 2008; Bagard et al., 2013; Hindshaw et al., 2013; Moore et al., 2013; Christensen et al., 2018. **Fossil remains  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (‰ relative to ICP Ca Lyon and SRM 915b) from Les Pradelles.** Triangles represent cortical bone data, crosses represent trabecular bone data. On the left, isotopic composition of actual plants from the site and the average of actual european plants. Rounds represent leaf data and squares stem data, AGB stands for aboveground biomass, compiled from Skulan and DePaolo, 1999; Schmitt et al., 2003; Chu et al., 2006; Page et al., 2008; Bagard et al., 2013; Hindshaw et al., 2013; Moore et al., 2013; Christensen et al., 2018.

Le site des Pradelles n'est pas un site d'habitat. Il est considéré comme une halte de chasse (« hunting camp », Costamagno *et al.*, 2006), un lieu spécialisé dans le traitement de carcasses de rennes. Il était spécialisé dans le traitement de cet ongulés, avec un transport sur le site des parties anatomiques les plus riches en ressources alimentaires, avec la volonté de récupération de la moelle osseuse (Costamagno *et al.*, 2006; Maureille *et al.*, 2014). D'autres proies semblent avoir été exploitées dans une moindre proportion, quelques chevaux et de rares bisons étant identifiés parmi les ongulés chassés. L'une des particularités principales de ce site réside dans le traitement réservé à certains restes humains. En effet, une majorité des restes humains fragmentaires présentent des stigmates d'origine anthropique permettant de proposer l'hypothèse d'un traitement sensiblement identique à celui du renne. Cela témoignerait d'un cannibalisme « diététique ». Seul un échantillon néandertalien étudié ici ne présente pas de trace d'origine anthropique (voir Tableau 3 ; Partie II. Chapitre 1. B. Matériel anthropologique étudié).

### a. Individus LP09 D6 2a-4 415, LP06 D12 2a 1434 et LP10 D13 2a 232

Les individus LP09 D6 2a-4 415, LP06 D12 2a 1434 et LP10 D13 2a 232 (respectivement annotés LP09, LP06 D et LP10 par la suite) sont tous des individus considérés matures, bien que LP06 D ne soit probablement pas adulte (Maureille *et al.*, 2013). On peut donc considérer qu'ils possèdent un taux de renouvellement de l'os cortical et de l'os spongieux correspondant à  $\pm 10\%$  par an, avec un renouvellement de l'os spongieux plus rapide que l'os cortical (les données isotopiques obtenues témoignant alors d'une alimentation sur les dernières années de la vie des individus). Les individus LP09, LP06 D possèdent des valeurs de compositions isotopiques de l'os cortical proches de celles de l'os spongieux (respectivement  $-1,07\text{‰}$ ,  $-1,38\text{‰}$  soit  $+0,13\text{‰}$  et  $0,19\text{‰}$  par rapport à l'os cortical). Ils se situent, avec l'individu LP10 ( $-1,26\text{‰}$ ), dans une gamme de valeur de compositions isotopiques s'intégrant dans la variabilité basse de celles des carnivores et qui chevauche aussi très légèrement la variabilité basse des digastriques. On peut donc supposer que ces individus possèdent une alimentation de type carnivore. La grande proximité entre les rennes et les bos/bisons empêche de distinguer ces espèces, même si les herbivores digastriques représentent la part de l'alimentation la plus importante estimée par le modèle MIXSiar (Voir point d. ci-dessous).

### b. Individu M67 c10 G12 3

L'individu M67c10 G12 3 (raccourci M67 par la suite) est décrit par la littérature comme étant un individu immature dont l'âge peut être estimé entre 9 et 11 ans (Garralda *et al.*, 2014). À 10 ans le taux de renouvellement de l'os est encore relativement élevé (environ 50 % par an, Tsutaya et Yoneda, 2013, voir Partie II. Chapitre 2. E. b. Variations intra-individu de la composition en calcium des tissus minéralisés). Du fait de ce renouvellement rapide lié à la croissance de l'individu, l'os cortical et l'os spongieux ne peuvent pas témoigner d'une régularité de l'alimentation sur un temps long mais plutôt correspondent à une fenêtre de la dernière année de vie de l'individu. Bien qu'il possède la composition isotopique moyenne la plus haute (-1,07‰), cette valeur se situe dans l'intervalle correspondant à la variabilité basse des carnivores comme les trois individus décrits précédemment.

### c. Individu LP06 C6 5-4b 273

L'individu LP06 C6 5-b2 73 (raccourci LP06 C par la suite) possède la plus grande différence de composition isotopiques entre son os cortical et son os spongieux (respectivement -1,41‰ et -1,07‰ soit une différence de 0,34‰). Cette différence englobe l'ensemble de la variabilité mesurée chez les autres individus néandertaliens. On peut émettre plusieurs hypothèses sur cette modification rapide de la composition isotopique de l'os.

(1) Un changement important de l'alimentation.

(2) Un impact de la grossesse. En effet, chez différents taxons de mammifères étudiés les femelles gestantes semblent posséder une composition isotopique en calcium plus élevée que les individus mâles. Cette composition plus élevée est à mettre en lien avec une diminution du  $\Delta^{44/42}\text{Ca}$  alimentation-os qui passe de -0,57 ‰ à -0,28‰ soit une diminution de 0,29‰ (Hassler *et al.*, 2021) qui pourrait correspondre à la différence observée sur le néandertalien des Pradelles. En tant qu'interface métabolique privilégiée entre éléments sanguins et partie minéralisée, l'os spongieux pourrait être fortement impacté par les variations métaboliques liées à la gestation et à l'allaitement (Shahtaheri *et al.*, 1999). L'os cortical refléterait alors l'alimentation avant la gestation.

(3) Une blessure nécessitant un apport massif de calcium. Une zone de fracture pourrait présenter une composition isotopique en calcium différente, du fait d'une intégration rapide et préférentielle du calcium alimentaire dans cette zone. La composition isotopique de la zone de réparation serait le reflet de l'alimentation immédiate, le reste une moyenne sur plusieurs années.

Cette hypothèse est peu vraisemblable du fait de la proximité de prélèvement des deux échantillons ainsi que de l'absence de pathologie sur cet os.

(4) La dernière hypothèse concerne un épisode de carence alimentaire intense ayant provoqué une modification dans le processus d'absorption-résorption du calcium osseux (Ilich et Kerstetter, 2000; Shapiro et Heaney, 2003; Medeiros, 2016).

Il est pour l'heure encore impossible d'identifier le mécanisme à l'origine de la grande différence observée entre l'os cortical et l'os spongieux de cet individu. Si l'on exclut le périnatal du Moustier (LM2) dont les mécaniques de remobilisation sont sensiblement différentes, il s'agit de l'individu chez lequel il a été observé la plus forte différence de composition isotopique du calcium entre os cortical et os spongieux.

#### d. Estimation de l'alimentation des néandertaliens des Pradelles

La composition isotopique du calcium des individus LP09, LP06 D, LP10 et M67 est très proche, nous avons donc choisi de les considérer ensemble lors de l'estimation de la proportion des différentes sources alimentaires à l'aide du modèle MixSIAR, décrit plus en profondeur dans la Partie IV. Chapitre 2. C. Regourdou et la Grotte du Bison. Afin d'estimer au mieux l'apport des différents groupes nous avons choisi de considérer trois sources alimentaires possibles : (1) les herbivores digastriques (renne + bos/bison) ; (2) les herbivores monogastriques (chevaux+ mammoth) ; (3) et la moyenne de la biomasse aérienne des végétaux européens calculée d'après la bibliographie et les données acquises au cours de cette thèse (Figure 62, du fait de l'ajout des données exclusives de cette thèse, cette valeur est différente de celle utilisée dans l'article *Neandertal diverse bone calcium isotopes composition bespoke dietary behaviours*).

A cause de la grande différence de composition isotopique qu'il existe entre l'os cortical et l'os spongieux de l'individu LP06 C nous avons réalisé quatre modèles différents :

- le premier utilise la composition isotopique de tous les individus mais considère uniquement une source végétale et une source animale ;
- le second prend en compte seulement la composition de l'os cortical de LP06 C et l'ensemble des autres individus ;
- le troisième prend en compte seulement la composition de l'os spongieux de LP06 C et l'ensemble des autres individus ;
- le quatrième ne prend pas en compte LP06 C.



Du fait de la grande variabilité de compositions isotopiques des végétaux utilisée pour estimer la composition moyenne, celle-ci peut être sensiblement différente de celle observée. La proportion de végétaux observée à l'aide du modèle doit donc être considérée avec prudence.

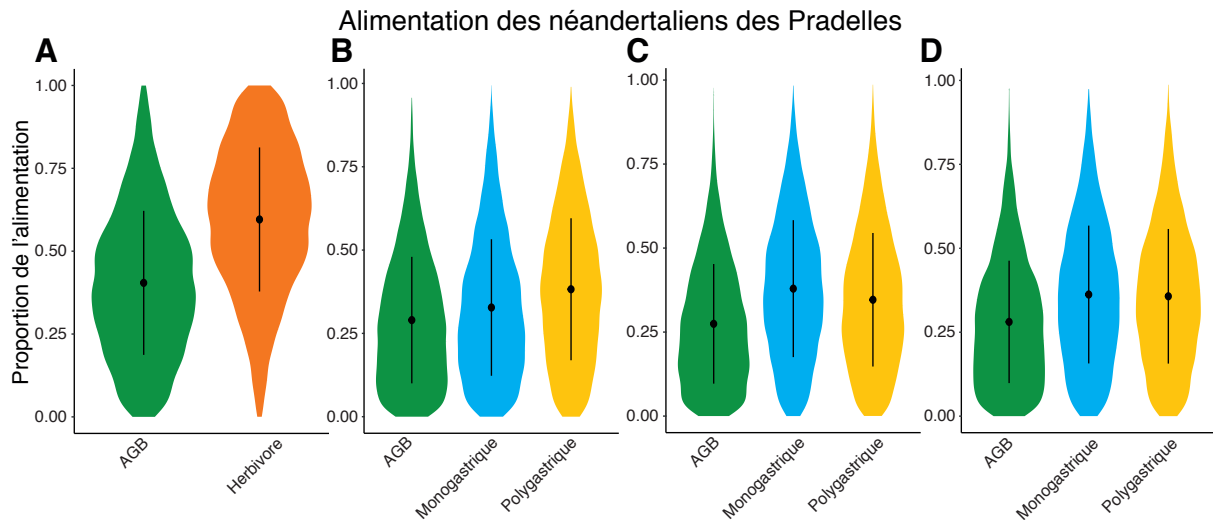


Figure 62 : Violin plot représentant les estimations de proportions du régime alimentaire pour l'ensemble des néandertaliens des Pradelles (A), tous les individus sans l'os spongieux de LP06 C (B), tous les individus sans l'os cortical de LP06 C (C) et tous les individus sans LP06 (D) en utilisant les valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des os fossiles et la moyenne des AGB des plantes européennes actuelles. Les points indiquent la probabilité moyenne et la ligne verticale est tracée entre la moyenne du deuxième et du troisième quartile. Violin plots representing diet proportion estimates for for all Pradelles Neandertals (A), all individuals without spongy bone from LP06 C (B), all individuals without cortical bone from LP06 C (C) and all individuals without LP06(D) using  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values from fossil bones and mean of AGB from actual European plants. Dots indicate mean probabilities and the vertical line is drawn between mean the second and third quartile.

Le modèle peine à différencier les différents groupes à cause de la trop grande proximité entre la composition isotopique moyenne des polygastriques et celle des monogastriques, ce qui conduit à supposer que ce ces deux groupes ont contribué à une portion importante de l'alimentation (>30 %). Cependant, on constate une augmentation de la contribution des polygastriques lorsque toutes les données sont utilisées, tandis que le retrait de l'os spongieux de LP06 C conduit lui aussi à une augmentation de la contribution des polygastriques. L'analyse combinée en utilisant seulement deux groupes (herbivores et la biomasse végétale aérienne « above ground biomasse ») permet d'établir de manière plus robuste les néandertaliens des Pradelles dans leur statut de consommateurs de matière animale, ou de l'importance que celle-ci occupe dans leur alimentation (proche de 70 %). Ceci est cohérent avec les données fournies par les analyses physiologiques et ethnographiques détaillée dans la partie précédente (Cordain *et al.*, 2000 ; Partie IV. Chapitre 2. C. Regourdou et la Grotte du Bison.).

On peut donc conclure que les néandertaliens des Pradelles possèdent une alimentation riche

en produits issus de l'exploitation animale, mais il est pour l'heure difficile de mettre en évidence une préférence de sources quant aux ongulés. L'ensemble des individus profite d'une alimentation similaire sans qu'aucune distinction ne soit faite selon les classes d'âge (M67 est un immature).

### E. Tourville-la-Rivière

L'accumulation de restes archéologiques au niveau du gisement de Tourville-la-Rivière résulte de dépôts liés à une dynamique fluviale. Du fait du mode de dépôts, il est difficile d'identifier une origine géographique précise des différents restes. La faible quantité d'artefacts atteste de la courte durée des occupations humaines. L'importance de ce site porte plus sur sa richesse paléontologique que sur la caractérisation de son occupation humaine, bien que la portée paléoanthropologique des trois restes humains mis au jour en 2010 soit importante (Faivre *et al.*, 2014b).

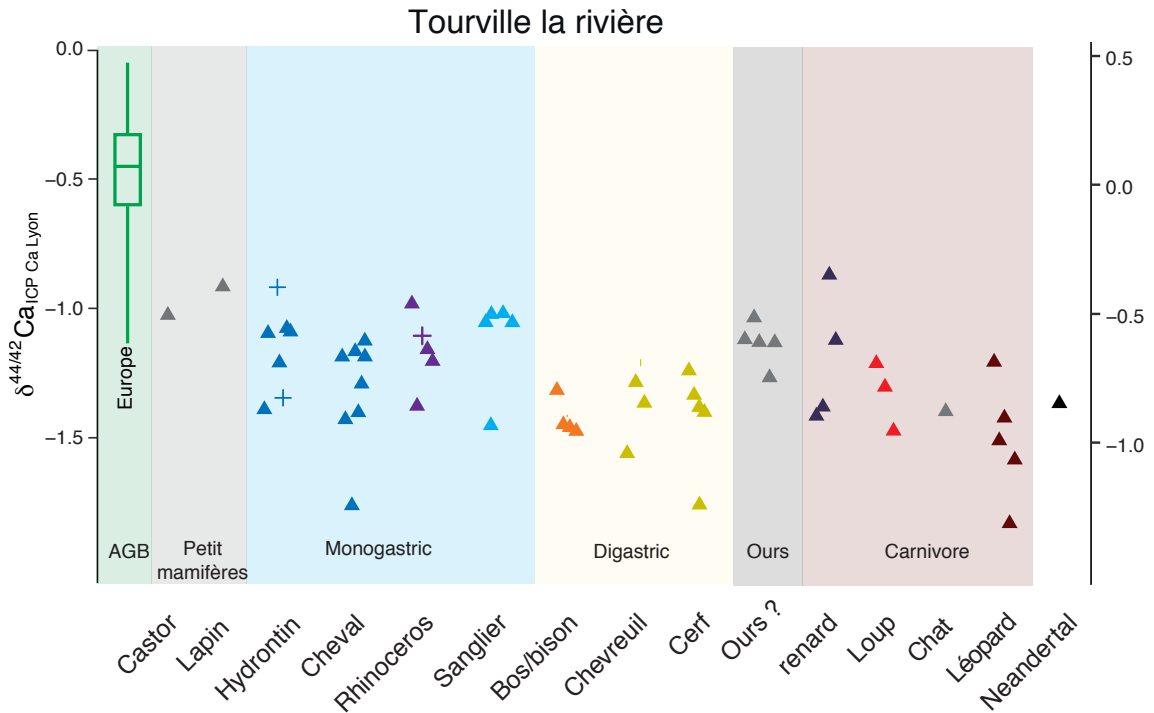


Figure 63 : Valeurs de  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  des restes fossiles provenant du site de Tourville-la-Rivière (% par rapport à ICP Ca Lyon). Les triangles représentent les données d'os cortical, les croix les données d'os spongieux. À gauche, distribution de la composition isotopique des plantes actuelle provenant du site et la moyenne des plantes européennes actuelles. AGB signifie "aboveground biomass" (biomasse aérienne), compilée à partir de Skulan and DePaolo, 1999; Schmitt *et al.*, 2003; Chu *et al.*, 2006; Page *et al.*, 2008; Bagard *et al.*, 2013; Hindshaw *et al.*, 2013; Moore *et al.*, 2013; Christensen *et al.*, 2018.  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values of fossil remains (% relative to ICP Ca Lyon and SRM 915b) from Tourville-la-Rivière. Triangles represent cortical bone data, crosses represent trabecular bone data. On the left, isotopic composition of actual plants from the site and the average of actual European plants. AGB stands for aboveground biomass, compiled from Skulan and DePaolo, 1999; Schmitt *et al.*, 2003; Chu *et al.*, 2006; Page *et al.*, 2008; Bagard *et al.*, 2013; Hindshaw *et al.*, 2013; Moore *et al.*, 2013; Christensen *et al.*, 2018

Le premier constat général fait lorsque l'on s'intéresse à la composition isotopique des taxons analysés du site de Tourville-la-Rivière est sa très faible dispersion 1,06‰ (entre -0,77 et -1,8‰) qui est largement inférieure à celle observée sur les autres sites analysés. Les explications de cet « écrasement » du réseau trophique peuvent être multiples. Nous nous attacherons à définir la plus vraisemblable.

Le premier facteur pouvant être responsable de l'observation d'un réseau trophique non conforme à celui attendu est la diagenèse. Or plusieurs arguments nous conduisent à penser que la diagenèse n'est pas le facteur principal expliquant l'écrasement de ce réseau. Du fait d'une composition isotopique proche de zéro (Tipper *et al.*, 2010; Schmitt, 2016), une contamination par le sol et les eaux de ruissellement aurait eu pour conséquence un enrichissement en isotopes lourds des os contaminés générant ainsi une augmentation des valeurs des compositions isotopiques. Or, il peut être constaté que le site de Tourville-la-Rivière est celui qui possède les compositions isotopiques les plus basses de tous les sites étudiés, ce qui va à l'encontre d'une hypothèse de contamination (Partie IV, Chapitre 1. A. Comparaisons inter-sites).

Une fois l'hypothèse de contamination par la diagenèse écartée, il convient de considérer les compositions isotopiques comme correctement conservées et reflétant une valeur biogénique, une autre explication à « l'écrasement » du réseau trophique de Tourville-la-Rivière doit donc être cherchée. Si on s'intéresse de près aux espèces présentes dans l'échantillonnage de Tourville-la-Rivière on constate que deux environnements dominant l'assemblage : un premier environnement de type milieu boisé/milieu forestier (sanglier, panthère, chevreuil) et un second environnement de type milieu ouvert non arctique (rhinocéros et chevaux) (Faivre *et al.*, 2014a). De plus, il a pu être constaté que le dépôt des vestiges s'est réalisé en plusieurs phases avec au moins deux groupes de dépôts, (d'après la méthode de répartition des restes selon les groupes de Voorhies ; Faivre *et al.*, 2014a). Cette observation suggère que l'accumulation résulte de plusieurs événements non synchrones ou d'un impact de la taille des espèces sur le dépôt. Les éléments peu transportables sont minoritaires pour l'aurochs et le cheval tandis que ceux plus facilement transportables par l'eau sont bien représentés, ce qui plaide pour un transport par un flux hydrique. Pour le cerf, ce sont les éléments peu transportables qui sont majoritaires, tandis que ceux facilement transportables sont minoritaires. Cela suggère, cette fois, une arrivée des carcasses « entières ».

La combinaison de ces deux facteurs, transport différentiel des espèces et appartenance à au moins deux environnements écologiques différents, suggèrent une grande hétérogénéité géographique dans la provenance des espèces, en lien avec une hétérogénéité d'environnement

végétal associée. Nous avons précédemment mis en évidence que l'environnement géologique et végétal avait un impact significatif sur le niveau de base du réseau trophique. Une provenance très hétérogène des espèces analysées aurait donc pour effet une moins bonne caractérisation des différents niveaux trophiques comme constatée à Tourville-la-Rivière.

Si la distinction entre les différents niveaux trophiques est moins claire à Tourville-la-Rivière que pour d'autres sites, on constate toujours une diminution des valeurs de compositions isotopiques lorsque l'on monte dans l'échelle trophique. Les herbivores ont ainsi une composition isotopique moyenne de -1,28‰, tandis que les carnivores ont une composition isotopique moyenne de -1,37‰. Si l'on s'intéresse à l'individu néandertalien de Trouville-la-Rivière, on constate que ses valeurs de compositions isotopiques se situent en dehors de la variabilité des monogastriques et des ours mais dans la variabilité des digastriques et des carnivores. On peut donc émettre deux hypothèses quant au régime alimentaire de ce néandertalien. Premièrement, du fait de sa proximité avec les carnivores, notamment le loup, et de sa différence de composition isotopique marquée avec les individus monogastriques, on peut supposer un régime alimentaire proche de celui du loup (dont la source animale majoritaire serait composée d'espèces monogastriques). Deuxièmement, du fait de sa proximité avec les espèces de types digastriques (cervidés et bovidés) on peut supposer une alimentation dont la source végétale est proche de celle consommée par les espèces digastriques et avec un apport en source animale limitée ou avec une absence d'exploitation des parties osseuses telles que la moelle.

## Chapitre 3 : Conclusion sur l'évolution des stratégies alimentaires des néandertaliens au cours du Paléolithique moyen

Afin d'obtenir une vision plus générale de l'évolution des stratégies alimentaires des néandertaliens au cours du Paléolithique moyen nous avons choisi d'ajouter aux observations faites à partir des isotopes du calcium les observations obtenues par l'analyse isotopique du carbone, de l'oxygène et de l'azote référencées dans la Partie I. Chapitre 2. B. c. Les données isotopiques.

En considérant l'ensemble des données isotopiques obtenues au cours des deux dernières décennies, la majorité d'entre elles concerne des sites datés du MIS 3, seules les données des sites de Sclayn, de Chagyrskaya (fin MIS 4 début MIS 3), de Payre et des Pradelles (Bocherens *et al.*, 1991, 1999, 2016; Salazar-García *et al.*, 2021) offrent des conclusions pour des sites dont les datations sont plus anciennes.

Le stade isotopique 3 est caractérisé par un climat froid avec un couvert végétal restreint principalement composé de steppe et toundra pour les environnements couverts par ces études (Goñi *et al.*, 2008). Pour cette période les conclusions apportées par les isotopes du carbone et de l'azote varient peu, les néandertaliens possèdent un niveau trophique élevé, mais pour lequel la consommation de végétaux ne peut pas être exclue. Nous n'avons analysé qu'un seul site livrant un néandertalien de cette période, le site du Moustier. Du fait du très jeune âge de l'individu les conclusions possibles sont limitées, seul un changement brutal dans l'alimentation de ce dernier a pu être observé. La mère de cet individu pourrait être d'un niveau trophique faible, plus proche des herbivores. Des recherches plus poussées sont nécessaires afin de confirmer cette hypothèse.

Le stade isotopique 4 ressemble un peu au précédent par son climat général, en plus froid et sec. Plusieurs sites provenant de ce stade isotopique ont fourni des résultats pour le carbone et l'azote et aussi pour le calcium. Le site des Pradelles a fourni des informations en carbone, azote (Bocherens *et al.*, 1991, 2005; Fizet *et al.*, 1995) et calcium (cette étude). Les conclusions de ces deux études sont très proches et attribut à l'ensemble des néandertaliens étudiés un niveau trophique très haut avec une fraction végétale qui semble minime. Deux autres sites ont fourni des résultats pour cette période, le site de Chagyrskaya ( $\delta^{13}\text{C}$ ;  $\delta^{15}\text{N}$ , daté de la fin MIS 4 début MIS 3 Salazar-García *et al.*, 2021) en Asie central et la Grotte du Bison ( $\delta^{44/42}\text{Ca}$ , cette étude) en France. Les conclusions de ses deux études s'accordent pour dire que les néandertaliens ayant fréquenté ces sites se positionnent à un niveau trophique élevé avec une fraction végétale non négligeable (supérieure à 20%). Cette conclusion est surprenante car du fait de son climat plus froid et sec le MIS 4 semble moins propice à l'exploitation des végétaux que le MIS 3.

Les stades isotopiques 5 et 7 correspondent tous les deux à un climat tempéré avec un couvert forestier plus ou moins dense. Seuls les isotopes du calcium ont fourni des données de niveau trophique concernant ces deux périodes, Regourdou (MIS 5) et Tourville-la-rivière (MIS 7). Un autre site a fourni des données pour le carbone et l'oxygène (Payre, MIS 8). Le site de Regourdou présente la particularité de fournir pour la première fois des données de compositions isotopiques qui apparentent un individu néandertalien au niveau trophique reflétant une alimentation sans consommation d'aliment contenant de l'os, tandis que le second individu du site présente les valeurs d'un niveau trophique très élevé de type carnivore avec consommation d'aliment contenant de l'os. Bien que la reconstruction du réseau trophique soit plus difficile, le néandertalien de Trouville-la-rivière s'apparente à un niveau trophique de type carnivore, proche de celui du loup, sans qu'il soit possible d'estimer la part végétale dans son alimentation. Du fait de son ancienneté, seuls les isotopes du carbone et de l'oxygène sont disponibles à Payre. Ils ne permettent pas d'apporter de conclusion quant au niveau trophique, seule l'origine des proies peut être estimée. Ainsi les auteurs ont déterminé que sur l'ensemble de la période d'occupation, les stratégies de subsistance avaient changé passant de la consommation de proie venant de la vallée à des proies venant du plateau.

Les stades 6 et 8 présentent tous deux un climat froid et sec avec un couvert végétal restreint similaire au stade isotopique 4. Seul un site est analysé pour le carbone et l'azote (Sclayn, MIS 6). Sur la base du carbone et de l'azote les néandertaliens de la couche 4 de Sclayn sont considérés comme ayant un statut de carnivore, consommateurs de grands herbivores d'environnement ouvert.

Dans ce contexte où peu de sites ont fourni des informations exploitables sur les stratégies de subsistance des néandertaliens au-delà de 50 000 ans cal BP, il est difficile de tirer des conclusions quant à l'évolution des stratégies alimentaires des néandertaliens au cours du temps, on peut toutefois mettre en avant plusieurs points :

- (1) Les individus analysés provenant de périodes climatiques très froides (MIS 3, dans une certaine mesure, 4 et 6) sont toujours associés à des niveaux trophiques élevés de type carnivore. Toutefois en fonction de la disponibilité une part variable de végétaux peut être présente, plus 25 % à la Grotte du Bison ou encore 20 % à Spy (Naito *et al.*, 2016). Seul l'individu du Moustier pourrait témoigner d'un changement d'alimentation brutal avec un niveau trophique proche de celui des herbivores. Toutefois l'absence de carnivore dans l'échantillon faunique ainsi que la classe d'âge du néandertalien Le Moustier 2 nous poussent à considérer cette hypothèse avec précaution.

- (2) Malgré une proximité importante dans le comportement alimentaire aux cours des stades 3, 4 et 6, on peut remarquer des différences notables entre sites, notamment du point de vue du spectre des proies consommées. Par exemple, ce sont majoritairement des espèces monogastriques qui sont consommées à la Grotte du Bison tandis que le profil des proies est plus homogène aux Pradelles. Cela témoigne d'une adaptation locale aux ressources disponibles ou des stratégies de chasse particulières, spécifiques à certains territoires et environnements.
- (3) Les individus analysés provenant des périodes climatiques plus tempérées (MIS 5 et 7) sont associés à une plus grande variabilité de niveau trophique avec notamment un individu au niveau trophique s'apparentant à un herbivore (Regourdou 2).
- (4) La très forte différence inter-groupes observée à Regourdou, pour des individus supposés avoir évolué dans un environnement proche, pose la question de l'impact d'organisations sociales sur les pratiques alimentaires de ces néandertaliens.

Ces observations sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle les stratégies alimentaires des Néandertaliens sont particulièrement bien adaptées à leurs environnements proches et suggèrent une plasticité écologique importante (Rivals *et al.*, 2022). Il convient maintenant d'étendre les analyses isotopiques au-delà du stade isotopique 4 afin de mieux comprendre le degré d'implication culturelle dans les choix des proies. De plus l'utilisation de nouveaux systèmes isotopiques, tels que le zinc ou le calcium, nous offre la possibilité d'étendre l'analyse de l'alimentation de l'Homme de Néandertal à des sites pour lesquels elle était impossible à analyser car offrant une mauvaise conservation du collagène en raison de leur histoire taphonomique.

## Partie V

# Conclusions et perspectives

Ce travail de thèse avait pour objectif principal d'utiliser le potentiel analytique des isotopes du calcium pour la reconstruction des stratégies alimentaires de la populations néandertaliennes françaises au cours des derniers 200 ka en utilisant l'os comme tissu de référence.

Le développement d'analyses précises des rapports isotopiques en géochimie a permis d'obtenir les variations de composition isotopique du calcium sur des restes fossiles (Heuser *et al.* 2011 ; Martin *et al.* 2015 ; 2017). Ces dernières années, la multiplication des recherches ainsi qu'une meilleure connaissance du cycle biologique du calcium (Tacaïl 2017) ont permis le développement d'un axe de recherche autour de la reconstruction des régimes alimentaires actuels et passés. Dans le cadre de la reconstruction des pratiques alimentaires humaines l'étude des compositions isotopiques du calcium s'est, pour le moment, limités à l'étude de la consommation de produits laitiers, principalement réalisés à partir de prélèvements sur l'émail dentaire (Tacaïl *et al.* 2017 ; 2019 ; 2021). Le potentiel des isotopes du calcium pour étudier la relation trophique a déjà été démontré en contexte paléontologique (Martin *et al.* ; 2015 ; 2018 ; Hu *et al.* 2021). En revanche son utilisation pour la reconstruction des habitudes alimentaires des néandertaliens est inédite.

Dans un premier temps, nous avons mis en évidence que la préservation de la composition isotopique du calcium dans l'os était suffisante même dans le cas d'une diagenèse importante pour les autres éléments chimiques. Le choix de l'os comme tissu de référence pour cette étude a été motivé par des aspects pratiques : d'une part par une plus grande disponibilité du matériel et d'autre part par en raison d'une plus grande ouverture des institutions muséales au le prélèvement de l'os relativement à l'émail, en raison de la conservation patrimoniale des fossiles néandertaliens. L'analyse de l'os nous a ainsi permis d'avoir accès à une grande quantité d'échantillons.

La résistance des deux tissus minéralisés (l'os et l'émail) à la diagenèse a été testée par l'analyse d'échantillons contaminés artificiellement puis d'échantillons naturels. Cela a permis de mettre en évidence la bonne conservation du signal isotopique du calcium dans l'os et dans l'émail pour la période chronologique des sites investis dans notre thèse. Dans le cas d'études sur des périodes plus anciennes, avec une diagenèse de type substitutive, l'os ne conserve pas la composition isotopique biogénique contrairement à l'émail qui devra alors être privilégié.



Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux différentes sources de calcium pouvant jouer un rôle important en tant que sources alimentaires. Nous avons ainsi pu améliorer les connaissances sur la répartition des isotopes du calcium chez les vertébrés et les végétaux. Un nouveau fractionnement isotopique a pu être identifié chez les vertébrés entre la moelle osseuse et l'os associé. De plus, une meilleure quantification du fractionnement entre les tissus mous (muscle) et l'os a pu être fournie. Enfin, contrairement à ce qui était admis jusqu'à présent, une différence de composition isotopique du calcium a pu être observée entre celle de l'hydroxyapatite de l'émail et celle de l'os.

Deux nouveaux tissus végétaux inédits ont pu être analysés, le fruit et le bulbe. La composition isotopique du bulbe est régie par les mêmes règles que celles des autres organes de la plante à savoir un enrichissement en isotope léger lorsque l'on monte au sein de la plante, les bulbes se situant entre la racine et la tige en terme de composition isotopique. Les fruits quant à eux présentent une composition plus atypique avec un enrichissement important en isotopes légers. La mesure de la composition isotopique en calcium et des concentrations en divers éléments dans les végétaux et tissus de vertébrés a mis en évidence plusieurs niveaux de contribution à la composition isotopique d'un réseau trophique. La consommation d'os suivie de celle de viande et de végétaux étant les facteurs les plus importants que nous avons pu identifier pour expliquer la répartition entre les différents niveaux trophique.

En raison du grand nombre de sites étudiés au cours de cette thèse, nous avons mis en évidence que le postulat émis par Heuser *et al.* (2011) selon lequel la localité n'exerce pas d'influence sur la répartition des isotopes du calcium au sein des réseaux trophiques doit être nuancé. Nous avons ainsi pu identifier au moins trois groupes de réseaux trophiques pour lesquels les compositions isotopiques présentaient une différence significative qui rend impossible une comparaison directe entre les sites. Les causes de ces différences n'ont pas pu être identifiées avec certitude. L'hypothèse la plus probable étant que le couvert végétal exerce une influence majeure dans la composition isotopique en calcium à la base d'un réseau trophique.

L'analyse d'un grand nombre de sites a été l'occasion de s'intéresser à l'utilisation des isotopes du calcium pour répondre à des problématiques spécifiques à l'étude de la faune. L'analyse de la faune a ainsi permis de démontrer que les isotopes du calcium peuvent être utilisés pour mieux contraindre le régime alimentaire de l'ours des cavernes, bien que la faible quantité d'échantillons analysés ne nous permette pas de fournir de conclusion définitive. Comme déjà démontré par la littérature, les isotopes du calcium se révèlent être un outil efficace pour contraindre la structure des

écosystèmes d'une part par la discrimination des différentes écologies des herbivores et d'autre part par une meilleure appréhension des relations proies-prédateurs.

