

ANALYSES SCIENTIFIQUES DES DÉCOUVERTES ARCHÉOLOGIQUES : TESTS PALYNOLOGIQUES



**TESTS PALYNOLOGIQUES DE 4 PRÉLÈVEMENTS ARCHÉOLOGIQUES
RÉALISÉS LORS DE L'OPÉRATION DU SITE « ZAC DE LA
CROIX » SUR LA COMMUNE DE SAINT-GILLES-CROIX-DE-VIE
(85).**

NIVEAUX DE COMPLEMENT D'UN PUITTS MÉDIÉVAL (F1504).

ARCHEODUNUM SAS

Rapport sur les tests palynologiques

Avril 2026

Archeodunum SAS - Agence de Lyon
500, rue Juliette Récamier - 69970 Chaponnay

Rapport de test palynologique de quatre prélèvements

Références des échantillons étudiés :

Prélèvements provenant de niveaux de comblement d'un puits médiéval (Puits F1504)

Loïc GAUDIN

chargé de cours l'Université de Rennes 1

E-mail : loic.gaudin@arkeomap.com

Site web : arkeomap.com

Avril 2026

Illustration de la page de couverture : Spore de fougère de type polypode (Polypodium sp.) observé dans le prélèvement n°118 (F1504-27) . 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.....	7
2.1 Le protocole d'extraction utilisé.....	7
2.2 Les comptages et déterminations.....	7
3. RESULTATS DES TESTS.....	9
4. PRECONISATIONS ET RESULTATS.....	11
5. BIBLIOGRAPHIE.....	14
6. ANNEXE.....	15
6.1. Détail du protocole d'extraction utilisé :.....	15
6.2. Description des échantillons et des traitements	18

INTRODUCTION

Ce document présente les résultats de tests palynologiques réalisés pour l'opération archéologique menée sur le site « ZAC de la Croix » sur la commune de Saint-Gilles-Croix-de-Vie (85).

Les prélèvements étudiés concernent plus particulièrement des niveaux de comblement d'un puits (F1504), probablement d'époque médiévale. De la céramique datée du XII^e siècle a été identifiée dans l'une des couches inférieures du comblement (couche n° 26).

Par ailleurs, la présence de quelques fragments ligneux au sein de ce comblement constituait un indice à priori favorable à la conservation pollinique.

Quatre prélèvements ont fait l'objet d'extractions polliniques (Fig. 1).

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 étude a été commandée par Agathe Gaucher, responsable de l'opération au sein d'Archeodunum.

1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, STRATIGRAPHIE et OBJECTIFS

Sous nos latitudes, le caractère anaérobie des contextes de prélèvement est un facteur important pour la conservation pollinique, car il va limiter la respiration microbienne et ainsi la biodégradation des pollens.

De manière générale, en contexte archéologique, les couches sédimentaires ne présentent pas de conditions anaérobies permanentes (par exemple en lien avec une nappe d'eau), ce qui rend la conservation des pollens généralement très aléatoire.

Dans le cas présent, le contexte de puits constitue toutefois une exception, dans la mesure où le maintien de conditions humides au sein du comblement a pu permettre de telles conditions anaérobies.

De plus, la présence de quelques fragments de bois observés à l'intérieur du comblement représentait un indice favorable à la conservation pollinique.

Seuls des tests analytiques permettaient néanmoins d'évaluer le potentiel palynologique réel des prélèvements.

INVENTAIRE PALYNOLOGIQUE	
Commune :	Saint-Gilles-Croix-de-Vie (85)
Nom de l'opération / Lieu-Dit :	« ZAC de la Croix »
Année :	2025
N° OA :	
Resp. d'Op. ; commanditaire	Agathe Gaucher
Type d'opération :	Archéologie préventive
Période d'analyse pressentie	avril 2026

N° de prélèvement	Structure	Faits et US	Masse envoyée (g)	Description sédimentaire
n°91	Puits F1504	1504-23	49	Limono-argileux. Couleur brun
n°92		1504-24	49	Limono-argileux. Couleur brun
n°93		1504-25	43	Limono-argileux. Couleur brun
N°118		1504-27	49	Limono-sableux. Couleur brun – Orangée

Figure 1. Inventaire et descriptif des prélèvements étudiés.



