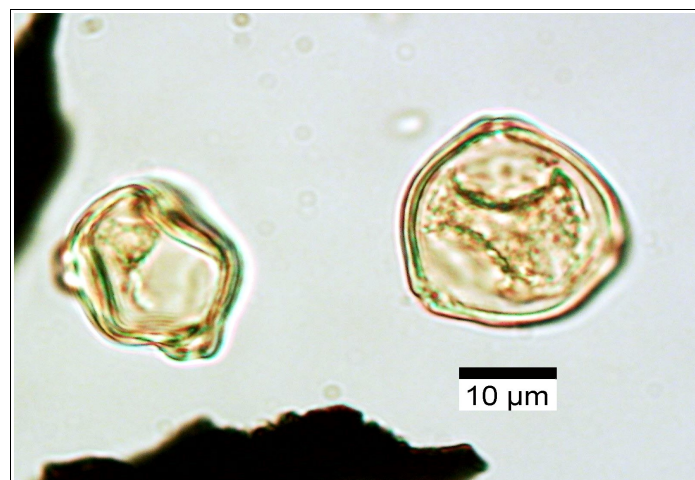


ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



TESTS PALYNOLOGIQUES DE SIX PRÉLÈVEMENTS RÉALISÉS SUR LE SITE DE LA GALERIE SOUTERRAINE, LE CHÂTEAU, COMMUNE DE GAILLON (27).

Opération : 173352

Mission Archéologique Départementale de l'Eure

Rapport de tests palynologiques

Juillet 2023

Mission Archéologique Départementale de l'Eure

8 rue des thermes, 27930 Le Vieil-Evreux

**Opération archéologique le site de « la Galerie souterraine », Le château,
commune de Gaillon (27)**

Références des échantillons étudiés :

US des prélèvements provenant du comblement de la Galerie souterraine :

US13, US15, US17, US18 supérieure (A), US18 inférieure (B), US19.

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

Juillet 2023

Illustration de la page de couverture : Prélèvement de l'US 18 (B). Pollens de bouleau (à gauche) et de noisetier (à droite). 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.....	6
3. RESULTATS DES TESTS.....	8
4. DIAGNOSTIC ET PRECONISATIONS.....	11
5. BIBLIOGRAPHIE.....	13
6. ANNEXE.....	14
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	14
6.2. Description des échantillons et des traitements	17

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats de six tests palynologiques de prélèvements réalisés lors de l'opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). L'opération a été menée dans le cadre de la mise en sécurité de celle-ci.

Durant le XIXe siècle le site est transformé en maison d'arrêt, à cette époque la galerie va servir de fosse de latrine. L'opération archéologique a consisté à sonder la puissance stratigraphique du niveau de sédiment organique conservé sur la surface de l'emprise qui sera mise en sécurité.

Les prélèvements ont été réalisés dans les différentes US du comblement de la galerie. La couche de l'US18, plus importante a été échantillonnée en plusieurs niveaux.

Cette analyse palynologique vient compléter les résultats carpologiques, visant à mieux comprendre l'environnement du site mais aussi au regard de l'origine des dépôts (rejets de latrine), obtenir des informations d'ordre alimentaire et/ou sanitaire.

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

L'étude a été commandée Madame Léa Pasquette, responsable de l'opération.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

INVENTAIRE ANTHRACOLOGIQUE	
Commune :	Gaillon (27)
Nom de l'opération / Lieu-Dit :	Le Château de Gaillon (galerie souterraine)
Année :	2023
N° OA :	référence interne : ES 40 / code Patriarche : 173352
Resp. d'Op. ; commanditaire	MADE, Léa Pasquette
Type d'opération :	Préventif
Période d'analyse pressentie	01/07/23

N° de prélèvement	Masse envoyée	Descriptions sédimentaires
US 13	19	Limoneux : brun foncé , tendance organique organique
US 15	20	Limoneux : brun foncé , tendance organique organique
US 17	36	Limoneux : brun foncé , tendance organique organique
US 18 A	22	Limoneux : brun foncé , tendance organique organique
US 18 B	19	Limoneux : brun foncé , tendance organique organique
US 19	21	Limoneux : brun foncé , tendance organique organique

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

Les échantillons étudiés proviennent des niveaux de comblement de la galerie.

