

## EL ESTUDIO DEL POLEN ANTIGUO: PROBLEMAS Y ESTRATEGIAS EN EL LABORATORIO

<sup>1\*</sup>Emilio Ibarra-Morales y <sup>2</sup>Beatriz Stephanie Fernández-Galán

<sup>1</sup>Laboratorio de Paleoetnobotánica y Paleoambiente, Instituto de Investigaciones Antropológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Deleg. Coyoacán, México, D.F. <sup>2</sup>Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. \*E-mail: emilioi@hotmail.com

### RESUMEN

En el Laboratorio de Paleoetnobotánica y Paleoambiente del Instituto de Investigaciones Antropológicas, se lleva a cabo el estudio de los restos botánicos recuperados principalmente de excavaciones arqueológicas realizadas por investigadores de la UNAM y de otras instituciones. Entre los restos botánicos se encuentran tanto semillas, como carbón y polen antiguo. A través de la experiencia se ha observado que la recuperación y concentración del material polínico depende de la calidad del sustrato en el que se encuentra. Se ha implementado una técnica de extracción que intenta concentrar el material polínico de una forma más adecuada. Experimentalmente se ha conseguido concentrar el polen de muestras de perfiles de suelo de un antiguo río al norte de la Cuenca de México.

**Palabras Clave:** Arqueobotánica, arqueología, excavaciones, palinología, polen.

### ABSTRACT

In the Paleoethnobotanical and Paleoenvironmental Laboratory of the Institute of Anthropological Research, a study of botanical remains recovered from archaeological excavations, conducted mainly by UNAM researchers and other institutions, is being carried out. Seeds, charcoal and ancient pollen are found among the main botanical remains. Through experience, it has been shown that the micro-remain recovery and concentration of the pollen material depends on the quality of the substrate. We have implemented an extraction technique that attempts to concentrate old pollen material. Experimentally, it has enabled us to concentrate old pollen samples from soil profiles of an ancient river, north of the Basin of Mexico.

**Key Words:** Archeobotanic, archaeology, excavations, palynology, pollen.

### INTRODUCCIÓN

Desde su fundación en 1976, el Laboratorio de Paleoetnobotánica y Paleoambiente (LPP) se encarga del análisis de material botánico recuperado en las excavaciones arqueológicas que realizan los investigadores del Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM, y otras instituciones tanto nacionales como extranjeras. A cargo de la doctora Emily McClung de Tapia, su propósito inicial era recuperar y analizar restos botánicos carbonizados procedentes de sitios arqueológicos y conformar una colección de referencia de semillas de plantas actuales y arqueológicas, así

como un acervo bibliográfico de manuales de identificación. Entendiendo a la Paleoetnobotánica, como la disciplina que se encarga de la interpretación de los restos botánicos obtenidos en excavaciones arqueológicas. El estudio detallado de dicha evidencia permite hacer inferencias con respecto a la forma de obtención y producción de las plantas, a las adaptaciones humanas a su entorno, a los usos dados a las plantas principalmente como alimento, en las prácticas rituales, medicinales, como materia prima para la construcción de viviendas, artículos artesanales y vestido. De igual forma se puede complementar con información obtenida a partir de la observación etnoarqueológica de los grupos humanos que aún practican métodos tradicionales en el uso de los recursos, así como de documentos del siglo XVI<sup>1</sup>.

Nota: Artículo recibido el 13 de marzo de 2012 y aceptado el 05 de junio de 2012.

Conforme se creaba la infraestructura necesaria para el análisis de los restos macrobotánicos (semillas y madera carbonizada), se gestó la idea de formar un espacio para el estudio de los microrrestos (**polen** y fitolitos)<sup>2</sup>.

### ESTUDIO POLÍNICO

La palinología es el estudio de los granos de polen (producidos por las angiospermas y gimnospermas) y las esporas (producidas por las pteridofitas, briofitas, algas y hongos). Ambos grupos difieren considerablemente en su función, pero tanto los granos de polen como las esporas (con algunas excepciones), son el resultado de la división celular que involucra la reducción a la mitad del número cromosómico (meiosis) y ambas estructuras necesitan ser transportadas para realizar su función adecuadamente<sup>3</sup>.

El polen y las esporas son similares en tamaño (frecuentemente entre 20 y 40 micras) y ambos están formados por paredes fuertes y resistentes pero son morfológicamente diferentes.

