ArkéoMap

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES

TEST PALYNOLOGIQUE RÉALISÉ SUR UN PRÉLÈVEMENT D'UN SITE INTERPRÉTÉ COMME UNE PRISON, PRÈS DE LA CATHÉDRALE DE CHARTRES (28).

OPÉRATION C280.5 – IDENTIFIANT 50002 – PLV8

Communauté d'Agglomération Chartres Métropole

Direction Générale adjointe Aménagement et Développement

Direction de l'Archéologie.

Rapport de tests palynologiques

Décembre 2022

Communauté d'Agglomération Chartres Métropole,
Direction de l'Archéologie.

Opération archéologique d'un site interprété comme une prison, près de la cathédrale de Chartres (28)

Rapport de test palynologique d'un prélèvement

Références des échantillons étudiés :

CHARTRES (28) – C280.5 – identifiant 50002 - PLV8

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

Décembre 2022

Illustration de la page de couverture : deux thèques d'œuf de vers parasites de type Trichuris sp. 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.....12
5. BIBLIOGRAPHIE.....14
6. ANNEXE.....15
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....15
6.2. Description des échantillons et des traitements 18

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats d'un test palynologique réalisé sur un prélèvement issu d'un site près de la cathédrale de Chartres (28).

Le prélèvement provient plus précisément de la couche du fond d'un site interprété comme une prison médiévale. Le prélèvement a été réalisé par le service archéologique de Chartres.

Ce rapport vise à estimer le contenu palynologique du prélèvement dans l'optique de faire des analyses plus approfondies.

Le site a été fouillé sous la direction de M. Thomas LECROERE, responsable d'opération, qui est aussi à l'initiative de cette commande.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

L'échantillon a été prélevé dans une couche de texture sablo-limoneuse de couleur brune.

Notons que la couche prélevée ne présentait pas de conditions anaérobies permanentes (ex. nappe d'eau), ce qui rend souvent la conservation des pollens très aléatoire.

L'objectif de ce test vise à estimer la conservation et le contenu pollinique en vue d'analyses plus complètes si les résultats étaient positifs.

Site / Opération	**Numéro d'US**	**Masse envoyée (g)**	**Description, informations sur les structures prélevées.**
CHARTRES (28) – C280.5	50002 - PLV8	35	CHARTRES (28) – C280.5

Figure 1. Inventaire des prélèvements étudiés

Figure 2. Photographie du prélèvement traité.

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 OLYMPUX CX21 et CX40).

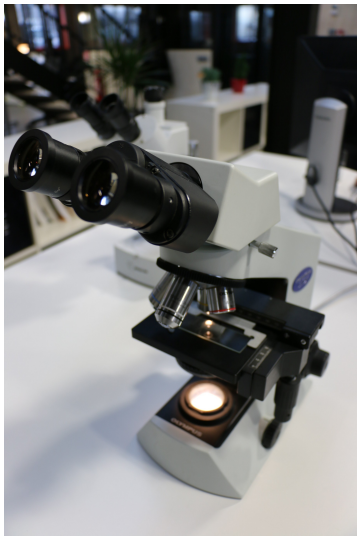

Figure 3. Microscope d'observation (Olympus CX 21, ArkéoMap)

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 fur 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	C280.5 – PLV8 – Id. 50002
Pollens	Gymnosperme	3
	Pinus sylvestris	2
	POACEAE	2
	CICHORIOIDEAE	3
	Centaurea type nigra	1
Spores	Asplenium	19
	Spore monolète	43
	Polypodium	1
	Spore trilète	1
Non pollinique	Ascospores gp coprophiles – HdV-205 – Sc	1
	Amérospores – HdV-207	23
	Microcharbons (feuillus)	21
	Thèque œuf *Trichuris sp.*	7
	Poils (?)	2
	Indéterminés	1
	SOM. pollen (somme de base)	11
	SOM. Sporo-pollinique	75
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	1273
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	8683

Figure 4. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. Comptages correspondant aux pollens et spores déterminés. 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	Indice de potentiel d'étude
C280.5 – PLV8 – Id. 50002	11	32	53	3705	1273	Très mauvais	8	thèques *Trichuris sp.*	5

Figure 5. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/mL de sédiment) ainsi que la diversité taxonomique de chaque prélèvement. 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).

