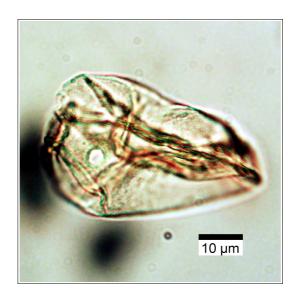


Analyses scientifiques des découvertes archéologiques : Etudes palynologiques



Analyse palynologique de deux prélèvements réalisés en stratigraphie à l'intérieur d'une fosse quadrangulaire située en zone humide au lieu-dit « Bei Der Lehr », sur la commune de Bettembourg (Luxembourg).

OPÉRATION: 2020-098, TR 4 ST2

INRA
Service d'archéologie préhistorique

Rapport d'étude palynologique

Avril 2023

Institut National de Recherches Archéologiques

Service d'archéologie préhistorique

Analyse palynologique de deux prélèvements réalisés en stratigraphie à l'intérieur d'une fosse quadrangulaire située en zone humide au lieu-dit « Bei Der Lehr », sur la commune de Bettembourg (Luxembourg).
Opération 2020-098, TR 4 ST2.
Références des échantillons étudiés :
Fosse quadrangulaire (prélèvements « Haut : A » et « Bas : B ») et prélèvements : US08, US09 (12-14cm), US 09 (38-40cm) et US 07
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>

Avril 2023

Illustration de la page de couverture : Pollen de Cerealia type, prélèvement à l'intérieur de la fosse quadrangulaire «Haut B », Grossissement x1000. L'échelle représente 10 micromètres.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	4
1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS	5
2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS	7
2.1 Le protocole d'extraction utilisé	7
2.2 Les comptages et déterminations	7
2.3 Le diagramme pollinique	9
3. RESULTATS, INTERPRETATION	10
3.1. Analyse critique des résultats	10
3.2. Interprétation des résultats	11
4. SYNTHESE	
5. BIBLIOGRAPHIE	14
6. FIGURES	15
7. ANNEXE	19
7.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :	
7.2. Description des échantillons et des traitements	

INTRODUCTION

Une fosse quadrangulaire située en zone humide a été mise au jour au cours d'une opération archéologique sous contrôle scientifique de l'INRA (opération 2020-098), sur la commune de Bettembourg au lieu-dit « Bei Der Lerh ».

Ces analyses font suite à la réalisation de tests sur six prélèvements palynologiques réalisés en stratigraphie, dont deux à l'intérieur de la fosse quadrangulaire. Les résultats des tests ayant conclu à la présence de pollens en quantité et qualité raisonnable à l'intérieur des prélèvements provenant du comblement de la fosse (Gaudin, 2022), nous avons donc poussé l'étude de manière à obtenir des spectres polliniques sur la base de ces échantillons.

L'étude a été commandée par Monsieur Laurent Brou, archéologue de l'INRA, avec l'accord de son responsable Monsieur Foni Le Brun-Ricalens.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Les échantillons du site de Bettembourg ont été prélevés dans un contexte de talweg situé dans une grande zone humide.

La fouille révéla à environ 1,5 m de profondeur une fosse comblée par un sédiment argileux organique de couleur grise (probablement anaérobie). Cette fosse a fait l'objet de 2 prélèvements dans la partie haute du comblement (Prélèvements A et B).

La couleur grise du comblement de la fosse était un indice de conditions anaérobies, indice plutôt favorable à la préservation pollinique. Le sédiment environnant était de couleur brun beige, à priori moins favorable.

A proximité de la fosse un log a été réalisé afin d'identifier le paléosol. Quatre autres prélèvements ont été réalisés le long d'une colonne stratigraphique au moment de la fouille (Fig. 1). Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'un « rail plaquo » (4 échantillons de 2 cm d'épaisseur). Ils ont été effectués entre 12 cm et 40 cm de profondeur (Fig. 2).



Figure 1. Photographie de la stratigraphie du comblement de la fosse quadrangulaire (ST2) de Bettembourg (Luxembourg). Le comblement est apparu grisâtre, lié potentiellement aux conditions « anaérobies » du comblement.

Même si le contexte actuel présentait des conditions relativement humide, il n'est pas du tout certain que les conditions soient restées en anaérobie permanente depuis le comblement de la fosse, ce qui rend la conservation des pollens très aléatoire.

