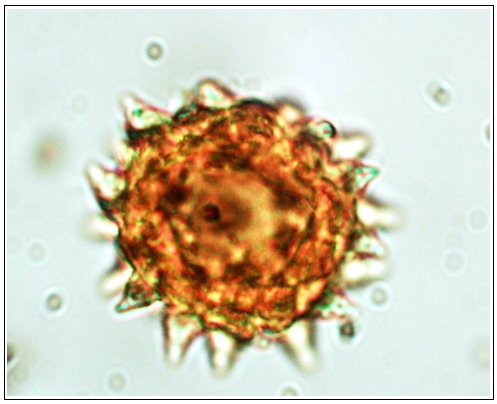
ArkéoMap

Analyses scientifiques des découvertes archéologiques : Tests palynologiques



Tests palynologiques réalisés sur quatre prélèvements de l'opération archéologique de la commune d'Onnaing (59). Opération 158551.

Prélèvements issus des structures F 440, F123, F566 et F219.

Société Archéopole

Rapport sur les tests palynologiques

Octobre 2018

Société Archéopole

9 ZA des Wattines, Chemin d'Halluin,
59126 Linselles

Opération archéologique de la commune d'Onnaing (59), opération 158551

Prélèvements provenant des structures :

F 440 (US 4402), F123 (US 1232), F566 (US 5664) et F219 (US 2191)

Rapport de tests palynologiques

Loïc GAUDIN

membre associé à l'UMR 6566 CReAAH et chargé de cours à l'Université de Rennes 1

E-mail : loic.gaudin@arkeomap.com

Site web : arkeomap.com

Octobre 2018

Illustration de la page de couverture : Pollen d'Asteracée observé dans le prélèvement F566. Grossissement x1000.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....4
1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS.....5
2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS.....6
2.1 Le protocole d'extraction utilisé.....6
2.2 Les comptages et déterminations.....7
3. RESULTATS DES TESTS.....9
4. PRECONISATIONS.....12
5. BIBLIOGRAPHIE.....13
6. ANNEXE.....14
6.1 Détail du protocole d'extraction utilisé :.....14
6.2 Description des échantillons et des traitements.....17

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats des tests palynologiques de quatre prélèvements réalisés lors de la fouille du site d'Onnaing (27), (opération 158551). Ce rapport vise à estimer le contenu palynologique des prélèvements dans l'optique de faire des analyses plus approfondies.

Le site a été fouillé par la société Archéopole sous la direction de Madame Hélène Assémat. L'étude a été commandée par la société avec l'accord de son directeur Monsieur Laurent Gubellini.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Les prélèvements proviennent de structures attribuées au Haut Moyen Age (puits, fossé, surfaces de travail).

L'objectif de cette étude vise à estimer le potentiel palynologique des prélèvements en vue d'une description paléoenvironnementale.

Code opération	**Numéro de prélèvement**	**Masses traitées (g)**
Onnaing (59) - 158551	F.219 – US 2191	196
Onnaing (59) - 158551	F. 566 – US 5664 - SU 44	170
Onnaing (59) - 158551	F. 440 – US 4402 – Oi 07	190
Onnaing (59) - 158551	F. 123 – US 1232	186

Fig.1 – Listes des lots étudiés.

2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS

2.1 Le protocole d'extraction utilisé

L'extraction pollinique a été réalisée au sein du laboratoire de l'UMR CNRS 5805 EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux) à l'université de Bordeaux.

Le protocole utilisé est détaillé en annexe (chapitre 6.1).

2.2 Les comptages et déterminations

Les pollens ont été observés au sein du laboratoire ARKEOMAP. L'observation du culot a été réalisée sous microscope optique à immersion au grossissement x1000 (microscope OLYMPUX CX40).

