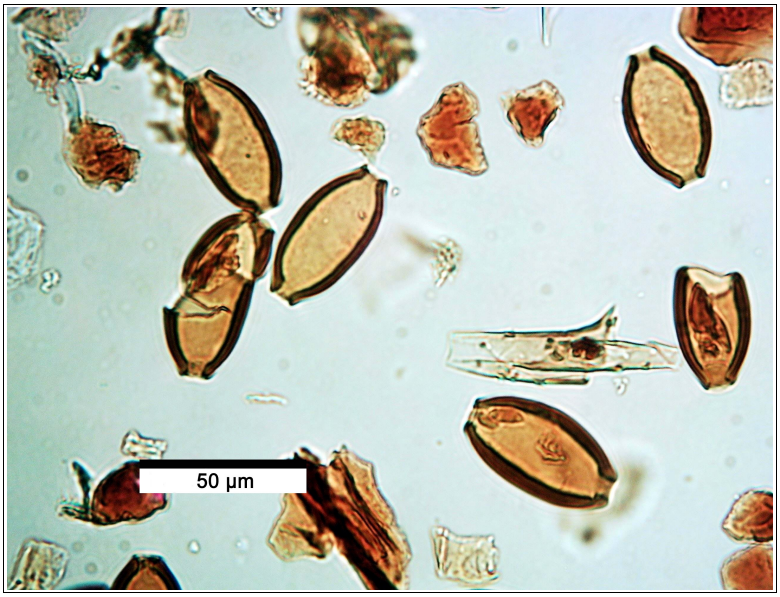
Analyses scientifiques des découvertes archéologiques : Etudes palynologiques



Analyses palynologiques de prélèvements réalisés en stratigraphie lors de l'opération « des abords du théâtre » à Beauvais (60).

Opération : 12776

Service Archéologique
Ville de Beauvais

Rapport d'étude palynologique

Mars 2021

Service Archéologique de la Ville de Beauvais

Analyses palynologiques de prélèvements réalisés en stratigraphie lors de l'opération « des abords du théâtre » à Beauvais (60).

Opération : 12776

Références des échantillons étudiés :

Prélèvements provenant de latrines médiévales :

US 440 et US 531

Loïc GAUDIN

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

E-mail : loic.gaudin@arkeomap.com

Site web : arkeomap.com

Mars 2021

Illustration de la page de couverture : Restes de cuticules d'œuf de vers parasites (type Trichuris sp.) échantillon US 440, Grossissement x500.

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.....6
2.3 Le diagramme pollinique 8
3. RESULTATS, INTERPRETATION.....9
3.1. Analyse critique des résultats.....9
3.2. Interprétation des résultats.....10
4. SYNTHESE.....11
5. BIBLIOGRAPHIE.....12
6. FIGURES.....13
7. ANNEXE.....16
7.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....16
7.2. Description des échantillons et des traitements 19

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats d'analyses palynologiques de deux prélèvements de l'opération archéologique 12776 aux abords du théâtre à Beauvais. Les deux prélèvements étudiés proviennent de comblements de latrines médiévales. Ils ont été réalisés par le service archéologique de Beauvais.

Ce rapport fait suite a une pré-étude qui visait à estimer le contenu palynologique des deux échantillons. Les résultats des tests étant prometteurs, l'analyse plus approfondie des deux prélèvements a été retenue.

L'étude a été commandée par le service archéologique avec l'accord de son directeur, Monsieur Fémolant.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

La fouille archéologique des abords du théâtre à Beauvais (60) concerne un site occupé durant les périodes du Moyen Age .

Plusieurs prélèvements ont été réalisés dans les comblements de fosses interprétées comme des latrines. Pour ce qui concerne la palynologie, les échantillons ont été prélevés directement en stratigraphie (US 440 et US 531).

Notons que des prélèvements de charbons mais aussi de restes de bois gorgés d'eau (branches) ont aussi été prélevés à l'intérieur de ces latrines. Des branches de noisetier identifiées dans l'US 531 ont été interprétées comme des restes de clayonnage (Gaudin, 2021).

