

## ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE RESTOS VEGETALES CARBONIZADOS DE CARÁCTER ARQUEOLÓGICO: IDENTIFICACIÓN DE ELEMENTOS HISTOLÓGICOS

*María Lelia Pochettino \* y Alicia R. Cortella \*\**

### 1. INTRODUCCIÓN

Los restos arqueológicos vegetales se recuperan en diferentes estados de preservación: carbonizados, desecados, congelados, incluidos en cerámica o adobes, o incluidos en coprolitos (Dimbleby 1967; Renfrew 1973). Dentro de ellos, los restos que más frecuentemente recibimos en el Laboratorio de Etnobotánica y Botánica Aplicada para su determinación son los desecados y carbonizados.

En el primer caso se recurre a técnicas de observación macroscópicas y, de ser necesarias, microscópicas, identificándose el material por comparación con colecciones de referencia y bibliografía sobre el tema.

Los restos carbonizados son los que presentan mayor dificultad para su determinación. Si bien se han registrado casos en que la preservación es excepcionalmente buena (Meyer 1980; Renfrew 1973), lo más frecuente es que se presenten fragmentados.

Resulta indispensable el análisis microscópico de estos restos ya que las muestras llegan en un estado tal de modificación que, en una primera instancia, debemos separar las vegetales de aquellas de distinto origen (animales y minerales). Posteriormente es necesario reconocer el tipo de órgano vegetal del que provienen dichas muestras (ejemplo: raíz, tallo, fruto, semilla) para, finalmente, tratar de identificarlas taxonómicamente por comparación con los vegetales presentes en nuestras colecciones.

\* Becaria de Perfeccionamiento de la Universidad Nacional de La Plata.

\*\* Investigadora del CONICET.

Laboratorio de Etnobotánica y Botánica Aplicada, Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, Paseo del Bosque s/n, 1900 La Plata, República Argentina.

Observamos que los tejidos pueden encontrarse total o parcialmente destruidos, razón por la cual buscamos los elementos histológicos e inclusiones celulares de diagnóstico que resisten el proceso de carbonización.

En el caso particular de la identificación de madera, el microscopio electrónico de barrido ha sido un instrumento de suma utilidad, pudiendo ser empleado también en otro tipo de muestras (Metcalf y Chalk 1979).

## 1 1. *Objetivos*

Los objetivos del presente trabajo son:

1. Exponer una nueva metodología para el estudio de restos vegetales carbonizados.

2. Identificar elementos histológicos e inclusiones celulares, presentes en los distintos órganos vegetales, que por sus características particulares resisten el proceso de carbonización.

3. Emplear estos caracteres como diagnóstico para la identificación de muestras.

Esto permitirá una mejor valoración del material vegetal dentro del contexto con que trabaja el arqueólogo, permitiendo realizar inferencias más afinadas y correlaciones más exactas.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras recibidas están conformadas por distintos tipos de órganos vegetales (los más comunes son raíces y tubérculos, tallos, frutos, semillas y fibras) desecados o carbonizados, de distinta procedencia geográfica.

Para la realización del presente trabajo hemos empleado los restos carbonizados procedentes de diversos sitios arqueológicos existentes en las colecciones del mencionado Laboratorio. Hemos utilizado muestras de maderas, frutos y semillas de distinto tipo y marlos de maíz. No hemos observado hasta el presente muestras carbonizadas de órganos subterráneos almacénadores ni de fibras.

A los efectos de su observación en microscopio óptico, hemos realizado raspados y cortes finos de las muestras. Como primer paso para su tratamiento empleamos técnicas de clarificación, diafanizado y lavado. En cada caso probamos los reactivos tradicionales citados en la bibliografía (Jensen 1962; Johansen 1940; Trease y Evans 1983; Youngken 1951) y otros cuyo uso no era mencionado en la misma.

Los clarificantes que resultaron más útiles fueron los que detallamos a continuación:

*Hipoclorito de sodio:* Utilizamos el comercial diluido al 50 % en agua des-

tilada. Si bien decolora el material carbonizado en pocos minutos, pudiendo observarse algunos elementos, su acción es muy drástica y puede destruir algunos tejidos. Asimismo, es necesario lavar muy bien el material antes de observarlo en microscopio para eliminar las burbujas que produce la liberación del cloro.

