Modifications de structure et de composition des biominéraux phosphatés des vertébrés

Yannicke Dauphin[1], Alain Denis[2]

[1] Institut de systématique, Evolution, Biodiversité, ISYEB – UMR 7205 CNRS MNHN UPMC EPHE
Muséum national d'Histoire naturelle, Paris

[2] Département « Géosciences », Université Paris 11

Qu'elle soit naturelle ou provoquée par un prédateur, la mort d'un organisme a pour conséquence immédiate sa dégradation. En effet, les cellules libèrent des enzymes, majoritairement des protéases, qui les détruisent : il y a autodestruction. Ce processus est la première cause de la différence de conservation entre les tissus mous et les tissus minéralisés. L'os contient des cellules, mais la dentine contient seulement quelques processus cellulaires, et l'émail n'en comporte pas. Les coquilles des mollusques, des brachiopodes, les squelettes des coraux, des échinodermes... en sont également dépourvus.

Si l'organisme a été la proie d'un prédateur, sa capture, puis son ingestion vont modifier sa structure et sa composition. L'action mécanique des becs, des dents, des griffes... peut fracturer les éléments minéralisés du squelette. Si le prédateur mastique sa proie, cette action mécanique est forte, et la salive commence la transformation chimique des tissus. Chez les oiseaux et certains reptiles, le gésier joue un rôle similaire. La digestion est le mécanisme le plus important pour la disparition des éléments les plus nutritifs : la chair. Selon la proie et le prédateur, l'action mécanique et chimique de la digestion peut plus ou moins affecter les tissus minéralisés, c'est à dire le squelette. Par exemple, l'émail des dents n'est pas protégé, alors que les os et la dentine le sont. Les modifications ne dépendent donc pas seulement de la nature du tissu, mais aussi de son exposition aux agents d'altération. Certains prédateurs broient les os et les dents, tandis que d'autres les rejettent.

L'étude de ces rejets (pelotes de régurgitation ou fèces), donne de précieuses indications sur la proie, mais aussi sur le prédateur (*cf.* chapitre 17). Cependant, il est rare que les pelotes soient récoltées immédiatement après leur rejet. Dans la plupart des cas, elles ont été soumises aux agents atmosphériques (gel, pluie...), mais aussi à des

bactéries, aux insectes, à des piétinements, etc. Les effets de ces agents externes sont parfois similaires à ceux de la digestion.

Si le squelette a résisté à ces étapes, intervient alors l'enfouissement. Le lessivage par l'eau est différent de celui qui existe en surface, car les produits solubles du sol ou du sédiment deviennent actifs, l'écoulement de l'eau est associé au mouvement des particules sédimentaires, etc. Jusqu'au moment où l'échantillon sera récolté, il subira des modifications ; une fois entreposé en collection, sa stabilité n'est pas assurée car doit s'établir un nouvel équilibre avec le milieu (déshydratation, changement de température par exemple). Or, les paramètres biogéochimiques sont couramment utilisés pour reconstituer les paléo-environnements, ou pour des datations absolues. Très tôt, les modifications provoquées par la fossilisation, la diagenèse, sur ces paramètres, ont donné lieu à des mises en garde. En outre, la variabilité de conservation des différents fragments osseux ou dentaires à l'intérieur d'un site fossile a été établie. Enfin la diagenèse différentielle entre os, émail et dentine d'un même squelette a été maintes fois détectée.

La plupart des études consacrées à l'établissement de l'état de conservation des restes fossiles repose sur des observations macroscopiques. Toutefois, des « *microscopical and chemical analyses of fossilized remains, conducted together with experimental work of artificial fossilization...* » sont recommandés par Efremov dès 1940 [1]. Identifier les stades successifs sur un squelette fossile n'est pas une tâche aisée. Cependant, elle est indispensable pour éviter les biais d'interprétation quand il s'agit de reconstituer la paléobiodiversité ou plus généralement le paléoenvironnement.

1 Os et dents actuels : références

1.1 Couleur

La couleur est parfois considérée comme un paramètre indiquant une modification. Ainsi os et dents sont décrits comme noirs quand ils sont brûlés, rougeâtres quand ils sont enrichis en oxydes de fer, etc. Mais la couleur peut être mesurée, afin d'obtenir des données plus précises.

Les os frais sont blanc rosé (Figure 1 : *Rattus*), parfois blanc jaunâtre, selon la technique choisie pour enlever les chairs ; ainsi un os mal dégraissé devient rapidement plus jaune. La tendance au blanc rosé est probablement due à des traces d'hémoglobine. La couleur jaune orangé des incisives de rongeurs est attribuée à une forte teneur en fer. Les teneurs élevées en fer de l'énaméloide de certains poissons renforceraient sa dureté [2].

1.2 Structure

1.2.1 Os

L'os contenant des cellules, il est donc considéré comme un « vrai » tissu. Il est en constant remaniement. Sa structure hiérarchique a été maintes fois décrite, bien que le nombre de niveaux varie selon les auteurs et les critères choisis [3, 4] (Figure 2). Typiquement, un os long comporte le périoste externe, une zone corticale ou compacte,

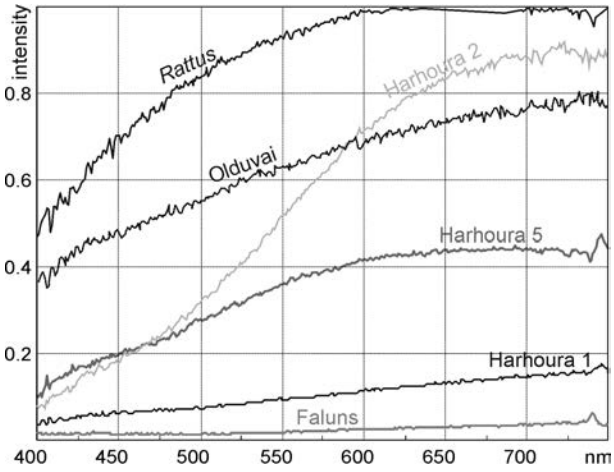


Figure 1 – Spectres de couleur en lumière visible de la surface d'os de rongeurs actuels (*Rattus*) et fossiles (Olduvai, El Harhoura).

une zone trabéculaire ou spongieuse autour de la cavité médullaire (Figure 3a), et l'endosteum interne. Le périoste, entièrement organique, adhère à l'os compact par l'intermédiaire de fibres collagéniques, appelées fibres de Sharpey. Au niveau des surfaces articulaires, le périoste est remplacé par du cartilage capable d'amortir les chocs. L'os compact est formé par les ostéones dont la structure concentrique lamellaire encercle un vaisseau sanguin. Selon leurs dimensions et le nombre de vaisseaux, et donc des canalicules, on distingue les ostéones primaires et secondaires (Figure 3a-c). Le nombre d'ostéones augmente avec l'âge de l'individu. L'os spongieux ou trabéculaire ne montre ni ostéones ni structure haversienne. Il représente environ 25 % en poids de l'os chez l'humain, mais en volume il constitue la majorité du tissu.

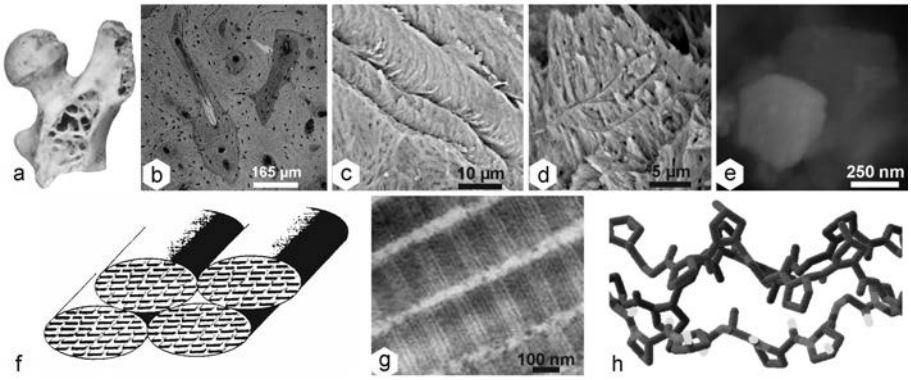


Figure 2 – Structure hiérarchique de l'os, de la vue macroscopique (a) à l'échelle moléculaire du collagène (h).

