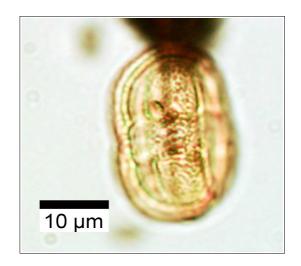


# Analyses scientifiques des découvertes archéologiques : Tests palynologiques



Tests palynologiques de huit prélèvements réalisés en stratigraphie à l'intérieur des comblements d'un fossé d'enclos protohistorique et d'un puisard/silo médiéval, sur la commune de Ligugé (86).

### **ARCHEODUNUM**

Rapport des tests palynologiques

Décembre 2022

# ARCHEODUNUM ———— Opération archéologique sur la commune de Ligugé (86) ————

### 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: <u>arkeomap.com</u>

Décembre 2022

Illustration de la page de couverture : Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Prélèvement n°2034, FS 2040. Pollen de Centaurée (Centaures *cyanus*). *Grossissement* x1000, l'échelle représente des micromètres.

### **SOMMAIRE**

INTRODUCTION	4
1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS	
2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS	
2.1 Le protocole d'extraction utilisé	8
2.2 Les comptages et déterminations	9
3. RESULTATS DES TESTS	11
4. DIAGNOSTIC ET PRECONISATIONS	
5. BIBLIOGRAPHIE	
6. ANNEXE	
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :	18
6.2. Description des échantillons et des traitements	21

### INTRODUCTION

Ce document présente les résultats de huit tests palynologiques de prélèvements réalisés lors d'une opération archéologique sur la commune de Ligugé (86).

Il y a sur le site deux occupations chronologiques distinctes.

La première se caractérise par des enclos fossoyés circulaires datant de la protohistoire, plus précisément du premier Âge du fer (VIIe au IVe s. av. J.-C.).

La seconde date du Moyen Âge et correspond à une occupation rurale (bâtiments sur poteaux porteurs et silos) dont l'étude numismatique indique une occupation centrée sur le IXe s. L'étude céramique confirme cette datation avec un mobilier céramique datant des IXe s. - Xe s.

Les prélèvements ont été réalisés dans les comblements d'un enclos protohistorique et d'un puisard / silo médiéval.

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

L'étude a été commandée Monsieur Michaël GOURVENNEC, responsable de l'opération.

## 1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

		INVENTAIRE PALYNOLOGIQUE	
	Commune :	Ligugé (86)	
Non	n de l'opération / Lieu-Dit :		
	Année :	2022	
	N° OA:		
	Resp. d'Op.	Michaël GOURVENNEC	
	Type d'opération :	fouille préventive	
Péi	iode d'analyse pressentie	Décembre - 2022	
	Faits US SD Nature	Description sédimentaire	Période / date
Plv n°1104	SDS1387 - FO1357	Limono-argileux, couleur : brun orangé	Comblement de fossé d'enclos circulaires
Plv n°1107	SDS1387 - FO1357	Limono-argileux, couleur : brun orangé	_protohistorique. Du premier Âge du fer (VIIe au IVe
Plv n°1110	SDS1387 - FO1357	Limono-argileux, couleur : brun orangé	s. av. JC.)
Plv n°2020	FS 2040	Limono-argileux, couleur : brun orangé	
Plv n°2024	FS 2040	Limono-argileux, couleur : brun orangé	
Plv n°2027	FS 2040	Limono-argileux, couleur : brun orangé	
Plv n°2034	FS 2040	Limono-argileux, couleur : brun orangé	Comblement de puisard – silo médiéval : IXe s
Plv n°2036	FS 2040	Limono-argileux, couleur : brun orangé	Xe s

Figure 1. Description de l'opération et inventaire des prélèvements étudiés

Les huit prélèvements proviennent de comblement de deux structures : une fosse interprétée comme un silo ou puisard (FS 2040) attribué au IXe s. - Xe s. Les prélèvements n° 2020, 2024, 2027, 2034, 2036 proviennent de ce comblement (Fig. 2). Les trois autres échantillons étudiés proviennent de niveaux de comblement d'un fossé protohistorique (SDS1387 - FO1357) (Fig. 3).

