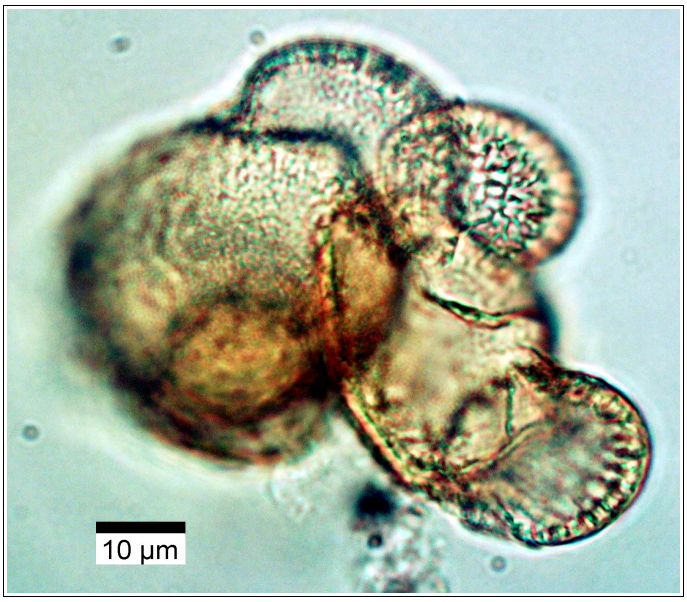
ArkéoMap

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



TESTS PALYNOLOGIQUES DE HUIT PRÉLÈVEMENTS RÉALISÉS DANS DES COMBLEMENTS DE SILOS ET DE FOSSÉS D'ENCLOS DATÉS DE LA TÈNE, SUR LA COMMUNE DE TREMBLAY-EN-FRANCE (93).

ARCHEOPOLE

Rapport sur les tests palynologiques

Janvier 2022

ARCHEOPOLE

9 Z.A. Des Wattines, Pavé d'Halluin

59126 Linselles

Opération archéologique de Tremblay-en-France (93)

Rapport des tests palynologiques de huit prélèvements

Références des échantillons étudiés :

Prélèvements provenant des structures et US indiquées :

F. 134 (US 13411), F. 137, F. 163 (US 1631), F. 180, F. 214 (US 2142), F. 244 (US 24413), F. 245 (US 24511), F. 256 (US 2561).

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

Janvier 2022

Illustration de la page de couverture : Pollens de pin type sylvestre (Pinus type sylvestris.) observés dans le prélèvement du fait 245. Grossissement x1000.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....4
1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS.....5
2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS.....6
2.1 Le protocole d'extraction utilisé.....6
2.2 Les comptages et déterminations.....7
3. RESULTATS DES TESTS.....9
4. PRECONISATIONS.....12
5. BIBLIOGRAPHIE.....15
6. ANNEXE.....16
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....16
6.2. Description des échantillons et des traitements 19

INTRODUCTION

La fouille concerne un enclos de La Tène moyenne (abandon début de La Tène finale) avec une partie habitat et une partie plutôt agro-pastorale.

Trois états d'occupation ont pu être distingués : état 1 (LT C2), état 2 (LT C2b / D1a) et état 3 (LT D1) et abandon (LT D1b).

Ce document présente les résultats de tests palynologiques de huit prélèvements réalisés dans les comblements de silos et du fossé d'enclos. Les huit prélèvements analysés ont été choisis de façon à recouper les trois états (Fig. 1).

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

Cette opération a été menée par la société Archéopole. La fouille ci-présente a été dirigée par Mme Julie Delas, responsable d'opération.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

De façon générale les couches sédimentaires ne présentaient pas de conditions anaérobies permanentes (ex. nappe d'eau), ce qui rend généralement la conservation des pollens très aléatoire.

Les sédiments analysés montraient généralement une dominance minérale (Fig. 1). Seuls des tests pouvaient permettre d'obtenir une information sur le potentiel palynologique des prélèvements.