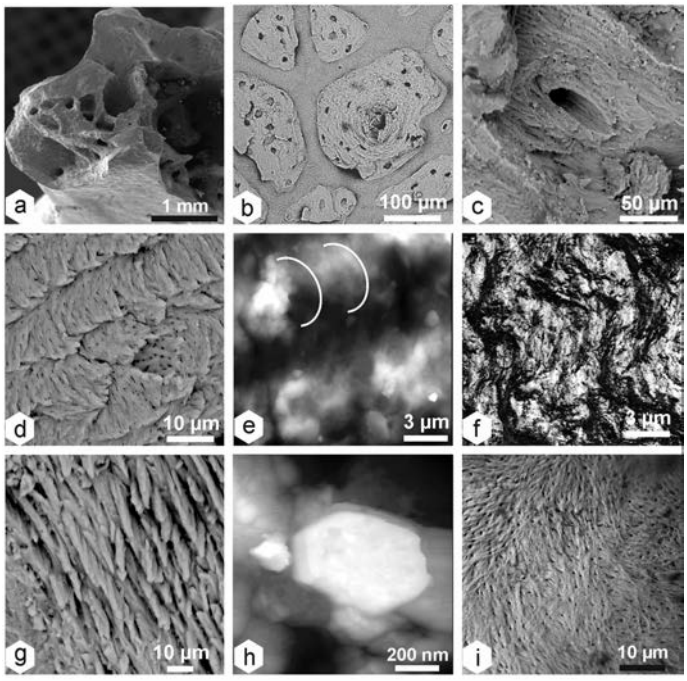


FIGURE 3 – Micro- et nanostructure d'os actuels. (a) os spongieux ; (b) structure haversienne et ostéones ; (c) structure concentrique autour d'un canal dans la structure haversienne ; (d-f) plywood structure de l'os lamellaire : image en microscopie électronique à balayage (d), image topographique (e) et contraste de phase (f) en microscopie de force atomique ; (g) cassure dans l'os lamellaire avec cristaux allongés et d'orientation différente dans deux lamelles adjacentes ; (h) cristal tabulaire de l'os ; (i) feutrage de matrice organique dans le fond d'un vaisseau.

La structure de l'os lamellaire, celui qui forme les structures concentriques des ostéones, est l'une des plus étudiées [4, 5]. Chaque lamelle dont l'épaisseur est de 5 µm environ, est formée de groupes de fibres collagéniques et de minéral dont les orientations diffèrent dans deux lamelles successives. Selon le plan de coupe, l'aspect de ces lamelles est varié (Figure 3d-g). Cette disposition est similaire à celle des structures lamellaires croisées des coquilles de Mollusques. Dans l'os, elle est décrite comme « plywood structure », et sa structure tridimensionnelle complexe a été étudiée par Giraud-Guille [6]. Les dimensions des cristaux, en moyenne 50*25*5 nm, les rendent difficiles à isoler et étudier. Ils sont décrits comme tablettes ou aiguilles, mais leurs dimensions correspondent à celles de cristaux aplatis (Figure 3h). La structure fibreuse de la matrice collagénique calcifiée n'est pas compacte (Figure 3i).

1.2.2 Dents

Les deux tissus minéralisés principaux sont l'émail et la dentine [7, 8]. Dans la majorité des taxons, l'émail est le seul visible quand la dent est en place. Les incisives de rongeurs constituent l'une des exceptions (Figure 4a), puisque seule la face labiale est recouverte par une couche d'émail. Plusieurs ouvrages sont consacrés à des descrip-

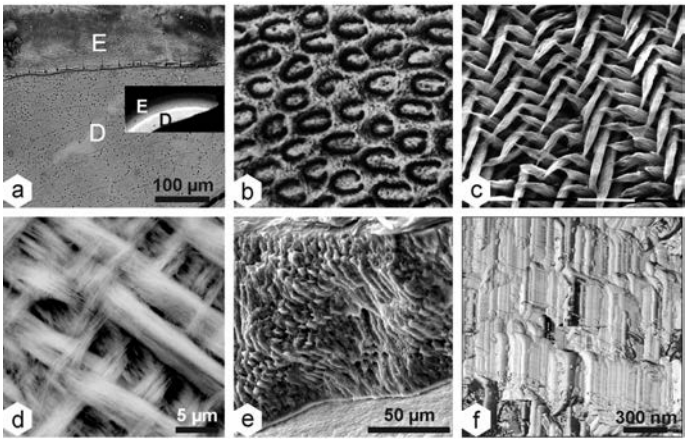


Figure 4 – Structure de l'émail dentaire actuel. (a) vue externe d'une incisive de rongeur montrant que la dentine n'est pas entièrement recouverte d'émail ; (b) structure dans une dent de taupe montrant les prismes bien individualisés ; (c) l'aspect de l'émail et de l'arrangement des prismes dépend du plan de coupe ; (d) détail montrant les orientations des prismes qui varient d'une couche à l'autre, et la structure composée de cristallites allongés dans chaque prisme ; (e) émail d'une dent de phoque montrant une autre disposition des prismes ; (f) détail des cristaux parallèles dans un prisme d'émail.

tions détaillées de la structure et de la mise en place des tissus dentaires. Parmi eux, citons celui édité par Berkovitz *et al.* [9], qui contient de nombreuses illustrations.

L'émail est caractéristique des reptiles et des mammifères. Sa structure est hiérarchique, plus ou moins complexe et caractéristique du taxon (Figure 4b-c) [10]. Il est composé de deux couches d'épaisseur inégale : une couche externe très fine, et une épaisse couche interne. Chez les mammifères, la couche interne est composée de prismes d'un diamètre de 5 microns en moyenne (Figure 4d-e), disposés selon des motifs divers (Figure 4b-e). Les prismes sont eux-mêmes composés de cristaux allongés (Figure 4f), parallèles entre eux dans un prisme donné.

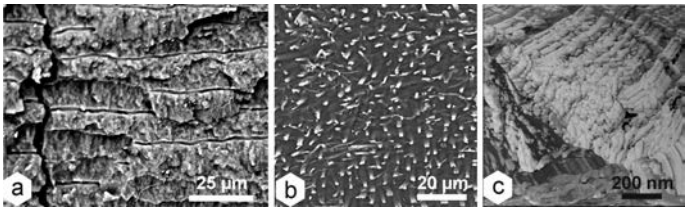


Figure 5 – Structure de l'orthodentine. (a) section verticale montrant les tubules parallèles ; (b) section transversale montrant la densité des tubules ; (c) ultrastructure du tissu dentinaire entre deux tubules.

La dentine, ou ivoire, constitue la majeure partie de la dent, et est entourée par le cément dans les racines. Contrairement à l'émail, sa structure n'est guère utile pour établir la position systématique d'un spécimen. Chez les mammifères et les reptiles, les tubules parallèles entre eux (Figure 5a), et perpendiculaires à la surface de la dent, contiennent des processus cellulaires (Figure 5b). Leur diamètre est de 1 à 3

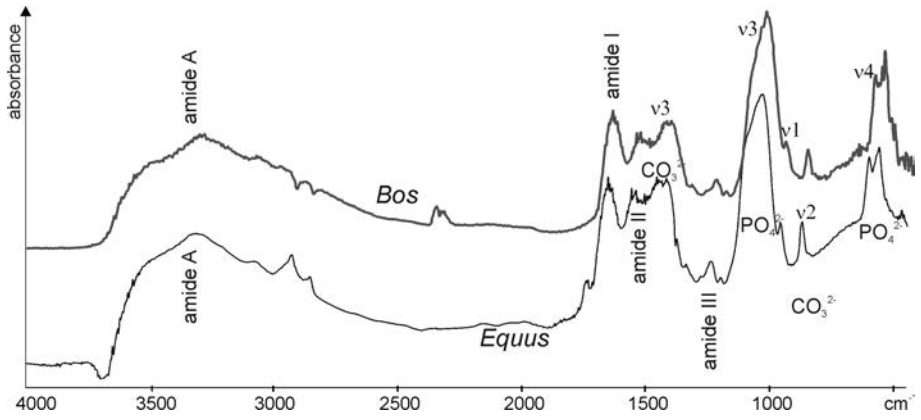


FIGURE 6 – Spectres infrarouges de deux os actuels montrant la nature organo-minérale et la similitude de la composition globale.

microns. Ce type de dentine est appelé orthodentine. Dans certains cas, la périphérie des tubules comporte une zone hyperminéralisée, la dentine péritubulaire. Selon les taxons, elle est régulièrement ou occasionnellement présente.