Enfin, l'un des objectifs principaux de cette thèse était l'analyse de la composition isotopique des néandertaliens provenant de cinq sites s'étalant sur une chronologie assez longue. Nous avons pu mettre en évidence des stratégies alimentaires très variées entre ces sites. Ainsi, à Regourdou il est possible d'observer des stratégies alimentaires diamétralement opposées pour deux individus supposés subcontemporains mais appartenant à des groupes différents. Aux Pradelles, une très grande stabilité dans les pratiques alimentaires a pu être constatée sans qu'il soit possible de noter de différence en fonction des classes d'âge. Les sites de Tourville-la-rivière et de la Grotte du Bison nous renvoient à l'image plus habituelle des stratégies alimentaires néandertaliennes avec une fraction importante de matières animales. Du fait de son très jeune âge, les conclusions qu'il est possible de proposer pour le néandertalien du Moustier sont limitées, seul un changement brutal dans l'alimentation de ce dernier a pu être observé.

Les isotopes du calcium se sont révélés être un outil efficace pour la reconstruction alimentaire des néandertaliens. Toutefois un certain nombre de limites ont pu être soulevées au cours de cette thèse et un certain nombre de questions restent sans réponse. Il est donc essentiel de continuer les recherches sur la répartition des isotopes du calcium dans les écosystèmes terrestres et ce afin de mieux comprendre les relations qu'il existe entre le type d'habitude alimentaire et la composition isotopique en calcium et aussi entre le système digestif et la composition isotopique en calcium.

Nous avons fait le choix d'analyser des espèces végétales à proximité des différents sites afin de nous rapprocher au plus près de la composition isotopique de l'écosystème d'origine, et cette démarche s'est avérée infructueuse. Il est nécessaire de poursuivre les travaux sur les végétaux afin de pouvoir mieux caractériser la composition isotopique en calcium des végétaux au sein des écosystèmes fossiles et ce afin d'améliorer les robustesses des conclusions sur les reconstructions paléo-écologiques.

Pour finir, on peut constater que la fin des années 1990 ont été un premier tournant dans le développement de la géochimie en paléanthropologie avec, depuis vingt ans, un essor international des laboratoires réalisant des analyses isotopiques du carbone et de l'azote. L'évolution des techniques notamment des isotopes non traditionnels grâce à la « popularisation » de l'analyse par MC-ICP-MS et l'amélioration des techniques pour l'analyse des isotopes de l'azote ainsi que les développements des analyses paléogénomiques, entre autres, précèdent probablement une nouvelle « explosion » des recherches en bio-géo-archéologie. Mais ce nouvel engouement pour les analyses

nécessitant des prélèvements destructeurs ne doit pas se faire au détriment de la préservation des restes fossiles. C'est pourquoi il est essentiel de mettre en place dès aujourd'hui des stratégies de prélèvements et d'analyses minimisant le plus possible l'impact sur les restes et maximisant le nombre d'analyses à réaliser à partir d'un même et unique prélèvement. Cela nécessitera un dialogue inédit entre les différentes spécialités scientifiques, les diverses institutions conservant le matériel fossile ainsi qu'une réflexion nouvelle sur la nécessité de sauvegarder la morphologie originale de l'objet avant prélèvement.

# Annexes

## Annexe A

Site	Nature	Numéro de prélèvements	Espèces	Nature du vestige	Type	Leaching	$\delta^{44}\text{Ca}$	2SD
Camiac	Os	B2-52	Rhinocéros		os cortical	treated	-0.93	0.02
Camiac	Os	D8-30	Cerf	fgt os long	os cortical	treated	-1.39	0.02
Camiac	Os	E3-103	<i>Equus</i>	tibia-fibula	os cortical	treated	-1.01	0.04
Camiac	Os	C2-47	Bos/bison	fgt os long	os cortical	treated	-1.16	0.05
Camiac	Os	D6	Mammoth	humérus	os cortical	treated	-0.91	0.05
Camiac	Os	D7	Mammoth	fémur	os cortical	treated	-0.89	0.06
Camiac	Os	C3	<i>Equus</i>	tibia-fibula	os cortical	treated	-1.09	0.06
Camiac	Os	D2-30	Mégalocéros	os long diaphyse	os cortical	treated	-1.11	0.06
Camiac	Os	E3-90	Rhinocéros	os long diaphyse	os cortical	treated	-0.76	0.06
Camiac	Os	C2-51	Mégalocéros	fémur	os cortical	treated	-1.18	0.06
Camiac	Os	C2-02	Bos/bison	fgt os long	os cortical	treated	-1.29	0.08
Camiac	Os	E2-12	Rhinocéros	os long diaphyse	os cortical	treated	-0.67	0.08
Camiac	Os	E6-6	Rhinocéros	os long diaphyse	os cortical	treated	-0.78	0.09
Camiac	Os	C6-18	Hyène	fgt os long	os cortical	treated	-1.32	0.09
Camiac	Os	B2-64	Mammoth	fémur	os cortical	treated	-1.44	0.09
Camiac	Os	C2-35(B)	<i>Ursus spelaeus</i>	fgt os long	os cortical	treated	-1.12	0.09
Camiac	Os	D51	Hyène	fgt os long	os cortical	treated	-1.15	0.10
Camiac	Os	B2-29	<i>Equus</i>	tibia-fibula	os cortical	treated	-0.94	0.11
Camiac	Os	B3-2	<i>Panthera spelaea</i>	tibia D	os cortical	treated	-1.08	0.11
Camiac	Os	F1-14	Bos/bison	fgt os long	os cortical	treated	-1.13	0.12
Camiac	Os	B2-72	Hyène	fgt os long	os cortical	treated	-1.04	0.13
Camiac	Os	E2-32	<i>Equus</i>	tibia-fibula	os cortical	treated	-1.00	0.14
Camiac	Os	E2-82	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-1.22	0.15
Camiac	Os	C2-35(A)	<i>Ursus spelaeus</i>	ulna D	os cortical	treated	-1.12	0.16
Camiac	Os	C2-55	Cerf	fgt os long	os cortical	treated	-1.00	0.16
Camiac	Os	D3-22	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-1.07	0.17
Camiac	Os	B2	Hyène	fgt os long	os cortical	treated	-1.26	0.20
Camiac	Dent	F2-65	<i>Equus</i>	UMR	dent	untreated	-1.07	0.01
Camiac	Dent	E6-9	Bos/bison	LUM3	dent	untreated	-1.30	0.01
Camiac	Dent	F2-80	Rhinocéros	L?LPM	dent	untreated	-0.97	0.01
Camiac	Dent	E2-65	<i>Equus</i>	UMR	dent	untreated	-0.83	0.01
Camiac	Dent	D2-2	Mégalocéros	maxillaire L (M1M2M3)	dent	untreated	-1.47	0.03
Camiac	Dent	?-48	Rhinocéros	L?LPM	dent	untreated	-1.12	0.03
Camiac	Dent	C7-17	<i>Equus</i>	UMR	dent	untreated	-1.05	0.03
Camiac	Dent	B2-18	Mégalocéros	Mmandibule R (P3P3M1M2M3)	dent	untreated	-1.67	0.03
Camiac	Dent	E2-38	Mégalocéros	maxillaire L (M2M3)	dent	untreated	-1.51	0.03
Camiac	Dent	D3-36	Cerf	UM	dent	untreated	-0.97	0.04
Camiac	Dent	C2 63	Hyène	dernière prémolaire G sur hémi-mandibule	dent	untreated	-1.54	0.04
Camiac	Dent	E4-93	Cerf	UM	dent	untreated	-1.15	0.04
Camiac	Dent	B2-71-72	Rhinocéros	L?LPM	dent	untreated	-1.07	0.04
Camiac	Dent	C7-14	Mammoth	FR	dent	untreated	-1.16	0.04
Camiac	Dent	E4 26	<i>Ursus spelaeus</i>	molaire	dent	untreated	-1.11	0.04
Camiac	Dent	E2-9	Rhinocéros	L?LPM	dent	untreated	-0.97	0.05
Camiac	Dent	E3-84	Mégalocéros	mandibule R (M2M3)	dent	untreated	-1.62	0.05
Camiac	Dent	F2-44	Bos/bison	LUM4	dent	untreated	-1.27	0.05
Camiac	Dent	D3	Mammoth	FR	dent	untreated	-1.07	0.05
Camiac	Dent	B1-36	<i>Equus</i>	UMR	dent	untreated	-0.95	0.05
Camiac	Dent	Non marqué	Hyène	seconde prémolaire G sur maxillaire	dent	untreated	-1.42	0.06

Camiac	Dent	F4-44	Bos/bison	LUM6	dent	untreated	-1.38	0.06
Camiac	Dent	F2 48	Sanglier	canine sup ou inf	dent	untreated	-1.13	0.07
Camiac	Dent	B2 67	Hyène	première grosse molaire D maxillaire	dent	untreated	-1.29	0.07
Camiac	Dent	E4-14	Mammoth	FR	dent	untreated	-0.88	0.07
Camiac	Dent	E4-68	Bos/bison	LUM5	dent	untreated	-1.42	0.08
Camiac	Dent	F1 34 & 38	Hyène	première grosse molaire D sur hémi-mandibule		untreated	-1.07	0.09
Camiac	Dent	C2 51	<i>Panthera spelaea</i>	première grosse molaire D inférieure isolée	dent	untreated	-1.42	0.10
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301193	<i>Ursus arctos</i>	hémi mandibule g avec dents en place	os cortical	treated	-1.02	0.00
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300573	Hyène	maxillaire avec dents en place	os cortical	treated	-1.41	0.02
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301024	<i>Panthera spelaea</i>	1er phalange	os cortical	treated	-1.28	0.02
Jaurens	Os	UCBL-FSL 396156	Rhinocéros	métatarse II droit	os cortical	treated	-0.78	0.02
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300446	Loup	hémi mandibule g avec dents en place	os cortical	treated	-1.12	0.02
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301019	<i>Panthera spelaea</i>	1er phalange	os cortical	treated	-1.21	0.02
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301192	<i>Ursus arctos</i>	hémi mandibule g avec dents en place	os cortical	treated	-0.80	0.02
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300995	<i>Panthera spelaea</i>	mandibule avec dents en place	os cortical	treated	-1.47	0.03
Jaurens	Os	UCBL-FSL 451998	Bos/bison	métatarse gauche	os cortical	treated	-1.07	0.03
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300585	Hyène	hémi mandibule d avec dents en place	os cortical	treated	-1.46	0.03
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301184	<i>Ursus arctos</i>	hémi mandibule g avec dents en place	os cortical	treated	-1.05	0.04
Jaurens	Os	UCBL-FSL 452009	Bos/bison	métatarse gauche	os cortical	treated	-1.03	0.04
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300447	Loup	hémi mandibule g avec dents en place	os cortical	treated	-1.11	0.04
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300584	Hyène	hémi mandibule d avec dents en place	os cortical	treated	-1.31	0.04
Jaurens	Os	UCBL-FSL 302732	<i>Equus</i>	humérus gauche	os cortical	treated	-0.97	0.05
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300449	Loup	hémi mandibule g avec dents en place	os cortical	treated	-1.01	0.05
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301081	<i>Panthera pardus</i>	Mt ou Mc	os cortical	treated	-1.27	0.06
Jaurens	Os	UCBL-FSL 452004	Bos/bison	métatarse gauche	os cortical	treated	-1.11	0.06
Jaurens	Os	UCBL-FSL 396158	Rhinocéros	métacarpe III gauche	os cortical	treated	-0.99	0.06
Jaurens	Os	UCBL-FSL 302746	<i>Equus</i>	humérus gauche	os cortical	treated	-0.92	0.06
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300448	Loup	mandibule avec dents en place	os cortical	treated	-1.44	0.06
Jaurens	Os	UCBL-FSL 396143	Rhinocéros	métacarpe III gauche	os cortical	treated	-1.08	0.06
Jaurens	Os	UCBL-FSL 452006	Bos/bison	Métatarse gauche extrémité prox	os cortical	treated	-0.92	0.07
Jaurens	Os	UCBL-FSL 301190	<i>Ursus arctos</i>	maxillaire avec dents en place	os cortical	treated	-1.04	0.07
Jaurens	Os	UCBL-FSL 451271	Renne	M2 avec morceau dos dans racine	os cortical	treated	-1.24	0.08
Jaurens	Os	UCBL-FSL 396159	Rhinocéros	métacarpe III gauche	os cortical	treated	-0.92	0.08
Jaurens	Os	UCBL-FSL 302730	<i>Equus</i>	humérus gauche	os cortical	treated	-0.83	0.08
Jaurens	Os	UCBL-FSL 451409	Renne	mandibule droite avec P2->M3	os cortical	treated	-1.08	0.08
Jaurens	Os	UCBL-FSL 4511410	Renne	mandibule gauche avec P4->M3	os cortical	treated	-1.11	0.09
Jaurens	Os	UCBL-FSL 300583	Hyène	hémi-mandibule d avec dents en place	os cortical	treated	-1.11	0.10
Jaurens	Os	UCBL-FSL 451394	Renne	mandibule droite avec P2->M3	os cortical	treated	-1.27	0.11
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J Q10 17	Loup	radius	os cortical	treated	-0.90	0.01
La grotte du Bison	Os	Arcy 2011 BIS J T11 19	Loup	première phalange	os cortical	treated	-1.23	0.01

La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J S5 7	Loup	radius	os cortical	treated	-0.83	0.02
La grotte du Bison	Os	Arcy 2012 BIS J P12 36	Hyène	métapode	os cortical	treated	-1.04	0.03
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J Q14	Loup	première phalange	os cortical	treated	-0.93	0.03
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S10 22	Renne	métatarse	os cortical	treated	-0.97	0.03
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S10 12	<i>Equus</i>	humérus	os cortical	treated	-0.57	0.03
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS I J R4	Mégalocéros	extrémité phalange	os cortical	treated	-0.70	0.03
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J R8 41	Renne	métatarse	os cortical	treated	-0.59	0.03
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J Q12 20	Renne	métatarse	os cortical	treated	-0.76	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J Q7 6 (8?)	<i>Ursus spelaeus</i>	métapode	os cortical	treated	-0.69	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J P6 9	Renne	métacarpe	os cortical	treated	-0.55	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2012 BIS J S13 1	Hyène	métatarse	os cortical	treated	-0.78	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J Q14 15	Bos/bison	fragment métatarsien	os cortical	treated	-0.86	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S10 52	<i>Equus</i>	fémur	os cortical	treated	-0.51	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J T11 123	<i>Ursus spelaeus</i>	Côte	os cortical	treated	-0.66	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J S5 38	Bos/bison	talus	os cortical	treated	-0.91	0.04
La grotte du Bison	Os	Arcy 1963 BIS J1 T15 2822	Bos/bison	fémur	os cortical	treated	-0.88	0.05
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J Q14 27	<i>Ursus spelaeus</i>	fibula	os cortical	treated	-0.69	0.05
La grotte du Bison	Os	Arcy 2012 BIS J O10 29	<i>Equus</i>	métatarsien	os cortical	treated	-0.59	0.06
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S10 37	<i>Equus</i>	humérus juvénile	os cortical	treated	-0.65	0.06
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J P9 102	<i>Equus</i>	talus	os cortical	treated	-0.35	0.06
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J Q12 2	Renne	métatarse	os cortical	treated	-0.74	0.06
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J O11 8	Renard	mandibule	os cortical	treated	-0.72	0.07
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J Q13 42	<i>Ursus spelaeus</i>	vertèbre	os cortical	treated	-0.59	0.07
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S7 1	Hyène	fémur	os cortical	treated	-0.63	0.07
La grotte du Bison	Os	Arcy 2019 BISJ R12-31(2)	Neandertal	fibula gauche	os cortical	treated	-0.75	0.07
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S10 5	Renne	métatarse	os cortical	treated	-0.68	0.07
La grotte du Bison	Os	Arcy 2011 BIS J O10 304	<i>Ursus spelaeus</i>	axis	os cortical	treated	-0.79	0.07
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J S16 35	Hyène	mandibule	os cortical	treated	-1.04	0.08
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J P8 48	<i>Equus</i>	phalange	os cortical	treated	-0.58	0.08
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J S10 62	Rhinocéros	talus droit	os cortical	treated	-0.44	0.08
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J Q11 1	Hyène	tibia hyène	os cortical	treated	-1.05	0.08
La grotte du Bison	Os	Arcy BIS ?? T17 47	Mammoth		os cortical	treated	-0.79	0.09

La grotte du Bison	Os	Arcy 2012 BIS J R8 2/Q8 2	Bos/bison	phalange 2	os cortical	treated	-0.85	0.09
La grotte du Bison	Os	Arcy 2016 BIS Jbis R6 23	Rhinocéros	radius	os cortical	treated	-0.57	0.09
La grotte du Bison	Os	Arcy 2017 BIS J P10 41	<i>Ursus spelaeus</i>	hémi-mandibule immature	os cortical	treated	-0.59	0.09
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J T15 1	Hyène	métapode	os cortical	treated	-1.02	0.09
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J R8 48	<i>Ursus spelaeus</i>	métapode	os cortical	treated	-0.62	0.09
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J R3 3	Cerf	métacarpien	os cortical	treated	-0.70	0.10
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J O4 48	Hyène	fragment mandibule hyenon	os cortical	treated	-0.79	0.10
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J T14 12	Loup	Phalange	os cortical	treated	-0.50	0.10
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J S10 4	Renard	hémi-mandibule droite	os cortical	treated	-0.61	0.10
La grotte du Bison	Os	Arcy 2014 BIS J P9 74	Bos/bison	humérus bos-	os cortical	treated	-0.69	0.11
La grotte du Bison	Os	Arcy 2012 BISJ O11 15	Bos/bison	métacarpien	os cortical	treated	-0.48	0.11
La grotte du Bison	Os	Arcy 2015 BIS J S6 83	<i>Equus</i>	mandibule	os cortical	treated	-0.56	0.12
La grotte du Bison	Os	Arcy 2013 BIS J P6 3	<i>Ursus spelaeus</i>	métapode	os cortical	treated	-0.52	0.15
La grotte du Bison	Os	Arcy 2016 BIS J S6 11	Bos/bison	métacarpien	os cortical	treated	-0.81	0.23
Le Moustier	Os	144	Neandertal	écaille occipitale	os cortical	treated	-1.59	0.01
Le Moustier	Os	23064	Cerf	Fémur	os cortical	treated	-1.23	0.01
Le Moustier	Os	42	Neandertal	paroi alvéolaire de canine	os cortical	treated	-1.12	0.01
Le Moustier	Os	25096	Cerf	Tibia	os spongieux	treated	-0.72	0.03
Le Moustier	Os	25096	Cerf	Tibia	os cortical	treated	-0.96	0.04
Le Moustier	Os	27015	Capra/bouquetin	Métatarse	os cortical	treated	-0.73	0.05
Le Moustier	Os	20100	Renne	Fémur	os cortical	treated	-0.64	0.06
Le Moustier	Os	7672	Renne	Métatarse	os cortical	treated	-0.61	0.06
Le Moustier	Os	23864	Bos/bison	Tibia	os cortical	treated	-1.03	0.08
Le Moustier	Os	27241	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-0.91	0.08
Le Moustier	Os	24911	Cerf	radio ulnaire	os cortical	treated	-1.28	0.10
Le Moustier	Os	26199	Bos/bison	Métatarse	os cortical	treated	-0.78	0.10
Le Moustier	Os	20531	Bos/bison	Métatarse	os cortical	treated	-0.80	0.10
Le Moustier	Os	20316	Bos/bison	métacarpe	os cortical	treated	-0.81	0.12
Le Moustier	Os	motte 3	Neandertal	côte n°7	os cortical	treated	-1.03	0.12
Le Moustier	Os	443	Renne	Radio ulnaire	os cortical	treated	-0.90	0.14
Le Moustier	Os	8132	Renne	Métatarse	os cortical	treated	-0.71	0.14
Le Moustier	Os	820	Renne	Tibia	os cortical	treated	-0.79	0.22
Marillac	Os	M73 11 E9 394	Loup	?	os cortical	treated	-0.94	0.00
Marillac	Os	M71 10 F12 98	Renne	frgt diaphyse radius	os cortical	treated	-1.06	0.00
Marillac	Os	M78 9a D7 42	<i>Equus</i>	os complet tarse / carpe	os cortical	treated	-0.41	0.01
Marillac	Os	M70 10 G12 31	Carnivore indet	?	os cortical	treated	-1.05	0.01
Marillac	Os	M72 10 J9 13	Hyène	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-1.32	0.02
Marillac	Os	M75 12 I9 9	Loup	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-0.78	0.02
Marillac	Os	M73 9b E8 19	<i>Equus</i>	ext articulaire os long	os cortical	treated	-0.96	0.02
Marillac	Os	LP06 C6 5-4b 273	Neandertal	fémur	os cortical	treated	-1.41	0.02
Marillac	Os	M77 8 B9 8	Renne	humérus diaphyse	os cortical	treated	-1.21	0.02
Marillac	Os	M72 11 E10 511	Loup	mandibule	os cortical	treated	-0.98	0.03
Marillac	Os	M71 10 G11 123	Loup	maxillaire	os cortical	treated	-0.85	0.03
Marillac	Os	LP06 D12 2a 1434	Neandertal	fémur	os spongieux	treated	-1.38	0.03
Marillac	Os	M70 10 F12 15	<i>Equus</i>	frgt diaphyse	os cortical	treated	-0.85	0.03
Marillac	Os	M72 9c E10 452	Bos/bison	ext articulaire os long	os cortical	treated	-0.95	0.04
Marillac	Os	M78 8J D8 15	Renne	frgt pelvis	os cortical	treated	-0.88	0.04

Marillac	Os	M72 10 E12 71	<i>Equus</i>	frgt diaphyse	os cortical	treated	-0.98	0.04
Marillac	Os	M71 10 G9 30	Renne	frgt diaphyse tibia	os spongieux	treated	-1.18	0.04
Marillac	Os	M71 10 F12 9	Renne	ext art tibia	os cortical	treated	-0.93	0.04
Marillac	Os	M71 10 G10 190 ou 198	<i>Equus</i>	fragment diaphyse	os cortical	treated	-0.77	0.05
Marillac	Os	M80 7 C9 4	Loup	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-1.07	0.06
Marillac	Os	M71 10 F10 78	<i>Equus</i>	frgt diaphyse	os cortical	treated	-0.85	0.06
Marillac	Os	LP06 C6 5-4b 273	Neandertal	fémur	os spongieux	treated	-1.05	0.06
Marillac	Os	M71 10 H10 18	Renne	frgt diaphyse tibia	os cortical	treated	-0.98	0.06
Marillac	Os	M 9a D9 11	Hyène	hémi-mandibule droite	os cortical	treated	-1.06	0.06
Marillac	Os	LP11 4b C11 2280 + 2283	Hyène	mandibule	os cortical	treated	-1.03	0.06
Marillac	Os	M73 11 E12 95	Bos/bison	frgt ext art	os cortical	treated	-0.96	0.07
Marillac	Os	M72 11 E11 359	Bos/bison	fragt diaphyse	os cortical	treated	-1.12	0.07
Marillac	Os	M71 10 G12 35	<i>Equus</i>	fragt sabot	os cortical	treated	-0.92	0.07
Marillac	Os	M70 10 F10 32	Hyène	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-1.09	0.07
Marillac	Os	M71 10 G10 70	Carnivore indet	ulna	os cortical	treated	-0.30	0.07
Marillac	Os	LP10 D13 2a 232	Neandertal	fémur	os cortical	treated	-1.26	0.07
Marillac	Os	M72 9c E10 340	Bos/bison	frgt diaphyse	os cortical	treated	-0.78	0.08
Marillac	Os	M78 8J D8 179	Renne	frgt ext diaphyse radius	os cortical	treated	-1.05	0.08
Marillac	Os	LP09 D6 2a-4 415	Neandertal	Fémur	os cortical	treated	-1.20	0.08
Marillac	Os	M67 G12 couche rouge	Neandertal	Fémur	os cortical	treated	-1.11	0.08
Marillac	Os	M71 10 G11 114	<i>Equus</i>	frgt diaphyse	os cortical	treated	-1.15	0.08
Marillac	Os	M72 11 E12 82	Bos/bison	Frgt côte	os cortical	treated	-0.81	0.08
Marillac	Os	M67 G12 couche rouge	Neandertal	fémur	os spongieux	treated	-1.03	0.08
Marillac	Os	M71 10 G10 62	Carnivore indet		os cortical	treated	-1.05	0.08
Marillac	Os	LP06 D12 2a 1434	Neandertal	fémur	os cortical	treated	-1.19	0.09
Marillac	Os	M77 8J D8 28	Renne	frgt diaphyse MTM	os cortical	treated	-1.06	0.09
Marillac	Os	M71 10 G9 35	Renne	frgt diaphyse radius	os cortical	treated	-1.06	0.09
Marillac	Os	M72 10 E9 295	<i>Equus</i>	frgt diaphyse	os cortical	treated	-0.82	0.09
Marillac	Os	M71 10 H11 22	Renne	frgt diaphyse humérus	os cortical	treated	-1.15	0.09
Marillac	Os	M71 10 F9 27	<i>Equus</i>	ext articulaire os long	os cortical	treated	-0.94	0.09
Marillac	Os	M71 10 I10 2	Renne	frgt diaphyse tibia	os cortical	treated	-0.84	0.09
Marillac	Os	M71 10 F12 108	Renne	ext prox fémur	os cortical	treated	-1.05	0.09
Marillac	Os	M72 9c E10 383	Bos/bison	frgt diaphyse	os cortical	treated	-1.00	0.10
Marillac	Os	M77 8J D9 11	Renne	humérus diaphyse	os cortical	treated	-1.27	0.10
Marillac	Os	LP09 D6 2a-4 415	Neandertal	fémur	os spongieux	treated	-1.07	0.10
Marillac	Os	LP10 2a' L10 7	Mammoth	humérus	os cortical	treated	-0.90	0.11
Marillac	Os	M72 10 E10 460	<i>Equus</i>	frgt diaphyse	os cortical	treated	-0.60	0.11
Marillac	Os	M80 9c D11 247	Loup	maxillaire	os cortical	treated	-1.73	0.11
Marillac	Os	M80 7 C9 27	Loup	hémi-mandibule droite	os cortical	treated	-1.31	0.16
Regourdou	Os	K3-69/2193	Loup	hémi-mandibule	os cortical	treated	-0.99	0.00
Regourdou	Os	H7-7	Renne	scapula	os cortical	treated	-1.19	0.01
Regourdou	Os	REG 1	Neandertal	fémur	os spongieux	treated	-1.56	0.02
Regourdou	Os	Reg 2 1008 G5 12	Sanglier	ulna g ?	os cortical	treated	-0.82	0.03
Regourdou	Os	Reg 4b I3 36 1700	Chevreuil	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-1.02	0.03
Regourdou	Os	3441	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-1.16	0.04
Regourdou	Os	3827 / D2-33	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-0.97	0.04
Regourdou	Os	563 / F6-5	Cerf	fémur	os cortical	treated	-1.28	0.05
Regourdou	Os	3455 / M6-8	Loup	tibia	os cortical	treated	-1.17	0.06
Regourdou	Os	H7-3	Renne	coxal	os cortical	treated	-1.08	0.06
Regourdou	Os	2580	<i>Equus</i>	radius	os cortical	treated	-1.07	0.06
Regourdou	Os	REG 2	Neandertal	calcanéus	os spongieux	treated	-0.78	0.06
Regourdou	Os	REG 2	Neandertal	calcanéus	os cortical	treated	-0.80	0.07
Regourdou	Os	J6-36	Cerf	radius	os cortical	treated	-1.52	0.07
Regourdou	Os	1644 / H6-60	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-1.23	0.08
Regourdou	Os	242 / F2-35	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-0.93	0.08
Regourdou	Os	463 / F3 57	Sanglier	humérus	os cortical	treated	-0.79	0.08



Regourdou	Os	Reg J5 13	<i>Equus</i>	seconde phalange	os cortical	treated	-0.62	0.09
Regourdou	Os	Reg 4 M5 14 3387	Chevreuil	hémi-mandibule droite	os cortical	treated	-0.91	0.09
Regourdou	Os	H4-34	Cerf	tibia	os cortical	treated	-1.39	0.09
Regourdou	Os	J6-43	Cerf	métatarse	os cortical	treated	-1.32	0.09
Regourdou	Os	3969 / E3-109	Loup	humérus	os cortical	treated	-1.22	0.09
Regourdou	Os	397 / F3-44	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-1.01	0.09
Regourdou	Os	ours sepulture	<i>Ursus arctos</i>	tibia	os cortical	treated	-0.94	0.09
Regourdou	Os	Reg L4 13	<i>Panthera spelaea</i>	talus droit	os cortical	treated	-0.97	0.09
Regourdou	Os	Reg I5 4	<i>Equus</i>	omoplate gauche	os cortical	treated	-0.76	0.09
Regourdou	Os	2970 / J5-3	Renne	métatode	os cortical	treated	-1.10	0.09
Regourdou	Os	2472	Cerf	ibia	os cortical	treated	-1.51	0.10
Regourdou	Os	REG 1	Neandertal	fémur	os cortical	treated	-1.51	0.10
Regourdou	Os	I7-11	Renne	scapula	os cortical	treated	-1.08	0.10
Regourdou	Os	Reg 4C 20 C4 6 *	Bos/bison	première phalange	os cortical	treated	-1.26	0.10
Regourdou	Os	REG 1	Neandertal	humérus	os cortical	treated	-1.67	0.11
Regourdou	Os	1037 / G5-42	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-1.08	0.11
Regourdou	Os	3200 / L6-18	<i>Equus</i>	mandibule	os cortical	treated	-1.06	0.11
Regourdou	Os	I7-10	Sanglier	fémur	os cortical	treated	-0.99	0.11
Regourdou	Os	3914 / E3-56	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-0.97	0.11
Regourdou	Os	Reg 4C 20 C4 6	Bos/bison	première phalange	os cortical	treated	-0.92	0.11
Regourdou	Os	E2-103 4C 4084	<i>Ursus arctos</i>	ulna droit	os cortical	treated	-0.95	0.11
Regourdou	Os	Reg 2 K3 30 2154	Bos/bison	Tibia g	os cortical	treated	-0.67	0.12
Regourdou	Os	2636 / L4-12	<i>Panthera spelaea</i>	radius	os cortical	treated	-1.73	0.12
Regourdou	Os	Reg K4 6	<i>Panthera spelaea</i>	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-1.13	0.12
Regourdou	Os	Reg 4 3204	Cerf	extrémité distale humérus distal	os cortical	treated	-1.03	0.12
Regourdou	Os	Reg E3 24	<i>Equus</i>	première phalange	os cortical	treated	-0.86	0.12
Regourdou	Os	1644 / H6-60	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os cortical	treated	-1.33	0.13
Regourdou	Os	Reg 4 291 F2 84	Sanglier	ulna g ?	os cortical	treated	-0.72	0.14
Regourdou	Os	Reg 4 2472	Cerf	trois quart distaux tibia droit	os cortical	treated	-2.06	0.16
Regourdou	Os	3827 / D2-33	<i>Ursus arctos</i>	fémur	os spongieux	treated	-1.25	0.19
Regourdou	Os	D4-65/D4-24*	<i>Equus</i>	temporal	os cortical	treated	-2.02	0.22
Regourdou	Os	Reg E3 101	Sanglier	hémi-mandibule gauche	os cortical	treated	-0.82	0.26
Regourdou	Os	E2-103 4C 4084	<i>Ursus arctos</i>	ulna droit	os cortical	treated	-0.94	0.45
Sirogne	Os	MNP2012-1-11	Loup	métatode	os cortical	treated	-1.18	0.03
Sirogne	Os	MNP2012-1-10	<i>Ursus spelaeus</i>	phalange	os cortical	treated	-0.82	0.04
Sirogne	Os	MNP2012-1-5	Cerf	tibia	os cortical	treated	-1.12	0.04
Sirogne	Os	SIR 14 K10 10125	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-0.89	0.04
Sirogne	Os	MNP2012-1-10	<i>Ursus spelaeus</i>	phalange	os cortical	treated	-1.24	0.05
Sirogne	Os	MNP2012-1-4	Renne	os long	os cortical	treated	-1.02	0.06
Sirogne	Os	SIR 14 K10 10238	<i>Ursus spelaeus</i>	diaphyse	os cortical	treated	-0.81	0.06
Sirogne	Os	MNP2012-1-4	Renne	os long	os cortical	treated	-1.18	0.07
Sirogne	Os	MNP2012-1-3	Capra/bouquetin	os long	os cortical	treated	-1.08	0.08
Sirogne	Os	MNP2012-1-3	Capra/bouquetin	os long	os cortical	treated	-1.08	0.08
Sirogne	Os	MNP2012-1-12	<i>Panthera spelaea</i>	phalange	os cortical	treated	-2.04	0.09
Sirogne	Os	MNP2012-1-5	Cerf	Talus	os cortical	treated	-1.20	0.09
Sirogne	Os	SIR 14 K10 10535	Bos/bison	fémur	os cortical	treated	-1.35	0.10
Sirogne	Os	MNP2012-1-10	<i>Ursus spelaeus</i>	humérus	os cortical	treated	-0.95	0.10
Sirogne	Os	SIR 14 K10 10237	<i>Ursus spelaeus</i>	fémur	os cortical	treated	-1.00	0.11
Sirogne	Os	MNP2012-1-10	<i>Ursus spelaeus</i>	phalange	os cortical	treated	-0.94	0.11
Sirogne	Os	MNP2012-1-4	Renne	os long	os cortical	treated	-1.28	0.12
Sirogne	Os	MNP2012-1-4	Renne	os long	os cortical	treated	-1.29	0.12
Sirogne	Os	MNP2012-1-6	Chevreuil	humérus	os cortical	treated	-1.18	0.12
Sirogne	Os	MNP2012-1-5	Cerf	talus	os cortical	treated	-1.12	0.13
Sirogne	Os	SIR 14 K10 10101	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-0.98	0.14
Sirogne	Os	MNP2012-1-3	Capra/bouquetin	os long	os cortical	treated	-0.79	0.19
Tourville la riviere	Os	1113	<i>Equus hydruntinus</i>	phalange 1	os spongieux	treated	-1.35	0.01
Tourville la riviere	Os	A389.3	Renard	mandibule	os cortical	treated	-1.38	0.01

