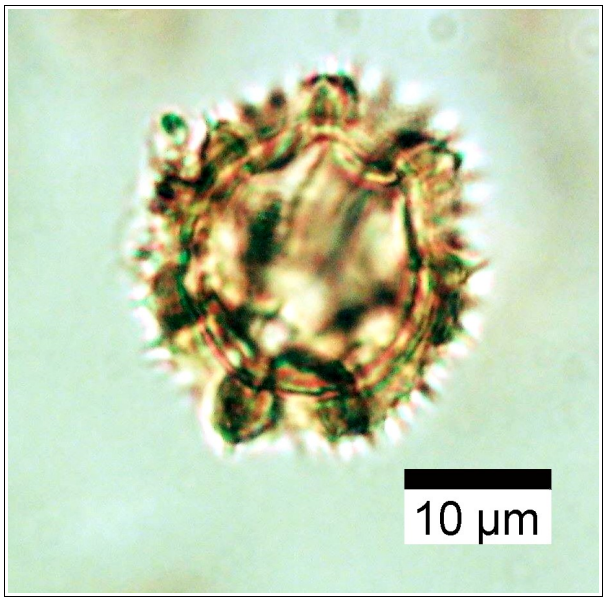
ArkéoMap

# ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES




# TEST PALYNOLOGIQUE D'UN PRÉLÈVEMENT RÉALISÉ DANS LE COMBLEMENT D'UN PUITS DE LA TÈNE, LORS DE L'OPÉRATION DE LA ZAC « PORTES DU LOIRET », SUR LA COMMUNE DE SARAN (45).

**Service de l'archéologie préventive**
**Département du Loiret**

Rapport sur les tests palynologiques

**Octobre 2022**

Service de l'archéologie préventive

Département du Loiret

---

**Opération archéologique « ZAC Portes du Loiret »**

---

**Rapport de test palynologique d'un prélèvement**

---

**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

---

**Octobre 2022**

*Illustration de la page de couverture : Pollen de Cichorioïdée observé dans le prélèvement EA1302 – PLV204 – US 11103.2. 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.....9**
**4. PRECONISATIONS ET RESULTATS.....12**
**5. BIBLIOGRAPHIE.....14**
**6. ANNEXE.....15**
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....15
6.2. Description des échantillons et des traitements .....18

# INTRODUCTION

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une campagne de fouille archéologique préventive sur la commune de Saran (45) sur le site de la ZAC Portes du Loiret en 2020-2021 (zone F). La mission a été confiée au service archéologie préventive du Département du Loiret.

La fouille a notamment permis d'appréhender un enclos situé en bordure d'un grand axe de circulation (voie Orléans Chartres) mis en place dès la Tène finale. Plusieurs phases d'occupation ont été datées entre la Tène C et la transition gallo-romaine précoce.

Ce document présente les résultats d'un test palynologique d'un prélèvement du comblement initial d'un puits à eau creusé dans le calcaire sur 20 m de profondeur.

Ce rapport vise à estimer le contenu palynologique du prélèvement dans l'optique de faire des analyses plus approfondies et de décrire la mosaïque paysagère qui environnait le site.

L'étude a été commandée par le service archéologique avec l'accord de la responsable d'opération, Mme Amélie Laurent-Dehecq.

# 1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

L'étude palynologique concerne un prélèvement du comblement initial d'un puits à eau creusé dans le calcaire sur 20 m de profondeur. Ce comblement était conservé dans la nappe d'eau actuelle (hauteur de 90 cm observée lors de la fouille), mais il n'est pas certain que les conditions d'humidité se soient maintenues en permanence depuis l'antiquité.

Ce puits est situé au sein de l'enclos protohistorique et a été fouillé intégralement en février-mars 2021. Le prélèvement a été conservé au frigo (4°C) dans une boite en plastique hermétique.

Les conditions d'humidité constituent un critère à priori favorable la conservation pollinique, car les conditions anaérobies limitent généralement la biodégradatation des pollens.

