

Etablissement de diagnostic phytoécologique de deux espèces, grâce à l'abeille : *Impatiens glandulifera* et *Centaurea cyanus*

AVANT-PROPOS

Vers un référentiel pollinique pour l'A.O.C. « Miel de sapin des Vosges »...

L'A.O.C. « Miel de Sapin des Vosges » a été créée en 1996. C'est le premier miel de France à bénéficier d'une telle appellation. La Corse a suivi. D'autres Régions de France vont faire progressivement de même. Ces démarches de qualité sont importantes pour l'avenir de l'apiculture française. Le contrôle de ces appellations est indispensable. Certes la spécificité du miel de sapin des Vosges est grande. Mais rien ne ressemble plus à un miel de sapin qu'un autre miel de sapin... Comment faire la différence. Différentes pistes sont explorées. L'analyse pollinique reste un excellent moyen mais il faut disposer d'un référentiel pollinique. Ce travail est en cours au CETAM. C'est un travail difficile qui demande du temps et de la patience. Notre laboratoire a accueilli pour un stage de deux mois une étudiante de l'I.U.T. d'écologie de METZ-THIONVILLE. Durant cette courte période, 2 pollens ont été recherchés systématiquement dans les miels de sapin produit en 1998 : celui du bleuet, *centaurea cyanus*, plante très mellifère mais messicole étant en principe quasiment absente de ces miels, mais quelquefois significativement présente dans des miels de sapin ou de forêt d'autres régions ou pays et celui de la balsamine indienne, *impatiens glandulifera*, plante ripariale invasive originaire de l'Himalaya. Elle est en voie d'extension dans le Massif Vosgien où elle a été naturalisée. Considéré par certains pays comme une menace pour l'environnement, son pollen se retrouve très souvent dans les miels de sapin. C'est, avec d'autres, un des pollens à prendre en compte pour le contrôle de l'appellation. Mais paradoxalement, sa présence massive pourrait peut-être menacer l'appellation dans certains secteurs. L'utilisation de l'abeille comme bioindicateur pour suivre l'extension de certaines plantes très attractives permet facilement de suivre leur extension et leur invasion. Nous vous présentons ici l'essentiel du mémoire qui a été présenté le 24 juin dernier à l'Université de METZ-THIONVILLE.

INTRODUCTION

Le milieu naturel subit de nombreuses pressions et, est modifié par les activités humaines. C'est ainsi que des espèces végétales disparaissent de leur aire de répartition pendant que d'autres apparaissent.

L'analyse pollinique est une méthode qui permet de retrouver l'origine géographique et botanique des miels. Pour cela elle a besoin d'un agent, l'abeille. Cet insecte pollinisateur importe des grains de pollen dans sa production. Pris dans le miel, ces éléments peuvent être étudiés. Ils apportent de grandes précisions sur les espèces visitées par l'abeille, donc sur l'origine du miel et sur la composition de la flore d'une région donnée. Ce grand principe a servi aux deux objectifs proposés au cours de ce stage :

Tout d'abord il sera réalisé une première étude du spectre pollinique du miel de « sapin des Vosges ». Ce produit, avec le miel Corse, possède l'appellation d'origine contrôlée : AOC miel de sapin des Vosges. Or aucune analyse pollinique n'est effectuée sur ces miels, seules les caractéristiques physico-chimiques sont appréciées. Cette étude permettra d'exposer éventuellement une proposition en vue d'un nouveau décret et d'un meilleur contrôle de l'origine du lieu de production.

D'autre part, l'étude testera la fiabilité de l'abeille en tant qu'insecte bioindicateur. La réalisation d'une cartographie représentant la répartition des deux espèces recherchées : la balsamine indienne *Impatiens glandulifera* et le bleuet *Centaurea cyanus*, sur le Massif Vosgien, permettra peut-être de constater leur évolution et de se rendre compte de leurs implantations.

Pour mener à bien ces travaux, il convient de réaliser dans un premier temps l'analyse bibliographique qui rentre compte de l'état d'avancement des recherches puis d'exposer notre démarche et résultats d'analyses.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1- Découverte du végétal :

1.1.1- Caractéristiques du Bleuet :

Bleuet : *Centaurea cyanus*, de la famille des Composées ou Astéracées, est une plante annuelle héliophile (qui ne peut se développer complètement qu'en pleine lumière) et messicole (espèce qui vit dans les cultures de céréales).

Cette plante se caractérise par une longue tige rameuse, portant des feuilles lancéolées. Les fleurs sont de couleurs bleues. Sa période de floraison s'étale du mois de mai au mois de septembre.

Cette espèce messicole est considérée comme adventice et donc éliminée par des méthodes modernes de destruction sur les terres de grandes cultures. C'est pourquoi nous la retrouvons dans les parcelles en culture sur essentiellement les sols limoneux. Elle recherche des milieux recevant en abondance des apports d'engrais notamment azotés et des cultures fréquemment sarclées qui, souvent succèdent aux cultures céréalières au cours de l'assolement triennal. Néanmoins on retrouve son pollen de façon plus ou moins isolé dans beaucoup de miels.

1.1.2- Caractéristiques de la Balsamine indienne.

Balsamine indienne ou géante : *Impatiens glandulifera*

« Impatiens » signifie en latin « fruits mûrs s'ouvrant brusquement dès qu'on les touche ». Cette plante annuelle est originaire de l'Himalaya, et elle a été naturalisée dans diverses parties de l'Europe (Alsace - Vosges, Auvergne, Pyrénées). Elle a été introduite en France comme plante ornementale probablement vers 1839 selon Robert GERARD.

Elle se reconnaît par sa tige robuste, charnue et translucide. Ses feuilles sont opposées, lancéolées et dentées. Ses fleurs sont pendantes, longues de 2 à 5 centimètres et de couleurs pourpres, parfois roses ou blanches. Sa période de floraison s'étale de juillet en octobre.

Pour se développer, cette espèce a besoin de beaucoup d'humidité, d'ombre, d'un sol riche en éléments nutritifs avec un pH neutre à légèrement acide.