*Ácido láctico:* Usamos el comercial al 85 %, el cual decolora muy lentamente el material (y a veces la decoloración resulta insuficiente según el tipo de muestra) pero no destruye los tejidos. Para poder observar elementos es necesario dejar las muestras más de 48 horas sumergidas en este reactivo. Los preparados montados en ácido láctico pueden fijarse y observarse directamente.

*Peróxido de hidrógeno:* El uso de este reactivo (100 volúmenes) permite una decoloración rápida y la observación debe ser inmediata pues, si no, se destruye el material. También probamos distintas diluciones en agua destilada y la más efectiva resultó la solución al 50 %. Esta dilución decolora rápidamente el material y pueden observarse elementos al cabo de pocas horas. Si bien es necesario lavar el material previamente a su observación microscópica (pues se forman algunas burbujas), su acción no es tan drástica como la del hipoclorito de sodio.

Una vez decolorado y lavado el material, procedimos a su observación en microscopio óptico a los efectos de identificar los elementos que pudieran servir como diagnóstico. Los preparados fueron observados realizando barridos (es decir, recorriéndolos en su totalidad de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo y viceversa), pues es común que los elementos por analizar se acumulen en un sector, en tanto que en otras zonas no se encuentran.

Además, para ubicar las inclusiones celulares realizamos observaciones con luz polarizada y empleamos los siguientes colorantes diferenciales: I-IK (reactivo lugol) para almidón, Sudán para sustancias lipofílicas y ácido píctico para proteínas.

Hemos confeccionado dibujos de los materiales encontrados y obtenido fotografías de los mismos, tarea que en ocasiones se vio dificultada por la decoloración diferencial de las muestras que provocó absorción y reflexión diferencial de la luz, de modo que ciertos elementos quedaban ocultos.

Para la observación en microscopio electrónico de barrido hemos cortado pequeños cubos, los cuales fueron lavados en el alcohol 96° y montados en los tacos correspondientes con ayuda de lupa. En este caso también obtuvimos registro de los caracteres estudiados por medio de fotografías.

### *2.1. Precauciones indispensables para evitar contaminación*

Resulta imprescindible tomar todo tipo de recaudos a los efectos de evitar contaminaciones que distorsionen los resultados. Con tal propósito, en los preparados para observación microscópica, hemos empleado porta y

cubreobjetos sin uso previo y los limpiamos con tela de lino, ya que no deja fibras.

Asimismo, recomendamos a los especialistas que extremen los cuidados para que el material exhumado no se mezcle con elementos extraños al mismo, lo que llevaría a resultados erróneos. Es necesario que no entre en contacto con otro tipo de material vegetal, como algodón o papel. Lo ideal es colocar las muestras obtenidas en recipientes de vidrio o plástico, bolsas de polietileno o envolverlas en papel de aluminio.

## 2.2. *Instrumental utilizado*

El material fue observado en microscopio óptico Mikro Rossbach Mod. LAC y en microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-T 100.

Los dibujos fueron realizados utilizando ocular de dibujo E. Leitz Wetzlar y las fotografías fueron obtenidas con cámara fotográfica Olympus.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. *Microscopio óptico*

Mediante la aplicación de la metodología previamente detallada hemos podido observar los siguientes elementos histológicos e inclusiones celulares:

#### 3.1.1. *Elementos histológicos*

3.1.1.1. *Células o grupos de células*: No son muy frecuentes y se observan sobre todo aquellas que presentan cierto grado de rigidez en la pared. Las células que se han encontrado más a menudo son del tipo epidérmico (v.g. las características de gramíneas en marlo de maíz) (Fig. 1 c) y las presentes en cubiertas seminales (por ejemplo en porotos, algarrobos y chañar).

3.1.1.2. *Fibras y pelos*: Estos elementos se conservan prácticamente indemnes y son los más frecuentes. Asimismo pueden observarse sus características distintivas, tales como forma de los extremos, amplitud del lumen y longitud de la fibra, o forma y extremo del pelo (Fig. 1 a). Se encuentran en todas las muestras observadas que presentan cierto grado de rigidez, como madera y marlos, cubiertas de frutos y semillas o mesocarpos fibrosos.

3.1.1.3. *Elementos del tejido de conducción*: Constituyen también un tipo de elemento resistente y por lo tanto encontrado con frecuencia. Son útiles para la identificación del material por las características diferenciales de los engrosamientos de su pared. Los hemos observado en maderas, marlos y endocarpos (Fig. 1 b).