La présence des macrorestes ligneux conservés constituait un indicateur favorable à la conservation des pollens, ce qui a été confirmé par les tests. De façon générale, les comblements des fosses, encore humides, ont probablement fourni des conditions anaérobies permanentes rendant la conservation des pollens possible.

L'objectif de cette étude vise à obtenir une description du paysage végétal mais aussi, compte tenu du contexte sédimentaire (latrines), obtenir des informations sur le régime alimentaire, voire sur l'état sanitaire de l'époque.

Les prélèvements ont été réalisés directement en stratigraphie par US (Fig. 1).

Site / Opération	**Numéro d'US**	**Masse envoyée (g)**	**Datation**	**RQ - aspect**
Beauvais (60)	OA 12776 – US 440	62	MA	Comblement de latrines - organique
Beauvais (60)	OA 12776 – US 531	46	MA	Comblement de latrines - organique

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 7.1.).

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 OLYMPUX CX21 et CX40).

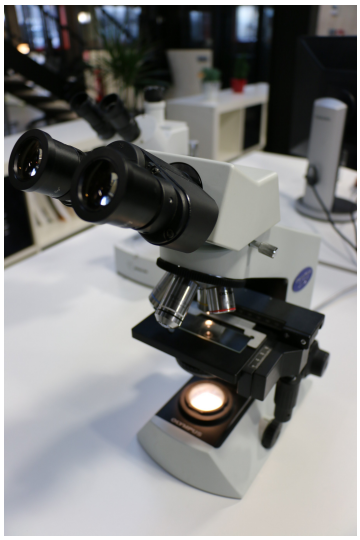


Figure 2. Microscope d'observation (Olympus CX 21, ArkéoMap)

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,

– des atlas photographiques « pollens et spores d'Europe et d'Afrique du Nord » (Reille, 1992) et « Leitfaden der Pollenbestimmung fur Mitteleuropa und angrenzende Gebiete » (Beug, 2004).

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. Nous avons cherché dans la mesure du possible à obtenir un nombre minimum de 300 grains par échantillon. En effet, ce nombre est préconisé dans de nombreux travaux sur le sujet qui précisent qu' au « delà de 300 l'information ne s'accroît que

dans des proportions infimes » (Reille, 1990). Dans le cadre de cette étude, ce nombre a pu être atteint pour les deux prélèvements.

Nous avons aussi calculé des fréquences polliniques absolues afin d'estimer le nombre de grains par volume (cm3 ou mL) de sédiment. Nous nous sommes basés pour cela sur une méthode préconisant l'introduction de pastilles de spores de Lycopodes au nombre connu dans les préparations (Stockmarr, 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).

Remarque par rapport à la détection des pollens de « Cerealia type » :

La différenciation entre pollens issus de Poacées «sauvages » et Poacées « cultivées » (céréales) repose sur des critères biométriques (Heim, 1970 ; Visset, 1974 ; Chester P. I. et Ian Raine, 2001). Afin de limiter au maximum les erreurs de détermination, seuls les pollens de Poacées dont la taille est comprise entre 40 et 60µm, et dont le diamètre extérieur du pore aréolé est supérieur à 10µm peuvent être considérés comme étant des « céréales type » (Chester P. I. et Ian Raine, 2001). Le taxon « Cerealia type » indiqué dans les diagrammes du rapport correspond à ce type de pollen.

Ces critères anatomiques ont cependant été remis en cause par certains chercheurs (Planchais N., 1971 ; Heim J., 1970 ; Lopez Saez et al., 2003) qui évoquent la ressemblance dimensionnelle entre les pollens de céréales et ceux de Poacées naturels (ex. genre *Glyceria sp.*, *Elymus sp.*, *Agropyrum sp.*).