Son biotope se limite aux berges, graviers de rivières et canaux, fossés, talus humides, lisières forestières.

Elle peut devenir très envahissante. Le mécanisme caractéristique lui permet une meilleure dissémination efficace de ses graines. Un simple effleurement, une goutte de pluie, suffit pour exploser ses gousses et projeter au loin ses graines. Quand elles tombent dans une eau courante, elles flottent et sont emportées à distance pour aller fonder de nouvelles colonies. Si le sol lui convient, elle y prospère. Ainsi une seule plante peut produire dans sa vie un millier de fleurs qui donneront quelque deux mille graines.

La Balsamine indienne ou géante a été classée en tant qu'espèces introduites et naturalisées dont l'expansion représente une menace pour la flore et la végétation indigène par l'Institut floristique belge-luxembourgeois.

On peut s'interroger sur les causes de la modification de la flore :

- L'abandon des pratiques agro-pastorales traditionnelles a bouleversé les équilibres installés. Sans entretien les espaces permettent l'installation de nouvelles espèces.

La balsamine pourrait être limitée si des travaux d'entretien étaient pratiqués.

- La pollution des cours d'eau peut entraîner la disparition des plantes sensibles et l'extension d'espèces résistantes. Les pollutions atmosphériques comportent des risques de modifications profondes de la flore, de la qualité des eaux.

- La balsamine s'est certainement étendue à cause d'un certain nombre d'actions ponctuelles comme : - une introduction et une naturalisation réalisées par l'Homme à partir de graines d'origine étrangère (Himalaya), permettant l'installation et le développement explosif de plantes non indigènes et qui réduit toute flore existante.

En effet certaines personnes récoltent des plants ou des graines, intéressées par l'espèce pour la beauté de ses fleurs, pour les propriétés mellifères qu'elles apportent, pour des collectionneurs, par des adeptes de la médecine par les plantes.

Certains apiculteurs cultivent de petits groupements de balsamine, car cette fleur a deux avantages dans ce domaine. Les ruchers proches des importantes colonies de balsamines ne nécessitent pas l'apport de nourriture en fin de saison. La remarquable longévité de floraison est gratifiante puisque ses qualités mellifères et polliniques sont réellement avantageuses.

L'abeille recherche et apprécie ces fleurs pour leur abondant nectar de très bonne qualité. Par leur butinage, ces insectes participent à la fécondation et donc à la reproduction de ces plantes envahissantes.

Le miel de balsamine peut exister. Monsieur BOLDRINI a produit un miel caractéristique. Il a constaté que ce miel se cristallise rapidement et qu'il rappelle une saveur exotique appréciée par les consommateurs.

1.2- Le comportement de l'abeille vis à vis de la flore

L'abeille ne butine efficacement que dans un rayon de 3 à 4 kilomètres donc l'analyse pollinique contient des renseignements récoltés dans cette aire de travail.

Il est nécessaire de donner quelques explications sur le comportement de l'abeille pendant le butinage.

_Chez les insectes, l'odorat est perçu par les antennes. Ce système est très développé. C'est sans aucun doute, le sens qui intervient en priorité dans la détection de la ressource. Ainsi l'abeille après avoir trouvé une source appropriée, revient à la ruche en rapportant avec elle son odeur et va transmettre les coordonnées du site à d'autres abeilles.

_La vue est aussi importante mais les abeilles ne perçoivent que quatre couleurs : UV, bleu, vert-bleu, et jaune.

C'est la couleur qui permet une reconnaissance de la ressource mais elle est associée à l'effet de la forme de la fleur.

Et le plus important pour l'abeille est que la plante fournisse du pollen ou du nectar de meilleure qualité. C'est lorsqu'elles sont satisfaites qu'elles reviennent visiter la fleur. L'abeille, au plan individuel, reste fidèle à une espèce florale ou à un type de fleur parce qu'elle en a acquis la manipulation et que son travail s'en trouve facilité. Malgré sa fidélité à une plante, l'abeille est capable d'abandonner très rapidement une espèce végétale si celle-ci devient moins intéressante ; si la plante ne permet pas une récolte suffisante en comparaison à une autre espèce.

1.3-Origine des produits de l'abeille :

1.3.1- L'origine du miel :

Le miel tient son origine à la fois du végétal et de l'animal.

Il a une valeur énergétique très importante et indispensable à la survie de la ruche.

Ainsi se sont les abeilles appelées butineuses qui sont les ouvrières et qui assurent les récoltes en nectar, miellat ou pollen. Par la suite ces éléments subiront des transformations dans le jabot des insectes jusqu'à l'obtention de miel, leur nourriture principale pour la saison hivernale.

Cette transformation se réalise par trophallaxie où les échanges alimentaires d'ouvrière à ouvrière sont les éléments moteurs.

Tout d'abord, l'abeille récolte un produit d'origine végétal (nectar, miellat) et le transforme en miel à l'aide d'enzymes digestives avec l'élimination d'une grande partie de l'eau du produit originel. Le nectar ou le miellat se transforme ainsi par des réactions physico-chimiques et enzymatiques. A maturité, le miel obtenu se compose en grande partie

d'hydrates de carbone (70-80 % de la substance sèche). C'est dans cette partie que se retrouvent les hexoses. Le miel contient encore du saccharose et un certain nombre d'oligosaccharides.

1.3.2- Origine du pollen dans les miels :

La présence de grains de pollen dans le miel en plus ou moins grande quantité est un phénomène remarquablement constant. On ne connaît pratiquement pas de miel naturel dépourvu de pollen.

Lorsque l'abeille récolte le nectar des fleurs, elle entre plus ou moins en contact, non seulement avec les nectaires (organe producteur de nectar), mais aussi avec la plupart des pièces florales, et notamment les anthères (organe producteur de pollen). Selon la morphologie des fleurs visitées ce contact peut intéresser différentes parties du corps de la butineuse, mais il aboutit régulièrement à marquer les gouttelettes de nectar par quelques grains de pollen de la plante visitée. Il est par ailleurs certain qu'avant même le passage de l'abeille, le pollen peut commencer à tomber mûr sur le nectar lorsque la morphologie des fleurs le permet. Il s'agit là d'un véritable marquage car les grains associés au nectar vont le suivre dans le jabot de la butineuse, dans les cellules du rayon puis dans le miel extrait.