Les prélèvements avaient un aspect « brun orangé ». Toutefois, de façon générale les couches sédimentaires ne présentaient pas de conditions anaérobies permanentes (ex. tourbière, nappe d'eau), ce qui rend généralement la conservation des pollens très aléatoire.

L'objectif de ces tests vise à estimer la conservation et le contenu pollinique en vue d'analyses plus complètes si les résultats étaient positifs.



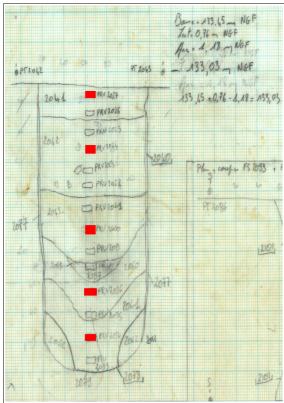


Figure 2. Photographie de la stratigraphie du comblement du silo-puisard (FS 2040) et position des cinq prélèvements sur le relevés stratigraphique symbolisés par des rectangles rouges.

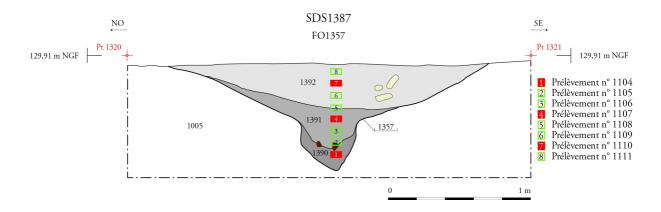


Figure 3. Relevé stratigraphique du fossé FO1357 et position des trois prélèvements symbolisés par des rectangles rouges.

# 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 4. 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 nonpolliniques. 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  $60\mu m$ , et dont le diamètre extérieur du pore aréolé est supérieur à  $10\mu m$  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 5) .

		Plv n°1104 : SDS1387 -	Plv n°1107 : SDS1387 -	Plv n°1110 : SDS1387 -	Plv n°2020 :	Plv n°2024 :	Plv n°2027 :	Plv n°2034 :	Plv n°2036 :
	Taxons \ Code Prélèvements	FO1357	FO1357	FO1357	FS 2040				
	Gymnosperme	0	1	0	0	0	0	0	0
	Pinus	0	1	0	0	0	0	0	0
	Pinus sylvestris	0	0	0	0	0	1	0	0
	Corylus	1	0	0	0	1	0	0	0
	POACEAE	0	0	1	0	0	0	6	0
	CICHORIOIDEAE	2	0	8	17	17	1	3	4
Pollens	ASTERACEAE	0	0	0	0	0	0	1	0
Θ	CARYOPHYLACEAE	0	0	0	0	0	0	2	0
<u> </u>	CHENOPODIACEAE	0	0	0	3	0	0	1	0
	Cerealia type	0	0	0	0	0	0	1	0
	Centaurea type nigra	0	0	0	0	0	0	2	0
	Centaurea type cyanus	0	0	0	0	0	0	2	0
	Alchemilla	0	0	0	0	0	0	1	0
	CYPERACEAE	0	1	0	1	0	0	0	0
	Potamogeton	0	0	0	1	0	0	0	0
Spores	Spore monolète	26	17	38	25	28	8	13	20
Spores	Spore trilète	1	0	2	7	13	0	4	10
	Concentricyste	0	0	0	1	0	0	1	0
	Dictyospores – HdV-126	0	0	0	0	0	0	1	0
	Amérospores – TM-505	0	0	0	0	0	0	0	1
<u>o</u>	Amérospores – HdV-27	0	0	0	0	2	0	0	0
<u> </u>	Phragmospores – HdV-729	0	0	1	1	1	0	0	0
.⊑	Amérospores – HdV-207	0	4	3	2	1	2	5	7
00	Dictyospores - TM-329	13	3	1	0	0	0	0	0
Non pollinique	Microrestes colorés – TM-318	1	5	0	0	0	0	0	0
ž	Spores algales et supposées - HdV-181 ou	0	0	1	0	2	2	0	0
	Microcharbons (tracheïdes : résineux)	0	0	0	0	0	0	4	0
	Microcharbons (feuillus)	14	22	38	24	58	61	45	11
	Thèque œuf Ascaris sp.	0	0	0	0	0	0	1	0
	SOM. pollen (somme de base)	3	3	9	22	18	2	19	4
	SOM. Sporo-pollinique	30	20	49	54	59	10	36	34
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	112	102	447	816	1076	94	2776	637
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	1122	683	2431	2004	3526	472	5259	5419

Figure 5. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). 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.