Cette galerie aurait servi de fosse de latrine durant le XIXe siècle. Le contexte de la galerie a probablement « protégé » le dépôt de la lumière, facteur ayant pu freiner la biodégradation (pas de développement de plantes chlorophylliennes). En revanche, à défaut de conditions humides permanentes, le dépôt est resté en contexte aérobie propice à des biodégradations microbiennes (oxydation par respiration), ce qui rend souvent 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.

2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS

2.1 Le protocole d'extraction utilisé

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

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

2.2 Les comptages et déterminations

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



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

Les outils utilisés pour les déterminations sont de plusieurs sortes :

- des lames de référence du Laboratoire de l'UMR 6566 « CReAAH », de pollens actuels portant principalement sur la flore hygrophile des marais,
- des clichés photographiques pris au microscope optique et électronique,
- des atlas photographiques « pollens et spores d'Europe et d'Afrique du Nord » (Reille, 1992) et « Leitfaden der Pollenbestimmung für 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		US 13	US 15	US 17	US 18 A	US 18 B	US 19
Pollens	Gymnosperme	1	1	2	5	0	0
	Pinus sylvestris	1	2	0	2	2	1
	Quercus	0	1	11	3	0	9
	Ulmus	0	1	1	1	4	1
	Tilia	0	1	0	1	1	4
	Fagus	1	2	0	0	1	2
	Carpinus	0	0	0	0	0	1
	Corylus	0	0	8	1	8	1
	Betula	2	3	9	2	5	5
	Alnus	0	0	1	1	0	0
	Fraxinus	2	0	0	0	0	0
	ROSACEAE (type Rubus ou Prunus)	1	0	0	0	2	0
	Vitis	0	0	0	1	0	0
	Juglans	0	0	0	1	0	0
	POACEAE	9	13	24	15	22	31
	CICHORIOIDEAE	1	2	0	1	0	0
	ASTERACEAE	0	0	0	1	0	2
	CHENOPODIACEAE	0	1	0	1	0	0
	BRASSICACEAE	4	5	7	3	3	2
	Polygonum aviculare	0	0	0	0	1	0
	Plantago	2	0	1	3	1	2
	Plantago lanceolata	0	0	1	0	0	0
	CISTACEAE type Helianthemum	0	5	4	0	0	0
	Cannabis / Humulus	0	0	0	0	1	0
	Cerealia type	1	1	3	7	9	3
	Secale type	0	0	0	0	0	1
	Rumex	0	1	0	1	0	0
	Trifolium	0	0	0	0	0	2
	FABACEAE	0	0	0	0	1	0
	ROSACEAE	0	0	0	0	1	0
	APIACEAE	0	0	0	1	0	0
	Filipendula	0	0	1	0	1	0
Lysimachia	0	0	0	1	0	0	
CYPERACEAE	0	0	1	1	1	2	
Anagallis	0	0	0	0	1	0	
Sparganium	0	0	0	0	1	0	
Spores	Spore monolète	11	11	7	9	7	7
	Spore trilète	1	1	0	1	1	1
Non pollinique	Amérospores – HdV-207	0	0	0	1	0	0
	Phytolithes	0	0	0	2	0	2
	Thèque œuf Trichuris sp.	0	0	0	1	0	0
	Micro-charbons	8	2	4	3	1	1
	Indéterminés	2	2	2	4	2	8
	SOM. pollen (somme de base)	25	39	74	53	66	69
	SOM. Sporo-pollinique	37	51	81	63	74	77
CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	131479	47858	64863	43359	75929	60480	
CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	194588	62584	70998	51540	85132	67492	

Figure 3. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27) . 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 spores et de Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Indice potentiel d'étude
US 13	25	37	194588	131479	Moyen	13	Céréale	3 à 2
US 15	39	51	62584	47858	Bon	16	Céréale	2
US 17	74	81	70998	64863	Très bon	15	Céréale	1
US 18 A	53	63	51540	43359	Très bon	23	Vigne, noyer	1
US 18 B	66	74	85132	75929	Très bon	21	chanvre/houblon	1
US 19	69	77	67492	60480	Bon	18	Céréale, seigle	2

Figure 4. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). 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).