Il existe toutefois d'autres voies de pénétration. Le pollen abonde à l'intérieur de la ruche, surtout sous forme de provisions stockées dans les cellules à proximité du couvain. Il est également présent dans la fourrure des abeilles, sur leurs pièces buccales et sur leurs pattes. Il a été évoqué aussi une possibilité d'une pollution par les pollens atmosphériques pénétrant dans la ruche par un trou d'aération. Maurizio (1952) a étudié cette éventualité, mais ses conclusions sont formelles. Une telle pollution ne peut être qu'accidentelle et beaucoup trop limitée pour jouer un rôle.

1.3.3- Origine du miel de miellat :

Notre étude portera sur l'analyse du miel de miellat de sapin communément appelé "miel de sapin": ce qui en fait un abus de langage.

Le miellat a une origine toute particulière car il provient des gymnospermes (résineux). Lorsqu'une abeille récolte du miellat, elle récolte une substance qui a déjà subi une première transformation. Le miellat trouve son origine dans le phloème, tissu végétal constitué de tubes criblés. Ces derniers sont chargés de transporter la sève élaborée, contenant notamment les éléments de la photosynthèse, des feuilles vers les parties utilisatrices de la plante (fleurs, fruits, racines...).

Cette sève est chargée en acides aminés et en saccharose. Certains insectes piqueurs communément appelés pucerons (homoptères) se nourrissent de cette sève. Celle-ci transite dans leur tube digestif. Les pucerons en assimilent une partie et transforment l'autre en y ajoutant leur propre sécrétion. La partie non assimilée sera rejetée par l'orifice anal de ces insectes : ce produit rejeté est appelé **miellat**. Il est très riche en sucres. Le miellat ainsi sécrété par les pucerons s'écoule en une substance épaisse et sirupeuse sur les arbres. Ainsi il se charge en éléments divers rencontrés sur leur passage. Ces éléments divers sont appelés éléments figurés. Ils sont en quelque sorte capturés par le miellat. Spores, algues, filaments mycéliens, particules végétales diverses, suies : tous ces éléments sont récoltés par les abeilles en même temps que le miellat.

Dès 1911, FEHLMANN avait noté dans le culot de centrifugation des miels de miellat la présence d'algues vertes microscopiques, de spores de champignons et notamment de fumagines (ce sont des champignons qui profitent du milieu nutritif du miellat pour ce développer, leur mycélium formant un revêtement noir appelé fumagine.), ainsi que des particules de suie. Ces observations furent reprises par différents auteurs

(GONTARSKI,1951 ;MAURIZIO,1939,1946,1959 ; ZANDER,1937,1941,1949) qui mirent en évidence la présence de fragments de mycélium et es grains de pollen de plantes anémophiles (Graminées).

Les abeilles récoltent alors le miellat enrichi, déposé sur les surfaces végétales, pour en faire du miel.

Or un problème se pose à elles, car la composition des miellats s'avère « toxique ». Ces produits ne contiennent pas de protéines, indispensables à l'insecte. Leur charge en minéraux et en éléments indigestes provoque chez elles des dysenteries mortelles. Les abeilles ont donc besoin d'aller butiner d'autres plantes telles que les angiospermes pour récoltés du pollen, source de lipides et protéine. C'est ainsi que, dans le produit final, des éléments polliniques se retrouvent.

Le pollen, dans les échantillons de miellat, peut être de deux types :

- le pollen aérophile qui est le pollen véhiculé par l'air et fixé par le miellat
- et le pollen des fleurs visitées par les abeilles.

Mais pour notre analyse, il ne pourra pas y avoir d'ambiguïté car les deux pollens recherchés sont très collants et très peu aérophile. C'est aussi pour cela que l'on pourra être sûr que les taux de pollens retrouvés dans nos échantillons seront bien ceux que les abeilles transportent.

1.4- Connaissances préalables pour l'analyse :

1.4.1- Principe et historique de l'analyse pollinique :

L'analyse pollinique est une technique de laboratoire pour l'étude des miels. Elle repose sur le fait que tous les miels naturels contiennent de petites quantités de pollen. Son objectif essentiel est de contribuer à notre connaissance des origines du miel.

Le plus ancien travail concernant l'analyse pollinique des miels semble être celui de PFISTER (1895). C'est du moins le premier mémoire relativement complet sur la question, puisqu'il comporte non seulement l'exposé d'une technique opératoire, mais aussi des résultats qui peuvent être considérés comme remarquables pour l'époque où ils ont été obtenus. Si Pfister n'a pas découvert lui-même la présence de grains de pollen dans le miel, on lui doit, par contre, la première tentative sérieuse pour leur identification à des fins théoriques et pratiques. En 1892, MORPURGO avait suggéré de mesurer la quantité de pollen contenue dans les miels dans le but de reconnaître les produits naturels de leurs imitations ; il n'était toutefois pas allé plus loin.

Après Pfister, de nombreux chercheurs se sont attachés à perfectionner et à développer l'analyse pollinique des miels. Ils ont amélioré considérablement les techniques et, par ailleurs, ils ont bénéficié de tous les progrès de la palynologie, ce qui leur a permis d'affiner les bases de leur travail.

L'analyse pollinique permet de rechercher puis d'identifier certains de ces éléments. Elle permet de remonter à la source c'est à dire aux plantes et à la région du monde qui ont produit ce miel. Elle est le complément indispensable de toute analyse physico-chimique d'un miel.

En ce qui concerne **l'analyse pollinique des miellats de sapin**, nous savons que le miellat est constitué de substances sucrées excrétées par certains pucerons sur ces résineux. Le sapin, par lui-même, ne peut pas être considéré comme une plante mellifère puisqu'il ne possède pas de nectaires et qui n'émet pas directement de substances sucrées. Mais le miellat pourrait contenir du pollen à la seule condition que la période de miellée corresponde à la

période de production de pollen ; or ce n'est jamais le cas. La miellée débute en juin et la pollinisation du sapin se termine début mai. Ainsi l'origine des miels de miellats de sapin ne peut pas être certifiée par la présence de marquage pollinique.