INVENTAIRE ANTHRACOLOGIQUE	
Commune :	Tremblay-en-France (94)
Nom de l'opération / Lieu-Dit :	
Année :	2021
N° OA :	
Resp. d'Op.	Julie Delas
Type d'opération :	fouille préventive
Période d'analyse pressentie	01/01/22

Faits	US	Structures /zones / infos	Description sédimentaire	Période / date	Phases
134	13411	Silo	Limoneux – argileux – couleur brun foncé – organique ?	LT D1	II.3
137		fossé d'enclos ; curage entre SD 124 et 125	Sablo-limoneux– tendance minérale – compact – noiratre	LT D1b	II.3
163	1631	Silo	Sablo-limoneux c. jaunatre	LT C2	II.1
180		Silo	Sablo-limoneux– tendance minérale – compact	LT C2b/D1a	II.2
214	2142	fosse d'enclos ; SD 120	Caillouteux– tendance minérale – compact	LT C2/D1	II.1
244	24413	Silo	Limono-argileux c. orangée	LT C2a	I ou II
245	24511	Silo	Limono-argileux c. jaunatre	LT C2a	I ou II
256	2561	fossé d'enclos ; SD 157	Sablo-limoneux– tendance minérale – c. orangée	LT C2	II.2

Figure 1. Inventaire et descriptif des prélèvements étudiés

2. TRAITEMENT CHIMIQUE et OBSERVATION DES ECHANTILLONS

2.1 Le protocole d'extraction utilisé

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

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

2.2 Les comptages et déterminations

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

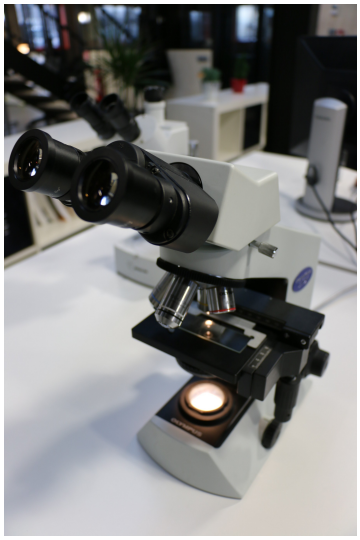


Figure 2. Microscope d'observation (Olympus CX 21, ArkéoMap)

Les outils utilisés pour les déterminations sont de plusieurs sortes :

– des lames de référence du Laboratoire de l'UMR 6566 « CReAAH », de pollens actuels portant principalement sur la flore hygrophile des marais,

– des clichés photographiques pris au microscope optique et électronique,

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

Le nombre de grains de pollens et de spores comptés par échantillon peut être variable en fonction des conditions de conservation et de la nature des sédiments. L'objectif de cette pré-étude étant avant tout d'estimer le potentiel palynologique, nous n'avons pas cherché à atteindre le nombre de 300 pollens préconisé par M. Reille (1990).

Nous nous sommes néanmoins attachés à quelques règles et indices pour estimer le contenu palynologique :

– le balayage d'une dizaine « d'allers-retours » de la lamelle,

– un minimum d'une à deux heures a été consacré au balayage de chaque lamelle.

Nous avons aussi calculé des fréquences polliniques absolues afin d'estimer le nombre de grains par volume (mL) de sédiment. Nous nous sommes basés pour cela sur une méthode préconisant l'introduction de pastilles de Lycopodes au nombre connu dans les préparations (Stokmarr 1972).

Remarque par rapport à la détection des microfossiles non-polliniques (MNP) :

Le parcours des lames polliniques permet souvent d'observer des microfossiles non-polliniques. Ils peuvent être d'origines diverses : spores algales, ascospores fongiques, fructifications, restes de métazoaires, œufs ou kystes de parasites, ...

Il n'est pas toujours possible de déterminer ces microfossiles. Néanmoins, nous nous sommes basés sur les inventaires de Van Geel *et al.* (2006) et C. Cugny (2011) pour identifier certains microfossiles et ainsi compléter l'interprétation des résultats polliniques. La typologie adoptée est celle initiée par B. van Geel, réutilisée et complétée par C. Cugny (2011).