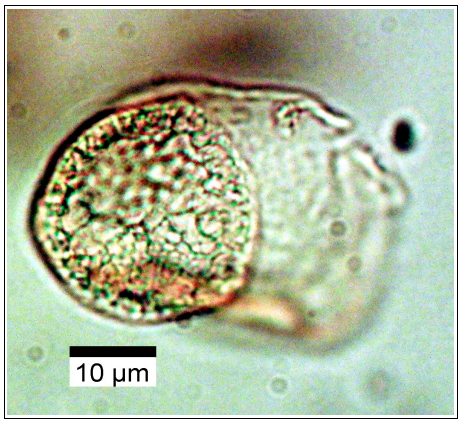

Figure 6. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. Photographie d'un pollen de pin, probablement de type sylvestre (*Pinus type sylvestris*), US 1834, grossissement x1000.

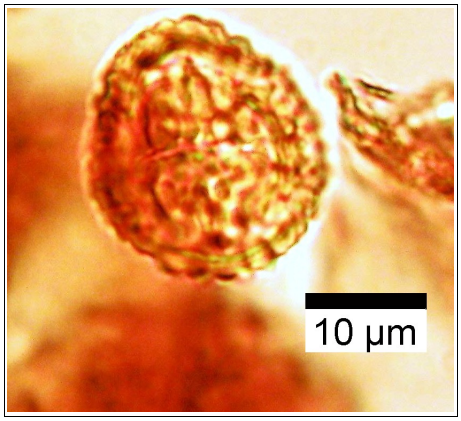

Figure 7. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. Photographie d'un pollen de Centaurée de type noire (*Centaurea type nigra*), grossissement x1000.

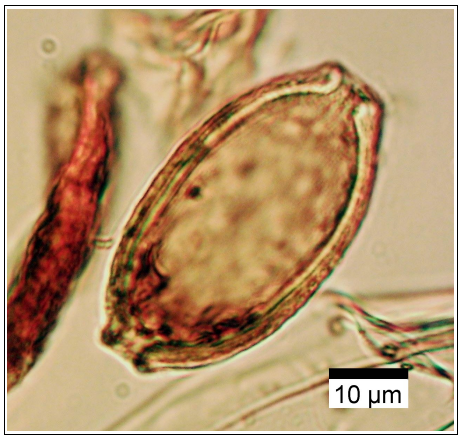

Figure 8. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. Photographie d'une thèque d'œuf de type *Trichuris sp.* (vers parasite), grossissement x1000.

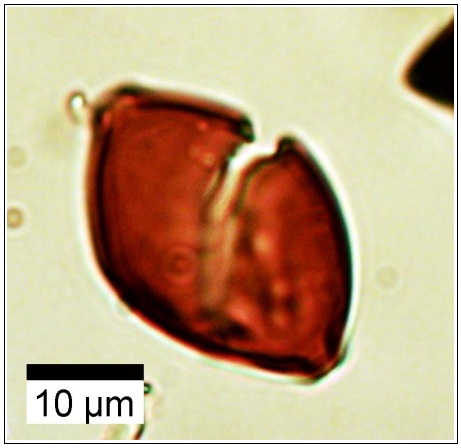

Figure 9. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. Photographie d'un ascospore du groupe coprophile Sordariales (Type HdV-205), grossissement x1000.

4. PRECONISATIONS

L'observation de l'échantillon a livré des résultats pauvres en microrestes. Seulement onze pollens ont été observés. La concentration absolue atteint tout juste les 1200 pollens / mL, ce qui est très peu en comparaison avec les résultats obtenus dans des contextes de tourbière par exemple, avec des concentrations de l'ordre de 50000 pollen / mL.

De plus, l'observation a été rendue difficile à cause des nombreux débris organiques (fibres, microcharbons) répartis sur l'ensemble de la lame.

En ce qui la diversité des échantillons, seulement cinq taxons polliniques, quatre type de spores et cinq microfossiles non polliniques (Fig. 4 et 5) ont été observés.

La détection de nombreux Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (53 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 des structures archéologique.