### APLICACIONES DE LA PALINOLOGÍA

El estudio y análisis de los granos de polen, tanto reciente como antiguo, puede considerarse de gran valor dentro de varias disciplinas como:

- Taxonomía.
- Estudios genéticos y evolutivos.
- Estudios mielíferos (melisopalinología).
- Estudios forenses.
- Alergología.
- Seguimiento de la vegetación histórica de:
  - 1) especies individuales.
  - 2) comunidades.
- Correlación de depósitos y asignación de fechamientos relativos
- Estudios de cambios climáticos.
- El estudio del impacto humano sobre la vegetación en el pasado (**arqueopalinología**).

El estudio polínico no es nuevo, ya que se ha realizado desde los años veinte y treinta del siglo pasado.

### GRANOS DE POLEN

Los granos de polen (especialmente de plantas terrestres) han desarrollado una capa celular externa muy resistente. Esta capa conforma la exina, que es una capa estructuralmente cerosa o resinosa químicamente resistente para minimizar los daños y proteger de la desecación a la delicada célula gamética.

La exina también es importante porque presenta características diagnósticas utilizadas para su identificación taxonómica, como son: 1. tamaño y forma; 2. número, disposición y forma de las aperturas de la pared, y 3. la estructura y ornamentaciones de la propia exina.

El polen de las plantas, cuyas dimensiones se encuentran en un rango general entre 5 a 200 micras (generalmente entre 20 y 50), es prácticamente invisible a la vista, sin la ayuda de la microscopía óptica y/o electrónica. Por lo tanto, es necesaria la aplicación de una metodología específica para la recuperación, extracción, montaje e identificación de su evidencia.

### NATURALEZA DEL SUSTRATO

La complejidad del proceso de concentración del polen en las muestras depende de la concentración original de los granos *in situ* y de la naturaleza del sustrato en la que se encuentra. Se dividen en: turbas ombrotóricas (la matriz es casi enteramente orgánica), turbas reotóricas (en la mayor parte de los sedimentos de origen lacustre (y otros suelos) existen cantidades variables de material mineral, ya sean silíceos o calcáreos). Si la concentración de estos materiales es alta, entonces es necesario eliminarlo, de lo contrario el polen contenido allí puede verse disminuido<sup>4</sup>.

La última etapa en el proceso de extracción polínica consiste en montarlas en laminillas para su observación, que permite: a) la correcta identificación de la mayor parte de los granos encontrados, y b) el conteo de las muestras de polen y esporas para conocer el total de la población de la muestra original. El tiempo empleado en el tratamiento de las muestras es positivo como resultado de la remoción de las partículas y la limpieza del polen del detritus, porque además de ahorrar tiempo durante el conteo, también permite su más exacta identificación<sup>4</sup>.

### MUESTREO

Para el estudio arqueopalinológico se requiere conocer las características del depósito antes de iniciar el muestreo. Asimismo, han de quedar perfectamente claros los objetivos y el tipo de información que busca el arqueólogo responsable de la excavación y con el método empleado se obtienen los resultados deseados para la recolección de las muestras, el área de trabajo puede ser:

- a) Una excavación a campo abierto.
- b) Lugares cerrados, como túneles y cuevas.
- c) Entierros.

A lo anterior se le puede aplicar, según sea el caso, tres formas de muestreo:

Vertical: nos proporciona una información diacrónica y debe restringirse a aquellos casos en los que se dispone de una secuencia estratigráfica inalterada que puede ponerse en relación contextual con los restos humanos y puede correlacionarse con una serie cronológica.

Horizontal: siguiendo la superficie de diferentes unidades estratigráficas bien acotadas (por ejemplo, la superficie natural sobre la que se erigió una estructura megalítica) o recogiendo muestras individualizadas del suelo de distintas estructuras

concretas, prescindiendo de lo que puedan aportar desde el punto de vista estratigráfico y/o cronológico.

Selectivo: se pueden elegir; sepulcros, el fondo de las vasijas, urnas funerarias, tejidos, etcétera<sup>5</sup>.

### TÉCNICA DE EXTRACCIÓN

Hasta el 2011, se utilizó la técnica de extracción polínica para sedimentos de Adam y Mehringer (1975)<sup>6</sup> (modificada en el LPP), que consiste en el sometimiento de la muestra a la acción de ácidos y bases fuertes para la desintegración del sustrato o matriz mineral y orgánica en las cuales se encuentra incluido el polen antiguo (Figura 1).

