INTRODUCTION

Le miel a toujours eu beaucoup d'intérêt dans toutes les sociétés. Les hommes de sciences ont voulu connaître ce délicieux produit en s'intéressant à sa composition et sa fabrication par ce petit insecte si organisé dans son travail.

Le monde des abeilles est passionnant et complexe à la fois. Nous ne pouvons détailler la vie des abeilles ce serait trop long, mais nous évoquerons au cours de cette étude quelques aspects de la colonie d'abeilles.

L'apiculture a toujours été présente en Algérie mais pas assez exploitée, malgré un potentiel en plantes mellifères diverses qui s'étend sur toute la partie Nord du pays avec des régions plus riches que d'autres ; la Mitidja en est un exemple de richesse et de diversité en plantes de toutes sortes et dont la floraison est étalée tout au long de l'année.

Les apiculteurs sont nombreux dans cette région et pour cause .Il existe aussi des collecteurs et vendeurs de pollen et de gelée royale.

Le programme de développement de l'apiculture .est une des priorités du ministère de l'agriculture. Dans certaines zones, le Plan National de Développement Agricole (P.N.D.A.) a consacré une enveloppe financière plus importante que pour les autres cultures.

En 2005 le nombre de ruches à travers le territoire national a atteint 916 862. La production de miel reste très insuffisante ; 29 294 Quintaux et un rendement très faible 3 kg 10 par ruche, alors qu'en Europe les rendements peuvent atteindre 90 à 100 kg par ruche sinon plus.

Un autre produit reste méconnu en l'occurrence le Pollen, c'est un produit, de la ruche avec de nombreuses vertus mais malheureusement il a une mauvaise réputation .Il est connu surtout comme Allergène donc mauvais pour la santé (rhume, allergie respiratoire).

Les majorité des apiculteurs en Europe lui accordent autant d'importance que le miel sinon plus (beaucoup d'expériences et une grande sensibilisation du consommateur).

Le pollen est de plus en plus apprécié pour ses vertus thérapeutiques et ses apports en éléments nutritifs naturels et sa richesse en protéines, sucre, vitamines.

Les autres aspects du pollen, concernent ses vertus thérapeutiques et la présence de bactéries lactiques, reconnues par l'OMS comme étant des probiotiques Nous avons donc recherché ces bactéries et les résultats obtenus sont très encourageants.

Dans la région de Sétif, quelques apiculteurs possèdent des trappes à pollen et en font la collecte pendant une certaine période, qui correspond à la floraison de certaines espèces de plantes mellifères et pollinifères.Les quantités ramassées sont très insuffisantes environ

30 g par jour et par ruche. Le pollen collecté est consommé au niveau familial ; même si la récolte est importante, il faut que les gens connaissent le pollen pour pouvoir l'apprécier et en demander ou en commander.

Notre étude vise à faire connaître ce produit et surtout amener les gens à en consommer.

Il faut convaincre et pour convaincre il faut démontrer que ce produit est bon à tous points de vue.

Notre travail a consisté dans la recherche des qualités nutritionnelles et microbiologiques du pollen de la région de Sétif.

Les pollens possèdent certes des qualités communes : richesse en protéines, sucre, vitamines et certains acides aminés mais il existe aussi autant de pollens différents qu'il existe de fleurs.

Le milieu naturel est un facteur non négligeable, la même fleur peut avoir des comportements différents vis-à-vis d'un sol ou d'un climat donné.

Le spectre pollinique des différents miels ne donne pas les résultats escomptés en effet nous avons retrouvé presque les même pollens dans les trois zones étudiées.

Les résultats que nous avons obtenus rejoignent les conclusions de certains chercheurs dans ce domaine à, savoir la préférence des abeilles pour quelques espèces. Nous avons établi un répertoire avec toutes les espèces .pour la zone de Ammoucha.

Nous avons également quelques photos des fleurs et les pollens correspondants, de Sétif et ses environs immédiats.

Pour aborder ce travail nous allons présenter l'apiculture par les chiffres en Algérie, et dans la wilaya de Sétif qui occupe la onzième place que ce soit en effectif (nombre de ruches) ou en production de miel. Nous allons développer dans la partie bibliographique certains aspects concernant l'abeille donc :

La présentation de l'abeille ;

La colonie d'abeilles et les différentes fonctions ;

Présentation du pollen et ses différentes formes ;

Composition du pollen ;

Le spectre pollinique ;

Les caractéristiques des bactéries lactiques ;

La présence des bactéries dans le pollen.

La deuxième partie du travail, elle comprend le matériel et les méthodes utilisées ainsi que les résultats de l'étude du pollen.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'APICULTURE EN ALGERIE

1-1.Historique (De 1830 à 2007)

Avant 1830 l'Algérie est un pays à vocation apicole, de nombreuses familles possèdent une à trois ruches pour leur consommation personnelle.

De 1830 à 1962 le cheptel apicole a chuté .Beaucoup de ruches ont disparu sous la présence Française.

La souche a pu être préservée et le cheptel reconstitué à partir de 1962 à l'indépendance de l'Algérie ; l Etat prend en charge le secteur apicole en installant des ruches dans les vergers du domaine agricole socialiste et crée des coopératives. Une montée en flèche de l'apiculture est observée de **1962 à 1970**.

Entre 1970 et 1986 le secteur apicole atteint son maximum .A partir **de 1986 ;** La loi sur la répartition des terres a porté un coup fatal à l'agriculture en général et à l'apiculture de façon particulière.

De 1986 à 1990 une baisse spectaculaire qui va mettre des années pour reprendre lentement.