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	Fait 134 – Silo	Fait 137 – fossé	Fait 180 – Silo	Fait 214 – fossé	Fait 244 – Silo	Fait 245 – Silo	Fait 163 – Silo	Fait 256 – Fossé
Pollens	Pinus	0	0	0	0	2	0	0	1
	Pinus sylvestris	0	0	0	0	0	2	0	0
	Quercus	0	0	0	0	0	5	2	1
	Tilia	0	0	1	0	0	0	0	0
	Corylus	1	0	0	0	0	2	0	0
	Betula	0	0	0	0	0	0	2	1
	Populus	0	0	0	0	0	0	1	0
	Castanea	0	0	0	0	1	0	0	0
	POACEAE	6	1	1	0	3	8	8	12
	CICHORIOIDEAE	1	0	2	4	2	12	6	1
	ASTERACEAE	0	0	0	1	0	0	0	8
	CARYOPHYLACEAE	0	0	0	0	0	0	1	0
	CHENOPODIACEAE	0	0	0	0	1	2	2	0
	BRASSICACEAE	0	0	0	0	0	0	0	1
	Plantago	0	0	0	0	2	1	0	0
	Plantago lanceolata	0	0	0	0	0	0	0	1
	Alchemilla	0	0	0	0	0	0	1	0
	CYPERACEAE	0	0	0	0	1	0	0	0
	JUNCACEAE	0	0	0	0	0	0	1	1
	Lemna	0	0	0	0	0	1	0	0
Spores	Spore monolète	1	2	8	13	7	8	10	6
	Spore trilète	0	0	1	0	0	0	0	0
Non pollinique	Dinoflagellés (type *Lingulodinium* ?)	0	0	0	0	0	0	1	0
	Cuticule de vers parasite (type *Trichuris sp.*?)	0	0	0	0	0	1	0	0
	Amérospores – Type HdV-207	1	2	6	18	1	5	0	6
	Amérospores – Type HdV-27	0	0	0	0	0	0	1	0
	Phragmospores	0	0	9	1	0	0	0	0
	Didymoascospores – Type TM-524	0	0	1	0	0	0	0	0
	Microrestes hyalins – Type HdV-181 ou 182	0	1	2	3	0	1	1	1
	Microcharbons	4	5	12	1	0	9	3	5
	Microcharbons de résineux (trachéïdes)	2	0	0	0	6	1	1	0
	Phytolithes	2	0	0	0	0	0	1	1
	Indéterminés	0	0	0	0	0	1	0	1
	SOM. pollen (somme de base)	8	1	4	5	12	33	24	27
	SOM. Sporo-pollinique	9	3	13	18	19	41	34	33
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	1841	124	297	222	659	2359	1606	722
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	2071	373	967	798	1044	2931	2276	883

Figure 3. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93). Comptages correspondant aux pollens et spores déterminés dans chacun des 8 prélèvements testés. 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	Périodes	Nombre de pollens observés	Nombre de pollens et spores comptés	Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Ordre de priorité
Fait 134 – Silo	LT D1	8	9	40	2071	1841	Mauvais	5	5
Fait 137 – fossé	LT D1b	1	3	74	373	124	Très mauvais	3	5
Fait 180 – Silo	LT C2b/D1a	4	13	99	967	297	Très mauvais	6	5
Fait 214 – fossé	LT C2/D1	5	18	166	798	222	Très mauvais	4	5
Fait 244 – Silo	LT C2a	12	19	134	1044	659	Mauvais à Moyen	9	4
Fait 245 – Silo	LT C2a	33	41	103	2931	2359	Moyen	10	3
Fait 163 – Silo	LT C2	24	34	110	2276	1606	Moyen	11	3
Fait 256 – Fossé	LT C2	27	33	172	883	722	Mauvais à Moyen	11	4

Figure 4. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93). Tableau synthétisant les sommes, les concentrations absolues en spores et pollens (en nb/mL de sédiment) ainsi que la diversité taxonomique de chaque prélèvement. Quelques faits remarquables sont aussi indiqués. Un ordre de priorité d'analyses des échantillons est proposé

en tenant compte des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).

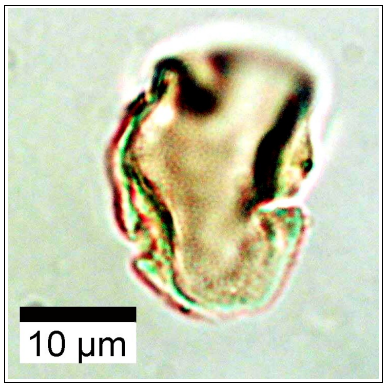


Figure 5. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93).Photographie d'un pollen de tilleul (*Tilia sp.*), grossissement x1000, prélèvement du fait 180.

