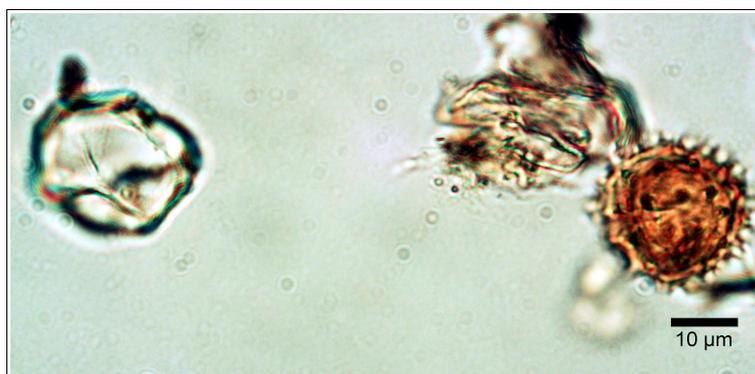


## **ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES**



**TEST PALYNOLOGIQUE.  
OPÉRATION ARCHÉOLOGIQUE DE  
« LA CHAROUILLÈRE - DÉVIATION DE MACHECOUL »  
RÉALISÉE SUR LES COMMUNES DE  
LA MARNE, PAULX, MACHECOUL (44)  
OPÉRATION : OA186455**

**Pôle archéologique  
Département de Loire-Atlantique – Direction Culture –  
Grand Patrimoine de Loire-Atlantique**

**Rapport sur les tests palynologiques**

**Octobre 2020**

**Département de Loire-Atlantique – Direction Culture –  
Grand Patrimoine de Loire-Atlantique**

---

**Test palynologique sur un prélèvement de l'opération  
archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul »  
réalisée sur les communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44)**

**Opération : OA186455**

---

**Rapport des tests palynologiques**

---

**Références de l'échantillon étudié :**

Prélèvements provenant des structures et US indiquées :

Z4 - F. 4254 – US 4129.1

---

**Loïc GAUDIN**

membre associé à l'UMR 6566 CReAAH et chargé de cours l'Université de Rennes 1

E-mail : [loic.gaudin@arkeomap.com](mailto:loic.gaudin@arkeomap.com)

Site web : [arkeomap.com](http://arkeomap.com)

---

**Octobre 2020**

*Illustration de la page de couverture : Pollens d'aulne (Alnus sp.) (à gauche de l'image) et  
d'Asteracée (Asteraceae) (à droite de l'image). Grossissement x1000.*

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>4</b>
<b>1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS.....</b>	<b>5</b>
<b>2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS.....</b>	<b>6</b>
2.1 Le protocole d'extraction utilisé.....	6
2.2 Les comptages et déterminations.....	7
<b>3. RESULTATS DES TESTS.....</b>	<b>9</b>
<b>4. PRECONISATIONS.....</b>	<b>12</b>
<b>5. BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>14</b>
<b>6. ANNEXE.....</b>	<b>15</b>
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	15
6.2. Description des échantillons et des traitements .....	19

## INTRODUCTION

Ce document présente les résultats d'un test palynologique réalisé sur un prélèvement de l'opération archéologique menée sur la déviation de Machecoul au lieu-dit « La Charouillère ». Les sondages se sont déroulés durant l'année 2019 dans quatre zones sur les communes de La Marne, Paulx et Machecoul. Ils ont été réalisés par le service archéologique du Département de Loire-Atlantique sous la direction de M. Tan.

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

L'étude a été commandée par Mme Vorenger et M. Tan, archéologues du pôle archéologique départemental, avec l'accord de Mme Mavéraud-Tardiveau, directrice du pôle archéologique.

# 1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Le prélèvement a été réalisé directement en stratigraphie par US (Fig. 1)

Selon un descriptif fourni par l'archéologue, le prélèvement provient d'un enclos circulaire daté du Haut Moyen-Age.

De façon générale les structures ne présentaient pas de conditions anaérobies permanentes (ex. nappe d'eau), ce qui rend la conservation des pollens aléatoire.