1990 - 2000, le secteur redémarre des familles profitent du **P**lan **N**ational de **D**éveloppement **A**gricole **(PNDA).** Des milliers de jeunes diplômés de l'agriculture reçoivent des ruches pour lancer leur activité et sont assistés par une formation .

2000-2007 Le plan ralentit d'abord, ensuite s'arrête. Le mécanisme est trop lourd pour les Banques le nombre de ruches est en train de diminuer ainsi que la production de miel.

(Anonyme ,1)

1-2. Evolution de l'apiculture en Algérie

L'état Algérien a donné la priorité à l'apiculture à travers le territoire national .Tous les agriculteurs désirant pratiquer l'apiculture ont reçu une aide financière afin de les encourager à développer ce secteur très longtemps délaissé. Une nette évolution est apparue à partir de l'année 1999 jusqu'en 2005 (Tableau ,1). Le nombre de ruches est en nette croissance. La production de miel, étroitement liée aux facteurs environnementaux, ne connaît pas la même progression. Les chiffres rapportés sont la moyenne de toutes les ruches or, nous savons tous que les ruches ne donnent pas le même rendements et des écarts très importants

peuvent apparaître d'une région à l'autre (Tableau ,2) .Il est aberrant de comparer la Mitidja à une zone des hauts plateaux.

Il y 'a quelques difficultés à atteindre des niveaux supérieurs mais avec le temps et l'expérience dans le domaine apicole nous pouvons espérer une relance de la production.

Dans certains pays d'Europe et d'Amérique les rendements en miel dépassent les cent kilos par ruche. Certes les conditions du milieu ne sont pas les mêmes. Le facteur climat a un impact direct sur la végétation ; la production du miel est à son tour liée à l'abondance ou la rareté de source de nourriture des abeilles, le pollen et le nectar (matière première du miel). Le manque d'expérience dans le domaine apicole influe à son tour sur le rendement. Les apiculteurs algériens ne pratiquent pas la transhumance malgré la grande étendue de notre pays et la multitude de microclimats.

Il y a également d'autres problèmes qui expliqueraient ces chiffres dérisoires .Pendant des années les régions montagneuses et forestières ont été désertées à cause de l'insécurité. Ces zones sont l'habitat le plus propice pour un miel de qualité.

1-3. L'apiculture dans la wilaya de Sétif

Le vaste territoire de la wilaya de Sétif et la diversité de ses reliefs, ainsi qu'une flore plus ou moins abondante ; offre la possibilité de développer le secteur apicole.

Le secteur est en train de prendre de l'ampleur et mérite tous les encouragements pour différentes raisons:

Les gens consomment de plus en plus de miel et apprécient ses vertus thérapeutiques connues depuis des siècles, et l'autre raison, c'est le milieu naturel qui convient aux abeilles. La pratique de l'apiculture est relativement facile, il suffit d'avoir un espace bien situé ; (même dans les serres au moment de la floraison des cultures), des ruches et un équipement adéquat. La situation de l'apiculture a connu une évolution rapide depuis l'année 2000 passant de 11800 ruches à 33180 en 2007. Le soutien apporté par l'état représente 80% en comparaison avec les autres secteurs agricoles tels que les plantations des arbres fruitiers, l'oléiculture, et la plasticulture (Tableau, 3).

Le plan national de développement agricole (PNDA) et Fonds National de Régulation de Développement Agricole (FNRDA) ont contribué à cette montée en flèche d'un secteur presque inconnu dans certaines zones du sud de la Wilaya de Sétif.

Tableau, 1: Evolution de l'apiculture en Algérie de 1990 à 2005. (Anonyme ,2)

Années	Nombre de ruches	Miel en quintaux	Rendement Moyen en Kg
1990	320.000	15.000	4,68
1991	300.000	20.000	6,66
1992	280.000	11.320	4,04
1993	200.800	18.000	8,90
1994	250.000	28.000	11,20
1995	255.000	18.000	7,50
1996	252.000	25.000	9,80
1997	286.647	11.000	3,70
1998	260.000	15.000	5,70
1999	320.000	18.000	5,60
2000	359.653	10.540	3,00
2001	469.329	17.000	3,60
2002	576.876	18.292	3,30
2003	689.671	19.833	3,10
2004	857.119	28.765	3,40
2005	916.862	29.294	3,10

Tableau, 2: Situation de l'apiculture dans les différentes wilaya en Algérie (Année 2005) (Anonyme,3**)**

WILAYA	EFFECTIF	ESSAIMS	MIEL EN QUINTAUX .
01 ADRAR	0	0	0
02 CHLEF	34 000	8 930	1 280
03 LAGHOUAT	2 785	-	-
04 OUM-EL BOUAGHI	2 225		70
05 BATNA	45 000	5 700	3 910
06 BEJAIA	40 280	8 900	1 200
07 BISKRA	12 884	21 300	330
08 BECHAR	30		1
09 BLIDA	56 585	5 000	1 812
10 BOUIRA	67 529	18 789	1 900
11 TAMANRASSET			
12 TEBESSA	23 240	2 230	700
13 TLEMCEN	16 500		400
14 TIARET	14 900	600	160
15 TIZI OUZOU	90 000	47 000	355
16 ALGER	10 800	-	121
17 DJELFA	2 984	-	89
18 JIJEL	39 600	2 292	321
19 SETIF	27 720	7 623	969
20 SAIDA	6 075	-	-
21 SKIKDA	41 485	15 000	2 900
22 SIDI BELABBES	24 935	5 750	480
23 ANNABA	12 000	5 720	450
24 GUELMA	34 000	14 200	1 400