1.3 Composition

1.3.1 Os

Outre les cellules (ostéoclastes, ostéocytes et ostéoblastes), l'os contient des composés organiques extracellulaires et du minéral (un phosphate de Ca dont la dénomination est encore un sujet de controverse). Les proportions de ces composants diffèrent si elles sont exprimées en poids ou en volume [11]. Compte-tenu de la dualité de composition, les techniques d'étude relèvent de la biologie / biochimie pour les composés organiques extracellulaires, et de la géologie pour la phase minérale.

La composition globale des os de divers taxons est similaire, mais pas identique. Les spectres en spectrométrie infrarouge montrent ces similitudes, ainsi que la présence de minéral et de composés organiques (Figure 6).

Les proportions des trois composants (minéral, matrice organique et eau) varient selon les taxons (Figure 7). Ces proportions influent sur sa résistance mécanique, et sans tenir compte de son épaisseur, sur sa capacité à se fossiliser.

Les composés organiques sont analysés après déminéralisation, séparés en phases solubles et insolubles. Les composés extracellulaires sont majoritairement des protéines, le collagène de type I pouvant représenter jusqu'à 90 % de la matrice insoluble. Cependant, les spectres infrarouges montrent clairement la présence d'autres composants [13]. Les autres protéines sont regroupées sous le nom de « *non collagen proteins* » ou NCP. Elles sont acides, et leurs proportions dans un même individu évoluent avec l'âge. Les protéines sont le composant le mieux connu, car les techniques d'analyse se sont nettement automatisées. L'analyse des sucres et des lipides est plus complexe, et les données sont plus rares. La teneur en lipides atteint 155 µg/g dans un fémur

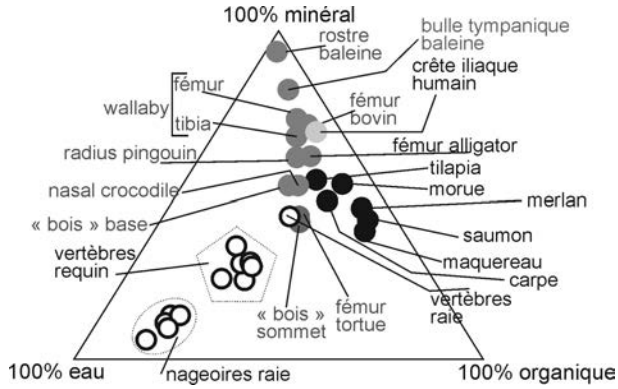


Figure 7 – Diagramme illustrant les proportions des composants d'os matures dans divers taxons [12].

de bovin [14]. Les phospholipides, du cholestérol et des acides gras ont cependant été mis en évidence [15]. La quantité de lipides serait plus importante dans l'os jeune que dans l'os adulte, et un complexe Ca / phospholipide / phosphate serait impliqué dans le stade initial de la minéralisation [16]. Les glycosaminoglycanes (anciennement mucopolysaccharides) associés à un noyau de protéines constituent les protéoglycanes. Les protéoglycanes associés au minéral représentent environ 20 % de la matrice organique de l'os autour des alvéoles dentaires et 12 % de la matrice organique de l'os dans le ramus. Keratane sulfate and chondroitine sulfate ont été identifiés, et les poids moléculaires peuvent être supérieurs à $2*10^3$ kDa [17, 18]. Cependant des composés sulfatés de poids inférieurs ont également été caractérisés : 55-65 et 79 kDa [19].

Il faut souligner que la littérature biomédicale sur l'os et les dents est très abondante, mais modérément utile pour le « taphonomiste ». En effet, la littérature récente est le plus souvent dédiée au rôle d'une protéine, ou d'une modification génétique induite pour une expérience précise. De plus, le nombre d'espèces utilisées dans ces recherches est très réduit. Or, pour tenter de déceler les modifications intervenant lors de la fossilisation, des données plus générales (poids moléculaires, acidité, etc.) sur les matrices extracellulaires sont nécessaires.

Les courbes de fluorescence des matrices organiques solubles et insolubles extraites d'os actuels ne sont pas identiques (Figure 8) ; cependant, il est délicat de déterminer l'origine de ces différences. L'os de bœuf était dépourvu de moelle, tandis que celui de *Papio*, bien que sec, était resté entier. Le « vieillissement » de la moelle et ses échanges avec l'os ont pu influencer la composition de ce dernier.

Les courbes de fluorescence nécessitent très peu de matériel, et sont aisées à obtenir. Lorsque le matériel extrait est plus abondant, la chromatographie liquide permet de connaitre l'acidité des composés organiques et/ou leurs poids moléculaires. Les profils d'élution en chromatographie d'échanges d'ions d'un os actuel et d'un os fossile du Quercy montrent que l'acidité des matrices organiques solubles est modifiée par la diagenèse (Figure 9) [20].

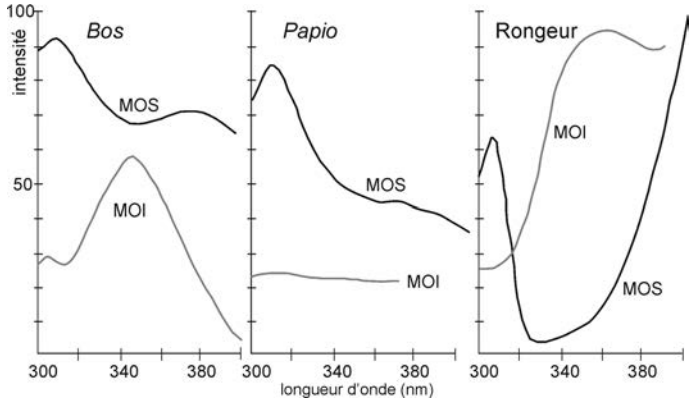


FIGURE 8 – Courbes de fluorescence des matrices organiques solubles (MOS) et insolubles (MOI) extraites d'os longs de trois taxons. Longueur d'onde d'excitation : 275 nm.

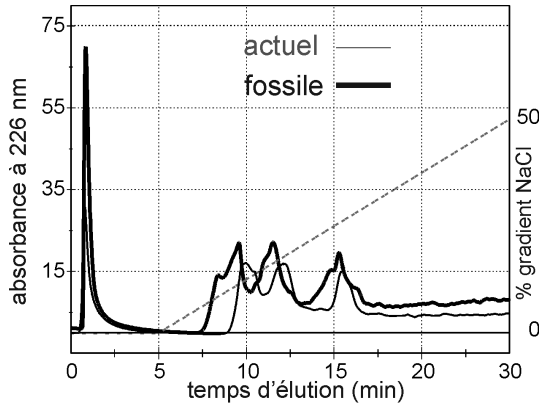


FIGURE 9 – Profils d'élution en chromatographie liquide montrant les modifications de la matrice soluble dans l'os fossile du Quercy [20].

La phase minérale est décrite comme une apatite, précédée d'un préfixe variable : carbonato- ou hydrox- ou hydroxyl. D'après les analyses en diffraction X, les cristaux sont des tablettes hexagonales, de faible cristallinité. Des ions CO_3 se substituent aux groupes PO_4 (substitution de type B) ou aux ions OH (substitution de type A) [21].

Aux deux éléments majeurs P et Ca, sont associés de très nombreux éléments mineurs (aussi appelés éléments traces), tels que Mg, Sr, S, Na. Le soufre est essentiellement lié aux composés organiques. Les deux éléments majeurs, P et Ca, ne sont pas dans un rapport stœchiométrique. Les teneurs en Fe, Mn et K sont faibles, et sont donc particulièrement utiles pour détecter des enrichissements *post mortem*. Les teneurs des rongeurs illustrées dans la Figure 10 ont été obtenues sur des animaux sauvages, alors que le cheval était un animal domestique. Dans l'ensemble, les teneurs en P et Ca des animaux d'élevage sont plus faibles que celles des mêmes espèces en milieu sauvage. Un phénomène identique a été observé pour les dents, qu'il s'agisse de reptiles ou de

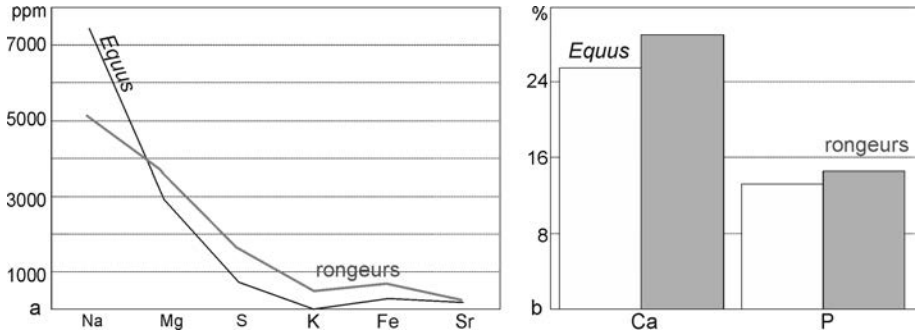


FIGURE 10 – Composition chimique élémentaire moyenne de l'os. (a) éléments mineurs ; (b) éléments majeurs.

mammifères. Il est probable qu'une alimentation régulière et abondante favorise une croissance rapide au détriment de la minéralisation.