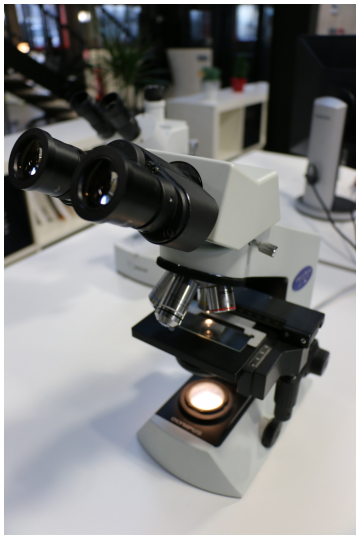


Figure 1. Microscope d'observation (x1000).

Les outils utilisés pour les déterminations sont de plusieurs sortes :

– des lames de référence du Laboratoire de l'UMR 6566 « CReAAH », de pollens actuels portant principalement sur la flore hygrophile des marais,

– des clichés photographiques pris au microscope optique et électronique,

– de l'atlas photographique « pollens et spores d'Europe et d'Afrique du Nord » (Reille, 1992).

Le nombre de grains de pollens et de spores comptés par échantillon peut être variable en fonction des conditions de conservation et de la nature des sédiments. L'objectif de cette pré-étude étant avant tout d'estimer le potentiel palynologique, nous n'avons pas cherché à atteindre le nombre de 300 pollens préconisé par M. Reille (1990).

Nous nous sommes néanmoins attachés à quelques règles et indices pour estimer le contenu palynologique :

– le balayage d'une vingtaine « d'allers-retours » de la lamelle,

– un minimum d'une à deux heures a été consacré au balayage de chaque lamelle.

Nous avons aussi calculé des fréquences polliniques absolues afin d'estimer le nombre de grains par volume (mL) de sédiment. Nous nous sommes basés pour cela sur une méthode préconisant l'introduction de pastilles de Lycopodes au nombre connu dans les préparations (Stokmarr, 1972).

Remarque par rapport à la détection des microfossiles non-polliniques (MNP) :

Le parcours des lames polliniques permet souvent d'observer des microfossiles non-polliniques. Ils peuvent être d'origines diverses : spores algales, ascospores fongiques, fructifications, restes de métazoaires, œufs ou kystes de parasites, ...

Il n'est pas toujours possible de déterminer ces microfossiles. Néanmoins, nous nous sommes basés sur les inventaires de Van Geel *et al.* (2006) et C. Cugny (2011) notamment, pour identifier certains microfossiles et ainsi compléter l'interprétation des résultats polliniques. La typologie adoptée est celle initiée par B. van Geel, réutilisée et complétée par C. Cugny (2011).

3. RESULTATS DES TESTS

Les résultats des tests sont donnés sous la forme d'un tableau de comptages représentant les effectifs des différents pollens, pores et quelques microfossiles non polliniques (MNP) identifiés (Figure 2) .

	Taxons \ Code Prélèvements	F.219 – US 2191	F. 566 – US 5664 - SU 44	F. 440 – US 4402 – Oi 07	F. 123 – US 1232
Pollens	Pinus	0	0	0	1
	Quercus	0	0	1	2
	Corylus	0	1	0	0
	POACEAE	7	17	1	6
	CICHORIOIDEAE	1	15	3	3
	ASTERACEAE	0	5	0	1
	CARYOPHYLACEAE	0	1	0	0
	CHENOPODIACEAE	2	2	0	0
	Plantago lanceolata	0	1	0	1
	Cerealia type	0	3	0	0
	Secale type	0	2	0	0
	Papaver	0	1	0	0
	RANUNCULACEAE	0	5	0	0
	Alchemilla	0	1	0	0
	JUNCACEAE	5	7	1	0
	CYPERACEAE	6	7	1	4
	Lemna	0	0	2	0
Spores	Asplenium	1	0	0	0
	Pteridium	1	0	0	1
	Spore monolète	9	5	42	16
	Spore trilète	1	0	2	0
Non pollinique	Concentricyste	0	0	0	1
	Ascospores gp coprophiles – HdV-55 – Sor	1	0	0	1
	Amérospores – TM-382	1	0	0	0
	Amérospores – HdV-207	6	1	2	11
	Spores algales et supposées – HdV-181	3	1	0	1
	SOM. pollen (somme de base)	21	68	9	18
	SOM. Sporo-pollinique	33	73	53	35
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	1692	29213	2900	1468
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	2658	31361	17077	2855