25 CONSTANTINE	28 000	10 800	1 170
26 MEDEA	58 400	10 600	2 200
27 MOSTAGANEM	10 290	3 600	515
28 MSILA	1 710	1 000	61
29 MASCARA	14 000	-	400
30 OUARGLA	-	-	-
31 ORAN	6 500	-	120
32 EL BAYADH	102	-	0
33 ILLIZI	-	-	-
34 B. B. ARRERIDJ	23 015	8 797	253
35 BOUMERDES	45 500	22 100	760
36 EL TARAF	23 863	13 160	1 142
37 TINDOUF			
38 TISSEMSILT	7 200	4 000	95
39 EL OUED			
40 KHENCHLA	10 962	-	403
41 SOUK AHRAS	8 160	700	780
42 TIPAZA	11 706	1 900	441
43 MILA	17 687	3 140	714
44 AIN DEFLA	22000	3 100	680
45 NAAMA	580	-	27
46 A.TEMOUCHENT	4 200	3 500	225
47 GHARDAIA	140	-	4
48 RELIZANE	12 550	6 950	576
TOTAL	**912122**	**262381**	**29434**

La récolte du miel est liée aux conditions du milieu et à la disponibilité de la fleur dans la région. Nous remarquons une nette diminution de la production de miel en 2007 (855,00 qx) alors que le nombre de ruches a considérablement augmenté (33180).En effet, les conditions climatiques ont été très mauvaises pour l'apiculture.

Ces chiffres nous donnent un rendement moyen de 2Kg 500 par ruche. C'est très insuffisant mais comme nous l'avons expliqué, le climat est le premier facteur pouvant influencer la production et la diversité florale.

1.4. Nombre d'apiculteurs dans la wilaya de Sétif

Les agriculteurs des zones montagneuses dans le nord de la wilaya ont toujours possédé des petits ruchers, leur nombre est relativement important 180 pour les moins de 5 et 580 des apiculteurs ayant entre 5 et 10 ruches. Les apiculteurs possédant un cheptel plus important sont pour la plupart des agriculteurs ayant bénéficié de l'aide de l'état.

Des séances de vulgarisation ont apporté un plus chez les anciens apiculteurs afin de les sensibiliser aux méthodes modernes.

Un nouvel horizon pour les agriculteurs voulant saisir une opportunité de sources nouvelles de revenus. La coopérative apicole a facilité la tache aux anciens et nouveaux, par la disponibilité de tous les moyens nécessaires au développement de ce secteur. Des ruches Langstroth pleines et vides sont disponibles presque toute l'année. Les apiculteurs peuvent acquérir tout le matériel utilisé dans le domaine apicole comme l'extracteur, maturateur, désoperculateur, enfumoir, lève cadre… Des tenues complètes telles que les combinaisons ou des tenues partielles comme les blousons sont vendus au niveau de la coopérative. Ces accoutrements servent à se protéger des éventuelles piqûres des abeilles. Des conseils sont donnés aux apiculteurs afin d'éviter certains problèmes liés au climat (surtout le froid) ou des maladies rencontrées chez l'abeille : Teigne, Varoase…

Tableau,3 : Evolution de l'apiculture dans la wilaya de Sétif de 2000 à 200**07.**
(Anonyme, 4)

Année	Nombre de ruches	Production de miel en quintaux	Rendement en kg par ruche
2000	11800	295,00	2kg600
2001	18100	540,00	3kg
2002	18000	450,00	2kg500
2003	19600	580,00	3kg
2004	24600	740,00	3kg500
2005	28500	970,00	3kg500
2006	30655	930,00	3kg100
2007	33180	855,00	2kg500

Tableau 4 : Nombre d'apiculteurs dans la wilaya de Sétif en 2005. (Anonyme ,4)

Nombre de ruches	Nombre d'apiculteurs
Moins de 5	180
De 5 à 10	528
De 10 à 20	240
De 20 à 50	180
50 et plus	72
Total	**1190**

2. **LES ABEILLES**

2.1. Classement zoologique de l'abeille

L'abeille est un hyménoptère, vivant en communauté .Chaque colonie d'abeilles comprend trois catégories d'individus (Figure 1). Ces trois catégories d'individus sont différenciées par la forme.

L'abeille mellifique, que l'on appelle aussi abeille domestique, appartient à l'ordre des hyménoptères, lui-même une subdivision du superordre des hyménoptéroïdes. (Louveaux, 1985)

Règne : Animal (métazoaires)

Embranchement: Arthropodes,

Classe:Insecte,

Ordre: Hyménoptère, classe d'insectes doués de quatre ailes et assez souvent d'un aiguillon .cette classe comprend non seulement les abeilles mais aussi les guêpes et les fourmis.

Famille : Apidae,

Genre : les abeilles d'Europe et d'Afrique appartiennent au genre Apis et en Europe à une seule espèce : Apis mellifera, ou porteuse de miel.

Apis Mellifica intermissa, c'est l'abeille d'Algérie, très agressive, très encline à l'essaimage.