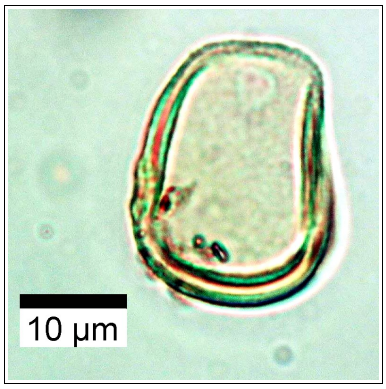


Figure 6. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93).Photographie d'un pollen de poacée (*Poaceae*), grossissement x1000, prélèvement du fait 244.

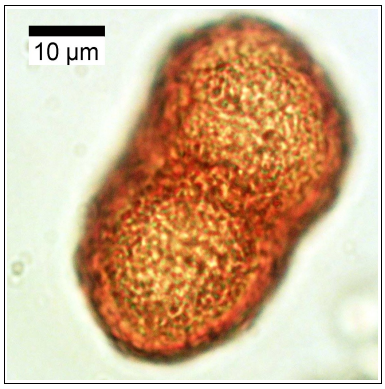


Figure 7. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93).Photographie d'un Didymoascospore type TM-524 (?), grossissement x1000, prélèvement du fait 180.

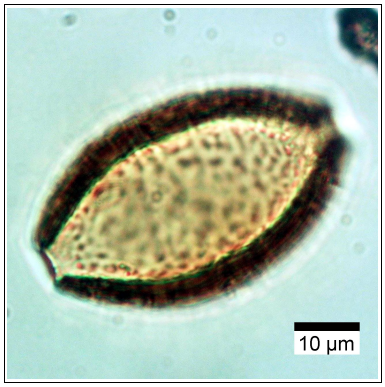


Figure 8. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93). Photographie d'une probable cuticule d'œuf de vers parasite (type *Trichuris sp.* ?), grossissement x1000, prélèvement du fait 245.

4. PRECONISATIONS

L'observation des échantillons a livré des résultats globalement pauvres en microrestes (les concentrations absolues n'excèdent pas 3000 pollens / mL, Fig. 4, ce qui est peu en comparaison des concentrations obtenues dans des dépôts organiques tels que dans les tourbières, souvent supérieurs à 50000 pollens / mL). Une vingtaine de taxons polliniques, deux types de spores et quelques microfossiles non polliniques ont été identifiés lors de ces tests (Fig. 3 et 4).

La détection systématique et relativement importante des spores de Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (de 40 à 172 Lycopodes comptés, Figure 4), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique. Ce constat montre aussi que la faiblesse du stock pollinique 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 de la dynamique (vitesse) de comblement sédimentaire des structures. Il vaut mieux privilégier des secteurs à sédimentation très lente pour réaliser des prélèvements.

L'autre facteur important est le contexte de conservation pollinique. De nombreux « débris organiques » (microcharbons) ont été constatés sans qu'il soit possible d'identifier des taxons. Une part importante des grains observés correspond à des taxons résistants à la corrosion comme par exemple les Cichorioïdées, Asteracées, les spores monolètes (Fig. 3). La nature de ces restes laisse penser que les pollens se sont trouvés à un moment donné dans des contextes aérobies (ou dans une zone de battement de nappe) propices à l'oxydation biologique ou physico-chimique.

Le potentiel pollinique est assez différent d'un prélèvement à l'autre. Tenant compte des concentrations polliniques observées, de l'état de conservation des pollens et des diversités constatées nous avons tenté d'estimer « un indice de priorité » en vue d'approfondir ou non l'analyse de chaque prélèvement (Fig. 4).

Parmi les huit prélèvements nous avons attribué un indice « Moyen »à deux prélèvements (fait 245 et fait 163). Les échantillons des faits 256 et 244 pourraient éventuellement faire l'objet d'observations complémentaires, malgré un état de conservation assez mauvais. Ces quatre prélèvements correspondent tous à « l'état 1 » (LT C2 et LT C2a) du site.