Figure 2. Photographie de la stratigraphie du comblement du puits F1504.

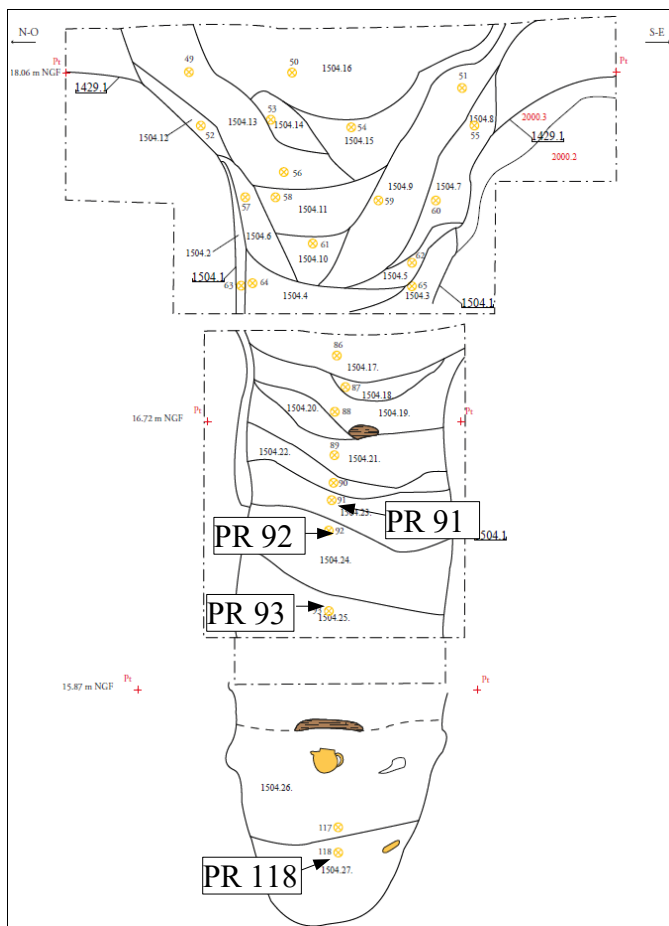


Figure 3. Extrait du relevé stratigraphique et photographie du comblement du fossé F1504. Contexte et positions des prélèvements (PR91, PR92, PR93, PR118) .

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 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 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).

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 pour chaque prélèvement (Fig. 5).

Taxons \ Code Prélèvements		Pr. n°91	Pr. n°92	Pr. N°93	Pr. n°118
Pollens	Frag. Pollen résineux	0	0	0	1
	Pinus sylvestris	0	2	2	1
	Quercus	0	0	3	2
	Alnus	0	0	1	0
	Pourcentage pollens d'arbres	0,00%	13,33%	28,57%	14,29%
	POACEAE	2	5	4	12
	CICHORIOIDEAE	12	2	4	5
	ASTERACEAE	0	1	0	4
	CARYOPHYLLACEAE	1	3	7	1
	CHENOPODIACEAE	0	1	0	1
RANUNCULACEAE	0	1	0	1	
Spores	Pteridium	2	0	0	0
	Spore monolète	25	16	21	22
	Polypodium	3	2	6	3
	Spore trilète	4	0	3	6
Non polliniques	Ascospores gp coprophiles – HdV-55 – Sordariales	0	0	0	1
	Amérospores – HdV-207	5	9	10	20
	Amérospores – HdV-495 ?	0	1	0	1
	Dictyospores TM-4093	0	0	0	2
	Spores algales et supposées – HdV-181-182	5	3	0	0
	Thèques d'œuf de vers parasite de type <i>Trichuris</i>	1	0	1	0
	Micro-charbons	10	0	0	1
	Indéterminés	0	0	2	0
	SOM. pollen (somme de base)	15	15	21	28
	SOM. Sporo-pollinique	49	33	51	59
	CONC. ABS Pollen (nb / cm3)	1947	1843	3168	2488
	CONC. ABS Pollen et Spores (nb / cm3)	6360	4054	7693	5244
	Diversité taxonomique	7	9	9	12
Indice de potentiel d'étude	4	4	3	3	

