

Bull. Soc. belge de Géologie	T. 90	Fasc. 4	pp. 281-286	Bruxelles 1981
Bull. Belg. Ver. voor Geologie	V. 90	Deel 4	blz. 281-286	Brussel 1981

EXTRACTION DES POLLENS EN FAIBLE TENEUR DANS LES SEDIMENTS ARGILEUX

par Et. BARTHOLOME (*)

RESUME - L'extraction des pollens des sédiments minéraux repose le plus souvent sur les techniques de densimétrie. L'utilisation de ces méthodes est complexe et parfois délicate, surtout pour les échantillons riches en minéraux argileux, qui réagissent avec les liqueurs denses.

Nous proposons un protocole de concentration valable pour tout type de sédiment qui élimine l'essentiel de ces minéraux argileux sans perdre ou dégrader les pollens et qui autorise en outre l'emploi de liqueurs denses peu onéreuses. La dissolution des minéraux et l'acétolyse ne sont plus systématiquement nécessaires. On peut ainsi se limiter à l'ébullition dans du pyrophosphate de soude en solution, à l'extraction de la fraction comprise entre 250 et 10 μ par tamisage et à la séparation densimétrique au chlorure de zinc en solution.

SUMMARY - Extracting pollen in low amount from clayey sediments.

Extraction of pollen contained in sediments consists mainly in densimetric separation. However such a method remains uneasy and its efficiency is not probative especially for some samples with large amount of clay minerals reacting with heavy liquors.

We propose a concentration procedure which is valid for any kind of sediment, eliminates these clay minerals without loss or degradation of pollen and allows the use of cheap heavy liquors. Mineral dissolution and acetolysis are no longer systematically necessary. Boiling in Na₄ P₂ O₇ 0.15 M, extraction of the fraction between 250 and 10 μ and densimetric separation with a Zn Cl₂ solution can be sufficient.

INTRODUCTION.

Depuis ces dernières années, les palynologistes tentent avec un succès inégal l'étude des pollens des sédiments minéraux dont les teneurs sont souvent très faibles.

Longtemps on s'est contenté de dissoudre la matière minérale dans l'acide fluorhydrique. Pour les échantillons très pauvres, on a tenté diverses techniques de concentration par différence de densité; à l'aide de bromoforme (FREY, 1955), de solutions d'iodures (FRENZEL, 1964, BASTIN, 1964) ou de chlorures (GUILLET et PLANCHET 1969; FAEGRI et IVERSEN, 1975). Ce principe densimétrique a été

(*) Laboratoire de Géographie Physique et de Géologie du Quaternaire,
Place Louis Pasteur 3 1348-Louvain-la-Neuve.

utilisé et amélioré par de nombreux auteurs.

D'autres processus d'extraction ont été proposés sans avoir reçu un grand écho dans la littérature : microflottation (DUMAIT et al., 1963), élutriation (JUVIGNE, 1973), tamisage simple (KIDSON-WILLIAMS, 1969, BALSAM-HEUSSER, 1976, MACK et al., 1979).

Après FAEGRI et IVERSEN (1975, p. 106), on doit admettre que les méthodes densimétriques les plus utilisées à l'heure actuelle, sont insuffisamment efficaces parce qu'elles n'éliminent pas toutes les particules minérales et n'extraient pas tous les grains de pollen. La difficulté principale de ce traitement résulte du comportement des minéraux argileux vis-à-vis des liqueurs denses (FAEGRI et IVERSEN, 1975, p. 105; MOORE et WEBB, 1978, p. 24). En effet, ces minéraux se comportent comme des colloïdes électro-négatifs qui flocculent en présence des liqueurs denses (Zn Cl₂, KI + CdI₂). Cette réaction nuit à la bonne séparation des pollens piégés dans les floculats d'argile.