Une technique rapide et demandant peu de matériel est l'analyse thermogravimétrique ou ATG. Quelques dizaines de mg d'échantillon sont soumis à un échauffement progressif jusqu'à 1 000°C pour les appareils les plus courants, et leur poids est constamment mesuré. La perte de poids de l'eau adsorbée n'est pas prise en compte si un palier est programmé à 100°C, avant la montée en température. L'eau de structure disparait ensuite, puis les composants organiques sont détruits, enfin les produits minéraux sont affectés. La température des étapes les plus importantes est mise en évidence en traçant la dérivée d'ordre 1 des courbes de perte de poids (Figure 11). Compte-tenu de la complexité de la composition des phases organiques, il n'est pas possible de préciser quel type de produit est détruit à telle température.

1.3.2 Dents

Les dents sont, comme l'os, en apatite. Cependant, leurs compositions diffèrent. Les proportions des composés organiques et minéraux, les protéines, les teneurs en éléments chimiques permettent de les caractériser. La dentine est riche en composés organiques, le collagène étant majoritaire. L'émail, par contre, est très minéralisé, et le collagène est minoritaire à tel point qu'il a été longtemps considéré comme absent. Malgré son fort taux de minéralisation (96 %), il contient de nombreuses protéines, y compris du collagène [22] et des kératines [23]. Les amélogenines constituent environ 90 % de la matrice organique. Les énamélines sont acides et selon les auteurs, leur poids moléculaire varie de 60 à 120 kDa ou de 180 à 190 kDa. La composition en acides aminés de l'émail n'est pas constante au cours du développement des dents (Figure 12). Par contre, d'un taxon à l'autre, les teneurs moyennes sont similaires [24].

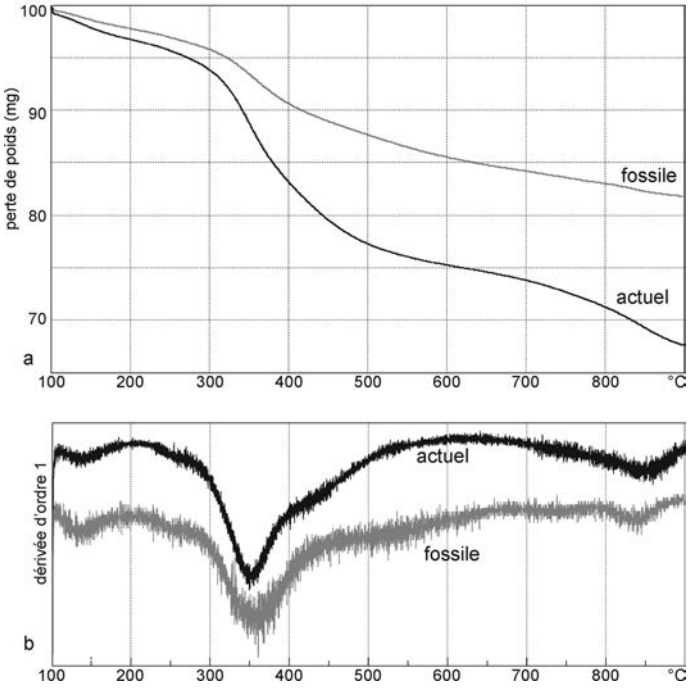


Figure 11 – Analyse thermogravimétrique d'un os actuel et fossile. (a) perte de poids en fonction de la température ; (b) dérivée d'ordre 1 mettant en évidence la température à laquelle la perte est la plus importante.

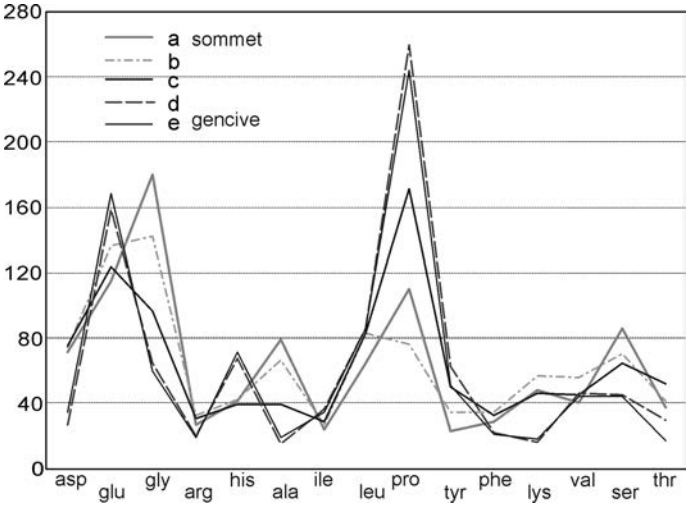


Figure 12 – Compositions en acides aminés de l'émail dentaire d'une incisive humaine en cours du développement, et dans les différentes zones d'une dent donnée [24].

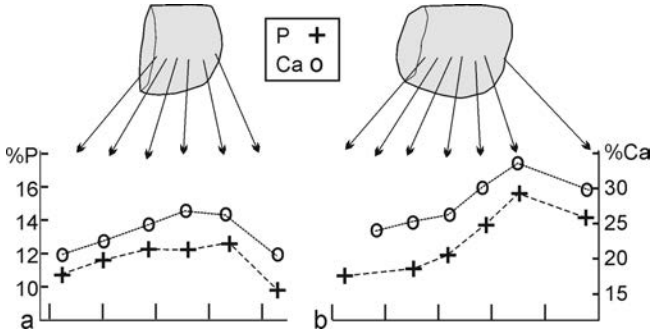


FIGURE 13 – Évolution des teneurs en P et Ca au sommet des incisives dans des embryons humains âges de 8 mois (a) et 9 mois (b) [27].

L'émail contient en moyenne 34 % de Ca et 17 % de P chez les mammifères. Les éléments mineurs les plus abondants sont Na et Cl. Les ions carbonate peuvent se substituer aux ions phosphate selon deux modalités (types A et B), et ces taux de substitution varient avec l'âge des individus [25]. Ces modifications influent sur la cristallinité. Les spectres Raman montrent que, comme les hydroxyapatites non biogéniques, l'émail contient des liaisons O-H, à la différence de l'os [26]. La composition des dents évolue au cours du développement individuel. Les teneurs en P et Ca diffèrent dans le sommet des incisives dans les embryons humains de 8 et 9 mois (Figure 13), et la répartition de ces deux éléments n'est pas uniforme dans une dent donnée [27].

Non seulement émail et dentine n'ont pas la même composition élémentaire, mais selon le mode de croissance des dents (hypsodonte, brachyodonte), les teneurs varient. Pour un individu donné, les teneurs en Mg de la dentine seront élevées dans les dents à croissance continue, et faibles dans les dents brachyodontes. Il n'y a pas de différences significatives similaires dans l'émail (Figure 14).

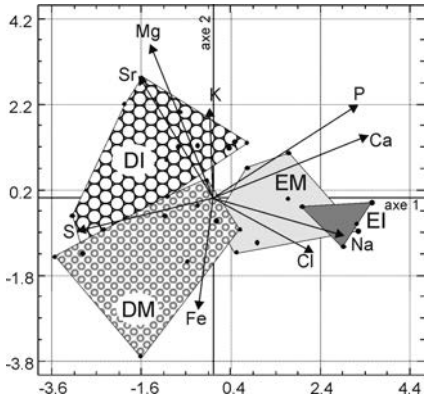


FIGURE 14 – Analyse multivariée (ACP) basée sur les compositions chimiques élémentaires de l'émail et de la dentine. DM = dentine des molaires (la plupart brachyodonte) ; DI = dentine des incisives (la plupart à croissance continue) ; EM = émail des molaires ; EI = émail des incisives.