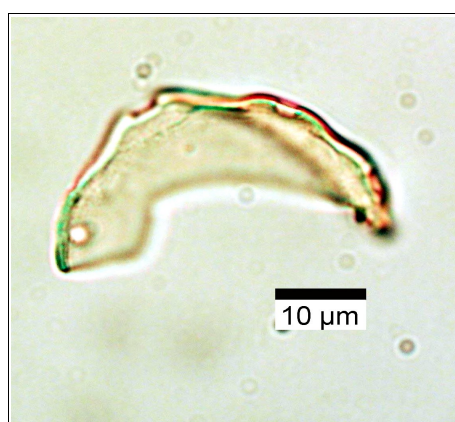


Figure 5. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). Prélèvement 18 A. Photographie d'un fragment de pollen de noyer (*Juglans sp.*) grossissement x1000.

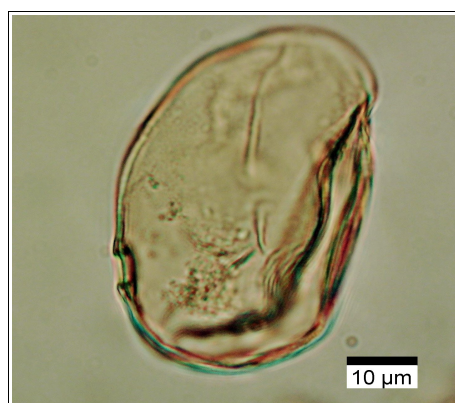


Figure 6. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). Prélèvement 18 A. Photographie d'un pollen de type Céréale. grossissement x1000.

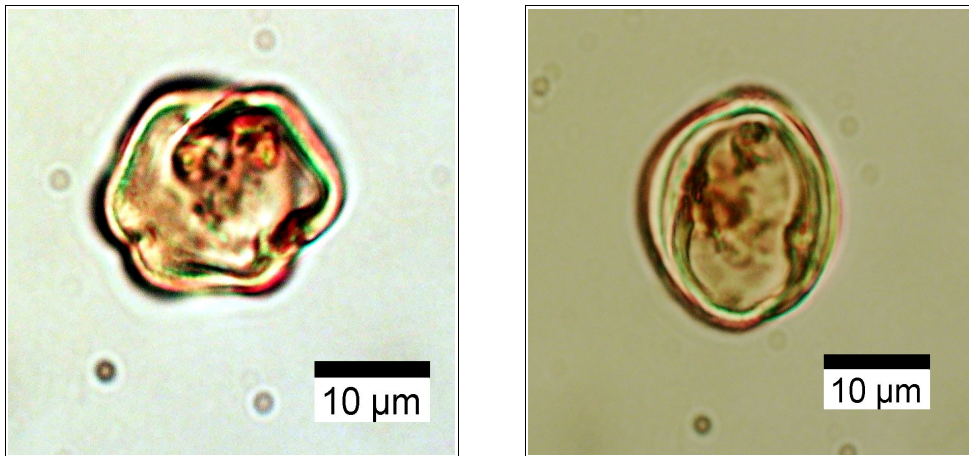


Figure 7. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). Prélèvement 18 A. Photographies d'un pollen de vigne (*Vitis sp.*) grossissement x1000.