2.2. Anatomie de l'abeille

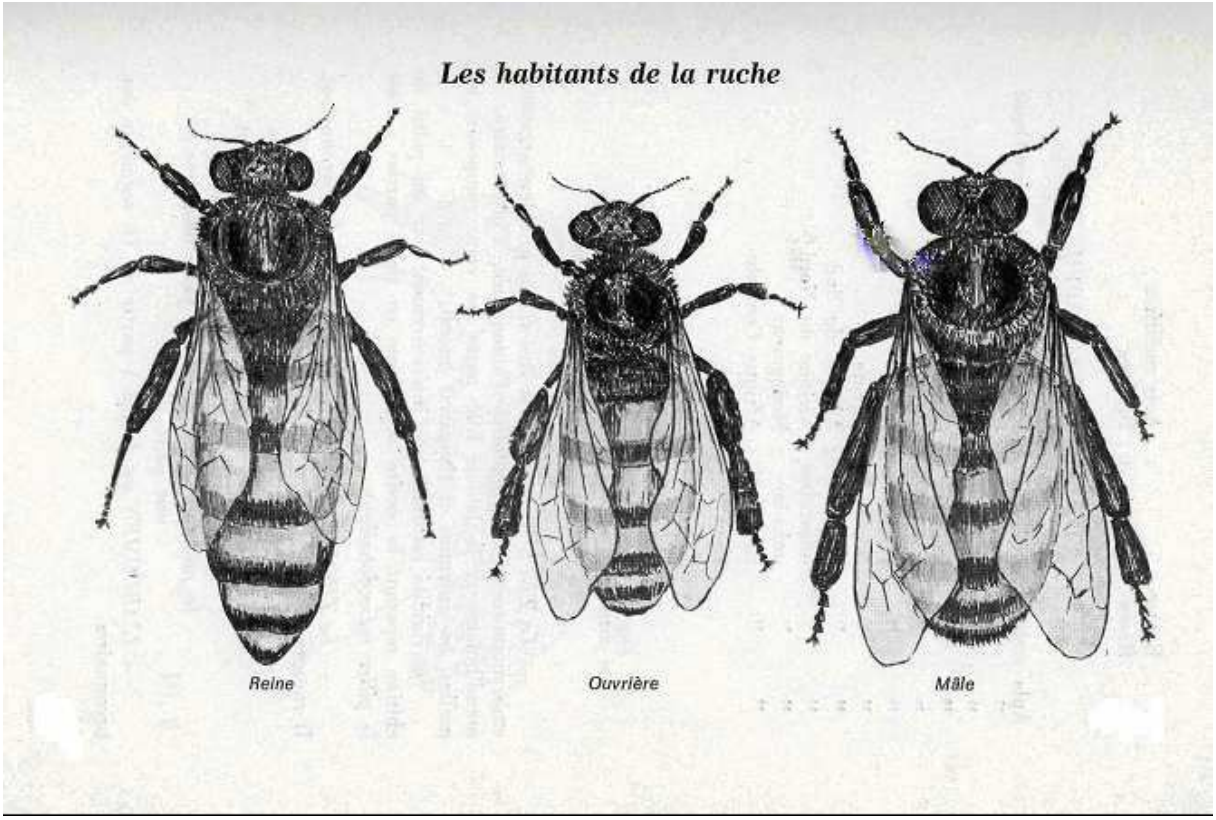
2.2.1. Les différentes parties du corps

Le corps de l'abeille adulte comporte trois parties bien distinctes séparées les unes des autres par un très mince pédoncule.

- **La tête**

Renferme comme organes essentiels le cerveau et les glandes salivaires .Extérieurement, on distingue deux gros yeux à facettes, deux antennes et le complexe des

pièces buccales .Il existe également à la partie supérieure de la tête trois ocelles qui sont des yeux simples de très petite taille.



Figure, 1 : Les habitants de la ruche (Regard ,1973)

- **Le thorax**

Porte l'ensemble des organes de la locomotion : trois paires de pattes et deux paires d'ailes. Il renferme la masse musculaire très volumineuse qui actionne ces organes.

- **L'abdomen**

Est formé d'articles mobiles les uns par rapport aux autres et qui, par leurs mouvements incessants, assurent la ventilation du corps entier de l'insecte .Il renferme la plus grande partie du tube digestif et de ses annexes, l'appareil venimeux, les glandes cirières et la plus grande partie des systèmes circulatoires et respiratoires. (Leuenberger ,1980)

2.3. Les grandes fonctions de l'abeille

2.3.1. Nutrition de l'abeille

L'intestin de l'abeille est très simple et presque rectiligne .On y distingue d'abord l'œsophage, petit tube très mince qui s'ouvre dans le jabot ou, estomac à miel .C'est là que

l'abeille entrepose le nectar qu'elle vient d'absorber .Cette partie peut se distendre considérablement puisqu'une butineuse parvient à transporter 40mg, soit 50mm3 de nectar.
Dans le prolongement de l'estomac à miel se trouve une sorte de filtre qui va arrêter le pollen qui passera dans l'intestin postérieur ensuite dans le rectum .C'est dans la zone qui suit immédiatement l'estomac à miel que se fait l'essentiel de la digestion .Les grains de pollen y sont attaqués et les matières alimentaires qui en proviennent, passent dans le sang, qui les transporte aux différents organes (Prost ,1985).

Un certain nombre de grains de pollen peuvent ne pas être attaqués par les diastases digestives et passent dans le rectum.
Le rectum de l'abeille est très volumineux distendu en permanence par les excréments.
L'abeille ne défèque pas dans la ruche et doit effectuer le vol de propreté quand le temps le permet.

La nourriture de l'abeille est constituée de matières sucrées qui proviennent soit du nectar des plantes, soit des déjections des pucerons c'est ce qu'on appelle le miellat.
L'abeille a également besoin d'une nourriture azotée pour fabriquer des protéines.
Il faut beaucoup d'azote pour assurer le développement des nombreuses larves.
C'est surtout pour ces larves que les abeilles ramassent de telles quantités de pollen, car pour elles -mêmes elles n'en ont pas besoin. : Quand il n'y a pas de couvain dans la ruche, la récolte de pollen s'arrête presque complètement.

