

Saint Ismier le 16 mars 1996

L'Analyse Pollinique des Miels par l'Amateur.

Chacun sait que la saveur d'un miel dépend des nectars récoltés par l'abeille sans parler, bien entendu, des facteurs annexes tels que mode d'extraction ou stockage. Ce que l'on sait moins c'est que, à de rares exceptions près (acacia pur et surtout lavande), la quantité de pollen contenue dans les miels, même les plus fluides, est importante. Typiquement, elle est de 20.000 à 100.000 grains dans un échantillon de 15 grammes (quelques milliers dans l'acacia et au plus quelques dizaines dans la lavande).

La science, qui se propose de déterminer l'origine florale des miels, s'appelle la méliissopalynologie. Les premiers travaux d'importance ont été réalisés par le professeur Enoch ZANDER et publiés en 1935, puis le professeur Jean LOUVEAUX a publié en 1970 sa méthode, suivi en 1981 par Rex SAWYER, un anglais, qui a, lui, publié deux livres l'un sur l'identification des pollens utilisés par l'abeille (en rupture de stock), et l'autre sur l'analyse pollinique des miels.

Le POLLEN.

1.Introduction. Pour vous permettre de déterminer l'origine des pollens stockés dans vos ruches ou connaître l'origine de vos miels il vous faut pouvoir identifier les pollens avec précision. Pour cela il vous faudra vous constituer une collection de pollens de référence. Pour évaluer l'ampleur de la tâche il faut savoir que dans un miel polyfloral on peut rencontrer une centaine de pollens de types différents. Bien sûr un grand nombre seront communs à la plupart des miels, d'autres en revanche dépendront de la région, montagne, plaine, pays étrangers etc...

Une bonne collection devrait donc comporter plusieurs centaines de pollens des principales plantes mellifères. Rappelons que pratiquement toutes les plantes ont une reproduction sexuée et sont généralement hermaphrodites c'est-à-dire que l'on trouve à la fois la semence mâle ou pollen et les ovules dans une même fleur. Le pollen se trouve dans des bourses que l'on appelle anthères situées au sommet de petites tiges, les filets, l'ensemble formant les étamines. Celles-ci entourent une partie centrale comportant à la partie inférieure l'ovaire et ses ovules surmonté d'un style terminé par la partie réceptrice, le stigmate.

2.Documentation et Matériels nécessaires.

Documentation : il faut évidemment pouvoir identifier avec précision les plantes mellifères visitées par les abeilles, pour cela il vous faut une documentation suffisante, la bibliographie en fin d'article propose quelques livres qui pourront vous aider.

Matériels : pour la préparation et l'examen des pollens et de ceux contenus dans le miel, il faut pouvoir disposer d'une loupe si possible binoculaire d'un grossissement d'environ 20 fois et d'un microscope équipé d'un micromètre permettant un grossissement de 200 à 600 fois et si possible 1000 fois. Sont également nécessaires : lames et lamelles de microscope et boîtes de rangement, petit pinceau genre maquillage, brucelles fines et glycérine gélatinée colorée.

Nota: Il n'est pas difficile d'ajouter un micromètre à un microscope non équipé, il suffit de le monter dans le plan focal de l'oculaire. La société OSI 141 ,rue de Javel, 75739 Paris Cedex fournit un tel disque gradué pour environ 130 frcs TTC.

3.Récolte du pollen. Les anthères de la fleur ne produisent du pollen en quantité notable que pendant un laps de temps relativement court et essentiellement au début de la floraison. C'est également le moment où l'identification est la plus facile car la fleur est intacte. Après identification, récolter les anthères à l'aide de ciseaux très fins et les faire sécher pendant au moins 3 jours dans un endroit chaud et sec, par exemple entre 2 verres de montre. Dans certains cas on pourra avoir à laisser mûrir la plante dans un endroit calme en la plaçant dans un vase avec de l'eau (plantes à chatons , tanaïsie...) ou bien à la retourner entre 2 verres de montre de façon à récolter le pollen dans le verre de montre inférieur (myosotis, valériane...). Faire très attention aux contaminations polliniques, en effet le pollen s'agrippe très facilement même au verre et se disperse avec une grande facilité dans les courants d'air.