2 Os et dents actuels soumis à la prédation

La prédation, cause principale de la mort des organismes, n'est cependant pas un épisode obligatoire dans la séquence d'évènements qui aboutit au fossile. Lorsqu'elle a eu lieu, elle intervient au stade antérieur à l'enfouissement, et les modifications qu'elle induit sont traitées dans le chapitre 17 de cet ouvrage. Outre les cas particuliers publiés dans une large gamme de journaux scientifiques, des exemples sont illustrés dans deux ouvrages récents [28, 29].

3 Os et dents fossiles

3.1 Couleur

La couleur des fossiles est rarement prise en compte, et est seulement descriptive dans la plupart des cas ; les os sont ocres, noirs, tachetés, etc. Dans un site donné, la couleur peut être très variable, et sans corrélation entre la couleur et la place de l'échantillon dans la colonne stratigraphique [30]. Dans d'autres sites, il y a une dominance : les os des Faluns de Touraine sont presque noirs (Figure 1), tandis que ceux de Tighenif sont encore très clairs. De rares études corrèlent la couleur des dents et des os à des analyses chimiques. La couleur noirâtre est ainsi parfois liée à de fortes teneurs de manganèse et de fer [31]. Mais il n'y a pas assez de données disponibles pour utiliser la couleur comme un indice de diagenèse, comme cela existe pour les conodontes.

3.2 Structure

3.2.1 Os

La plupart du temps, un os est décrit comme bien conservé lorsque sa morphologie est aisément reconnaissable. Son histologie (= microstructure) et sa composition ne sont pas prises en compte. En réalité, il y a peu, pour ne pas dire aucun lien évident entre la conservation de la morphologie et la structure / composition. Par exemple, les cavités naturelles de l'os spongieux d'un grand mammifère sont recouvertes par une fine couche de sédiment (Figure 15a) ; cependant, un examen des zones non encroûtées montre que la structure de cet échantillon est bien conservée (Figure 15b). Il est en de même pour les rongeurs (Figure 15c-f) : la surface est nettement érodée dans certaines régions (Figure 15d), mais la structure est visible (Figure 15e), avec parfois les cavités des ostéones remplies secondairement (Figure 15f). Un changement supplémentaire dans l'échelle d'observation fait apparaitre un phénomène similaire. La structure est identifiable sur des surfaces polies observées à l'AFM à des grandissements similaires à ceux du MEB (Figure 15g), mais des grandissements supérieurs montrent que les cristaux aplatis et aciculaires décrits dans l'os frais ne sont pas conservés (Figure 15h, i).

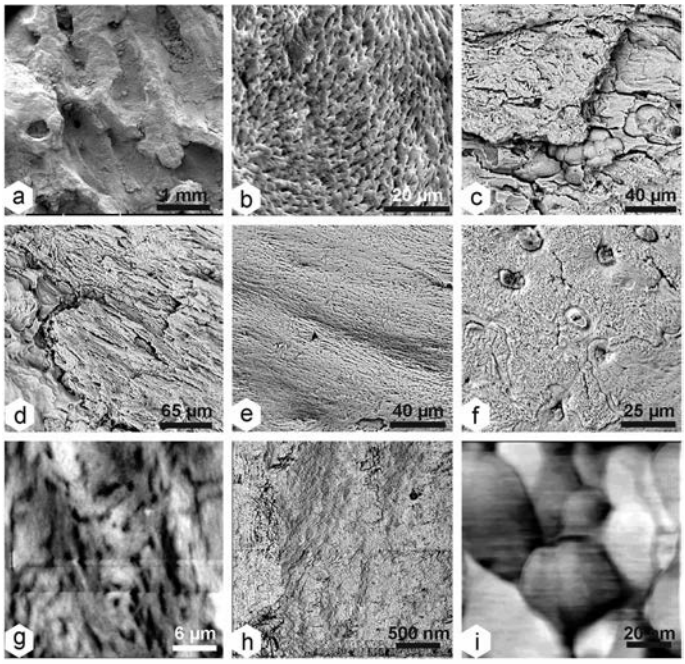


Figure 15 – Structures d'os fossiles. (a-f) : images de microscope électronique à balayage. (g-i) : images de microscopie à force atomique. (a) os spongieux d'un grand mammifère, dont les cavités contiennent du sédiment (Malawi, Plio-pléistocène) ; (b) dans certaines zones, la structure de l'os est bien conservée (grand mammifère, Malawi, Plio-pléistocène) ; (c-d) os de rongeurs dont la surface est écaillée (Olduvai, Pléistocène) ; (e) os de rongeur du même site dont la structure interne est bien conservée ; (f) os du même site avec les ostéones comblés par des dépôts non biogéniques ; (g) image topographique d'un os de rongeur montrant la similitude des images MEB et AFM à des grandissements similaires ; (h-i) les cristaux tabulaires de l'os frais ne sont plus visibles.

3.2.2 Dents

La conservation des dents est encore plus complexe. En effet, une dent qui sera enfouie alors qu'elle est encore en place dans l'os aura sa racine, majoritairement de la dentine, protégée, alors que la couronne (émail) sera très exposée aux altérations. Racine et couronne d'une dent isolée seront soumises aux mêmes conditions d'altération. Or dentine et émail n'ont pas les mêmes sensibilités aux agents taphonomiques.

Dans les zones où la couche d'émail superficiel (non prismatique) est amincie ou écaillée, la structure prismatique devient visible (Figure 16a, *). Les prismes deviennent disjoints, et leur structure interne apparait clairement (Figure 16b-c), qu'il s'agisse de petits ou gros mammifères. Plus riche en matrice organique, et formée de petits cristaux non organisés en unités plus grandes, la dentine résiste mieux aux attaques acides qui fragilisent l'émail. Elle sera par contre plus sensible aux conditions basiques et aux attaques enzymatiques. Les tubules sont généralement conservés (Figure 16d-f), mais dans une même dent, ils peuvent être vides ou remplis secondairement (Figure 16e).

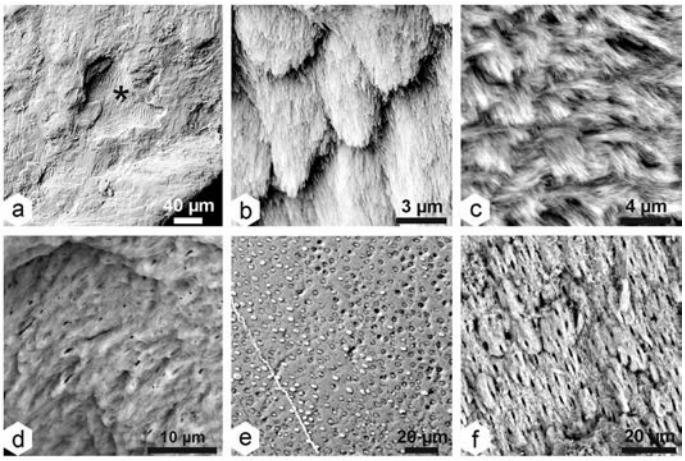


FIGURE 16 – Structures de dents fossiles. (a) la couche externe de l'émail partiellement écaillée permet de voir la structure sous-jacente (*) (gros mammifère, Malawi, Plio-pléistocène) ; (b) prismes disjoints dans une dent de grand mammifère du Malawi ; (c) *idem* dans une dent de rongeur du Maroc (Néolithique / Paléolithique moyen) ; (d) fracture oblique dans une autre dent de rongeur du même site, montant les tubules de la dentine ; (e) les tubules de la dentine présentent des états différents dans cette dent d'un gros mammifère du Malawi ; (f) cassure oblique montrant les tubules vides dans une dent de rongeur (Olduvai, Pléistocène).

3.3 Composition

Modifiée ou non, la microstructure des os et des dents ne donne que des indications partielles de l'état de conservation des fossiles. La minéralogie et la composition chimique apportent des compléments précieux. Ces deux paramètres ne sont pas redondants, car la cristallinité, la composition chimique élémentaire de l'apatite et ses composés organiques peuvent être fortement modifiés par la diagenèse, sans changement visible de la minéralogie.