1.4.2- Problèmes posés par l'analyse pollinique :

A ses origines l'analyse pollinique a été considérée avant tout comme un moyen de reconnaître l'origine géographique des miels. Ce n'est que plus tardivement qu'on a compris qu'il existe un rapport entre les pollens trouvés dans un miel et l'origine botanique de celui-ci.

L'analyse pollinique devient alors une méthode d'étude des miels beaucoup plus générale et susceptible d'applications variées dans un domaine du contrôle des appellations florales aussi bien que dans celui de la recherche pure : Comportement des butineuses, composition des miels, flore mellifère, phytogéographie. Au fur et à mesure des recherches, on s'est aperçu que leur interprétation correcte posait un certain nombre de problèmes.

En effet il est important de connaître l'origine même du pollen contenu dans le miel ; il convient de savoir quelles sont les voies qu'il suit pour y parvenir. Nous devons envisager toutes les causes de modification des spectres polliniques.

1.4.1-1. Qu'est ce l'objectif AOC ?

Créer un référentiel pollinique afin de donner une appellation d'origine contrôlée (AOC) au miel de Sapin des Vosges :

L'AOC, appellation d'origine contrôlée, sert de droit à la commercialisation et à l'appellation d'un produit. Cela signifie que si il se présente au concours AOC, il doit présenter des caractéristiques reconnues par une législation.

Le décret de l'AOC miel de sapin des Vosges a été mis à jours le 30 juillet 1996. Il présente la liste des cantons acceptés à concourir, les conditions de récolte, les caractéristiques physico-chimiques attendues. Mais aussi les limites de l'utilisation de cette appellation ainsi que les contrôles qui peuvent être effectués après l'acceptation de l'AOC. Nous pouvons constater qu'aucune analyse pollinique est prévue. Elle serait peut-être utile à un meilleur contrôle de l'origine du lieu de production et permettrait éventuellement d'éviter des fraudes abusives.

MATERIELS ET METHODES

2.1- Présentation :

L'analyse pollinique réalisée à travers ce stage utilise une technique consistant à identifier les grains de pollen en les comparant à des pollens connus qui servent de références. Il a déjà été effectué des préparations à partir du pollen de la plante servant de référence.

Nous nous attarderons donc sur la méthode de préparation des échantillons de miel.

La méthode d'analyse pollinique est la même pour les deux objectifs fixés : Celui de la réalisation du spectre pollinique de la balsamine et du bleuet pour la détermination de l'AOC mais aussi pour la réalisation de la cartographie.

2.2- Les échantillons de miels utilisés pour l'analyse

Les échantillons arrivant au laboratoire proviennent de la région du Massif Vosgien. Ils ont été prélevés par les apiculteurs en 1998. Le laboratoire avait réalisé les analyses physico-chimiques et polliniques. J'ai donc repris les lames déjà étudiées afin d'y numérotiser la présence des pollens de la balsamine et du bleuet soit soixante-seize échantillons de miels de sapin des Vosges ont été analysés. Pour compléter l'étude de la répartition de ces deux pollens nous avons repris douze échantillons caractérisés comme miels de forêt.

A ceci a été ajouté vingt-sept miels qui ont concourus pour l'AOC. Ces derniers ont servi aux deux objectifs. Ils ont permis d'étoffer les données pour la réalisation de la cartographie mais aussi certains de ces miels ont reçus l'appellation AOC en 1998. Ainsi j'ai pu analyser treize acceptés en AOC et quatorze qui ont été refusés. Ainsi 115 miels ont servi à étudier la répartition du bleuet et de la balsamine mais seulement 27 étaient concernés par l'AOC.

Les deux objectifs ont nécessité la connaissance des protocoles suivants :

2.3- Matériel et méthode

2.3.1- Matériel et produits :

Afin de pouvoir analyser le pollen contenu dans ce miel, le matériel suivant sera mis à notre disposition:

<u>Gros matériels</u>	<u>Produits</u>
*1 platine chauffante ou 1 petite étuve	*eau distillée
*microscope optique	*solution étendue d'acide sulfurique
*balance analytique (précision à 0.1 g)	*vernis
*agitateur magnétique	*gélatine glycinée
*centrifugeuse	

<u>Petits matériels</u>
*tubes à centrifuger de 30 mL
*lame porte-objet
*lamelle couvre-objet
*pipette Pasteur
*bêcher
*petit matériel à dissection (aiguilles, ciseaux...)
*étiquettes
*boîtes de rangement pour lames

2.3.2-Méthode

- 10 g de miel bien homogénéisés sont pesés à 0.1 g près dans un bêcher puis dilués dans 20 mL d'eau distillée. L'eau peut éventuellement avoir été chauffée à 45°C (pas plus) pour faciliter la dilution du miel. Le mélange est agité magnétiquement.
- Après la dissolution complète, l'échantillon est centrifugé pendant 10 minutes à 3000 tours / min.

- Le culot de centrifugation sera alors observé et l'on pourra noter éventuellement son importance de manière qualitative (très faible, faible, assez faible, moyen, important, très important)
- Le liquide surnageant est rejeté car les sucres du miel restants cristalliseraient sur la lame et empêcheraient la bonne lecture de celle-ci.
- Le tube de centrifugation est donc rempli d'eau distillée et centrifugé à nouveau 5 min à 3000 tours / min. La sédimentation est plus rapide en raison de la moins grande viscosité de l'eau distillée
- Le culot peut-être prélevé et déposé au milieu d'une lame porte-objet bien propre.
- La lame est mise à sécher dans une étuve à 35°C
- Quand la préparation est sèche, elle est montée entre lame et lamelle avec de la gélatine et luttée au vernis. La lame est enfin étiquetée avec les références du miel et la date d'analyse.

2.4- La lecture des préparations

Les deux pollens seront analysés en même temps. C'est à dire qu'à la lecture d'une lame nous comptons les pollens du bleuet et de la balsamine présents.