Figure 5. Comptages correspondant aux pollens et spores déterminés dans chacun des 6 prélèvements testés. Les valeurs grisées correspondent à taux de pollens d'arbres, 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. Opération archéologique du site « ZAC de la Croix » sur la commune de Saint-Gilles-Croix-de-Vie (85).

Code des prélèvements	Nombre de pollens comptés	Nombre de spores comptés	de Lycopodes introduits comptés	Concentration absolue pollen et spores	Concentration absolue pollen uniquement	Etat de conservation	Diversité taxonomique	Indice de potentiel d'étude
n°91	15	49	53	6360	1947	Mauvais	7	4
n°92	15	33	70	4054	1843	Mauvais	9	4
n°93	21	51	57	7693	3168	Moyen	9	3
N°118	28	59	43	5244	2488	Moyen	12	3

Figure 6. 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). Opération archéologique du site « ZAC de la Croix » sur la commune de Saint-Gilles-Croix-de-Vie (85).

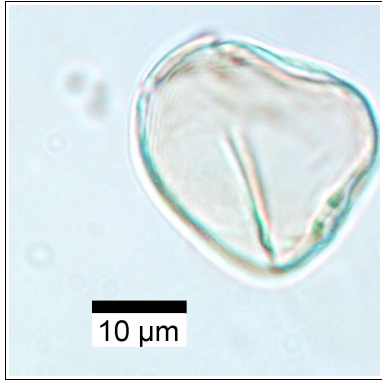


Figure 7. Photographie d'un pollen de Poacée, grossissement x1000, prélèvement PR118.

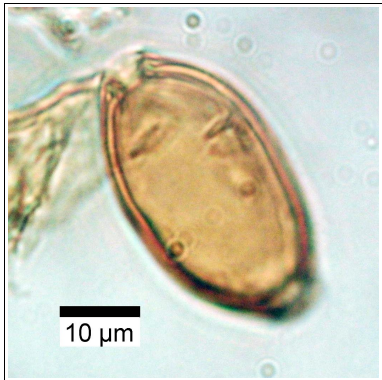


Figure 8. Photographie d'un thèque d'oeuf de ver parasite de type Trichuris, grossissement x1000, prélèvement PR91.

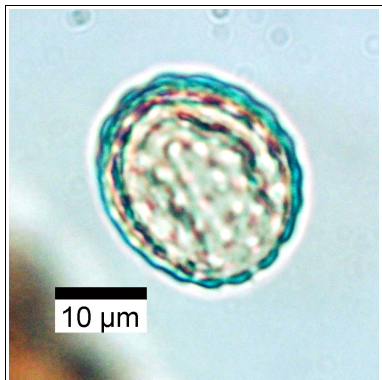


Figure 9. Photographie d'un pollen de Chénopodiacée, grossissement x1000, prélèvement PR118.

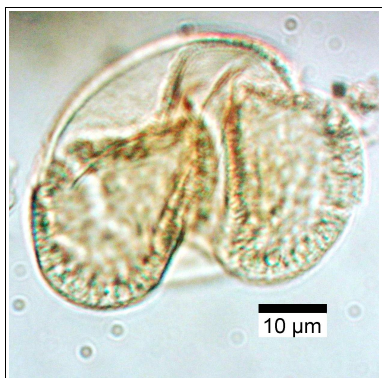


Figure 10. Photographie d'un pollen de pin type sylvestre (*Pinus type sylvestris*), grossissement x1000, prélèvement PR118.