Toutefois, seuls des tests pouvaient permettre de juger véritablement le potentiel palynologique du prélèvement.

| **INVENTAIRE PALYNOLOGIQUE** | |
|---|---|
| **Commune :** | Saran (45) – ZAC Portes du Loiret |
| **Nom de l'opération / Lieu-Dit :** | |
| **Année :** | Février – mars 2021 |
| **N° OA :** | |
| **Resp. d'Op.** | Amélie Laurent-Dehecq |
| **Type d'opération :** | fouille préventive |
| **Période d'analyse pressentie** | 01/10/22 |

| **Faits US SD Nature** | **Description sédimentaire** | **Période / date** |
|---|---|---|
| EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2 | Sablo-limoneux ; couleur gris clair | La Tène |

Figure 1. Inventaire et descriptif du prélèvement étudié.

# 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 OLYMPUX CX21 et CX40).

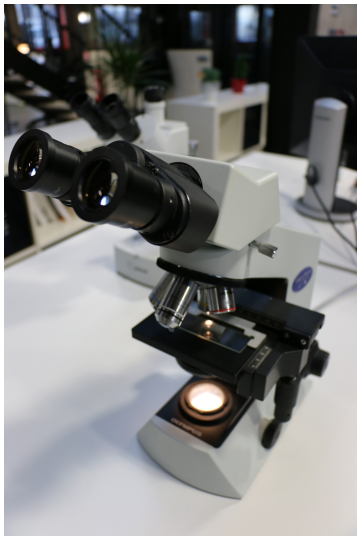


Figure 2. Microscope d'observation (Olympus CX 21, ArkéoMap)

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. 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).

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.

# 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).

| | Taxons \ Code Prélèvements | EA 1302 - PRL 204 – US 11103.26 |
|---|---|---|
| Pollens | Quercus | 11 |
| | Corylus | 2 |
| | Alnus | 1 |
| | POACEAE | 36 |
| | CICHORIOIDEAE | 3 |
| | ASTERACEAE | 1 |
| | CHENOPODIACEAE | 3 |
| | Plantago | 2 |
| | URTICACEAE | 1 |
| | Calluna | 1 |
| | Cerealia type | 4 |
| | Rumex | 1 |
| | Centaurea type nigra | 1 |
| | RANUNCULACEAE | 1 |
| | APIACEAE | 1 |
| | ALISMACEAE | 1 |
| Spores | Spore monolète | 7 |
| | Polypodium | 1 |
| Non pollinique | Amérospores – HdV-27 | 19 |
| | Amérospores – HdV-207 | 6 |
| | Dictyospores – TM-4093 | 5 |
| | Microcharbons (feuillus) | 2 |
| | SOM. pollen (somme de base) | 70 |
| | SOM. Sporo-pollinique | 78 |
| | CONC. ABS Pollen (nb / cm3) | 644245 |
| | CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3) | 717873 |

Figure 3. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Comptages correspondant aux pollens et spores 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 volume (mL) de sédiment.

| 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 | Remarque | Indice de potentiel d'étude |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Saran - EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2 | 70 | 78 | 1 | 717873 | 644245 | Bon | 18 | Céréales | 2 |

Figure 4. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/mL 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 des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).

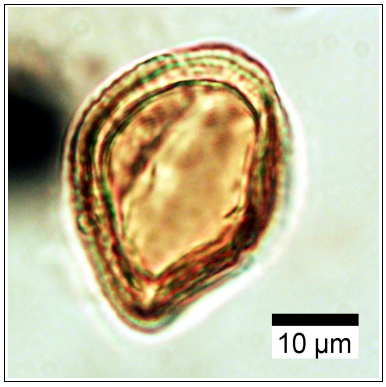



Figure 5. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Photographie d'un pollen d*e centaurée (Centaurea type nigra*), grossissement x1000, prélèvement EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2.