2.4.1- Matériels

Le matériel utilisé est un microscope optique, instrument de base de l'analyse pollinique.

Ce microscope comprend 4 objectifs: X4, X10, X40, X100 à immersion.

L'objectif à immersion est indispensable pour observer les détails très fins de la paroi du grain de pollen.

Pour identifier les 2 pollens en question, de la Balsamine et du Bleuet, un grossissement de X400 suffit.

Nous pouvons aussi utiliser le microscope équipé d'un adaptateur spécifique pour réaliser des photographies de nos préparations.

2.4.2- Méthode

❑ Pour la reconnaissance:

Nous travaillerons sur l'identification de deux pollens qui sont facilement reconnaissables.

La Balsamine indienne:

(voir photo)

Le pollen se reconnaît facilement, car toujours de forme ovale il présente une sorte de coupure de la paroi à ses 4 extrémités lorsqu'il est observé en coupe longitudinale, souvent en vue polaire.

Le Bleuet:

Son pollen se reconnaît d'abord par sa forme ovale dans tous les cas. Il présente des excroissances prononcées comme le montre la photo ci-dessous.

❑ Pour la numération:

La seconde partie de l'analyse consiste à quantifier les différents pollens dans tous les miels analysés.

Il est nécessaire de procéder d'abord à une prospection de l'ensemble de la lame d'observation afin de constater ou non la présence des pollens recherchés.

Si une présence est constatée, nous réalisons une numération de l'importance des pollens.

Afin de réaliser une estimation statistique satisfaisante, il sera nécessaire de compter au moins 1200 grains de pollen. Plus le comptage sera élevé et plus il sera représentatif.

Il est évident que la précision du comptage nécessite une bonne connaissance des deux types de pollens.

Lorsque nous avons trouvé des résultats montrant une absence de grains de pollen de balsamine, nous avons recommencé deux études polliniques en reprenant les échantillons de miels.

*Enfin l'échantillon sera classé par rapport à la richesse de pollen de Balsamine et de Bleuet.

Ainsi si le pollen est:

>à 45% = pollen dominant

entre 16 et 45% = pollen d'accompagnement

entre 3 et 16% = pollen minoritaire

<à 3% = pollen très minoritaire ou isolé

□ Pour l'analyse:

—► **Objectif cartographie :**

Il est nécessaire de retrouver l'origine géographique des miels étudiés.

Pour cela les communes ont été retrouvées à partir de cartes IGN au 1/25 000. Mais je me suis aperçu que j'obtenais parfois des résultats contradictoires pour une même localisation. J'ai donc voulu avoir plus de précisions. Alors tous les apiculteurs concernés par l'analyse ont été appelés afin d'obtenir la localisation précise de l'emplacement de leur rucher en 1998. A partir de ces renseignements l'analyse ne peut qu'en être plus précise et fiable.

L'entretien téléphonique avec ces personnes m'a permis de me rendre compte de l'ampleur actuelle de l'implantation de la balsamine. Grâce à la connaissance de certaines personnes, j'ai pu avoir des renseignements sur la localisation de la balsamine observée sur le terrain. D'autre part, j'ai eu connaissance de certaines pratiques apicoles. Ainsi ayant des propriétés intéressantes pour l'apiculteur, la balsamine a été introduite volontairement près de certains ruchers. D'autres producteurs ont réalisé des mélanges de miels de différents endroits, donc ces derniers ne peuvent pas être pris en considération.

—► **Objectif AOC :**

Nous pouvons aussi réaliser une comparaison entre les miels acceptés et ceux refusés pour l'AOC.

Résultats et Discussions

3.1- Pour l'objectif AOC :

Nous avons deux types de résultats. Nous obtenons donc une observation de l'importance de la balsamine indienne et du bleuet sur le massif vosgien ou du moins dans les cantons concernés.

3.1.1- Résultats concernant le bleuet :

Le pollen du bleuet a été très rarement retrouvé dans les analyses. (**tableau 1**) En effet, il existe seulement huit échantillons sur vingt-sept qui prouvent la présence de cette espèce messicole, ce qui représente 7.34 %.

Tableau 1 : Quantité de pollen de bleuet compté dans les préparations (unités)

Numéro d'échantillon	127	133	356	396	469	624	629	680
Quantité de Bleuet trouvé (unité)	1	2	2	2	1	1	2	2

Sur ces huit échantillons, deux proviennent de prélèvements AOC (127, 133). Le bleuet est quasi inexistant dans les échantillons de miels AOC. Ce résultat étant très faible nous pourrions penser que ce pollen n'est pas utile à retenir. Ce pollen sera classé dans les pollens très minoritaires et rarement présents. Mais il faut aussi ajouter que les échantillons provenaient de régions à grandes sapinières et souvent éloignées de zones de cultures. C'est sans doute une raison qui a joué en défaveur du bleuet. D'autre part nous n'avons pas de données concernant les espaces de faible altitude et qui représentent des cantons admissibles à l'AOC comme les cantons de Charmes, Baccarat, Sarrebourg, Mirecourt, Vittel ou Monthureux sur Saône.

3.1.2-Résultats concernant la balsamine :

La balsamine indienne a été retrouvée dans soixante des cent neuf échantillons analysés. Cette espèce est donc présente dans 55% des cas. Ainsi ce pollen est représentatif et il est important de le prendre en considération dans l'analyse pollinique des miels concourant pour l'Appellation d'Origine Contrôlée.