L'objectif de cette étude vise à obtenir une description du paysage végétal durant les périodes d'occupation du site.

Code opération	Fait - US – Numéro de prélèvement	Masse envoyées pour traitement (g)	Datation	Description archéologique
LA MARNE-PAULX-MACHECOUL-La Charouillère-Déviation de Machecoul 2019-Fouille,  Zone 4 : opération OA186455	F4254 – US4129 – PLV 4129.1	73	Haut Moyen-Age	

Figure 1. Inventaire des prélèvements étudiés

## 2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS

### 2.1 Le protocole d'extraction utilisé

L'extraction pollinique a été réalisée au sein du laboratoire de l'UMR CNRS 5805 EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux) à l'université de Bordeaux.

Le protocole utilisé est détaillé en annexe (chapitre 6.1. ).

## 2.2 Les comptages et déterminations

Les pollens ont été observés au sein du laboratoire ARKEOMAP. L'observation des extractions a été réalisée sous microscope optique à immersion aux grossissements x500 et x1000 (microscopes OLYMPUS CX21 et CX40).



Figure 2. Microscope d'observation (Olympus CX 21, ArkéoMap)

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 dizaine « 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).

Remarque par rapport à la détection des microfossiles non-polliniques (MNP) :

Le parcours des lames polliniques permet souvent d'observer des microfossiles non-polliniques. Ils peuvent être d'origines diverses : spores algales, ascospores fongiques, fructifications, restes de métazoaires, œufs ou kystes de parasites, ...

Il n'est pas toujours possible de déterminer ces microfossiles. Néanmoins, nous nous sommes basés sur les inventaires de Van Geel *et al.* (2006) et C. Cugny (2011) pour identifier certains microfossiles et ainsi compléter l'interprétation des résultats polliniques. La typologie adoptée est celle initiée par B. van Geel, réutilisée et complétée par C. Cugny (2011).

### 3. RESULTATS DES TESTS

Les résultats des tests sont donnés sous la forme d'un tableau de comptages représentant les effectifs des différents pollens, spores et quelques microfossiles non polliniques (MNP) identifiés (Figure 3) .

		Z4 - F. 4254 - US 4129
Taxons \ Code Prélèvements		
Pollens	Quercus	5
	Corylus	1
	Alnus	2
	Hedera	1
	POACEAE	10
	CICHORIOIDEAE	5
	ASTERACEAE	1
	CHENOPODIACEAE	1
	Calluna	1
	Erica	1
	ERICACEAE	5
	Secale type	1
	Centaurea type nigra	1
	CYPERACEAE	1
Spores	Spore monolète	15
	Polypodium	1
	Spore trilète	7
Non pollinique	Amérospores – Type HdV-207	3
	SOM. pollen (somme de base)	36
	SOM. Sporo-pollinique	59
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	16678
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	27334

Figure 3. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455. Comptages correspondant aux pollens et spores déterminés dans chacun des 4 prélèvements testés. Les valeurs grisées correspondent à des sommes polliniques, sommes sporo-polliniques et pour les deux dernières lignes à des concentrations absolues de pollens et de spores + pollens. Les concentrations absolues sont exprimées en nombre de grains par volume (mL) de sédiment.

Code des prélèvements	Nombre de pollens comptés	Nombre de spores et Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Ordre de priorité
Z4 - F. 4254 – US 4129	36	59	22778	13899	Bon	17	seigle	2

Figure 4. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455. Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/mL de sédiment) ainsi que la diversité taxonomique de chaque prélèvement. Un ordre de priorité d'analyses des échantillons est proposé en tenant compte des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).



Figure 5. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455. Photographie d'un pollen de seigle (*Secale type*), grossissement x1000, prélèvement n°4129.1, US 4129 Structure F4254. .

