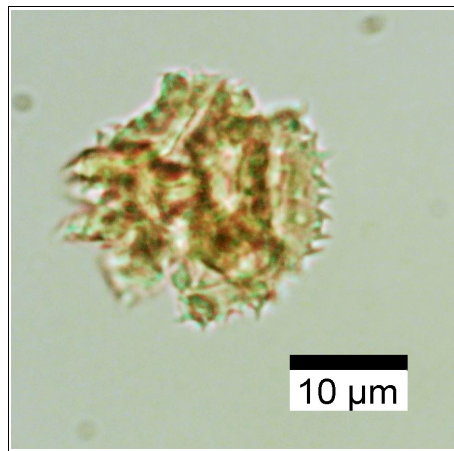




ArkéoMap

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



TESTS PALYNOLOGIQUES DE 10 PRÉLÈVEMENTS ARCHÉOLOGIQUES RÉALISÉS LORS DE L'OPÉRATION DU SITE DE L'A79-D15b5 NORD À TOULON-SUR-ALLIER (03).

PUITS ANTIQUES ET PALÉOCHENAL.

Opération : OA 038938

SERVICE D'ARCHÉOLOGIE PRÉVENTIVE DU DÉPARTEMENT DE L'ALLIER

Rapport sur les tests palynologiques

Mai 2024

Service d'Archéologie Préventive du Département de l'Allier.

Tests palynologiques de 10 prélèvements réalisés lors de l'opération du site de l'A79-D15b5 nord à Toulon-sur-Allier (03). Opération : OA 038938

Rapport des tests palynologiques de 10 prélèvements

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

Mai 2024

Illustration de la page de couverture : Pollen de Cichorioïdée observé dans le prélèvement n°2307. Grossissement x1000. L'échelle représente des micromètres.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	4
1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS.....	5
2.1 Le protocole d'extraction utilisé.....	6
2.2 Les comptages et déterminations.....	7
2. RESULTATS DES TESTS.....	9
3. PRECONISATIONS ET RESULTATS.....	11
4. BIBLIOGRAPHIE.....	14
5. ANNEXE.....	15
5.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	15
5.2. Description des échantillons et des traitements	18

INTRODUCTION

L'opération archéologique est située sur la commune de Toulon-sur-Allier (03). La fouille concerne un antique et le comblement d'un paléochenal (daté de l'Age du Bronze à l'époque romaine).

Les prélèvements ont été réalisés à l'intérieur des comblements de puits et dans la stratigraphie du paléochenal (Fig. 1).

Dix prélèvements ont fait l'objet d'extractions polliniques (Fig. 1 et 2).

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

Cette opération a été menée par le Service d'Archéologie Préventive du Département de l'Allier. La fouille ci-présente a été dirigée par M. Simon Baraton, responsable d'opération.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

En contexte archéologique, mis à part peut-être les contextes de puits, de façon générale les couches sédimentaires ne présentent pas de conditions anaérobies permanentes (ex. nappe d'eau), ce qui rend généralement la conservation des pollens très aléatoire.

Seuls des tests pouvaient permettre d'obtenir une information sur le potentiel palynologique des prélèvements.

INVENTAIRE PALYNOLOGIQUE	
Commune :	Toulon-sur-Allier (03)
Nom de l'opération / Lieu-Dit :	site de l'A79-D15b5-nord Site 4
Année :	2023
N° OA :	OA 038938
Resp. d'Op. ; commanditaire	Simon Baraton
Type d'opération :	Préventif
Période d'analyse pressentie	début mai 2024

N° de prélèvement	Faits et US	Masse envoyée (g)	Description sédimentaire
PR 2303	F2207, US 2207.5	147	Dominance organique limoneux: gris-brun
PR 2307	F2207, US 2207.6	381	Dominance minérale, Sablo- limoneux: gris-brun
PR 2305	F2207, US 2207.7	148	Dominance organique limoneux: gris-brun foncé
PR 2306	F2207, US 2207.8	129	Dominance minérale, Sablo- limoneux: gris-brun
PR 2128	F2018, US 2018.4	111	Dominance organique
PR 2238	F2018, SD5, US 2018.10, F3009, SD1, US 3009.2	314 262	Dominance minérale, Sablo- limoneux: gris-brun Argilo-limoneux, couleur gris-beige.
PR 1475	F1268, US 1268-11/8	363	Dominance minérale, Sablo- limoneux: gris-brun
PR 1198	F1005, US 1005.9 US 4069	388 434	Dominance minérale, Sablo- limoneux: gris-brun Dominance argileuse, gris-beige. Liquide

Figure 1. Inventaire et descriptif des prélèvements étudiés.