Le pollen est mélangé avec un peu de miel et donné aux larves dans le dernier stade de développement ; dans les premiers stades elles reçoivent une nourriture prédigérée, la gelée royale, qui pour l'essentiel provient du pollen (Prost ,1985).

2.3.2. La respiration

L'oxygène est porté « à domicile » par des tubes remplis d'air, qu'on appelle les trachées. Chez l'abeille et divers insectes supérieurs la respiration n'est pas un simple brassage. Les biologistes apidologues ont montré que, par de petits orifices sur les cotés du thorax, qu'on appelle les stigmates l'air entre pendant l'inspiration ; quand l'abdomen se contracte, les stigmates thoraciques sont fermés .Mais d'autres orifices, les stigmates abdominaux, s'ouvrent largement pour livrer passage à l'air vicié. La fréquence des mouvements respiratoires est plus ou moins grande suivant l'agitation de l'animal et diverses conditions extérieures (Karl Von Frisch, 1955).

2.3.3. La circulation

La circulation n'a rien de commun avec la nôtre .Il existe bien sûr un cœur, formé de huit chambres qui se vident les unes dans les autres d'arrière en avant.
Le sang ne transporte pas d'oxygène les trachées s'en chargent, il est seulement le porteur de matériaux alimentaires, qu'il véhicule à tous les organes .On peut saigner complètement une abeille sans la tuer .Elle ne souffrira pas d'asphyxie mais seulement de privation alimentaire.

2.3.4. La vision des abeilles

Grâce au génie de Karl Von Frisch (1955) ,ce biologiste a fait des progrès considérables à la science de l'abeille .Il a étudié la vision des couleurs , pour constater que l'abeille ne voyait pas le rouge ,mais assez bien le jaune et le bleu ,ainsi que l'ultra violet .

2.3.5. L'ouie

Elle diffère de la nôtre plus encore que la vision. Les abeilles semblent sourdes mais elles sont très sensibles aux vibrations du sol, même les plus légères. IL a été prouvé que les ouvrières émettent beaucoup d'ultra son. On connaît aussi grâce aux recherches de Lindauer, (1952) une sensibilité aux champs magnétiques, l'auteur allemand l'a prouvé en modifiant le champ magnétique autour de la ruche à l'aide d'un aimant assez faible.

2.3.6. L'odorat de l'abeille

Les organes chimiorécepteurs, se trouvent sur les pièces buccales de l'abeille ce qui n'est pas étonnant .Mais une autre série très sensible, est située sur les antennes .Une autre plus sensible encore à l'extrémité des pattes, sur les tarses .C'est à dire que les abeilles qui explorent les fleurs ou les aiguilles de sapin couvertes de déjections de pucerons reconnaissent une piste sucrée en marchant dessus.

Quant au goût, les abeilles distinguent comme nous le sucré, le salé, l'amer et l'acide avec des différences, exemple, l'octoacetyl saccharose est bien accepté par les abeilles. (Karl Von Frisch ,1956)

2.4. L'abeille en tant qu'animal social

Chez l'abeille et chez tous les insectes sociaux l'individu n'est que peu de chose et la société tout. On peut parler de la nutrition ou de la digestion sociale comme différentes de la nutrition individuelle.

A propos de la récolte de nectar , on ignore souvent que l'abeille qui vient d'en récolter ne va pas en garder pour elle .Dès qu'elle s'est gorgée ,elle commence à évaporer l'eau qui se trouve en surplus dans le nectar .Arrivée à la ruche , elle va dégorger intégralement dans les cellules le contenu de son estomac à miel .Le nectar frais est une propriété de la ruche dans son ensemble , il ne lui appartient pas .Sauf lorsqu'elle part butiner .elle absorbera en effet les provisions de route dont elle a besoin pour faire fonctionner sa machine volante qui consomme beaucoup d' « essence » , c'est-à-dire du glucose .

Pour le reste, le miel est l'objet de manutentions continuelles .Il peut être transporté d'un point à un autre de la ruche par exemple lorsque la reine étend sa ponte et qu'il lui faut de la place .A un certain moment la teneur en eau du miel, par suite de la chaleur sociale et de la ventilation est tombée en dessous de 20% : on dit que le miel est mûr. Les abeilles vont alors operculer les cellules en les recouvrant d'une pellicule de cire (Goût et Jardel ,1998).

2.4.1. La nutrition sociale

Les abeilles et les insectes sociaux sont sans cesse en train d'échanger leur nourriture ce que les biologistes ont appelé « trophallaxie ». Des expériences restées célèbres, celles de Nixon et Ribbans, l'ont prouvé jadis .Ils ont distribué du sucre marqué avec une substance radioactive à six abeilles puis les ont remises dans la ruche .Le lendemain matin, 70% des abeilles de la ruche qui en comptait 2000 étaient radioactives .On peut donc parler d'une véritable circulation d'estomac à estomac (Chauvin, 1976).

2.4.2. La respiration sociale et la chaleur sociale

L'atmosphère à l'intérieur de la ruche parait particulièrement épaisse .Le gaz carbonique peut atteindre des valeurs relativement élevées, jusqu'à 8% au cours de l'hiver, selon les Soviétiques rapporté par Chauvin (1976) .cela n'a rien d'étonnant vu la densité de la ruche.

2.4.3. La ventilation

Pour cela une file d'ouvrières s'orientent de la même façon, soit la tête tournée vers l'entrée, soit en sens inverse, suivant les circonstances ; elles se mettent toutes à battre des ailes.Au cours des grandes miellées, le bruit grave qui sort des ruches correspond à une puissante ventilation dont le but est d'accélérer l'évaporation de l'eau en excès dans le nectar entreposé (Six,1982).