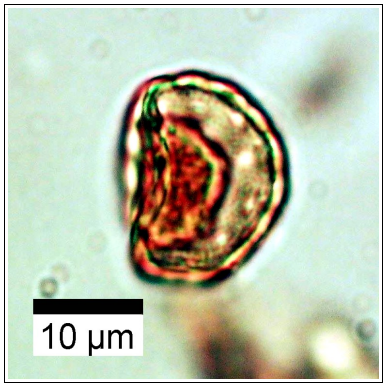



Figure 6.Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Photographie d'un pollen *de* Chenopodiacée, grossissement x1000, prélèvement EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2.

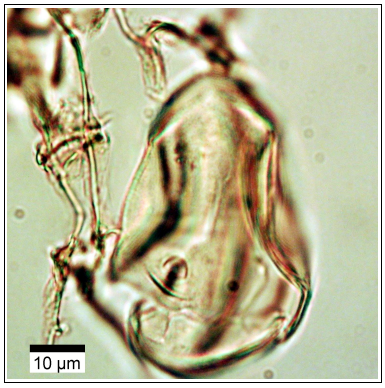



Figure 7. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Photographie d'un pollen *de Céréale (Cerealia type)*, grossissement x1000, prélèvement EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2.

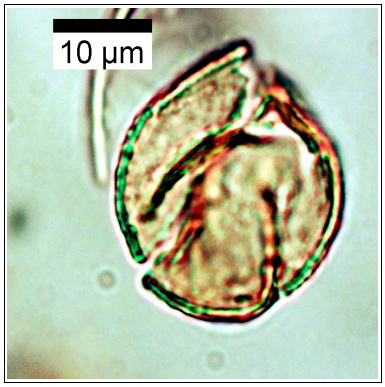



Figure 8. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Photographie d'un pollen de chêne *(Quercus sp.)*, grossissement x1000, prélèvement EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2.

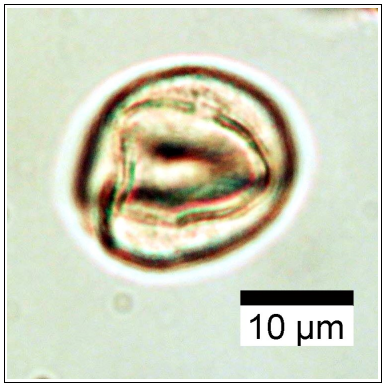



Figure 9. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Photographie d'un pollen d'oseille *(Rumex sp.)*, grossissement x1000, prélèvement EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2.

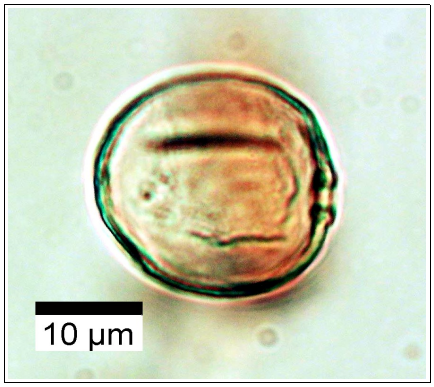



Figure 10. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45). Photographie de kyste de *Poacée*, grossissement x1000, prélèvement EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2.

# 4. PRECONISATIONS ET RESULTATS

L'extraction pollinique a livré des pollens en quantité et qualité satisfaisante. La concentration absolue est de l'ordre de 65000 pollens / mL pour le prélèvement. Ces valeurs sont « comparables » aux concentrations obtenues dans des dépôts organiques (ex. tourbières) souvent supérieurs à 50000 pollens / mL. En revanche la diversité est correcte, sans plus, avec 16 taxons polliniques et deux types de spores (Fig. 4). Il est cependant possible qu'une analyse plus complète permettrait d'atteindre davantage de taxons.

La concentration absolue calculée apparaît importante, mais cela est surtout lié au très faible nombre de lycopodes exotiques observés, biaisant ainsi le calcul des concentrations absolues. En effet, un seul grain de lycopode exotique a été observé.

On constate assez peu de conservation différentielle. En effet, les pollens de Cichorioïdées et d'Asteracées, taxons particulièrement résistants n'apparaissent pas particulièrement sur-représentés. Il est donc assez probable que le comblement du puits se soit maintenu dans des conditions anaérobies, favorables à la conservation pollinique, y compris lors de périodes sèches.