Plusieurs palliatifs ont été proposés :

- dispersion des argiles dans un peptisant. A elle seule, cette manipulation s'avère insuffisante;
- dispersion du sédiment par passage aux ultrasons (BALSAM-HEUSSER, 1976, REYNAUD CHAIX, 1981), MARCEAU (1969) insiste à la fois sur l'efficacité de l'action nettoyante et les dangers de dégradation des grains. CERCEAUX et al. (1970) utilisent d'ailleurs ces mêmes ultrasons pour l'étude structurale de l'exine. Ils brisent ainsi le pollen et en arrachent des plaques superficielles. Ceci indique que l'usage de l'ultrasonation n'est pas sans risque.
- JUVIGNE (1973) utilise un mixer pour dissocier les agrégats d'argile dans la liqueur dense, ce qui accélère la méthode FRENZEL-BASTIN.
- d'autres auteurs (BALSAM-HEUSSER, 1976; MACK et al., 1979) préconisent un simple tamisage non suivi d'une séparation densimétrique. Cette procédure ne peut s'appliquer efficacement que pour des fractions minérales à granulométrie plus fine que les pollens, sinon le résidu minéral reste trop important pour une simple dissolution à l'acide fluorhydrique.

2. PROTOCOLE DE CONCENTRATION DES POLLENS.

Nous avons tenté d'adapter la procédure afin :

- de résoudre le problème de floculation des minéraux argileux,
- d'éviter la dégradation des pollens,
- de réduire le nombre et la complexité des manipulations,
- de réduire le nombre de produits et le coût du traitement.

Notre protocole s'avère très efficace sur les échantillons argileux et s'applique avec égal bonheur sur tout type de sédiment.

3. ANALYSE ET DISCUSSION DU PROTOCOLE.

a. La dissolution des carbonates à l'acide chlorhydrique 10% doit être précédée d'une élimination par tamisage des graviers, des sables et des argiles pour réduire la quantité de matière à attaquer.

Le traitement préliminaire avec cet acide ne sera appliqué que sur des échantillons encroûtés par des carbonates. Pour les autres sédiments carbonatés, la dissolution s'effectuera après passage en liqueur dense.

1. Dissolution des carbonates	sédiments indurés par des carbonates	H Cl 10 %	remuer le sédiment dans la solution jusqu'à disparition de l'effervescence - éventuellement chauffer. Ensuite C + R + C.
2. PEPTISATION DES ARGILES SOLUBILISATION DES ACIDES HUMIQUES	TOUS LES ÉCHANTILLONS	$\text{Na}_4 \text{P}_2 \text{O}_7$ 0,15 M	PORTER QUELQUES MINUTES À ÉBULLITION LAISSER REFROIDIR
3. TAMISAGE	TOUS LES ÉCHANTILLONS	$\text{H}_2 \text{O}$ DÉMINÉRALISÉE ET FILTRÉE	RÉCUPÉRER LA FRACTION COMPRISE ENTRE 250 μ ET 10 μ ENSUITE C
4. SÉPARATION DENSIMÉTRIQUE	ÉCHANTILLONS RICHES EN MATIÈRES MINÉRALES	Zn Cl_2 $D > 2$ (700 G Zn Cl_2 + 200 ML $\text{H}_2 \text{O}$)	CENTRIFUGER DANS Zn Cl_2 TAMISER LE SURNAGEANT À 10 μ RÉPÉTER 2 FOIS - R SUR LE TAMIS
5. Dissolution des carbonates	sédiments carbonatés non traités en 1.	H Cl 10 %	Procéder comme en 1
6. Dissolution des minéraux non carbonatés	échantillons contenant encore des minéraux	H F 40 %	Tenir 20 minutes au bain-marie bouillant C + R avec H Cl 10 %, C + R + C
7. Acétolyse d'Erdtman (1934)	échantillons contenant de la matière organique en excès	a. acide acétique glacial ($\text{C}_2 \text{H}_4 \text{O}_2$) b. 90 % anhydride acétique ($\text{C}_4 \text{H}_6 \text{O}_3$) + 10 % $\text{H}_2 \text{S O}_4$ conc.	Déshydrater 15 minutes avec a - c. Ajouter b et tenir au bain-marie bouillant pendant 15 minutes C + R avec a + C + R + C

L'échantillon est prêt pour montage et analyse.

N.B. C = centrifuger 5 min. à 3000 T/min.

R = rincer à l'eau déminéralisée et filtrée

Tableau 1 - Protocole de concentration des pollens.

En majuscules : traitement de base.