Figure 2. Photographie de 9 des 10 prélèvements envoyés pour extractions.

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 5.1.).

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 3. 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 (Stockmarr 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).

2. RESULTATS DES TESTS

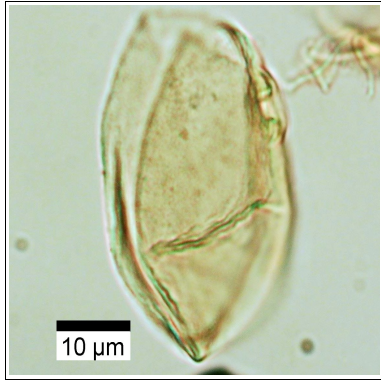
Les résultats des tests sont donnés sous la forme d'un tableau de comptages représentant les effectifs des différents pollens, spores et quelques microfossiles non polliniques (MNP) identifiés pour chaque prélèvement (Fig. 4).

Taxons \ Code Prélèvements	PR 2303 - F2207, US 2207.5	PR 2307 - F2207, US 2207.6	PR 2305 - F2207, US 2207.7	PR 2306 - F2207, US 2207.8	PR 2128 - F2018, US 2018.4	PR 2238 - F2018, SD5, US 2018.10	F3009, SD1, US 3009.2	PR 1475 - F1268, US 1268-11/8	PR 1198 - F1005, US 1005.9	US 4069
Pollens										
Frag. Gymnosperme	2	4	2	1	0	0	2	1	4	8
Pinus	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0
Quercus	5	3	0	0	0	0	0	0	6	0
Ulmus	4	10	0	2	0	0	0	0	0	0
Fagus	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Corylus	5	1	0	0	0	3	0	0	0	0
Alnus	1	1	0	1	0	2	0	0	0	0
Hedera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
POACEAE	19	12	1	6	0	1	0	0	5	0
CICHORIOIDEAE	27	34	2	26	1	3	0	13	22	0
ASTERACEAE	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Artemisia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CARYOPHYLACEAE	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0
CHENOPODIACEAE	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0
Polygonum sp.	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Plantago	3	4	0	2	0	1	0	0	0	0
URTICACEAE	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0
Cerealia type	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Centaurea type nigra	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Centaurea type jacea/nigra	1	3	0	0	0	0	0	0	3	2
RANUNCULACEAE	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Alchemilla	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
CYPERACEAE	2	8	0	0	0	0	0	0	1	0
Spores										
POLYPODIACEAE	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Pteridium	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Spore monolète	53	58	8	43	3	10	13	27	57	6
Spore trilète	2	2	0	4	0	0	0	0	0	0
Concentricyste	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Amérospores – HdV-207	4	1	1	7	3	1	6	1	4	1
Amérospores – HdV-27	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Spores algales et supposées – HdV-181	2	0	0	1	1	0	2	0	4	0
Dinoflagellés	4	0	0	2	0	0	0	0	1	0
Micro-charbons	3	0	25	8	30	51	7	19	5	14
SOM. pollen (somme de base)	77	91	6	44	1	10	2	14	46	10
SOM. Sporo-pollinique	132	152	14	91	4	20	15	41	104	16
CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	17656	8892	318	2272	69	412	81	795	3373	1062
CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	30267	14852	743	4699	275	825	604	2327	7627	1698
Non pollinique										