Le résultat des tests se révéla plutôt positif pour les deux prélèvements provenant du comblement de la fosse quadrangulaire, avec des concentrations sporopolliniques de l'ordre de 20000 à 30000 grains / ml (Gaudin, 2022). Ce résultat nous encouragea à mener une analyse « complète » pour ces deux prélèvements. Les autres échantillons étaient beaucoup moins riches (Fig. 3)

Site / Opération	Numéro d'US	Masse envoyée (g)	Datation	RQ
Bettembourg « Bei der Leht » - 2020 - 098	PAL / PR05 - US9 - (NUM1) ; 12 - 14cm	18	Holocène	Brun – beige. Légèrement organique.
Bettembourg « Bei der Leht » - 2020 - 098	PAL / PR03 - US7 - (NUM4) ; 20 - 22cm	12	Holocène	Brun – beige. Légèrement organique.
Bettembourg « Bei der Leht » - 2020 - 098	PAL / PR04 - US8 - (NUM3) ; 34 - 36cm	14	Holocène	Brun – beige. Légèrement organique.
Bettembourg « Bei der Leht » - 2020 - 098	PAL / PR05 - US9 - (NUM2) ; 38 - 40cm	17	Holocène	Brun – beige. Légèrement organique.
Bettembourg « Bei der Leht » - 2020 - 098	Fosse quadrangulaire ST.2 PAL Haut - A	32	Holocène	Brun – beige. Légèrement organique.
Bettembourg « Bei der Leht » - 2020 - 098	Fosse quadrangulaire ST.2 PAL Haut - B	21	Holocène	Brun – beige. Légèrement organique.

Figure 2. Inventaire des prélèvements étudiés.

			Nombre	de		Concentration	Concentration				
	Nombre	de	pollens	et	Lycopodes	absolue	absolue		Diversité		Indice de
	pollens		spores		introduits	pollen e	t pollen	Etat d	etaxonomiq	Remarq	potentiel
Code des prélèvements	comptés		comptés		comptés	spores	uniquement	conservation	ue	ue	d'étude
MARLY (57) – Le Sivré	17		52		50	9572	3129	Mauvais	7		4
BETTEMBOURG - Fosse quadrangulaire - ST2 - PAL Haut A	30		62		20	28531	13805	Moyen	11	Céréale	
BETTEMBOURG - Fosse quadrangulaire - ST2 - PAL Haut E	35		70		31	20782	10391	Moyen	14	Céréale	3
BETTEMBOURG - PLV 4 - US08	11		28		45	5727	2250	Mauvais	9		4
BETTEMBOURG - PLV 5- US09 - 12 - 14 cm	3		12		78	944	236	Très mauvais	4		5
BETTEMBOURG - PLV 5- US09 - 38 - 40 cm	8		14		60	1432	818	Très mauvais	6		5
BETTEMBOURG - PLV3 - US07	7		29		55	4853	1171	Mauvais	9		4

Figure 3. Résultats des tests polliniques (extrait de Gaudin, 2022). Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/mL de sédiment) ainsi que la diversité taxonomique obtenus lors des tests polliniques pour 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).

L'objectif de cette étude vise à obtenir une description du paysage végétal mais aussi, compte tenu du contexte sédimentaire (comblement de fosse), obtenir des informations sur le fonctionnement à l'intérieur et autour de cette structure.

Les prélèvement ont été réalisés directement en stratigraphie (Fig. 3).

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 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. 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.

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 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).

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. 6).

Le pourcentage de chaque taxon a été calculé par rapport à une somme de base correspondant au total des pollens observés.

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 (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 n° de prélèvement figurant sur la stratigraphie (Fig. 6),
- l'ensemble des fréquences relatives de chaque taxon 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 : Pollens d'arbres / Pollens Non Arboréen) 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, plantes de zones humides et aquatiques. Au sein des herbacées, les taxons sont ordonnés par leurs affinités écologiques,
- les courbes individuelles continues des spores de Ptéridophytes (fougères), des Bryophytes (mousses) puis des microfossiles non polliniques.

Remarque:

- les fréquences des spores et des microfossiles non polliniques sont calculées sur la base des sommes polliniques.

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 5 et 6).

3.1. Analyse critique des résultats

L'analyse des deux échantillons a permis d'observer entre 250 et 300 grains de pollens et de spores par prélèvement (Fig. 5 et 8).

Les concentrations de pollens constatées à l'intérieur des échantillons sont plutôt correctes avec des valeurs de l'ordre de 8000 à 15000 grains / mL. Ce sont des concentrations similaires à celles obtenues pour les tests (Gaudin, 2020).