Pour cette période, les quelques pollens et spores identifiés correspondent majoritairement à des végétations herbacées, mais des occurrences polliniques témoignent aussi de l'existence de boisements :

- les boisements forestiers sont perçus par l'intermédiaire de grains de chêne (*Quercus sp.*). Ces boisements correspondent probablement à la chênaie mixte, voire la chênaie-hêtraie qui se développe à partir de l'Âge du fer (période climatique du Subatlantique). Un grain de tilleul (*Tilia sp.*) est à noter pour le fait 180 (état 2). Il est vraisemblablement associé à une chênaie mixte,

- quelques pollens de résineux (dont le pin type sylvestre) ont aussi été détectés. Les pollens de résineux sont connus pour leurs fortes productions et importantes diffusions polliniques. Ces pollens sont donc peut-être d'origine lointaine,

- les pollens de noisetier (*Corylus avellana*) et de bouleau (*Betula sp.*) témoigneraient de boisements clairs, peut-être de haies, de lisières ou de secteurs en déprises agricoles (ce sont des arbres pionniers par excellence),

- un pollen de peuplier (*Populus sp.*), peut-être associé aux pollens de bouleau et de noisetier, sont typiques des boisements hygrophiles. Ils proviennent probablement d'une zone humide, voire des bords d'un cours d'eau,

- pour ce qui concerne les végétations herbacées, nous avons détecté des grains de graminées (Poacées) accompagnés de Cichorioïdées, Asteracées, Caryophyllacées, Brassicacées et de Chénopodiacées pouvant correspondre à des végétations de « friches et jachères ». Les formations de prairies hygro- à mésophiles pâturées sont aussi probablement présentes (Poacées, Cyperacées, Asteracées, *Plantago sp.*, *Alchemilla sp.*).

- un pollen de lentille d'eau (*Lemna sp.*) a été observé dans le prélèvement du fait 245 (comblement de silo). Cette plante est caractéristique de zone inondée. Ces conditions se sont peut-être produites lors de la phase d'abandon et de comblement du silo,

- des types de spores témoignent de l'existence de différents types de fougères et de mousses,

- notons l'identification de quelques microfossiles non polliniques :

  - des « amérospores des types HdV-207, HdV-27, Dydimospores TM-524 ». Ce sont des microrestes d'origine fongique (champignons) mais dont la signification écologique n'est pas toujours très claire,

  - des microrestes hyalins de type Hdv 181 et HdV 182. Ces microfossiles seraient caractéristiques de niveaux formés sous des eaux stagnantes peu profondes et eutrophes (Cugny 2011). Ils trouvent une cohérence avec l'observation d'un pollen de lentille d'eau dans le prélèvement du fait 245.

Enfin, ce qui semble être une cuticule d'œuf de vers parasite (?) a été observée. La forme est assez semblable aux cuticules d'œufs de vers parasite de type *Trichuris sp.*, mais la paroi apparaît ici réticulée. Pour rappel, ces vers parasitent le tube digestif humain pouvant affecter aussi les chiens, le renard et le porc. Peut-être est ce là la conséquence de présence de matières fécales ou d'apports de fumures dans les environs.

En revanche, nous n'avons pas observé de taxons allochtones (ex. céréales), indicateurs directs de plantes cultivées.

Les effectifs en grains de pollens observés sont évidemment trop faibles pour pouvoir davantage affiner l'image des associations végétales environnantes. Compte tenu de la pauvreté pollinique, il faut interpréter ces résultats avec beaucoup de précaution.

Au regard de l'état de conservation global des pollens, de la diversité observée, nous préconisons d'approfondir l'analyse des prélèvements des faits 245 et 163, voire des faits 244 et 256. Ces deux derniers échantillons présentent toutefois un moindre intérêt. En revanche, la poursuite de l'analyse des quatre autres échantillons parait peu pertinente (Fig. 9).

Code des prélèvements	Ordre de priorité
Fait 134 – Silo	5
Fait 137 – fossé	5
Fait 180 – Silo	5
Fait 214 – fossé	5
Fait 244 – Silo	4
Fait 245 – Silo	3
Fait 163 – Silo	3
Fait 256 – Fossé	4

Figure 9. Opération archéologique de la commune de Tremblay-en-France (93). Tableau récapitulant l'ordre de priorité des analyses palynologiques. Un ordre de priorité d'analyses des échantillons est proposé en tenant compte des résultats des tests (l'indice de 1 correspondant à un test très favorable, l'indice 5 correspondant à un résultat très défavorable).

5. BIBLIOGRAPHIE

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

CUGNY 2011 : CUGNY C., 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.

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

REILLE 1992 :REILLE M., *Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord.*, Editions Louis-Jean, Gap, 520 p.

STOCKMARR 1972 : STOCKMARR J., Tablets with spores used in absolute pollen analysis. *Pollens et spores*, 13, p. 615-621.

VAN GEEL, APTROOT 2006 : VAN GEEL B., APTROOT A., Fossil Ascomycetes in Quaternary deposits. Nov Hedw, 82, p. 313-329.