D'autre part, constatant une importante progression de cette plante sur le massif vosgien, ce pollen sera de plus en plus présent dans les prochains miels.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de comparer les résultats des analyses effectuées sur les vingt-sept échantillons présentés au concours AOC. Les résultats sont indiqués dans les **tableaux 2 et 3**:

Tableau 2 : résultats de la numération des échantillons acceptés pour l'AOC – quantité de pollen de balsamine (unité ou pourcentage)

Numéro d'échantillon	Communes	Dép	Résultat.1 Quantité de balsamine trouvée	Rés.2	Rés.3	Moyenne

99108	Viménil	88	0	0	0	0
99109	La Bourgonce	88	0		0	0
99110	Ménil sur Belvitte	88	0.32%			0.32%
99111	Raon sur Plaine	88	0	0	0	0
99112	La Salle	88	1			1
99113	Taintrux	88	0.16%			0.16%
99114	Tendon	88	5			5
99115	Viménil	88	0	0	0	0
99116	La Bourgonce	88	0	3	3	2
99117	Col du Ht Jacques	88	1			1
99118	Dabo	57	1			1
99119	Hurbache	88	4			4
99120	Abreschwiller	88	0	0	0	0
99121	Bains les bains	88	0	1	1	0.67

Tableau 3 : résultats de la numération des échantillons refusés pour l'AOC – quantité de pollen de balsamine (unité ou pourcentage)

Numéro d'échantillon	Commune	Dep.	Rés.1	Rés.2	Rés.3	Moyenne
99122	Saint-Quirin	88	0	1	1	0.67
99123	Nayemont les fosses	88	6%			6%
99124	Le Roulier	88	0	0	0	0
99125	St-Benoît la Chipotte	88	1			1
99126	Col du Donon	88	3			3
99127	Col du Peutet	88	0	0	0	0
99128	Etival-Clairefontaine	888	4			4
99129	Gérarmer	88	1			1
99130	Lusse	88	0.37%			0.37%
99131	Rupt sur Moselle	88	1			1
99132	St Etienne les Remiremont	88	1.85%			1.85%
99133	Charmois devant Bruyères	88	0	0	0	0
99134	Saulcy sur Meurthe	88	3.81%			3.81%

Nous constatons que les échantillons refusés pour l'AOC contiennent plus de pollen de balsamine que ceux qui ont été acceptés. Nous observons même trois échantillons présentant un pourcentage supérieur à 1% dans le cas des refus, alors qu'il en existe aucun dans les

acceptés. **Le pollen de la balsamine aurait tendance à dégrader la qualité du miel ou à changer quelque une de ses caractéristiques.** Nous savons qu'une grande quantité de pollen dans un miel change ses caractéristiques : sa conductivité électrique, son pH, sa colorimétrie.

3.2- Pour l'objectif cartographie :

3.2.1- Résultats concernant le bleuet :

Pour cela nous avons repris les résultats et les avons placés sur une carte du relief reprenant le massif vosgien.

a- Réalisation de la cartographie :

Seulement six points ont pu être représentés sur la carte du massif vosgien du fait de la très faible présence du bleuet dans les échantillons proposés.

b- Analyse de la carte :

Par la localisation des points indiqués, nous constatons que le bleuet ne se retrouve souvent en plaine. Les échantillons de miels ont été prélevés dans des zones de faible altitude entre 300 et 400 mètres. **Nous constatons que l'abeille permet de retrouver les caractéristiques géographiques de la plante ; à savoir que le bleuet se localise dans les zones de cultures notamment de blé.**

c- Discussion :

Nous ne pouvons pas prétendre conclure à l'importance du bleuet dans cette zone. Il serait nécessaire de trouver des échantillons de miel dans les zones de plaine.

3.2.2- Résultats concernant la balsamine :

a- Réalisation de la cartographie :

L'importance de la présence de la balsamine est déterminée par quatre classes distinguées.

Ainsi La classe 1 contient > de 1% de présence
La classe 2 contient < 0.1 et 1%>
La classe 3 montre une présence ponctuelle
La classe 4 ne contient aucune présence de balsamine

Un calque du système hydrographique a été superposé au relief, car il est très important et déterminant pour notre analyse.

b- Analyse de la carte :

On remarque tout d'abord que la balsamine est la plus présente aux abords des cours d'eau. Ceci confirme effectivement que cette plante a besoin d'un milieu humide pour se développer. Nous devons réaliser l'interprétation en analysant chaque vallée. En effet l'abeille butineuse ne change pas de vallée pour récolter les substances sucrées recherchées.

- **La vallée la plus contaminée est celle de la Meurthe.(tableau 4)**

Tableau 4 : La répartition de la balsamine dans la vallée de la Meurthe .

Vallée de la Meurthe

Bras principal:Meurthe		Bras: La Mortagne	
Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine comptée (unité ou pourcentage)	Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine comptée (unité ou pourcentage)
443	3	417	0
438	0,80%	431	2
128	4	125	1
130	0,37%	431	2
428	2	113	0.16%
426	2	418	2
433	0.16%	416	0
427	7	464	0
109	0	421	1
123	6%	295	0
119	4	Bras:La Vezouve	
434	0,68%	122	0
415	0,67%	601	4
440	17,60%	624	0
460	1	603	3,70%
609	6,40%	396	0
409	0		

Nous y retrouvons des valeurs élevées en présence de balsamine avec le maximum observé à 17.6%. En effet sur trente points nous en avons :

- 6 de classe 1 (20.7%),
- 7 de classe 2 (24.1%),
- 11 de classe 3 (37.9%)et
- 5 de classe 4 (17.3%).

Ainsi 24 points (82.76%) sont positifs. **Cet important résultat prouve l'ampleur et la densité importante de balsamine dans cette grande vallée.**

De plus en observant la répartition de l'espèce sur la carte, nous nous apercevons que le bras principal –la rivière la Meurthe - est le plus encombré. Depuis sa source et pendant les 60 premiers kilomètres nous retrouvons la balsamine avec des valeurs élevées.

Par contre le bras de la Mortagne n'est apparemment que peu envahi par cette plante. Seuls les points 431-125-418 montrent une faible présence.

Sur le bras de la Vezouze nous possédons peu de données. Les points 601et 603 indiquent une existence de la balsamine à des teneurs non négligeables (-3.7%). Etant le seul point d'observation nous ne pouvons donc pas conclure à l'importance de la balsamine dans cet affluent de la Meurthe.

- La vallée de la Moselle (tableau 5):

Tableau 5 : Répartition de la balsamine dans la vallée de la Moselle.