Figure 2. Opération archéologique d'Onnaing (59), opération opération 158551, Société Archéopole. Comptages correspondant aux pollens, spores et microfossiles non polliniques déterminés dans chacun des 4 prélèvements testés. Les valeurs grisées correspondent à des sommes polliniques, sommes sporo-polliniques et pour les deux dernières lignes à des concentrations absolues de pollens et de spores + pollens. Les concentrations absolues sont exprimées en nombre de grains par volume (mL) de sédiment.

Code des prélèvements	Nombre de pollens comptés	Nombre de pollens et spores comptés	Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Ordre de priorité
F.219 – US 2191	21	33	80	2658	1692	Mauvais	9		4
F. 566 – US 5664 - SU 44	68	73	15	31361	29213	Bon	15	taxons remarquables (Céréale et Seigle)	1
F. 440 – US 4402 – Oi 07	9	53	24	17077	2900	Mauvais	8		4
F. 123 – US 1232	18	35	79	2855	1468	Mauvais	9	div. Pollinique (7)	3

Figure 3. Opération archéologique d'Onnaing (59), opération opération 158551, Société Archéopole. Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/mL de sédiment) ainsi que la diversité taxonomique de chaque prélèvement. Quelques faits remarquables sont aussi indiqués. Un ordre de priorité d'analyses des échantillons est proposé en tenant compte de ces résultats.

Figure 4. Prélèvement structure F219, opération archéologique d'Onnaing (59), opération opération 158551, Société Archéopole. Photographie d'un ascospores gp coprophiles – HdV-55 – Sordariales (détermination basée sur sur le référentiel de C. Cugny, 2011), grossissement x1000.

Figure 5.Prélèvement structure F566, opération archéologique d'Onnaing (59), opération 158551, Société Archéopole. Photographie d'un pollen de type Secale (seigle), grossissement x1000.

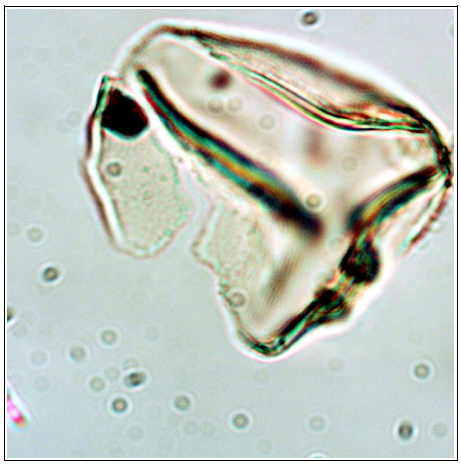


Figure 6.Prélèvement structure F566, opération archéologique d'Onnaing (59), opération 158551, Société Archéopole. Photographie d'un pollen de type Cerealia (céréales), grossissement x1000.

4. PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats hétérogènes. Le prélèvement de la structure F.566 permit d'observer un contenu sporo-pollinique intéressant, en revanche les échantillons provenant des structures F.219, F.440 et F.123 sont pauvres en microrestes. Les restes sont particulièrement rares dans les prélèvements F.219 et F.440. Le prélèvement F.123 présentait une diversité de pollens un peu meilleure (7 taxons polliniques).

Notons la détection de quelques microfossiles non polliniques (MNP) d'ascomycètes de groupe coprophile (HdV-55), indicateur de matières fécales, voire d'élevage, identifiés dans les prélèvements des structures F.219 et F.123 (Fig. 4).