Tourville la riviere	Os	1235	Cerf	vert lombaire	os cortical	treated	-1.38	0.03
Tourville la riviere	Os	1192	<i>Equus</i>	métapode ves	os cortical	treated	-1.76	0.03
Tourville la riviere	Os	A313	<i>Panthera pardus</i>		os cortical	treated	-1.83	0.03
Tourville la riviere	Os	1000	<i>Equus</i>	phalange 3	os cortical	treated	-1.19	0.03
Tourville la riviere	Os	A515	<i>Panthera pardus</i>	humérus	os cortical	treated	-1.59	0.03
Tourville la riviere	Os	1044	Bos/bison	fémur	os cortical	treated	-1.32	0.03
Tourville la riviere	Os	A121	<i>Panthera pardus</i>	Ulna	os cortical	treated	-1.51	0.03
Tourville la riviere	Os	1378	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-1.46	0.03
Tourville la riviere	Os	A76	Loup	mandibule	os cortical	treated	-1.47	0.04
Tourville la riviere	Os	A68	Rhinocéros	ulna	os cortical	treated	-1.20	0.04
Tourville la riviere	Os	A379	Rhinocéros	hamatum	os cortical	treated	-1.16	0.04
Tourville la riviere	Os	1113	<i>Equus hydruntinus</i>	phalange 1	os cortical	treated	-1.21	0.04
Tourville la riviere	Os	A604	Lepus	tibia	os cortical	treated	-0.92	0.04
Tourville la riviere	Os	A49	Sanglier	métatarse	os cortical	treated	-1.05	0.05
Tourville la riviere	Os	OIS7	Neandertal	frgt humérus gauche	os cortical	treated	-1.37	0.05
Tourville la riviere	Os	1237	Cerf	vert lombaire	os cortical	treated	-1.40	0.05
Tourville la riviere	Os	A72	Chevreuil	métatarse	os cortical	treated	-1.29	0.05
Tourville la riviere	Os	782	<i>Equus</i>	tarse	os cortical	treated	-1.40	0.05
Tourville la riviere	Os	A28	Ursus	humérus	os cortical	treated	-1.27	0.05
Tourville la riviere	Os	506	<i>Equus hydruntinus</i>	métacarpe 2	os cortical	treated	-1.39	0.06
Tourville la riviere	Os	A242	Renard	mandibule	os cortical	treated	-1.42	0.06
Tourville la riviere	Os	A96	Renard	fémur	os cortical	treated	-1.12	0.06
Tourville la riviere	Os	1278	Cerf	humérus	os cortical	treated	-1.76	0.06
Tourville la riviere	Os	A578	Sanglier	ulna	os cortical	treated	-1.05	0.06
Tourville la riviere	Os	A115	<i>Panthera pardus</i>	humérus	os cortical	treated	-1.21	0.06
Tourville la riviere	Os	1171	Bos/bison	tibia	os cortical	treated	-1.45	0.06
Tourville la riviere	Os	848	Bos/bison	ulna	os cortical	treated	-1.48	0.06
Tourville la riviere	Os	A204	Rhinocéros	métapode	os spongieux	treated	-1.11	0.07
Tourville la riviere	Os	A12b	Chevreuil	métatarse	os cortical	treated	-1.56	0.07
Tourville la riviere	Os	A27.B	Ursus	métacarpe 2	os cortical	treated	-1.13	0.07
Tourville la riviere	Os	A446	Ursus	radius	os cortical	treated	-1.13	0.07
Tourville la riviere	Os	A31	Loup	mandibule	os cortical	treated	-1.21	0.07

## Annexes

Tourville la riviere	Os	1073	<i>Equus</i>	vert cerv	os cortical	treated	-1.17	0.07
Tourville la riviere	Os	865	<i>Equus hydruntinus</i>	métatarse	os cortical	treated	-1.10	0.08
Tourville la riviere	Os	505	<i>Equus hydruntinus</i>	radio-ulna	os spongieux	treated	-0.92	0.08
Tourville la riviere	Os	A144	Rhinocéros	scaphoïde	os cortical	treated	-1.38	0.08
Tourville la riviere	Os	A272	Ursus	tibia	os cortical	treated	-1.12	0.08
Tourville la riviere	Os	A77	Sanglier	métacarpe	os cortical	treated	-1.02	0.09
Tourville la riviere	Os	1183	Cerf	métacarpe	os cortical	treated	-1.34	0.09
Tourville la riviere	Os	A86	Chevreuil	métatarse	os cortical	treated	-1.37	0.09
Tourville la riviere	Os	A580	Sanglier	fémur	os cortical	treated	-1.02	0.09
Tourville la riviere	Os	A279	<i>Panthera pardus</i>	ulna	os cortical	treated	-1.42	0.09
Tourville la riviere	Os	A494	Loup	crâne	os cortical	treated	-1.30	0.10
Tourville la riviere	Os	A509	Sanglier	humérus	os cortical	treated	-1.45	0.10
Tourville la riviere	Os	1115	<i>Equus</i>	vert cerv axis	os cortical	treated	-1.43	0.10
Tourville la riviere	Os	1069	Cerf	métacarpe	os cortical	treated	-1.24	0.11
Tourville la riviere	Os	A394	Felis sp.	atlas	os cortical	treated	-1.40	0.12
Tourville la riviere	Os	500	<i>Equus</i>	métatarse	os cortical	treated	-1.19	0.12
Tourville la riviere	Os	A14	Rhinocéros	métacarpe	os cortical	treated	-0.98	0.12
Tourville la riviere	Os	A600	Renard	humérus	os cortical	treated	-0.87	0.13
Tourville la riviere	Os	A151	Ursus	radius	os cortical	treated	-1.04	0.13
Tourville la riviere	Os	1222	<i>Equus hydruntinus</i>	fémur	os cortical	treated	-1.09	0.14
Tourville la riviere	Os	A281	<i>Equus</i>	tibia	os cortical	treated	-1.13	0.17
Tourville la riviere	Os	1193	<i>Equus hydruntinus</i>	métapode ves	os cortical	treated	-1.08	0.17
Tourville la riviere	Os	A550 bis	Castor fiber ?	indet	os cortical	treated	-1.03	0.17
Tourville la riviere	Os	976	<i>Equus</i>	tarse talus	os cortical	treated	-1.29	0.30

## Annexe B

Suppléments à l'article: *Limits of calcium isotopes diagenesis in fossil bone and enamel*

### *Supplementary Material*

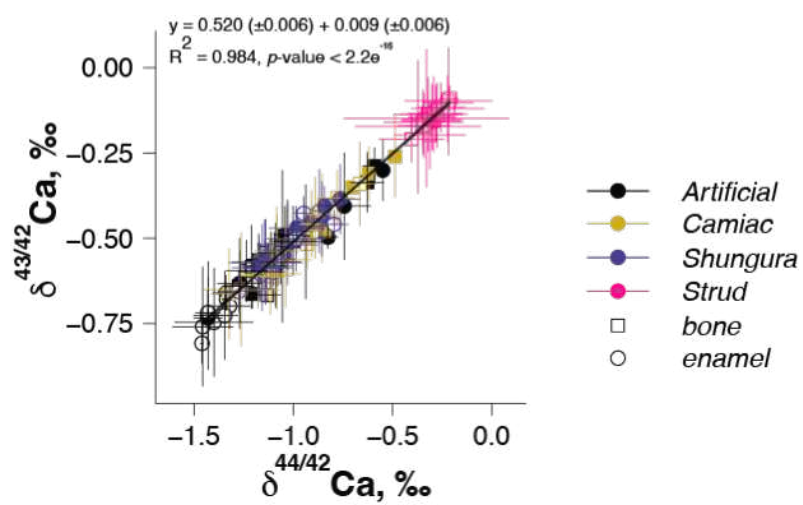
#### **Limits of calcium isotopes diagenesis in fossil bone and enamel**

Pierre-Jean Dodat, Jeremy E. Martin, Sébastien Olive, Auguste Hassler, Emmanuelle Albalat, Jean-Renaud Boisserie, Gildas Merceron, Antoine Souron, Bruno Maureille, Vincent Balter

**Supplementary figure 1:** Mass fractionation in three-isotope space  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  vs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  calculated from the measurements of the samples in this study.

**Supplementary table 1:** Table of results for artificial fossil bone and enamel samples.

**Supplementary table 2:** Table of results for natural fossil bone and enamel samples.



**Supplementary figure 1:** Mass fractionation in three-isotope space  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  vs  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  calculated from the measurements of the samples in this study.

Supplementary table 1: Table of results for artificial fossil bone and enamel samples.

Tissue	Lab ID	Ca xs, %	Leaching	$\delta^{44}\text{Ca}$	$\pm 2\sigma$	$\delta^{46}\text{Ca}$	$\pm 2\sigma$	[Ca], %	Ca/P
bone	B80%	81.4	untreated	-0.35	0.08	-0.17	0.08	40.7	12.1
bone	B80%L	81.4	treated	-1.20	0.03	-0.58	0.02	45	2.13
bone	B60%	60.0	untreated	-0.59	0.06	-0.29	0.05		
bone	B60%L	60.0	treated	-1.17	0.01	-0.56	0.00		
bone	B50%	52.0	untreated	-0.63	0.08	-0.34	0.09	38.4	4.84
bone	B50%L	52.5	treated	-1.16	0.12	-0.60	0.06	16.2	2.12
bone	B30%	30.2	untreated	-0.94	0.14	-0.51	0.17	37.9	2.93
bone	B30%L	30.2	treated	-1.14	0.03	-0.54	0.04	21.4	2.12
bone	B20%	20.1	untreated	-1.00	0.12	-0.51	0.10	36.2	2.99
bone	B20%L	20.1	treated	-1.13	0.07	-0.67	0.02		
bone	B15%	15.2	untreated	-1.03	0.07	-0.49	0.10	36.4	2.41
bone	B15%L	15.2	treated	-1.17	0.13	-0.57	0.08	21.4	2.11
bone	B10%	10.0	untreated	-1.06	0.03	-0.52	0.22	36.4	2.69
bone	B10%L	10.0	treated	-1.27	0.03	-0.64	0.02		
bone	B7%	7.2	untreated	-1.11	0.12	-0.56	0.08	43.0	2.21
bone	B7%L	7.2	treated	-1.24	0.11	-0.60	0.09	28.1	2.10
bone	B5%	5.0	untreated	-1.04	0.02	-0.49	0.09	38.7	2.53
bone	B5%L	5.0	treated	-1.09	0.06	-0.53	0.05		
bone	B1%	1.0	untreated					38.1	2.41
bone	B0%	0.0	untreated	-1.21	0.03	-0.66	0.04	36.9	2.47
bone	B0%L	0.0	treated	-1.21	0.04	-0.58	0.12		
enamel	E80%	77	untreated	-0.55	0.04	-0.30	0.09	30.2	10.3
enamel	E80%L	78	treated	-1.40	0.20	-0.75	0.16	4.6	2.14
enamel	E60%	59	untreated	-0.74	0.13	-0.41	0.16	30.2	5.43
enamel	E60%L	56	treated	-1.34	0.07	-0.66	0.05	11.0	2.17
enamel	E50%	50	untreated	-0.83	0.05	-0.50	0.03	30.7	4.35
enamel	E50%L	49	treated	-1.34	0.03	-0.68	0.03	13.3	2.12
enamel	E30%	30	untreated	-1.06	0.10	-0.57	0.07	30.2	3.06
enamel	E30%L	28	treated	-1.43	0.07	-0.73	0.16	17.2	2.10
enamel	E20%	21	untreated	-1.09	0.05	-0.58	0.12	27.5	2.71
enamel	E20%L	21	treated	-1.46	0.01	-0.81	0.06	19.5	2.09
enamel	E15%	15	untreated	-1.27	0.07	-0.64	0.10	29.4	2.43
enamel	E15%L	17	treated	-1.43	0.02	-0.72	0.00	20.8	2.09
enamel	E10%	11	untreated	-1.27	0.11	-0.63	0.13	30.0	2.31
enamel	E10%L	11	treated	-1.32	0.11	-0.70	0.07	22.1	2.13
enamel	E7%	8	untreated	-1.27	0.06	-0.64	0.03	32.6	2.24
enamel	E7%L	9	treated	-1.34	0.07	-0.73	0.13	27.0	2.14
enamel	E5%		untreated	-1.30		-0.73			
enamel	E5%L	7	treated	-1.46	0.15	-0.76	0.18	25.5	2.11
enamel	E0%	0	untreated	-1.43	0.07	-0.73	0.08	28.7	2.11
enamel	E0%L	0	treated	-1.43	0.06	-0.72	0.10	20.0	2.11

Supplementary table 2: Table of results for natural fossil bone and enamel samples.

Site	Tissue	Lab ID	Leaching	Field ID	Taxum	Trophic level	Ca/P	$\delta^{13}C_{org} \pm 2\sigma$	$\delta^{15}N_{org} \pm 2\sigma$	( $\delta^{15}N_{org}$ ) <sub>min</sub>	( $\delta^{15}N_{org}$ ) <sub>max</sub>	( $\delta^{15}N_{org}$ ) <sub>avg</sub>
Camiac	bone	CA-13L	treated	E6-6	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	Herbivore	2.10	-0.78	0.09	-0.38	0.08	0.889
Camiac	bone	CA-13	untreated	E6-6	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	Herbivore	2.12	-0.84	0.01	-0.48	0.01	0.681
Camiac	bone	CA-12L	treated	O6-18	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	2.14	-1.32	0.09	-0.66	0.13	0.746
Camiac	bone	CA-12	untreated	O6-18	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	2.20	-1.08	0.02	-0.57	0.14	0.805
Camiac	bone	CA-11L	treated	C2-51	<i>Megalocerus giganteus</i>	Herbivore	2.09	-1.18	0.06	-0.61	0.09	0.793
Camiac	bone	CA-11	untreated	C2-51	<i>Megalocerus giganteus</i>	Herbivore	2.13	-1.04	0.01	-0.52	0.07	0.829
Camiac	bone	CA-10L	treated	B2-72	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	-1.04	0.13	-0.56	0.14		6.46
Camiac	bone	CA-10	untreated	B2-72	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	-0.92	0.03	-0.46	0.04		3.57
Camiac	bone	CA-9L	treated	C2-35(A)	<i>Ursus spelaeus</i>	Omnivore	2.09	-1.12	0.16	-0.60	0.12	0.839
Camiac	bone	CA-9	untreated	C2-35(A)	<i>Ursus spelaeus</i>	Omnivore	2.13	-0.91	0.02	-0.46	0.06	0.821
Camiac	bone	CA-8L	treated	D51	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	2.09	-1.15	0.10	-0.60	0.04	0.777
Camiac	bone	CA-8	untreated	D51	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	2.11	-0.90	0.06	-0.46	0.04	0.861
Camiac	bone	CA-7L	treated	B2	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	2.06	-1.26	0.20	-0.65	0.17	0.948
Camiac	bone	CA-7	untreated	B2	<i>Orcutus orcutus</i>	Carnivore	2.16	-0.89	0.05	-0.44	0.12	0.771
Camiac	bone	CA-6L	treated	B3-2	<i>Panthera spelaea</i>	Carnivore	-1.08	0.11	-0.54	0.13	0.884	
Camiac	bone	CA-6	untreated	B3-2	<i>Panthera spelaea</i>	Carnivore	-0.88	0.04	-0.43	0.05	0.785	
Camiac	bone	CA-5L	treated	D2-30	<i>Megalocerus giganteus</i>	Herbivore	2.07	-1.11	0.06	-0.61	0.07	0.780
Camiac	bone	CA-5	untreated	D2-30	<i>Megalocerus giganteus</i>	Herbivore	2.17	-0.86	0.01	-0.44	0.13	0.803
Camiac	bone	CA-4L	treated	F3-34	<i>Ixus sp.</i>	Herbivore	2.10	-1.13	0.12	-0.61	0.07	0.797
Camiac	bone	CA-4	untreated	F3-34	<i>Ixus sp.</i>	Herbivore	2.16	-0.85	0.07	-0.43	0.05	0.797
Camiac	bone	CA-3L	treated	B2-52	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	Herbivore	2.11	-0.93	0.02	-0.52	0.07	0.721
Camiac	bone	CA-3	untreated	B2-52	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	Herbivore	2.24	-0.70	0.03	-0.35	0.01	0.635
Camiac	bone	CA-2L	treated	D6	<i>Momomatus primigenius</i>	Herbivore	-0.91	0.05	-0.46	0.10		5.01
Camiac	bone	CA-2	untreated	D6	<i>Momomatus primigenius</i>	Herbivore	-0.62	0.04	-0.31	0.08		3.20
Camiac	bone	CA-1L	treated	E2-12	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	Herbivore	-0.67	0.08	-0.34	0.12		2.24
Camiac	bone	CA-1	untreated	E2-12	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	Herbivore	-0.49	0.04	-0.26	0.12		1.33
Shangqiu	enamel	SJ8L	treated	OMO 383-10128	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.13	-1.28	0.10	-0.66	0.06	0.942
Shangqiu	enamel	SJ8	untreated	OMO 383-10128	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.24	-1.18	0.09	-0.58	0.07	0.931
Shangqiu	enamel	SJ4L	treated	L 26-85	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.07	-1.16	0.15	-0.59	0.13	0.906
Shangqiu	enamel	SJ4	untreated	L 26-85	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.12	-1.17	0.09	-0.59	0.08	0.903
Shangqiu	enamel	SJ9L	treated	OMO 310-10020	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.17	-1.12	0.01	-0.56	0.03	0.898
Shangqiu	enamel	SJ9	untreated	OMO 310-10020	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.14	-1.17	0.04	-0.57	0.06	0.889
Shangqiu	enamel	SJ2L	treated	OMO 122-10035	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.17	-1.14	0.04	-0.56	0.12	0.892
Shangqiu	enamel	SJ2	untreated	OMO 122-10035	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.16	-1.14	0.19	-0.57	0.12	0.889
Shangqiu	enamel	SJ7L	treated	OMO 47-3968-2152	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.16	-1.13	0.06	-0.58	0.07	0.926
Shangqiu	enamel	SJ7	untreated	OMO 47-3968-2152	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.10	-1.14	0.07	-0.56	0.12	0.982
Shangqiu	enamel	SJ14L	treated	OMO 47-3971-321	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.19	-1.16	0.01	-0.61	0.01	0.905
Shangqiu	enamel	SJ14	untreated	OMO 47-3971-321	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.16	-1.12	0.01	-0.59	0.06	0.947
Shangqiu	enamel	SJ13L	treated	OMO 383-10084	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.21	-1.10	0.07	-0.58	0.06	1.006
Shangqiu	enamel	SJ13	untreated	OMO 383-10084	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.17	-1.05	0.03	-0.55	0.04	0.938
Shangqiu	enamel	SJ1L	treated	L 11-4	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.10	-1.08	0.07	-0.56	0.08	0.943
Shangqiu	enamel	SJ1	untreated	L 11-4	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.13	-1.03	0.15	-0.52	0.12	0.930
Shangqiu	enamel	SJ12L	treated	OMO VE 3-10076	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.18	-0.95	0.05	-0.43	0.05	0.911
Shangqiu	enamel	SJ12	untreated	OMO VE 3-10076	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.18	-0.98	0.09	-0.48	0.07	0.823
Shangqiu	enamel	SJ8L	untreated	OMO 371-10008	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.21	-0.98	0.14	-0.47	0.03	0.886
Shangqiu	enamel	SJ8	treated	OMO 371-10008	<i>Notodon sp.</i>	Herbivore	2.19	-1.10	0.01	-0.60	0.01	0.894
Shangqiu	enamel	SJ11L	treated	L 11-4	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.14	-0.99	0.15	-0.50	0.10	0.807
Shangqiu	enamel	SJ11	untreated	L 11-4	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.07	-0.91	0.06	-0.45	0.02	0.885
Shangqiu	enamel	SJ10L	treated	OMO 161-10019	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.15	-0.85	0.00	-0.43	0.05	0.925
Shangqiu	enamel	SJ10	untreated	OMO 161-10019	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.13	-0.86	0.09	-0.44	0.11	0.957
Shangqiu	enamel	SJ1L	treated	OMO 41-3968-2515	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.11	-0.87	0.04	-0.42	0.12	0.933
Shangqiu	enamel	SJ1	untreated	OMO 41-3968-2515	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.16	-0.84	0.04	-0.41	0.06	0.957
Shangqiu	enamel	SJ5L	treated	OMO VE 3-10059	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.17	-0.80	0.07	-0.46	0.04	0.934
Shangqiu	enamel	SJ5	untreated	OMO VE 3-10059	<i>Metriliodon sp.</i>	Herbivore	2.18	-0.76	0.10	-0.39	0.10	0.938
Strud	bone	S01	treated	RSNB Vert-3993-001	<i>cf. Eothenodon wangjioi</i>	Top predator	2.13	-0.40	0.16	-0.21	0.07	0.281
Strud	bone	S02	treated	RSNB Vert-32745-001	<i>Turrisopsis stralensis</i>	Secondary benthic consumer	2.13	-0.33	0.42	-0.15	0.20	0.294
Strud	bone	S03	treated	RSNB Vert-32220-003	<i>Turrisopsis stralensis</i>	Secondary benthic consumer	2.08	-0.34	0.20	-0.16	0.09	0.223
Strud	bone	S04	treated	RSNB Vert-31595-010	<i>Phyllolepis undulata</i>	Secondary benthic consumer	2.08	-0.25	0.12	-0.12	0.07	0.261
Strud	bone	S05	treated	RSNB Vert-32438-030	<i>Phyllolepis undulata</i>	Secondary benthic consumer	2.09	-0.23	0.06	-0.10	0.00	0.166
Strud	bone	S06	treated	MMNH ARD 264	<i>Jurivivio sp.</i>	Predator	2.12	-0.31	0.18	-0.20	0.10	0.239
Strud	bone	S07	treated	MMNH ARD 267	<i>Jurivivio sp.</i>	Predator	2.13	-0.28	0.14	-0.13	0.08	0.247
Strud	bone	S08	treated	RSNB Vert-31264-088	<i>cf. Langivivio socpacti</i>	Top predator	2.12	-0.27	0.02	-0.14	0.02	0.224
Strud	bone	S09	treated	RSNB Vert-32438-054	<i>cf. Eothenodon wangjioi</i>	Top predator	2.14	-0.32	0.17	-0.14	0.11	0.217
Strud	bone	S10	treated	RSNB Vert-06845-003c	<i>Acanthodii indet.</i>	Secondary pelagic consumer	2.11	-0.22	0.05	-0.09	0.01	0.344
Strud	bone	S11	treated	RSNB Vert-06845-003a	<i>Acanthodii indet.</i>	Secondary pelagic consumer	2.08	-0.30	0.12	-0.14	0.10	0.174
Strud	bone	S12	treated	RSNB Vert-3993-005	<i>cf. Langivivio socpacti</i>	Top predator	2.09	-0.28	0.04	-0.13	0.02	0.318
Strud	bone	S14	treated	RSNB A.004	<i>cf. Ichthyostegus</i>	Top predator	2.15	-0.22	0.13	-0.10	0.04	0.260
Strud	bone	S15	treated	RSNB A.003	<i>cf. Ichthyostegus</i>	Top predator	2.11	-0.21	0.04	-0.09	0.04	0.242
Strud	bone	S16	treated	PAULIG 6106	<i>cf. Ichthyostegus</i>	Top predator	2.09	-0.29	0.02	-0.16	0.03	0.276
Strud	bone	S18	treated	RSNB Vert-31913-013	<i>Phyllolepis undulata</i>	Secondary benthic consumer	2.11	-0.37	0.32	-0.17	0.20	0.294
Strud	bone	S19	treated	RSNB Vert-31264-036	<i>Phyllolepis undulata</i>	Secondary benthic consumer	2.12	-0.22	0.22	-0.10	0.16	0.257
Strud	bone	S23	treated	RSNB Vert-06845-001b	<i>Grossalepis rivikii</i>	Secondary benthic consumer	2.25	-0.22	0.18	-0.12	0.10	0.199
Strud	bone	S24	treated	RSNB Vert-31594-001	<i>Grossalepis rivikii</i>	Secondary benthic consumer	2.09	-0.30	0.15	-0.15	0.06	0.312
Strud	bone	S25	treated	RSNB Vert-3993-003	<i>cf. Eothenodon wangjioi</i>	Top predator	2.13	-0.31	0.15	-0.15	0.04	0.228
Strud	bone	S26	treated	RSNB Vert-31264-087	<i>Holopychius sp.</i>	Predator	2.11	-0.35	0.13	-0.17	0.06	0.215
Strud	bone	S27	treated	RSNB Vert-31594-015	cosmine-covered 'osteolepididae'	Predator	2.11	-0.28	0.11	-0.14	0.10	0.240
Strud	bone	S28	treated	RSNB Vert-31594-014	cosmine-covered 'osteolepididae'	Predator	2.10	-0.32	0.00	-0.16	0.01	0.217
Strud	bone	S29	treated	RSNB Vert-3993-002	<i>cf. Eothenodon wangjioi</i>	Top predator	2.11	-0.29	0.17	-0.14	0.11	0.220
Strud	bone	S30	treated	RSNB Vert-31913-037	cosmine-covered 'osteolepididae'	Predator	2.19	-0.34	0.13	-0.17	0.10	0.214

## Annexe C

Suppléments à l'article: *Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil*

### Supplementary Online Materials

Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: Application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil.

This file includes:

SOM Figure S1: Location of the Regourdou site.

SOM Figure S2: Photo of sampling on Regourdou 1 bones.

SOM Figure S3: Comparison of Fe/Ca, Mn/Ca, U/Ca, Ba/Ca, Sr/Ca and  $\Sigma$ REE.

SOM Figure S4: Heat map of geochemical data.

SOM Figure S5: Plot of mass dependency.

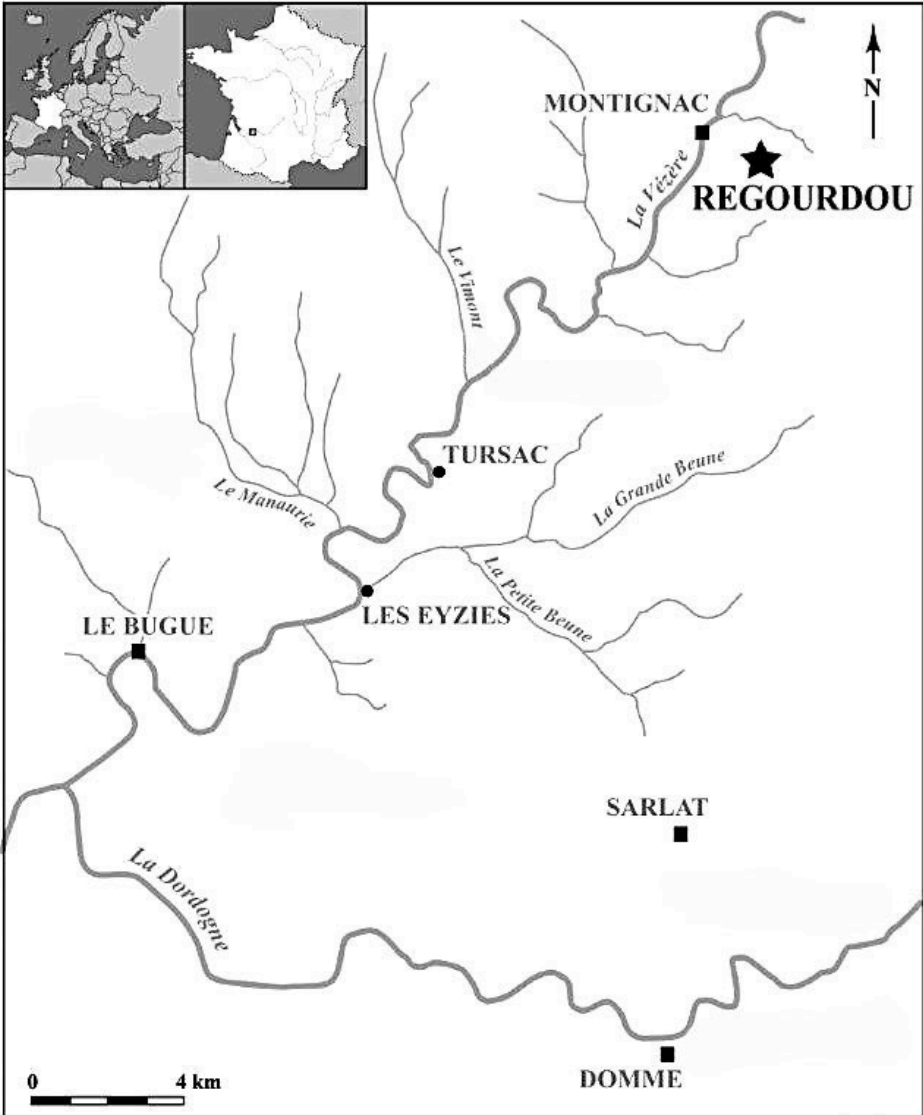
SOM Figure S6:  $\delta^{44}\text{Ca}$  values of cortical bone as a function of spongy bone

SOM Table S1: Ca isotopic composition and elementary concentration in fossil samples

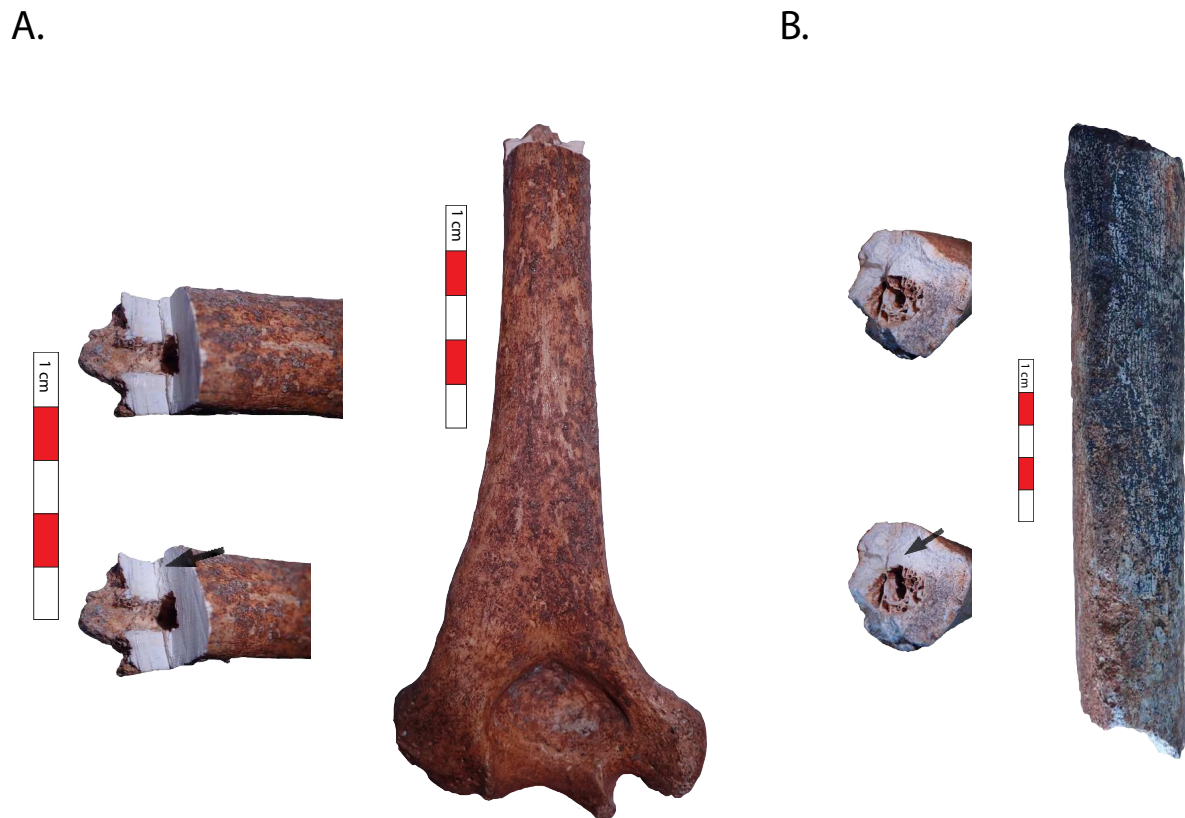
SOM Table S2: Ca isotopic compositions and concentration in modern samples