Montage des pollens. Lorsque les grains sont bien secs on procède au montage entre lame et lamelle. Pour cela on met les anthères éclatées ou le pollen dans un petit godet plus haut que large de 0,5 à 1cc rempli d'alcool. L'alcool à brûler convient très bien. On brasse avec un très petit pinceau genre pinceau de maquillage puis on élimine les anthères vides. On effectue au moins trois lavages successifs, parfois dix sont nécessaires (cas du pissenlit par exemple). On peut aussi essayer l'éther ou l'acétone mais attention le récipient doit être en verre. Les grains de pollen devront être totalement décolorés et ne plus coller, dans la mesure du possible, les uns aux autres. La taille des grains est très variable elle varie, grosso modo, de 7 microns (myosotis) à 150 microns (courge) avec une moyenne de 25 à 30 microns. Après le dernier lavage il faut prendre

la dernière goutte avec une petite pipette et la déposer sur une lame propre chauffée à environ 40 degrés. On l'étale avec un petit pinceau et à l'aide d'une pointe très fine on élimine tous les déchets végétaux un à un sous la loupe binoculaire. Notons qu'il faut suffisamment de grains pour que l'examen microscopique ultérieur soit facile en permettant de voir dans un même champ oculaire des grains dans toutes les positions. En effet l'identification se base essentiellement sur le nombre et la position des sillons et des pores, les dimensions suivant les plans équatoriaux et polaires et le motif ornemental.

Le milieu utilisé pour le montage est la glycérine gélatinée colorée. On la prépare, ou on l'achète toute préparée, de la façon suivante. A 10 grammes de gélatine en feuilles, que l'on a laissé gonfler dans de l'eau tiède, on ajoute 15 grammes de glycérine et 1 gramme d'acide phénique. Au liquide obtenu on ajoute une petite goutte de colorant, bleu de méthylène ou vert d'iode que l'on mélange intimement. La coloration doit être très légère.

On en prélève une goutte que l'on dépose sur la lame au centre des grains de pollen. On dépose ensuite délicatement une lamelle sur cette goutte sans appuyer mais en maintenant cette lame support à environ 40 degrés pendant plusieurs heures et on la laisse ensuite refroidir environ 24 heures. On enlève, le cas échéant, l'excédent de gélatine avec une petite éponge et finalement on lute les bords de la lamelle avec un petit pinceau enduit de vernis à ongles pour sceller la préparation.

La lame est prête pour l'examen microscopique. Un grossissement de 400 fois est généralement satisfaisant, toutefois certains détails ne sont visibles qu'avec un grossissement de 1000 mais il est assez rare d'y avoir recours. La conservation d'une collection ainsi confectionnée est bonne surtout si on la garde au frais et à l'abri de la lumière.

BIBLIOGRAPHIE. **Flore complète portative de la France de la Suisse et de la Belgique** par Gaston Bonnier et Georges Layens. Editions Belin. Comporte 5338 figures en noir et blanc. Prix 132 Frs. D'un usage assez délicat, ne contient pas les plantes issues des jardins telles que le buddleia ou le solidage du Canada pourtant très communes. Les noms des fleurs par Gaston Bonnier. Editions Belin. 2715 figures en noir et blanc. Prix 110 Frs. D'un emploi facile mais incomplet.

La Flore d'Europe Occidentale par Marjorie Blamey et Christopher GreyWilson aux Editions Arthaud. 2400 plantes sont décrites et représentées en couleurs. Prix 290 Frs. Très pratique. Les plantes sont classées par familles. Les principales plantes issues des jardins y figurent mais pas les graminées, ce qui n'est pas gênant pour l'apiculteur.

L'Analyse des Miels.

La méthode utilisée est relativement simple, même si sa mise en pratique demande beaucoup de patience et une certaine expérience pour une bonne identification des pollens. Elle est basée sur la différence de densité entre les pollens et l'eau et a fortiori l'alcool (voir note technique ci-dessous). Elle nécessite normalement l'emploi d'une centrifugeuse; toutefois, comme cet appareillage n'est pas tout à fait à la portée de l'amateur moyen, une méthode s'en affranchissant est décrite ci-dessous. On prend un récipient genre verre à pied dans lequel on verse 50cm³ d'eau du robinet portée à 40 degrés environ. On ajoute alors l'échantillon de miel bien décanté (10 ou 15 grammes suffisent) et on laisse décanter 24 heures dans un endroit calme et chaud (maximum 40°C). On retire avec précaution tout le liquide surnageant avec une pipette sauf le dernier demi-cm³ auquel on ajoute environ 20 cm³ d'eau du robinet tiède. On met les particules en suspension en remuant de façon circulaire pour favoriser le dépôt des particules au centre. Laisser encore décanter 6 à 12 heures, puis retirer délicatement tout le liquide, sauf les 2/3 dernières gouttes que l'on dilue avec de l'alcool à brûler (1cc) deux fois de suite en laissant reposer environ 1/4 d'heure et en éliminant à chaque fois le liquide surnageant avec une seringue.