En italiques : traitements éventuels à appliquer suivant la nature du sédiment.

b. L'élimination des acides et colloïdes humiques s'effectue le plus souvent à chaud au KOH ou au Na OH avec ensuite un traitement à H Cl (BASTIN, 1971) ou au $\text{Na}_4 \text{P}_2 \text{O}_7$ à froid (REYNAUD-CHAIX, 1981). Nous remplaçons ces étapes par une courte ébullition dans $\text{Na}_4 \text{P}_2 \text{O}_7$ 0,15 M qui très rapidement désagrège mécaniquement les agrégats, solubilise les acides et les colloïdes humiques et peptise les argiles.

c. Extraction de la fraction minérale entre 250 et 10 microns.

Par élutriation, JUVIGNE (1973) tente d'éliminer la fraction minérale supérieure à 46 microns tout en conservant les pollens avec les silts et les argiles. Ceux-ci vont cependant réagir par la suite avec les liqueurs denses.

REYNAUD et CHAIX (1981) éliminent les argiles restées en suspension après un certain temps de décantation.

Cette technique risque d'éliminer en même temps une quantité importante de pollens. Différents essais en laboratoire ont en effet montré que le pollen se comporte en gros comme les silts et les argiles. BRUSH et BRUSH (1972) l'ont observé lors d'expériences de sédimentation en chenal.

Ce comportement se retrouve en milieu océanique où ces fossiles s'associent aux silts de 14 à 16 microns (HEUSSER-BALSAM, 1977) et en milieu fluvio-deltaïque où ils se rencontrent parmi les argiles et les silts jusque 8 microns (MULLER, 1959).

Le tamisage à l'eau déminéralisée et filtrée permet d'extraire la fraction de 250 à 10μ , contenant la majorité des pollens et des spores. Une légère vibration facilite l'opération; moins violente que le passage au mixer (JUVIGNE, 1973), elle ne dégrade pas les pollens et détruit les derniers agrégats. L'apport important d'eau élimine les minéraux argileux et les solutions humiques. Si les teneurs en pollen sont faibles ou la fraction minérale entre 250 et 10μ très importante, la dissolution directe à l'acide fluorhydrique (BALSAM-HEUSSER, 1976; MACK et al., 1979) s'avère insuffisante.

d. Séparation à l'aide de liqueur dense.

Les solutions aqueuses d'iodures et de chlorures se manipulent assez aisément. Le réajustement de leur densité par évaporation de l'excès d'eau permet leur réemploi. Le chlorure de zinc, moins onéreux, se révèle moins efficace que la liqueur de Thoulet en présence de minéraux argileux. L'élimination préalable des argiles résout ce problème. Une simple agitation manuelle du sédiment dans la liqueur dense suffit à disperser la matière et libérer les pollens, ce qui rend inutile l'usage du mixer.

e. Récupération et rinçage de l'échantillon.

Les protocoles de FRENZEL (1964) et de BASTIN (1971) préconisaient de récupérer la fraction surnageante sur un filtre en papier détruit par plusieurs attaques chimiques. GIRARD et RENAULT-MISKOVSKY (1969) fabriquent un filtre en carbonate de calcium dissout ensuite par H Cl. GOEURY et de BEAULIEU (1979) emploient un disque filtrant en fibre de verre éliminé par HF.

Nous réutilisons le type de filtre en fibre synthétique de 10μ déjà employé pour le tamisage préliminaire. L'échantillon est directement rincé sur ce filtre avant d'autres traitements éventuels. Les tamis sont aisément nettoyés au jet d'eau distillée et par un passage prolongé aux ultrasons.

Parfois, un résidu de matière organique et/ou minérale impose encore le recours aux attaques H Cl, HF et acétolyse. Ces traitements ne sont pratiqués qu'en cas de nécessité.

4. CONCLUSIONS - EFFICACITÉ DE LA METHODE.

La revue bibliographique des procédés d'extraction des pollens a servi de point de départ critique à la conception d'une méthode simple, sûre et peu onéreuse.

Dans les cas favorables elle peut se limiter à trois manipulations : ébullition dans une solution de pyrophosphate de soude, tamisage, séparation densimétrique. Son efficacité s'est révélée lors du traitement de sédiments argileux réputés stériles. Elle ouvre ainsi de nouveaux champs d'étude.

BIBLIOGRAPHIE.