Figure 4. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). Comptages correspondant aux pollens et spores déterminés dans chacun des 6 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	Nombre de pollens comptés	Nombre de spores et Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Remarque	Indice de potentiel d'étude	
PR 2303 - F2207, US 2207.5	77	132	25	30267	17656	Bon	19	Cons. Diff. Cicho et Céréale	2
PR 2307 - F2207, US 2207.6	91	152	44	14852	8892	Bon	20	Cons. Diff. Cicho	2
PR 2305 - F2207, US 2207.7	6	14	108	743	318	Très mauvais	5		5
PR 2306 - F2207, US 2207.8	44	91	111	4699	2272	Moyen	13	Cons. Diff. Cicho	3
PR 2128 - F2018, US 2018.4	1	4	125	275	69	Très mauvais	2		5
PR 2238 - F2018, SD5, US 2018.10	10	20	139	825	412	Très mauvais	6		5
F3009, SD1, US 3009.2	2	15	122	604	81	Très mauvais	2		5
PR 1475 - F1268, US 1268-11/8	14	41	101	2327	795	Très mauvais	3		5
PR 1198 - F1005, US 1005.9	46	104	67	7627	3373	Mauvais	12	Cons. Diff. Cicho	3 à 4
US 4069	10	16	54	1698	1062	Très mauvais	3		5

Figure 5. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). 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).



1. Figure 6. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). Photographie d'un pollen de Céréale type, grossissement x1000, prélèvement n°2303.

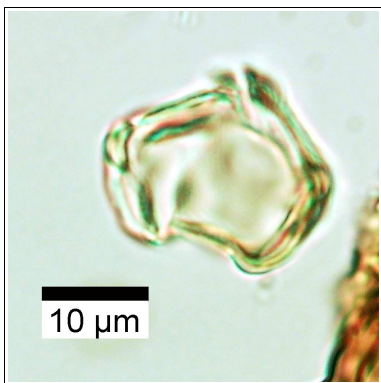


Figure 7. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). Photographie d'un fragment de pollen d'aulne (*Alnus sp.*), grossissement x1000, prélèvement n°2307.

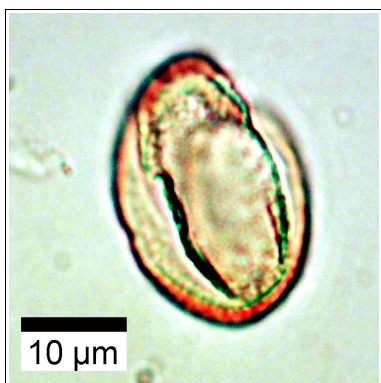


Figure 8. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). Photographie d'un pollen de chêne (*Quercus sp.*), grossissement x1000, prélèvement n°2307.

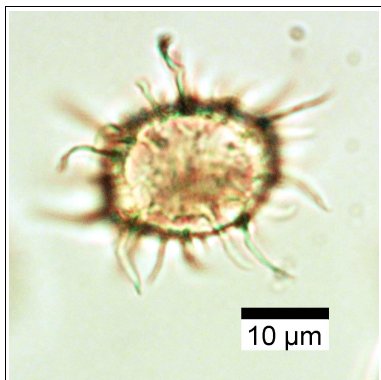


Figure 9. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). Photographie d'un kyste de Dinoflagellé (?), grossissement x1000, prélèvement n°2306.

3. PRECONISATIONS ET RESULTATS

L'observation des échantillons a livré des résultats hétérogènes (Figures 4 et 5). Pour six des dix échantillons, les résultats obtenus sont mauvais. Les concentrations polliniques sont de l'ordre de 1000 pollens / mL ou moins (prélèvements n° US 4069, PR 1475, US 3009, PR 2238, PR 2128, PR 2305). Deux prélèvements (n° PR 1198 et PR 2306) montrent des conservations « moyennes » (de l'ordre 3000 grains / mL, mais avec une sur-représentation de pollens « résistants ») et deux prélèvements (n° PR 2307 et PR 2303) avec des résultats plutôt bons (de 8500 à 18000 pollens / mL). De façon générale, mis à part les deux prélèvements les mieux conservés, les concentrations polliniques sont faibles voire très faibles en comparaison avec les concentrations polliniques observées dans les tourbières (souvent supérieures à 50000 pollens / mL).

Au niveau de la diversité taxonomique, une vingtaine de types polliniques a été observée pour l'ensemble des prélèvements. Les deux prélèvements les mieux conservés portent à eux seuls la plupart des taxons observés (prélèvements n° PR 2307 avec 20 taxons et PR 2303 avec 19 taxons polliniques). Quelques spores (quatre types) et microfossiles non polliniques (cinq types) ont aussi été détectés.