La détection relativement importante des spores de Lycopodes introduits dans les volumes extraits (respectivement 89 et 126 Lycopodes comptés, Fig. 8), <u>témoigne</u> de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporopollinique.

Les pollens de Cichorioïdées et d'Asteracées, taxons particulièrement résistants, apparaissent sur-représentés. En effet, il est très probable que le comblement de la fosse ait pu présenter des conditions plus ou moins « aérobie » (ex. lors de périodes particulièrement sèches) plus propices à l'oxydation biologique ou physicochimique des pollens les moins résistants. Au final la conservation de l'ensemble apparaît correcte sans plus. Car même si une vingtaine de taxons a pu être identifiée dans chaque prélèvement, ils correspondent aussi aux pollens parmi les plus résistants... La composition pollinique obtenue est donc probablement assez lacunaire.

Au total, ce sont une quinzaine de types polliniques, quatre types de spores et une dizaines de microfossiles non polliniques qui ont été identifiés (Fig. 5 et 6).

Les pollens et spores identifiés correspondent essentiellement à des végétations herbacées (environ 90% des pollens). Ce résultat tendrait donc à décrire un paysage très ouvert. Toutefois, il est assez probable que cette image soit influencée par la nature des sédiments analysés et du mode de dépôt à l'intérieur de la fosse. En effet, contrairement aux analyses polliniques réalisées dans des contextes de dépôts sédimentaires « naturels et ouverts » (type tourbière), où la pluie pollinique a pour principale origine des apports aériens (apports polliniques régionaux), dans notre cas le comblement de la fosse quadrangulaire est vraisemblablement en partie dépendante du ruissellement des environs immédiats. L'observation de quelques pollens de plantes aquatiques (Cyperacées, Hydrocharis sp.) montre que la fosse a dû être régulièrement inondée probablement grâce au ruissellement des surfaces environnantes. L'image de la végétation perçue est donc potentiellement plutôt locale.

3.2. Interprétation des résultats

L'analyse des deux échantillons montra des ensembles polliniques très semblables. Ce sont les mêmes associations végétales qui sont perçues. Ce constat tendrait donc à démontrer que les deux échantillons correspondent à une même phase de comblement.

Les taux de pollens d'arbres oscillent aux environs de 10 %. Ce faible taux est principalement porté par les pollens de résineux (notamment de pin). Quelques rares pollens de chêne et d'aulne complètent l'ensemble. Si l'on rajoute à cela le fait que les arbres produisent et diffusent plus de pollens que les plantes herbacées (par exemple le chêne (*Quercus sp.*) produit six fois plus de pollens que les Poaceae, l'aulne neuf fois plus, le pin six fois plus, cf. tableau des Production Pollinique Européen selon F. Mazier et al., 2012, Fig. 9), le paysage environnant le site devait être très largement ouvert.

Les groupements forestiers, probablement éloignés ou très réduits sont perceptibles par l'intermédiaire de pollens de résineux (Gymnosperme) dont le pin type sylvestre (*Pinus sylvestris*) et des feuillus avec le chêne (*Quercus sp.*) et l'aulne (*Alnus sp.*) (Fig. 5 et 6).

A partir de ces essences on peut identifier plusieurs types de boisements :

- les boisements de pins. Ces pollens de résineux sont connus pour leurs fortes productions et importantes diffusions polliniques (Fig. 9). Ces pollens sont donc probablement d'origine lointaine,
- le groupement apparenté à la chênaie avec le chêne,
- les **boisements hygrophiles** avec l'aulne. Ces boisements humides étaient situés près de berges ou à l'intérieur d'une zone alluviale.

En ce qui concerne les végétations herbacées, on détecte à la fois les **groupements de friches et de jachères** (Poaceae, Asteraceae, Cichorioïdeae, Chenopodiaceae, *Polygonum type aviculare, Brassicaceae, Trifolium sp.*) et de **prairies hygro- à mésophiles** (Poaceae, Cyperaceae, Asteraceae, Ranunculaceae, *Trifolium sp.*). Des pollens de plantes humides et aquatiques sont aussi régulièrement détectés. L'association des pollens de carex (Cyperaceae) et d'*Hydrocharis* sp. suggère l'existence de **végétations de zone inondée peu profonde,** peut-être au sein même de la fosse.

L'association des cultures de céréales est perceptible avec l'identification de quelques pollens (*Cerealia type*). Ces attestations restent rares (seulement huit pollens comptés pour les deux échantillons). L'hypothèse de cultures est appuyée par la détection simultanée de pollens de plantes rudérales (Chenopodiaceae, Cichorioïdeae, *Polygonum type aviculare* notamment). Le faible nombre de pollens suggère des cultures assez éloignées.