Aussi, lorsque des grains de « type céréale » sont observés de manière sporadique il est prudent avant de les interpréter comme céréales, de s'intéresser à l'ensemble des indices anthropiques (ex. ouverture du paysage) ainsi que des cortèges floristiques de plantes adventices (ex. *Centaurea sp., Rumex sp.*) ou de plantes rudérales (ex. Urticacées) qui peuvent rendre cohérente ou non la détermination.

2.3 Le diagramme pollinique

Le diagramme sporo-pollinique (spores et pollens) a été réalisé à l'aide du logiciel « C2 data analysis version 1.7.6» (Fig. 4).

Le pourcentage de chaque taxon par rapport à une somme de base a été calculé pour chaque niveau.

La question de la prise en compte des spores dans la somme de base n'est pas sans poser quelques problèmes. L'exemple de *Sphagnum sp.* a été étudié par J. Heim (1970) qui a constaté que la production de spores de sphaigne pouvait varier sans concordance évidente avec le couvert végétal du site considéré. Plus généralement, les Ptéridophytes et les Bryophytes présentent une sporulation souvent difficile à interpréter. Aussi, les spores sont généralement exclues de la somme de base (Voetzel, 1987 ; Barbier, 1999 ; Ouguerram, 2002). Pour notre part, les caractéristiques de production et de dispersion des spores étant différentes des caractéristiques polliniques, nous avons aussi choisi d'exclure les spores de la somme de base.

Les diagrammes sont réalisés à partir de ces pourcentages et les échantillons analysés apparaissent en lignes.

Sur ces diagrammes figurent de la gauche vers la droite :

- l'identifiant du prélèvement correspondant dans notre cas aux unités stratigraphiques,

- l'ensemble des fréquences relatives de chaque taxons d'arbres puis des arbustes déterminés lors du comptage,

- un diagramme de type « Iversen », synthétisant la somme des pollens d'arbres vis à vis des pollens d'herbacées (AP / NAP : Arborean Pollen / Non Arborean Pollen) et de plantes aquatiques. Ces courbes permettent d'estimer l'évolution des parts relatives des végétations boisées vis-à-vis des végétations herbacées et aquatiques dans le paysage environnant,

- les courbes individuelles continues en pourcentages relatifs des taxons polliniques de plantes herbacées et aquatiques. Au sein des herbacées, les taxons sont ordonnés par leurs affinités écologiques,

- les courbes individuelles continues des spores de Ptéridophytes, des Bryophytes puis des microfossiles non polliniques.

Remarque :

- Lorsqu'un taxon n'est représenté que par une seule occurrence, il est matérialisé sur le diagramme par un point.

- les fréquences des spores et des microfossiles non polliniques sont calculées sur la base des sommes polliniques (d'où par exemple des fréquences supérieures à 100 pour les cuticules d'œuf de type *Trichuris sp.*).

3. RESULTATS, INTERPRETATION

Les résultats sont donnés sous la forme d'un tableau de comptages et d'un diagramme représentant les effectifs des différents spores et pollens identifiés (Figures 3 et 4).

3.1. Analyse critique des résultats

Les analyses des deux échantillons ont permis d'atteindre les 300 grains (Fig. 3).

Les concentrations de pollens constatées à l'intérieur des deux échantillons sont importantes (environ 40000 à 50000 grains de pollen / cm3) ce qui est comparable aux analyses réalisées en tourbière. La détection systématique et relativement importante des spores de Lycopodes introduits dans les volumes extraits (41 et 66 Lycopodes comptés, Fig. 3), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique.

Notons toutefois une légère sur-représentation des pollens de Cichorioïdées pour l'échantillon de l'US 531, taxon particulièrement résistant. Il est possible que le comblement de la fosse ce soit retrouvé ponctuellement dans des contextes « aérobies » (ex. lors de périodes particulièrement sèches) propices à l'oxydation biologique ou physico-chimique des pollens les moins résistants. Mais mis à part le défaut observé par cette légère conservation différentielle, la conservation de l'ensemble apparaît assez bonne. Le contexte sédimentaire semble donc être resté suffisamment stable et à l'abri de l'oxygène, permettant le maintien de conditions anaérobies favorables à la conservation pollinique.