6. ANNEXE

6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :

Afin d'isoler et de concentrer les grains de pollen, le protocole utilisé au sein de l'UMR EPOC comporte les étapes suivantes :

Préparation du sédiment

1- Le sédiment (environ 5g) est séché à l'étuve à 40°C pendant une nuit ou plus, suivant la teneur en eau.

Estimation du volume de sédiment

2- Dans une éprouvette de 25cc en polypropylène, mettre 15cc d'eau distillée. Poser celle-ci sur une balance, faire la tare, puis ajouter le sédiment. La colonne d'eau augmente, enregistrer le poids ainsi que le volume.

Lavage du sédiment

Ce lavage permet de travailler sur deux proxies. La fraction supérieure est récupérée pour, en particulier, l'étude des foraminifères, et la fraction inférieure pour l'étude des pollens et dinoflagellés.

3- Prendre un tamis de maille 150µm et de diamètre 10cm, le poser sur un bécher de 1000ml. Vider le contenu de l'éprouvette sur le tamis, et laver délicatement à l'eau du robinet. Lorsque le résidu > à 150µm est propre, bien le rincer à l'eau distillée et le récupérer dans une coupelle toujours avec de l'eau distillée. La fraction inférieure récupérée dans le bécher est mise à décanter pendant 48h minimum. Ne pas oublier de couvrir les bécher pour éviter toute pollution.

Attaque à l'acide chlorhydrique (HCl)

Cette attaque permet d'éliminer tous les organismes et particules calcaires.

4- Aspirer l'eau à l'aide d'une trompe à vide. Celle-ci est équipée, à l'extrémité du tuyau, d'un embout en plastique présentant un angle de 90° par rapport à la paroi du bécher. Cet embout permet d'éviter toute aspiration accidentelle du résidu décanté au fond du bécher. Récupérer le résidu dans un tube de 100ml à fond rond en polypropylène.

5- Centrifuger 7mn à 2500tr/mn. Eliminer l'eau, remettre en suspension avec l'agitateur. Mettre une ou deux pastilles de Lycopodes dans le tube, le nombre de pastilles étant défini en fonction de la concentration supposée en pollen ou en dinoflagellés. Elles permettent d'estimer les concentrations en palynomorphes.

6- L'attaque à l'HCl **à froid** se fait en trois étapes. Une première attaque à **10%**, remuer à l'aide d'une baguette d'agitation en verre, laisser agir quelques minutes, si le sédiment est riche en carbonates il est important de commencer par l'HCl à faible concentration afin d'éviter une importante effervescence et également un débordement des tubes. Continuer par de l'HCl à **25%** attendre quelques minutes et terminer par de l'HCl à **50%**. Cette dernière attaque est essentielle pour la suite de la manipulation. Bien s'assurer que la réaction est terminée en ajoutant de l'HCl à 50%. Lorsqu'il n'y a plus d'effervescence dans le tube, la réaction est terminée.

Attaque à l'acide fluorhydrique (HF)

Cette attaque permet d'éliminer la silice et les silicates.

7- Centrifuger les tubes de 100ml pendant 7mn à 2500tr/mn et éliminer le surnageant. Remettre le culot en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HF à **45% à froid**. Fermer les tubes avec le bouchon approprié et les poser sur le secoueur, laisser agiter pendant 4 à 5h. Bien respecter la concentration de l'HF, car une concentration supérieure peut entraîner une forte effervescence, avec risque de perte de sédiment.

8- Centrifuger à nouveau les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HF à **70% à froid**. Poser les tubes sur le secoueur, laisser agiter pendant **28 à 30h**.

Note : Attention pour faire cette manipulation il est impératif de respecter les mesures de sécurité, mettre des longs gants, ainsi que des lunettes. Travailler toujours sous hotte aspirante bien fermée. Travailler également les tubes toujours fermés.

Deuxième attaque à l'acide chlorhydrique (HCl)

Elimination des fluorosilicates.

9- Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension avec l'agitateur, puis mettre environ 40 à 50cc d'HCL à **25% à froid**. Poser les tubes sur le secoueur, laisser agiter pendant 15mn.

Note : Il est très important de faire cette attaque à l'HCl avant de rincer à l'eau distillée. Des risques de formation de fluorures peuvent avoir lieu et donc gêner le reste de la manipulation.

