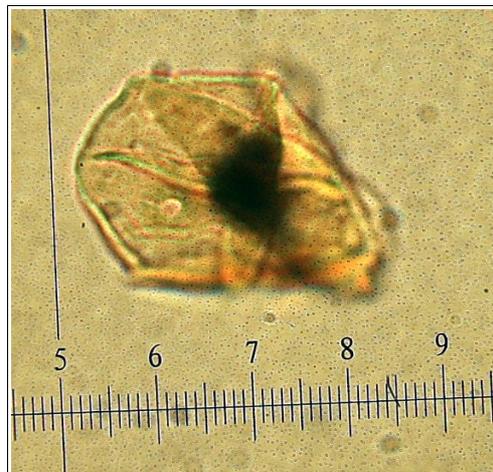




ArkéoMap

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



TESTS PALYNOLOGIQUES RÉALISÉS SUR DEUX PRÉLÈVEMENTS DU BASSIN SÉDIMENTAIRE DE KANDI, COMMUNE DE MALANVILLE (BÉNIN).

**Faculté des Sciences et Techniques, Département de Géologie
de l'Université Abdou Moumouni**

Rapport sur les tests palynologiques

Avril 2018

**Faculté des Sciences et Techniques, Département de Géologie de
l'Université Abdou Moumouni**

BP 10662 Niamey

Prélèvements du bassin sédimentaire de Kandi – commune de Malanville (Bénin)

Références des échantillons étudiés :

D3 et A8

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

Avril 2018

Illustration de la page de couverture : Pollen de Poaceae (Graminée) observé dans le prélèvement D3. 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.....	12
5. BIBLIOGRAPHIE.....	13
6. ANNEXE.....	14
6.1 Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	14
6.2 Description des échantillons et des traitements.....	17

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats des tests palynologiques de deux prélèvements réalisés dans le bassin sédimentaire de Kandi (commune de Malanville, Bénin). Le sujet de thèse de M. ISSIFOU FATIOU Adiss Kamal porte sur l'étude géologique du minerai de fer oolithique du bassin de Kandi. L'objectif en faisant une étude palynologique est de reconstituer l'environnement de dépôt des sédiments pourvoyeurs de minéralisation.

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

Les prélèvements ont été réalisés par M. ISSIFOU FATIOU Adiss Kamal. L'étude a été commandée avec l'accord de son directeur M. Mamane Kache.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Les prélèvements ont été réalisés dans un bassin sédimentaire. Les échantillons présentaient une forte dominance minérale, (minerai de fer), à priori peu favorable à la conservation des restes organique.

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

Site	Numéro d'US	Masse totale (g)	RQ
Bassin de Kandi, Malanville	A8	232	Forte dominance minérale
Bassin de Kandi, Malanville	D3	216	Forte dominance minérale

Fig.1 – Listes des lots étudiés.



Fig.2 – Échantillon A8, avant extraction (l'échantillon D3 présentait un aspect semblable)

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 pollens, pores et quelques microfossiles non polliniques (MNP) identifiés (Figure 2) .

	Taxons \ Code Prélèvements	PLV D3
Pollen	GRAMINEAE	7
Spores	Spores	7
Non pollinique	Indéterminés	16
	SOM. pollen (somme de base)	7
	SOM. Sporo-pollinique	14
	CONC. ABS Pollen (nb / g)	643
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / g)	1286

Figure 2. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Comptages correspondant aux pollens, spores et microfossiles non polliniques déterminés dans le prélèvement testé. 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 masse (g) de sédiment.

Code des prélèvements	Nombre de pollens comptés	Nombre de spores et pollens comptés	Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Ordre de priorité
Échantillon D3	7	14	31	1286	643	Très mauvais	2	Forte dégradation des pollens	4

Figure 3. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/g 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.



Figure 4. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'une enveloppe de spore monolète (Pteridophyte ?) grossissement x500. L'échelle représente des micromètres (une unité = 2 μ m).



Figure 5. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'un reste d'enveloppe (?), grossissement x500. L'échelle représente des micromètres (une unité = 2 μ m).

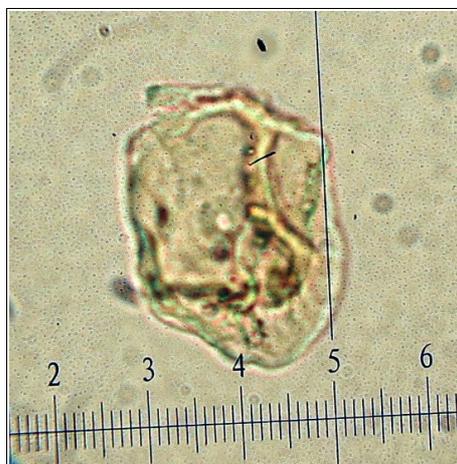


Figure 6. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'un pollen de Poaceae (Graminée) grossissement x1000. L'échelle représente des micromètres (une unité = 1 μ m).