On constate pour les deux échantillons des diversités taxonomiques intéressantes (27 taxons) même si cela reste assez « moyen » vis-à-vis des diversités obtenues en contextes anaérobies naturels (ex. zones humides). Les fréquence des spores (fougères et mousses) observées sont quant à elles plus aléatoires et difficilement interprétables (Figures 3 et 4).

Les pollens et spores identifiés correspondent principalement à des végétations herbacées (plus de 95% des pollens). Ce résultat tendrait donc à décrire un paysage très ouvert. Toutefois, cette image est très probablement déformée à cause de la nature des sédiments analysés et du mode de dépôt à l'intérieur des fosses. En effet, contrairement aux analyses polliniques réalisées dans des contextes de dépôts sédimentaires « naturels » (ex. tourbières, zones alluviales), où la pluie pollinique est principalement associée aux apports aériens (apports polliniques régionaux), dans notre cas le comblement est vraisemblablement avant tout lié aux excréments, voire peut-être aussi aux ruissellements des environs immédiats (apports polliniques plus locaux). Ce sont donc des cortèges polliniques directement liés aux activités humaines (alimentation notamment) qui sont attendus.

3.2. Interprétation des résultats

Les compositions polliniques des deux échantillons sont assez semblables sur le plan qualitatif. Même si l'on constate une diversité un peu plus importante pour l'US 440, ce sont les mêmes associations végétales qui sont perçues.

Le spectre est dominé par les pollens d'herbacées (plus de 95% du spectre).

Très peu de pollens d'arbres ont été identifiés. Les boisements sont perceptibles par l'intermédiaire de rares pollens de chêne (*Quercus sp.*), de noisetier (*Corylus sp.*) et quelques fragments de résineux (Gymnosperme).

On détecte les **groupements de friches et de jachères** (Poaceae, Asteraceae, Cichorioïdeae, Chenopodiaceae, Brassicaceae, *Polygonum sp.*, Caryophylaceae), **les groupements de communautés rudérales, de lieux de pacage, de chemins** (*Plantago sp.* dont *Plantago lanceolata*, Chenopodiaceae, Asteraceae, Caryophylaceae, *Polygonum sp.*) et de **prairies hygro- à mésophiles pâturées** (Poaceae, *Plantago sp.* dont *Plantago lanceolata*, Cyperaceae, *Centaureae sp.*, Brassicaceae, *Alchemilla sp.*, Apiaceae, Polygalaceae, Campanulaceae).

L'association des cultures est bien représentée avec des attestations de céréales (*Cerealia type*) dont le seigle (*Secale type*) accompagnées de pollens de plantes adventices (*Centaurea cyanus*, *Centaureae type jacea., Centaurea sp*., *Rumex sp.*) et de plantes rudérales (*Plantago sp*., Chenopodiaceae, Cichorioïdeae, Brassicaceae, *Polygonum sp.*).

Notons que les pollens de céréales, de Brassicacées (famille du chou) et d'Apiacées (famille de la carotte), pourraient être directement issus de l'alimentation.

Les taux de pollens de Brassicacées ont été observés en quantités importantes dans le prélèvement de l'US 440 (environ 20% des pollens). Les pollens de céréales sont surtout représentés dans l'US 531 (environ 30 % des pollens). Ces taux sont particulièrement importants par rapport à ce que l'on observe généralement en contexte naturel (ex. tourbière) car ce sont des essences qui produisent et diffusent relativement peu de pollens. De très nombreux phytolithes de forme denticulés (Fig. 5) ont aussi été observés, notamment dans l'US 531. Ils correspondent peut-être aussi à des restes de Poacées, dont de Céréales (Delhon, 2008).

Enfin, on note de très nombreux restes (cuticules) d'œuf de vers parasites de type *Trichuris sp.* La quantité de ces restes est très importante (cf. aussi page de couverture). Ce sont des vers parasites du tube digestif humain pouvant affecter aussi les chiens, le renard et le porc.