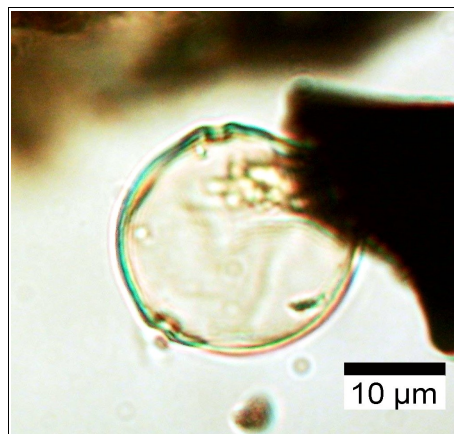


Figure 8. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). Prélèvement 18 B. Photographies d'un pollen de chanvre/houblon (*Cannabis sp.* / *Humulus sp.*), grossissement x1000.

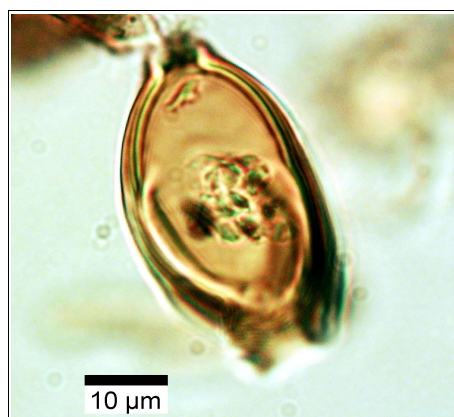


Figure 9. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). Prélèvement 18 A. Photographie d'un thèque d'œuf de vers parasite de type *Trichuris sp.*, grossissement x1000.

4. DIAGNOSTIC ET PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats positifs dans l'ensemble des prélèvements (Fig. 3 et 4).

On constate des concentrations et des diversités intéressantes. Les concentrations sont de l'ordre de 40000 à 80000 pollens/ mL pour les prélèvements des US15, US 17, US18 et US 19.

Ces valeurs sont comparables avec les concentrations polliniques observées dans les dépôts organiques tels que dans les bas-marais ou les tourbières, souvent supérieures à 50000 pollens / mL.

Le prélèvement de l'US 13 montre une concentration supérieure mais cela est probablement lié à la difficulté d'observations de la lame à cause de nombreux débris. En effet, un seul Lycopode exotique a été observé, impactant le calcul de la concentration pollinique...

Les diversités observées sont elles aussi assez importantes avec 13 à 23 types sporo-polliniques constatés par prélèvement (Fig. 4).

Là encore la difficulté d'observation de lame de l'US 13 a probablement influencé le résultat puisque « seulement » 13 taxons ont été identifiés pour ce prélèvement.

La détection systématique de spores de Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (de 1 à 6 Lycopodes comptés, Figure 4), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique.

Les pollens les plus résistants à la corrosion (ex. Asteracées, Cichorioïdées, résineux, spores monolètes) n'apparaissent pas particulièrement sur-représentés. Ce constat est un indice d'une bonne conservation pollinique globale et l'absence de conservation différentielle. Les compositions polliniques observées sont donc probablement assez fidèles au dépôt pollinique initial.

En ce qui concerne les résultats obtenus (Fig. 3):

Les six résultats d'analyse montrent un potentiel intéressant. Plusieurs associations végétales sont dès lors perceptibles :

Les pollens observés correspondent surtout à des végétations herbacées (environ 2/3 des pollens sont des pollens de plantes herbacées). C'est donc plutôt un paysage ouvert qui devait environner le site.

Pour ce qui concerne les pollens d'arbres, ce sont surtout des pollens de forêt de type chênaie-hêtraie, chênaie diversifiée qui sont détectés : on observe des pollens de chêne (*Quercus sp.*), hêtre (*Fagus sp.*), orme (*Ulmus sp.*), tilleul (*Tilia sp.*) et charme (*Carpinus sp.*).

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

Des boisements ouverts (haies ?) avec le noisetier (*Corylus avellana*), bouleau (*Betula sp.*), Prunus (cerisier?), mais aussi des boisements hygrophiles avec l'aulne (*Alnus sp.*) et le frêne (*Fraxinus sp.*) sont aussi perçus.