Enfin avec une pipette, prélever la dernière goutte et la déposer délicatement au centre d'une lame de microscope. Verser une goutte de glycérine gélatinée teintée légèrement, avec par exemple du bleu de méthylène, puis recouvrir d'une lamelle. Luter les bords avec du vernis à ongles après avoir enlevé, éventuellement, l'excédent de gelée. On peut alors, avec un grossissement de 250 à 400, examiner les différents grains de pollen et tenter leur identification. Certains sont très faciles: colza, marronnier d'Inde, tilleul, épilobe, mauve etc..., d'autres sont un peu plus difficiles. A noter toutefois que si l'identification fine est assez longue de par la diversité des pollens rencontrés, de l'ordre de la centaine, en revanche il est facile de déterminer qu'un miel est un mélange : miel de montagne /miel de plaine, par exemple ou a fortiori miel local/ miel à pollens exotiques, car on y rencontre alors certains pollens typiques des zones de butinage. Un problème, il n'existe pas, à ma connaissance, de répertoire en langue française des pollens récoltés par l'abeille, vous devrez donc vous le constituer à partir des fleurs des plantes visitées. C'est un travail de longue haleine mais fascinant, et le résultat est à la hauteur des espérances.

NOTA. Il peut s'avérer utile, dans le cas où le miel à analyser serait très chargé en particules végétales, de l'éclaircir dans un bain d'eau tiède dilué à 5 pour 1000 d'acide sulfurique ceci juste avant les bains d'alcool.

Note technique. La vitesse de sédimentation de particules solides en suspension dans un liquide est définie par la formule de STOKES qui s'écrit:

$$V_s = k \cdot r^2 \cdot g \cdot (\rho - \rho_0) / \eta$$

où k est une constante, r est le rayon des particules, ici le pollen, g est l'accélération subie par le milieu, ρ et ρ_0 sont respectivement les masses volumiques du pollen et du milieu, et η la viscosité du milieu (vaut pour l'eau 1,005 à 20°C et 0,656 à 40°C).

Bibliographie: ATLAS photographique d'analyse pollinique des miels par Jean LOUVEAUX 1970, publié par le Service de Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité 42 bis rue de Bourgogne 75007 Paris.

HONEY Identification par Rex SAWYER, en anglais (£16.50). Cardiff Academic Press 39 Rannoch Drive, Cardiff CF2 6PL (Pays de Galles).

Remarques sur l'interprétation des Résultats.

1. Introduction. Après avoir obtenu une lame porte-objet contenant les pollens présents dans un miel il convient d'interpréter les résultats. Les notes qui suivent se proposent de donner des indications à la fois qualitative et quantitative sur la façon de faire.

2. Remarques générales

-concernant les pollens. La Flore française avec environ 5.000 plantes n'en recèle qu'un peu plus de 400 (436 d'après Jean Louveaux) qui sont visitées par les abeilles. Sur celles-ci seules une trentaine sont d'importance majeure pour les abeilles et environ 70 permettent parfois une petite récolte. Par ailleurs si la plupart fournissent à la fois pollen et nectar un certain nombre ne fournissent que du pollen, saule, coquelicot, aulne, spirée, graminées dont le maïs, sureau etc..., d'autres ne fournissent pratiquement que du nectar.

-concernant les miels. La plupart des miels récoltés dans notre région sont pratiquement tous d'origine nectarifère (nectaires floraux et extra floraux) mais, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par l'analyse pollinique, la présence de miellat en très petite quantité est très fréquente. Certaines années toute fois elle peut être

importante notamment dans les ruchers proches des sapins et surtout des épicéas. (Miels dits de sapin).

3.Le Miellat. Rappelons ce qu'est le miellat, il s'agit d'un liquide sucré sécrété par des hémiptères essentiellement des pucerons (*Buchneria*) ou des cochenilles (*Physokermes hemicryphus*). Ceux-ci piquent les tissus de la plante pour en extraire la sève et plus particulièrement son contenu protéique. Comme ce dernier est peu concentré le puceron absorbe beaucoup de sève et en rejette la plus grande partie, par l'anus. C'est cette sève sucrée qui est "pompée" par nos abeilles pour donner le miel de miellat.