Les taux importants de pollens de plantes cultivées (pollens de céréales, de la famille des Brassicacées et de la famille des Apiacées), mais aussi la détection des vers parasites de type *Trichuris* sont donc très vraisemblablement induits par le le type de dépôt à l'intérieur du comblement. L'hypothèse de restes d'excréments est renforcée.

4. SYNTHESE

Cette étude apporte des informations de compréhension du site sous l'angle de la palynologie. Elle fait suite à des tests réalisés sur deux échantillons prélevés dans les comblements de latrines. Ces pré-analyses révélèrent bonne conservation des pollens.

Les prélèvements étudiés permirent d'obtenir des diversités (18 à 25 taxons par échantillon) et des concentrations polliniques assez importantes (40000 à 50000 pollens/cm3) (Figures 3, 4 et 6).

La conservation pollinique semble relativement bonne. Les Cichorioïdées, taxons particulièrement résistants, ne semblent pas sur-représentés ce qui accrédite plutôt une conservation homogène de l'ensemble (une légère conservation différentielle est à noter pour l'US 440). Le contexte sédimentaire semble donc être resté globalement stable et à l'abri de l'oxygène, permettant le maintien de conditions anaérobies favorables à la conservation pollinique.

Les pollens identifiés correspondent presque exclusivement à des végétations herbacées, ce qui pourrait être interprété comme la conséquence de paysages ouverts. Toutefois, le contexte des sédiments analysés (latrines) amène à s'interroger sur le mode de déposition des pollens. En effet, la composition pollinique est vraisemblablement largement inféodée à la nature des sédiments analysés (excréments?). Contrairement aux analyses polliniques réalisées dans des contextes de dépôts sédimentaires « naturels » (ex. tourbières, zones alluviales), où la pluie pollinique est associée à des apports aériens, la composition pollinique analysée dans les comblements de latrines est probablement en partie liée à l'alimentation humaine et au ruissellement des environs immédiats.

L'étude des associations polliniques a permis d'identifier des groupements végétaux de **cultures,** de **friches et de jachères,** de **prairies hygro- à mésophiles pâturées** et de **communautés rudérales : lieux de pacage, chemins.**

En ce qui concerne les cultures, plusieurs taxons polliniques peuvent être directement rattachés à l'alimentation : **les céréales dont le seigle, la famille des choux (Brassicacées) et de la carotte (Apiacées).**

Enfin, notons l'omniprésence de cuticules d'œuf de vers parasites de type *Trichuris* (parasite de l'homme, du chien, du renard et du porc), assez typiques de comblements de latrines médiévales.

5. BIBLIOGRAPHIE

BARBIER D., 1999 – Histoire de la végétation du nord-mayennais de la fin du Weischelien à l'aube du XXIème siècle Mise en évidence d'un Tardiglaciaire armoricain Interactions Homme-Milieu. Thèse de doctorat, Université de Nantes, Editions Groupe d'Etude des Milieux Naturels, Nantes, tome I, texte : 284 p., tome II, illustration : 63 Figures.

BEUG H.-J., 2004 - *Leitfaden der Pollenbestimmung fur Mitteleuropa und angrenzende Gebiete.* Publisher Verlag Friedrich Pfeil, Munich, 542 p.

CHESTER P.I. & IAN RAINE J., 2001 – Pollen and spore keys for Quaternary deposits in the northern Pindos Mountains, Grana, 40, Greece, p. 299-387.

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, U.Toulouse 2 Le Mirail, 2 vol., 373 p.

DELHON C., 2008 - Potentiel de l'analyse des phytolithes contenus dans les pâtes céramiques et les matériaux de construction. Cahiers des thèmes transversaux ArScAn, n°VII, p. 86-93.

GAUDIN L., 2021 – Analyse des fragments charbonneux prélevés lors de l'opération archéologique " des abords du théâtre" à Beauvais (60). Opération 12776. Rapport d'étude anthracologique, 34 p.