4. PRECONISATIONS ET RESULTATS

L'observation des échantillons a livré des résultats hétérogènes (Figures 5 et 6). Pour deux des quatre échantillons, les résultats obtenus sont mauvais. Les concentrations polliniques sont faibles (prélèvements n° PR91, PR92) de l'ordre de 1900 pollens / mL. Deux prélèvements correspondant à des niveaux inférieurs du comblement (n° PR93 et PR118) montrent des concentrations un peu meilleures (de l'ordre 2500 à 3200 grains / mL) mais aussi un peu plus de diversité (une douzaine de taxons sporo-poliniques pour le prélèvement n°118). Toutefois, ces concentrations polliniques restent faibles en comparaison avec les concentrations polliniques observées dans les tourbières (souvent supérieures à 50000 pollens / mL).

Au niveau de la diversité taxonomique, une dizaine de types polliniques a été observée pour l'ensemble des prélèvements. Le prélèvement le mieux conservé (PR 118) porte à lui seul la plupart des taxons observés. Quelques spores (quatre types) et microfossiles non polliniques (six types) ont aussi été détectés (Fig. 5).

La détection systématique et relativement importante des spores de Lycopodes exotiques introduits dans les volumes extraits (de 43 à 70 Lycopodes comptés, Figure 6), 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 du puits. Il est très probable qu'à certains moments, le puits se soit comblé rapidement, ce qui pourrait expliquer les concentrations assez faibles, notamment pour les deux prélèvements des niveaux « supérieurs » (ex. PR91 et PR 92).

Un autre facteur déterminant concerne le contexte de conservation pollinique. Dans certains échantillons (notamment le prélèvement n° PR91), les pollens de Cichorioidées ainsi que les spores de fougères de type monolète et de type polypode (*Polypodium* sp.) apparaissent en forte proportion. Ces types de pollens et de spores correspondent à des taxons reconnus pour leur meilleure résistance à la corrosion. Ce constat est caractéristique de conservations différentielles. En effet, la nature de ces restes laisse penser que les pollens, souvent constitués d'enveloppes moins résistantes, 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.

Par ailleurs, le mode de dépôt ainsi que la nature de la structure de « piégeage » des pollens a pu influencer les images paysagères perçues. En contexte de puits, le comblement intègre non seulement la pluie pollinique aérienne, mais également des apports liés aux phénomènes de ruissellement et d'infiltration provenant des abords immédiats. Ces apports peuvent notamment être associés à des eaux usées ou à des rejets issus des occupations environnantes. Ce sont donc plutôt des ensembles polliniques locaux ou liés aux activités humaines autour du puits qui sont pressentis.

- Interprétation des premiers résultats :

Les résultats exploitables sont principalement portés par les compositions polliniques des prélèvements PR 118 et PR 93 qui montrent le plus de diversité (Fig. 5).

Pour ces prélèvements, les pollens et spores identifiés proviennent à la fois de végétations herbacées et arborescentes. De façon générale, les végétations herbacées apparaissent mieux représentées que les végétations arborescentes (environ 85 à 75% des pollens) dont beaucoup de pollens graminées et de Cichorioïdées. Ce serait donc un paysage ouvert qui est pressenti pour ces échantillons. (Fig. 11).

Pour les végétations arborescentes, des pollens de résineux ont été identifiés dans trois des quatre prélèvements dont du pin (*Pinus sp.*) et pin type sylvestre (*Pinus type sylvestris*). **Les formations de résineux** sont difficiles à cerner à cause de modes de diffusion et de productions importantes. Quelques pollens de chêne (*Quercus sp.*) ont aussi été observés attestant la présence possible d'une **chênaie** ou de haies de chênes.

Pour les végétations herbacées, ce sont les pollens de Poacées (ou graminées), de Cichorioïdées (famille des pissenlits) et de Caryophyllacées qui sont surtout détectés. Ces trois types de pollens en plus des pollens de Chénopodiacée (Pr. N°92 et n°118) correspondent à des végétations de type « **friches et jachères** ».