SOM Table S3: REE distribution in all fossil samples

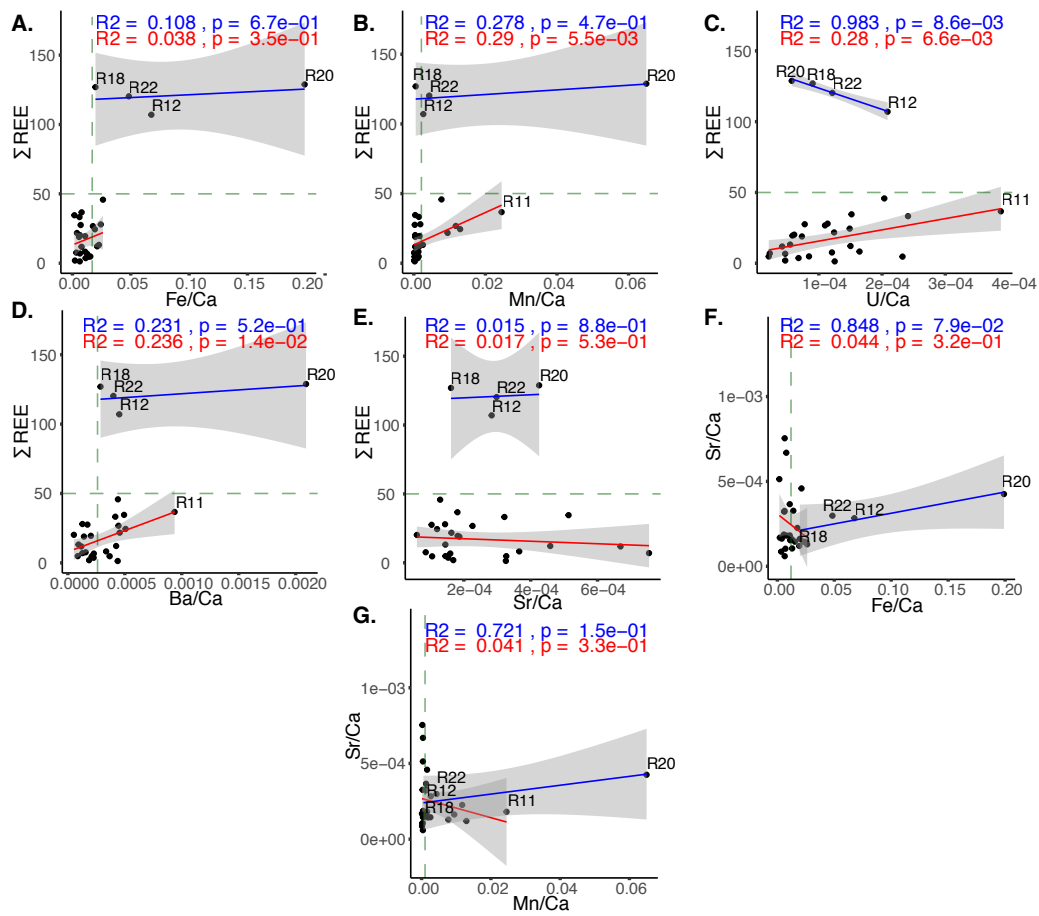




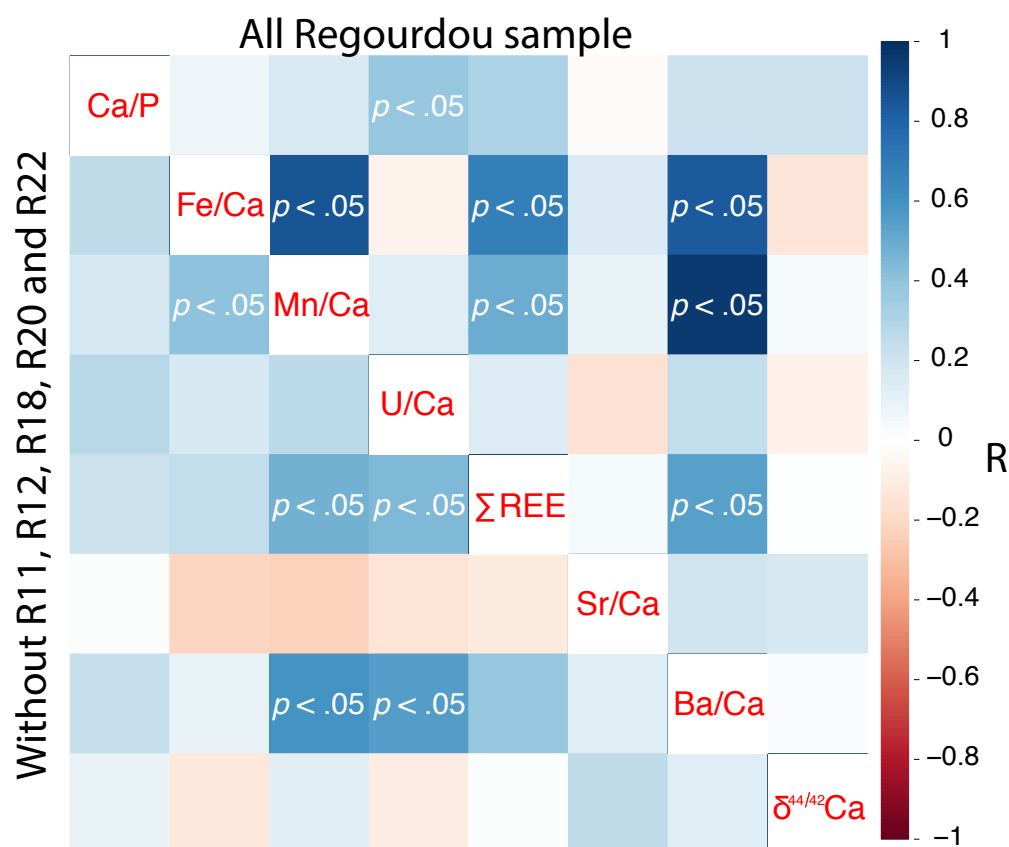
SOM Figure S1. Location of the Regourdou site (Montignac-sur-Vézère, Dordogne), Modified from Maureille *et al.* (2016).



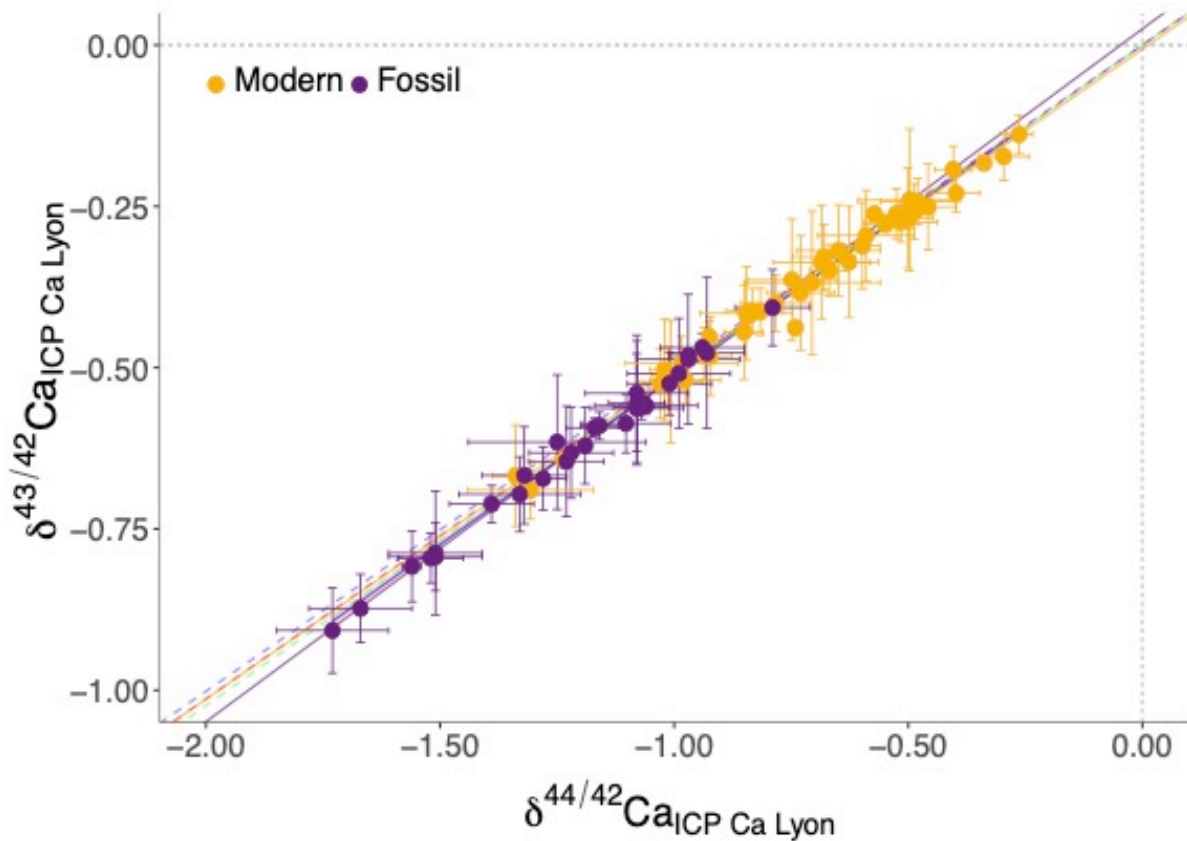
**SOM Figure S2.** **A.** Distal half of the left humerus of Regourdou 1, Neandertal. **B.** left femoral diaphysis. Bottom left, photograph taken before sampling for this study, bottom right, photograph taken after sampling. The sample area is indicated by the arrows (photo and sampling B. Maureille, February 20, 2018).



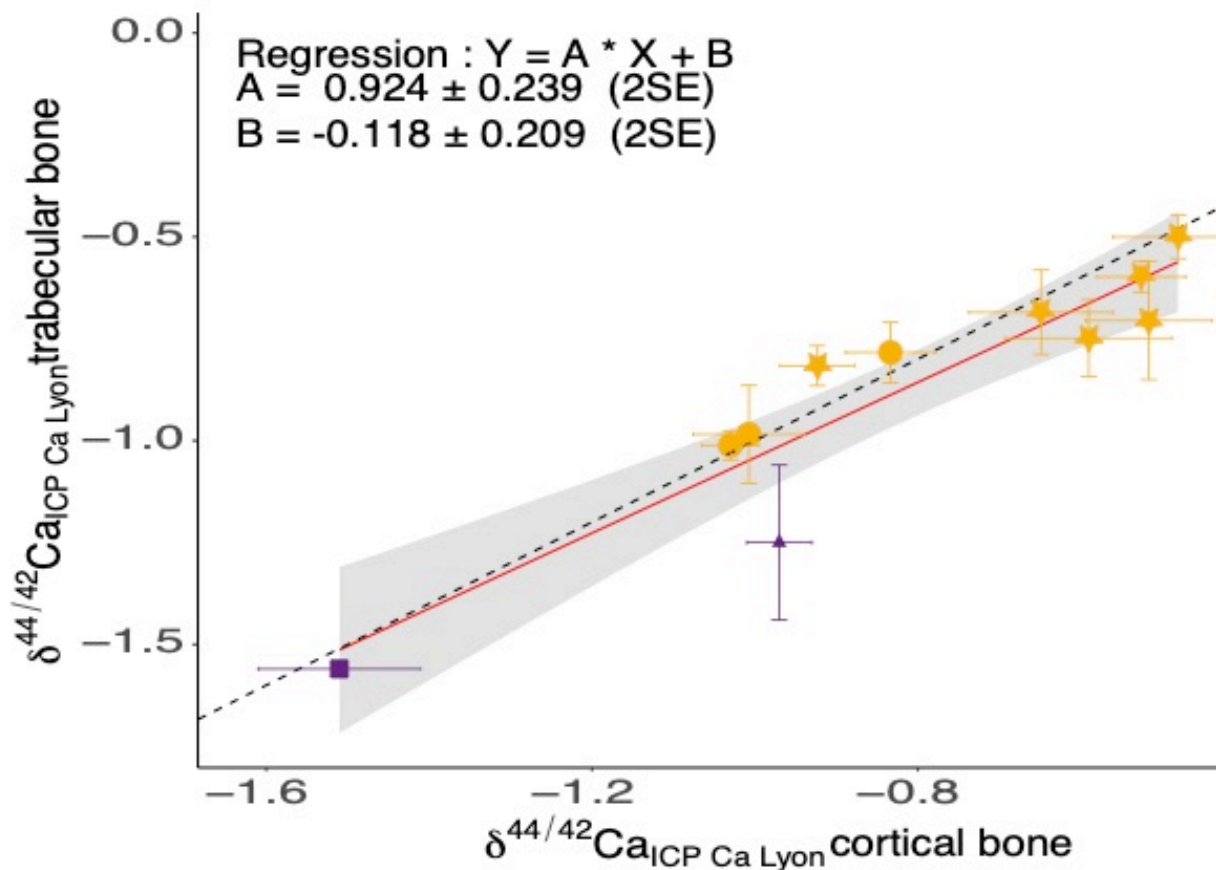
**SOM Figure S3.** (A–E) Sum of REE (rare earth elements) as a function of different metal/Ca ratio (Fe/Ca, A; Mn/Ca, B; U/Ca, C; Ba/Ca, D; Sr/Ca, F). F–G) Sr/Ca ratios as a function of Fe/Ca (F) and Mn/Ca (G). In all cases, the red line corresponds to the linear regression for all samples except R12, R18, R20, R22, for which the linear regression is in blue. The gray area represents the 95 % confidence interval for the linear regression.



**SOM Figure S4.** Heat map of geochemical data. The correlation matrix of the sum of REE (rare earth elements), elemental ratios and Ca isotopic compositions showing the correlation coefficients (R) using the color bar. Significant p-values ( $p < 0.05$ ) are indicated where necessary. The correlation matrix for all the samples is displayed on the upper right part of the figure. The correlation matrix for all samples except R11, R12, R18, R20 and R22 is displayed on the left lower part of the figure.



**SOM Figure S5.** Mass dependency of the results.  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  (%) as a function of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  (%) relative to ICP Ca Lyon. The blue points and blue line show the values and linear regression, respectively, of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  as a function of  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  for modern samples (slope =  $0.504 \pm 0.019$ ; 2SE;  $R^2 = 0.985$ ). The red points and red line show the values and linear regression, respectively, of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  as a function of  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  for modern samples (slope =  $0.537 \pm 0.018$ ; 2SE, intercept =  $0.025 \pm 0.022$ ; 2SE;  $R^2 = 0.992$ ). The dotted lines represent the three theoretical lines describing a mass-dependent isotopic fractionation depending on the considered mass-dependent fractionation exponential (red), inverse (green) and power (blue) laws.



**SOM Figure S6.**  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  values (‰; relative to ICP Ca Lyon) of cortical bone as a function of trabecular bone. The red line represents the linear regression calculated for all data (slope =  $0.924 \pm 0.239$ ; 2SE; intercept =  $-0.118 \pm 0.209$ ; 2SE). Yellow circles represent cows, yellow stars represent pigs, the purple square represents the Neandertal and the purple triangle represents the brown bears. The gray area represents the 95% confidence interval for the linear regression. The dashed line represents the identity line ( $y = x$ ).

## SOM Table S1

Ca isotopic composition and elementary concentration in the fossil samples.

Sample ID	Excavation ID	Species	Layer	Sample mass (mg)	n	644/42Ca (ICP)	643/42Ca	644/42Ca (915a)	2o 644/42Ca	2o 643/42Ca	Ca/P	Sr/Ca	Log10 Sr/Ca	Ba/Ca	Log10 Ba/Ca	Mg/Ca	Log10 Mg/Ca	Fe/Ca	Log10 Fe/Ca	Mn/Ca	Log10 Mn/Ca	Zn/Ca	Log10 Zn/Ca	Pb/Ca	Log10 Pb/Ca	U/Ca	Log10 U/Ca	Na/Ca	Log10 Na/Ca	Estimate muscle 644/42Ca	Estimate source 644/42Ca	
CA19	2970 / J5-3	reindeer, <i>Rangifer tarandus</i>	2	1.27	3	-1.1	-0.59	-0.58	0.09	0.05	2.36	3.27E-04	-3.49	3.67E-04	-3.44	2.63E-03	-2.58	1.41E-02	-1.85	1.36E-03	-2.87	9.04E-04	-3.04	Na	NA	2.08E-05	-4.68	8.62E-03	-2.06	-0.79	-0.53	
R01	2472	deer, <i>Cervus</i>	4	0.97	3	-1.51	-0.79	-0.99	0.1	0.05	2.31	3.26E-04	-3.49	4.38E-04	-3.36	2.52E-03	-2.6	6.33E-03	-2.2	2.77E-04	-3.56	7.50E-04	-3.12	1.21E-05	-4.92	1.25E-04	-3.9	5.67E-03	-2.25	-1.19	-0.94	
R02	H4-34	deer, <i>Cervus</i>	4	0.996	3	-1.39	-0.71	-0.87	0.09	0.03	2.3	5.13E-04	-3.29	4.94E-04	-3.31	2.67E-03	-2.57	1.76E-03	-2.76	3.79E-04	-3.42	8.12E-04	-3.09	NA	NA	1.52E-04	-3.82	5.66E-03	-2.25	-1.07	-0.82	
R03	J6-36	deer, <i>Cervus</i>	2	1.032	3	-1.52	-0.8	-1	0.07	0.04	2.27	8.60E-05	-4.07	1.56E-04	-3.81	2.45E-03	-2.61	3.41E-03	-2.47	1.27E-04	-3.9	1.00E-03	-3	9.62E-06	-5.02	1.21E-04	-3.92	4.90E-03	-2.31	-1.2	-0.95	
R04	J6-43	deer, <i>Cervus</i>	2	0.984	3	-1.32	-0.67	-0.8	0.09	0.08	2.18	1.04E-04	-3.98	1.72E-04	-3.76	2.67E-03	-2.57	7.14E-03	-2.15	2.66E-04	-3.58	6.32E-04	-3.2	1.16E-05	-4.94	7.78E-05	-4.11	4.63E-03	-2.33	-1	-0.75	
R05	563 / F6-5	deer, <i>Cervus</i>	2	0.998	4	-1.28	-0.67	-0.76	0.05	0.05	2.24	1.05E-04	-3.98	2.10E-04	-3.68	3.87E-03	-2.41	1.31E-02	-1.88	2.13E-04	-3.67	1.24E-03	-2.91	5.99E-05	-4.22	2.32E-04	-3.63	5.11E-03	-2.29	-0.96	-0.71	
R06	H7-3	reindeer, <i>Rangifer tarandus</i>	2	0.952	4	-1.08	-0.55	-0.56	0.06	0.1	2.44	4.59E-04	-3.34	4.24E-04	-3.37	6.27E-03	-2.2	2.12E-02	-1.67	1.58E-03	-2.8	1.26E-03	-2.9	5.27E-05	-4.28	1.50E-04	-3.82	8.93E-03	-2.05	-0.76	-0.51	
R07	I7-11	reindeer, <i>Rangifer tarandus</i>	2	1.022	4	-1.08	-0.56	-0.56	0.1	0.08	2.22	6.69E-04	-3.17	1.18E-04	-3.93	2.24E-03	-2.65	7.88E-03	-2.1	3.96E-04	-3.4	8.26E-04	-3.08	1.66E-05	-4.78	4.21E-05	-4.38	5.23E-03	-2.28	-0.76	-0.51	
R08	H7-7	reindeer, <i>Rangifer tarandus</i>	2	0.992	3	-1.19	-0.62	-0.67	0.01	0.06	2.47	3.21E-04	-3.49	4.17E-04	-3.38	2.65E-03	-2.58	6.10E-03	-2.21	1.40E-03	-2.85	1.11E-03	-2.96	3.92E-05	-4.41	2.41E-04	-3.62	7.12E-03	-2.15	-0.87	-0.62	
R09	I7-10	Boar, <i>Sus scrofa</i>	2	0.996	3	-0.99	-0.51	-0.47	0.11	0.09	2.23	7.54E-04	-3.12	1.29E-04	-3.89	2.41E-03	-2.62	6.47E-03	-2.19	2.27E-04	-3.64	5.83E-04	-3.23	9.86E-06	-5.01	2.25E-05	-4.65	5.12E-03	-2.29	-0.67	-0.42	
R10	2580	horse, <i>Equus caballus</i>	5	0.998	3	-1.07	-0.56	-0.55	0.06	0.02	2.32	1.20E-04	-3.92	5.07E-04	-3.29	2.07E-03	-2.68	1.93E-02	-1.72	1.29E-02	-1.89	9.88E-04	-3.01	2.15E-05	-4.67	1.49E-04	-3.83	3.35E-03	-2.48	-0.75	-0.5	
R11	3200 / L6-18	horse, <i>Equus caballus</i>	4	1.02	3	-1.06	-0.56	-0.54	0.11	0.01	2.5	1.81E-04	-3.74	9.37E-04	-3.03	3.98E-03	-2.4	7.94E-03	-2.1	2.45E-02	-1.61	1.92E-03	-2.72	3.10E-05	-4.51	3.88E-04	-3.41	7.88E-03	-2.1	-0.74	-0.49	
R12	2636 / L4-12	lion, <i>Panthera leo spelæa</i>	2	0.998	3	-1.73	-0.91	-1.21	0.12	0.07	2.29	2.83E-04	-3.55	4.52E-04	-3.35	9.65E-03	-2.02	6.77E-02	-1.17	2.66E-03	-2.58	8.37E-04	-3.08	8.45E-05	-4.07	2.09E-04	-3.68	1.05E-02	-1.98	-1.41	-1.16	
R13	3455 / M6-8	wolf, <i>Canis lupus</i>	4	0.972	3	-1.17	-0.59	-0.65	0.06	0.01	2.31	1.63E-04	-3.79	4.55E-04	-3.34	1.27E-03	-2.9	3.92E-03	-2.41	9.44E-03	-2.03	8.98E-04	-3.05	1.59E-05	-4.8	1.24E-04	-3.91	6.48E-03	-2.19	-0.85	-0.6	
R14	463 / F3 57	Boar, <i>Sus scrofa</i>	4	0.986	3	-0.79	-0.41	-0.27	0.08	0.06	2.33	1.53E-04	-3.81	2.27E-04	-3.64	1.57E-03	-2.8	1.14E-02	-1.94	1.10E-03	-2.96	6.56E-04	-3.18	1.17E-05	-4.93	6.80E-05	-4.17	3.96E-03	-2.4	-0.47	-0.22	
R15	3969 / E3-109	indeterminate carnivore	4	0.96	4	-1.22	-0.63	-0.7	0.09	0.07	2.35	2.26E-04	-3.65	4.45E-04	-3.35	1.98E-03	-2.7	1.76E-02	-1.75	1.17E-02	-1.93	1.28E-03	-2.89	4.19E-05	-4.38	1.10E-04	-3.96	4.97E-03	-2.3	-0.9	-0.65	
R16	242 / F2-35	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4A	1.016	3	-0.93	-0.48	-0.41	0.08	0.12	2.39	1.87E-04	-3.73	1.42E-04	-3.85	1.66E-03	-2.78	5.72E-03	-2.24	4.11E-04	-3.39	2.00E-03	-2.7	1.99E-05	-4.7	7.33E-05	-4.13	5.85E-03	-2.23	-0.61	-0.36	
R17	3834 / D20-40	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4C	0.348	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
R18	3914 / E3-56	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4B	0.984	3	-0.97	-0.49	-0.45	0.11	0.1	2.45	1.62E-04	-3.79	2.87E-04	-3.54	2.62E-03	-2.58	1.98E-02	-1.7	5.21E-04	-3.28	1.91E-03	-2.72	1.00E-04	-4	9.03E-05	-4.04	6.61E-03	-2.18	-0.65	-0.4	
R19	3827 / D2-33	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4C	1.056	3	-0.97	-0.48	-0.45	0.04	0.01	2.22	1.82E-04	-3.74	2.02E-04	-3.69	2.02E-03	-2.69	1.09E-02	-1.96	1.60E-03	-2.8	1.25E-03	-2.9	2.64E-05	-4.58	5.84E-05	-4.23	7.68E-03	-2.11	-0.65	-0.4	
R20	3827 / D2-33	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4C	1.078	5	-1.25	-0.62	-0.73	0.19	0.1	2.32	4.25E-04	-3.37	2.09E-03	-2.68	2.16E-02	-1.67	1.99E-01	-0.7	6.50E-02	-1.19	1.97E-03	-2.71	1.83E-04	-3.74	5.72E-05	-4.24	8.11E-03	-2.09	-0.93	-0.68	
R22	397 / F3-44	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4A	0.992	4	-1.01	-0.52	-0.49	0.09	0.05	2.4	2.98E-04	-3.53	4.00E-04	-3.4	4.09E-03	-2.39	4.84E-02	-1.32	4.32E-03	-2.36	1.36E-03	-2.87	4.41E-05	-4.36	1.21E-04	-3.92	5.86E-03	-2.23	-0.69	-0.44	
R23	1037 / G5-42	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	2	0.986	4	-1.08	-0.54	-0.56	0.11	0.09	2.38	5.95E-05	-4.23	5.32E-05	-4.27	1.62E-03	-2.79	6.51E-03	-2.19	3.86E-04	-3.41	9.46E-04	-3.02	NA	NA	6.12E-05	-4.21	5.73E-03	-2.24	-0.76	-0.51	

R24	1644 / H6-60	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	5B	0.95	2	-1.23	-0.65	-0.71	0.08	0.09	2.16	1.68E-04	-3.77	1.87E-04	-3.73	1.66E-03	-2.78	2.21E-03	-2.66	1.06E-04	-3.97	2.37E-03	-2.63	3.24E-05	-4.49	4.69E-05	-4.33	4.80E-03	-2.32	-0.91	-0.66
R25	1644 / H6-60	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	5B	1.036	3	-1.33	-0.7	-0.81	0.13	0.06	2.13	1.59E-04	-3.8	2.28E-04	-3.64	3.08E-03	-2.51	1.27E-02	-1.9	3.89E-04	-3.41	2.51E-03	-2.6	7.33E-05	-4.13	4.68E-05	-4.33	6.56E-03	-2.18	-1.01	-0.76
R26	3441	brown bear, <i>Ursus arctos</i>	7	0.964	3	-1.16	-0.59	-0.64	0.04	0.02	2.25	1.29E-04	-3.89	4.40E-04	-3.36	1.05E-02	-1.98	2.62E-02	-1.58	7.74E-03	-2.11	1.92E-03	-2.72	3.73E-05	-4.43	2.04E-04	-3.69	3.58E-03	-2.45	-0.84	-0.59
R27		brown bear, <i>Ursus arctos</i>	4A	0.998	4	-0.94	-0.47	-0.42	0.09	0.02	2.33	3.66E-04	-3.44	3.36E-04	-3.47	3.58E-03	-2.45	1.09E-02	-1.96	1.29E-03	-2.89	1.72E-03	-2.77	2.10E-05	-4.68	1.64E-04	-3.78	5.77E-03	-2.24	-0.62	-0.37
R28	REG 1	Neandertal	4A	0.974	3	-1.67	-0.87	-1.15	0.11	0.05	2.24	1.45E-04	-3.84	8.72E-05	-4.06	8.64E-04	-3.06	1.54E-02	-1.81	4.03E-04	-3.39	1.96E-03	-2.71	2.85E-05	-4.54	8.45E-05	-4.07	4.77E-03	-2.32	-1.35	-1.1
R29	REG 1	Neandertal	4A	1.05	3	-1.51	-0.79	-0.99	0.1	0.1	2.34	1.44E-04	-3.84	1.28E-04	-3.89	2.45E-03	-2.61	2.43E-02	-1.61	1.82E-03	-2.74	1.10E-03	-2.96	3.20E-05	-4.49	1.14E-04	-3.94	5.86E-03	-2.23	-1.19	-0.94
R30	REG 1	Neandertal	4A	0.989	4	-1.56	-0.81	-1.04	0.02	0.05	2.47	1.45E-04	-3.84	9.41E-05	-4.03	2.77E-03	-2.56	2.28E-02	-1.64	2.54E-03	-2.59	8.48E-04	-3.07	2.43E-05	-4.61	5.47E-05	-4.26	6.13E-03	-2.21	-1.24	-0.99
SRM1400					25	-1.11	-0.56	-0.59	0.17	0.11																					



**SOM Table S2**

Ca isotopic compositions and concentration in modern samples.

Study	Individual	Sample Ttype	Sample ID	ICP Ca Lyon		SRM915a	2SD $\delta_{44}/42\text{Ca}$	2SD $\delta_{43}/42\text{Ca}$	Conc Ca(%)
				$\delta_{44}/42\text{Ca}$	$\delta_{43}/42\text{Ca}$	$\delta_{44}/42\text{Ca}$			
This study	Boar	Cortical bone	Bo8c	-0.92	-0.48	-0.41	0.05	0.06	30.318
This study	Boar	Trabecularbone	Bo8s	-0.82	-0.41	-0.30	0.05	0.04	9.763
This study	Boar	Muscle	Mu8	-0.73	-0.38	-0.21	0.07	0.09	0.022
This study	chicken	Cortical bone	Bo10c	-0.67	-0.35	-0.15	0.04	0.04	2.154
This study	chicken	Muscle	Mu10	-0.46	-0.25	0.06	0.06	0.07	0.024
This study	Cow 1	Bone marrow	BM2a	-1.31	-0.69	-0.79	0.13	0.05	0.007
This study	cow 1	Bone marrow	BM2b	-1.24	-0.64	-0.72	NA	NA	0.012
This study	cow 1	Cortical bone	Bo2ac	-1.03	-0.53	-0.51	0.04	0.05	21.520
This study	cow 1	Cortical bone	2bc	-1.01	-0.52	-0.49	0.07	0.10	21.455
This study	cow 1	Trabecularbone	Bo2as	-1.01	-0.51	-0.49	0.04	0.04	21.451
This study	cow 1	Trabecularbone	Bo2bs	-0.98	-0.49	-0.47	0.12	0.04	22.299
This study	cow 1	Trabecularbone	2s	-1.02	-0.50	-0.50	0.03	0.08	20.982
This study	Cow 2	Bone marrow	BM3	-0.85	-0.44	-0.33	0.04	0.07	0.085
This study	Cow 2	Cortical bone	3c	-0.63	-0.34	-0.11	0.06	0.09	23.290
This study	Cow 3	Cortical bone	Bo6ac	-0.83	-0.41	-0.32	0.06	0.04	28.641
This study	Cow 3	Trabecularbone	Bo6as	-0.78	-0.40	-0.27	0.07	0.04	19.888
This study	Cow 3	Muscle	Mu6a	-0.40	-0.19	0.11	0.04	0.04	0.016
This study	Pig 1	Bone marrow	BM1	-0.57	-0.26	-0.05	NA	NA	0.005
This study	Pig 1	Cortical bone	Bo1ac	-0.59	-0.30	-0.07	0.10	0.07	14.816
This study	Pig 1	Cortical bone	1bc	-0.52	-0.27	0.00	0.08	0.03	23.015
This study	Pig 1	Cortical bone	Bo1cc	-0.65	-0.32	-0.13	0.09	0.07	21.842
This study	Pig 1	Trabecularbone	Bo1as	-0.75	-0.36	-0.23	0.09	0.09	22.444
This study	Pig 1	Trabecularbone	1bs	-0.71	-0.37	-0.19	0.15	0.11	22.552
This study	Pig 1	Trabecularbone	Bo1cs	-0.69	-0.34	-0.17	0.10	0.09	22.152
This study	Pig 2	Cortical bone	Bo5ac	-0.48	-0.24	0.04	0.08	0.04	29.792
This study	Pig 2	Trabecularbone	Bo5as	-0.50	-0.27	0.02	0.05	0.08	14.394
This study	Pig 2	Muscle	Mu5a	-0.40	-0.23	0.12	0.05	0.03	0.035
This study	Pig 2	Muscle	Mu5b	-0.30	-0.17	0.22	0.05	0.04	0.044
This study	Pig 2	Muscle	Mu5c	-0.26	-0.14	0.25	0.03	0.03	0.054
This study	Pig 3	Cortical bone	Bo12c	-0.53	-0.26	-0.01	0.05	0.04	28.753
This study	Pig 3	Trabecularbone	Bo12s	-0.60	-0.31	-0.08	0.04	0.07	20.341
This study	Pig 3	Muscle	Mu12a	-0.49	-0.26	0.03	0.04	0.04	0.323
This study	Pig 3	Muscle	Mu12b	-0.50	-0.24	0.02	0.11	0.11	0.023
This study	hare	Cortical bone	Bo9ac	-0.94	-0.48	-0.42	0.02	0.04	38.101
This study	hare	Cortical bone	Bo9bc	-0.93	-0.45	-0.41	0.01	0.02	29.134
This study	hare	Muscle	Mu9	-0.55	-0.28	-0.03	0.04	0.01	0.025
This study	roe	Cortical bone	Bo7c	-1.34	-0.67	-0.82	0.05	0.08	39.320
This study	roe	Muscle	Mu7	-0.98	-0.52	-0.46	0.08	0.04	0.058