3.3.1 Os

La comparaison des courbes de perte de poids entre un os de cheval actuel et un fossile montre que l'os fossile contient beaucoup moins de composés organiques que l'os actuel. Cependant, dans les deux cas, la perte de poids maximale se situe autour de 350°C (Figure 11). La variabilité de l'état de conservation peut être importante. Deux os de même âge géologique et de deux sites très proches géographiquement sont nettement différents. Celui provenant du site de Mwenirondo est très nettement enrichi en $CaCO_3$, et légèrement plus riche en composés organiques (Figure 17). Cependant, d'après une étude statistique de la composition chimique élémentaire, les os de Malema sont faiblement enrichis en Ca par rapport à ceux de Mwenirondo [32].

Les échanges entre fossiles et sédiment sont parfois très visibles. Dans l'ensemble, les os fossiles sont moins riches en composés organiques que les os frais. Ils sont donc relativement enrichis en « minéral », principalement en Ca et P. Les éléments les plus importants permettant de détecter ces échanges et leur influence sont généralement les éléments mineurs. Ainsi, les os des deux sites du Malawi sont enrichis en fer,

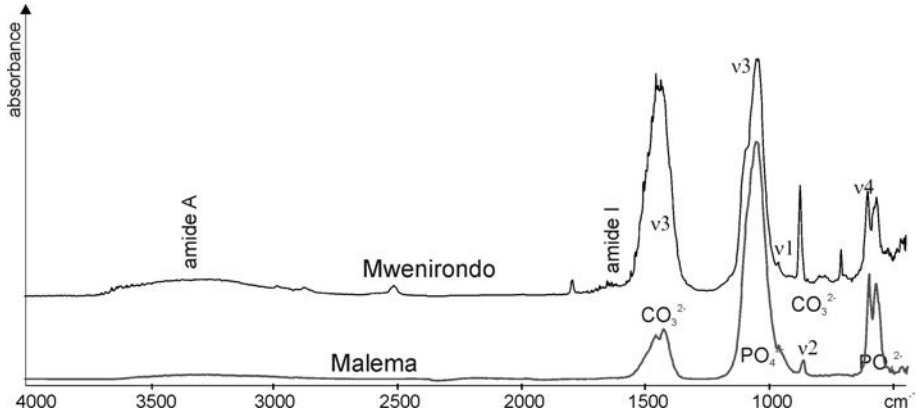


FIGURE 17 – Spectres infrarouges de deux os fossiles de grands mammifères du Malawi (Plio-pléistocène), montrant des différences malgré la proximité géographique des deux sites.

abondant dans le sédiment [32]. Cette « signature » est particulièrement visible lorsque dans une même étude statistique, des os de divers sites sont mélangés (Figure 18). Les spécimens des sites d'Olduvai sont enrichis en Na, Sr et Ba, présents dans les laves ultrabasiques de la région ; ceux de Tighenif sont enrichis en Fe et S. Les os de Laetoli sont incorporés dans le domaine de variation de Tighenif, tandis que ceux de Sterkfontein sont essentiellement enrichis en P et Ca.

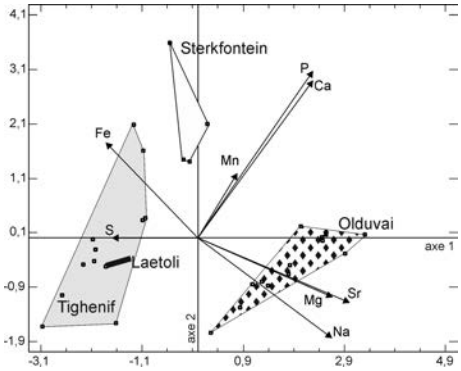


FIGURE 18 – Analyse statistique multivariée (en composantes principales) basée sur la composition chimique des os de rongeurs.

Afin d'apprécier les modifications réelles du tissu osseux, le choix de la technique d'analyse est crucial. L'os étant poreux, à diverses échelles, les analyses faites sur des poudres sont insuffisantes, car il n'est pas possible de séparer mécaniquement les pores remplis de sédiment et l'os *s. str.* Qu'il s'agisse d'analyses globales ou élémentaires, il convient de privilégier les techniques d'analyse localisée : ATR pour les analyses en lumière infrarouge, microsonde électronique (EDS ou WDS) pour la chimie élémentaire, microsonde ionique pour les isotopes par exemple. Si certaines techniques se veulent plus précises que d'autres, cette précision n'est guère utile si remplissage et tissu sont

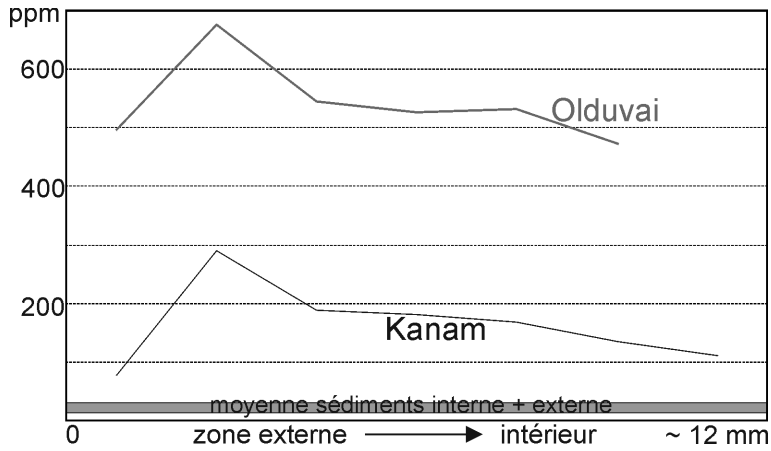


FIGURE 19 – Profils des teneurs en uranium dans des coupes transversales d'os longs montrant l'incorporation hétérogène de cet élément [33].

mélangés. Les analyses chimiques réalisées sur les terres rares (REE) de quelques os longs de sites fossiles montrent que le contenu peut varier de façon non négligeable sur une distance de 1 cm environ à travers la diaphyse d'os longs (Figure 19). Les profils dans les deux sites (Olduvai, Kanam) sont similaires, bien que les teneurs diffèrent. De plus, les teneurs des os sont, dans les deux cas, nettement supérieures à celles du sédiment, interne (cavité médullaire) ou externe [33].

3.3.2 Dents

L'évolution diagénétique des dents est complexe. Elle dépend de la position de la dent pendant et après l'enfouissement : dent isolée ou dent encore dans son alvéole avec une racine protégée par l'os. Lorsque la dent est isolée, émail et dentine sont soumis aux mêmes conditions, mais leur structure et leur composition initiales étant différentes, les deux tissus n'auront pas le même comportement. On trouve cependant certains points communs. Par exemple, les échantillons archéologiques ou fossiles (hors rites funéraires), sont plus riches en P et Ca que les actuels, mais dans l'ensemble, ces teneurs restent plus élevées dans l'émail des sites fossiles « naturels » (Tableau 1). La dentine des incisives des trois niveaux de Tighenif a perdu la plus grande partie du Mg [34]. Les teneurs en S semblent élevées, mais il faut vérifier si S est corrélé à Fe. S est abondant dans la matière organique, mais il peut être dans de la pyrite. Une vérification minéralogique s'impose dans de tels cas. Le sédiment des trois niveaux est meuble. Celui du niveau 7, le plus récent, est un sable argileux à fins lits ferrugineux. Le sable blanc du niveau 6 a quelques indices d'oxydation, tandis que le niveau 4 est également un sable, faiblement ferrugineux [35]. Ces différences ne semblent pas suffisantes pour expliquer celles relevées dans les dents de ces trois niveaux.

Le plus souvent, Sr, K et Mn sont en faibles quantités, en-deçà de la limite de résolution de la microsonde. Ces valeurs n'ont pas de signification absolue, mais l'absence de fortes teneurs de ces éléments est à prendre en compte dans l'interprétation et la reconstitution de l'histoire du site.

Tableau 1 – Composition chimique élémentaire des dents de rongeurs de 3 niveaux de Tighenif (Algérie).