De nombreux spores de fougères ont été identifiés dans tous les prélèvements. Les spores monolètes, les spores trilètes, spores de polypode (*Polypodium*) sont systématiquement observés. Il est probable que ces fougères devaient couvrir les abords voire l'intérieur du puits

Quelques microfossiles non-polliniques ont aussi été observés :

L'amérospore de « type HdV-207 » caractériserait le genre *Glomus* (Cugny, 2011), champignon parasite de plantes herbacées.

Par ailleurs, la présence de spores algales, attribuées aux types HdV-181 et HdV-182, notamment dans les prélèvements n° 92 et n° 93, est généralement interprétée comme le marqueur de milieux aquatiques stagnants, peu profonds et eutrophes (Cugny, 2011).

On note également l'observation de cuticules, ou thèques d'œufs de vers parasites de type *Trichuris* sp. (prélèvements n° 91 et n° 93 ; fig. 8). Ce sont des vers parasites du tube digestif humain, mais qui peuvent également affecter le chien, le renard et le porc. La mise en évidence de ces microfossiles suggère la présence de matières fécales au sein du comblement. Ces apports sont vraisemblablement liés à des phénomènes de ruissellement d'eaux usées provenant des surfaces environnantes.

Enfin, un microfossile d'ascomycète coprophile du groupe des Sordariales (type HdV-55) a été identifié dans le prélèvement PR118. Ce taxon constitue un indicateur de la présence de matières fécales et pourrait, de manière indirecte, témoigner d'activités d'élevage à proximité du site.

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

		Pr. n°91	Pr. n°92	Pr. N°93	Pr. n°118
Taux de pollen d'arbres (AP/NAP)		0,00%	13,00%	29,00%	14,00%
Boisement	Chênaie mixte			+	+
	Boisements hygrophiles			+	
	Résineux (Pins)		+	+	+
Végétations herbacées	Prairies hygro- à mésophiles pâturées				
	Communautés rudérales, chemins, pacages, habitats...				
	Friches et jachères	++	++	+++	+++
Zones Humides	Cultures (types)				
	Zones humides en voie d'atterrissement				
	Zones inondées peu profondes				
	Zones inondées profondes				
MNP	Spores algales et supposées (HdV 181-182)	+	+		
	Thèque œuf vers parasites type <i>Trichuris</i>	+		+	
	Ascospores gp coprophiles – HdV 55 – Sordariales				+
Diversité sporo-pollinique		7	9	9	12
Indice de potentiel d'étude		4	4	3	3

Figure 11. Tableau synthétique représentant le taux de pollens d'arbres et les principales formations végétales identifiées pour chacun des 4 prélèvements.

Au regard de ces diverses constatations, seuls les prélèvements PR93 et PR118 pourraient potentiellement faire l'objet d'analyses plus approfondies, sans toutefois pouvoir fournir des ensembles polliniques parfaitement exhaustifs. Les compositions polliniques semblent en effet être affectées par une conservation différentielle de certains pollens.

Par ailleurs, l'image de la végétation restituée semble essentiellement d'échelle locale. Les rares pollens identifiés proviennent majoritairement de formations végétales de type « friches et jachères ». Aucun pollen de plante cultivée (notamment de céréale) n'a été mis en évidence lors de ces tests.

En conséquence, les indices de potentialité d'analyse ont été évalués comme « mauvais » à « moyen » pour l'ensemble des prélèvements étudiés (Fig. 12).

Code des prélèvements	Indice de potentiel d'étude
n°91	4
n°92	4
n°93	3
N°118	3

Figure 12. Tableau récapitulatif de 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 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.

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 microorganismes 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

SERIE N°	Sol Exotique (lycopodes...)	Nombre grains	Num (1-8)	NOM DE LA CAROTTE	TRONCON	Prof top	Prof base	VOL	Poids sec
2989 ext	Lycopodes	17197	B	US1504	F1504	118	27	4,5	9,994
2989 ext	Lycopodes	17197	C	US1504	F1504	91	23	2,5	5,365
2989 ext	Lycopodes	17197	D	US1504	F1504	92	24	2	4,266
2989 ext	Lycopodes	17197	E	US1504	F1504	93	25	2	4,718

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