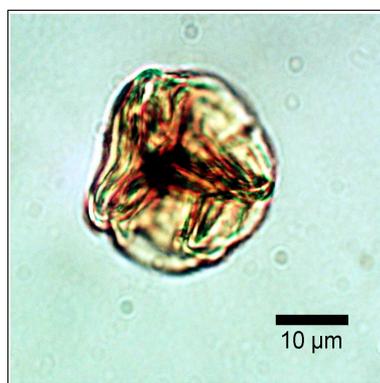


Figure 6. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455. Photographie d'un pollen d'Ericacées , grossissement x1000, prélèvement n°4129.1, US 4129 Structure F4254.

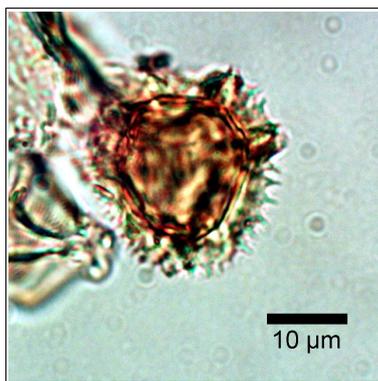


Figure 7. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455. Photographie d'un pollen de Cichorioïdée, grossissement x1000, prélèvement n°4129.1, US 4129 Structure F4254.



Figure 8. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455. Photographie d'un pollen de Poacée, grossissement x1000, prélèvement n°4129.1, US 4129 Structure F4254.

## 4. PRECONISATIONS

L'extraction pollinique a livré des pollens en quantité et qualité plutôt satisfaisante pour un contexte archéologique. La concentration absolue est de l'ordre de 22000 pollens / mL, ce qui correspond à une quantité moyenne comparée aux concentrations obtenues dans des dépôts organiques (ex. tourbières) souvent supérieurs à 50000 pollens / mL, mais relativement importante pour un contexte sédimentaire à dominance minérale. 14 taxons polliniques, trois types de spores et un microfossile non pollinique ont été identifiés lors de ce test (Fig. 3 et 4).

La détection systématique et relativement importante des spores de Lycopodes exotiques, introduits dans les volumes extraits (18 Lycopodes comptés, Figure 4), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique.

La conservation pollinique semble assez bonne. Toutefois, l'observation de quelques « débris polliniques » mais peut être aussi une légère sur-représentation de grains appartenant à des taxons résistants à la corrosion comme par exemple les Cichorioïdées et les spores monolètes (Fig. 3) tendraient à nous indiquer l'existence de « conservations différentielles ». La nature du sédiment à dominance minérale laisse penser que les pollens se sont trouvés dans une zone de battement de nappe, contexte potentiellement aérobie propice à l'oxydation biologique ou physico-chimique.

Les quelques pollens et spores identifiés correspondent à la fois à des végétations herbacées (75% des pollens) et arborées (25% des pollens).

- Pour ce qui concerne les végétations herbacées nous avons détecté quelques grains de graminées (Poacées) accompagnés de Cichorioïdées, Asteracées, Chenopodiacées pouvant correspondre à des végétations de prairies ou friches et jachères. Quelques pollens de seigle (*Secale*), de *Centaurea* pourraient témoigner de l'existence de cultures. On note aussi plusieurs pollens de bruyères (*Calluna*, *Erica sp.*) pouvant correspondre à des landes. Notons que des charbons de bruyères avaient aussi été identifiés dans un prélèvement de la zone 4 ( Fait F4190 – US 4301) lors de l'étude anthracologique (Gaudin, 2020). Les pollens de Cyperacées et de Poacées pourraient provenir de zones humides (ex. Prairies humides).

- Les végétations arborescentes sont représentées par des pollens de chêne (*Quercus sp.*) et de noisetier (*Corylus avellana*). Deux pollens d'aulne (*Alnus sp.*) montrent aussi l'existence de boisements humides.

Les effectifs observés sont évidemment trop faibles pour pouvoir davantage affiner l'image des associations végétales environnantes.

- Enfin, notons l'identification de quelques microfossiles non polliniques : des « amérospores du type HdV-207 ». Ce sont des microrestes d'origine fongique (champignons) mais dont la signification écologique n'est pas toujours très claire (Cugny, 2011).