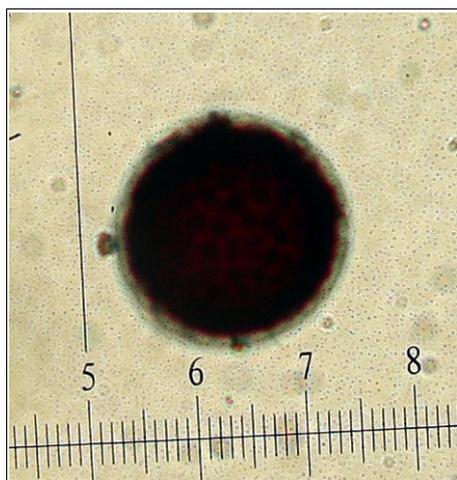


Figure 7. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'un spore opaque (microscope fongique?) avec ornementation, grossissement x1000. L'échelle représente des micromètres (une unité = 1 μ m).



Figure 8. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'un pollen (?), spore (?), indéterminé, grossissement x1000. L'échelle représente des micromètres (une unité = 1 μ m).



Figure 9. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'un spore opaque indéterminé, (microreste fongique?), grossissement x500. L'échelle représente des micromètres (une unité = 2 μ m).



Figure 10. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'une enveloppe de spore (?), grossissement x500. L'échelle représente des micromètres (une unité = 2 μ m).

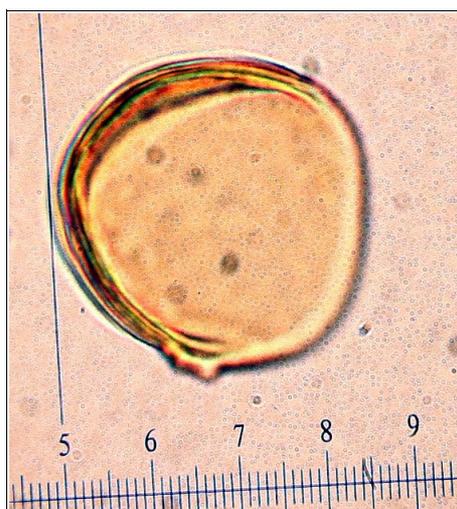


Figure 11. Prélèvement D3, Malanville (Bénin). Photographie d'une enveloppe de spore (amerspore ?, microreste fongique?), grossissement x500. L'échelle représente des micromètres (une unité = 2 μ m).

4. PRECONISATIONS

L'extraction pollinique a livré des résultats inégaux. Le traitement réalisé sur l'échantillon A8 n'a pas permis d'obtenir de concentrés organiques, que ce soit au niveau des pollens ou des spores. En revanche, quelques microrestes ont été extraits de l'échantillon D3.

L'observation de cet échantillon a permis de détecter des pollens et spores en plus de quelques fragments restés indéterminés.

De plus, la détection systématique des spores de lycopodes introduits dans les volumes extraits, témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique, même si leur nombre reste faible (31 spores de Lycopodes comptés, Fig. 3)

Les résultats observés sont typiques des sédiments à dominance minérale avec des échantillons montrant des concentrations faibles et des conservations différentielles importantes (les spores, plus résistants, sont davantage détectés). La diversité taxonomique est très faible (1 seul taxon pollinique identifié).

En ce qui concerne les pollens, un seul taxon a été identifié, il s'agit de pollens de graminées (Poaceae). Plusieurs spores ont aussi été observés sans qu'il soit possible de les déterminer (cf. figures 4 à 11). Il est possible que nous ayons affaire à des spores de Ptéridophytes et/ou de champignons (?).

Enfin de nombreux fragments d'enveloppes, indéterminés, témoignent de la mauvaise conservation de l'ensemble.

Au regard de l'état de conservation global des pollens, de la diversité observée, la poursuite de l'analyse de cet échantillon ne semble pas pertinente (Fig. 12). Nous ne conseillons donc pas la poursuite de l'étude.

Code des prélèvements	Ordre de priorité
Ech. D3	4

Figure 12. Prélèvement D3, Malanville (Bénin), tableau récapitulatif de 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 bûcher 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 bûcher est mise à décanter pendant 48h minimum. Ne pas oublier de couvrir les bûcher 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 bûcher. Cet embout permet d'éviter toute aspiration accidentelle du résidu décanter au fond du bûcher. 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 glycérinée

Mettre dans un bécher 10g de gélatine plus 34,2cc d'eau distillée. Laisser reposer pendant 2h à froid sans agitation. Ensuite, ajouter 51cc de glycérol à 98% plus 1g de phénol. Chauffer jusqu'à complète dissolution. La solution se solidifie à froid. Lors du montage mettre le bécher sur la plaque chauffante.

- Préparation du glycérine bidistillée phénolée pour la conservation

Mettre dans 1l de glycérol à 98% 1% de phénol.

6.2 Description des échantillons et des traitements

SERIE N°	Nom du demandeur	TECH	Date	Coul (N,B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%	filtration 5/10 microns	filtration Ultrason(s)	Type de montage (G,L)	Date de montage	NB de lame
2215/7	GAUDIN	Muriel	27/03/2018	N	lycopodes	19332	7	A 8(pds : 5.235g)		x	x	x	10	40	L	30/3/18	1
2215/8	GAUDIN	Muriel	27/03/2018	N	lycopodes	19332	8	D 3(pds : 6.789g)		x	x	x	10	40	L	30/3/18	1

Figure 13. Description des traitements réalisés (UMR EPOC)