On comprendra, dans ces conditions, que le miellat soit très pauvre en pollen, on y trouvera parfois des pollens de plantes anémophiles c'est-à-dire de plantes dont le pollen est dispersé par le vent et englué dans le miellat ainsi que des algues, des spores de champignons comme les fumagines (*Alternaria* en forme de massue par exemple), des poussières et des suies. Notons toutefois qu'en dépit de cette présentation apparemment peu "ragoûtante" le miel de miellat comporte certaines substances inconnues dans les miels classiques notamment des gommes et dextrans, sans doute bénéfiques pour certaines affections des voies respiratoires. Mentionnons dans les Alpes la fameuse "manne de Briançon" due à un puceron *Cinara laricis* qui se développe sur le mélèze situé à des altitudes généralement supérieures à 1500 mètres. La présence d'un sucre, le mélézitose, cristallisant facilement explique les difficultés d'extraction rencontrées.

4.L'utilité du pollen. L'abeille recueille essentiellement quatre produits dans la Nature ce sont: l'eau, de préférence azotée, la propolis, le nectar et le pollen. Nous ne parlerons ici que du dernier. Il est destiné à servir de source de protéines pour l'élaboration du squelette de nos insectes. Il est donc indispensable pour démarrer tout élevage, le nectar ne contenant que des sucres ne pourrait remplir ce rôle, la transformation sucres-protéines n'étant pas possible. Au printemps lors du développement des colonies les abeilles récoltent donc beaucoup de pollen qui ne se retrouvera en fait que peu dans le miel étant absorbé par l'élevage (gui, érable, aulne, noisetier, fruitiers etc...) et puis lors de la miellée les gros producteurs de nectar (trèfles, colza, sainfoin, tilleul, bruyère, châtaignier etc...) prendront la relève et c'est là que nous pourrions détecter l'origine florale réelle des miels ainsi que leur importance pondérale relative.

5.Le coefficient pollinique. Les études effectuées en 1942 par Todd et Vansell et reprises par différents auteurs depuis ont introduit ce que l'on appelle le coefficient pollinique. Les chercheurs ont en effet établi que les

miels monofloraux ont un nombre bien défini de grains de pollen par unité de poids avec une variance raisonnable. On trouve fréquemment dans les cadres de hausse des zones entièrement monoflorales ce qui permet en comptant le nombre de grains de pollen dans 10 gr de miel (ce qui n'est pas très facile mais peut se faire avec de la patience) de déterminer ce coefficient pollinique. On trouvera en annexe les valeurs pour les principaux pollens de nos régions. En pratique, l'établissement du pourcentage des différentes plantes constituant un miel est effectué de la façon suivante :

1. on compte le nombre total de grains de pollen d'un échantillon de 5 à 15 gr de miel.
2. on évalue le pourcentage de chaque pollen
3. on calcule les quantités relatives de miel en divisant le chiffre obtenu en 2 par le coefficient pollinique.
4. le pourcentage des nectars des différentes origines est obtenu en divisant le chiffre obtenu en 3 par la somme des quantités relatives. Pour fixer les idées voici un exemple simple:

| Plante | Nbre grains | % Pollen | Coef pollin. | Qté relative | % nectar |
|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
| châtaignier | 1900 | 95 | 1000 | 0,095 | 16% |
| tilleul | 100 | 5 | 10 | 0,5 | 84% |
| Total | 2000 | 100% | | 0,595 | 100% |

En conclusion, bien que possédant 19 fois plus de pollen de châtaignier, ce miel, par l'application du coefficient pollinique, se retrouve avec seulement 16% de nectar de châtaignier contre 84% de tilleul.

6. Précision de l'évaluation. Les résultats obtenus sont habituellement suffisamment fiables pour les besoins commerciaux courants et fournissent toujours des renseignements précieux sur l'origine, la flore butinée, la présence de déchets (suies ou miellat). Les sources d'erreur sont diverses citons:

- l'absence de coefficient pollinique pour certaines plantes.

- un pollen en quantité anormalement élevée (extraction douteuse).

- la présence de nombreux dépôts :suies, spores etc...

On observera que la validité des résultats obtenus peut être vérifiée. On pourra notamment déterminer l'importance des pollens non pris en compte en appliquant le coefficient pollinique au nombre de grains de pollen effectivement comptés dans 10 gr de miel ou rapportés à cette valeur. L'examen d'un miel bon marché acheté sur une grande surface a, par exemple, montré indubitablement son origine tropicale ou semi-tropicale par la présence des

pollens suivants: oryza (riz), mimosa bimucronata, vernonia (composée tropicale) ainsi que de nombreux dépôts et spores typiques des miels d'Extrême-Orient et notamment chinois.