Le temps de contact entre la pluie pollinique et les couches archéologiques est un facteur qui a pu jouer pour expliquer ces résultats. Tout dépend de la durée de fonctionnement, de la dynamique (vitesse) de comblement sédimentaire de ces structures.

L'autre facteur important est le contexte de conservation pollinique. De nombreuses « enveloppes polliniques » et débris polliniques ont été constatés dans les échantillons des structures F.219, F.440, F.123, sans qu'il soit possible d'identifier les taxons. Les quelques grains observés correspondent à des taxons résistants à la corrosion comme par exemple les Cichorioïdées, les spores monolètes et trilètes (Figures 2 et 3). La nature des sédiments à dominance minérale laisse penser que les pollens se sont trouvés dans des contextes aérobies propices à l'oxydation biologique ou physico-chimique.

Le prélèvement de la structure F.566 est davantage prometteur car il permit d'observer de nombreux restes et une quinzaine de taxons sporo-polliniques. L'assemblage comporte, certes, une conservation différentielle car on constate une sur-représentation des Cichorioïdées, mais il montre une diversité plus large et aussi plusieurs attestations caractéristiques d'un paysage marqué par les pratiques agro-pastorales (pollens de céréale, seigle, Papaveracées, Chénopodiacées, plantain).

De façon générale, les quelques pollens et spores identifiés correspondent essentiellement à des végétations herbacées, seuls quelques pollens de pin (*Pinus sp.*), chêne (*Quercus sp.*), noisetier (*Corylus sp.)* représentent la végétation arborescente.

Notons aussi la présence de pollens attestant l'existence de végétations humides (Joncacées, Cypéracées, lentilles d'eau (*Lemna sp.*), spores algales HdV-181 et Concentricystes).

Au regard de l'état de conservation global des pollens, de la diversité observée, la poursuite de l'analyse de ces échantillons parait pertinente pour les échantillons de la structure F.566, voire F.123 (Fig. 7)

Code des prélèvements	Ordre de priorité
F.219 – US 2191	4
F. 566 – US 5664 - SU 44	1
F. 440 – US 4402 – Oi 07	4
F. 123 – US 1232	3

Figure 7. Opération archéologique d'Onnaing (59), opération opération 158551, Société Archéopole, tableau récapitulant l'ordre de priorité des analyses palynologiques.

5. BIBLIOGRAPHIE

CUGNY C., 2011 – Apport des microfossiles non-polliniques à l'histoire du pastoralisme sur le versant nord pyrénéen. Entre référentiels actuels et reconstitution du passé. Thèse de doctorat, Université Toulouse 2 Le Mirail, 2 vol., 373 p.

REILLE M., 1990 – Leçon de palynologie et d'analyse pollinique. CNRS, Paris, 206 pages.

REILLE M., 1992 - *Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord.*, Editions Louis-Jean, Gap, 520 p.

STOCKMARR J., 1972 – Tablets with spores used in absolute pollen analysis. *Pollens et spores*, 13, p. 615-621.

VAN GEEL B., APTROOT A., 2006 – Fossil Ascomycetes in Quaternary deposits. Nov Hedw, 82, p. 313-329.

6. ANNEXE

6.1 Détail du protocole d'extraction utilisé :

Afin d'isoler et de concentrer les grains de pollen, le protocole utilisé au sein de l'UMR EPOC comporte les étapes suivantes :

Préparation du sédiment

1- Le sédiment (environ 5g) est séché à l'étuve à 40°C pendant une nuit ou plus, suivant la teneur en eau.

Estimation du volume de sédiment

2- Dans une éprouvette de 25cc en polypropylène, mettre 15cc d'eau distillée. Poser celle-ci sur une balance, faire la tare, puis ajouter le sédiment. La colonne d'eau augmente, enregistrer le poids ainsi que le volume.