2.4.4. La chaleur sociale

Le stimulus le plus efficace pour la production de chaleur est la présence de couvain .A la fin de l'hiver quand la reine a recommencé à pondre, la température remonte et se stabilise au dessus de 30°C.

En automne lorsqu'il n'y a plus de couvain la température est anormalement basse, si l'apiculteur apporte du sirop aux abeilles la température remonte rapidement (moins d'une demi- heure) à plus de 30°C.

En revanche au moment de l'essaimage, la température monte très haut parfois plus de 40°C .C'est la « fièvre » d'essaimage, il y'a une agitation énorme des abeilles.
Ces dernières s'arrangeront pour maintenir la température qui leur convient en utilisant plusieurs manœuvres, exemple étaler une couche mince d'eau sur les rayons et ventiler (Six ,1982).

2.4.5. Le nettoyage social

Un des signes les plus sûrs de la santé de la ruche est sa propreté .S'il s'y trouve des déchets variés et surtout des cadavres d'abeilles le pronostic est sombre. L'abeille ne meurt pas dans la ruche ou bien son cadavre est immédiatement évacué par ses compagnes .Les insectes ne négligent aucun effort pour nettoyer la ruche (Lindauer, 1952, cité par Pierre Jean-Prost 1987).

2.4.6. L'antisepsie sociale

Les abeilles disposent de moyens naturels pour lutter contre les infections Lavie (1963) l'a montré. Il faut réfléchir qu'il y 'a un trafic intense de matières périssables qui entrent dans la ruche. Il y pénètre une cinquantaine de kilos de nectar et une vingtaine de kilos de pollen. Toutes ces matières peuvent fermenter .Or elles restent intactes dans la ruche.
La gelée royale qui est déposée au fond des cellules ou le mélange miel et pollen que les nourrices apportent, devrait également s'abîmer très vite surtout à la température de la ruche particulièrement favorable aux fermentations ainsi qu'une saturation en humidité.

Il existe une pellicule antibiotique qui recouvre tout l'intérieur de la ruche et qui empêche les germes de proliférer. Lavie s'en aperçut lorsqu'il introduisit (en vue de recherches très différentes) des fragments d'abeilles dans un bouillon de culture : presque

aucun germe ne poussa .Or il est tout à fait évident que l'abeille récolte sur les poils de son corps autant de spores et de germes variés que la mouche .Cependant lorsque le bactériologiste promène son fil de platine stérile sur les poils d'une abeille et qu'il le plonge ensuite dans un bouillon de culture, rien ne pousse. S'il se livre à la même expérience avec une mouche, il se développe au contraire une quantité incroyable de bactéries.

Au cours de ses voyages sur les fleurs, l'abeille récolte autant de germes que la mouche, mais ils sont tués ou inactivés sur la peau de l'abeille. Le tégument de l'abeille contient donc un antibiotique qui lui évite d'introduire dans la ruche une multitude de germes vivants (Lavie., 1963)

3. LA COLONIE D'ABEILLES

3.1. La force de la colonie et la récolte de miel

Comme beaucoup d'insectes, l'abeille ne peut vivre qu'en colonie soit dans des ruches fabriquées par l'homme ou à l'état sauvage. Une bonne méthode consiste à acheter des reines sélectionnées, et surtout des reines hybrides à la grande fécondité et à en peupler les ruches (Chauvin, 1976).

Il est important d'avoir de fortes colonies parce que les ouvrières y font de meilleures récoltes que dans les colonies faibles.

Une colonie de 60 000 abeilles produit 1,54 fois plus de miel que quatre de 1500.

Une colonie de 9kg d'abeilles récolte 3,22kg de miel par kilo d'abeilles

Une colonie de 6kg d'abeilles récolte 4,48kg de miel par kilo d'abeilles

Une colonie de 3kg d'abeilles récolte 5,39kg de miel par kilo d'abeilles

Une colonie de 1,5kg d'abeilles récolte 4,7kg de miel par kilo d'abeilles.

Le miel est produit aussi, à partir des déchets de certains insectes sur les arbres ou les feuilles « le miellat ». Nectar ou miellat, l'abeille va régurgiter ce qu'elle a gardé dans son appareil digestif pendant un certain temps pour en fabriquer du miel encore à l'état brut.

Une fois déposé dans les cellules ce liquide très léger encore va subir une évaporation l'eau et sa concentration sera de 18 à 20%. Les larves ne consomment que des sécrétions salivaires des ouvrières qui les nourrissent.

L'autre fonction de l'abeille c'est de rapporter du pollen. Cette communauté si particulière a ses propres règles et une organisation rigoureuse. D'une manière générale, il existe dans la ruche : la reine, les ouvrières et le faux bourdon ou le mâle (Chauvin, 1976).

3.2. La reine

Qui est une femelle ayant atteint son plein développement et dont le rôle principal est d'assurer une longévité de la ruche ; elle doit pondre des œufs durant toute sa vie. Le corps de la reine diffère un peu de celle de l'ouvrière ,d'abord par la taille ensuite et ce qui est plus important c'est l'appareil génital de la reine ,dont les ovaires sont développés et qui possède une spermathèque destinée à recevoir et stocker le liquide séminal . La figure (2) montre les détails de l'appareil reproducteur de la reine.

Si l'ouvrière possède des corbeilles au niveau des pattes destinées à la collecte du pollen, la reine qui ne remplit pas cette fonction n'a pas de corbeille.

La durée de vie est courte pour l'ouvrière un à deux mois sauf pour les ouvrières d'automne qui peuvent vivre 5 à 6 mois. La reine peut vivre 4 ans et plus suivant les races et d'autres facteurs (Jean- Prost, 1985).