Rinçage

10- Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant. Remettre en suspension le culot avec l'agitateur, remplir les tubes d'eau distillée. Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn. Eliminer l'eau, les résidus sont prêts pour la filtration.

Filtration

Cette opération nécessite la mise en œuvre d'un système de filtration. Ce matériel est posé sur une fiole à vide de 2l reliée à une trompe à vide.

11- Remettre en suspension le culot avec l'agitateur et verser une partie ou la totalité du résidu, suivant la concentration, sur le filtre en nylon de maille 10µm. Rincer à l'eau distillée avec une pissette de 50ml. La contenance de la pissette est essentielle car elle permet de l'avoir bien en main et donc de presser suffisamment fort pour avoir un jet assez puissant pour la filtration. Lorsque cela colmate, mettre 20 à 40s d'ultrasons et rincer abondamment, en même temps, avec la pissette. Le succès de cette opération est basé sur la coordination entre les ultrasons et la pissette. Il est important de bien gérer le temps des ultrasons, car l'abus peut casser les microorganismes.

12- Récupérer le résidu, une fois bien lavé, avec la pissette dans un tube à fond conique de 50ml en polypropylène. Bien froisser le filtre entre les doigts pour décoller éventuellement les micro-organismes qui pourraient rester sur le filtre.

13- Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant à l'aide de la trompe à vide munie de l'embout à 90°. Transvaser le résidu avec de l'eau distillée dans un tube à fond conique de 8cc en plastique. Centrifuger les tubes, 7mn à 2500tr/mn, éliminer le surnageant toujours avec la trompe à vide. Le résidu est prêt pour le montage.

14 – En fonction du caractère organique du résidu il est parfois nécessaire d'effectuer un traitement supplémentaire au HNO3 : Séparation du culot en 2 puis sur une moitié, attaque HNO3 2mn, filtration 10µ, 20s Ultra son, 2mn HNO3, filtration 10µ

Montage

Montage à la glycérine bidistillée phénolée (lames mobiles)

Cette technique de montage est utilisée pour l'étude des grains de pollen.

14b- Poser une lame sur la plaque chauffante (T° 200°C-250°C), mettre sur celle-ci une goutte de glycérol (*voir annexes*), ajouter quelques gouttes de résidus, doser suivant la concentration voulue. Laisser évaporer l'eau. Pendant ce temps préparer la lamelle en posant sur les longueurs de la lamelle de l'histolaque. Une fois l'évaporation terminée poser la lamelle sur la lame. Retirer la lame de la plaque chauffante et luter les deux côtés restants.

Conservation

15- Pour la conservation remplir les tubes de 8cc d'eau distillée, puis ajouter quelques gouttes de glycérine bidistillée phénolée

Annexes

- Fournisseur des pastilles de lycopodes

  Lund University
  Department of Geology
  Quaternary Sciences
  Sölvegatan 12
  SE-223 62 Lund
  Sweden
  Fax : 46-46-2224830

- Fournisseur des filtres de 10µm

  Saulas et Cie
  5, rue des epinettes
  BP 20
  10160 Paisy cosdon
  fax : 03 25 40 74 87

- Préparation de la gélatine glycérinée

  Mettre dans un bécher 10g de gélatine plus 34,2cc d'eau distillée. Laisser reposer pendant 2h à froid sans agitation. Ensuite, ajouter 51cc de glycérol à 98% plus 1g de phénol. Chauffer jusqu'à complète dissolution. La solution se solidifie à froid. Lors du montage mettre le bécher sur la plaque chauffante.

- Préparation du glycérine bidistillée phénolée pour la conservation

  Mettre dans 1l de glycérol à 98% 1% de phénol.

6.2. Description des échantillons et des traitements

SERIE N°	Date	Coul (N,B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	TRONCON	VOL	HCL	HF 48%	HF 70%	filtration 5/10/15 microns	filtration Ultrason(s)	Type de montage (G,L)
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	A	TREMBLAY	134	2	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	B	TREMBLAY	137	2	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	C	TREMBLAY	163	2,5	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	D	TREMBLAY	180	2,5	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	E	TREMBLAY	214	2,5	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	F	TREMBLAY	244	2,5	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	G	TREMBLAY	245	2,5	X	X	X	10	10	L
2554	07/12/21	N	lycopodes	18407	H	TREMBLAY	256	4	X	X	X	10	10	L

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