Esta técnica consiste en tomar 10 g de muestra, colocarla en tubos de centrifuga con agua destilada, posteriormente se incluye al ácido clorhídrico al 10% para eliminar los carbonatos, se centrifuga por 3 minutos a 3000 rpm, se decanta la muestra y se lava con agua destilada. Posteriormente, se adiciona hidróxido de potasio (KOH) al 10% para concentrar el polen. Se centrifuga y decanta. Para romper los agregados arcillosos se le agrega un detergente (pirofosfato de sodio al 5%) en agua caliente por 20 minutos. Se tamiza la muestra utilizando una malla del número 200 (74 micras de apertura), se recupera la fracción fina, se lava con agua destilada, y al final del primer día se le agrega ácido fluorhídrico (HF) al 48-51 % y se deja actuar de 12 a 24 horas para la eliminación de los silicatos.

El segundo día se descarta el HF, se lava con agua destilada y se repiten los pasos con HCl al 10% y de KOH al 10%, para la eliminación de los remanentes. Al final, se lava la muestra con agua destilada y alcohol absoluto, se recupera y se guarda el producto final de la extracción en frascos pequeños de vidrio con glicerol.

Una vez finalizado el proceso de extracción y separación, la muestra se incluye en gelatina glicerizada, se monta en laminillas para su observación, identificación y conteo en el microscopio óptico, opcionalmente se tiñe con fuccina ácida (afin a la exina del polen), para su observación e identificación con el microscopio óptico con la ayuda de manuales y claves fotográficas especializadas.

### CONSERVACIÓN Y CONTEO

A través de la experiencia, se ha observado que gran parte de la recuperación polínica depende directamente de la abundancia de ésta en los sedimentos, como por ejemplo, preservación y concentración de antiguos lagos. En el LPP, hemos obtenido excelentes resultados en muestras recuperadas de sitios como Tepexpan y Xaltocan, ambos se localizan en el margen norte del antiguo Lago de Texcoco (Figuras 2, 3 y 4).



Figura 2. *Zea mays* L. (10X).

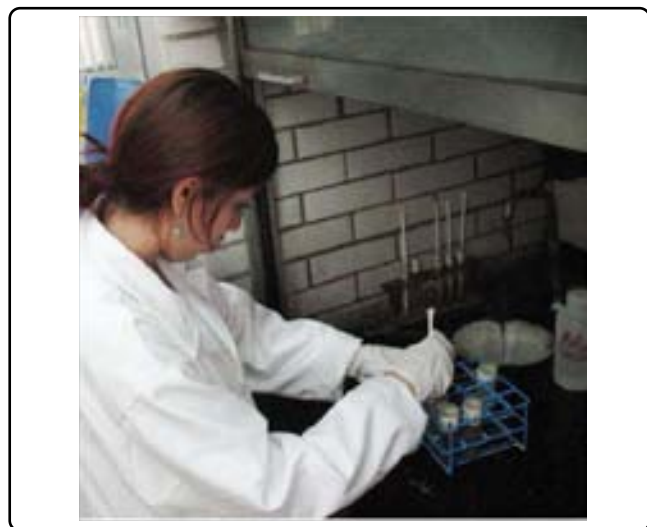


Figura 1. Extracción de polen antiguo en el LPP.



Figura 3. *Chenopodiaceae-Amaranthaceae* (40X).

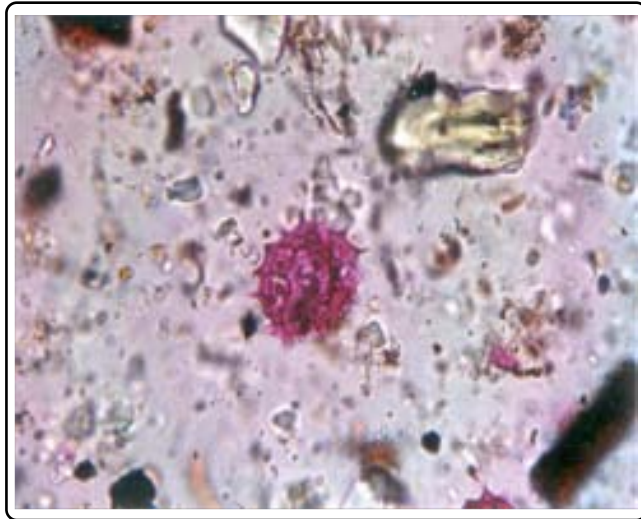


Figura 4. Asteraceae (40X).

Por otro lado, fuera de las zonas lacustres como las arqueológicas y naturales, el material polínico contenido es muy escaso y/o disperso y, generalmente, se contabilizan de 1 a 15 granos por laminilla revisada. Esto significa una gran inversión de tiempo para lograr los conteos mínimos necesarios.