Vallée de la Moselle			
Bras principal :Moselle		Bras:La Vologne	
Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine	Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine

	comptée (unité ou pourcentage)		comptée (unité ou pourcentage)
631	0	471	0
372	0	432	4
123	0	114	5
437	2	439	0,70%
634	0		
115	0		
423	0		
108	0		
436	0		
426	2		
132	1.85%		
462	1,80%		
647	0,46%		

Elle concentre en son bras principal deux points de classe 1 avec 1.85% et 1.8% de présence dans les échantillons 132 et 462. Le point 647 à Neuwiller sur Moselle compte 0.46%. Les valeurs sur les quelques affluents de la Moselle, comme le Durbion, Le Cleurie, la Moselotte, présente aucune trace de balsamine.

Seule la Vologne semble connaître la plante avec trois valeurs positives dont deux constatées près de sa confluence avec la Moselle.

Sur quatorze observations 6 présentent une valeur positive soit 42.8%. **La vallée de la Moselle connaît une présence de balsamine confirmée.**

-La vallée de la Zorn (tableau 6) :

Tableau 6 : : La répartition de la balsamine dans la vallée de la Zorn.

Vallée de la Zorn	
Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine comptée (unité)
356	3
294	4
329	4
590	0
347	0
290	0
276	0
118	1
353	3
288	1

Les observations que nous avons sur - 17 - lée nous prouvent l'existence de la Balsamine en son sein. En effet sur dix échant en avons 6 de positif (60%) qui sont d'ailleurs tous de classe 3. **Ceci indique que la balsamine est présente mais en quantité faible.**

-La vallée de la Sarre (tableau 7):

Tableau 7: La répartition de la balsamine dans la vallée de la Sarre .

Vallée de la Sarre	
Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine comptée (unité)
348	0
510	0
387	0
346	0
376	0

Même si la Sarre est reliée par le canal Rhin – Marne, nous n'avons pas observé de présence de balsamine dans cette vallée. N'ayant que des informations sur l'état aux sources de la Sarre, il nous manque des données sur l'aval de la rivière.

-Sur la vallée de la « Combeauté », (tableau 8)

Tableau 8 : La répartition de la balsamine dans la vallée de la Combeauté .

Vallée de la Combeauté	
Numéro d'échantillon	Quantité de Balsamine comptée (unité)
127	0
425	2
468	0
121	1
465	1

Nous observons trois points de classe 3, mais le manque de donnée ne nous permet pas de rendre une analyse réelle. **Une simple présence est constatée dans cette vallée.**

c- Hypothèses sur la propagation de la balsamine.

-La vallée de la Zorn :

D'après la Flore et des données de terrain, la balsamine indienne est présente abondamment sur tout le versant alsacien. Et sachant que la Zorn et en communication avec le bassin du Rhin par le canal Rhin-Marne reliant la Sarre au Zorn. De ce fait cette voie de communication a probablement participé à la contamination de la vallée. Ne pouvant pas remonter seules les cours d'eau, les graines ont pu être transportées par des oiseaux, par des navigations et autres activités de transport ou humaines.

-Vallée de la Sarre :

La Sarre ne connaît aucune présence de balsamine à ses sources. Ainsi les contaminations de la Zorn n'ont pas encore atteint certaines parties de la Sarre malgré leurs communications directes. On peut donc penser que la contamination du Zorn est très récente et n'a donc pas atteint la vallée voisine.

-Vallée de la Meurthe :

Les valeurs enregistrées sont plus fortes que dans les autres vallées. Ces renseignements prouvant une présence plus importante de la balsamine dans cette vallée nous permettent de penser que la contamination est plus ancienne. Seule la Mortagne semble encore protégée, mais elle risque d'être atteinte rapidement puisque déjà à la source du ruisseau de la Belvitte et du Monseigneur la balsamine a été observée. La contamination des secteurs préservés jusqu'à lors est peut-être due à la proximité de la Meurthe fortement envahie. La contamination des différents bras a pu se réaliser par des modes de transfert par des mammifères susceptibles de véhiculer des graines. La forte présence de la balsamine indienne dans la vallée de la Meurthe est due sans aucun doute aussi à la présence de l'Homme qui a réalisé des implantations privées et qui donc a participé à la dissémination de cette espèce.

Mais surtout la proximité du versant alsacien a sûrement permis la contamination de la Meurthe à sa source. En effet nous avons recensé des points vers des cols importants et part ce fait il existe qu'une petite dizaine de kilomètres entre les sources vosgiennes et la balsamine installée en Alsace.

-Vallée de la Moselle :

Cette vallée proche de la Vallée de la Meurthe est la deuxième plus atteinte par le constat des valeurs élevées dans le bras principal. La Vologne serait l'affluent le plus contaminé de la vallée. Il prend sa source à trois kilomètres de celle de la Meurthe, donc une contamination a très bien pu se réaliser par une propagation accidentelle. Celle-ci est peut-être due aux déplacements d'animaux et de l'Homme.

Nous aurions tendance à penser que les autres affluents sont encore préservés mais nous manquons de données sur la Moselotte, la Cleurie.

d- Discussions :

Nous ne pouvons pas resserrer les mailles de l'étude car les échantillons de miels qui ont permis de réaliser l'analyse sont envoyés par des particuliers. Il serait intéressant de

rechercher des apiculteurs susceptibles de fournir des échantillons de miel pour les zones non exploitées et qui seraient intéressantes à connaître.

Nous manquons de données dans le secteur de Gérardmer, de Sarrebourg, sur les cours d'eau de la Moselotte, de l'amont de la Moselle, à la source de la Vologne.

L'étude se montre intéressante et représentative parce que le choix de la Balsamine Indienne se révèle être adapté.

Pour retrouver la répartition d'une espèce végétale par l'intermédiaire de l'abeille, il faut donc :

- Une plante très mellifère donc très visitée par l'abeille
- Une plante caractéristique d'un milieu
- Une plante dont les possibilités de fuite de pollen soit relativement contrôlable. Donc qui ne se disperse que peu par le vent.