La détection systématique et relativement importante des spores de Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (de 25 à 139 Lycopodes comptés, Figure 5), témoigne de la réussite du traitement physico-chimique d'extraction du matériel sporo-pollinique. Ce constat montre 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 différentes structures.

L'autre facteur important est le contexte de conservation pollinique. Dans certains échantillons (prélèvements n° PR2305, PR2306, PR2128, PR 2238, PR1475, US 4069), de nombreux « débris organiques » (microcharbons, enveloppes polliniques) ont été constatés sans qu'il soit possible d'identifier des taxons. L'ensemble des échantillons présentait des conservations différentielles avec une surreprésentation des taxons résistants à la corrosion comme par exemple les pollens de Cichorioïdées, les spores monolètes (ex. prélèvements n° PR 2303, PR 2307, PR 2306, PR1475, PR1198) (Fig. 4). Pour ces échantillons, les compositions polliniques observées semblent donc résulter de conservations différentielles. La nature des restes laisse penser que les pollens se sont trouvés, au moins temporairement, dans des contextes aérobies (ou dans une zone de battement de nappe) propices à l'oxydation biologique (respiration microbienne) ou physico-chimique.

Le mode de dépôt et la nature des structures de « piégeage » des pollens ont pu jouer sur les images paysagères perçues, notamment pour les prélèvements provenant des puits. En effet, pour les puits, les comblements intègrent, en plus de la pluie pollinique aérienne, des apports liés aux ruissellements et infiltrations depuis les environs immédiats (ex. apports polliniques plutôt locaux, associés par exemple aux ruissellement d'eaux usées). Dans ces cas, ce sont donc plutôt des ensembles polliniques locaux ou liés aux activités humaines autour du puits qui sont pressentis. Pour ce qui concerne les prélèvements du paléochenal, la provenance des pollens pose aussi question car ils peuvent provenir potentiellement de toute les surfaces végétalisées du bassin-versant associé au chenal...

En ce qui concerne les deux prélèvements montrant des compositions polliniques intéressantes (prélèvements n°PR 2303 et 2307), les pollens et spores identifiés proviennent à la fois de végétations herbacées et arborescentes. De façon générale, les végétations herbacées sont mieux représentées que les végétations arborescentes (environ 75% des pollens). Ce résultat tendrait à décrire des paysages ouverts.

Pour les végétations arborescentes, quelques fragments polliniques de résineux, dont du pin (*Pinus sp.*) ont régulièrement été observés (ex. PR 2307, PR 2303, PR 1198, US 4069). Les formations de résineux sont difficiles à cerner à cause de modes de diffusion et de productions importantes.

Des pollens de chêne (*Quercus sp.*), probablement d'orme (*Ulmus sp.*, pas toujours bien reconnaissables Prélèvements n°2303 et n°2307), de noisetier (*Corylus avellana*), d'aulne (*Alnus sp.*) ainsi que d'occurrences de hêtre (*Fagus sylvatica*) et de lierre (*Hedera sp.*) ont été observés.

La **chênaie-hêtraie** (*Quercus sp.*, *Fagus sylvatica*) correspond à la végétation forestière environnante (un pollen de hêtre a été identifié dans le prélèvement n°2303).

Les pollens de noisetier (Prélèvements n°2238, n°2303, n°2307) pourraient provenir de **boisements clairs, de lisières ou de haies, de secteurs en déprise agricole, voire de boisements hygrophiles** à l'intérieur de zones alluviales.

L'observation régulière de pollens d'aulne (prélèvements n° 2303, 2307, 2306, 2238) mais aussi la détection de l'orme (*Ulmus sp.*) attestent de l'existence de **boisements hygrophiles**.