- BALSAM-HEUSSER (1976) - Direct correlation of sea surface paleotemperatures, deep circulation and terrestrial paleoclimates : foraminiferal and palynological evidence from two cores off Chesapeake Bay. *Mar. Geol.*, Vol. 21, p. 121-147.
- BASTIN, B. (1964) - Essais d'analyse pollinique en Belgique selon la méthode de Frenzel, *Agricoltura*, Vol. 12 (4), p. 703-706.
- BASTIN, B. (1971) - Recherches sur l'évolution du peuplement végétal en Belgique durant la glaciation de Würm. *Acta Geographica Lovaniensia*, Vol. 9.
- BRUSH, G. - BRUSH, I. (1972) - Transport of pollen in a sediment laden channel : a laboratory study. *Am. Journ. of Sci.*, Vol. 272, pp. 359-381.
- CERCEAUX, M. T., HIDEUX, M., MARCEAUX, L., ROLAND, F. (1970) - Cassure du pollen par les ultrasons pour l'étude structurale de l'exine au microscope électronique à balayage. *C. R. Acad. Sci. Paris, D* 270, pp. 66-69.
- DUMAIT, P., MARCEAU, L., DEVIN, C., VAN CAMPO, M. (1963) - Nouvelle méthode de concentration des pollens dans les sédiments pauvres par microflotation. *C. R. hebdo. Acad. Sci. Paris, D* 256, pp. 231-233.
- ERDTMAN, O. G. E. (1934) - Über die Verwendung von Essigsäureanhydrid bei Pollenuntersuchungen. *Sven. Bot. Tid.*, 28, pp. 354-358 cfr aussi FAEGRI-IVERSEN (1975).
- FAEGRI, F. - IVERSEN, J. (1975) - Textbook of pollen analysis, 3e ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- FRENZEL, B. (1964) - Zur Pollenanalyse von Lössen. Untersuchungen der Lössprofile von Oberfellabrunn und Stillfried (Niederösterreich), *Eiszeitalter u. Gegenwart*. vol. 15, p. 5-39.
- FREY (1975) - cfr. MOORE-WEBB (1978), p. 26.
- GIRARD, RENAULT-MISKOVSKY (1969) - Nouvelles techniques de séparation en palynologie appliquées à trois sédiments du Quaternaire final de l'abri Cornille (Istres-Bouches-du-Rhône). *Bull. de l'AFEQ*, vol. 4, pp. 275-284.
- GOEURY, C., de BEAULIEU, J. L. (1979) - A propos de la concentration du pollen à l'aide de la liqueur de Thoulet dans les sédiments minéraux. *Pollen et Spore*, vol. 21, pp. 239-251.
- GUILLET, B., PLANCHAIS, N. (1969) - Note sur une technique d'extraction des pollens des sols par une solution dense. *Pollen et spores*, vol. 11, pp. 141-145.
- HEUSSER, L. - BALSAM, W. L. (1977) - Pollen distribution in the Northeast Pacific Ocean, *Quat. Research* Vol. 7, p. 45-62.
- JUVIGNE, E. (1973) - Une méthode de séparation des pollens applicable aux sédiments minéraux. *Ann. Soc. Géol. de Belg.*, vol. 96, pp. 253-262.
- KIDSON, E.-WILLIAMS, G. (1969) - Concentration of palynomorphs by use of sieves. *Oklahoma Geol. Notes*, Vol. 29, p. 117, cfr. FAEGRI-IVERSEN (1975).
- MACK, R., RUTTER, N., VALASTRO, S. (1979) - Holocene vegetation history of the Okanogan Valley, Washington. *Quat. Research*, Vol. 12, pp. 212-225.
- MARCEAU, L. (1969) - Effets sur le pollen des ultrasons de basse fréquence. *Pollen et Spore*, Vol. 11, pp. 147-164.

- MOORE, P., WEBB, J. (1978) - An illustrated guide to pollen analysis. *Hodder-Stoughton Edit., London.*
- MULLER, J. (1959) - Palynology of recent Orinoco delta and shelf sediments. *Micropal.* Vol. 5, pp. 1-32.
- REYNAUD, C., CHAIX, L. (1981) - Modalité et chronologie de la déglaciation finiwürmienne du pied de Salève (Hte Savoie, Fr.) - *Notes du Labor. de Paléontologie de l'Université de Genève, fasc. 8, n° 3.*
- TRAVERSE, A., GINSBURG, R. (1966) - Palynology of the surface sediments of Great Bahama Bank, as related to water movement and sedimentation. *Marine Geol.*, Vol. 4, p. 417-459.

Manuscript received January 1982.