CONCLUSIONS

Cette étude a permis d'optimiser la méthode d'analyse pollinique avec l'objectif de réaliser le spectre pollinique précis du miel de sapin des Vosges. Ce travail donne une première idée sur les quantités de balsamine et de bleuet retrouvées dans ces produits. Nous savons désormais que la balsamine indienne est une espèce dont l'expansion est à surveillée. Elle risque de se retrouver en fortes proportions dans les prochaines productions de miels. Le pollen de bleuet, lui, reste très minoritaire ; il se rencontre que dans des miels récoltés en plaine. D'autres conclusions sont difficiles à donner car nous aurions besoin de renseignements sur la répartition d'autres espèces végétales. D plus le travail réalisé est l'un des premiers. L'ensemble de l'étude durera cinq années. Il sera étudié l'importance d'autres pollens dans les miels tels que celui du chataîgnier, de la bruyère callune, de la ronce, des trèfles.

D'autre part cette étude a permis de mettre en évidence l'intérêt de l'abeille et son pouvoir de prospection pour la réalisation d'une cartographie. En effet nous avons pu retrouver les milieux contaminés par la balsamine grâce au bioindicateur qu'est cet insecte. L'abeille a été efficace et a permis de rendre une représentation relativement précise de l'importance de la balsamine sur le massif vosgien. Cette dernière se rencontre principalement dans les vallées de la Meurthe et de la Moselle. Par contre la cartographie de la deuxième espèce, le bleuet, est moins concluante parce que la localisation des échantillons analysés n'était pas représentative du biotope de l'espèce.

Une autre méthode de cartographie a été testée au cours de ce stage. Un programme de traitement d'informations géographiques ALLIANCE pourrait être intéressant d'utilisation. Il concentre les données et rend compte plus

précisément des milieux concernés. Il corrèle les facteurs phytoécologiques, environnementaux et géographique.

En résumé les objectifs de ce stage ont pu être atteints et présentent des conclusions intéressantes qui ouvrent de nouvelles perspectives à développer.

Sommaire Annexe :

Annexe 1 : Photo du pollen de la balsamine indienne : *Impatiens glandulifera*

Annexe 2 : Représentation cartographique de la répartition du bleuet

Annexe 3 : Représentation cartographique de la répartition de la balsamine (relief et hydrographie)

BIBLIOGRAPHIE

Abeilles (les), 1993, **JAMES L.**

« La vie des abeilles » p 25

« Danses et stratégie du butinage » p 91

« La navigation » p133

« l'apprentissage des fleurs » p163

Abeille de France et l'Apiculteur (l') mai 1998, **COLIN Marc**,

« L'abeille, indicateur écologique à protéger » p.439

Abeille de France et l'Apiculteur (l') février 1996, **BOLDRINI Joseph**,

« La balsamine indienne, un florissant envahisseur » p.80

Analyse pollinique des miels (l'), 1962, **syndicat national des négociants en miels**.

Carte de la végétation de la France au 200 000ème, notice détaillée de deux feuilles lorraines, 1979, **CNRS**

Courrier de la Nature (le) septembre/octobre 1997, **AZEMA Catherine**,

« Le pollen, un outil pour l'environnement » p.20

Cours de mellissopalynologie 1997, **SCHWEITZER Paul**

Diagnostic phyto-écologique, Tome 1 : Principes généraux et méthodes, 1975, **LONG. G**

« Intensité des études phyto-écologiques sur le terrain » p.107

Diagnostic phyto-écologique, Tome 2 : Application du diagnostic phyto-écologique, 1975, **LONG. G**

Flore Forestière Française Tome1 : Plaines et Collines, 1989, **RAMEAU J.C** « Balsamine indienne » p.1221

Guide des groupements végétaux de la Région parisienne, 1979, **BOURNERIAT Marcel**,

«Saulaie ripariales ou linéaires » p.356

« Moissons sur limon » p.167

Phytosociologie, 1973, **GUINOCHE M.**

« L'utilisation de techniques numériques en phytosociologie » p.25

« Facteurs biotiques » p.11

Psychologie animale, 1964, **GOLDBERG J.**

« le langage des abeilles » p. 45

Revue française d'apiculture, mars 1998, **RABIET Emile**,

« Les Patients Impatiens » p. 54
Revue française d'apiculture, septembre 1998, **RABIET** Emile,
« Précisions sur des Impatiens » p.22
Santé de l'Abeille (la) juillet/août 1998, **PIERRE Jacqueline**
« Le carnet européen :Pollinisation et apiculture » p.189 à 194
Texte de la conférence « Ecology and Management of Riparian weeds », 14 septembre 1998,
Association of Applied Biologists
« Seed biology of Impatiens glandulifera, typha latifolia, and Iris pseudacorus »
par **FROUD-WILLIAMS Bob**
« Ecological effects of invasion of native plant communities by Impatiens glandulifera » par
PROWSE Alicia
Traité de Biologie de l'abeille Tome 3 : Production de la ruche, 1968, **MASSON**
« L'analyse pollinique des miels » par LOUVEAU J.
Vie et Mœurs des Abeilles, 1959, **Dr. KARL von FRISCH**
« Les yeux des abeilles et leurs services » p.80

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord le Docteur BECKER pour m'avoir accueillie au sein du CETAM.

Je souhaite particulièrement présenter ma reconnaissance à Monsieur SCHWEITZER, maître de stage et chargé de recherche au CETAM pour sa constante disponibilité, pour m'avoir fait partager ses connaissances et m'avoir guidée dans mes recherches.

J'exprime mes sincères remerciements au Docteur Jaïro FALLA, président du Jury, d'avoir accepté de commenter et de juger ce travail.

Je tiens également à remercier Monsieur MORLOT, professeur tuteur, pour avoir accepté de suivre mes travaux, pour ses conseils et son jugement.

Pour leur patience et leur aide, je remercie Messieurs THOMAS et MANGIN, professeurs au lycée agricole de Mirecourt.

Pour m'avoir été d'une aide très précieuse, je remercie tous les apiculteurs concernés par l'étude et qui ont toujours répondu très gentiment à mes questions notamment Messieurs BOLDRINI et RABIET qui m'ont donné les références de leurs écrits.

Sandrine PIGACHE,
Université de METZ, Département de génie
biologique,
CETAM-Lorraine, laboratoire d'analyses et
d'écologie apicole