Le nombre de spores monolètes est très important car environ 300 grains ont été comptés au total. Les fréquences de ces spores (fougères et mousses) sont souvent aléatoires et difficilement interprétables (Fig. 5 et 6). Ces spores pourraient provenir pour partie des mousses et des fougères (ex. la fougère aigle : *Pteridium sp.* a été identifiée) situées dans les environs, voire à l'intérieur de la fosse.

Quelques microrestes non polliniques sont présents, notamment des « amérospores des types HdV-207, Dictyospores, microrestes colorés ». Ce sont pour la plupart des microrestes d'origine fongique (champignons) mais dont la signification

écologique n'est pas toujours très claire. L'amérospore du type HdV-207 serait un microreste d'origine fongique (champignons du genre *Glomus*?), parasite d'une plante herbacée (Cugny, 2011).

Des microrestes hyalins type HdV-181 seraient caractéristiques d'eaux stagnantes peu profondes (Cugny, 2011). Quelques spores algales et supposées de type TM-4021 rappellent aussi le caractère humide du contexte de dépôt.

De plus, notons l'observation à la fois de cuticules (ou thèque) d'œuf de vers parasite de type *Trichuris sp. et d'Ascaris sp. (prélèvement « Haut B »).* Ce sont des vers parasites du tube digestif humain pouvant affecter aussi les chiens, le renard et le porc. La détection de ces microfossiles caractérisent la présence de matières fécales ou d'apports de « fumures » dans les environs. On peut penser que des eaux usées sont venues contaminer les eaux de la zone humide par ruissellement.

Enfin, un ascospore de groupe coprophile (HdV-55, groupe Sordariale), indicateur de matières fécales, voire d'élevage (?), a aussi été identifié dans le prélèvement « Haut A ».

4. SYNTHESE

Cette étude apporte des informations de compréhension du site sous l'angle de la palynologie.

Les prélèvements étudiés permirent d'obtenir des concentrations polliniques plutôt « moyennes » (de 7500 à 15000 grains / mL) (Fig 8).

En ce qui concerne la conservation pollinique, on constate une sur-représentation des Cichorioïdées et des spores monolètes, taxons particulièrement résistants. L'ensemble pollinique observé est donc soumis à une conservation différentielle des taxons les plus résistants et présente vraisemblablement une composition lacunaire à l'égard des taxons aux enveloppes les plus fragiles.

Le nombre de pollens comptés et les diversités taxonomiques sont aussi correctes mais sans plus. Le contexte sédimentaire ne semble pas être resté totalement à l'abri de l'oxygène pour permettre une conservation pollinique parfaite. Le comblement de la fosse a probablement été soumis à des phénomènes de battements de nappe, alternant des périodes de saturation en eau (anaérobie) et des périodes plus sèches, entraînant alors des phénomènes d'oxydation et de biodégradation.

Le contexte de la fosse amène aussi à s'interroger sur le mode de déposition des pollens. En effet, contrairement aux analyses polliniques réalisées dans des contextes de dépôts sédimentaires « naturels », où la pluie pollinique est avant tout associée à des apports aériens, la composition pollinique analysée dans le comblement de la fosse est probablement en partie liée aux ruissellements des espaces environnants. C'est donc surtout l'image de la <u>végétation locale</u> qui est perçue.

L'étude des associations polliniques a permis d'identifier un paysage largement ouvert. Seuls quelques pollens de chêne, d'aulne et de résineux témoignent de boisements probablement éloignés ou très réduits. En ce qui concerne la végétation herbacée, on a pu identifier les groupements **de friches et de jachères**, de **prairies hygro- à mésophiles** et de **cultures** (identification de pollens de céréales). Des végétations **de zones inondées peu profondes** ont dû aussi environner, voire occuper la fosse.

La détection à la fois de l'association de prairies et de quelques ascospores de groupe coprophile (HdV-55) pourraient témoigner de la pratique de l'élevage dans les environs.

Enfin, l'observation de quelques thèques d'œuf de vers parasites intestinaux (type *Ascaris sp.* et *Trichuris sp.*, Fig. 7) atteste de probables infiltrations « d'eau usées » et/ou de l'apport de fumures organiques à proximité ou à l'intérieur de la fosse.

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.

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.

