



ArkéoMap

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



**TESTS PALYNOLOGIQUES RÉALISÉS SUR TROIS
PRÉLÈVEMENTS (PR 42, PR 43 ET PR17) DE
L'OPÉRATION ARCHÉOLOGIQUE DE LA COMMUNE DU
NEUBOURG (27).**

OPÉRATION ARCHÉOLOGIQUE AP 167

Mission archéologique départementale de l'Eure

Rapport sur les tests palynologiques

Avril 2018

Mission archéologique départementale de l'Eure
8 rue des thermes
27930 LE VIEIL-EVREUX

Fouille de la commune du Neubourg (27)-
Opération archéologique AP 167
Tests palynologiques sur trois prélèvements .

Références des échantillons étudiés :

PR 42 (US90), PR 43 (US 295), PR 17 (US149)

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

Avril 2018

Illustration de la page de couverture : Pollen de noisetier (Corylus sp.) observé dans le prélèvement 42. Grossissement x1000. L'échelle représente des micromètres.

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.....	11
5. BIBLIOGRAPHIE.....	12
6. ANNEXE.....	13
6.1 Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	13
6.2 Description des échantillons et des traitements.....	16

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats des tests palynologiques de trois prélèvements réalisés lors de la fouille du site de Neubourg (27), (AP 167). Ce rapport vise à estimer le contenu palynologique des prélèvements dans l'optique de faire des analyses plus approfondies.

L'opération archéologique a été réalisée par la Mission archéologique départementale de l'Eure sous la direction de M. WECH. L'étude a été commandée par M. WECH, responsable d'opération, avec l'accord de son directeur M. VIAND.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Les prélèvements ont été réalisés à l'intérieur de deux enclos circulaires à vocation funéraire de l'Age du bronze (probablement) et une mare antique. Les enclos ont fait l'objet respectivement de 2 et 9 prélèvements, tous réalisés à la base du comblement. L'étude palynologique porte sur une sélection de 3 lots provenant des enclos (PR 42 et PR 17) et de la mare (PR 43).

L'objectif de cette étude vise à estimer le potentiel palynologique des prélèvements.

Code opération	Numéro de prélèvement	US	Structures	Masses traitées (g)
AP 167	PR 42	90	29 sd 30	105
AP 167	PR 43	295	97	275
AP 167	PR17	149	46 sd 47	320

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 (microscopes OLYMPUS CX21 et 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		PR 17 – US 149	PR 42 – US 90	PR 43 – US 295
Pollens	Corylus	0	4	2
	CICHORIOIDEAE	0	1	0
	JUNCEAE	0	0	5
	CYPERACEAE	0	1	0
	Lemna	0	1	0
Spores	Asplenium	1	0	0
	Spore monolète	0	4	2
	Polypodium	0	0	1
	Spore trilète	0	0	1
Non polliniques	Ascospores gp coprophiles – HdV-55 – Sordariales	0	1	0
	Amérospores – TM-382	1	0	0
	Amérospores – HdV-207	0	0	3
	Phragmospores – HdV-729	4	0	0
	Spores algales et supposées – TM-249	4	1	0
	Indéterminés	2	3	5
	SOM. pollen (somme de base)	0	6	2
	SOM. Sporo-pollinique	1	10	6
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	0	165	416
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	107	274	1247

Figure 2. Opération archéologique du Neubourg, AP 167, Mission archéologique départementale de l'Eure. Comptages correspondant aux pollens, spores et microfossiles non polliniques déterminés dans chacun des 3 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 spores comptés	de et Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Ordre de priorité	de
PR 17 – US 149	0	1	60	107	0	Mauvais	1	5	
PR 42 – US 90	7	11	235	302	192	Mauvais	5	4	
PR 43 – US 295	7	11	31	2287	1455	Mauvais	5	4	

Figure 3. Opération archéologique du Neubourg, AP 167, Mission archéologique départementale de l'Eure. 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.