7. Structure des grains de pollen. Un grain de pollen est une cellule vivante sexuée, mâle, entourée de deux couches protectrices, l'intine et l'exine. La cellule contient le cytoplasme et 2 nuclei qui ne sont pas visibles avec la méthode utilisée pour l'identification. Lorsqu'un grain, sous différentes influences, atteint le stigmate d'une fleur compatible, la cellule "germe" et produit 2 nuclei fertilisateurs et un tube pollinique. Ce dernier va les acheminer dans l'ovaire de la fleur pour qu'ils fusionnent avec les nuclei de l'ovule. Cette fusion s'achève par une graine. Les grains de pollen sont soit :

- **simples** avec une seule cellule, cas le plus fréquent.
- ou **composés en tétrades** (4 grains adjacents), cas des éricacées (bruyère, rhododendron etc.)
- ou **composés en polyades** (8, 16 ou 32 grains adjacents), cas des mimosacées.

L'intine est une membrane semi-perméable, fine, entourant le cytoplasme. L'exine est la couche externe, souvent compliquée, d'une matière appelée "sporopollénine" de composition mal connue mais particulièrement résistante puisqu'on la retrouve sous forme fossile après des millions d'années.

L'exine comprend :

- une **base** claire et uniforme.
- des tiges ou **columelles** disposées radialement plus ou moins espacées.
- le toit ou **tectum** parfois incomplet laissant apparaître les columelles.
- et enfin l'**ornementation**, dépressions, murettes, épines, etc... La disposition générale d'un grain varie beaucoup, néanmoins le cas le plus fréquent est un grain plus ou moins sphérique comportant 3 ouvertures (pores ou sillons), ce qui le rend plus ou moins triangulaire. Suivant le plan selon lequel on l'examine un grain de pollen aura des contours différents dans le cas général, ainsi par exemple : dans le **plan polaire** on aura un contour :

- circulaire pour la vesce (vicia)
- subcirculaire pour l'érable (acer)
- subtriangulaire pour la bourdaine (frangula alnus)
- triangulaire pour l'eucalyptus

et dans le **plan équatorial** on aura un contour :

- **prolate** (ovale allongé suivant l'axe polaire) pour la vesce
- **oblate** (ovale allongé suivant l'axe équatorial) pour la sauge (salvia)
- **sphérique** pour la jasionne (jasione montana).

La plupart des grains sont isopolaires (pôles semblables), toutefois il y a une exception notable, la vipérine vulgaire, qui est de forme ovoïde ou anisopolaire (pôles différents).

Les ouvertures. On peut voir à la surface du pollen des zones présentant un amincissement ou même une absence de certaines couches de l'exine, celles-ci correspondent aux points de sortie possible du tube pollinique, ce sont les ouvertures. Elles sont fréquemment renflées comme dans le robinier faux acacia. Selon leur forme, on distingue les pores (porus) de forme arrondie et les sillons (colpus) de forme allongée. De nombreuses combinaisons sont possibles entre les pores et les sillons, citons les grains :

-colporés (pores plus sillons) robinier, tilleul, trèfle blanc tous tricolporés

-monoporés (froment), diporés (colchique), triporés (campanule)

-monocolpé(lys), dicolpés (hypécoum), tricolpés (amandier, sainfoin).

En revanche, mélèze est inaperturé (ni pore ni sillon) mais la bourrache possède 6 sillons (grains stéphanocolpés). Certains grains sont plus particuliers tels que le lychnis qui présente des pores sur toute la surface (grains périporés) ou des pores et des sillons en alternance comme la salicaire (grains hétérocolporés). Mentionnons encore le mélilot qui a 3 sillons associés à 3 pores (grains tricolporés).

Enfin 3 types très particuliers sont rencontrés fréquemment:

-les grains **fenestrés** propres à la plupart des composées (pissenlit, intybe, etc.), sorte de grains à hublots très décoratifs.

-les grains **bi-ailés**, propres aux gymnospermes pin, sapin, comportant 2 ballonnets réunis par une sorte de pont. Ce pollen est pratiquement toujours présent dans nos miels.

-les grains composés en **tétrades** (bruyère) ou en **polyades** (mimosacées).

L'ornementation de l'exine. L'exine présente fréquemment des figures géométriques ou des traits qui permettent généralement une bonne identification. Citons quelques cas typiques:

-exine lisse (bourdaine)

-exine fovéolée (tilleul). Nombreuses petites dépressions.

