

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



TESTS PALYNOLOGIQUES RÉALISÉS SUR DEUX PRÉLÈVEMENTS (US 59 ET US 65) DE L'OPÉRATION ARCHÉOLOGIQUE DE L'HOTEL DIEU, TRANCHE 9E ZONE NORD, LYON (69)

Service Archéologique de la Ville de Lyon

Rapport sur les tests palynologiques

Septembre 2017

Service Archéologique de la Ville de Lyon

10 Rue Neyret,

69001 Lyon

**Opération archéologique de l'Hotel Dieu,
tranche 9E zone nord, Lyon (69)**

**Tests palynologiques sur deux prélèvements réalisés
dans les US 65 et US 59.**

Références des échantillons étudiés :

US 59 et US 65

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

Septembre 2017

*Illustration de la page de couverture : Pollen d'Apiaceae (Ombellifère) observé dans le
prélèvement de l'US 565. 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.....	8
4. PRECONISATIONS.....	10
5. BIBLIOGRAPHIE.....	11
6. ANNEXE.....	12
6.1 Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	12
6.2 Description des échantillons et des traitements.....	15

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats des tests palynologiques de deux prélèvements réalisés lors de la fouille de l'Hôtel Dieu, tranche 9E zone nord à Lyon (69). 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 le service archéologique de la Ville de Lyon sous la direction de Mme A.-C. Le-Mer. L'étude a été commandée par Mr H. Tronchère, géomorphologue avec l'accord de son directeur adjoint Mr V. Rassart.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Les prélèvements ont été réalisés dans des structures interprétées comme des latrines de l'époque moderne et montrant des niveaux sédimentaires organiques. L'étude palynologique porte sur une sélection de 2 lots provenant des US 59 et US 65.

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

Site	Numéro d'US	Masse envoyée (g)	Datation	RQ
Hotel Dieu, tr. 9E zone nord	US 65	133	Ep. Mod.	Couche organique avec des macrorestes.
<u>Hotel Dieu, tr. 9E zone nord</u>	US 59	123	Ep. Mod	Couche organique avec des macrorestes.

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 OLYMPUS CX21).



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).

3. RESULTATS DES TESTS

Les résultats des tests sont donnés sous la forme d'un tableau de comptages représentant les effectifs des différents spores et pollens identifiés (Figure 2) .

Taxons \ Code Prélèvements		US 65	US 59
Pollens	Pinus	1	0
	Quercus	1	0
	Corylus	1	0
	Alnus	1	0
	GRAMINEAE	11	13
	CICHORIOIDEAE	5	3
	CHENOPODIACEAE	3	5
	BRASSICACEAE	5	4
	Plantago	1	0
	Centaurea	0	1
	APIACEAE	1	0
	Filipendula	2	0
	CYPERACEAE	8	6
Spores	Spore monolète	3	9
	Spore trilète	0	1
Non sporo-pollinique	Champignons lignicoles	0	1
	Cyanobactérie	0	3
Indéterminés		4	4
SOM. pollen (somme de base)		40	32
SOM. Sporo-pollinique		43	42
CONC. ABS Pollen (nb / ml)		2417	2062
CONC. ABS Pollen et Spores (nb / ml)		2598	2706

Figure 2. Opération archéologique de l'Hotel Dieu, TR9E zone nord, Ville de Lyon (69). 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 + pollen. 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 spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Ordre de priorité
US 65	40	43	32	2598	2417	Bon	13	taxons remarquables (Apiaceae, Brassicaceae)	1
US 59	32	42	30	2706	2062	Bon	8	Cyanobactéries caractéristiques de conditions eutrophes	2
TOTAL	72	85							

Figure 3. Opération archéologique de l'Hotel Dieu, TR9E zone nord, Ville de Lyon (69). 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.

4. PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats inégaux mais nous avons systématiquement détecté des pollens. Une quinzaine de taxons a été identifiée lors de ces tests.

Les résultats observés sont typiques des contextes archéologiques avec des échantillons montrant des concentrations faibles à moyennes. Nous ne constatons pas de conservations différentielles majeures (ex. prépondérance des Cichorioïdées) ce qui est plutôt caractéristique d'une bonne conservation de l'ensemble pollinique. Les diversités taxonomiques sont faibles.

L'échantillon de l'US 59 est apparu un peu moins favorable en ce qui concerne la conservation pollinique et le nombre de taxons constatés. En revanche, des spores de champignons lignicoles et des cyanobactéries, caractéristiques de conditions eutrophes ont été détectés dans ce prélèvement. Ce sont là des informations complémentaires au prélèvement de l'US 65.

En ce qui concerne le contenu pollinique, nous n'avons pas observé de taxons allochtones (ex. céréales), indicateurs directs de plantes cultivées. En revanche la détection de taxons polliniques comme les Brassicacées et Apiacées pourrait être un indice de plantes culinaires (ex. choux, carottes).

En tenant compte de l'état de conservation des pollens, de la diversité observée dans chaque prélèvement, mais aussi la détection de taxons «intéressants», un ordre de priorité parmi les deux prélèvements à étudier est proposé (Fig. 4).

Code des prélèvements	Ordre de priorité
US 65	1
US 59	2

Figure 4. Opération archéologique de l'Hotel Dieu, TR9E zone nord, Ville de Lyon (69), tableau récapitulant l'ordre de priorité des analyses palynologiques.

5. BIBLIOGRAPHIE

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.

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 le 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 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

Mission :

CAROTTE : Lyon HDT9E

Resp. Scientifique : GAUDIN Loic

Profondeurs			Pds humide	Pds Sec	Pds sed lave	Vol.	Res >150	Res>63	Tech.	Date	Rangement N° bac	Lieu de stockage
Base	Top	Replicat										
US 559 - palyno			34,102	24,308	17,578	10	9,994					
US 565 - palyno			31,379	22,795	18,351	10	9,602					

SERIE N°	Nom du demandeur	TECH	Date	Coul (N,B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Nu m (18)	NOM DE LA CAROTTE	TRONCON	Prof base	Prof top	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%	Filtration 8 postes	KOH chaud
2170	SAEZ	DL	08/08/2017	B	lycopodes	19332	6	US 559 - palyno				10	x	x	x		
2170	SAEZ	DL	08/08/2017	B	lycopodes	19332	7	US 565 - palyno				10	x	x	x		

filtration Ultrason(s)	Type de montage (G,L)	Date de montage	NB de lame	Résidu (I,M,F,N)	Lieu de stockage résidus	Incidents remarques observations
40						
40						

Figure 5. Description des traitements réalisés (UMR EPOC)