GAUDIN L., 2022 – Tests palynologiques réalisés sur 13 prélèvements des sites de Mertert (Lux), Bettembourg (Lux), Marly (57). 21p. (Destinataire public : CNRA Service d'archéologie préhistorique. RO. M. Brou, Dir. M. Le Brun-Ricalens).

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.

MAZIER F., GAILLARD M. J., KUNEŠ P., SUGITA S., TRONDMAN A. K., BROSTRÖM A., 2012 - Testing the effect of site selection and parameter setting on REVEALS-model estimates of plant abundance using the Czech Quaternary Palynological Database." *Review of Palaeobotany and Palynology* no. 187 p. 38-49. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.revpalbo.2012.07.017.

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.

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.

6. FIGURES

Taxons \ Code Prélèvements
Taxons \ Code Prélèvements Quadrangulaire - ST2 - PAL Haut A ST2 - PAL Hi Fragments Pollen Gymnosperme 3 3 3 3 3 3 3 3 3
Taxons \ Code Prélèvements
Fragments Pollen Gymnosperme 3 3 3 Pinus 5 1 Pinus sylvestris 3 2 Quercus 1 3 Alnus 1 1 1 POACEAE 47 52 CICHORIOIDEAE 34 19 ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
Pinus 5
Pinus sylvestris 3 2 Quercus 1 3 Alnus 1 1 1 POACEAE 47 52 CICHORIOIDEAE 34 19 ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
Quercus 1 3 Alnus 1 1 POACEAE 47 52 CICHORIOIDEAE 34 19 ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
Alnus 1 1 1 POACEAE 47 52 CICHORIOIDEAE 34 19 ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
POACEAE 47 52 CICHORIOIDEAE 34 19 ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
CICHORIOIDEAE 34 19 ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
ASTERACEAE 2 5 CHENOPODIACEAE 9 8 BRASSICACEAE 6 4 Polygonum type aviculare 3 1 Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
BRASSICACEAE
BRASSICACEAE
BRASSICACEAE
Cerealia type 5 3 RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
RANUNCULACEAE 1 0 Trifolium 0 1
Trifolium 0 1
CYPERACEAE 12 0
011 210 102 12
Hydrocharis 7 4
Asplenium 1 0
Pteridium 0 1
Asplenium
Spore trilète 7 1
Dinoflagellés 1 0
Ascospores gp coprophiles – HdV-55 – Sor 1 0
Amérospores – TM-357 0 9
.⊑ Amérospores – HdV-207 54 24
Microrestes colorés – TM-318 4 0
Dictyospores – HdV-200 1 1
Spores algales et supposées – TM-4021 1 0
Microrestes hyalins – HdV-181 2 4
Microcharbons: 51 18
Ascospores gp coprophiles - HdV-55 - Sor
.D Thèque œuf <i>Trichuris sp.</i> 0 1
Thèque œuf Ascaris sp. 0 1
Indéterminés 0 3
SOM. pollen (somme de base) 139 107
SOM. Sporo-pollinique 283 266
CONC. ABS Pollen (nb / cm3) 14374 7816
CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3) 29265 19430

Figure 5. Opération archéologique du lieu-dit « Bei Der Lehr » sur la commune de Bettembourg (Luxembourg). Comptages correspondant aux pollens, spores et quelques autres types de 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.

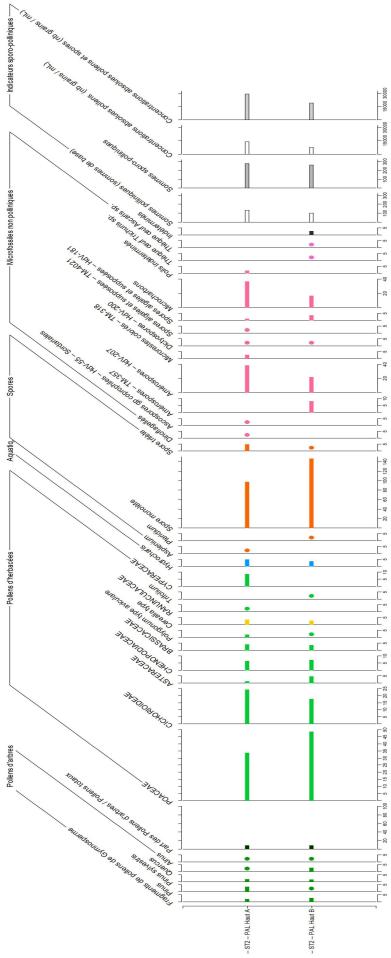
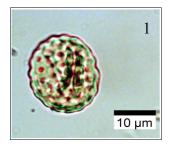
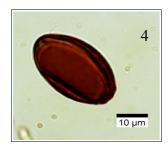