Au regard de l'état de conservation global des pollens, de la diversité observée, la poursuite de l'analyse de ces échantillons serait potentiellement intéressante (Fig. 9).

Code des prélèvements	Ordre de priorité
Z4 - F. 4254 – US 4129	2

Figure 9. Opération archéologique de « La Charouillère - déviation de Machecoul », communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44), OA186455, tableau récapitulant l'ordre de priorité des analyses palynologiques. Un ordre de priorité d'analyses des échantillons est proposé en tenant compte des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).

## 5. BIBLIOGRAPHIE

CUGNY C., 2011 – Apport des microfossiles non-polliniques à l'histoire du pastoralisme sur le versant nord pyrénéen. Entre référentiels actuels et reconstitution du passé. Thèse de doctorat, Université Toulouse 2 Le Mirail, 2 vol., 373 p.

GAUDIN L., 2020 – Analyse des fragments charbonneux prélevés lors de l'opération archéologique de « La Charouillère – Déviation de Machecoul » réalisée sur les communes de La Marne, Paulx, Machecoul (44). Opérations : OA186453, OA186454, OA186455. Rapport d'étude anthracologique, 44 p.

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.

VAN GEEL B., APTROOT A., 2006 – Fossil Ascomycetes in Quaternary deposits. *Nov Hedw*, 82, p. 313-329.

## 6. ANNEXE

### 6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :

Afin d'isoler et de concentrer les grains de pollen, le protocole utilisé au sein de l'UMR EPOC comporte les étapes suivantes :

#### Préparation du sédiment

**1-** Le sédiment (environ 5g) est séché à l'étuve à 40°C pendant une nuit ou plus, suivant la teneur en eau.

#### Estimation du volume de sédiment

**2-** Dans une éprouvette de 25cc en polypropylène, mettre 15cc d'eau distillée. Poser celle-ci sur une balance, faire la tare, puis ajouter le sédiment. La colonne d'eau augmente, enregistrer le poids ainsi que le volume.

#### Lavage du sédiment

Ce lavage permet de travailler sur deux proxies. La fraction supérieure est récupérée pour, en particulier, l'étude des foraminifères, et la fraction inférieure pour l'étude des pollens et dinoflagellés.

**3-** Prendre un tamis de maille 150µm et de diamètre 10cm, le poser sur un bécher de 1000ml. Vider le contenu de l'éprouvette sur le tamis, et laver délicatement à l'eau du robinet. Lorsque le résidu > à 150µm est propre, bien le rincer à l'eau distillée et le récupérer dans une coupelle toujours avec de l'eau distillée. La fraction inférieure récupérée dans le bécher est mise à décanter pendant 48h minimum. Ne pas oublier de couvrir les bécher pour éviter toute pollution.

#### Attaque à l'acide chlorhydrique (HCl)

Cette attaque permet d'éliminer tous les organismes et particules calcaires.

**4-** Aspirer l'eau à l'aide d'une trompe à vide. Celle-ci est équipée, à l'extrémité du tuyau, d'un embout en plastique présentant un angle de 90° par rapport à la paroi du bécher. Cet embout permet d'éviter toute aspiration accidentelle du résidu décanté au fond du bécher. Récupérer le résidu dans un tube de 100ml à fond rond en polypropylène.

**5-** Centrifuger 7mn à 2500tr/mn. Eliminer l'eau, remettre en suspension avec l'agitateur. Mettre une ou deux pastilles de Lycopodes dans le tube, le nombre de pastilles étant défini en fonction de la concentration supposée en pollen ou en dinoflagellés. Elles permettent d'estimer les concentrations en palynomorphes.

**6-** L'attaque à l'HCl à **froid** se fait en trois étapes. Une première attaque à **10%**, remuer à l'aide d'une baguette d'agitation en verre, laisser agir quelques minutes, si le sédiment est riche en carbonates il est important de commencer par l'HCl à faible concentration afin d'éviter une importante effervescence et également un débordement des tubes. Continuer par de l'HCl à **25%** attendre quelques minutes et terminer par de l'HCl à **50%**. Cette dernière attaque est essentielle pour la suite de la manipulation. Bien s'assurer que la réaction est terminée en ajoutant de l'HCl à 50%. Lorsqu'il n'y a plus d'effervescence dans le tube, la réaction est terminée.