La détection en quantité non négligeable de ces pollens d'arbres montre que l'origine des dépôts ne correspond probablement pas exclusivement à des rejets de latrines (excréments). Il serait intéressant d'avoir des analyses géomorphologiques complémentaires pour comprendre l'origine des sédiments. Il faut

vraisemblablement envisager des modes de diffusions polliniques par voie aérienne, voire par ruissellement.

Le caractère agricole ou alimentaire des dépôts est aussi très présent. De nombreux pollens de céréales (*Cerealia type*) dont le seigle (*type Secale*) et dans une moindre mesure de vigne (*Vitis sp.*), de noyer (*Juglans sp.*), de chanvre/houblon (*Cannabis sp. / Humulus sp.*) de Brassicacées (famille du chou) ont aussi été observés (cf. aussi photographies, Fig. 5, 6, 7 et 8).

Des pollens de plantes accompagnatrices des **cultures** (Asteracées, Cichorioïdées, *Rumex sp.*) sont aussi identifiés.

Des attestations de chénopode (*Chenopodiacees*) associés aux pollens de plantes rudérales (*Plantago sp.*, Asteracées, Cichorioïdées, *Polygonum aviculare*) pourraient caractériser **des végétations de « friches et jachères » et/ ou des végétations rudérales (chemins, zones d'habitats).**

L'association des prairies hygro- à mésophiles peut aussi être suggérée par l'intermédiaire des pollens de Poacées, Cyperacées. Quelques pollens de végétations humides (*Lysimachia sp.*, *Sparganium sp.*) montrent l'existence de prairies humides.

Enfin, notons l'observation d'une cuticule ou thèque d'œuf de vers parasites de type *Trichuris sp.* (prélèvement US18 A, Fig. 9). 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, en cohérence avec l'hypothèse de rejets de latrine.

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, il faut interpréter ces premiers résultats avec beaucoup de précaution.

Au regard de l'état de conservation global des pollens, des diversités et des quelques « taxons remarquables » observés, l'ensemble des prélèvements semble intéressant pour envisager des analyses complètes. Compte tenu des nombreux débris organiques de la lame de l'US 13, le potentiel d'étude de ce prélèvement a été jugé un peu moins favorable mais correct.

Les indices de priorités d'analyses ont été estimés de « très bons » à « moyen » pour les six prélèvements (Fig. 4 et 10).

Code des prélèvements	Indice de potentiel d'étude
US 13	3 à 2
US 15	2
US 17	1
US 18 A	1
US 18 B	1
US 19	2

Figure 10. Figure 11. Opération archéologique de la galerie souterraine du château de Gaillon (27). Tableau récapitulatif de 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 für 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 récents 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 glycinée

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

Date	Coul (N,B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	TRONCON	VOL	Poids sec	HCL	HF 48%	HF 70%	Filtration 8 postes	filtration 5/10/15 microns	filtratio n Ultrason (s)	Type de montage (G,L)	Date de montage	NB de lame	Résidu (I,M,F,N)
02/05/2023	B	lycopodes	18407	A	GAILLON (27)	US 13	3,5	4,889	x	x	x	x	10	n	L	10/5/23	1	F
02/05/2023	B	lycopodes	18407	B	GAILLON (27)	US 15	3	4,882	x	x	x	x	10	n	L	10/5/23	1	F
02/05/2023	B	lycopodes	18407	C	GAILLON (27)	US 17	3,5	5,391	x	x	x	x	10	n	L	10/5/23	1	F
02/05/2023	B	lycopodes	18407	D	GAILLON (27)	US 18 Pr 18	4,5	6,119	x	x	x	x	10	n	L	10/5/23	1	F
02/05/2023	B	lycopodes	18407	E	GAILLON (27)	US 18	4	6,422	x	x	x	x	10	n	L	10/5/23	1	F
02/05/2023	B	lycopodes	18407	F	GAILLON (27)	US 19	3,5	5,536	x	x	x	x	10	n	L	10/5/23	1	F

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