HEIM J., 1970 - Les relations entre les spectres polliniques récent s et la végétation actuelle en Europe occidentale. Thèse, Université de Louvain, Laboratoire de Palynologie et Phytosociologie, 181 p.

LOPEZ SAEZ J.-A., LOPEZ GARCIA P. et BURJACHS F., 2003 – Arqueopalinologia : sintesis critica. Polen 12, p. 5-35.

OUGUERRAM A., 2002 – Histoire de la vallée de l'Erdre (affluent de la Loire, Massif armoricain, France) de la fin du Tardiglacaire aux époques actuelles. Thèse de doctorat, Université de Moulay Ismaïl de Meknès (Maroc), Editions Groupe d'Etude des Milieux Naturels, 121 p., 24 Figures.

PLANCHAIS N., 1971 – Histoire de la végétation post-würmienne des plaines du bassin de la Loire, d'après l'analyse pollinique. Thèse d'Etat , Montpellier, 2 vol., 115p.

REILLE M., 1990 – Leçon de palynologie et d'analyse pollinique. CNRS, Paris, 206p.

REILLE M., 1992 - *Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord.*, Ed. 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.

VISSET L. 1974 – Le tumulus de Dissignac à Saint-Nazaire (Loire-Atlantique), étude palynologique. Bulletin de la Société scientifique de Bretagne , 48, p. 7-14.

VOELTZEL D., 1987 - Recherches pollenanalytiques sur la végétation holocène de la plaine alluviale de l'estuaire de la Loire et des coteaux environnants. Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille III, Laboratoire d'Ecologie et de Phytogéographie Faculté des Sciences et des Techniques, Nantes, 178 p.

6. FIGURES

	Taxons \ Code Prélèvements	US 440	US 531
Pollens	Fragments de résineux (Gymnosperme)	5	0
	Quercus	1	0
	Corylus	0	1
	POACEAE	96	111
	CICHORIOIDEAE	20	2
	ASTERACEAE	11	10
	CARYOPHYLACEAE	2	0
	CHENOPODIACEAE	16	24
	BRASSICACEAE	66	8
	Polygonum	2	1
	Plantago	0	2
	Plantago lanceolata	2	1
	Polygala	1	0
	CAMPANULACEAE	1	1
	Cerealia type	25	95
	Secale type	2	4
	Rumex	1	0
	Centaurea	5	0
	Centaurea type nigra	2	0
	Centaurea type jacea	6	5
	Centaurea type cyanus	18	5
	Alchemilla	1	0
	APIACEAE	7	14
	CYPERACEAE	2	2
Spores	Spore monolète	11	17
	POLYPODIACEAE	1	0
	Spore trilète	4	1
Non polliniques	Dictyospores – Type HdV-200	4	2
	Cutic. Oeuf type Trichuris sp.	2050	1188
	Métazoaires (poils)	7	0
	Indéterminés	21	11
	SOM. pollen (somme de base)	292	286
	SOM. Sporo-pollinique	308	304
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	52438	39882
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	55311	42392

Figure 3. Opération archéologique « des abords du théâtre », ville de Beauvais (60), OA12776. Comptages correspondant aux pollens, spores et quelques autres types fossiles non polliniques déterminés. 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 cm3 de sédiment.