Lo deseable es obtener conteos más numerosos (200 a 1000 granos) por muestra, para realizar diagramas polínicos representativos, pero si esto no es posible se realizan conteos parciales, estableciendo el criterio de presencia-ausencia para el análisis de las muestras.

### OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN

Actualmente se han introducido nuevas modificaciones a la técnica de Adam y Mehringer por el M. en C. Emilio Ibarra-Morales (LPP, IIA-UNAM) (Esquema I), con el objetivo de reducir a la mitad el tiempo empleado en la extracción de polen y lograr concentrar la mayor cantidad de palinomorfos presentes en las muestras.

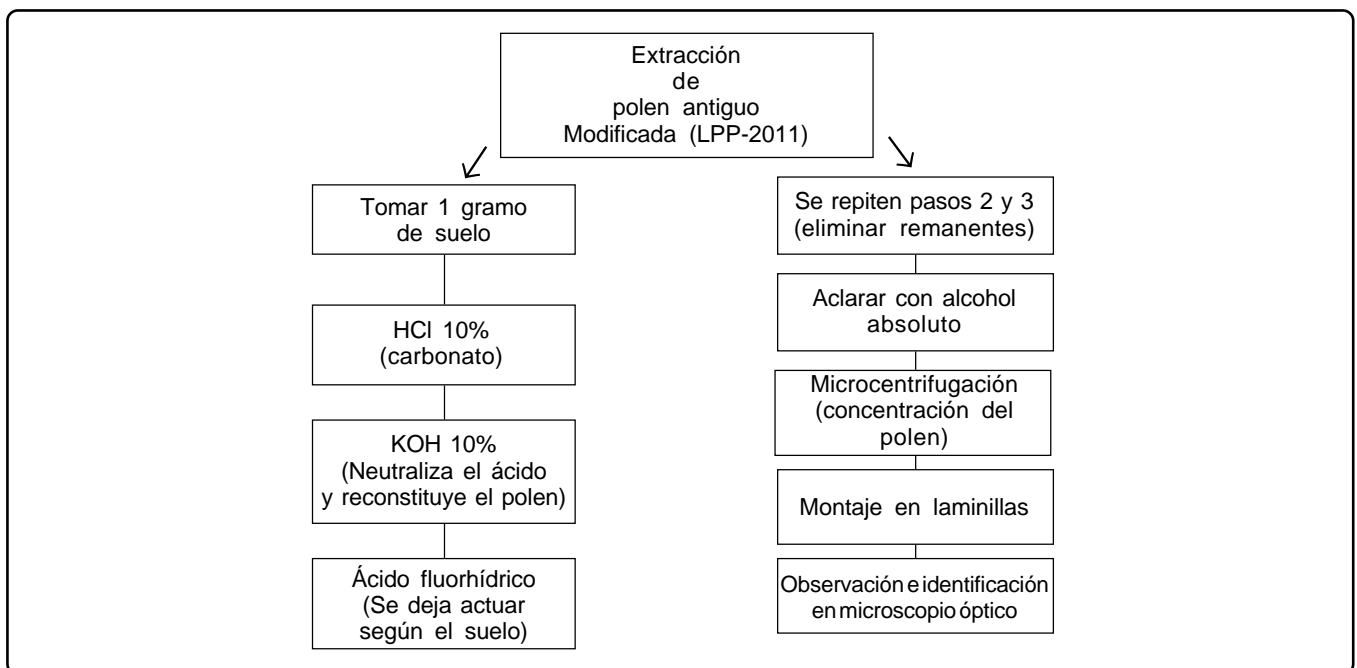
### RESULTADOS

Al modificar la técnica de extracción y reducir el volumen inicial (se reduce el volumen de materiales orgánicos e inorgánicos que van a “oscurecer” o interferir en el proceso), se elimina el lavado con pirofosfato de sodio, que originalmente se empleaba para la desintegración de los agregados de arcilla, lo que acorta el tiempo de exposición al ácido fluorhídrico concentrado a 2 horas (con esto se trata de evitar el mayor daño posible de la acción de este reactivo sobre la exina de los palinomorfos), y con la eliminación del tamizado de las muestras se evita que el polen de mayor tamaño (por ejemplo, *Abies* sp. y *Opuntia* spp.) quede atrapado en el sedimento que se desecha.