		Nombre d	e	Concentration	Concentration			Remarque,		
	Nombre de	pollens e	Lycopodes	absolue	absolue			taxons	Indice	de
	pollens	spores	introduits	pollen et	pollen	Etat de	Diversité		potentiel	
Code des prélèvements	comptés	comptés	comptés	spores	uniquement	conservation	taxon omique	es	d'étude	
Plv n°1104 : SDS1387 - FO1357	3	30	123	1122	112	Mauvais	4		5	
Plv n°1107 : SDS1387 - FO1357	3	20	154	683	102	Mauvais	4		5	
Phv n°1110 : SDS1387 - FO1357	9	49	106	2431	447	Mauvais	4		5	
Plv n°2020 : FS 2040	22	54	124	2004	816	Mauvais	6		5	
Plv n°2024 : FS 2040	18	59	88	3526	1076	Mauvais	4		5	
Plv n°2027 : FS 2040	2	10	130	472	94	Mauvais	3		5	
Plv n°2034 : FS 2040	19	36	42	5259	2776	Moyen	11	Céréale	3	
Plv n°2036 : FS 2040	4	34	33	5419	637	Mauvais	3		4	

Figure 6. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). 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 des potentialités 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).

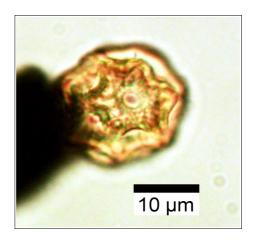


Figure 7. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Prélèvement 2034. Photographie d'un fragment de pollen de Caryophyllacée, grossissement x1000.

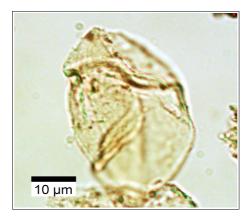


Figure 8. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Prélèvement 2034. Photographie d'un pollen de type Céréale. grossissement x1000.

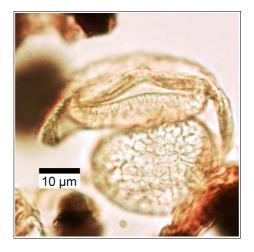


Figure 9. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Prélèvement 2027. Photographie d'un pollen de pin type sylvestre (*Pinus sylvestris*). grossissement x1000.

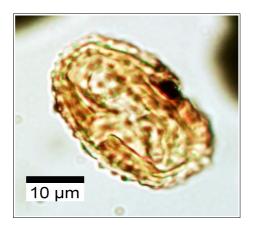


Figure 10. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Prélèvement 2034. Photographie d'un pollen de centaurée noire (*Centaurea type nigra*). grossissement x1000.



Figure 11. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Prélèvement 2034. Photographie d'un probable fragment thèque d'œuf d'Ascaris (à confirmer ?). grossissement x1000.

### 4. DIAGNOSTIC ET PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats globalement pauvres en pollens (Fig. 5 et 6).

Les prélèvements provenant du comblement du fossé protohistorique (prélèvements n°1104, 1107, 1110, FO1357) n'ont livré que très peu de pollens.

Les prélèvements du comblement du silo-puisard médiéval (FS2040) sont aussi très pauvres.

Exception faite du prélèvement n°2034, les concentrations polliniques ne dépassent pas les 1000 pollens / mL (ou tout juste pour le prélèvement n° 2024). De plus les diversités taxonomiques sont très faibles (6 types polliniques maximum pour le prélèvement n°2020). Les pollens détectés correspondent à des types sporopolliniques résistants comme les Cichorioïdées ou les spores monolètes.

Le test du prélèvement n°2034 livre un résultat un peu plus encourageant avec une concentration pollinique de l'ordre de 5000 pollens / mL et une diversité de 11 types sporo-polliniques, ce qui reste correcte sans plus (Fig. 6).