3.2.1. Fabrication de la reine

Il n'existe qu'une seule reine par ruche ; elle est fabriquée par les ouvrières en cas de besoin, par exemple quand l'ancienne reine est morte ou quand la période d'essaimage approche.

Les abeilles choisissent une très jeune larve de un ou de jours au plus et dégorgent près d'elle 200 à 300 mg de gelée royale.

Cette gelée est une sécrétion des glandes pharyngiennes de l'abeille et sert exclusivement à la nourriture de jeunes larves et de la reine .Mais les jeunes larves d'ouvrières ne reçoivent que 1 à 2 mg au début et doivent se contenter pour le reste de leur vie larvaire d'un mélange de pollen et de miel.

D'après Remboldt (1976), il existe dans la gelée royale un principe d'une extrême fragilité, qui est responsable du plein développement des ovaires de la reine.

En même temps qu'elles distribuent la nourriture, les ouvrières exhaussent la cellule et l'élargissent de manière à donner un réceptacle à la forme d'un doigt de gant dirigé vers le bas.

Au bout de quelques jours cette cellule va être fermée comme une cellule ordinaire. A peine éclose, la reine va massacrer les autres reines encore encloses dans leur cellule. La jeune reine va rester dans la cellule quelques jours suivant les conditions extérieures. Ensuite elle va sortir pour aller se faire féconder dans des endroits bien déterminés, « les bals d'abeilles ».

3.2.2. La ponte de la reine

La ponte va commencer à partir du cinquième au vingt et unième jour après la fécondation à raison de 1000 à2000 œufs par jour. Pendant la ponte la reine est entourée par six à douze abeilles qui la nourrissent et assurent la ventilation. Quand arrive l'automne, la ponte de la reine diminue progressivement, et cesse, pour ne reprendre qu'en Février.
Dans les ruchers chauffés et un apport de pollen, on peut maintenir la ponte ; mais on a observé un arrêt complet au mois de novembre quelque soit les conditions externes.

3.3. Les mâles

Appelés aussi faux bourdons, leur nombre peut aller de quelques dizaines à plusieurs milliers selon la race et les saisons. Le rôle du mâle dans la ruche est de féconder la reine et de maintenir un certain équilibre dans la vie des abeilles. Des expériences faites sur les males ont donné des résultats plus ou moins cohérents mais en définitive même si son rôle n'est pas très bien connu, sa présence semble Indispensable. Ils sont présents au printemps et au début de l'été, puis ils sont expulsés de la ruche par leurs propres compagnes.
Rappelons que le mâle est issu d'un œuf non fécondé .Au moment de la ponte, les œufs transitent par un canal très fin contenant ou non du liquide séminal emmagasiné par la reine lors de son vol nuptial . La reine possède une spermathèque dans son appareil génital
(Figure, 2) si l'œuf est en contact avec les spermatozoïdes il en résulte une femelle, sinon nous obtenons donc un mâle. (Paillot *et al*. ,1973).

3.4. L'ouvrière

C'est une femelle aux organes génitaux atrophiés, ovaires existants mais non fonctionnels dans les conditions normales .Parallèlement, différentes parties du corps se sont transformées en outils .Les pattes comportent des brosses et des corbeilles qui servent à collecter le pollen **(**Figure 4a et b) **.** Les pièces buccales se sont modifiées et allongées, ce qui permet la récolte du nectar des fleurs au fond des corolles Elles ont acquis des glandes cirières sous l'abdomen et des glandes salivaires .L'ouvrière est apte à remplir les fonctions de nourrice de cirière et de butineuse.

Elle constitue la population active de la colonie qui peut atteindre et même dépasser les 70 000 individus en période de plein développement. Toute l'apiculture repose sur les ouvrières. Nous n'aurons pas de miel sans les ouvrières ni de pollen ni de gelée royale ni la propolis. Tous ces produits si précieux sont le fruit d'un travail laborieux, minutieux, organisé dans une communauté qui peut compter de 20 000 à70 000 individus.

Nous avons évoqué la façon dont l'ouvrière prépare la cellule royale avec des dimensions calculées en fonction de la taille de cette dernière. En fait, les taches de l'ouvrière sont multiples :

- **Elles** prennent soin de la progéniture de la reine.
- **Elles** veillent à la propreté de la ruche en éliminant les déchets et les cadavres,
- **Elles** font fonction d'architecte, puisque ce sont elles qui construisent les cellules qui vont contenir les larves ou le miel ou encore du pollen.
- **Elles** veillent à garder une température idéale dans la ruche ;
- **Elles** assurent la ventilation quand il fait chaud et réchauffent la ruche en hiver en se regroupant.