L'autre facteur important est le contexte de conservation pollinique. De nombreux débris organiques ont été constatés sans qu'il soit possible d'en identifier la nature (ex. restes ligneux, fibres...). Les quelques grains observés correspondent à des taxons résistants à la corrosion comme par exemple les pollens de Cichorioïdées, de résineux et les spores monolètes (Fig. 4). Le contexte de prélèvement, sur site archéologique (à la différence d'une zone humide), 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.

En ce qui concerne les résultats obtenus (Fig. 4) :

Très peu de pollens ont pu être observés. Les pollens identifiés sont soumis à d'importantes conservations différentielles, ce sont donc les pollens les plus résistants (résineux, Cichorioïdées) qui sont observés. Cela influence grandement la composition pollinique et les végétations perçues. De plus, contrairement aux analyses polliniques réalisées dans des contextes de dépôts sédimentaires « naturels » (ex. tourbières, zones alluviales), où la pluie pollinique dépend des apports aériens et/ou à des ruissellements, la composition pollinique analysée dans la couche du « fond de la prison » est probablement plutôt associée aux différents apports liés à « l'entretien du sol de la pièce »...

Compte tenu de la pauvreté pollinique, il n'est pas possible d'établir d'interprétation paysagère solide. Nous retiendrons l'observation de quelques pollens de Graminées (Poacées), Cichorioïdées et centaurée noire (*Centaurea type nigra*) plutôt caractéristiques de végétations de types **prairies hygro à mésophiles**. Les restes polliniques pourraient donc être des indicateurs indirects des apports de pailles ou de foin issus d'une prairie.

Les pollens d'arbres sont quasiment absents, seuls quelques pollens de résineux, probablement de type pin sylvestre (*Pinus sylvestris*, Fig. 6) ont été observés. Les pins sont connus pour leurs fortes productions et importantes diffusions polliniques. Ces pollens sont donc peut-être d'origine lointaine.

En ce qui concerne les microfossiles non polliniques, quelques amérospores HdV-207 seraient des microrestes d'origines fongiques (champignons) dont la signification écologique n'est pas toujours très claire (Cugny, 2011).

A noter enfin des attestations assez nombreuses de restes (cuticules ou thèques) d'œuf de vers parasites de type *Trichuris*. Ce sont des vers parasites du tube digestif humain pouvant affecter aussi les chiens, le renard et le porc. De plus quelques ascospores du groupe coprophile Sordariales (HdV-205) observés seraient significatifs d'excréments en décomposition (Fig. 8 et 9).

Au regard de l'état de conservation global des pollens et de la faible diversité constatée, la poursuite de l'analyse parait peu pertinente (Fig. 11).

Code des prélèvements	Indice de potentiel d'étude
C280.5 – PLV8 – Id. 50002	5

Figure 10. Opération archéologique du site de la prison près de la cathédrale de Chartres (28). Opération C 280.5. 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 peu défavorable).

5. BIBLIOGRAPHIE

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

CHESTER P.I. & IAN RAINE J., 2001 – Pollen and spore keys for Quaternary deposits in the northern Pindos Mountains, Grana, 40, Greece, p. 299-387.

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.

HEIM J., 1970 - Les relations entre les spectres polliniques récent s et la végétation actuelle en Europe occidentale. Thèse, Université de Louvain, Laboratoire de Palynologie et Phytosociologie, 181 p.

LOPEZ SAEZ J.-A., LOPEZ GARCIA P. et BURJACHS F., 2003 – Arqueopalinologia : sintesis critica. Polen 12, p. 5-35.

PLANCHAIS N., 1971 – *Histoire de la végétation post-würmienne des plaines du bassin de la Loire, d'après l'analyse pollinique*. Thèse d'Etat , Montpellier, 2 vol., 115 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.

VISSET L. 1974 – Le tumulus de Dissignac à Saint-Nazaire (Loire-Atlantique), étude palynologique. Bulletin de la Société scientifique de Bretagne , 48, p. 7-14.

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 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°	TECH	Date	Coul (N,B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	TRONCON	VOL	Poids sec	HCL	HF 48%	HF 70%
2620	MG	22/11/22	B	lycopodes	18407	E	CHARTRES	PLV 8	3	5,896	X	X	X

Figure 11. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).