



ArkéoMap

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



TESTS PALYNOLOGIQUES SUR DEUX PRÉLÈVEMENTS RÉALISÉS DANS LE COMBLEMENT D'UN FOSSÉ MÉDIÉVAL SITUÉ PLACE GAMBETTA À BORDEAUX (33). OPÉRATION OA 0100.

**Service Etudes Architecture Archéologie
Bordeaux Métropole**

Rapport sur les tests palynologiques

Janvier 2021

Service Etudes Architecture Archéologie,

**Esplanade Charles-de-Gaulle
Bordeaux 33000**

Opération archéologique de la place Gambetta à Bordeaux (33)

Rapport des tests palynologiques de deux prélèvements

Références des échantillons étudiés :

OA 0100. US 509, échantillons n°1 et 2.

Loïc GAUDIN

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

E-mail : loic.gaudin@arkeomap.com

Site web : arkeomap.com

Janvier 2021

Illustration de la page de couverture : Pollen de pin (Pinus « type sylevstris ») observé dans le prélèvement n° 2. 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.....	11
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 deux prélèvements réalisés lors de l'opération archéologique de la place Gambetta à Bordeaux (33).

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 le Service de l'archéologie préventive sous la direction de Madame Juliette Masson.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Les deux prélèvements proviennent du comblement d'un fossé médiéval et plus particulièrement d'une couche (US 509) recouvrant une couche jaune (correspondant à un apport sédimentaire en dessous l'ancien rempart) (Fig. 1 et 2)

De façon générale la couche sédimentaire ne présentait pas de conditions anaérobies permanentes (ex. nappe d'eau), ce qui rend la conservation des pollens aléatoire.

L'objectif de cette étude vise à obtenir une description du paysage végétal durant les périodes d'occupation du site.



Figure 1. Emplacement des deux prélèvements (Couche US 509) située au dessus de la couche « jaune ».

Site / Opération	Numéro d'US	Masse envoyée (g)	Datation	RQ
Bordeaux (33)	OA0100 – US 509 – ech 1	110	Moyen-Age	Comblement fossé
Bordeaux (33)	OA0100 – US 509 – ech 2	120	Moyen-Age	Comblement fossé

Figure 2. Inventaire des prélèvements 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 des extractions a été réalisée sous microscope optique à immersion aux grossissements x500 et x1000 (microscopes OLYMPUS CX21 et CX40).

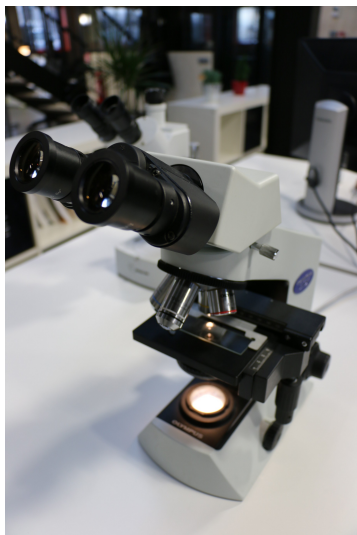


Figure 3. Microscope d'observation (Olympus CX 21, ArkéoMap)

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,
- des atlas photographiques « pollens et spores d'Europe et d'Afrique du Nord » (Reille, 1992) et « Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete » (Beug, 2004).

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 dizaine « 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) 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, spores et quelques microfossiles non polliniques (MNP) identifiés (Figure 4) .

	Taxons \ Code Prélèvements	US 519 – ech n°1	US 519 – ech n°2
Pollens	Pinus	9	2
	Pinus sylvestris	1	2
	POACEAE	0	3
	CICHORIOIDEAE	10	8
	ERICACEAE	0	1
	CYPERACEAE	2	3
Spores	Asplenium	0	1
	Spore monolète	98	35
Non pollinique	Amérospores – Type HdV-207	15	10
	Métazoaires (poils)	2	0
	SOM. pollen (somme de base)	22	19
	SOM. Sporo-pollinique	120	55
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	1445	1842
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	7880	5333

Figure 4. Opération archéologique place Gambetta à Bordeaux (33), OA 0100. Comptages correspondant aux pollens et spores déterminés dans chacun des 2 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 et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Ordre de priorité
US 519 – ech n°1	22	120	127	7880	1445	Très mauvais	5	aucune	5
US 519 – ech n°2	19	55	86	5333	1842	Très mauvais	8	aucune	5

Figure 5. Opération archéologique place Gambetta à Bordeaux (33), OA 0100. 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 des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).

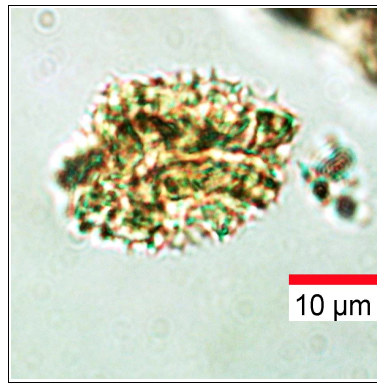


Figure 6. Opération archéologique place Gambetta à Bordeaux (33), OA 0100. Photographie d'un pollen de Cichorioïdée, grossissement x1000, prélèvement n°2.