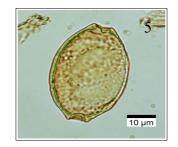
Diagramme sporo-Figure 6. pollinique du comblement d'une fosse quadrangulaire située au lieu-dit « Bei Der Lehr » sur la commune Bettembourg de (Luxembourg). Les valeurs sont exprimées fréquences en relatives (%). La somme de base a utilisée pour calculer fréquences correspond à la somme des grains de 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
nombre de grains / cm3 de sédiment.











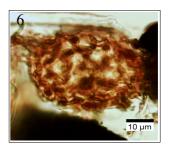


Figure 7. Photographies de pollens sous microscope optique à immersion, grossissement x1000. Les échelles représentent des micromètres. 1. PRV Haut A – Pollen de Chénopodiaceae ; 2. PRV Haut A – Pollen de céréale (*Cerealia sp.*) ; 3. PRV Haut A – Pollen de résineux type Pinus ; 4. PRV Haut A – Ascospore gp coprophile HdV-55 ; 5. PRV Haut B – Thèque œuf de type *Trichuris sp.* ; 6. PRV Haut B – Thèque œuf de type *Ascaris sp.* ;

		Nombre de		Concentration	Concentration			
	Nombre de	pollens et	Lycopodes	absolue	absolue			
Code des	pollens	spores	introduits	pollen et	pollen	Etat de	Diversité	
prélèvements	comptés	comptés	comptés	spores	uniquement	conservation	taxonomique	Remarque
ST 2 – PAL Haut A	139	283	89	29265	14374	Moyen	18	Céréale
ST2 - PAL Haut B	107	266	126	19430	7816	Moyen	17	Céréale

Figure 8. Nombre de pollens et de spores comptés, nombre de grains par mL de sédiment, diversité taxonomique, états de conservation estimés pour chaque prélèvement.

Taxon	Production pollinique relative/Poaceae PPE (SE)	Vitesse de chute dans l'air des grains de pollen (m/s)
Abies	6.88 (1.44)	0.120
Alnus	9.07 (0.10)	0.021
Artemisia	3.48 (0.20)	0.025
Betula	3.09 (0.27)	0.024
Calluna vulgaris	0.82 (0.02)	0.038
Carpinus	3.55 (0.43)	0.042
Ceralia-t	1.85 (0.38)	0.060
Corylus	1.99 (0.20)	0.025
Fagus	2.35 (0.11)	0.057
Filipendula	2.81 (0.43)	0.006
Fraxinus	1.03 (0.11)	0.022
Juniperus	2.07 (0.04)	0.016
Picea	2.62 (012)	0.056
Pinus	6.38 (0.45)	0.031
Plantago lanceolata	1.04 (0.09)	0.029
Plantago media	1.27 (0.18)	0.024
Plantago montana	0.74 (0.13)	0.030
Poaceae	1.00 (0.00)	0.035
Quercus	5.83 (0.15)	0.035
Rumex acetosa-t	2.14 (0.28)	0.018
Salix	1.22 (0.11)	0.022
Secale	3.02 (0.05)	0.060
Tilia	0.80 (0.03)	0.032
Ulmus	1.27 (0.05)	0.032

Figure 9. Tableau récapitulatif des valeurs moyennes des productions polliniques européens et des vitesses de chute dans l'air des grains de pollen des taxons étudiés (d'après Mazier *et al.*, 2012).

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 (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.

7.2. Description des échantillons et des traitements

SERIE N°	TECH	Date	Coul (N, B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes)	Nombre grains	Num (1-8)	TRONCON	Prof top	Prof base	VOL	Poids sec
2594	MG	09/05/22	R	lycopodes	18407	2	PR05-US09	12	14	2	4,634
2594	MG	09/05/22	R	lycopodes	18407	3	PR03-US07	20	22	2	4,744
2594	MG	09/05/22	R	lycopodes	18407	4	PR04-US08	34	36	2	4,162
2594	MG	09/05/22	R	lycopodes	18407	5	PR05-US09	38	40	3	6,26
2594	MG	09/05/22	R	lycopodes	18407	6	FOS QUAD	ST2	Ht A	2	4,985
2594	MG	09/05/22	R	lycopodes	18407	7	FOS QUAD	ST2	Ht B	2	4,585

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