Lavage du sédiment

Ce lavage permet de travailler sur deux proxies. La fraction supérieure est récupérée pour, en particulier, l'étude des foraminifères, et la fraction inférieure pour l'étude des pollens et dinoflagellés.

3- Prendre un tamis de maille 150µm et de diamètre 10cm, le poser sur un bécher de 1000ml. Vider le contenu de l'éprouvette sur le tamis, et laver délicatement à l'eau du robinet. Lorsque le résidu > à 150µm est propre, bien le rincer à l'eau distillée et le récupérer dans une coupelle toujours avec de l'eau distillée. La fraction inférieure récupérée dans le bécher est mise à décanter pendant 48h minimum. Ne pas oublier de couvrir les bécher pour éviter toute pollution.

Attaque à l'acide chlorhydrique (HCl)

Cette attaque permet d'éliminer tous les organismes et particules calcaires.

4- Aspirer l'eau à l'aide d'une trompe à vide. Celle-ci est équipée, à l'extrémité du tuyau, d'un embout en plastique présentant un angle de 90° par rapport à la paroi du bécher. Cet embout permet d'éviter toute aspiration accidentelle du résidu décanté au fond du bécher. Récupérer le résidu dans un tube de 100ml à fond rond en polypropylène.

5- Centrifuger 7mn à 2500tr/mn. Eliminer l'eau, remettre en suspension avec l'agitateur. Mettre une ou deux pastilles de Lycopodes dans le tube, le nombre de pastilles étant défini en fonction de la concentration supposée en pollen ou en dinoflagellés. Elles permettent d'estimer les concentrations en palynomorphes.

6- L'attaque à l'HCl **à froid** se fait en trois étapes. Une première attaque à **10%**, remuer à l'aide d'une baguette d'agitation en verre, laisser agir quelques minutes, si le sédiment est riche en carbonates il est important de commencer par l'HCl à faible concentration afin d'éviter une importante effervescence et également un débordement des tubes. Continuer par de l'HCl à **25%** attendre quelques minutes et terminer par de l'HCl à **50%**. Cette dernière attaque est essentielle pour la suite de la manipulation. Bien s'assurer que la réaction est terminée en ajoutant de l'HCl à 50%. Lorsqu'il n'y a plus d'effervescence dans le tube, la réaction est terminée.

Attaque à l'acide fluorhydrique (HF)

Cette attaque permet d'éliminer la silice et les silicates.

7- Centrifuger les tubes de 100ml pendant 7mn à 2500tr/mn et éliminer le surnageant. Remettre le culot en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HF à **45% à froid**. Fermer les tubes avec le bouchon approprié et les poser sur le secoueur, laisser agiter pendant 4 à 5h. Bien respecter la concentration de l'HF, car une concentration supérieure peut entraîner une forte effervescence, avec risque de perte de sédiment.

8- Centrifuger à nouveau les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HF à **70% à froid**. Poser les tubes sur le secoueur, laisser agiter pendant **28 à 30h**.

Note : Attention pour faire cette manipulation il est impératif de respecter les mesures de sécurité, mettre des longs gants, ainsi que des lunettes. Travailler toujours sous hotte aspirante bien fermée. Travailler également les tubes toujours fermés.

Deuxième attaque à l'acide chlorhydrique (HCl)

Elimination des fluorosilicates.

9- Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HCL à **25% à froid**. Poser les tubes sur le secoueur, laisser agiter pendant 15mn.

Note : Il est très important de faire cette attaque à l'HCl avant de rincer à l'eau distillée. Des risques de formation de fluorures peuvent avoir lieu et donc gêner le reste de la manipulation.

Rinçage

10- Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension le culot avec l'agitateur, remplir les tubes d'eau distillée. Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn. Eliminer l'eau, les résidus sont prêts pour la filtration.

Filtration

Cette opération nécessite la mise en œuvre d'un système de filtration. Ce matériel est posé sur une fiole à vide de 2l reliée à une trompe à vide.