#### 3.1.2. *Inclusiones celulares*

3.1.2.1. *Granos de almidón*: En los frutos y semillas con contenido ami-

láceo, así como en madera, se encuentran granos de almidón pero en mucha menor frecuencia que en el material actual. Mantienen su forma típica y pueden teñirse con lugol, razón por la cual constituyen un carácter útil para identificar las muestras (Fig. 1 d). Suele desaparecer el hilo y pierden parcial y ocasionalmente su capacidad de polarización, lo que implica cierta desorganización de su estructura.

3.1.2.2. *Granos de aleurona*: Hemos observado masas amorfas que tiñen de amarillo con ácido pícrico, lo que indica su naturaleza proteica. Si bien al estar deformados los granos no sirven para identificar especies, su presencia o ausencia puede ayudar a confirmar o rechazar una determinación.

### 3.2. *Microscopio electrónico de barrido*

Los análisis realizados nos han permitido observar los siguientes caracteres:

3.2.1. *Patrón celular de la muestra*: Se puede observar la relación existente entre el lumen (cavidad) y la pared celular, así como las marcas o improntas dejadas por los contenidos celulares ya desaparecidos. Este análisis, por ejemplo, nos permitió la separación de dos variedades de *Phaseolus vulgaris*, para lo cual la observación con microscopio óptico no resultaba definitiva (Fig. 2 e y 2 f). Asimismo es posible diferenciar y localizar los distintos tipos de tejido presentes en los órganos estudiados.

3.2.2. *Fibras*: Se puede observar su ubicación dentro de los tejidos y su relación con los demás elementos (Fig. 2 g).

3.2.3. *Vasos, radios medulares, poros y campos de cruzamiento*: Estos elementos y sus características y disposición son indispensables para la identificación de madera, siendo perfectamente observables en microscopio electrónico de barrido, no así en microscopio óptico, donde se observan los elementos aislados (Fig. 2 h).

3.2.4. *Inclusiones celulares*: Resulta difícil su detección en microscopio electrónico de barrido ya que además del contenido típico de las células (que puede desaparecer) suelen encontrarse masas amorfas de cristales, probablemente producto de la carbonización, y de esporas, por contaminación que sufren los restos arqueológicos durante el largo tiempo que están preservados en el sedimento.

## 4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Mediante esta nueva metodología encontramos elementos que permiten una mejor aproximación a la determinación de los restos arqueológicos carbonizados.

Del instrumental utilizado, el microscopio óptico resulta importante en la descripción de los caracteres de células e inclusiones mientras que el microscopio electrónico de barrido aporta información sobre la distribución relativa de los elementos celulares en los tejidos y la ubicación de éstos en el órgano. Este último es muy útil fundamentalmente en la determinación de maderas, donde se pueden detectar los mismos caracteres que en la madera sin carbonizar. También en el caso de los órganos de reserva, permite observar las características del tejido almacenador donde, aunque sus sustancias ergásticas estén destruidas, hemos podido observar la impronta que ellas dejaron.

Este trabajo constituye una primera instancia en el análisis microscópico de los restos arqueológicos vegetales. Se pretende en el futuro realizar trabajos de tipo comparativo entre material arqueológico y actual empleando como diagnóstico los elementos e inclusiones aquí citados, así como estudios de tipo experimental, provocando la carbonización de muestras actuales cuya identificación botánica es conocida, a los efectos de observar y cuantificar la distorsión sufrida por esos elementos e inclusiones durante este proceso,

### *Agradecimientos*

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Lic. Jorge Carbonari y al Ing. Augusto Cardich por la lectura crítica del manuscrito y las oportunas sugerencias realizadas que contribuyeron a mejorar este trabajo.