-exine striée (fruitiers genre prunus). Style empreinte digitale.

-exine ponctuée (campanule). Nombreux petits points noirs.

-exine baculée (gui). Éléments de sculpture plus hauts que larges.

-exine échinulée (verge d'or).Eléments de sculpture pointus.

-exine réticulée (lis,ciste,colza). En réseau ou filet.

8.Observations diverses. Si les caractéristiques générales sont relativement fixes (forme,nombre d'ouvertures) certaines varient un peu suivant les variétés sans empêcher toutefois l'identification.La dimension des grains possède une certaine variabilité jusqu'à 25-30% mais heureusement souvent beaucoup moins. Par ailleurs certaines espèces, peu nombreuses, ont un nombre de pores variable comme l'épilobe en épi (3 ou 4),l'aulne (4, 5 ou 6) et la campanule (3 ou 4).

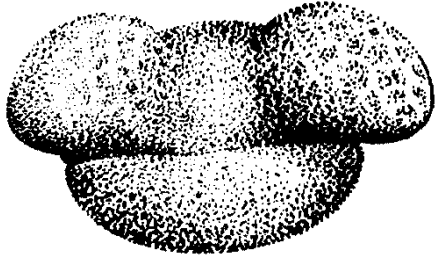
ANNEXE

Tableau des principaux coefficients polliniques. **(en milliers de grains/10grs de Miel).**

- 0,3 - Epilobe en épi (chamerion augustifolium)
- 5 - Labiacées, thym, romarin, luzerne
- 10 - Bruyère, tournesol, acacia, tilleul
- 25 - Troëne, lotier, fruitiers, trèfle incarnat et rouge
- 35 - Vesce faba
- 50 - Houx, ronce, trèfle blanc.
- 75 - Mélilot, sainfoin.
- 150 - Colza.
- 250 - Vipérine vulgaire
- 1000 - Châtaignier
- 5000 - Myosotis.

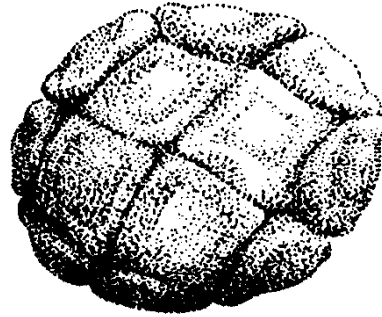
Nota: Pour tous renseignements complémentaires vous pouvez vous adresser à J.Huberson Agent sanitaire & Apiculteur à 38330 Saint Ismier Tél:04.76.52.43.66

Vue de quelques Pollens. (D'après Woodhouse 1935).



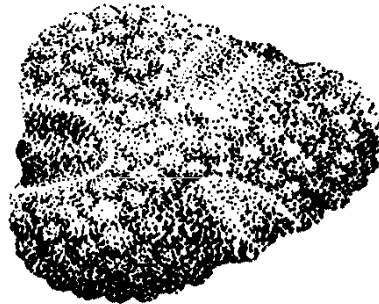
Sapin (abies concolor).

Pollen bi-ailé.

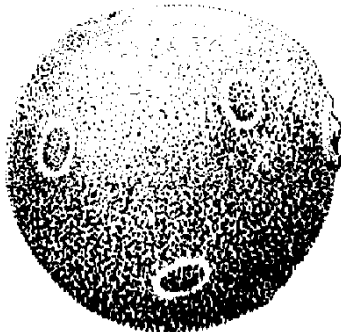


Mimosa (acacia longifolia).

Pollen en polyade.



Houx (ilex bronxensis).



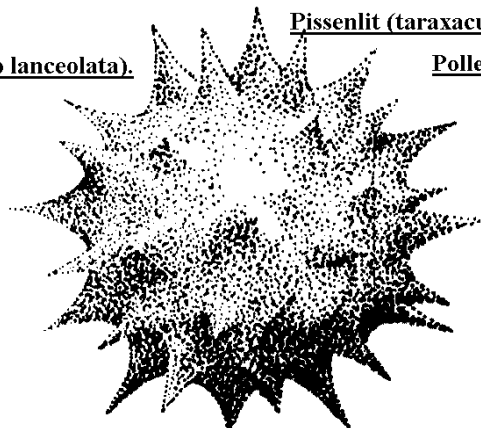
Plantain lancéolé (plantago lanceolata).

Pollen périporé.



Pissenlit (taraxacum officinale).

Pollen fenestré.



Tournesol (helianthus annuus).