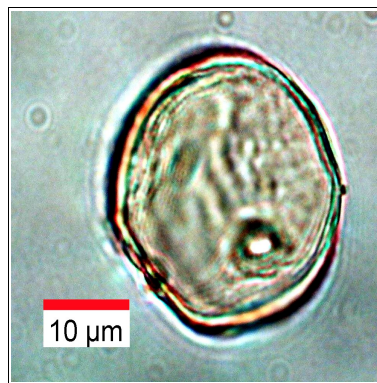


Figure 7. Opération archéologique place Gambetta à Bordeaux (33), OA 0100. Photographie d'un pollen de Poacée, grossissement x1000, prélèvement n°2.



Figure 8. Opération archéologique place Gambetta à Bordeaux (33), OA 0100. Photographie d'un microfossile non pollinique de type « HdV207 », grossissement x1000, prélèvement n°2.

4. PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats pauvres en microrestes (les concentrations absolues n'excèdent pas 2000 pollens / mL ce qui est très peu comparé aux concentrations obtenues dans des dépôts organiques tels que dans les tourbières, souvent supérieurs à 50000 pollens / mL). Seulement six taxons polliniques, deux types de spores et quelques microfossiles non polliniques ont été identifiés lors de ces tests (Fig. 4 et 5).

La détection systématique et relativement importante des spores de Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (de 127 et 86 Lycopodes comptés, Figure 5), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique. Ce constat montre aussi que la faiblesse du stock pollinique tient à la pauvreté des sédiments et non à la méthodologie employée pour l'extraction.

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 et de la dynamique (vitesse) de comblement sédimentaire du fossé.

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 (Fig. 4). La nature des sédiments à dominance minérale laisse penser que les pollens se sont trouvés dans des contextes aérobies (ou dans une zone de battement de nappe) propices à l'oxydation biologique ou physico-chimique.

Les quelques pollens et spores identifiés correspondent essentiellement à des végétations herbacées. De rares occurrences polliniques témoignent de végétations humides et de boisements :

- Pour ce qui concerne les végétations herbacées nous avons détecté quelques grains de graminées (Poacées) accompagnés de Cichorioïdées et de Cyperacées pouvant correspondre à des végétations de prairies humides et/ou friches et jachères. Les effectifs observés sont évidemment trop faibles pour pouvoir davantage affiner l'image des associations végétales environnantes.

- Quelques fragments de pollens pin (*Pinus sp.* dont *Pinus type sylvestris*) ont été détectés dans les deux prélèvements. Le pin est connu pour sa forte production et importante diffusion pollinique. Ces pollens sont donc peut-être d'origine lointaine.

- Les pollens de Cyperacées et de Poacées pourraient témoigner de zones humides (ex. Prairies humides).

- Un pollen d'Ericacée (famille des bruyères) a été identifié. Il pourrait s'agir d'un vestige de landes ou de friches (?).

- Enfin, notons l'identification de quelques microfossiles non polliniques : des « amérospores du type HdV-207 ». Ce sont des microrestes d'origine fongique (champignons) mais dont la signification écologique n'est pas toujours très claire.

En revanche, nous n'avons pas observé de taxons allochtones (ex. céréales), indicateurs directs de plantes cultivées.

Compte tenu de la pauvreté pollinique, il faut interpréter ces résultats avec beaucoup de précaution.

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. 9).

Code des prélèvements	Ordre de priorité
US 519 – ech n°1	5
US 519 – ech n°2	5

Figure 9. Opération archéologique place Gambetta à Bordeaux (33), OA 0100, tableau récapitulant l'ordre de priorité des analyses palynologiques. Un ordre de priorité d'analyses des échantillons est proposé en tenant compte des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).

5. BIBLIOGRAPHIE

BEUG H.-J., 2004 - *Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete*. Publisher Verlag Friedrich Pfeil, Munich, 542 p.

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.

GAUDIN L., 2020 - Analyse des fragments charbonneux prélevés lors de l'opération archéologique de la « zone Ecoparc 3 » à Heudebouville (27). Opération AP-176. Rapport d'étude anthracologique, 45 p. (Destinataire public : Mission Archéologique Départementale de l'Eure, R.O. V. Dartois)

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.

14 – En fonction du caractère organique du résidu il est parfois nécessaire d'effectuer un traitement supplémentaire au HNO₃ : Séparation du culot en 2 puis sur une moitié, attaque HNO₃ 2mn, filtration 10µ, 20s Ultra son, 2mn HNO₃, filtration 10µ

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 glycinée

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	TRONCON	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%
2454	GAUDIN	MG	9/11/20	lycopodes	20848	D	Bordeaux US 509	éch 1	2,5	X	X	X
2454	GAUDIN	MG	9/11/20	lycopodes	20848	E	Bordeaux US 509	éch 2	2,5	X	X	X

Figure 10. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).