Pour les végétations herbacées, ce sont les pollens de Poacées, Cichorioïdées qui sont les plus importants. Ils sont observés dans la plupart des prélèvements. Des pollens de plantain (*Plantago sp.*), orties (Urticacées), Asteracées, armoise (*Artemisia sp.*), Caryophyllacées, Chenopodiacees, *Polygonum sp.*, *Centaurea sp.*, Cypéracées, pourraient correspondre à des végétations de type « **friches et jachères** » (Poacées, Cichorioideae, Asteraceae, Chenopodiaceae, *Artemisia sp.*, *Polygonum sp.*), des végétations de type « **prairies méso- à hygrophiles** » (Poacées, Cypéracées, *Centaurea type nigra*, *Plantago sp.*) et à des végétations rudérales de type « **chemins, zones d'habitats, lieux de pacages** » (*Plantago sp.*, Urticaceae, Chenopodiaceae, Asteraceae, Caryophyllaceae, Poaceae, *Artemisia sp.*, *Polygonum sp.*). Un pollen de céréale, potentiel indice de **cultures** a aussi été observé dans le prélèvement n°2303.

Les spores monolètes, les spores du genre *Polypodium* et des amérospores type HdV-207 et HdV-27 correspondent à des végétations de mousses, de fougères et de champignons difficilement interprétables. L'amérospore de « type HdV-207 » caractériserait le genre *Glomus* (Cugny, 2011), champignon parasite de plantes herbacées.

De plus, des spores algales et supposées de type HdV-181 identifiés dans cinq des dix prélèvements seraient synonymes d'eaux stagnantes peu profondes et eutrophes (Cugny, 2011). Enfin, de probables kystes de Dinoflagellés (Fig. 9) ont été observés dans trois prélèvements (PR n°2303, PR2306, PR1198). Ces kystes sont parfois indicateurs d'eau saumâtre (ex. cas des kystes de Dinoflagellés de type « *Spiniferite* »).

Compte tenu des faibles effectifs étudiés (ce sont des tests), il faut interpréter ces résultats avec beaucoup de précaution.

Au regard de ces diverses constatations, seulement deux prélèvements ont été jugés intéressants pour des analyses plus approfondies (prélèvements n° 2303 et n°2307). Les prélèvements n° PR 2306 et PR 1198 soumis à d'importantes conservations différentielles, présentent des potentiels moindres, mais compte tenu de l'observation d'une douzaine de taxons, un temps d'observation complémentaire peut être suggéré. Ces deux prélèvements pourraient éventuellement faire l'objet d'analyses complémentaires, sans toutefois espérer obtenir des résultats interprétables de façon fiable.

Les indices de « potentialité » d'analyses ont été estimés de « bon » à « très mauvais » pour les divers prélèvements (Fig. 10).

Code des prélèvements	Indice de potentiel d'étude
PR 2303 - F2207, US 2207.5	2
PR 2307 - F2207, US 2207.6	2
PR 2305 - F2207, US 2207.7	5
PR 2306 - F2207, US 2207.8	3
PR 2128 - F2018, US 2018.4	5
PR 2238 - F2018, SD5, US 2018.10	5
F3009, SD1, US 3009.2	5
PR 1475 - F1268, US 1268-11/8	5
PR 1198 - F1005, US 1005.9	3 à 4
US 4069	5

Figure 10. Opération archéologique OA 038938 de la commune de Toulon-sur-Allier (03). 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).

4. BIBLIOGRAPHIE

BEUG 2004 : BEUG H.-J., *Leitfaden der Pollenbestimmung für 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.

5. ANNEXE

5.1. 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)

Élimination 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. Éliminer 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 10 μ , 20s Ultra son, 2mn HNO₃, filtration 10 μ

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 10 μ m

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.

5.2. Description des échantillons et des traitements

SERIE N°	Coul (N,B,R,V)	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	TRONCON	VOL	Poids sec	HCL	HF 48%	HF 70%
2780	N	lycopodes	17197	A1	PR 2307	4	8,498	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A2	PR 2303	3	7,101	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A3	PR 2305	3	7,199	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A4	PR 2306	3	7,06	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A5	US 4069	3	7,5	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A6	PR 2238	3	7,678	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A7	PR 3009	3,5	8,056	x	x	x
2780	N	lycopodes	17197	A8	PR 1475	3	7,711	x	x	x
2781	R	lycopodes	17197	A1	PR 1198	3,5	8,414	x	x	x
2781	R	lycopodes	17197	A2	PR 2128	2	4,724	x	x	x

Figure 11. Description des traitements réalisés pour l'extraction pollinique (UMR EPOC).