Les pollens et spores identifiés correspondent principalement à des végétations herbacées (seulement une quinzaine de pollens de chêne, aulne et noisetier sur 70 pollens observés correspondent à des pollens d'arbre). Ce résultat tendrait donc à décrire un paysage ouvert. Toutefois, il est assez probable que cette image soit déformée à cause de la nature des sédiments analysés et du mode de dépôt à l'intérieur du puits. En effet, contrairement aux analyses polliniques réalisées dans des contextes de dépôts sédimentaires « naturels et ouverts », où la pluie pollinique a pour principale origine des apports aériens (apports polliniques régionaux), dans notre cas le comblement est vraisemblablement avant tout associé aux rejets liés à l'utilisation du puits et aux ruissellements (infiltrations) des environs immédiats (apports polliniques plus locaux).

Ce sont donc plutôt des cortèges polliniques associés à des rejets des activités humaines et des environs du puits qui sont pressentis.

En ce qui concerne les végétations herbacées, on détecte les **groupements de friches et de jachères** (Poaceae, Asteraceae dont Cichorioïdeae, Chenopodiaceae, *Rumex sp.*, *Calluna sp.*) et de **prairies hygro- à mésophiles pâturées** (Poaceae, *Centaurea nigra,* Asteraceae, Ranunculaceae, Apiaceae).

**L'association des cultures** est représentée par l'intermédiaire de plusieurs pollens de céréale (*Cerealia type*) accompagnés de pollens de plantes rudérales (Chenopodiaceae, Cichorioïdeae) et adventices (*Rumex sp.*).

Notons aussi l'association **des communautés rudérales :** chemins, zones d'habitats, lieux de pacage (*Plantago sp.*, Urticaceae, Chenopodiaceae, Ranunculaceae, Apiaceae).

Les végétations arborescentes sont représentées par des pollens de chêne (forêts), de noisetier (boisements clairs, haies, lisières) et d'aulne (boisements hygrophiles).

Les effectifs observés sont évidemment trop faibles pour pouvoir davantage affiner l'image paléo-paysagère.

Les résultats du test ont montré une concentration pollinique intéressante avec un bon potentiel, même si la diversité un peu « moyenne » (18 taxons) modère un peu l'intérêt du test. Au regard de ces résultats nous avons évalué « l'indice de potentialité d'analyse » à 2 sur une échelle de 5.

| Code des prélèvements | Indice de potentiel d'étude |
|---|---|
| Saran - EA 1302 - PRL 204 – US 11103.2 | 2 |

Figure 11. Opération archéologique de l'opération de la ZAC « Portes du Loiret » sur la commune de Saran (45), 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).

Au regard de l'état de conservation global des pollens « assez bon », la poursuite de l'analyse de l'échantillon paraît intéressante car plusieurs associations végétales sont perçues (« friches et jachères », « prairies», « communautés rudérales », « cultures de céréale ») dans un paysage à priori plutôt ouvert. Il serait donc intéressant de renforcer ces premiers résultats par une analyse complète. (Fig. 11).

# 5. BIBLIOGRAPHIE


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.

COUTEAUX M. 1970. Étude palynologique des dépôts quaternaires de la Vallée de la Sûre à Echternach et à Berdorf et de la Moselle à Metert. Archeological Institute of Grand-Duchy of Luxembourg, 34, 297-336.

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.

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.

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., 115 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.

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.

# 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 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.

## 6.2. Description des échantillons et des traitements

| Sol Exotique (lycopodes...) | Nombre grains | Num (1-8) | NOM DE LA CAROTTE | VOL | Poids sec | HCL | HF 48% | HF 70% | filtration 5/10/15 microns | filtration Ultrason(s) | Date de montage | NB de lame | Résidu (I,M,F,N) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| oui | 18407 | F | EA1302 | 2 | 3,794 | X | X | X | 10 | 20 | 16/9/22 | 1 | M |

Figure 12. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).