This study	Veal	Bone marrow	BM4	-0.84	-0.42	-0.33	NA	NA	0.014
This study	Veal	Cortical bone	4c	-0.85	-0.42	-0.33	0.10	0.07	22.501
This study	Veal	Muscle	MU4a	-0.49	-0.26	0.02	0.01	0.02	0.102
This study	Veal	Muscle	Mu4b	-0.34	-0.18	0.18	NA	NA	0.035
This study		Reference materials	SRM1486	-1.07	-0.56	-0.55	0.21	0.12	
Skulan 1999	Horse	Bone		-1.02		-0.51	0.40		
Skulan 1999	Horse	Muscle		-0.16		0.36	0.16		
Skulan 1999	Fur seal	Bone		-0.61		-0.09	0.20		
Skulan 1999	Fur seal	Muscle		-0.40		0.12	0.16		
Skulan 1999	Chicken	Bone		-1.13		-0.61	0.16		
Skulan 1999	Chicken	Muscle		-0.53		-0.02	0.16		
Tacail 2014	sheep		A	-0.27		0.25	0.14		
Tacail 2014	sheep		A	0.12		0.64	0.10		
Tacail 2014	sheep		B	-0.36		0.16	0.01		
Tacail 2014	sheep		B	-0.22		0.30	0.15		
Tacail 2014	sheep		C	-0.37		0.15	0.18		
Tacail 2014	sheep		C	-0.18		0.34	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>Oxyria digyna</i>	grass		-0.05		0.47	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>Oxyria digyna</i>	grass		-0.07		0.45	0.07		
Hindshaw, 2013	Rumex	grass		-0.11		0.41	0.07		
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody		-0.12		0.40	0.07		
Hindshaw, 2013	Rumex	grass		-0.12		0.40	0.07		
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody		-0.14		0.38	0.07		
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody		-0.14		0.38	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.18		0.34	0.07		
Bagard, 2013	Larch	woody		-0.19		0.33	0.08		
Hindshaw, 2013	<i>Oxyria digyna</i>	grass		-0.20		0.32	0.07		
Page, 2008	Beech	woody		-0.22		0.30	0.16		
Schmitt, 2003	Beech	woody		-0.25		0.27	0.08		
Hindshaw, 2013	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody		-0.27		0.25	0.07		
Page, 2008	Basswood	woody		-0.28		0.24	0.09		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.28		0.24	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.29		0.23	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>Russula exalbicans</i>	mushroom		-0.29		0.23	0.07		
Skulan, 1999	<i>Alfalfa SV</i>	grass		-0.30		0.22	0.11		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.31		0.21	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>Laccaria montana</i>	mushroom		-0.31		0.21	0.07		
Bagard, 2013	Lichen	lichen		-0.31		0.21	0.13		
Bagard, 2013	Larch	woody		-0.32		0.20	0.12		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.33		0.19	0.07		
Christensen, 2018	wheat	herb		-0.33		0.19	0.10		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.36		0.16	0.07		
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass		-0.37		0.15	0.07		

## Annexes

Hindshaw, 2013	<i>Salix h.</i>	woody	-0.38	0.14	0.07
Hindshaw, 2013	<i>L.alpina</i>	grass	-0.39	0.13	0.07
Hindshaw, 2013	<i>Salix h.</i>	grass	-0.41	0.11	0.07
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.42	0.10	0.07
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.42	0.10	0.07
Hindshaw, 2013	<i>Salix r.</i>	woody	-0.42	0.10	0.07
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.43	0.09	0.07
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.43	0.09	0.07
Hindshaw, 2013	Rumex	grass	-0.44	0.08	0.07
Christensen, 2018	wheat	herb	-0.45	0.07	0.10
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.45	0.07	0.07
Christensen, 2018	wheat	herb	-0.45	0.07	0.10
Christensen, 2018	wheat	herb	-0.46	0.06	0.10
Hindshaw, 2013	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.46	0.06	0.07
Hindshaw, 2013	<i>Salix h.</i>	woody	-0.46	0.06	0.07
Bagard, 2013	Larch tree	woody	-0.46	0.06	0.12
Hindshaw, 2013	<i>Salix h.</i>	woody	-0.47	0.05	0.07
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.48	0.04	0.07
Christensen, 2018	wheat	herb	-0.48	0.04	0.10
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.49	0.03	0.07
Page, 2008	Beech	woody	-0.49	0.03	0.05
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.51	0.01	0.07
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.51	0.01	0.07
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.52	0.00	0.07
Chu, 2006	grass	herb	-0.54	-0.02	0.02
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.54	-0.02	0.07
Hindshaw, 2013	<i>Salix h.</i>	woody	-0.54	-0.02	0.07
Moore, 2013	grass	grass	-0.54	-0.02	N/A
Bagard, 2013	Larch tree	woody	-0.55	-0.04	0.08
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.56	-0.04	0.07
Hindshaw, 2013	<i>Salix r.</i>	woody	-0.56	-0.04	0.07
Bagard, 2013	Larch	woody	-0.56	-0.04	0.12
Hindshaw, 2013	Rumex	grass	-0.57	-0.05	0.07
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.57	-0.05	0.07
Christensen, 2018	wheat	herb	-0.59	-0.07	0.10
Moore, 2013	grass	grass	-0.59	-0.08	N/A
Hindshaw, 2013	Agrostis	herb	-0.60	-0.08	0.07
Skulan, 1999	<i>Fescue alta</i>	herb	-0.61	-0.09	0.20
Chu, 2006	Grass	grass	-0.61	-0.09	0.12
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.61	-0.09	0.07
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.63	-0.11	0.07
Hindshaw, 2013	Rumex	grass	-0.63	-0.11	0.07
Bagard, 2013	Larch tree	woody	-0.63	-0.12	0.16

Chu, 2006	mixture	grass	-0.66	-0.14	0.03
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.68	-0.16	0.07
Hindshaw, 2013	Rumex	grass	-0.69	-0.17	0.07
Chu, 2006	mixture	grass	-0.71	-0.19	0.03
Hindshaw, 2013	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.71	-0.19	0.07
Hindshaw, 2010	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.71	-0.19	N/A
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.72	-0.20	0.07
Hindshaw, 2013	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.74	-0.22	0.07
Hindshaw, 2010	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.74	-0.22	N/A
Bagard, 2013	Larch tree	woody	-0.74	-0.23	0.12
Chu, 2006	Grass	grass	-0.75	-0.23	0.03
Hindshaw, 2013	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.75	-0.23	0.07
Schmitt, 2003	Beech	woody	-0.75	-0.23	0.08
Hindshaw, 2010	<i>Rhododendron ferrugineum</i>	woody	-0.75	-0.23	N/A
Chu, 2006	Grass	grass	-0.78	-0.26	0.03
Chu, 2006	Grass	grass	-0.81	-0.29	0.02
Page, 2008	Beech	woody	-0.82	-0.31	N/A
Hindshaw, 2013	Rhododendron	woody	-0.83	-0.31	0.07
Chu, 2006	Grass	grass	-0.85	-0.33	0.04
Chu, 2006	Grass	grass	-0.88	-0.36	0.04
Chu, 2006	Heather	woody	-0.88	-0.36	0.03
Bagard, 2013	Larch tree	woody	-0.90	-0.38	0.17
Chu, 2006	Grass	grass	-0.91	-0.39	0.02
Page, 2008	Beech	woody	-0.94	-0.43	N/A
Chu, 2006	grass	grass	-0.99	-0.47	0.05
Chu, 2006	grass	grass	-1.00	-0.48	0.03
Bagard, 2013	Larch tree	woody	-1.00	-0.48	0.08
Chu, 2006	Heather	woody	-1.01	-0.49	0.05
Page, 2008	Beech	woody	-1.08	-0.57	N/A
Page, 2008	Beech	woody	-1.12	-0.61	N/A
Page, 2008	Beech	woody	-1.17	-0.66	N/A
Chu, 2006	Heather	woody	-1.26	-0.74	0.05
Page, 2008	Beech	woody	-1.58	-1.07	N/A

**SOM Table S3**

Rare earth element distribution in all fossil samples.

Sample	La	Ce (1,01)	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Yb	Lu	Y (0,900)	SUM
CA19	0.29	LQ	LQ	LQ	LQ	LQ	LQ	LQ	LQ	LQ	0.08	0.22	LQ	4.2	4.8
R01	0.2	0.57	LQ	0.34	LQ	LQ	LQ	LQ	0.03	LQ	LQ	LQ	LQ	0.2	1.33
R02	7.77	1.71	1.45	6.14	1.24	0.31	1.47	0.19	1.02	0.22	0.6	0.43	LQ	12.01	34.57
R03	1.58	1.17	0.34	1.58	0.43	LQ	0.32	LQ	0.23	LQ	0.12	LQ	LQ	1.87	7.63
R04	6.78	2.28	1.22	4.89	1	0.21	1.06	0.13	0.79	0.17	0.46	0.41	LQ	8.15	27.56
R05	0.89	0.83	0.21	1.02	0.32	LQ	0.19	LQ	0.12	LQ	0.06	LQ	LQ	1.04	4.68
R06	2.15	3.31	0.52	2.35	0.55	LQ	0.51	LQ	0.37	LQ	0.18	LQ	LQ	2.24	12.17
R07	3.03	2	0.49	2.31	0.49	LQ	0.45	LQ	0.29	LQ	0.16	LQ	LQ	2.62	11.84
R08	9.25	2.91	1.64	6.94	1.31	0.3	1.27	0.16	0.84	0.16	0.43	0.36	LQ	7.68	33.25
R09	1.18	2.1	0.29	1.3	0.4	LQ	0.28	LQ	0.17	LQ	0.1	LQ	LQ	1.19	7.02
R10	5.38	4.11	1.15	4.86	0.99	0.23	1	0.12	0.71	0.13	0.37	0.27	LQ	5.13	24.45
R11	8.72	5.24	1.75	7.72	1.44	0.33	1.52	0.16	0.91	0.18	0.52	0.42	LQ	7.77	36.68
R12	24.43	8.22	4.89	20.68	3.74	0.88	4.27	0.56	3.2	0.68	1.9	1.38	0.19	32.02	107
R13	4.61	2.96	1.02	4.33	0.97	0.2	0.85	0.11	0.56	0.11	0.36	0.23	LQ	5.44	21.76
R14	0.47	1.58	0.12	0.69	LQ	LQ	0.15	LQ	0.06	LQ	0.04	LQ	LQ	0.56	3.67
R15	6.49	3.76	1.18	5.19	1.11	0.24	0.99	0.13	0.72	0.13	0.38	0.31	LQ	6.09	26.74
R16	3.64	3.05	0.9	3.97	0.94	0.19	0.86	0.1	0.61	0.11	0.3	0.22	LQ	4.03	18.94
R17	8.81	2.23	2.82	11.22	2.96	0.65	2.52	0.4	2.36	0.44	1.2	0.96	LQ	15.89	52.45
R18	27.48	7.45	5.66	23.99	4.44	1.09	4.99	0.66	3.82	0.8	2.25	1.63	0.21	42.47	127
R19	3.11	1.59	0.68	3.07	0.72	0.18	0.7	0.11	0.58	0.15	0.38	0.29	LQ	7.95	19.5
R20	21.45	18.25	5.13	21.01	4.16	1	4.86	0.76	5.66	0.99	2.97	2.51	0.35	39.73	128.8
R22	23.48	53.28	5.96	22.86	4.12	0.28	3.19	0.39	1.53	0.2	0.37	0.2	LQ	4.45	120.3
R23	5.25	2	0.97	4.07	0.72	0.17	0.77	0.1	0.53	0.11	0.3	0.23	LQ	4.98	20.2
R24	0.43	0.62	LQ	0.45	LQ	LQ	LQ	LQ	0.06	LQ	0.03	LQ	LQ	0.33	1.92
R25	1.06	2.69	0.24	1.05	0.31	LQ	0.27	LQ	0.13	LQ	0.1	LQ	LQ	0.86	6.71
R26	10.31	4.58	2.18	9.26	1.81	0.4	1.94	0.25	1.5	0.29	0.83	0.64	LQ	11.81	45.78
R27	1.79	1.36	0.39	1.71	0.47	LQ	0.32	LQ	0.26	LQ	0.15	LQ	LQ	1.83	8.27
R28	0.9	1.13	0.19	1.01	0.31	LQ	0.21	LQ	0.12	LQ	0.06	LQ	LQ	0.92	4.85
R29	5.02	5.45	1.21	5.62	1.28	0.27	1.04	0.14	0.88	0.15	0.46	0.33	LQ	6.12	27.97
R30	2.18	3.53	0.58	2.43	0.63	0.12	0.46	LQ	0.36	LQ	0.17	0.12	LQ	2.62	13.2

**SOM References**

Bagard, M.-L., Schmitt, A.-D., Chabaux, F., Pokrovsky, O.S., Viers, J., Stille, P., Labolle, F., Prokushkin, A.S., 2013. Biogeochemistry of stable Ca and radiogenic Sr isotopes in a larch-covered permafrost-dominated watershed of Central Siberia. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 114, 169–187.

Christensen, J.N., Qin, L., Brown, S.T., DePaolo, D.J., 2018. Potassium and Calcium Isotopic Fractionation by Plants (Soybean [ *Glycine max* ], Rice [ *Oryza sativa* ], and Wheat [ *Triticum aestivum* ]). *ACS Earth Space Chem.* 2, 745–752.

Chu, N.-C., Henderson, G.M., Belshaw, N.S., Hedges, R.E.M., 2006. Establishing the potential of Ca isotopes as proxy for consumption of dairy products. *Appl. Geochem.* 21, 1656–1667.

Hindshaw, R.S., Reynolds, B.C., Wiederhold, J.G., Kiczka, M., Kretzschmar, R., Bourdon, B., 2013. Calcium isotope fractionation in alpine plants. *Biogeochemistry.* 112, 373–388.

Maureille, B., Holliday, T., Royer, A., Pelletier, M., Couture-Veschambre, C., Discamps, E., Gomez-Olivencia, A., Lahaye, C., Le Gueut, E., Lacrampe-Cuyaubère, F., Madelaine, S., Muth, X., Texier, J.-P., Turq, A., 2016. New data on the possible Neandertal burial at Regourdou (Montignac-sur- Vézère, Dordogne, France). In: *Qu'est-Ce Qu'une Sépulture ? Humanités et Systèmes Funéraires de La Préhistoire à Nos Jours. Actes des XXXVIe rencontres internationales d'archéologie et d'histoire d'Antibes.* Antibes : éditions APDCA, 175–191.

Moore, J., Jacobson, A.D., Holmden, C., Craw, D., 2013. Tracking the relationship between mountain uplift, silicate weathering, and long-term CO<sub>2</sub> consumption with Ca isotopes: Southern Alps, New Zealand. *Chem. Geol.* 341, 110–127.

Page, B.D., Bullen, T.D., Mitchell, M.J., 2008. Influences of calcium availability and tree species on Ca isotope fractionation in soil and vegetation. *Biogeochemistry* 88, 1–13.

Schmitt, A.-D., Chabaux, F., Stille, P., 2003. The calcium riverine and hydrothermal isotopic fluxes and the oceanic calcium mass balance. *Earth Planet. Sci. Lett.* 213, 503–518.

Skulan, J., DePaolo, D.J., 1999. Calcium isotope fractionation between soft and mineralized tissues as a monitor of calcium use in vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 13709–13713.

Tacail, T., Albalat, E., Télouk, P., Balter, V., 2014. A simplified protocol for measurement of Ca isotopes in biological samples. *J. Anal. At. Spectrom.* 29, 529–535.

## Annexe D

Suppléments à l'article: *Neandertal diverse bone calcium isotopes compositions suggest different dietary behaviours.*

### Supplementary Materials for **Neandertal diverse bone calcium isotope compositions suggest different dietary behaviours.**

Pierre-Jean Dodat <sup>a,b</sup>, Vincent Balter <sup>a</sup>, Emmanuelle Albalat <sup>a</sup>, Juliette Henrion <sup>b</sup>, Trenton Holliday <sup>c,d</sup>, Christine Couture-Veschambre <sup>b</sup>, Maurice Hardy <sup>c</sup>, Bruno Maureille <sup>b</sup>

This file includes:

**Table S1:** Ca isotope composition and element concentration in fossil samples, and plants sample

**Table S2:** Compilation of the literature plant Ca isotope composition, converted to  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  ICP Ca Lyon

**Figure S1:** Heatmap of the correlation coefficients (R) between geochemical data.

**Figure S2:** Arcy 2015 BIS J T14 12 Canis lupus bone.

**Figure S3:** Mass fractionation in three-isotope space of the samples analyzed in this study relative to ICP Ca Lyon

**Supplementary Material:** MixSiar R scripts

Table S1: Ca isotope composition and element concentration in fossil samples

Site	Sample ID	Layers	MixSiar group Species	Species	Bone type	Estimated age at death	ID	Icap Q measurement (µg)				Icap Pro measurement (µg)				Neptune plus mesurement		
								ΣRE E	U	Mn		Fe	Ca	Mg	P	2σ (δ <sup>44</sup> / <sub>142</sub> Ca)	δ <sup>44/42</sup> Ca	n
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J Q13 42	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	vertebra	mature	B1	0.01	0	1.6	1.1	343	0.72	LQ	0.07	-0.59	2
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J S16 35	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	mandible	mature	B10	0	0.01	0.15	LQ	153	0.28	LQ	0.08	-1.04	3
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J S10 4	BisJ	Na	<i>Vulpes vulpes</i>	cortical	Right hemi-mandible	mature	B11	0	0	0.14	LQ	29	0.1	LQ	0.1	-0.61	2
La grotte du Bison	Arcy 1963 BIS J1 T15 2822	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	femur	mature	B12	0	0	0.46	LQ	46	0.12	LQ	0.05	-0.88	3
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J Q11 1	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	tibia	mature	B14	0.01	0	0.5	2.5	280	0.45	LQ	0.08	-1.05	3
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J R3 3	BisJ	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	metacarpal	mature	B15	0	0	0.03	LQ	20	LQ	LQ	0.1	-0.7	2
La grotte du Bison	Arcy 2012 BISJ O11 15	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	metacarpal	mature	B16	0	0	0.01	LQ	5	LQ	LQ	0.11	-0.48	2
La grotte du Bison	Arcy 2016 BIS J S6 11	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	metacarpal	mature	B17	0	0	0.15	1.5	27	LQ	LQ	0.23	-0.81	3
La grotte du Bison	Arcy 2012 BIS J R8 2/Q8 2	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	phalanx	mature	B18	0	0	0.02	LQ	14	LQ	LQ	0.09	-0.85	2
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J Q10 17	BisJ	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	radius	mature	B19	0	0	0.37	LQ	37	0.22	LQ	0.01	-0.9	2
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J T15 1	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	metapod	mature	B20	0	0	0.42	0.71	343	0.71	157	0.09	-1.02	2
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J Q12 2	BisJ	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metatarsal	mature	B21	0.06	0.01	0.78	12.8	###	3.8	768	0.06	-0.74	4
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J S5 38	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	talus	mature	B22	0.01	0	0.08	1.3	178	0.34	74	0.04	-0.91	3
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J Q12 20	BisJ	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metatarsal	mature	B23	0.01	0	0.53	1.7	190	0.38	LQ	0.04	-0.76	2
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J P6 9	BisJ	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metacarpal	mature	B24	0.03	0	1.7	2.2	393	0.42	LQ	0.04	-0.55	2
La grotte du Bison	Arcy 2019 BISJ R12-31(2)	BisJ	Na	Neandertal	cortical	Fibula	mature	B25	0.09	0	3	2.2	204	0.47	LQ	0.07	-0.75	3
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J Q14 15	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	metatarsal	mature	B28	0.01	0	0.43	1.6	220	0.61	89	0.04	-0.86	3
La grotte du Bison	Arcy 2016 BIS Jbis R6 24	BisJ	Monogastrics	<i>Coelodonta antiquitatis</i>	cortical	radius	mature	B29	0.01	0	0.14	1.9	41	0.24	12	0.09	-0.57	4



La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J O4 48	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	mandible	immature	B3	0.01	0	0.08	2	20	0.27	LQ	0.1	-0.79	2
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J T14 12	BisJ	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	phalanx	mature	B30	0.06	0.01	0.99	17.5	744	3.1	345	0.1	-0.5	3
La grotte du Bison	Arcy 2012 BIS J O10 29	BisJ	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	metatarsal	mature	B31	0	0	0.14	1.7	102	0.3	38	0.06	-0.59	4
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J S6 83	BisJ	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	mandible	mature	B32	0.01	0	0.15	1.7	76	0.09	30	0.12	-0.56	5
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J S10 52	BisJ	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	femur	mature	B33	0.04	0.01	1.2	11.2	501	0.63	227	0.04	-0.51	3
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J Q14	BisJ	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	first phalanx	mature	B34	0	0	0.09	0.41	257	0.57	104	0.03	-0.93	3
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J S5 7	BisJ	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	radius	mature	B35	0	0	0.05	0.52	24	0.08	5.6	0.02	-0.83	3
La grotte du Bison	Arcy BIS ?? T17 47	BisJ	Monogastrics	<i>Mammuthus primigenius</i>	cortical		mature	B36	0	0.01	0.09	1.5	385	0.97	171	0.09	-0.79	5
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J P8 48	BisJ	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	phalanx	mature	B37	0.01	0	1.33	1.5	279	0.24	125	0.08	-0.58	5
La grotte du Bison	Arcy 2017 BIS J P10 41	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	hemi-mandible	mature	B39	0.05	0	1.18	18.1	149	2.31	59.6	0.09	-0.59	4
La grotte du Bison	Arcy 2011 BIS J O10 304	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	axis	mature	B40	0	0.01	0.14	1	119	0.36	47	0.07	-0.79	4
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J O11 8	BisJ	Na	<i>Vulpes vulpes</i>	cortical	mandible	mature	B41	0.01	0	0.24	1.2	178	0.41	75	0.07	-0.72	3
La grotte du Bison	Arcy 2011 BIS J T11 19	BisJ	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	first phalanx	mature	B42	0.02	0	0.07	0.19	7.8	0.03	LQ	0.01	-1.23	2
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J S10 12	BisJ	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	humerus	mature	B44	0	0	0.14	0.43	25	0.07	5.8	0.03	-0.57	4
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J T11 123	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	rib	mature	B46	0.01	0	0.29	4.3	80	0.35	30	0.04	-0.66	4
La grotte du Bison	Arcy 2012 BIS J S13 1	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	metatarsal	mature	B47	0	0	0.26	1.3	56	0.18	20	0.04	-0.78	3
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J S7 1	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	femur	mature	B48	0.05	0.01	2.2	48	231	6.4	101	0.07	-0.63	3
La grotte du Bison	Arcy 2012 BIS J P12 36	BisJ	Na	<i>Crocota crocuta</i>	cortical	metapod	mature	B49	0.11	0.01	1.4	40	475	6.5	203	0.03	-1.04	3
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J P9 74	BisJ	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	humerus	mature	B52	0	LQ	0.04	0.53		0.08	LQ	0.11	-0.69	2
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J R8 41	BisJ	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metatarsal	mature	B53	0.04	0	1.29	14	136	0.57	54	0.03	-0.59	4

La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J S10 22	BisJ	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metatarsal	mature	B54	0	0	0.08	0.37	9.5	0.05	LQ	0.03	-0.97	3
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J S10 37	BisJ	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	humerus	immature	B55	0.01	0	0.52	1.2	111	0.34	41	0.06	-0.65	4
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J S10 5	BisJ	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metatarsal	mature	B57	0.05	0.01	3.3	22	355	1.7	161	0.07	-0.68	4
La grotte du Bison	Arcy 2015 BIS J R8 48	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	metapod	mature	B58	0.02	0	0.82	4.53	102	0.42	39	0.09	-0.62	4
La grotte du Bison	Arcy 2014 BIS J Q14 27	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	fibula	mature	B6	0	0	0.03	LQ	6.5	LQ	LQ	0.05	-0.69	2
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J P6 3	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	metapod	mature	B61	0.01	0.01	1.7	6.6	105	0.66	38	0.15	-0.52	4
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS J Q7 6	BisJ	Na	<i>Ursus spelaeus</i>	cortical	metapod	mature	B7	0	0	0.1	1.1	43	0.11	LQ	0.04	-0.69	2
La grotte du Bison	Arcy 2013 BIS I J R4	BisJ	Cervid	<i>Megaloceros</i>	cortical	phalanx	mature	B9	0.03	0.01	0.96	7.2	227	1.05	LQ	0.03	-0.7	2
Regourdou	2970 / J5-3	2	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	metapod	mature	CA19	/	/	/					0.09	-1.1	3
Regourdou	REG 2	4	Na	Neandertal	spongy	calcaneus	mature	Ma79	0.01	0	0.36	2.8	133	0.33	54	0.06	-0.78	4
Regourdou	REG 2	4	Na	Neandertal	cortical	calcaneus	mature	Ma80	0	0	0.33	1.1	138	0.3	56	0.07	-0.8	4
Regourdou	2472	4	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	tibia	mature	R01	0	0	0.03	LQ	88	0.23	38	0.1	-1.51	3
Regourdou	H4-34	4	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	tibia	mature	R02	0.01	0.01	0.04	LQ	100	0.27	44	0.09	-1.39	3
Regourdou	J6-36	2	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	radius	mature	R03	0	0	0.01	LQ	108	0.27	48	0.07	-1.52	3
Regourdou	J6-43	2	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	metatarsal	mature	R04	0.01	0	0.04	1.5	133	0.36	60	0.09	-1.32	3
Regourdou	563 / F6-5	2	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	femur	mature	R05	0	0	0.01	LQ	46	0.18	19	0.05	-1.28	4
Regourdou	H7-3	2	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	coxal	mature	R06	0.01	0	0.09	1.8	57	0.36	25	0.06	-1.08	4
Regourdou	I7-11	2	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	scapula	mature	R07	0.01	0	0.05	1.2	120	0.27	53	0.1	-1.08	4
Regourdou	H7-7	2	Cervid	<i>Rangifer tarandus</i>	cortical	scapula	mature	R08	0.02	0.01	0.1	LQ	67	0.18	30	0.01	-1.19	3
Regourdou	I7-10	2	Monogastrics	<i>Sus scrofa</i>	cortical	femur	mature	R09	0	0	0.03	LQ	111	0.27	51	0.11	-0.99	3

Regourdou	2580	5	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	radius	mature	R10	0.01	0.01	1.2	1.9	108	0.23	48	0.06	-1.07	3
Regourdou	3200 / L6-18	4	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	mandible	mature	R11	0.02	0.01	1.2	LQ	56	0.23	24	0.11	-1.06	3
Regourdou	2636 / L4-12	2	Na	<i>Panthera spelaea</i>	cortical	radius	mature	R12	0.05	0	0.11	3.33	42	0.41	18	0.12	-1.73	3
Regourdou	3455 / M6-8	4	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	tibia	mature	R13	0.01	0	0.6	LQ	71	0.09	31	0.06	-1.17	3
Regourdou	463 / F3 57	4	Monogastrics	<i>Sus scrofa</i>	cortical	humerus	mature	R14	0	0	0.13	1.3	115	0.18	51	0.08	-0.79	3
Regourdou	3969 / E3-109	4	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	humerus	mature	R15	0.01	0	0.69	LQ	68	0.14	30	0.09	-1.22	4
Regourdou	242 / F2-35	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R16	0.01	0	0.03	0.33	81	0.14	37	0.08	-0.93	3
Regourdou	3914 / E3-56	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R18	0.05	0	0.04	1.8	86	0.23	38	0.11	-0.97	3
Regourdou	3827 / D2-33	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R19	0.01	0	0.14	1.6	89	0.18	40	0.04	-0.97	3
Regourdou	3827 / D2-33	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	spongy	femur	mature	R20	0.07	0	3.6	12	56	1.2	25	0.19	-1.25	5
Regourdou	397 / F3-44	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R22	0.09	0	0.28	3.8	66	0.27	30	0.09	-1.01	4
Regourdou	1037 / G5-42	2	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R23	0.01	0	0.03	1.3	83	0.14	37	0.11	-1.08	4
Regourdou	1644 / H6-60	5	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R24	0	0	0.01	LQ	54	0.09	25	0.08	-1.23	2
Regourdou	1644 / H6-60	5	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R25	0.01	0	0.03	LQ	73	0.23	34	0.13	-1.33	3
Regourdou	3441	7	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	femur	mature	R26	0.02	0	0.46	1.8	68	0.72	32	0.04	-1.16	3
Regourdou	ours sepulture	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	tibia	immature	R27	0.01	0	0.09	LQ	LQ	0	LQ	0.09	-0.94	4
Regourdou	REG 1	4	Na	Neandertal	cortical	humerus	mature	R28	0	0	0.02	LQ	52	0.05	24	0.11	-1.67	3
Regourdou	REG 1	4	Na	Neandertal	cortical	femur	mature	R29	0.02	0	0.17	2.6	92	0.23	42	0.1	-1.51	3
Regourdou	REG 1	4	Na	Neandertal	spongy	femur	mature	R30	0.01	0	0.21	2.1	8	0.23	36	0.02	-1.56	4
Regourdou	K3-69/2193	2	Na	<i>Canis lupus</i>	cortical	hemi-mandible	mature	R31	0.01	0	0.03	1.3	8.6	0.15	LQ	0	-0.99	2

Regourdou	E2-103 4C 4084	4	Na	<i>Brown bear</i>	cortical		mature	R33	0.44	0	0.36	5.7	69	0.42	21	0.45	-0.94	3
Regourdou	E2-103 4C 4084	4	Na	<i>Ursus arctos</i>	cortical	right ulna	mature	R35	0	LQ	0.01	0.18	13	0.07	LQ	0.11	-0.95	3
Regourdou	Reg E3 24	/	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	first phalanx	mature	R36	0.01	LQ	0.03	4.6	56	0.44	14	0.12	-0.86	5
Regourdou	Reg J5 13	/	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	second phalanx	mature	R37	0.11	0	1.4	16	511	1.6	238	0.09	-0.62	4
Regourdou	Reg I5 4	/	Monogastrics	<i>Equus caballus</i>	cortical	left scapula	mature	R38	0.11	0	0.96	16	694	2.1	349	0.09	-0.76	3
Regourdou	Reg 4C 20 C4 6	4c	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	first phalanx	mature	R39	0	LQ	0.07	2.3	30	0.21	4.1	0.11	-0.92	4
Regourdou	Reg 4C 20 C4 6 *	4c	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	first phalanx	mature	R40	0.01	LQ	0.01	0.23	12	0.05	LQ	0.1	-1.26	3
Regourdou	Reg 2 K3 30 2154	2	Bovid	<i>Bos/bison</i>	cortical	left tibia	mature	R41	0.03	0	0.7	13	517	2.1	241	0.12	-0.67	6
Regourdou	Reg L4 13	2	Na	<i>Panthera spelaea</i>	cortical	right talus	mature	R42	0.14	0	0.49	14	190	1.4	77	0.09	-0.97	4
Regourdou	Reg K4 6	2	Na	<i>Panthera spelaea</i>	cortical	left hemi-mandible	mature	R43	0.29	0	0.3	11	120	1.2	44	0.12	-1.13	5
Regourdou	Reg 4 3204	4	Cervid	<i>Cervus elaphus</i>	cortical	humerus	mature	R45	0.05	0	0.37	1.9	22	0.15	0.56	0.12	-1.03	5
Regourdou	Reg 4 M5 14 3387	4	Cervid	<i>Capreolus capreolus</i>	cortical	right hemi-mandible	mature	R47	0.12	0	2.22	3.5	301	0.47	129	0.09	-0.91	4
Regourdou	Reg 4b I3 36 1700	4b	Cervid	<i>Capreolus capreolus</i>	cortical	left hemi-mandible	mature	R48	0.12	0	3.97	13	182	0.9	72	0.03	-1.02	4
Regourdou	Reg E3 101	/	Monogastrics	<i>Sus scrofa</i>	cortical	left hemi-mandible	immature (6-10mois)	R49	0.03	0	3.94	11	33	0.61	4.9	0.26	-0.82	5
Regourdou	Reg 4 291 F2 84	4	Monogastrics	<i>Sus scrofa</i>	cortical	ulna	immature	R50	0.02	0	0.33	6.9	75	0.48	23	0.14	-0.72	5
Regourdou	Reg 2 1008 G5 12	2	Monogastrics	<i>Sus scrofa</i>	cortical	ulna	mature ?	R51	0	0	0.03	0.44	164	0.38	63	0.03	-0.82	4
Regourdou	/	/	/	<i>Quercus sp.</i>		Leaf		P5								0.04	-0.48	3
Regourdou	/	/	/	<i>Taraxacum officinale</i>		Leaf		P12								0.09	-0.43	2
Regourdou	/	/	/	<i>Urtica dioica</i>		Leaf		P16								0.01	-0.45	3
Regourdou	/	/	/	<i>Gramineae</i>		Leaf		P18								0.08	-0.44	3

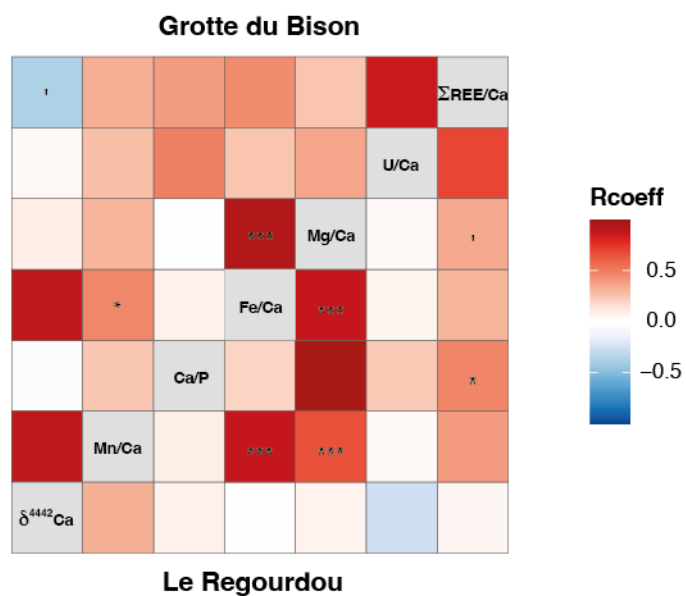
Regourdou	/	/	/	<i>Taraxacum officinale</i>		Stem		P10										0.08	-0.84	2
Regourdou	/	/	/	<i>Urtica dioica</i>		Stem		P1										0.02	-0.84	2
Regourdou	/	/	/	<i>Gramineae</i>		Stem		P2										0.09	-0.69	2
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Urtica dioicas</i>		Leaf		P35										0.09	-0.57	4
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Quercus sp.</i>		Leaf		P38										0.09	-0.47	5
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Taraxacum officinale</i>		Leaf		P39										0.06	-0.39	2
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Urtica dioicas</i>		Stem		P37										0.07	-0.96	5
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Taraxacum officinale</i>		Stem		P36										0.02	-0.7	5
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Galium aparine</i>		Leaf		P41										0.13	-0.51	2
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Galium aparine</i>		Stem		P44										0.07	-0.97	2
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Alliaria petiolata</i>		Leaf		P42										0.15	-0.61	3
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Alliaria petiolata</i>		Stem		P43										0.05	-0.92	3
La Grotte du Bison	/	/	/	<i>Corylus sp.</i>		Leaf		P40										0.03	-0.6	2
Regourdou	Reg E3 101	/	Monogastrics	<i>Sus scrofa</i>	cortical	left hemi-mandible	immature (6-10mois)	R49	0.03	0	3.94	11	33	0.61	4.9	0.26	-0.82	5		