## Attaque à l'acide fluorhydrique (HF)

Cette attaque permet d'éliminer la silice et les silicates.

**7-** Centrifuger les tubes de 100ml pendant 7mn à 2500tr/mn et éliminer le surnageant. Remettre le culot en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HF à **45% à froid**. Fermer les tubes avec le bouchon approprié et les poser sur le secoueur, laisser agiter pendant 4 à 5h. Bien respecter la concentration de l'HF, car une concentration supérieure peut entraîner une forte effervescence, avec risque de perte de sédiment.

**8-** Centrifuger à nouveau les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HF à **70% à froid**. Poser les tubes sur le secoueur, laisser agiter pendant **28 à 30h**.

**Note :** Attention pour faire cette manipulation il est impératif de respecter les mesures de sécurité, mettre des longs gants, ainsi que des lunettes. Travailler toujours sous hotte aspirante bien fermée. Travailler également les tubes toujours fermés.

## Deuxième attaque à l'acide chlorhydrique (HCl)

Elimination des fluorosilicates.

**9-** Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HCL à **25% à froid**. Poser les tubes sur le secoueur, laisser agiter pendant 15mn.

**Note :** Il est très important de faire cette attaque à l'HCl avant de rincer à l'eau distillée. Des risques de formation de fluorures peuvent avoir lieu et donc gêner le reste de la manipulation.

## Rinçage

**10-** Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension le culot avec l'agitateur, remplir les tubes d'eau distillée. Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn. Eliminer l'eau, les résidus sont prêts pour la filtration.

## Filtration

Cette opération nécessite la mise en œuvre d'un système de filtration. Ce matériel est posé sur une fiole à vide de 2l reliée à une trompe à vide.

**11-** Remettre en suspension le culot avec l'agitateur et verser une partie ou la totalité du résidu, suivant la concentration, sur le filtre en nylon de maille 10µm. Rincer à l'eau distillée avec une pissette de 50ml. La contenance de la pissette est essentielle car elle permet de l'avoir bien en main et donc de presser suffisamment fort pour avoir un jet assez puissant pour la filtration. Lorsque cela colmate, mettre 20 à 40s d'ultrasons et rincer abondamment, en même temps, avec la pissette. Le succès de cette opération est basé sur la coordination entre les ultrasons et la pissette. Il est important de bien gérer le temps des ultrasons, car l'abus peut casser les microorganismes.

**12-** Récupérer le résidu, une fois bien lavé, avec la pissette dans un tube à fond conique de 50ml en polypropylène. Bien froisser le filtre entre les doigts pour décoller éventuellement les micro-organismes qui pourraient rester sur le filtre.

**13-** Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant à l'aide de la trompe à vide munie de l'embout à 90°. Transvaser le résidu avec de l'eau distillée dans un tube

à fond conique de 8cc en plastique. Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant toujours avec la trompe à vide. Le résidu est prêt pour le montage.

**14 – En fonction du caractère organique du résidu il est parfois nécessaire d'effectuer un traitement supplémentaire au HNO<sub>3</sub> :** Séparation du culot en 2 puis sur une moitié, attaque HNO<sub>3</sub> 2mn, filtration 10µ, 20s Ultra son, 2mn HNO<sub>3</sub>, filtration 10µ

### 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 glycélinée

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	TEC	Date	Sol exotique	Nombre grains	Num (1-8)	NOM CAROTTE	Poids	VOL (mL)	HCL	HF 48%	HF 70%	Filtration 8 postes	KOH froid	Filtration 5/10/15 microns	Filtration ultrason (s)	Type montage (G, L)	Nb Lame
2432	GAUDIN	MG	21/07/20	Lycopode	20848	H	Machecoul	5,388g	3	x	x	x			10		L	1

Figure 10. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).