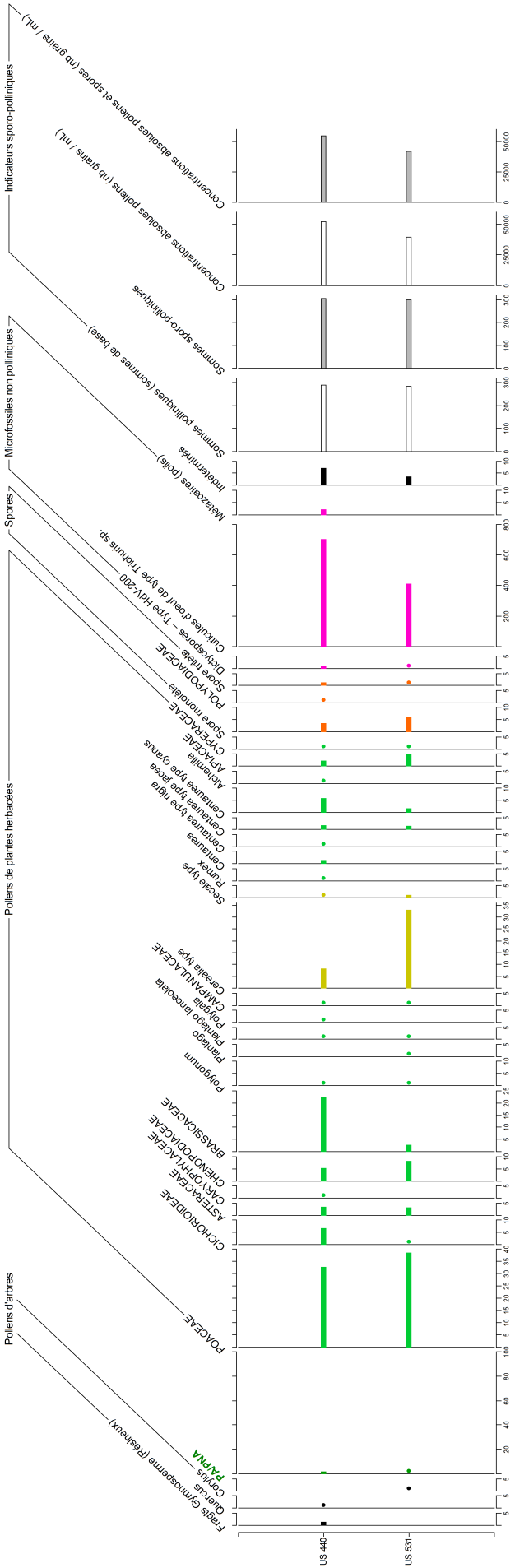


Figure 4. Diagramme sporo-pollinique du site « des abords du théâtre », ville de Beauvais (60), OA12776. Les valeurs sont exprimées en fréquences relatives (%). La somme de base utilisée pour calculer les fréquences correspond à la somme des grains de pollens. Les spores ont donc été exclus de cette somme de base. La courbe (PA/PNA) correspond au rapport entre pollens d'arbres (PA)/ pollens non arborescents (PNA). Les valeurs inférieures à 1% sont symbolisées par des points. Les concentrations absolues sont exprimées en nombre de grains / cm3 de sédiment.