			Na	Mg	S	K	Fe	Mn	Sr	Ca	P
Niveau 7	incisives	émail	5569	1015	790	195	950	46	625	332043	169194
		dentine	3371	381	1759	134	1362	29	365	307869	140171
	molaires	émail	6829	1173	441	316	1078	66	585	354092	183030
		dentine	4368	1002	2011	200	1218	76	641	283666	129984
Niveau 6	incisives	émail	6407	853	141	278	1233	0	411	374150	195749
		dentine	3047	1151	1332	118	978	17	472	347617	161211
	molaires	émail	6727	2036	440	185	737	62	956	335296	168627
		dentine	4115	3610	1637	225	2274	85	890	268742	122736
Niveau 4	incisives	émail	6987	998	98	105	805	15	787	345780	186360
		dentine	3863	1241	1543	62	2750	62	508	284712	138273
	molaires	émail	7263	2343	122	90	757	10	872	345844	181970
		dentine	3692	1794	1051	42	1878	43	535	282708	133166

Compte-tenu de la difficulté à séparer émail et dentine dans les dents de taille moyenne, et de la faible quantité de matière organique de l'émail, les données les plus abondantes concernent la dentine (ou ivoire). En fait, les premières données ont été établies sur des dents entières. La comparaison des composés organiques à haut poids moléculaire extraits de deux dents de dinosaures, qui ont un émail fin par rapport à celui des mammifères, met en évidence des différences de composition en acides aminés (Figure 20a). Dans certains spécimens, les acides aminés de la dent, donc majoritairement de la dentine, sont à peine plus abondants que ceux présents dans le sédiment (Figure 20b) [36].

Sur des échantillons plus récents et composés uniquement de dentine, les différences sont moins importantes (Figure 21), mais cela n'est pas toujours le cas.

4 Conclusion

Les quelques exemples de ce chapitre tentent d'illustrer la variété des états de conservation des échantillons, mais aussi les techniques d'étude disponibles. À l'échelle micro- et nanométriques, un ouvrage collectif [38] expose les avantages, inconvénients et limites de techniques récemment appliquées aux tissus biologiques.

Évaluer l'état de conservation d'un organisme fossile est difficile. Le plus souvent, un seul critère est utilisé (minéralogie, structure, forme...), mais cela est très insuffisant. Ces divers caractères d'un os ou d'une dent n'évoluent pas indépendamment au cours de la fossilisation, mais l'intensité et la cinétique des modifications ne sont pas identiques. Les conditions qui modifient la minéralogie ne sont pas sans influence sur les composés organiques, mais elles n'agissent pas avec le même degré d'intensité.

Un autre problème est la variabilité de l'état de conservation dans un site donné. De multiples exemples montrent que dans un gisement donné, un tissu donné n'a pas de

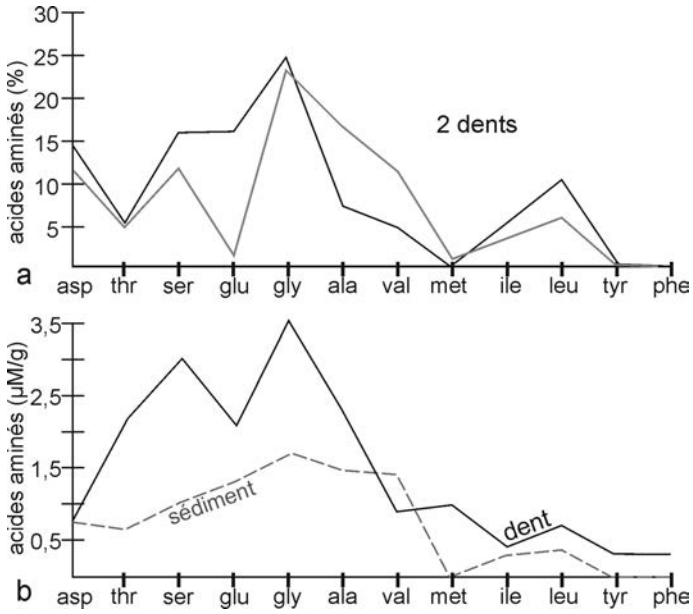


Figure 20 – Teneurs en acides aminés de deux dents de tyrannosaure du Crétacé de l'Alberta (a), et d'une dent de tyrannosaure et du sédiment encaissant (b) [36].

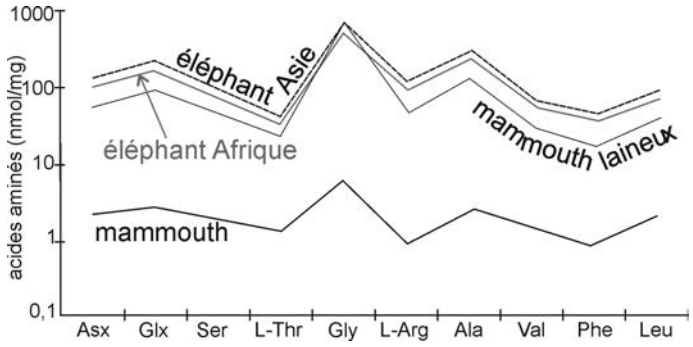


Figure 21 – Teneurs en acides aminés de l'ivoire d'éléphantidés actuels et fossiles [37].

structure ni de composition constante. La variabilité existe à l'intérieur même d'un spécimen. Les systèmes analytiques permettent maintenant de travailler sur quelques milligrammes, mais la question de la représentativité de ces petites quantités se pose.

Dans une étude des biominéraux, phosphatés ou calcaires, diverses options existent, et les choix dépendent des échantillons. Une progression dans les échelles d'observation doit être suivie. Le cas idéal comporte une étude de l'échantillon « entier », c'est à dire dans lequel les composés minéraux et organiques ne sont pas séparés. La plupart des échantillons comporte des pores, et ces pores sont souvent remplis de minéraux ou sédiments d'origine diagénétique. Les études basées sur de tels spécimens réduits en poudre ne permettent pas de déterminer ce qui est d'origine biogénique (le tissu),

et ce qui est sédimentaire. Les techniques d'étude localisées sont donc à privilégier, car il est impossible d'éliminer ces dépôts secondaires. En effet, les pores et cavités sont trop petits pour être vidés de leur contenu par des techniques mécaniques, et un nettoyage chimique va modifier le tissu. Lorsque les études sur l'échantillon « entier » ont permis d'établir sa composition globale (spectrométrie infrarouge ou Raman), sa minéralogie, sa micro- et nanostructure, etc., d'autres informations permettant de reconstituer l'histoire du spécimen sont obtenues par l'analyse des composés minéraux et organiques après leur séparation. Les possibilités sont trop nombreuses pour être citées ici [39].

La comparaison des résultats est également problématique. La technique de nettoyage et de préparation des spécimens n'est pas sans conséquence sur les résultats analytiques. De plus, il y a souvent un large choix de protocoles pour une technique donnée. Ainsi, pour la chromatographie liquide, le choix des colonnes, de l'éluant, de la température, d'un gradient... influe sur les résultats, qu'il s'agisse de la recherche des poids moléculaires, des proportions d'acides aminés, de l'acidité, etc. Bien que généralement les techniques d'étude soient répertoriées comme « invasives » et « non invasives », aucune technique n'est « non invasive ». Ainsi, la tomographie est généralement décrite comme n'affectant pas les échantillons. Elle est bien souvent abusivement utilisée alors qu'un simple examen au microscope électronique à balayage fournit les mêmes données. En fait, des altérations ont été à maintes reprises signalées sur des matériaux très divers, dont les os et les dents [40, 41].

Il n'est plus à démontrer que certains organismes se fossilisent plus facilement que d'autres, notamment ceux qui élaborent des biominéraux, mais cela n'exclut pas des différences entre taxons, dans un site donné. Dans une reconstitution de l'histoire d'un site, ou de sa datation à partir d'échantillons (biologiques ou non), il faut donc tenir compte de nombreux biais : ceux dûs à la taphonomie, à la fossilisation elle-même, mais aussi aux techniques d'étude et aux méthodes utilisées pour l'analyse de ces échantillons [42].

Références

[1] I.A. Efremov, Taphonomy : a new branch of paleontology. Pan American Geologist 74, 81-93, 1940.

[2] S. Suga, Y. Taki, K. Wada, M. Ogawa, Evolution of fluoride and iron concentrations in the enameloid of fish teeth. In : mechanisms and phylogeny of mineralization in biological systems, eds S. Suga, H. Nakahara, Springer Verlag, p. 439-446, 1991.