Pour rappel, ces valeurs sont à comparer avec les concentrations polliniques observées dans les dépôts organiques tels que dans les bas-marais ou les tourbières, souvent supérieures à 50000 pollens / mL avec des diversités de l'ordre de 50 taxons.

La détection systématique de spores de Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (de 33 à 154 Lycopodes comptés, Figure 6), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique. Ce constat montre aussi que la faiblesse des stocks polliniques constatées dans certains prélèvements, tient à la pauvreté des sédiments et non à la méthodologie employée pour l'extraction.

Le temps de contact entre la pluie pollinique et les couches archéologiques est un facteur qui a pu jouer pour expliquer ces résultats. Tout dépend de la durée de fonctionnement et <u>de la dynamique (vitesse) de comblement sédimentaire</u> des structures archéologiques.

L'autre facteur important est le contexte de conservation pollinique. Pour les huit prélèvements, de nombreux débris organiques ont été constatés sans qu'il soit possible d'en identifier la nature (ex. micro-charbons, restes ligneux, fibres...). Pour la plupart de ces échantillons, les quelques grains observés correspondent à des taxons plutôt résistants à la corrosion comme par exemple les pollens de résineux, de Cichorioïdées et les spores monolètes (Fig. 5). Le contexte de prélèvement, sur site archéologique (à la différence d'une zone humide de type tourbière), laisse penser que les pollens se sont trouvés dans des contextes aérobies (ou dans une zone de battement de nappe) propices à l'oxydation biologique ou physicochimique.

En ce qui concerne les résultats obtenus (Fig. 5):

- Pour les trois échantillons provenant du comblement du fossé protohistorique :

L'information perçue pour ces prélèvements est très lacunaire car ils sont soumis à d'importantes conservations différentielles, seuls les pollens les plus résistants sont encore présents: Cichorioïdées (herbacées) et résineux (pin, fragment de gymnosperme) notamment. Quelques rares pollens de Poacées et de Cyperacées sont détectés. Ce sont des indicateurs de végétations herbacées de type « prairies mésophiles ou humides ». Un pollen de noisetier (*Corylus avellana*) correspondrait à une végétation de boisements clairs.

Notons que les résineux (pins) sont connus pour leurs fortes productions et importantes diffusions polliniques. Ces pollens sont donc peut-être d'origine lointaine.

Quelques microfossiles non polliniques ont aussi été détectés. Leur signification écologique n'est pas toujours très claire : les Dictyospores TM-329, Microrestes TM-318, Amérospores HdV-207 (parasite de plantes herbacées) et spores algales et supposées – HdV-181 et HdV-182 (contextes humides).

Compte tenu de la mauvaise conservation de l'ensemble, il faut considérer ces résultats avec précaution, car de possibles effets de percolations ne sont pas à exclure.

A noter la détection de micro-charbons dans les trois prélèvements.

- Pour les cinq échantillons provenant des niveaux de comblement du silo-puisard médiéval :

Les résultats de quatre des cinq prélèvements sont assez décevants avec des concentrations polliniques et diversités très faibles. De plus, ce sont essentiellement des pollens et spores résistants (ex. Cichorioidées et spores monolètes) qui sont observés. Seul le prélèvement n°2034, localisé à la base du comblement, permit d'obtenir une concentration et une diversité pollinique correcte (Fig. 5 et 6).

Pour ce prélèvement n°2034, les pollens observés correspondent exclusivement à des végétations herbacées, c'est donc un paysage ouvert qui est interprété.

**L'association des prairies hygro- à mésophiles** peut être suggérée par l'intermédiaire des pollens de Poacées, Asteracées, Caryophyllacées, *Centaurea nigra*, *Alchemilla sp.*, *Centaurea sp.* 

Le caractère agricole des environs est aussi perçu par l'intermédiaire d'un pollen de céréale (une occurrence) (cf. photographies Fig. 8). Des pollens de plantes accompagnatrices des **cultures** (*Centaurea cyanus*, Asteracées, Cichorioïdées) sont aussi identifiés.