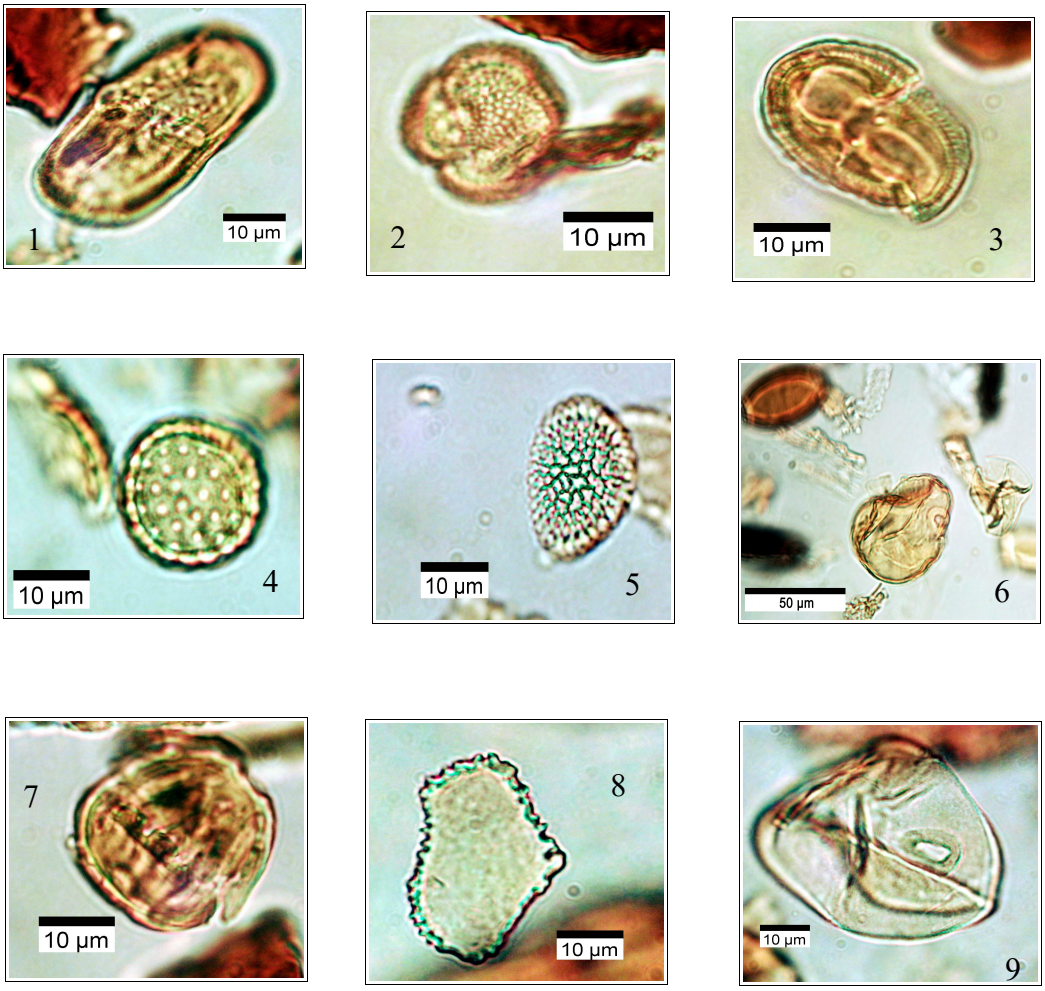


Figure 5. Photographies de pollens et phytolithes sous microscope optique à immersion, grossissement x1000. Les échelles représentent des micromètres. 1. Pollen d'Apiacée - *US 440* ; 2. Pollen de Brassicacée - *US 440* ; 3. Pollen de *Centaurea cyanus* - *US 531* ; 4. Pollen de Chenopodiacée - *US 531* ; 5. Fragment de pollen de Brassicacée - *US 440* ; 6. Pollen de *Cerealia type* - *US 531* ; 7. Pollen de *Polygala* - *US 440* ; 8. Phytolithe denticulé (?); 9. Pollen de *Cerealia type* - *US 531* ;

Code des prélèvements	Nombre de pollens comptés	Nombre de pollens et spores comptés	Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique
US 440	292	308	41	55311	52438	Très favorable	25
US 531	286	304	66	42392	39882	Bon	18

Figure 6. Nombre de pollens et de spores comptés, nombre de grains par cm3 de sédiment, diversité taxonomique, états de conservation estimés pour chaque prélèvement.

7. ANNEXE

7.1. 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 HNO3 : Séparation du culot en 2 puis sur une moitié, attaque HNO3 2mn, filtration 10µ, 20s Ultra son, 2mn HNO3, 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 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.

7.2. 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	TRONCON	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%	filtration 5/10/15 microns	filtration Ultrason(s)	Type de montage (G,L)	Date de montage	NB de lame	Résidu (I,M,F,N)
2479	GAUDIN	MG	26/01/21	N	lycopodes	18407	D	BEAUVAIS	440	2,5	X	X	X	10	20	L	1/2/21	1	I
2479	GAUDIN	MG	26/01/21	N	lycopodes	18407	E	BEAUVAIS	531	2	X	X	X	10	20	L	1/2/21	1	I

Figure 7. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).