**Table S2:** Compilation of literature plant Ca isotopic composition, converted to  $\delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{ICP Ca Lyon}}$ 

Reference	Type	Family	Taxa	Organ	$\delta^{44/42}\text{Ca}_{\text{ICP Ca Lyon}}$	2sig $\delta$ (44/42Ca)
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Leaf	-0.58	
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Root	-0.45	
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Leaf	-0.33	
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Root	-0.45	
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Leaf	-0.44	
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Root	-0.36	
Christensen <i>et al.</i> , 2018	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Triticeae</i>	Leaf	-0.48	
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.61	0.12
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.87	0.04
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.78	0.08
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.85	0.18
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-1.13	0.36
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.88	0.04
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-1.07	0.03
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.99	0.02
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.54	0.02
Chu <i>et al.</i> , 2006	Grass/herb			Above ground biomass	-0.68	0.08
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex scutatus</i>	Root	-0.63	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex scutatus</i>	Cortex	-0.69	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex scutatus</i>	Stele	-0.44	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex scutatus</i>	Stem	-0.57	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex scutatus</i>	Leaf	-0.11	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex scutatus</i>	Flower	-0.12	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Oxyria digyna</i>	Leaf	-0.07	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Oxyria digyna</i>	Leaf	-0.05	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Polygonaceae</i>	<i>Oxyria digyna</i>	Leaf	-0.2	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Leaf	-0.51	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Leaf	-0.42	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Leaf	-0.42	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Leaf	-0.43	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Leaf	-0.45	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Flower	-0.56	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Flower	-0.6	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Agrostis</i>	Flower	-0.57	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.18	0.07

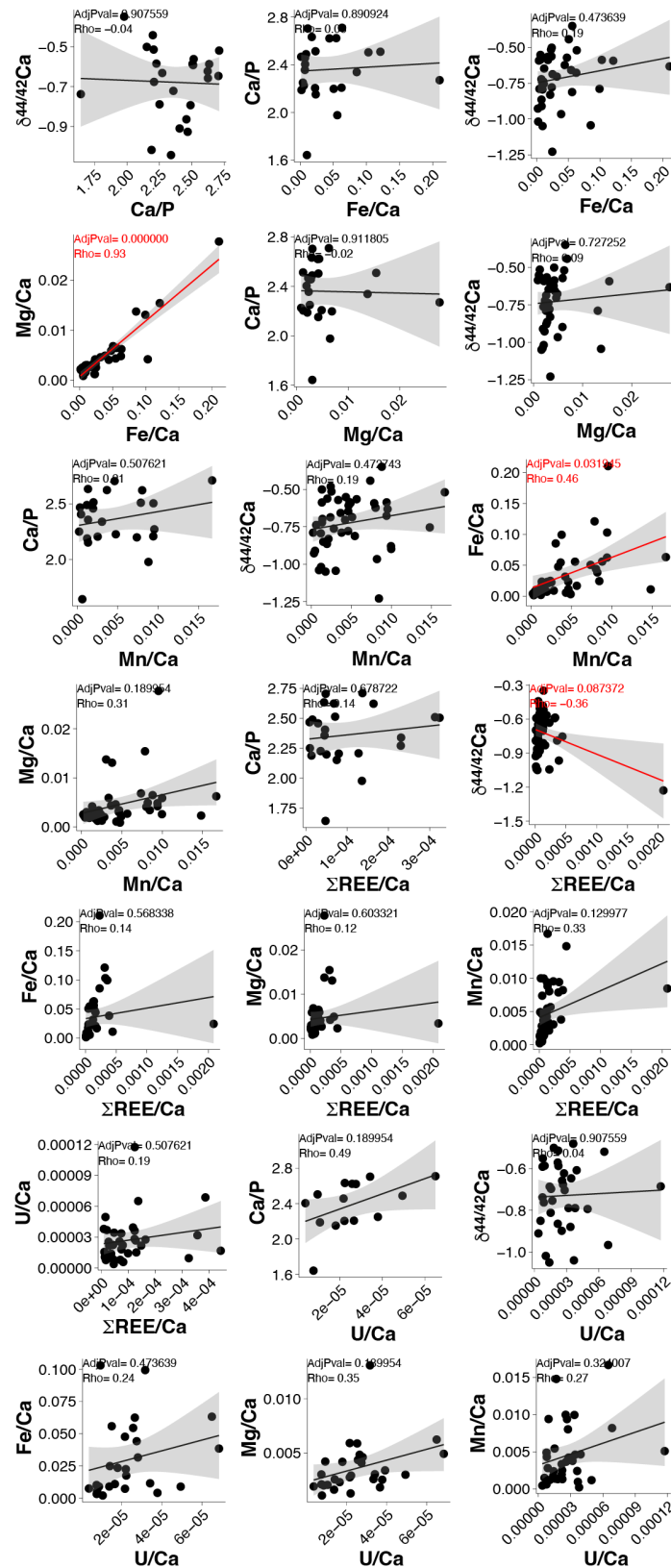
## Annexes

Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.33	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.31	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.39	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.28	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.29	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.37	0.07
Hindshaw <i>et al.</i> , 2013	Grass/herb	<i>Asteraceae</i>	<i>Leucanthemopsis alpina</i>	Above ground biomass	-0.36	0.07
Skulan <i>et al.</i> , 1999	Grass/herb	<i>Fabaceae</i>	<i>Medicago sativa</i>	Above ground biomass	-0.25	
Skulan <i>et al.</i> , 1999	Grass/herb	<i>Poaceae</i>	<i>Festuca</i>	Above ground biomass	-0.55	

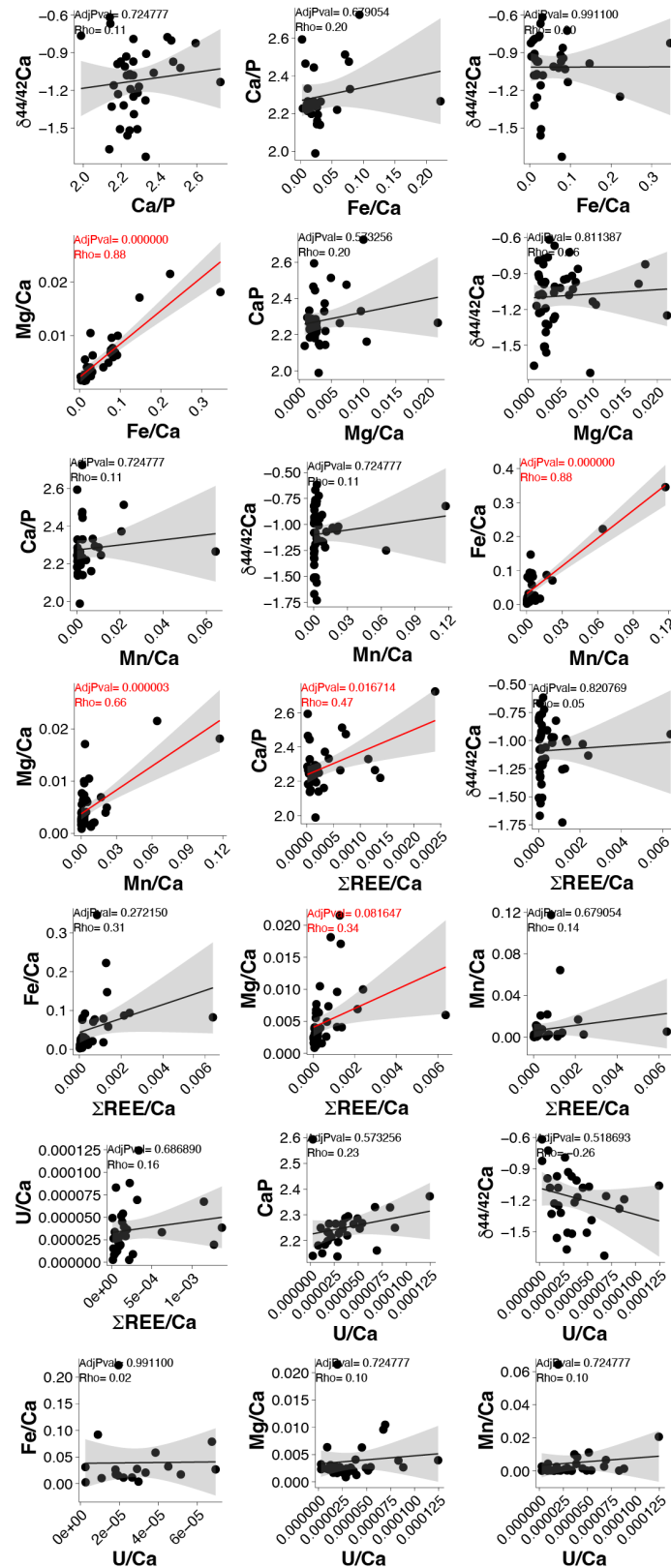


**Figure S1:** Heatmap of the correlation coefficients (R) between Ca-normalized elemental ratios and Ca isotopic compositions. Significant  $P$ -values after a Benjamini-Hochberg adjustment for multiple comparisons are indicated (\*  $\text{Adj}P = 0.05\text{--}0.1$ , \*  $\text{Adj}P = 0.01\text{--}0.05$ , \*\*  $\text{Adj}P = 0.001\text{--}0.01$ , and \*\*\*  $\text{Adj}P < 0.001$ ). The correlation matrix for Grotte du Bison is displayed on the top left part of the figure and the correlation matrix for Regourdou is displayed on the lower right part of the figure.

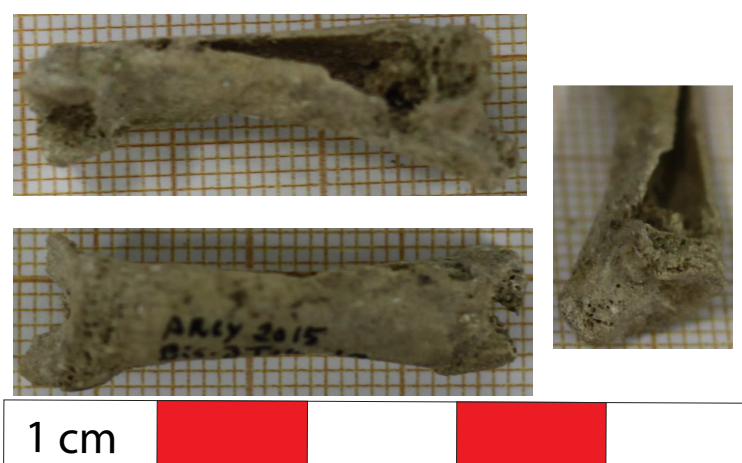




**Figure S2:** Individual correlations between Ca-normalized elemental ratios and Ca isotopic compositions at Grotte du Bison. Significant adjusted  $P$ -values after a Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons are. Correlations with significant adjusted  $P$ -values are highlighted in red.



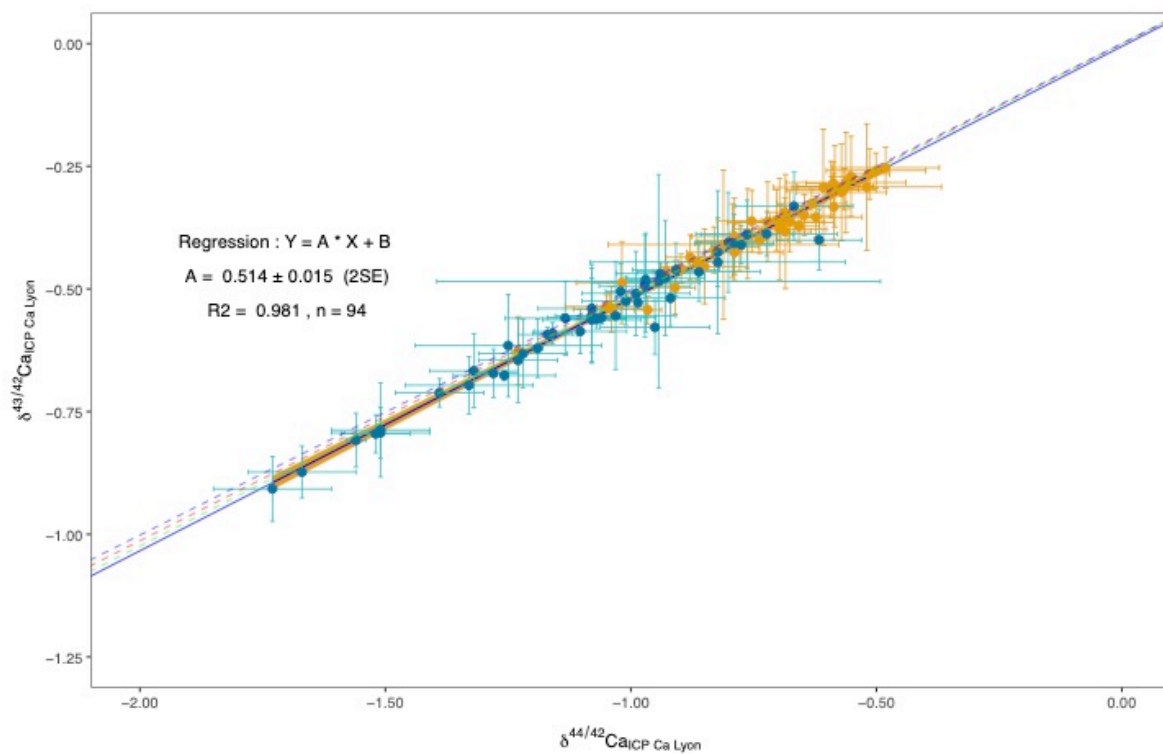
**Figure S3:** Individual correlations between Ca-normalized elemental ratios and Ca isotopic compositions at Regourdou. Significant adjusted  $P$ -values after a Benjamini-Hochberg correction for multiple comparisons are. Correlations with significant adjusted  $P$ -values are highlighted in red.



**Figure S4:** Arcy 2015 BIS J T14 12 wolf bone, before sampling for Ca isotopes analysis

#### **Commentary on the digested bone from Grotte du Bison**

Several traces of digestion could be identified on the bone Arcy 2015 Bis J T14-12. The abnormal thinning of the cortical bone and a reduction of the bone edges are two elements allowing the identification of modification to this fossil piece due to the digestion of the bone by a carnivore. The Grotte du Bison site has a large amount of hyena remains and a carnivore/ungulate ratio suggesting that part of the accumulation of remains is due to hyena action. The consumption of bone by hyenas is a widely documented phenomenon, so we can rightly assume that the wolf sample presented above was ingested by a hyena during its occupation of the cave. Numerous other digested bones have been identified in the Grotte du Bison collection that were not collected for this study.



**Figure S5:** Mass fractionation in three-isotope space of the samples analyzed in this study relative to ICP Ca Lyon. The blue line shows the linear regression of  $\delta^{44/42}\text{Ca}$  as a function of  $\delta^{43/42}\text{Ca}$  values (slope =  $0.514 \pm 0.015$ ; 2SE;  $R^2 = 0.981$ ;  $n = 94$ ). The blue and yellow points are for Regourdou and the Grotte du Bison samples, respectively. The dotted lines represent the three theoretical lines describing a mass-dependent isotopic fractionation depending on the considered mass-dependent fractionation exponential (red), inverse (green) and power (blue) laws, respectively.



---

## Références

- Albert, rosa M., Weiner, S., 2000. Phytoliths in the Middle Palaeolithic Deposits of Kebara Cave, Mt Carmel, Israel: Study of the Plant Materials used for Fuel and Other Purposes. 17.
- Alduc, D., Auffret, J., 1979. Nouvelles données sur le Pléistocène de la basse vallée de la Seine et son prolongement sous-marin en Manche orientale. *Bulletin d'Information des Géologues du Bassin de Paris*. 16, 27–33.
- Alexander Bentley, R., 2006. Strontium Isotopes from the Earth to the Archaeological Skeleton: A Review. *Journal of Archaeological Method and Theory*. 13, 135–187.
- Alimonti, A., Petrucci, F., Santucci, B., Cristaudo, A., Caroli, S., 1995. Determination of chromium and nickel in human blood by means of inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 306, 35–41.
- Ambrose, S.H., DeNiro, M.J., 1986. Reconstruction of African human diet using bone collagen carbon and nitrogen isotope ratios. *Nature*. 319, 321.
- Baffier, D., Girard, M., 1997. The karst of Arcy-sur-Cure (Yonne) and its palaeolithic human occupations. *Quaternaire*. 8, 245–255.
- Bagard, M.-L., Schmitt, A.-D., Chabaux, F., Pokrovsky, O.S., Viers, J., Stille, P., Labolle, F., Prokushkin, A.S., 2013. Biogeochemistry of stable Ca and radiogenic Sr isotopes in a larch-covered permafrost-dominated watershed of Central Siberia. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 114, 169–187.
- Bailoud, G., Tendron, G., Cendron, G., 1946. Les gravures pariétales de la grotte du Cheval à Arcy-sur-Cure (Yonne). *Bulletin de la Société préhistorique de France*. 43, 155–160.
- Balescu, S., Lamothe, M., Laurantidou, J.-P., 1997. Luminescence evidence for two Middle Pleistocene interglacial events at Tourville, northwestern France. *Boreas*. 26, 61–72.
- Balter, V., 2007. Le comportement alimentaire des Néandertaliens. In: *Les Néandertaliens. Biologie et Culture*. Paris, pp. 199–212.
- Balter, V., Simon, L., 2006. Diet and behavior of the Saint-Césaire Neanderthal inferred from biogeochemical data inversion. *Journal of Human Evolution*. 51, 329–338.
- Baquedano, E., Domínguez-Rodrigo, M., Musiba, C., 2012. An experimental study of large mammal bone modification by crocodiles and its bearing on the interpretation of crocodile predation at FLK Zinj and FLK NN3. *Journal of Archaeological Science*. 39, 1728–1737.
- Bayle, P., 2012. Dossier de demande d'opération archéologique, Grotte de Sirogne, Rocamadour, Lot. Service Régional d'archéologie Occitanie, Toulouse, p. 25.
- Bayle, P., Albouy, B., Bas, M., Bruxelles, L., Cosnefroy, Q., Discamps, E., Dodat, P.-J., Faivre, J.-P., Falgueres, C., Granger, J.-C., Jaurena, T.L., Lacrampe-Cuyaubère, F., Lahaye, C., Lenoble, A., Le Luyer, M., Madelaine, S., Mallye, J.B., Marzouki, Y., Maureille, B., Muth, X., Pons-Branchu, E., Richard, M., Royer, A., Sirieix, C., Mateo, S., Turq, A., Verdet, C., 2017a. Fouille 2016-18 de la Grotte Sirogne, Rocamadour, Lot. Rapport intermédiaire de fouille programmée triennale, Service Régional de l'Archéologie Occitanie, Toulouse, p. 184.
- Bayle, P., Albouy, B., Bas, M., Bruxelles, L., Faivre, J.-P., Falgueres, C., Guérin, G., Lacrampe-Cuyaubère, F., Lahaye, C., Lahaye, C., Madelaine, S., Mallye, J.-B., Maureille, B., Pons-Branchu, E., Richards, M., Royer, A., Thineault, A., Turq, A., 2016. Fouilles 2016-18 de la Grotte Sirogne, Rocamadour, Lot. Rapport intermédiaire de fouille programmée triennale. Service Régional d'archéologie Occitanie, Toulouse, p. 123.
- Bayle, P., Albouy, B., Bosq, M., Bruxelles, L., Cosnefroy, Q., Discamps, E., Dodat, P.-J., Colombet, P., Faivre,

- J.-P., Falgueres, C., Granger, J.-C., Jaurena, T., Lacrampe-Cuyaubère, F., Lahaye, C., Lenoble, A., Le Luyer, M., Madelaine, S., Mallye, J.-B., Marzouki, Y., Maureille, B., Muth, X., Pons-Branchu, E., Richards, M., Royer, A., Sireix, C., Turq, A., Verdet, C., 2017b. Fouilles 2016-18 de la Grotte Sirogne, Rocamadour, Lot. Rapport intermédiaire de fouille programmée triennale. Service Régional d'archéologie Occitanie, Toulouse, p. 184.
- Bayle, P., Bosq, M., Bruxelles, L., Colombet, P., Faivre, J.-P., Guadelli, J.-L., Lacrampe-Cuyaubère, F., Lahaye, C., Madelaine, S., Maureille, B., Royer, L., Aurélienand Sitzia, Turq, A., 2015. Fouilles 2015 de la Grotte Sirogne, Rocamadour, Lot. Rapport de fouille programmée. Service Régional d'archéologie Occitanie, Toulouse, p. 87.
- Bayle, P., Bruxelles, L., Colombet, P., Faivre, J.-P., Guadelli, J.-L., Lacrampe-Cuyaubère, F., Madelaine, S., Maureille, B., Royer, A., Sitzia, L., Turq, A., 2014. Fouille 2014 de la Grotte Sirogne, Rocamadour, Lot. Rapport de prospection thématique, Service Régional de l'Archéologie Occitanie, Toulouse, p. 60.
- Bayle, P., Bruxelles, L., Colombet, P., Faivre, J.-P., Guadelli, J.-L., Lacrampe-Cuyaubère, F., Madelaine, S., Maureille, B., Sitzia, L., Turq, A., 2013. Fouille 2013 de la Grotte Sirogne, Rocamadour, Lot. Rapport de prospection thématique, Service Régional de l'Archéologie Occitanie, Toulouse, p. 47.
- Belcastro, M.G., Mariotti, V., Riga, A., Bonfiglioli, B., Frayer, D.W., 2018. Tooth fractures in the Krapina Neandertals. *Journal of Human Evolution*. 123, 96–108.
- Benazzi, S., Douka, K., Fornai, C., Bauer, C.C., Kullmer, O., Svoboda, J., Pap, I., Mallegni, F., Bayle, P., Coquerelle, M., Condemi, S., Ronchitelli, A., Harvati, K., Weber, G.W., 2011. Early dispersal of modern humans in Europe and implications for Neanderthal behaviour. *Nature*. 479, 525–528.
- Binford, L.R., 1985. Human ancestors: Changing views of their behavior. *Journal of Anthropological Archaeology*. 4, 292–327.
- Blasco, R., Cochard, D., Colonese, A.C., Laroulandie, V., Meier, J., Morin, E., Rufà, A., Tassoni, L., Thompson, J.C., 2022. Small animal use by Neanderthals. In: *Updating Neanderthals*. Elsevier, pp. 123–143.
- Bocherens, H., 2015. Isotopic tracking of large carnivore palaeoecology in the mammoth steppe. *Quaternary Science Reviews*. 117, 42–71.
- Bocherens, H., Billiou, D., Mariotti, A., Patou-Mathis, M., Otte, M., Bonjean, D., Toussaint, M., 1999. Palaeoenvironmental and Palaeodietary Implications of Isotopic Biogeochemistry of Last Interglacial Neanderthal and Mammal Bones in Scladina Cave (Belgium). *Journal of Archaeological Science*. 26, 599–607.
- Bocherens, H., Diaz-Zorita Bonilla, M., Daujeard, C., Fernandes, P., Raynal, J.-P., Moncel, M.-H., 2016. Direct isotopic evidence for subsistence variability in Middle Pleistocene Neanderthals (Payre, southeastern France). *Quaternary Science Reviews*. 154, 226–236.
- Bocherens, H., Drucker, D.G., Billiou, D., Geneste, J.-M., van der Plicht, J., 2006. Bears and humans in Chauvet Cave (Vallon-Pont-d'Arc, Ardèche, France): Insights from stable isotopes and radiocarbon dating of bone collagen. *Journal of Human Evolution*. 50, 370–376.
- Bocherens, H., Drucker, D.G., Billiou, D., Patou-Mathis, M., Vandermeersch, B., 2005. Isotopic evidence for diet and subsistence pattern of the Saint-Césaire I Neanderthal: review and use of a multi-source mixing model. *Journal of Human Evolution*. 49, 71–87.
- Bocherens, H., Drucker, D.G., Bonjean, D., Bridault, A., Conard, N.J., Cupillard, C., Germonpré, M., Höneisen, M., Münzel, S.C., Napierala, H., Patou-Mathis, M., Stephan, E., Uerpmann, H.-P., Ziegler, R., 2011. Isotopic evidence for dietary ecology of cave lion (<i>Panthera spelaea</i>) in North-Western Europe: Prey choice, competition and implications for extinction. *Quaternary International, Late Quaternary mammal ecology: insight from new approaches*. 245, 249–261.
- Bocherens, H., Fizet, M., Mariotti, A., 1994. Diet, physiology and ecology of fossil mammals as inferred from stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry: implications for Pleistocene bears. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Stable Isotope and Trace-Element Geochemistry of Vertebrate Fossils: Interpreting Ancient Diets and Climates*. 107, 213–225.
- Bocherens, H., Fizet, M., Mariotti, A., Lange-Badre, B., Vandermeersch, B., Borel, J.P., Bellon, G., 1991. Isotopic biogeochemistry (<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N) of fossil vertebrate collagen: application to the study of a past food web including Neanderthal man. *Journal of Human Evolution*. 20, 481–492.
- Bon, C., Caudy, N., de Dieuleveult, M., Fosse, P., Philippe, M., Maksud, F., Beraud-Colomb, E., Bouzaid, E.,

- Kefi, R., Laugier, C., Rousseau, B., Casane, D., van der Plicht, J., Elalouf, J.-M., 2008. Deciphering the complete mitochondrial genome and phylogeny of the extinct cave bear in the Paleolithic painted cave of Chauvet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105, 17447–17452.
- Bonifay, E., Vandermeersch, B., 1962. Dépôts rituels d'ossements d'ours dans le gisement mousterien du Régourdou ( Montignac, Dordogne). *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences*. 255, 1635–1636.
- Bonifay, M.-F., 2008. Importance de la population d'Ours bruns du Régourdou. *Bulletin : Société d'études et de recherches préhistoriques Les Eyzies*. 57, 14–24.
- Boulbes, N., van Asperen, E.N., 2019. Biostratigraphy and Palaeoecology of European Equus. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 7, 301.
- Boule, M., 1909. Le squelette du tronc et des membres de l'Homme fossile de la Chapelle-aux-Saints. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*. 1554–1556.
- Bourgon, N., Jaouen, K., Bacon, A.-M., Dufour, E., McCormack, J., Tran, N.-H., Trost, M., Fiorillo, D., Dunn, T.E., Zanolli, C., Zachwieja, A., Düringer, P., Ponche, J.-L., Boesch, Q., Antoine, P.-O., Westaway, K.E., Joannes-Boyau, R., Suzzoni, E., Frangeul, S., Crozier, F., Aubaile, F., Patole-Edoumba, E., Luangkhoth, T., Souksavatdy, V., Boualaphane, S., Sayavonkhamdy, T., Sichanthongtip, P., Sihanam, D., Demeter, F., Shackelford, L.L., Hublin, J.-J., Tütken, T., 2021. Trophic ecology of a Late Pleistocene early modern human from tropical Southeast Asia inferred from zinc isotopes. *Journal of Human Evolution*. 161, 103075.
- Bouvier, J.M., Mein, P., 1983. Une dent de néanderthalien dans le gisement pléistocène supérieur de Jaurens à Nespouls (Corrèze, France). *Nouvelles archives du Muséum d'histoire naturelle de Lyon*. 21, 3–7.
- Cáceres, I., Esteban-Nadal, M., Bennàsar, M., Marín Monfort, M.D., Pesquero, M.D., Fernández-Jalvo, Y., 2013. Osteophagia and dental wear in herbivores: actualistic data and archaeological evidence. *Journal of Archaeological Science*. 40, 3105–3116.
- Calandra, I., Merceron, G., 2016. Dental microwear texture analysis in mammalian ecology: DMTA in ecology. *Mammal Review*. 46, 215–228.
- Carpentier, G., Descombes, J.-C., Guilbaud, M., 1992. Un cimetière de mammoths en Normandie. *Archeologia*. 277, 60–66.
- Catling, P.C., 1988. Similarities and contrasts in the diets of foxes, *Vulpes vulpes*, and cats, *Felis catus*, relative to fluctuating prey populations and drought. *Wildlife Research*. 15, 307.
- Cavanhié, N., 2011. L'ours qui a vu l'homme? Étude archéozoologique et taphonomique du site paléolithique moyen de Regourdou (Montignac, Dordogne, France). *PALEO. Revue d'archéologie préhistorique*. 39–63.
- Cenki-Tok, B., Chabaux, F., Lemarchand, D., Schmitt, A.-D., Pierret, M.-C., Viville, D., Bagard, M.-L., Stille, P., 2009. The impact of water–rock interaction and vegetation on calcium isotope fractionation in soil- and stream waters of a small, forested catchment (the Strengbach case). *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 73, 2215–2228.
- Cerling, T.E., Mbu, E., Kirera, F.M., Manthi, F.K., Grine, F.E., Leakey, M.G., Sponheimer, M., Uno, K.T., 2011. Diet of *Paranthropus boisei* in the early Pleistocene of East Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108, 9337–9341.
- Chapman, J.L., Reiss, M.J., 1999. *Ecology: principles and applications*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Chenery, C.A., Pashley, V., Lamb, A.L., Sloane, H.J., Evans, J.A., 2012. The oxygen isotope relationship between the phosphate and structural carbonate fractions of human bioapatite: Relationship between phosphate and structural carbonate  $\delta^{18}\text{O}$  in human enamel. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 26, 309–319.
- Christensen, J.N., Qin, L., Brown, S.T., DePaolo, D.J., 2018. Potassium and Calcium Isotopic Fractionation by Plants (Soybean [ *Glycine max* ], Rice [ *Oryza sativa* ], and Wheat [ *Triticum aestivum* ]). *ACS Earth and Space Chemistry*. 2, 725–752.
- Chu, N.-C., Henderson, G.M., Belshaw, N.S., Hedges, R.E.M., 2006. Establishing the potential of Ca isotopes as proxy for consumption of dairy products. *Applied Geochemistry*. 21, 1656–1667.
- Clarkson, C., Jacobs, Z., Marwick, B., Fullagar, R., Wallis, L., Smith, M., Roberts, R.G., Hayes, E., Lowe, K.,



- Carah, X., Florin, S.A., McNeil, J., Cox, D., Arnold, L.J., Hua, Q., Huntley, J., Brand, H.E.A., Manne, T., Fairbairn, A., Shulmeister, J., Lyle, L., Salinas, M., Page, M., Connell, K., Park, G., Norman, K., Murphy, T., Pardoe, C., 2017. Human occupation of northern Australia by 65,000 years ago. *Nature*. 547, 306–310.
- Clementz, M.T., Fox-Dobbs, K., Wheatley, P.V., Koch, P.L., Doak, D.F., 2009. Revisiting old bones: coupled carbon isotope analysis of bioapatite and collagen as an ecological and palaeoecological tool. *Geological Journal*. 44, 605–620.
- Colleter, R., Bataille, C.P., Dabernat, H., Pichot, D., Hamon, P., Duchesne, S., Labaune-Jean, F., Jean, S., Le Cloirec, G., Milano, S., Trost, M., Steinbrenner, S., Marchal, M., Guilbeau-Frugier, C., Telmon, N., Crubézy, É., Jaouen, K., 2021. The last battle of Anne of Brittany: Solving mass grave through an interdisciplinary approach (paleopathology, biological anthropology, history, multiple isotopes and radiocarbon dating). *PLOS ONE*. 16, e0248086.
- Condemi, S., 2001. Les Néandertaliens de la Chaise: abri Bourgeois-Delaunay, Documents préhistoriques. Éd. du Comité des travaux historiques et scientifiques Société préhistorique française, Paris.
- Cordain, L., Miller, J.B., Eaton, S.B., Mann, N., Holt, S.H., Speth, J.D., 2000. Plant-animal subsistence ratios and macronutrient energy estimations in worldwide hunter-gatherer diets. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71, 682–692.
- Costamagno, S., Liliane, M., Cédric, B., Bernard, V., Bruno, M., 2006. Les Pradelles (Marillac-le-Franc, France): A mousterian reindeer hunting camp? *Journal of Anthropological Archaeology*. 25, 466–484.
- Cullen, T.M., Longstaffe, F.J., Wortmann, U.G., Goodwin, M.B., Huang, L., Evans, D.C., 2019. Stable isotopic characterization of a coastal floodplain forest community: a case study for isotopic reconstruction of Mesozoic vertebrate assemblages. *Royal Society Open Science*. 6, 181210.
- Dansgaard, W., 1964. Stable isotopes in precipitation. *Tellus*. 16, 436–468.
- Daujeard, C., Vettese, D., Britton, K., Béarez, P., Boulbes, N., Crégut-Bonnoure, E., Desclaux, E., Lateur, N., Pike-Tay, A., Rivals, F., Allué, E., Chacón, M.G., Puaud, S., Richard, M., Courty, M.-A., Gallotti, R., Hardy, B., Bahain, J.J., Falguères, C., Pons-Branchu, E., Valladas, H., Moncel, M.-H., 2019. Neanderthal selective hunting of reindeer? The case study of Abri du Maras (south-eastern France). *Archaeological and Anthropological Sciences*. 11, 985–1011.
- David, F., d'Iatchenko, V., Enloe, J.G., Girard, M., Hardy, M., Lhomme, V., Roblin-Jouve, A., Tillier, A., Tolmie, C., 2009. New Neanderthal remains from the Grotte du Bison at Arcy-sur-Cure, France. *Journal of human evolution*. 57, 805–809.
- David, L., 1968. Jaurens, commune de Nesoules (Corèze), nouveau gisement de vertébrés pléistocènes du Causse de Martel. *Bulletin de la société scientifique historique et archéologique de la corèze*. 90, 13–19.
- De Mortillet, G., 1867. Matériaux pour l'histoire positive et philosophique de l'homme. C. Reinwald, pp. 181–368.
- De Vibraye, M., 1860. Notes sur les ossements fossiles accompagnés d'une mâchoire humaine, trouvés dans les grottes d'Arcy-sur-Yonne. Imprimerie de L. Martinet.
- Debard, E., 1979. Le gisement pléistocène supérieur de Jaurens à Nespouls, Corrèze, France : Etude sédimentologique du remplissage. *Nouvelles archives du Muséum d'histoire naturelle de Lyon*. 17, 17–24.
- Delagnes, A., Rendu, W., 2011. Shifts in Neanderthal mobility, technology and subsistence strategies in western France. *Journal of Archaeological Science*. 38, 1771–1783.
- Demeter, F., Shackelford, L., Westaway, K., Durringer, P., Bacon, A.-M., Ponche, J.-L., Wu, X., Sayavongkhamdy, T., Zhao, J.-X., Barnes, L., Boyon, M., Sichanthongtip, P., Sénégas, F., Karpoff, A.-M., Patole-Edoumba, E., Coppens, Y., Braga, J., 2015. Early Modern Humans and Morphological Variation in Southeast Asia: Fossil Evidence from Tam Pa Ling, Laos. *PLOS ONE*. 10, e0121193.
- DeNiro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 42, 495–506.
- DeNiro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 45, 341–351.