Des attestations de chénopode (Chenopodiacées), de Poacées, Caryophyllacées, associés aux pollens de plantes rudérales (Asteracées, Cichorioïdées) pourraient aussi caractériser des végétations de « friches et jachères » .

Des indices de plantes aquatiques telles que les « concentricystes » mais aussi des spores d'algues et « supposées » (HdV-181 et HdV 182), observés dans le prélèvement n°2027, suggèrent **l'existence d'une nappe d'eau « assez profonde », au moins momentanément.** 

Quelques « amérospores du type HdV-207 » ont aussi été observés, ce sont des microrestes d'origine fongique (champignons). De façon générale, les spores monolètes, trilètes et amérospores correspondent à des végétations de mousses, de fougères et de champignons difficilement interprétables.

A noter des concentrations de micro-charbons de bois de feuillus mais aussi de résineux.

Enfin un <u>probable</u> fragment de cuticule ou thèque d'œuf de vers parasite de type *Ascaris sp.* a été observé (cf. photo Fig. 11). Ce sont des vers parasites du tube digestif humain pouvant affecter aussi les chiens, le renard et le porc. La détection de ce microfossile caractérise la présence de matières fécales ou d'apports de « fumures » dans les environs. On peut penser que des eaux usées sont venues « contaminées » les eaux du puisard.

Les effectifs observés dans le cadre de ces tests sont évidemment trop faibles pour pouvoir davantage affiner l'image des associations végétales environnantes. Compte tenu de la pauvreté pollinique, <u>il faut interpréter ces premiers résultats avec beaucoup de précaution.</u>

Au regard de l'état de conservation global des pollens, des diversités et des quelques « taxons remarquables » observés, seuls le prélèvement n°2034 semble intéressant pour une analyse complète.

Les sept autres prélèvements montrent des concentrations polliniques et des diversités trop insuffisantes pour pouvoir espérer obtenir des résultats interprétables. Les indices de priorités d'analyses ont été estimés de « mauvais » à « très mauvais » pour ces prélèvements (Fig. 6 et 12). La poursuite d'analyse pour ces prélèvements paraît peu pertinente.

Code des prélèvements	Indice potentiel d'étude	de
Plv n°1104 : SDS1387 - FO1357	5	
Plv n°1107 : SDS1387 - FO1357	5	
Plv n°1110 : SDS1387 - FO1357	5	
Plv n°2020 : FS 2040	5	
Plv n°2024 : FS 2040	5	
Plv n°2027 : FS 2040	5	
Plv n°2034 : FS 2040	3	
Plv n°2036 : FS 2040	4	

Figure 12. Opération archéologique de la commune de Ligugé (86). Tableau récapitulant l'ordre de priorité des analyses palynologiques. Un ordre de « potentiel d'analyse » 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

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 (HCI)

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 (HCI)

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.

### <u>Rinçage</u>

**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 1I de glycérol à 98% 1% de phénol.

### 6.2. Description des échantillons et des traitements

SERIE N°	TECH	Date	Coul (N, B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes)	Nombre grains	Num (1-8)	TRONCON	VOL	Poids sec	HCL	HF 48%	HF 70%
2619	MG	22/11/22	RG	lycopodes	18407	D	PLV 1104	4	10,173	X	Х	Х
2619	MG	22/11/22	RG	lycopodes	18407	E	PLV 1107	3,5	7,146	Х	Х	X
2619	MG	22/11/22	RG	lycopodes	18407	F	PLV 1110	3,5	8,571	Х	Х	Х
2619	MG	22/11/22	RG	lycopodes	18407	G	PLV 2020	4	9,505	Х	Х	Х
2619	MG	22/11/22	RG	lycopodes	18407	Н	PLV 2024	3,5	7,16	Х	Х	Х
2620	MG	22/11/22	В	lycopodes	18407	Α	PLV 2027	3	7,06	X	Х	Х
2620	MG	22/11/22	В	lycopodes	18407	В	PLV 2034	3	7,392	Х	Х	Х
2620	MG	22/11/22	В	lycopodes	18407	С	PLV 2036	3,5	7,828	Х	Х	Х

Figure 13. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).