[3] H. Francillon-Vieillot, V. de Buffrénil, J. Castanet, J. Géraudie, F.J. Meunier, J.Y. Sire, L. Zylberberg, A. de Ricqlès, Microstructure and mineralization of vertebrate skeletal tissues. In : Skeletal biomineralization : Patterns, processes and evolutionary trends, ed. J. G. Carter, American Geophysical Union, Washington, D. C., p. 471-530, 1989.

[4] E. Beniash, Biominerals - hierarchical nanocomposites : the example of bone. Wiley Interdisciplinary Reviews : Nanomedicine and Nanobiotechnology 3, 47–69, 2011.

[5] S. Weiner, W. Traub, H.D. Wagner, Lamellar bone : structure - function relations. Journal of Structural Biology 126, 241–255, 1999.

[6] M.M. Giraud-Guille, Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. Calcified Tissue International, 42, 167-180, 1988.

[7] A.E.W. Miles (ed.), Structural and chemical organization of teeth. Vol. I (525 pages) et II (489 pages), Academic Press, London, 1967.

[8] B. Peyer, Comparative Odontology. University of Chicago Press, 347 pages, 1968.

[9] B.K.B. Berkowitz, A. Boyde, R.M. Frank, H.J. Höhling, B.J. Moxham, J. Nalbandian, C.H. Tonge, Teeth. Handbook of microscopic anatomy, volume 6, Springer Verlag, Berlin, 561 pages, 1989.

[10] W. von Koenigswald, P.M. Sanders (eds.), Tooth enamel microstructure. A.A. Balkema, Rotterdam, 280 pages, 1997.

[11] A.L. Boskey, Mineralization of bones and teeth. Elements 3, 387-393, 2007.

[12] J.D. Currey, The design of mineralized hard tissues for their mechanical functions. The Journal of Experimental Biology 202, 3285-3294, 1999.

[13] Y. Dauphin, Diagenèse des os et des dents. In : Manuel de taphonomie, eds. C. Denys, M. Patou-Mathis, Errance, Paris, p. 131-145, 2014.

[14] R.P. Eversheda, G. Turner-Walker, R.E.M. Hedges, N. Tuross, A. Leyden, Preliminary results for the analysis of lipids in ancient bone. Journal of Archaeological Science 22, 277-290, 1995.

[15] P. Mularchuk, A. Boskey Lipids in bone : Optimal conditions for tissue storage prior to lipid analyses. Calcified Tissue International 46, 57-59, 1990.

[16] A.L. Boskey, A.S. Posner, In vitro nucleation of hydroxyapatite by a bone calcium - phospholipid - phosphate complex. Calcified Tissue Research 22, Suppl. 1, 197-201, 1976.

[17] L. Vejlens, Glycosaminoglycans of human bone tissue. I. Pattern of compact bone in relation to age. Calcified Tissue Research, 7,175-190, 1971.

[18] R.J. Waddington, G. Embery, K.S. Lastab, The glycosaminoglycan constituents of alveolar and basal bone of the rabbit. Connective Tissue Research, 17, 171-180, 1988.

[19] R.J. Waddington, G. Embery, Structural characterization of human alveolar bone proteoglycans. Archives of Oral Biology 36, 859–866, 1991.

[20] Y. Dauphin, B. Lange-Badré, Evaluation de la conservation de l'os fossile : intégration des différents niveaux d'observation. Paläontologische Zeitschrift 74, 441-457, 2000.

[21] R.Z. LeGeros, O.R. Trautz, E. Klein, J.P. LeGeros, Two types of carbonate substitution in the apatite structure. Experientia 25, 5-7, 1969.

[22] Y. Açil, A.E. Mobasseri, P.H. Warnke, H. Terheyden, J. Wiltfang, I. Springer, Detection of mature collagen in human dental enamel. Calcified Tissue International 76, 121-126, 2005.

[23] O. Duverger, E. Beniash, M.I. Morasso, Keratins as components of the enamel organic matrix. Matrix Biology, 1016/j.matbio.2015.12.007, 2015.

[24] A.G. Fincham, Changing amino acid profiles of developing dental enamel in individual human teeth and the comparison of the protein matrix of developing human and bovine enamel. Archives of Oral Biology 25, 669-674, 1980.

[25] T. Leventouri, A. Antonakos, A. Kyriacou, R. Venturelli, E. Liarokapis, V. Perdikatsis, Crystal structure studies of human dental apatite as a function of age. International Journal of Biomaterials, doi :10.1155 /2009/698547, 2009.

[26] B. Wopenka, J.-D. Pasteris, A mineralogical perspective on the apatite in bone. Materials Science and Engineering C25, 131-143, 2005.

[27] D. Deutsch, I. Gedalia, Chemically distinct stages in developing human fetal enamel. Archives of Oral Biology 25, 635-639, 1980.

[28] Y. Dauphin, Diagenèse des os et des dents. In : Manuel de taphonomie, eds. C. Denys, M. Patou-Mathis, Errance, Paris, p. 131-145, 2014.

[29] J.P. Brugal, Y. Dauphin, C. Denys, Processus taphonomiques et diagenétiques : quelques exemples. In : Message d'os - archéométrie du squelette humain et animal, eds. M. Balasse, J.P. Brugal, Y. Dauphin, E.M. Geigl, C. Oberlin, I. Reiche, Editions des archives contemporaines, Paris, p. 95-112, 2015.

[30] Y. Dauphin, R. Nespoulet, E. Stoetzel, M.A. el Haijraoui, C. Denys, Can colour be used as a proxy for paleoenvironmental reconstuctions based on archaeological bones ? El Harhoura 2 (Morocco) case study. Journal of Taphonomy 10, 2, 69-84, 2012.

[31] E.L. Brown, R.A. Dixon, J.W. Birkett, The discolouration of human teeth from archaeological contexts : elemental analysis of a black tooth from a roman cranium recovered from the River Witham, Lincoln, UK. Journal of Anthropology doi : 10.1155/2014/859153, 2014.

[32] O. Sandrock, Y. Dauphin, O. Kullmer, R. Abel, F. Schrenk, C. Denys, Malema : Preliminary taphonomic analysis of an African hominid locality. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences 328, 133-139, 1999.

[33] K. Janssens, L. Vincze, B. Vekemans, C.T. Williams, M. Radtke, M. Haller, A. Knöchel, The nondestructive determination of REE in fossilized bone using synchrotron radiation induced K-line X-ray microfluorescence analysis. Fresenius Journal of Analytical Chemistry 363, 413-420, 1999.

[34] Y. Dauphin, A. Denis, C. Denys, Diagenèse des micromammifères de trois niveaux du Plio-Pleistocene de Tighenif (Algérie) - Comparaison avec des pelotes actuelles de régurgitation de rapaces. Kaupia 9, 35-51, 1999.

[35] D. Geraads, J.J. Hublin, J.J. Jaeger, H. Tong, S. Sen, P. Toubeau, The pleistocene hominid site of Ternifine, Algeria : new results on the environment, age, and human industries. Quaternary Research 25, 380-386, 1986.

[36] P.H. Ostrom, S.A. Macko, M.H. Engel, J.A. Silfer, D. Russell, Geochemical characterization of high molecular weight material isolated from Late Cretaceous fossils. Organic Geochemistry 16, 1139-1144, 1990.

[37] M. Buckley, N. Larkin, M. Collins, Mammoth and mastodon collagen sequences ; survival and utility. Geochimica et Cosmochimica Acta 75, 2007–2016, 2011.

[38] E. DiMasi, L.B. Gower (eds.), Biomineralization source book : Characterization of biominerals and biomimetic materials. CRC Press, Boca Raton, 432 pages, 2014.

[39] Y. Dauphin, J.P. Brugal, Taphonomy. In : Archaeology, Eds.UNESCO-EOLSS Joint Commitee, in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Eolss Publishers, Paris, France, ../diagenese/%5bhttp :/ www.eolss.net%5d, 43 pages, 2013.

[40] H.D Barth, M.E. Launey, A.A. MacDowell, J.W. III Ager, R.O. Ritchie, On the effect of X-ray irradiation on the deformation and fracture behavior of human cortical bone. Bone 46, 1475–1485, 2010.

[41] G.D. Richards, S. R. Jabbour, C.F. Horton, C.L. Ibarra, A.A. MacDowell, Color changes in modern and fossil teeth induced by synchrotron microtomography. American Journal of Physical Anthropology 149, 172-180, 2012.

[42] S. Weiner, Microarchaeology - Beyond the visible archaeological record. Cambridge University Press, 414 pages, 2010.