- Descombes, J., 1983. Étude paléontologique du gisement pléistocène moyen de Tourville-la-Rivière (Seine-Maritime, France). *Quaternaire*. 20, 161–169.
- Desprat, S., Sánchez Goñi, M.F., Turon, J.-L., Duprat, J., Malaizé, B., Peyrouquet, J.-P., 2006. Climatic variability of Marine Isotope Stage 7: direct land–sea–ice correlation from a multiproxy analysis of a north-western Iberian margin deep-sea core. *Quaternary Science Reviews*. 25, 1010–1026.
- Devièse, T., Karavanić, I., Comeskey, D., Kubiak, C., Korlević, P., Hajdinjak, M., Radović, S., Procopio, N., Buckley, M., Pääbo, S., Higham, T., 2017. Direct dating of Neanderthal remains from the site of Vindija Cave and implications for the Middle to Upper Paleolithic transition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114, 10606.
- Discamps, E., 2011a. La place du rhinocéros dans le régime alimentaire des hyènes à Camiac (Gironde, France) et ses implications pour la compétition avec les derniers néanderthaliens. *Prédateurs dans tous leurs états, Actes des XXXIe rencontres internationales d'archéologie et d'histoire d'Antibes*. 33–48.
- Discamps, E., 2011b. Hommes et hyènes face aux recompositions des communautés d'Ongulés (MIS 5-3) : Eléments pour un cadre paléoécologique des sociétés du Paléolithique moyen et supérieur ancien d'Europe de l'Ouest (Thèse). Université de Bordeaux 1, Bordeaux.
- Dodat, P.-J., Tacail, T., Albalat, E., Gómez-Olivencia, A., Couture-Veschambre, C., Holliday, T., Madelaine, S., Martin, J.E., Rmoutilova, R., Maureille, B., Balter, V., 2021. Isotopic calcium biogeochemistry of MIS 5 fossil vertebrate bones: application to the study of the dietary reconstruction of Regourdou 1 Neandertal fossil. *Journal of Human Evolution*. 151, 102925.
- Dolores Garralda, M., Maureille, B., Vandermeersch, B., 2014. Neanderthal infant and adult infracranial remains from Marillac (Charente, France). *American journal of physical anthropology*. 155, 99–113.
- Droke, J.L., Schmidt, C.W., L'Engle Williams, F., Karriger, W.M., Smith, F.H., Becam, G., de Lumley, M.-A., 2020. Regional variability in diet between Northern European and Mediterranean Neandertals: Evidence from dental microwear texture analysis. In: *Dental Wear in Evolutionary and Biocultural Contexts*. Elsevier, pp. 225–241.
- Dusseldorp, G.L., Lombard, M., 2021. Constraining the Likely Technological Niches of Late Middle Pleistocene Hominins with *Homo naledi* as Case Study. *Journal of Archaeological Method and Theory*. 28, 11–52.
- Dutton, A., Carlson, A.E., Long, A.J., Milne, G.A., Clark, P.U., DeConto, R., Horton, B.P., Rahmstorf, S., Raymo, M.E., 2015. Sea-level rise due to polar ice-sheet mass loss during past warm periods. *Science*. 349, aaa4019.
- Efremov, J.A., 1940. Taphonomy: a new branch of geology. *Pan-Am. Geologist*. 74, 81–93.
- Enloe, J.G., 2012. Middle Palaeolithic Cave Taphonomy: Discerning Humans from Hyenas at Arcy-sur-Cure, France: Middle Palaeolithic Cave Taphonomy. *International Journal of Osteoarchaeology*. 22, 591–602.
- Estalrich, A., El Zaatari, S., Rosas, A., 2017. Dietary reconstruction of the El Sidrón Neandertal familial group (Spain) in the context of other Neandertal and modern hunter-gatherer groups. A molar microwear texture analysis. *Journal of Human Evolution*. 104, 13–22.
- Estalrich, A., Marín-Arroyo, A.B., 2021. Evidence of habitual behavior from non-alimentary dental wear on deciduous teeth from the Middle and Upper Paleolithic Cantabrian region, Northern Spain. *Journal of Human Evolution*. 158, 103047.
- Esteban, I., Albert, rosa M., Zilhão, J., Villaverde, V., 2015. Neanderthal use of plants and past vegetation reconstruction at the Middle Paleolithic site of Abrigo de la Quebrada (Chelva, Valencia, Spain). *Archaeological and Anthropological Sciences* volume. 9, 265–278.
- Fa, J.E., Stewart, J.R., Lloveras, L., Vargas, J.M., 2013. Rabbits and hominin survival in Iberia. *Journal of Human Evolution*. 64, 233–241.
- Faivre, J.-P., Bemilli, C., Bonilauri, S., Coutard, S., Limondin-Lozouet, N., Maureille, B., 2014a. Une fenêtre sur la vallée de la Seine au cours du Pléistocène moyen récent, Inrap Haute-Normandie. ed, Rapport d'opération. Fouille archéologique.
- Faivre, J.-P., Maureille, B., Bayle, P., Crevecoeur, I., Duval, M., Grün, R., Bemilli, C., Bonilauri, S., Coutard, S., Bessou, M., Limondin-Lozouet, N., Cottard, A., Deshayes, T., Douillard, A., Henaff, X., Pautret-Homerville, C., Kinsley, L., Trinkaus, E., 2014b. Middle Pleistocene Human Remains from Tourville-la-Rivière (Normandy, France) and Their Archaeological Context. *PLoS ONE*. 9, e104111.

- Fiorenza, L., Benazzi, S., Henry, A.G., Salazar-García, D.C., Blasco, R., Picin, A., Wroe, S., Kullmer, O., 2015. To meat or not to meat? New perspectives on Neanderthal ecology: The Diet of the Neanderthals. *American Journal of Physical Anthropology*. 156, 43–71.
- Fiorenza, L., Benazzi, S., Kullmer, O., Zampirolo, G., Mazurier, A., Zanolli, C., Macchiarelli, R., 2019. Dental macrowear and cortical bone distribution of the Neanderthal mandible from Regourdou (Dordogne, Southwestern France). *Journal of Human Evolution*. 132, 174–188.
- Fiorenza, L., Benazzi, S., Tausch, J., Kullmer, O., Bromage, T.G., Schrenk, F., 2011. Molar Macrowear Reveals Neanderthal Eco-Geographic Dietary Variation. *PLoS ONE*. 6, e14769.
- Fizet, M., Mariotti, A., Bocherens, H., Lange-Badré, B., Vandermeersch, B., Borel, J.P., Bellon, G., 1995. Effect of diet, physiology and climate on carbon and nitrogen stable isotopes of collagen in a late pleistocene anthropic palaeoecosystem: Marillac, Charente, France. *Journal of Archaeological Science*. 22, 67–79.
- Fosse, P., Morel, P., Brugal, J.-P., 2002. Taphonomie et éthologie des Ursides Pleistocenes. In: Actes Du Colloque d'Auverives-En-Royans, 1997. Presented at the L'ours et l'Homme, Editions de l'Université de Liège, Auverives-en-Royans, pp. 79–102.
- Frayret, J., Mermet, J.-M., Paucot, H., 2012. ICP-OES : couplage plasma induit par haute fréquence – spectrométrie optique. *Techniques de l'ingénieur Spectrométries*. [ en ligne ].
- Frouin, M., Lahaye, C., Mercier, N., Guibert, P., Couchoud, I., Texier, J., Royer, A., Costamagno, S., Beauval, C., Bourguignon, L., others, 2018. Chronology of a Quina type mousterian site of Les Pradelles (Marillac-le-Franc, Charente). *PALEO. Revue d'archéologie préhistorique*. 28.
- Frouin, M., Lahaye, C., Mercier, N., Guibert, P., Couchoud, I., Texier, J.P., Royer, A., Costamagno, S., Beauval, C., Bourguignon, L., Meignen, L., Bordes, J.-G., Seguin, G., Bocherens, H., Lacrampe-Cuyaubère, F., Muth, X., Geigl, E.M., Grün, R., Garralda, M.D., Vandermeersch, B., Mann, A., Maureille, B., 2017. Chronologie du site moustérien de type Quina des Pradelles (Marillac-le-Franc, Charente, France). *PALEO*. 117–136.
- Gable, T.D., Windels, S.K., Bruggink, J.G., Barber-Meyer, S.M., 2018. Weekly Summer Diet of Gray Wolves (*Canis lupus*) in Northeastern Minnesota. *The American Midland Naturalist*. 179, 15–27.
- Gaudzinski-Windheuser, S., Noack, E.S., Pop, E., Herbst, C., Pflöging, J., Buchli, J., Jacob, A., Enzmann, F., Kindler, L., Iovita, R., Street, M., Roebroeks, W., 2018. Evidence for close-range hunting by last interglacial Neanderthals. *Nature Ecology & Evolution*. 2, 1087–1092.
- Gravina, B., Discamps, E., 2015. MTA-B or not to be? Recycled bifaces and shifting hunting strategies at Le Moustier and their implication for the late Middle Palaeolithic in southwestern France. *Journal of human evolution*. 84, 83–98.
- Grayson, D.K., Delpech, F., 2002. Specialized Early Upper Palaeolithic Hunters in Southwestern France? *Journal of Archaeological Science*. 29, 1439–1449.
- Green, R.E., Krause, J., Ptak, S.E., Briggs, A.W., Ronan, M.T., Simons, J.F., Du, L., Egholm, M., Rothberg, J.M., Paunovic, M., Pääbo, S., 2006. Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA. *Nature*. 444, 330–336.
- Griffith, E.M., Schmitt, A.-D., Andrews, M.G., Fantle, M.S., 2020. Elucidating modern geochemical cycles at local, regional, and global scales using calcium isotopes. *Chemical Geology*. 534, 119445.
- Griggo, C., 1996. Etablissement de courbes climatiques quantifiées à partir des communautés animales pléistocènes suivi d'une application aux gisements de l'abri Suard (Charente) et la grotte de Bois-Ragot (Vienne). *Paléo*. 8, 81–97.
- Guadelli, J.-L., 1987. Contribution à l'étude des zoocénoses préhistoriques en Aquitaine, Würm ancien et interstade würmien. Université de Bordeaux, Bordeaux.
- Guadelli, J.-L., 1989. Etude taphonomique du repaire d'hyènes de Camiac (Gironde, France). *Eléments de comparaison entre un site naturel et un gisement préhistorique. Quaternaire*. 26, 91–100.
- Guérin, C., Ballesio, R., Beden, M., Bouvier, J.M., Faure, M., López Martínez, N., Mallye, J.-B., Mourer-Chauviré, C., Mein, P., Philippe, M., Rage, J.-C., Valli, A.M.F., Vilain, R., 2002. Conclusion générale sur la faune du Pléistocène supérieur de la grotte de Jaurens (commune de Nespouls, Corrèze, France). *Cahiers scientifiques du Muséum d'histoire naturelle de Lyon - Centre de conservation et d'étude des collections*. 4, 55–66.

- Guérin, C., Philippe, M., Vilain, R., 1979. Le gisement pléistocène supérieur de Jaurens à Nespouls, Corrèze, France : Historique et généralités. *Nouvelles archives du Muséum d'histoire naturelle de Lyon*. 17, 11–16.
- Guillaud, E., Béarez, P., Daujeard, C., Defleur, A.R., Desclaux, E., Roselló-Izquierdo, E., Morales-Muñiz, A., Moncel, M.-H., 2021. Neanderthal foraging in freshwater ecosystems: A reappraisal of the Middle Paleolithic archaeological fish record from continental Western Europe. *Quaternary Science Reviews*. 252, 106731.
- Guiserix, D., Albalat, E., Ueckermann, H., Davechand, P., Iaccheri, L.M., Bybee, G., Badenhorst, S., Balter, V., 2022. Simultaneous analysis of stable and radiogenic strontium isotopes in reference materials, plants and modern tooth enamel. *Chemical Geology*. 606, 121000.
- Hackmann, T.J., Spain, J.N., 2010. Invited review: Ruminant ecology and evolution: Perspectives useful to ruminant livestock research and production. *Journal of Dairy Science*. 93, 1320–1334.
- Hajdinjak, M., Mafessoni, F., Skov, L., Vernot, B., Hübner, A., Fu, Q., Essel, E., Nagel, S., Nickel, B., Richter, J., Moldovan, O.T., Constantin, S., Endarova, E., Zahariev, N., Spasov, R., Welker, F., Smith, G.M., Sinet-Mathiot, V., Paskulin, L., Fewlass, H., Talamo, S., Rezek, Z., Sirakova, S., Sirakov, N., McPherron, S.P., Tsanova, T., Hublin, J.-J., Peter, B.M., Meyer, M., Skoglund, P., Kelso, J., Pääbo, S., 2021. Initial Upper Palaeolithic humans in Europe had recent Neanderthal ancestry. *Nature*. 592, 253–257.
- Halliday, A.N., Lee, D.-C., Christensen, J.N., Walder, A.J., Freedman, P.A., Jones, C.E., Hall, C.M., Yi, W., Teagle, D., 1995. Recent developments in inductively coupled plasma magnetic sector multiple collector mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes, Honour Biography*. 146, 21–33.
- Hardy, B.L., 2004. Neanderthal behaviour and stone tool function at the Middle Palaeolithic site of La Quina, France. *Antiquity*. 78, 547–565.
- Hardy, B.L., 2010. Climatic variability and plant food distribution in Pleistocene Europe: Implications for Neanderthal diet and subsistence. *Quaternary Science Reviews*. 29, 662–679.
- Hardy, K., Buckley, S., Collins, M.J., Estalrich, A., Brothwell, D., Copeland, L., García-Tabernero, A., García-Vargas, S., Rasilla, M. de la, Lalueza-Fox, C., Huguet, R., Bastir, M., Santamaría, D., Madella, M., Wilson, J., Cortés, Á.F., Rosas, A., 2012. Neanderthal medics? Evidence for food, cooking, and medicinal plants entrapped in dental calculus. *Naturwissenschaften*. 99, 617–626.
- Hassler, A., 2021. Stratégies de reproduction des mammifères et isotopes du calcium: contraindre l'origine de la lactation (Thèse). Université de Lyon, Lyon.
- Hassler, Auguste, Martin, J.E., Ferchaud, S., Grivault, D., Le Goff, S., Albalat, E., Hernandez, J.-A., Tacail, T., Balter, V., 2021. Lactation and gestation controls on calcium isotopic compositions in a mammalian model. *Metallomics*. 13, mfab019.
- Hassler, A., Martin, J.E., Merceron, G., Garel, M., Balter, V., 2021. Calcium isotopic variability of cervid bioapatite and implications for mammalian physiology and diet. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 573, 110418.
- Hauser, O., 1909. Découverte d'un squelette de type néandertal sous l'abri inférieur du Moustier. *L'Homme préhistorique*. 7, 1–9.
- Hawks, J., Berger, L.R., 2016. The impact of a date for understanding the importance of *Homo naledi*. *Transactions of the Royal Society of South Africa*. 71, 125–128.
- Hearney, A.W., Jennings, T.J., 2009. Annual foods of the Red deer (*Cervus elaphus*) and the Roe deer (*Capreolus capreolus*) in the east of England. *Journal of Zoology*. 201, 565–570.
- Heberer, G., 1956. Bericht über die Bergung der Skelettreste von Combe Capelle un Le Moustier aus dem Brandschutt des Berliner Museums für Vor-und Frühgeschichte. *Deutsche Gesellschaft für Anthropologie*, pp. 67–72.
- Henry, A.G., Brooks, A.S., Piperno, D.R., 2011. Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108, 486–491.
- Henry, A.G., Brooks, A.S., Piperno, D.R., 2014. Plant foods and the dietary ecology of Neanderthals and early modern humans. *Journal of Human Evolution*. 69, 44–54.

- Hershkovitz, I., May, H., Sarig, R., Pokhajaev, A., Grimaud-Hervé, D., Bruner, E., Fornai, C., Quam, R., Arsuaga, J.L., Krenn, V.A., Martínón-Torres, M., de Castro, J.M.B., Martín-Francés, L., Slon, V., Albessard-Ball, L., Vialet, A., Schüler, T., Manzi, G., Profico, A., Di Vincenzo, F., Weber, G.W., Zaidner, Y., 2021. A Middle Pleistocene *Homo* from Nesher Ramla, Israel. *Science*. 372, 1424–1428.
- Hershkovitz, I., Weber, G.W., Quam, R., Duval, M., Grün, R., Kinsley, L., Ayalon, A., Bar-Matthews, M., Valladas, H., Mercier, N., Arsuaga, J.L., Martínón-Torres, M., Bermúdez de Castro, J.M., Fornai, C., Martín-Francés, L., Sarig, R., May, H., Krenn, V.A., Slon, V., Rodríguez, L., García, R., Lorenzo, C., Carretero, J.M., Frumkin, A., Shahack-Gross, R., Bar-Yosef Mayer, D.E., Cui, Y., Wu, X., Peled, N., Groman-Yaroslavski, I., Weissbrod, L., Yeshurun, R., Tsatskin, A., Zaidner, Y., Weinstein-Evron, M., 2018. The earliest modern humans outside Africa. *Science*. 359, 456–459.
- Heuser, A., Eisenhauer, A., Scholz-Ahrens, K.E., Schrezenmeir, J., 2016a. Biological fractionation of stable Ca isotopes in Göttingen minipigs as a physiological model for Ca homeostasis in humans. *Isotopes in Environmental and Health Studies*. 52, 633–648.
- Heuser, A., Schmitt, A.-D., Gussone, N., Wombacher, F., 2016b. Analytical Methods. In: *Calcium Stable Isotope Geochemistry, Advances in Isotope Geochemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 23–73.
- Heuser, A., Tütken, T., Gussone, N., Galer, S.J.G., 2011. Calcium isotopes in fossil bones and teeth — Diagenetic versus biogenic origin. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 75, 3419–3433.
- Higham, T., Douka, K., Wood, R., Ramsey, C.B., Brock, F., Basell, L., Camps, M., Arrizabalaga, A., Baena, J., Barroso-Ruiz, C., Bergman, C., Boitard, C., Boscato, P., Caparrós, M., Conard, N.J., Draily, C., Froment, A., Galván, B., Gambassini, P., Garcia-Moreno, A., Grimaldi, S., Haesaerts, P., Holt, B., Iriarte-Chiapusso, M.-J., Jelinek, A., Jordá Pardo, J.F., Maíllo-Fernández, J.-M., Marom, A., Maroto, J., Menéndez, M., Metz, L., Morin, E., Moroni, A., Negrino, F., Panagopoulou, E., Peresani, M., Pirson, S., de la Rasilla, M., Riel-Salvatore, J., Ronchitelli, A., Santamaria, D., Semal, P., Slimak, L., Soler, J., Soler, N., Villaluenga, A., Pinhasi, R., Jacobi, R., 2014. The timing and spatiotemporal patterning of Neanderthal disappearance. *Nature*. 512, 306–309.
- Hindshaw, R.S., Reynolds, B.C., Wiederhold, J.G., Kiczka, M., Kretzschmar, R., Bourdon, B., 2013. Calcium isotope fractionation in alpine plants. *Biogeochemistry*. 112, 373–388.
- Hirata, T., Tanoshima, M., Suga, A., Tanaka, Y., Nagata, Y., Shinohara, A., Chiba, M., 2008. Isotopic analysis of calcium in blood plasma and bone from mouse samples by multiple collector-ICP-mass spectrometry. *Analytical Sciences*. 24, 1501–1507.
- Hockett, B., 2012. The consequences of Middle Paleolithic diets on pregnant Neanderthal women. *Quaternary International*. 264, 78–82.
- Hofmann, R.R., 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia*. 78, 443–457.
- Holmden, C., Bélanger, N., 2010. Ca isotope cycling in a forested ecosystem. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 74, 995–1015.
- Hu, Y., Jiang, Q., Liu, F., Guo, L., Zhang, Z., Zhao, L., 2022. Calcium isotope ecology of early *Gigantopithecus blacki* (~2 Ma) in South China. *Earth and Planetary Science Letters*. 584, 117522.
- Huang, B., Sun, Y., Maciejewska, I., Qin, D., Peng, T., McIntyre, B., Wygant, J., Butler, W.T., Qin, C., 2008. Distribution of SIBLING proteins in the organic and inorganic phases of rat dentin and bone. *European Journal of Oral Sciences*. 116, 104–112.
- Hublin, J.-J., Ben-Ncer, A., Bailey, S.E., Freidline, S.E., Neubauer, S., Skinner, M.M., Bergmann, I., Le Cabec, A., Benazzi, S., Harvati, K., Gunz, P., 2017. New fossils from Jebel Irhoud, Morocco and the pan-African origin of *Homo sapiens*. *Nature*. 546, 289–292.
- Hublin, J.-J., Richards, M.P. (Eds.), 2009. *The evolution of hominin diets: integrating approaches to the study of Palaeolithic subsistence, Vertebrate paleobiology and paleoanthropology series*. Springer, Dordrecht.
- Hublin, J.-J., Sirakov, N., Aldeias, V., Bailey, S., Bard, E., Delvigne, V., Endarova, E., Fagault, Y., Fewlass, H., Hajdinjak, M., Kromer, B., Krumov, I., Marreiros, J., Martisius, N.L., Paskulin, L., Sinet-Mathiot, V., Meyer, M., Pääbo, S., Popov, V., Rezek, Z., Sirakova, S., Skinner, M.M., Smith, G.M., Spasov, R., Talamo, S., Tuna, T., Wacker, L., Welker, F., Wilcke, A., Zahariev, N., McPherron, S.P., Tsanova, T., 2020. Initial Upper Palaeolithic *Homo sapiens* from Bacho Kiro Cave, Bulgaria. *Nature*. 581, 299–302.

- Hublin, J.-J., Talamo, S., Julien, M., David, F., Connet, N., Bodu, P., Vandermeersch, B., Richards, M.P., 2012. Radiocarbon dates from the Grotte du Renne and Saint-Cesaire support a Neandertal origin for the Chatelperronian. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109, 18743–18748.
- Ilich, J.Z., Kerstetter, J.E., 2000. Nutrition in Bone Health Revisited: A Story Beyond Calcium. *Journal of the American College of Nutrition*. 19, 715–737.
- Joannes-Boyau, R., Adams, J.W., Austin, C., Arora, M., Moffat, I., Herries, A.I.R., Tonge, M.P., Benazzi, S., Evans, A.R., Kullmer, O., Wroe, S., Dosseto, A., Fiorenza, L., 2019. Elemental signatures of *Australopithecus africanus* teeth reveal seasonal dietary stress. *Nature*. 572, 112–115.
- Johnsen, S.J., Dahl-Jensen, D., Gundestrup, N., Steffensen, J.P., Clausen, H.B., Miller, H., Masson-Delmotte, V., Sveinbjörnsdóttir, A.E., White, J., 2001. Oxygen isotope and palaeotemperature records from six Greenland ice-core stations: Camp Century, Dye-3, GRIP, GISP2, Renland and NorthGRIP: oxygen isotope and paleotemperature records from six greenland ice-cores. *Journal of Quaternary Science*. 16, 299–307.
- Johnson, J.S., 1994. Consolidation of Archaeological Bone: A Conservation Perspective. *Journal of Field Archaeology*. 21, 221–233.
- Kendall, C., Eriksen, A.M.H., Kontopoulos, I., Collins, M.J., Turner-Walker, G., 2018. Diagenesis of archaeological bone and tooth. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 491, 21–37.
- Kierdorf, U., 1993. Fork formation and other signs of osteophagia on a long bone swallowed by a red deer stag (*Cervus elaphus*). *International Journal of Osteoarchaeology*. 3, 37–40.
- Knudson, K.J., Williams, H.M., Buikstra, J.E., Tomczak, P.D., Gordon, G.W., Anbar, A.D., 2010. Introducing  $\delta^{88}/\delta^{86}\text{Sr}$  analysis in archaeology: a demonstration of the utility of strontium isotope fractionation in paleodietary studies. *Journal of Archaeological Science*. 37, 2352–2364.
- Kohn, M.J., Moses, R.J., 2013. Trace element diffusivities in bone rule out simple diffusive uptake during fossilization but explain in vivo uptake and release. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110, 419–424.
- Kolodny, O., Feldman, M.W., 2017. A parsimonious neutral model suggests Neanderthal replacement was determined by migration and random species drift. *Nature Communications*. 8, 1040.
- Koutamanis, D., Roberts, G.L., Dosseto, A., 2021. Inter- and intra-individual variability of calcium and strontium isotopes in modern Tasmanian wombats. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 574, 110435.
- Kurtén, B., 1976. *The cave bear story: life and death of a vanished animal*. Columbia University Press, New York.
- Laden, G., Wrangham, R., 2005. The rise of the hominids as an adaptive shift in fallback foods: Plant underground storage organs (USOs) and australopith origins. *Journal of Human Evolution*. 49, 482–498.
- Lalueza, C., Pérez-Perez, A., Turbón, D., 1996. Dietary inferences through buccal microwear analysis of Middle and Upper Pleistocene human fossils. *American Journal of Physical Anthropology*. 100, 367–387.
- Lanping, F., Zhou, L., Yang, L., Zhang, W., Wang, Q., Shuoyun, T., Hu, Z., 2018. A rapid and simple single-stage method for Ca separation from geological and biological samples for isotopic analysis by MC-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 33, 413–421.
- Le Goff, S., 2021. Évaluation de la balance minérale osseuse à l'aide des isotopes stables et naturels du calcium et du magnésium dans les biofluides humains. ENS de Lyon.
- Leichliter, J., Lüdecke, T., Foreman, A., Bourgon, N., Duprey, N., Vonhof, H., Souksavatdy, V., Bacon, A.-M., Sigman, D., Tütken, T., Martinez-Garcia, A., 2022. Nitrogen isotopic composition of tooth enamel organic matter records trophic position in modern and fossil ecosystems (preprint). In Review.
- Lenoir, M., 1980. Fouilles de sauvetage dans un gisement du Pleistocène récent en Gironde: Le gisement de la cimenterie d'Espiet à Camiac et Saint-Denis (Gironde). *Revue Histoire et Archéologie du Libournais*. XLVIII, 41–52.
- Leroi-Gourhan, A., 1961. Les fouilles d'Arcy-sur-Cure (Yonne). *Gallia préhistoire*. 4, 3–16.
- Leroi-Gourhan, A., 1964. Chronologie des grottes d'Arcy-sur-Cure (Yonne). *Gallia préhistoire*. 7, 1–64.

- Lev, E., Kislev, M.E., Bar-Yosef, O., 2005. Mousterian vegetal food in Kebara Cave, Mt. Carmel. *Journal of Archaeological Science*. 10.
- Libby, W.F., Anderson, E.C., Arnold, J.R., 1949. Age Determination by Radiocarbon Content: World-Wide Assay of Natural Radiocarbon. *Science*. 109, 227–228.
- Lisiecki, L.E., Raymo, M.E., 2005. A Pliocene-Pleistocene stack of 57 globally distributed benthic  $\delta^{18}\text{O}$  records. *Paleoceanography*. 20.
- Liu, W., Martín-Torres, M., Cai, Y., Xing, S., Tong, H., Pei, S., Sier, M.J., Wu, Xiao-hong, Edwards, R.L., Cheng, H., Li, Y., Yang, X., de Castro, J.M.B., Wu, Xiu-jie, 2015. The earliest unequivocally modern humans in southern China. *Nature*. 526, 696–699.
- Lombard, M., van Aardt, A.C., 2022. Taking Stock of Foodplants Growing in the Cradle of Humankind Fossil Hominin Site, South Africa. *African Archaeological Review*. 39, 59–77.
- Longerich, H.P., Fryer, B.J., Strong, D.F., 1987. Trace analysis of natural alloys by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS): application to archeological native silver artifacts. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 42, 101–109.
- López, J.M., González, G., Reyes, V., Campino, C., Díaz, S., 1996. Bone turnover and density in healthy women during breastfeeding and after weaning. *Osteoporosis International*. 6, 153–159.
- Lüdecke, T., Leichliter, J., Duprey, N., Stratford, D., Vonhof, H., Bamford, M., Haug, G., Martínez-García, A., 2020. First enamel nitrogen isotope data of early hominins: Trophic level reconstruction of *Australopithecus* in the Early Pleistocene (Sterkfontein Member 4, South Africa). Presented at the Society of Vertebrate Paleontology.
- Lupo, K.D., 1994. Butchering Marks and Carcass Acquisition Strategies: Distinguishing Hunting From Scavenging in Archaeological Contexts. *Journal of Archaeological Science*. 21, 827–837.
- Macchiarelli, R., Bondioli, L., Debénath, A., Mazurier, A., Tournepiche, J.-F., Birch, W., Dean, M.C., 2006. How Neanderthal molar teeth grew. *Nature*. 444, 748–751.
- Madelaine, S., Maureille, B., Cavanhié, N., Couture-Veschambre, C., Bonifay, E., Armand, D., Bonifay, M.-F., Duday, H., Fosse, P., Vandermeersch, B., 2008. Nouveaux restes humains moustériens rapportés au squelette néandertalien de Regourdou 1 (Regourdou, commune de Montignac, Dordogne, France). *PALEO. Revue d'archéologie préhistorique*. 20, 101–114.
- Mancinelli, S., Boitani, L., Ciucci, P., 2018. Determinants of home range size and space use patterns in a protected wolf (*Canis lupus*) population in central Apennines, Italy. *Canadian Journal of Zoology*. online.
- Maréchal, C.N., Télouk, P., Albarède, F., 1999. Precise analysis of copper and zinc isotopic compositions by plasma-source mass spectrometry. *Chemical Geology*. 156, 251–273.
- Marín, J., Saladié, P., Rodríguez-Hidalgo, A., Carbonell, E., 2017. Neanderthal hunting strategies inferred from mortality profiles within the Abric Romani sequence. *PLOS ONE*. 12, e0186970.
- Martin, Jeremy E., Tacail, T., Balter, V., Smith, A., 2017. Non-traditional isotope perspectives in vertebrate palaeobiology. *Palaeontology*. 60, 485–502.
- Martin, J.E., Tacail, T., Braga, J., Cerling, T.E., Balter, V., 2020. Calcium isotopic ecology of Turkana Basin hominins. *Nature Communications*. 11, 3587.
- Martin, J.E., Tacail, T., Cerling, T.E., Balter, V., 2018. Calcium isotopes in enamel of modern and Plio-Pleistocene East African mammals. *Earth and Planetary Science Letters*. 503, 227–235.
- Martin, J.E., Vance, D., Balter, V., 2014. Natural variation of magnesium isotopes in mammal bones and teeth from two South African trophic chains. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 130, 12–20.
- Martin, J.E., Vance, D., Balter, V., 2015. Magnesium stable isotope ecology using mammal tooth enamel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112, 430–435.
- Martin, J. E., Vincent, P., Tacail, T., Khaldoune, F., Jourani, E., Bardet, N., Balter, V., 2017. Calcium Isotopic Evidence for Vulnerable Marine Ecosystem Structure Prior to the K/Pg Extinction. *Current Biology*. 27, 1641–1644.
- Massare, J.A., 1987. Tooth morphology and prey preference of Mesozoic marine reptiles. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 7, 121–137.