11- Remettre en suspension le culot avec l'agitateur et verser une partie ou la totalité du résidu, suivant la concentration, sur le filtre en nylon de maille 10µm. Rincer à l'eau distillée avec une pissette de 50ml. La contenance de la pissette est essentielle car elle permet de l'avoir bien en main et donc de presser suffisamment fort pour avoir un jet assez puissant pour la filtration. Lorsque cela colmate, mettre 20 à 40s d'ultrasons et rincer abondamment, en même temps, avec la pissette. Le succès de cette opération est basé sur la coordination entre les ultrasons et la pissette. Il est important de bien gérer le temps des ultrasons, car l'abus peut casser les microorganismes.

12- Récupérer le résidu, une fois bien lavé, avec la pissette dans un tube à fond conique de 50ml en polypropylène. Bien froisser le filtre entre les doigts pour décoller éventuellement les micro-organismes qui pourraient rester sur le filtre.

13- Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant à l'aide de la trompe à vide munie de l'embout à 90°. Transvaser le résidu avec de l'eau distillée dans un tube à fond conique de 8cc en plastique. Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant toujours avec la trompe à vide. Le résidu est prêt pour le montage.

Montage

Montage à la glycérine bidistillée phénolée (lames mobiles)

Cette technique de montage est utilisée pour l'étude des grains de pollen.

14b- Poser une lame sur la plaque chauffante (T° 200°C-250°C), mettre sur celle-ci une goutte de glycérol (*voir annexes*), ajouter quelques gouttes de résidus, doser suivant la concentration voulue. Laisser évaporer l'eau. Pendant ce temps préparer la lamelle en posant sur les longueurs de la lamelle de l'histolaque. Une fois l'évaporation terminée poser la lamelle sur la lame. Retirer la lame de la plaque chauffante et luter les deux côtés restants.

Conservation

15- Pour la conservation remplir les tubes de 8cc d'eau distillée, puis ajouter quelques gouttes de glycérine bidistillée phénolée

Annexes

- Fournisseur des pastilles de lycopodes

  Lund University
  Department of Geology
  Quaternary Sciences
  Sölvegatan 12
  SE-223 62 Lund
  Sweden
  Fax : 46-46-2224830

- Fournisseur des filtres de 10µm

  Saulas et Cie
  5, rue des epinettes
  BP 20
  10160 Paisy cosdon
  fax : 03 25 40 74 87

- Préparation de la gélatine glycérinée

  Mettre dans un bécher 10g de gélatine plus 34,2cc d'eau distillée. Laisser reposer pendant 2h à froid sans agitation. Ensuite, ajouter 51cc de glycérol à 98% plus 1g de phénol. Chauffer jusqu'à complète dissolution. La solution se solidifie à froid. Lors du montage mettre le bécher sur la plaque chauffante.

- Préparation du glycérine bidistillée phénolée pour la conservation

  Mettre dans 1l de glycérol à 98% 1% de phénol.

6.2 Description des échantillons et des traitements

SERIE N°	Nom du demandeur	TECH	Date	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	poids	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%	filtration 10 microns	filtration Ultrason(s)	Type de montage (G,L)	NB de lame
2257	GAUDIN	Muriel	02/10/2018	lycopodes	19332	6	F219	5.612g	3	x	x	x	x	20s	l	1
2257	GAUDIN	Muriel	02/10/2018	lycopodes	19332	7	F123	5.401g	3	x	x	x	x	20s	l	1
2258	GAUDIN	Muriel	02/10/2018	lycopodes	19332	1	F440	5.623g	2,5	x	x	x	x	20s	l	1
2258	GAUDIN	Muriel	02/10/2018	lycopodes	19332	2	F566	4.718g	3	x	x	x	x	20s	l	1

Figure 8. Description des traitements réalisés (UMR EPOC)