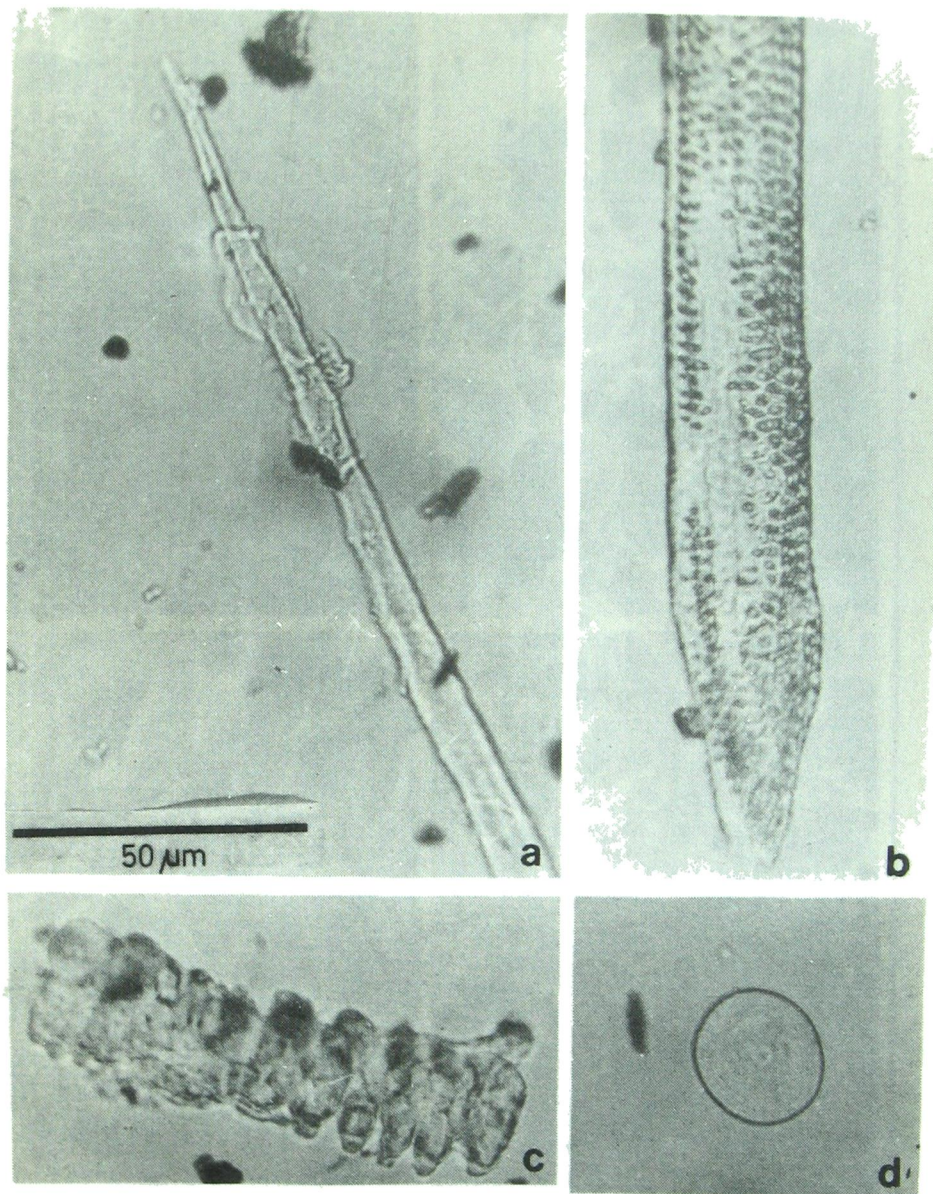
La presente contribución fue realizada con el apoyo financiero de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad de La Plata.

NOTA: Véanse las figuras correspondientes en el apéndice, al final de este volumen.

### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Dimbleby, G. W. 1967. *Plants and Archaeology*, Londres, John Baker.
- Jensen, W. A. 1962. *Botanical Histochemistry*, San Francisco-Londres, W. H. Freeman and Co.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*, Nueva York, Mc Graw Hill.
- Metcalfe, C. R. y L. Chalk. 1979. *Anatomy of the Dicotyledons*, 2ª edic. Vol. I. Oxford, Clarendon Press.
- Meyer, F. G. 1980. "Carbonized food plants of Pompeii, Herculaneum, and the Villa at Torre Annunziata", en *Econ. Bot.* 34 (4): 401-437.
- Renfrew, J. 1973. *Paleoethnobotany. The prehistoric food plants of the Near East and Europe*, Londres, Methuen & Co. y Nueva York, Columbia Univ. Press.
- Trease, G. y W. C. Evans, 1983. *Pharmacognosy*, 12ª edic., Londres, Boilliere Tindall.
- Youngken, H. 1951. *Tratado de Farmacognosia*, México, Atlante.