- Maureille, B., 2002a. A lost Neanderthal neonate found. *Nature*. 419, 33–34.
- Maureille, B., 2002b. La redécouverte du nouveau-né néandertalien Le Moustier 2. *PALEO. Revue d'archéologie préhistorique*. 221–238.
- Maureille, B., 2005. The rediscovery of Le Moustier 2 Neanderthal specimen. In: *The Neanderthal Adolescent Le Moustier 1., Berliner Beiträge Zur Vor- Und Frühgeschichte Neue Folge. Staatliche Museen zu Berlin – Preußischer Kulturbesitz, Berlin*, pp. 63–72.
- Maureille, B., Bocherens, H., Costamagno, S., Dolores Garralda, M., Geigl, E.-M., Lahaye, C., Mann, A.E., Royer, A., 2013. les Pradelles. Rapport de programme d'analyses (2013).
- Maureille, B., Frouin, M., Garralda, M.D., Lahaye, C., Le Vraux, E., Mann, A.E., 2014. Les Pradelles, rapport de programme d'analyses. p. 165.
- Maureille, B., Holliday, T., Royer, A., Pelletier, M., Couture-Veschambre, C., Discamps, E., Gómez-Olivencia, A., Lahaye, C., Le Gueut, E., Lacrampe-Cuyaubère, F., others, 2015. New data on the possible Neanderthal burial at Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne, France). In: *XXXVIème Rencontres Internationales d'Archéologie et d'Histoire d'Antibes. Editions APDCA*, pp. 175–191.
- Maureille, B., Madelaine, S., Turq, A., Cavanhié, N., Couture-Veschambre, C., Bruzek, J., Meyer, V., 2010a. Regourdou 1 (site de Regourdou, Montignac, Dordogne): nouvelles données, nouvelles questions sur une sépulture néandertalienne.
- Maureille, B., Majoufre-Lefebvre, C., 2003. The Neanderthal perinate from Le Moustier: an exceptional specimen. *The Italian Journal of Pediatrics*. 29, 161–164.
- Maureille, B., Mann, A., Beauval, C., Bordes, J.-G., Bourguignon, L., Costamagno, S., Couchoud, I., Garralda, M.D., Geigl, E.-M., Fauquignon, J., others, 2010b. Les Pradelles à Marillac-le-Franc (Charente). Fouilles 2001-2007: nouveaux résultats et synthèse. *Préhistoire entre Vienne et Charente. Hommes et sociétés du Paléolithique*.
- Maureille, B., Mann, A., Beauval, C., Bordes, J.-G., Bourguignon, L., Costamagno, S., Couchoud, I., Lacrampe-Cuyaubère, F., Laroulandie, V., Marquet, J.-C., others, 2007. Le gisement moustérien des Pradelles (Marillac-le-Franc, Charente): passé, présent, futur.
- McGrew, W.C., Baldwin, P.J., Tutin, C.E.G., 1988. Diet of wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*) at Mt. Assirik, Senegal: I. Composition. *American Journal of Primatology*. 16, 213–226.
- McHenry, H.M., 1994. Behavioral ecological implications of early hominid body size. *Journal of Human Evolution*. 27, 77–87.
- Medeiros, D.M., 2016. Copper, iron, and selenium dietary deficiencies negatively impact skeletal integrity: A review. *Experimental Biology and Medicine*. 241, 1316–1322.
- Meignen, L., 2007. Néandertaliens et Hommes modernes au Proche-Orient : connaissances techniques, stratégies de subsistance et mobilité. In: *Les Néandertaliens. Biologie et Culture. Paris*, pp. 231–261.
- Melin, A.D., Crowley, B.E., Brown, S.T., Wheatley, P.V., Moritz, G.L., Yit Yu, F.T., Bernard, H., DePaolo, D.J., Jacobson, A.D., Dominy, N.J., 2014. Calcium and carbon stable isotope ratios as paleodietary indicators. *American Journal of Physical Anthropology*. 154, 633–643.
- Mellars, P., Grün, R., 1991. A comparison of the electron spin resonance and thermoluminescence dating methods: the results of ESR dating at Le Moustier (France). *Cambridge Archaeological Journal*. 1, 269–276.
- Mellars, P.A., 1996. *The Neanderthal Legacy: An Archaeological Perspective from Western Europe*. Princeton University Press, Princeton.
- Menier, D., Balleve, M., 2005. Quand Groix n'était pas encore une île. *Histoire naturelle de l'île de Groix*. 22.
- Meyer, M., Arsuaga, J.-L., de Filippo, C., Nagel, S., Aximu-Petri, A., Nickel, B., Martínez, I., Gracia, A., de Castro, J.M.B., Carbonell, E., Viola, B., Kelso, J., Prüfer, K., Pääbo, S., 2016. Nuclear DNA sequences from the Middle Pleistocene Sima de los Huesos hominins. *Nature*. 531, 504–507.
- Montgomery, J., Evans, J.A., Wildman, G., 2006. <sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr isotope composition of bottled British mineral waters for environmental and forensic purposes. *Applied Geochemistry*. 21, 1626–1634.
- Moore, J., Jacobson, A.D., Holmden, C., Craw, D., 2013. Tracking the relationship between mountain uplift, silicate weathering, and long-term CO<sub>2</sub> consumption with Ca isotopes: Southern Alps, New Zealand.



- Chemical Geology. 341, 110–127.
- Morin, E., 2020. Rethinking the emergence of bone grease procurement. *Journal of Anthropological Archaeology*. 59, 101178.
- Morin, E., Meier, J., El Guennouni, K., Moigne, A.-M., Lebreton, L., Rusch, L., Valensi, P., Conolly, J., Cochard, D., 2019. New evidence of broader diets for archaic *Homo* populations in the northwestern Mediterranean. *Science Advances*. 5, eaav9106.
- Movius, H.L., 1950. A Wooden Spear of Third Interglacial Age from Lower Saxony. *Southwestern Journal of Anthropology*. 6, 139–142.
- Mussini, C., 2011. Les restes humains moustériens des Pradelles (Marillac-le-Franc, Charente, France): étude morphométrique et réflexions sur un aspect comportemental des Néandertaliens (PhD Thesis). Bordeaux 1.
- Naito, Y.I., Chikaraishi, Y., Drucker, D.G., Ohkouchi, N., Semal, P., Wißing, C., Bocherens, H., 2016. Ecological niche of Neanderthals from Spy Cave revealed by nitrogen isotopes of individual amino acids in collagen. *Journal of Human Evolution*. 93, 82–90.
- Nehlich, O., 2015. The application of sulphur isotope analyses in archaeological research: A review. *Earth-Science Reviews*. 142, 1–17.
- Ocobock, C., 2020. Human Energy Expenditure in Anthropology and Beyond. *American Anthropologist*. 122, 236–249.
- Opsahl Vital, S., Gaucher, C., Bardet, C., Rowe, P.S., George, A., Linglart, A., Chaussain, C., 2012. Tooth dentin defects reflect genetic disorders affecting bone mineralization. *Bone*. 50, 989–997.
- Pacher, M., Stuart, A.J., 2009. Extinction chronology and palaeobiology of the cave bear (*Ursus spelaeus*). *Boreas*. 38, 189–206.
- Page, A.E., French, J.C., 2020. Reconstructing prehistoric demography: What role for extant hunter-gatherers? *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews*. 29, 332–345.
- Page, B.D., Bullen, T.D., Mitchell, M.J., 2008. Influences of calcium availability and tree species on Ca isotope fractionation in soil and vegetation. *Biogeochemistry*. 88, 1–13.
- Pelletier, M., Royer, A., Holliday, T.W., Discamps, E., Madelaine, S., Maureille, B., 2017. Rabbits in the grave! Consequences of bioturbation on the Neandertal “burial” at Regourdou (Montignac-sur-Vézère, Dordogne). *Journal of Human Evolution*. 110, 1–17.
- Perezperez, A., 2003. Non-occlusal dental microwear variability in a sample of Middle and Late Pleistocene human populations from Europe and the Near East. *Journal of Human Evolution*. 44, 497–513.
- Peyrony, D., 1921. Les Moustériens inhumèrent-ils leurs morts? *Bulletin de la Société historique et archéologique du Périgord*. 132–139.
- Peyrony, D., 1930. Le Moustier ses gisements, ses industries, ses couches géologiques. Verlag nicht ermittelbar.
- Piveteau, Jean, 1959. Les restes humains de la grotte de Regourdou (Dordogne). *Comptes Rendus des Séances de l'Académie des Sciences*. 248, 40.
- Planquart, P., Bonin, G., Prone, A., Massiani, C., 1999. Distribution, movement and plant availability of trace metals in soils amended with sewage sludge composts: application to low metal loadings. *Science of The Total Environment*. 241, 161–179.
- Pothier Bouchard, G., 2016. Grotte du Bison : deux chasseurs pour un gibier. Analyse archéozoologique de la couche I-J sur le site moustérien de la Grotte du Bison, Arcy-sur-Cure (Yonne, France). Université de Montréal.
- Price, T.D., 2014. An Introduction to the Isotopic Studies of Ancient Human Remains. *Journal of the North Atlantic*. 71–87.
- Privat, K.L., O'Connell, T.C., Hedges, R.E.M., 2007. The distinction between freshwater- and terrestrial-based diets: methodological concerns and archaeological applications of sulphur stable isotope analysis. *Journal of Archaeological Science*. 34, 1197–1204.
- Pushkina, D., Bocherens, H., Ziegler, R., 2014. Unexpected palaeoecological features of the Middle and Late Pleistocene large herbivores in southwestern Germany revealed by stable isotopic abundances in tooth

- enamel. *Quaternary International*. 339–340, 164–178.
- Ragout, A., Balout, L., 1942. Enquête sur le gisement moustérien de Marillac (Charente). *Bulletin de la Société préhistorique de France*. 39, 105–113.
- Rand, A.J., Nehlich, O., 2018. Diet and Sulfur Isotopes. In: López Varela, S.L. (Ed.), *The Encyclopedia of Archaeological Sciences*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, pp. 1–4.
- Rendu, W., 2022. Selection versus opportunism: A view from Neanderthal subsistence strategies. In: *Updating Neanderthals*. Elsevier, pp. 109–122.
- Reynard, B., Balter, V., 2014. Trace elements and their isotopes in bones and teeth: Diet, environments, diagenesis, and dating of archeological and paleontological samples. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 416, 4–16.
- Reynard, L.M., Henderson, G.M., Hedges, R.E.M., 2010. Calcium isotope ratios in animal and human bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 74, 3735–3750.
- Reynard, L.M., Pearson, J.A., Henderson, G.M., Hedges, R.E.M., 2013. Calcium isotopes in juvenile milk-consumers. *Archaeometry*. 55, 946–957.
- Richards, M.P., Pacher, M., Stiller, M., Quilès, J., Hofreiter, M., Constantin, S., Zilhão, J., Trinkaus, E., 2008. Isotopic evidence for omnivory among European cave bears: Late Pleistocene *Ursus spelaeus* from the Peștera cu Oase, Romania. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105, 600–604.
- Richards, M.P., Trinkaus, E., 2009. Isotopic evidence for the diets of European Neanderthals and early modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106, 16034–16039.
- Rigg, R., 2005. A review of studies on brown bear (*Ursus arctos*) ecology in relation to home range, habitat selection, activity patterns, social organisation, life histories and population dynamics. *Oecologia Montana*. 14, 47–59.
- Rios-Garaizar, J., López-Bultó, O., Iriarte, E., Pérez-Garrido, C., Piqué, R., Aranburu, A., Iriarte-Chiapusso, M.J., Ortega-Cordellat, I., Bourguignon, L., Garate, D., Libano, I., 2018. A Middle Palaeolithic wooden digging stick from Aranbaltza III, Spain. *PLOS ONE*. 13, e0195044.
- Rivals, F., Álvarez-Lao, D.J., 2018. Ungulate dietary traits and plasticity in zones of ecological transition inferred from late Pleistocene assemblages at Jou Puerta and Rexidora in the Cantabrian Region of northern Spain. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 499, 123–130.
- Rivals, F., Bocherens, H., Camarós, E., Rosell, J., 2022. Diet and ecological interactions in the Middle and Late Pleistocene. In: *Updating Neanderthals*. Elsevier, pp. 39–54.
- Rivals, F., Lister, A.M., 2016. Dietary flexibility and niche partitioning of large herbivores through the Pleistocene of Britain. *Quaternary Science Reviews*. 146, 116–133.
- Roblin-Jouve, A., Miskowsky, J.-C., Hardy, M., Girard, M., David, F., 2018. Étude stratigraphique, lithologique et sédimentologique de la Grotte du Bison à Arcy-sur-Cure (Yonne). *L'Anthropologie*. 122, 589–609.
- Robu, M., Fortin, J.K., Richards, M.P., Schwartz, C.C., Wynn, J.G., Robbins, C.T., Trinkaus, E., 2013. Isotopic evidence for dietary flexibility among European Late Pleistocene cave bears (*Ursus spelaeus*). *Canadian Journal of Zoology*. 91, 227–234.
- Romandini, M., Terlato, G., Nannini, N., Tagliacozzo, A., Benazzi, S., Peresani, M., 2018. Bears and humans, a Neanderthal tale. Reconstructing uncommon behaviors from zooarchaeological evidence in southern Europe. *Journal of Archaeological Science*. 90, 71–91.
- Romaniello, S.J., Field, M.P., Smith, H.B., Gordon, G.W., Kim, M.H., Anbar, A.D., 2015. Fully automated chromatographic purification of Sr and Ca for isotopic analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 30, 1906–1912.
- Romano, M., 2015. Reviewing the term uniformitarianism in modern Earth sciences. *Earth-Science Reviews*. 148, 65–76.
- Rosalino, L.M., Santos-Reis, M., 2009. Fruit consumption by carnivores in Mediterranean Europe. *Mammal Review*. 39, 67–78.
- Rosas, A., Bastir, M., Alarcón, J.A., 2019. Tempo and mode in the Neanderthal evolutionary lineage: A structuralist approach to mandible variation. *Quaternary Science Reviews*. 217, 62–75.

- Saarinen, J., Eronen, J., Fortelius, M., Seppä, H., Lister, A., 2016. Patterns of diet and body mass of large ungulates from the Pleistocene of Western Europe, and their relation to vegetation. *Palaeontologia Electronica*.
- Sahly, A., 1958. La mandibule néandertalienne de Regourdou (Dordogne). *Annales publiées par la faculté des lettres de toulouse*. 63–67.
- Sahnouni, M., Rosell, J., van der Made, J., Vergès, J.M., Ollé, A., Kandi, N., Harichane, Z., Derradji, A., Medig, M., 2013. The first evidence of cut marks and usewear traces from the Plio-Pleistocene locality of El-Kherba (Ain Hanech), Algeria: implications for early hominin subsistence activities circa 1.8 Ma. *Journal of Human Evolution*. 64, 137–150.
- Salazar-García, D.C., Power, R.C., Rudaya, N., Kolobova, K., Markin, S., Krivoschapkin, A., Henry, A.G., Richards, M.P., Viola, B., 2021. Dietary evidence from Central Asian Neanderthals: A combined isotope and plant microremains approach at Chagyrskaya Cave (Altai, Russia). *Journal of Human Evolution*. 156, 102985.
- Sánchez Goñi, M.F., Landais, A., Fletcher, W.J., Naughton, F., Desprat, S., Duprat, J., 2008. Contrasting impacts of Dansgaard–Oeschger events over a western European latitudinal transect modulated by orbital parameters. *Quaternary Science Reviews*. 27, 1136–1151.
- Schiller, M., Paton, C., Bizzarro, M., 2012. Calcium isotope measurement by combined HR-MC-ICPMS and TIMS. *J. Anal. At. Spectrom.* 27, 38–49.
- Schmitt, A.-D., 2016. Earth-Surface Ca Isotopic Fractionations. In: *Calcium Stable Isotope Geochemistry, Advances in Isotope Geochemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 145–172.
- Schmitt, A.-D., Borrelli, N., Ertlen, D., Gangloff, S., Chabaux, F., Osterrieth, M., 2018. Stable calcium isotope speciation and calcium oxalate production within beech tree (*Fagus sylvatica* L.) organs. *Biogeochemistry*. 137, 197–217.
- Schmitt, A.-D., Chabaux, F., Stille, P., 2003. The calcium riverine and hydrothermal isotopic fluxes and the oceanic calcium mass balance. *Earth and Planetary Science Letters*. 213, 503–518.
- Schoeninger, M.J., DeNiro, M.J., Tauber, H., 1983. Stable Nitrogen Isotope Ratios of Bone Collagen Reflect Marine and Terrestrial Components of Prehistoric Human Diet. *Science*. 220, 1381–1383.
- Schoeninger, M.J., Moore, K.M., Murray, M.L., Kingston, J.D., 1989. Detection of bone preservation in archaeological and fossil samples. *Applied Geochemistry*. 4, 281–292.
- Schwartz-Narbonne, R., Longstaffe, F.J., Metcalfe, J.Z., Zazula, G., 2015. Solving the woolly mammoth conundrum: amino acid  $^{15}\text{N}$ -enrichment suggests a distinct forage or habitat. *Scientific Reports*. 5.
- Scott, R.S., Ungar, P.S., Bergstrom, T.S., Brown, C.A., Childs, B.E., Teaford, M.F., Walker, A., 2006. Dental microwear texture analysis: technical considerations. *Journal of Human Evolution*. 51, 339–349.
- Séon, N., Amiot, R., Suan, G., Lécuyer, C., Fourel, F., Demaret, F., Vinçon-Laugier, A., Charbonnier, S., Vincent, P., 2022. Intra-skeletal variability in phosphate oxygen isotope composition reveals regional heterothermies in marine vertebrates. *Biogeosciences*. 19, 2671–2681.
- Shahtaheri, S.M., Aaron, J.E., Johnson, D.R., Purdie, D.W., 1999. Changes in trabecular bone architecture in women during pregnancy. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 106, 432–438.
- Shapiro, R., Heaney, R.P., 2003. Co-dependence of calcium and phosphorus for growth and bone development under conditions of varying deficiency. *Bone*. 32, 532–540.
- Singels, E., 2013. Underground storage organs of plants as a food source for Pleistocene hunter-gatherers in the Southern Cape. Stellenbosch University.
- Singh, R.P., Agrawal, M., 2010. Variations in heavy metal accumulation, growth and yield of rice plants grown at different sewage sludge amendment rates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73, 632–641.
- Sirakov, N., Guadelli, J.-L., Ivanova, S., Sirakova, S., Boudadi-Maligne, M., Dimitrova, I., Ph, F., Ferrier, C., Guadelli, A., Iordanova, D., Iordanova, N., Kovatcheva, M., Krumov, I., Leblanc, J.-Cl., Miteva, V., Popov, V., Spassov, R., Taneva, S., Tsanova, T., 2010. An ancient continuous human presence in the Balkans and the beginnings of human settlement in western Eurasia: A Lower Pleistocene example of the Lower Palaeolithic levels in Kozarnika cave (North-western Bulgaria). *Quaternary International*. 223–224, 94–106.

- Skulan, J., DePaolo, D.J., 1999. Calcium isotope fractionation between soft and mineralized tissues as a monitor of calcium use in vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96, 13709–13713.
- Skulan, J., DePaolo, D.J., Owens, T.L., 1997. Biological control of calcium isotopic abundances in the global calcium cycle. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 61, 2505–2510.
- Slimak, L., Zanolli, C., Higham, T., Frouin, M., Schwenninger, J.-L., Arnold, L.J., Demuro, M., Douka, K., Mercier, N., Guérin, G., Valladas, H., Yvorra, P., Giraud, Y., Seguin-Orlando, A., Orlando, L., Lewis, J.E., Muth, X., Camus, H., Vandevelde, S., Buckley, M., Mallol, C., Stringer, C., Metz, L., 2022. Modern human incursion into Neanderthal territories 54,000 years ago at Mandrin, France. *Science Advances*. 8, eabj9496.
- Smith, T.M., Tafforeau, P., Reid, D.J., Pouech, J., Lazzari, V., Zermeno, J.P., Guatelli-Steinberg, D., Olejniczak, A.J., Hoffman, A., Radović, J., Makaremi, M., Toussaint, M., Stringer, C., Hublin, J.-J., 2010. Dental evidence for ontogenetic differences between modern humans and Neanderthals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107, 20923–20928.
- Snodgrass, J., Leonard, W., 2009. Neandertal Energetics Revisited: Insights into Population Dynamics and Life History Evolution. *PaleoAnthropology*. 220–237.
- Speth, J.D., 2010. Big-Game Hunting: Protein, Fat, or Politics? In: *The Paleoanthropology and Archaeology of Big-Game Hunting, Interdisciplinary Contributions to Archaeology*. Springer New York, New York, NY, pp. 149–161.
- Speth, J.D., Spielmann, K.A., 1983. Energy source, protein metabolism, and hunter-gatherer subsistence strategies. *Journal of Anthropological Archaeology*. 2, 1–31.
- Stanek, A.E., Wolf, N., Hilderbrand, G.V., Mangipane, B., Causey, D., Welker, J.M., 2017. Seasonal foraging strategies of Alaskan gray wolves (*Canis lupus*) in an ecosystem subsidized by Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.). *Canadian Journal of Zoology*. 95, 555–563.
- Steggmann, A.T., Cerny, F.J., Holliday, T.W., 2002. Neandertal cold adaptation: Physiological and energetic factors. *American Journal of Human Biology*. 14, 566–583.
- Stefaniak, K., Stachowicz-Rybka, R., Borówka, R.K., Hrynowiecka, A., Sobczyk, A., Moskal-del Hoyo, M., Kotowski, A., Nowakowski, D., Krajcarz, M.T., Billia, E.M.E., Persico, D., Burkanova, E.M., Leshchinskiy, S.V., van Asperen, E., Ratajczak, U., Shpansky, A.V., Lempart, M., Wach, B., Niska, M., van der Made, J., Stachowicz, K., Lenarczyk, J., Piątek, J., Kovalchuk, O., 2021. Browsers, grazers or mix-feeders? Study of the diet of extinct Pleistocene Eurasian forest rhinoceros *Stephanorhinus kirchbergensis* (Jäger, 1839) and woolly rhinoceros *Coelodonta antiquitatis* (Blumenbach, 1799). *Quaternary International*. 605–606, 192–212.
- Stremme, H., 1985. Altersbestimmung und Paläoböden in der Quartärstratigraphie [Détermination de l'âge et paléosols dans la stratigraphie quaternaire.]. *Quaternaire*. 22, 159–166.
- Tacail, T., 2017. *Physiologie isotopique du calcium chez les mammifères (Thèse)*. Université de Lyon, Lyon.
- Tacail, T., Albalat, E., Télouk, P., Balter, V., 2014. A simplified protocol for measurement of Ca isotopes in biological samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 29, 529.
- Tacail, T., Le Houedec, S., Skulan, J.L., 2020. New frontiers in calcium stable isotope geochemistry: Perspectives in present and past vertebrate biology. *Chemical Geology*. 537, 119471.
- Tacail, T., Martin, J.E., Arnaud-Godet, F., Thackeray, J.F., Cerling, T.E., Braga, J., Balter, V., 2019. Calcium isotopic patterns in enamel reflect different nursing behaviors among South African early hominins. *Science Advances*. 5, eaax3250.
- Tacail, T., Martin, J.E., Herrscher, E., Albalat, E., Verna, C., Ramirez-Rozzi, F., Clark, G., Valentin, F., Balter, V., 2021. Quantifying the evolution of animal dairy intake in humans using calcium isotopes. *Quaternary Science Reviews*. 256, 106843.
- Tacail, T., Télouk, P., Balter, V., 2016. Precise analysis of calcium stable isotope variations in biological apatites using laser ablation MC-ICPMS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 31, 152–162.
- Tacail, T., Thivichon-Prince, B., Martin, J.E., Charles, C., Viriot, L., Balter, V., 2017. Assessing human weaning practices with calcium isotopes in tooth enamel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114, 6268–6273.
- Tanner, S.D., Baranov, V.I., Bandura, D.R., 2002. Reaction cells and collision cells for ICP-MS: a tutorial

- review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 57, 1361–1452.
- Thiemann, G.W., Iverson, S.J., Stirling, I., 2008. Polar Bear Diets and Arctic Marine Food Webs: Insights from Fatty Acid Analysis. *Ecological Monographs*. 78, 591–613.
- Thieme, H., 1997. Lower Palaeolithic hunting spears from Germany. *Nature*. 385, 807–810.
- Tillier, A., Sansilbano-Collilieux, M., David, F., Enloe, J.G., Girard, M., Hardy, M., D'iatchenko, V., Roblin-Jouve, A., Tolmie, C., 2013. Les vestiges néanderthaliens provenant des niveaux moustériens I et J de la Grotte du Bison à Arcy-sur-Cure (Yonne) : bilan actuel. *Bulletins et mémoires de la Société d'anthropologie de Paris*. 25, 39–54.
- Timmermann, A., 2020. Quantifying the potential causes of Neanderthal extinction: Abrupt climate change versus competition and interbreeding. *Quaternary Science Reviews*. 238, 106331.
- Tipper, E.T., Gaillardet, J., Galy, A., Louvat, P., Bickle, M.J., Capmas, F., 2010. Calcium isotope ratios in the world's largest rivers: A constraint on the maximum imbalance of oceanic calcium fluxes: riverine Ca isotopes. *Global Biogeochemical Cycles*. 24.
- Tiunov, A.V., Kirillova, I.V., 2010. Stable isotope ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) composition of the woolly rhinoceros *Coelodonta antiquitatis* horn suggests seasonal changes in the diet. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 24, 3146–3150.
- Trueman, C.N., 2013. Chemical taphonomy of biomineralized tissues. *Palaeontology*. 56, 475–486.
- Trueman, C.N., Tuross, N., 2002. Trace Elements in Recent and Fossil Bone Apatite. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 48, 489–521.
- Tsutaya, T., Yoneda, M., 2013. WARN: an R package for quantitative reconstruction of weaning ages in archaeological populations using bone collagen nitrogen isotope ratios. 19.
- Ungar, P.S., Grine, F.E., Teaford, M.F., 2006. Diet in Early *Homo* : A Review of the Evidence and a New Model of Adaptive Versatility. *Annual Review of Anthropology*. 35, 209–228.
- Vaesen, K., Scherjon, F., Hemerik, L., Verpoorte, A., 2019. Inbreeding, Allee effects and stochasticity might be sufficient to account for Neanderthal extinction. *PLOS ONE*. 14, e0225117.
- Valladas, H., Geneste, J., Joron, J., Chadelle, J., 1986. Thermoluminescence dating of Le Moustier (Dordogne, France). *Nature*. 322, 452–454.
- Vallois, H.V., 1967. La réapparition du crâne de Moustier. *L'Anthropologie (Paris)*. 71, 191.
- van der Merwe, N.J., Thackeray, J.F., Lee-Thorp, J.A., Luyt, J., 2003. The carbon isotope ecology and diet of *Australopithecus africanus* at Sterkfontein, South Africa. *Journal of Human Evolution*. 44, 581–597.
- van Geel, B., Guthrie, R.D., Altmann, J.G., Broekens, P., Bull, I.D., Gill, F.L., Jansen, B., Nieman, A.M., Gravendeel, B., 2011. Mycological evidence of coprophagy from the feces of an Alaskan Late Glacial mammoth. *Quaternary Science Reviews*. 30, 2289–2303.
- Vandermeersch, B., 1980. Poitou-Charentes. *Gallia préhistoire*, tome 23, fascicule 2, 1980.
- Vandermeersch, B., 2008. Origine et diffusion des premières sépultures. In: *Première Humanité, Gestes Funéraires Des Néandertaliens*. Paris, pp. 59–65.
- Veis, A., 2009. Mineral-matrix interactions in bone and dentin. *Journal of Bone and Mineral Research*. 8, S493–S497.
- Vettese, D., Borel, A., Blasco, R., Chevillard, L., Stavrova, T., Thun Hohenstein, U., Arzarello, M., Moncel, M.-H., Daujeard, C., 2022. New evidence of Neanderthal butchery traditions through the marrow extraction in southwestern Europe (MIS 5–3). *PLOS ONE*. 17, e0271816.
- Vilella, M., Ferrandiz-Rovira, M., Sayol, F., 2020. Coexistence of predators in time: Effects of season and prey availability on species activity within a Mediterranean carnivore guild. *Ecology and Evolution*. 10, 11408–11422.
- Villanea, F.A., Schraiber, J.G., 2019. Multiple episodes of interbreeding between Neanderthal and modern humans. *Nature Ecology & Evolution*. 3, 39–44.
- Wang, Y., Cerling, T.E., 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 107, 281–289.

- Wathen, C.A., Isaksson, S., Lidén, K., 2022. On the road again—a review of pretreatment methods for the decontamination of skeletal materials for strontium isotopic and concentration analysis. *Archaeological and Anthropological Sciences*. 14, 45.
- Weaver, T.D., Coqueugnot, H., Golovanova, L.V., Doronichev, V.B., Maureille, B., Hublin, J.-J., 2016. Neonatal postcrania from Mezmaiskaya, Russia, and Le Moustier, France, and the development of Neandertal body form. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113, 6472–6477.
- Westaway, K.E., Louys, J., Awe, R.D., Morwood, M.J., Price, G.J., Zhao, J. -x., Aubert, M., Joannes-Boyau, R., Smith, T.M., Skinner, M.M., Compton, T., Bailey, R.M., van den Bergh, G.D., de Vos, J., Pike, A.W.G., Stringer, C., Saptomo, E.W., Rizal, Y., Zaim, J., Santoso, W.D., Trihascaryo, A., Kinsley, L., Sulistyanto, B., 2017. An early modern human presence in Sumatra 73,000–63,000 years ago. *Nature*. 548, 322–325.
- White, T.D., Folkens, P.A., 2005. *The Human Bone Manual*. Elsevier.
- Wich, S.A., Utami-Atmoko, S.S., Mitra Setia, T., Djoyosudharmo, S., Geurts, M.L., 2006. Dietary and Energetic Responses of *Pongo abelii* to Fruit Availability Fluctuations. *International Journal of Primatology*. 27, 1535–1550.
- Willmes, M., Bataille, C.P., James, H.F., Moffat, I., McMorrow, L., Kinsley, L., Armstrong, R.A., Eggins, S., Grün, R., 2018. Mapping of bioavailable strontium isotope ratios in France for archaeological provenance studies. *Applied Geochemistry*. 90, 75–86.
- Wißing, C., Rougier, H., Baumann, C., Comeyne, A., Crevecoeur, I., Drucker, D.G., Gaudzinski-Windheuser, S., Germonpré, M., Gómez-Olivencia, A., Krause, J., Matthies, T., Naito, Y.I., Posth, C., Semal, P., Street, M., Bocherens, H., 2019. Stable isotopes reveal patterns of diet and mobility in the last Neandertals and first modern humans in Europe. *Scientific Reports*. 9, 4433.
- Wright, L.E., 2005. Identifying immigrants to Tikal, Guatemala: Defining local variability in strontium isotope ratios of human tooth enamel. *Journal of Archaeological Science*. 32, 555–566.
- Yeakel, J.D., Dominy, N.J., Koch, P.L., Mangel, M., 2014. Fontional morphology, stable isotopes, and human evolution :a model of consilience. *Evolution*. 68, 190–203.







## Résumé

Les outils isotopiques sont couramment utilisés en anthropologie depuis plus de quarante ans car ils apportent des informations complémentaires aux études ostéologiques et archéozoologiques. Le travail entrepris au cours de cette thèse vise à étudier le potentiel que représentent les isotopes du calcium pour la reconstruction paléo-écologique. En effet, la composition isotopique en calcium des mammifères est en majeure partie définie par les apports en calcium de l'alimentation, en particulier les produits laitiers. En se plaçant dans un contexte où le seul produit laitier consommé est le lait maternel, l'impact des autres sources alimentaires sur la composition isotopique en calcium est plus facilement identifiable, les isotopes du calcium deviennent ainsi un indicateur efficace du niveau trophique.

Nous présentons dans cette thèse les résultats de l'analyse isotopique du calcium osseux conduite sur dix individus néandertaliens et de la faune de huit sites du Paléolithique moyen. Il est démontré que le choix de l'os comme support de l'analyse isotopique est justifié dans la mesure où celui-ci fait montre d'une résistance suffisante au processus diagenétiques de premier ordre. Les mécanismes du fractionnement isotopique au sein d'un réseau trophique complet sont discutés sur la base d'observations chez les végétaux et les animaux actuels.

L'analyse de la composition isotopique d'ossements néandertaliens provenant de toute la France a permis de mettre en évidence une grande diversité des compositions isotopiques en calcium. Cette diversité est expliquée par une variabilité dans le spectre des proies et par une variabilité de la fraction végétale au sein de l'alimentation. Nos résultats montrent une pluralité des régimes alimentaires chez l'Homme de Néandertal même au sein de groupes géographiquement proches.

## Abstract

Isotopic tools have been used in anthropology for over forty years as they provide complementary information to osteological and archeozoological studies. The work undertaken as part of this doctoral thesis aims at studying the potential of calcium isotopes to rebuild paleo-ecology. Indeed, the calcium isotopic composition of mammals is largely defined by the calcium intake of the diet, in particularly dairy products. In a context where the only dairy product consumed is breast milk, the impact of the other food sources on calcium isotopic composition is more easily identifiable and thus calcium isotopes become an effective indicator of trophic level position.

In this thesis, we present the results of the isotopic analysis conducted on bones of the remains of ten Neandertal and the fauna from eight archaeological sites related to the middle Paleolithic. The choice of bone as a support for the isotopic analysis is justified as it shows sufficient resistance to the first steps of diagenetic processes. Based on the observation of present-day plants and animals, the mechanisms of isotope fractionation within a complete food web are discussed.

The comparison between Neandertal from all over France and the faunal assemblage reveal a great diversity of calcium isotopic compositions. This diversity is explained by a variability in the prey spectrum and a variability in the plant fraction within the diet. Our results show a plurality of diets among Neandertals even within geographically close groups.