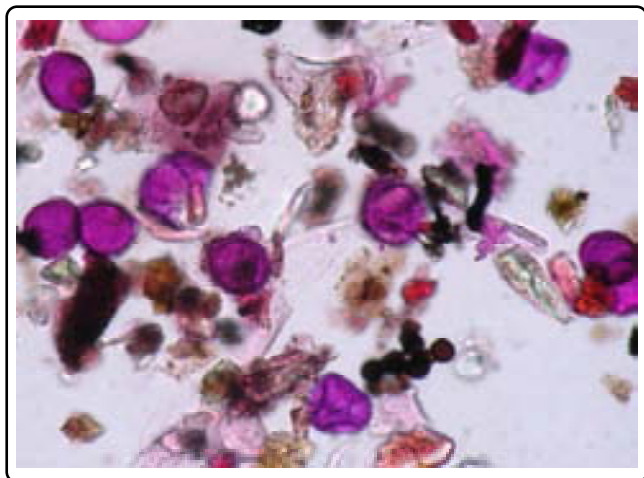
Con la utilización de la nueva técnica se ha logrado concentrar el polen en muestras procedentes de la orilla de un cauce de un antiguo río, al norte de la Cuenca de México, donde los conteos han aumentado de 10 a más de 100 por laminilla y se ha reducido el lapso de tiempo para el procesamiento de las muestras (Figuras 5 y 6).

### CONCLUSIONES

Esta técnica, se puede aplicar en el laboratorio relativamente sin



Esquema I. Método de extracción y concentración de polen antiguo en el LPP, IIA- UNAM.

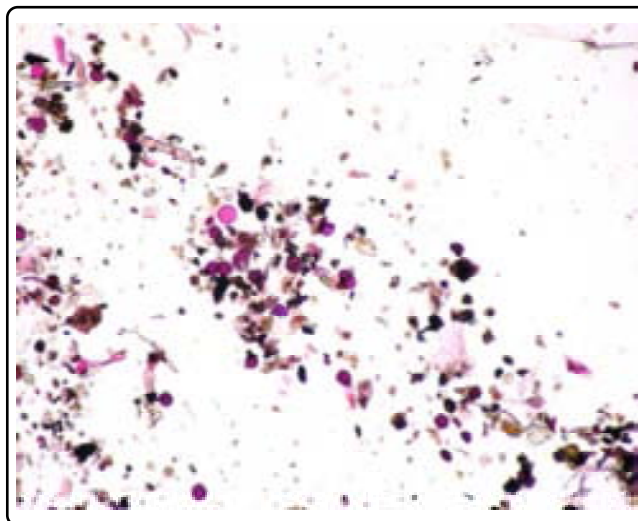


**Figura 5. Concentración polínica lograda con la nueva técnica (40 X).**

mayor problema, es rápida y se pueden obtener buenos resultados. Hasta este momento se ha trabajado con muestras procedentes de un sitio seco y con poca precipitación pluvial al norte de la Cuenca de México. Sin embargo, debe de tenerse en cuenta que existen diversos contextos donde existen factores que influyen en la preservación polínica como el tamaño de las partículas del suelo, la presencia de carbonatos, la concentración de las partículas de sílice y la humedad excesiva, entre otras.

## REFERENCIAS

1. Martínez Yrizar, D. Subsistencia mixta en el montículo 20b, La Campana-Santa Cruz Atizapán, Estado de México. Tesis, Maestría en Antropología. FFyL/IIA, UNAM (2007). 129 págs.
2. Martínez Y., D. & Ibarra M., E. Investigaciones Paleoetnobotánicas



**Figura 6. Concentración polínica donde también se observan restos de carbón microscópico y diversos tipos de esporas (10 X).**

en la Universidad Nacional Autónoma de México. Resúmenes del 53° Congreso Internacional de Americanistas. Ciudad de México (2009).

3. Sáenz de Rivas, C. Polen y Esporas (H. Blume Ediciones, Madrid, 1978). 219 pp.
4. Moore, P.D., Webb, J.A. & Collinson, M.E. Pollen Analysis (Blackwell Scientific Publications, London, 1991). 216 pp.
5. Iriarte, M.J. & Arrizabalaga, A. La aportación de la Palinología a la Arqueología de la Muerte. Planificando una estrategia. Kobie Serie Paleoantropología **29**, 73-84 (2010).
6. Adam, D.P. & Mehringer, P.J. Modern pollen surface samples-an analysis of subsamples. *J. Res. US Geol. Surv.* **3**, 733-736 (1975).