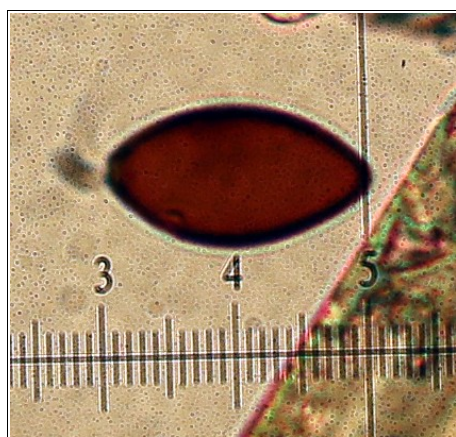


Figure 4. Prélèvement 42, opération archéologique du Neubourg, AP 167, Mission archéologique départementale de l'Eure. Photographie d'un ascospores gp coprophiles – HdV-55 – Sordariales (détermination basée sur sur le référentiel de C. Cugny, 2011), grossissement x1000. L'échelle représente des micromètres (une unité = 1µm).



Figure 5. Prélèvement 17, opération archéologique du Neubourg, AP 167, Mission archéologique départementale de l'Eure. Photographie d'un phragmospores – HdV-729 (?), (détermination basée sur sur le référentiel de C. Cugny, 2011), grossissement x500. L'échelle représente des micromètres (une unité = 2µm).

4. PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats pauvres en microrestes. Seulement cinq taxons polliniques et quatre types de spores ont été identifiés lors de ces tests et aussi quelques microfossiles non polliniques. Les restes sont particulièrement rares dans le prélèvement 17 (quelques MNP, spores, aucun pollen).

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 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.

En ce qui concerne le contenu pollinique, nous n'avons pas observé de taxons allochtones (ex. céréales), indicateurs directs de plantes cultivées.

Les quelques pollens et spores identifiés correspondent à des végétations de noisetiers (*Corylus sp.* : boisements clairs ou haies) et à des végétations humides notamment pour le prélèvement 42 (Joncacées, Cypéracées, lentilles d'eau (*Lemna sp.*), spores algales TM-249).

Un microfossile non pollinique (MNP) d'ascomycète de groupe coprophile (HdV-55), indicateur de matières fécales, voire d'élevage a été identifié dans le prélèvement 42 (Fig. 4).

Un microfossile de type phragmospores – HdV-729 (?) issu du prélèvement 17, serait synonyme de conditions humides (aquatiques) et eutrophes, possiblement en contexte anthropisé (Fig. 5).

Quelques autres MNP ont aussi été identifiés mais non interprétés (Fig. 2).

Au regard de l'état de conservation global des pollens, de la diversité observée, la poursuite de l'analyse de ces échantillons paraît peu pertinente (Fig. 6)

Code des prélèvements	Ordre de priorité
PR 17 – US 149	5
PR 42 – US 90	4
PR 43 – US 295	4

Figure 6. Opération archéologique du Neubourg, AP 167, Mission archéologique départementale de l'Eure, tableau récapitulatif de 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 bûcher 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 bûcher est mise à décanter pendant 48h minimum. Ne pas oublier de couvrir les bûcher 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 bûcher. Cet embout permet d'éviter toute aspiration accidentelle du résidu décanter au fond du bûcher. 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	Coul (N,B,R, V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%	filtration 5/10 microns	filtration Ultrason(s)	Type de montage (G,L)	Date de montage	NB de lame
2219/F	GAUDIN	Muriel	10/04/2018	R	lycopodes	19332	F	Neubourg PR 17	3	x	x	x	10	40	L	13/4/18	1
2219/G	GAUDIN	Muriel	10/04/2018	R	lycopodes	19332	G	Neubourg PR 42	3	x	x	x	10	40	L	13/4/18	1
2219/H	GAUDIN	Muriel	10/04/2018	R	lycopodes	19332	H	Neubourg PR 43	3	x	x	x	10	40	L	13/4/18	1

Figure 7. Description des traitements réalisés (UMR EPOC)