**APENDICE  
DE  
ILUSTRACIONES**



**FIGURA 1**

**a) Fibra donde se observa el extremo aguzado y el lumen ancho.**

**b) Elemento del vaso con puntuaciones areoladas.**

**c) Célula epidérmica de Gramínea.**

**d) Grano de almidón de *Zea mays*.**

**Escala de a) para b), c) y d).**



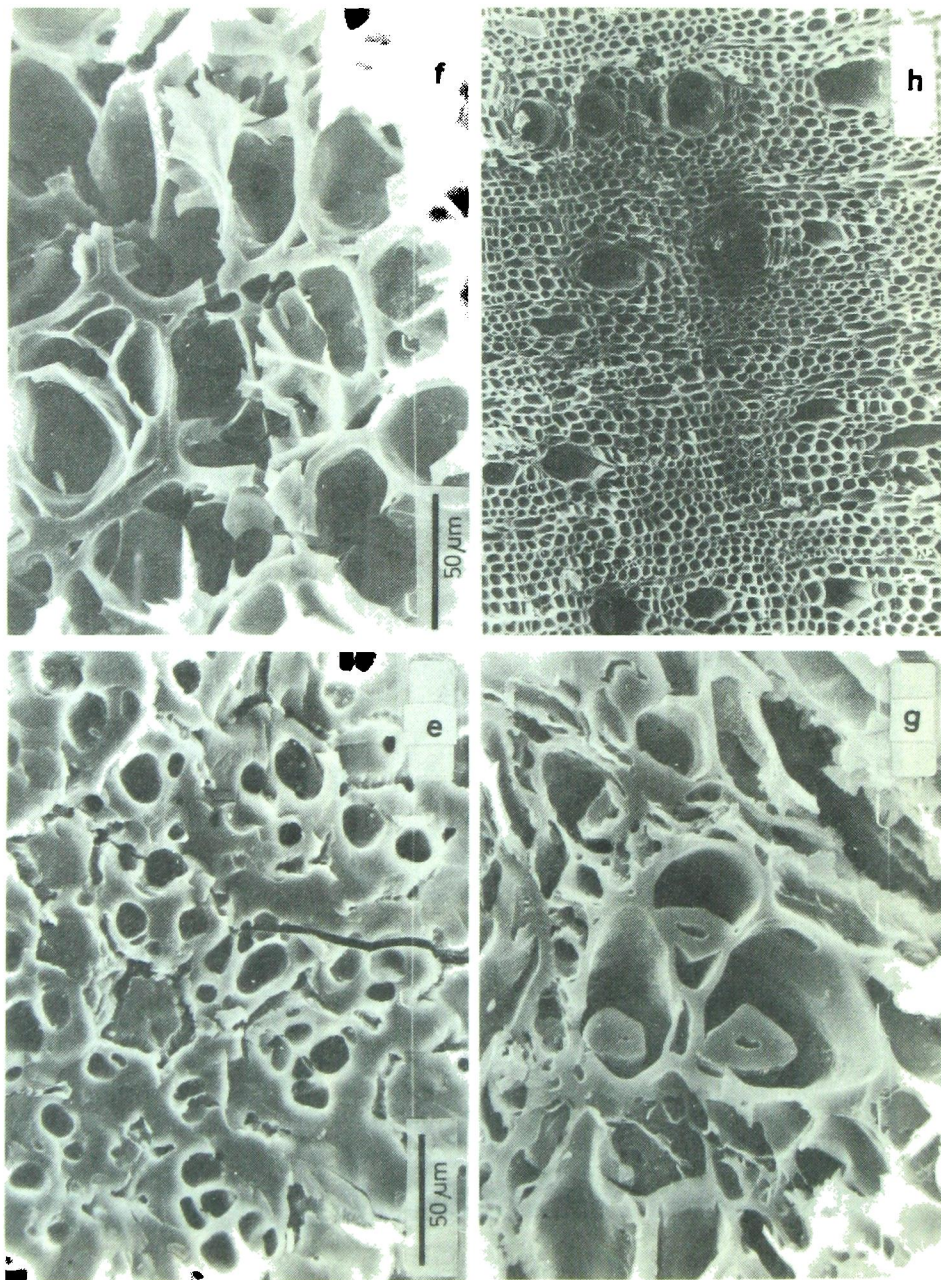


FIGURA 2

- e) Células con improntas de los granos de almidón en cotiledón de *Phaseolus vulgaris ssp. aborigineus*.
- f) Idem en cotiledón de *Phaseolus vulgaris ssp. vulgaris*.
- g) Sección transversal de fibras donde se observan restos de la pared celular y lumen.
- h) Corte transversal de madera.