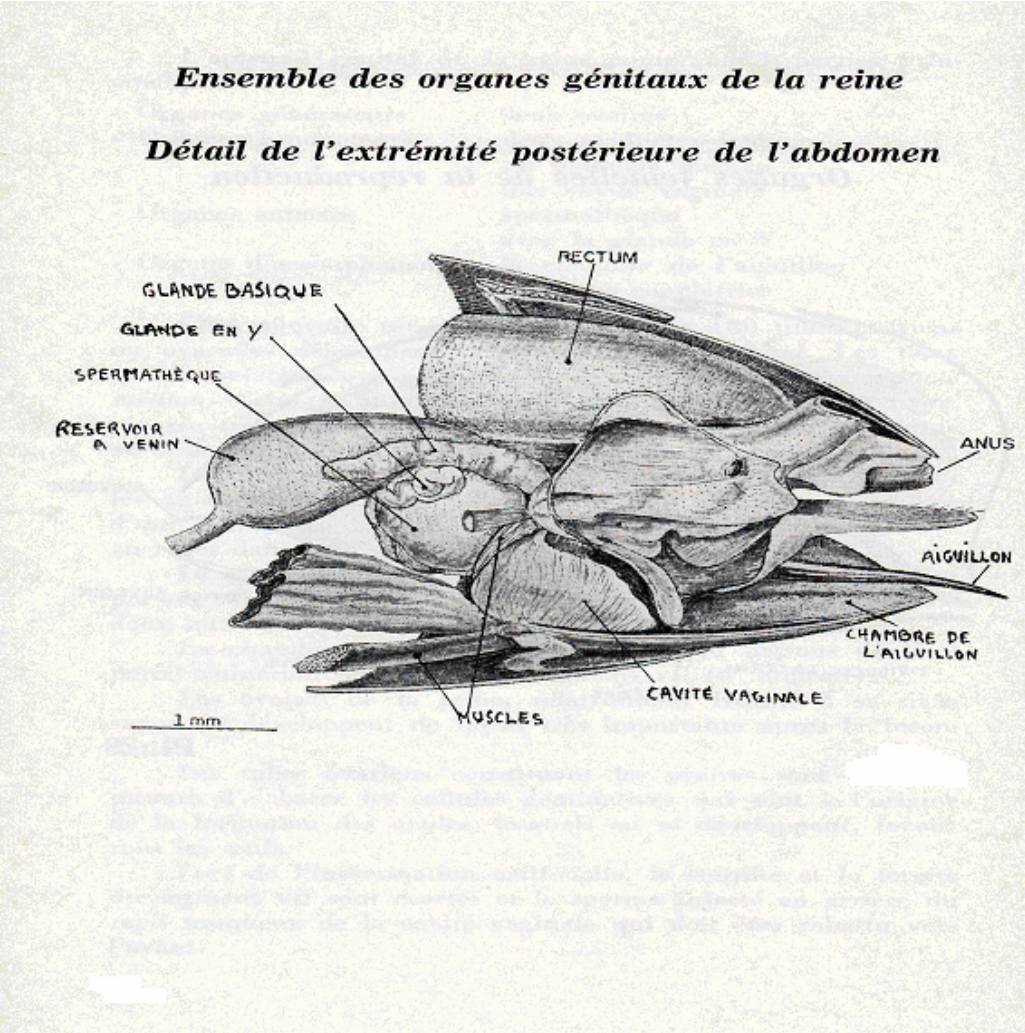


Figure.2 : Organes génitaux de la reine (Regard *et al* .,1973)

En utilisant ses glandes mandibulaires dont la sécrétion sert à ramollir et pétrir la cire, elle sert également à dissoudre le revêtement huileux du pollen

Dès le matin l'ouvrière part à la recherche des fleurs sur lesquelles elle va pouvoir récolter le nectar qui va lui servir à fabriquer du miel. Le nectar rapporté par l'abeille est une solution sucrée de sucres variés : saccharose, glucose et lévulose. Le nectar contient aussi de l'eau des acides organiques, des matières minérales, des acides aminés libres, des substances odorantes (Louveaux, 1987)

3.4.1. Développement de l'ouvrière

L'œuf pondu par la reine se présente sous forme d'un bâtonnet d'un blanc nacré de 1,5mm de long sur 0,5mm de diamètre .L'une des extrémités est plus grosse que l'autre .La reine colle son œuf au fond de la cellule par l'extrémité la plus fine .Il reste droit pendant la plus grande partie de sa vie embryonnaire, puis il s'incurve.

Au troisième jour après la ponte, la jeune larve éclôt .La vie larvaire dure six jours le poids et la taille de la larve ont augmenté .Au huitième jour la larve occupe toute la cellule.

La larve va se transformer en nymphe puis en abeille adulte (Figure 3) (Regard *et al* . ,1973), les differents stades de développement de l'abeille sont comme suit :

ŒUF

1er jour - œuf blanc nacré droit de 1,6 mm sur 0,5 mm

2e jour – œuf blanc nacré incliné

3e jour – œuf blanc grisâtre

LARVE

4e –larve noyée dans la gelée et légèrement incurvée 1ere mue

5e –la larve grossit ; augmente sa courbe 2eme mue

6e –les extrémités se rapprochent 3eme mue

7e –les extrémités se touchent 4eme mue

8e – la larve remplit toute la cellule

9e- operculation de la cellule –filage du cocon

PRONYMPHE

10e- transformation en pronymphe 5ème mue

11e- apparition des pièces buccales, des yeux, des ailes et des pattes.

12e-apparition de la constriction thoraco-abdominale ecdysis

NYMPHE

13e- nymphe yeux blancs

14e-nymphe yeux roses

14e- nymphe yeux lilas

16e- nymphe yeux pourpres, jaunes

17e nymphe yeux foncés, corps jaune 6ème mue.

18,19-20le corps brunit

21e-emergence de l'adulte hors de l'alvéole

Une fois sortie de son alvéole, et après un certain temps d'adaptation, la jeune ouvrière va occuper sa fonction de nourricière.

Elle reste dans la ruche et réceptionne le nectar rapporté par les butineuses et le distribue aux jeunes larves après l'avoir mélangé au pollen déposé en bordure des cellules par les butineuses. Il existe des différences de quelques jours entre les trois catégories d'abeille.(Tableau 5)

La durée de vie de l'abeille est influencée par la qualité du pollen consommé L'expérience du professeur Frans Jacobs ,2004 a révélé que les abeilles nourries au pollen des fraises ont une durée de vie supérieure de16 jours (Tableau ,6)

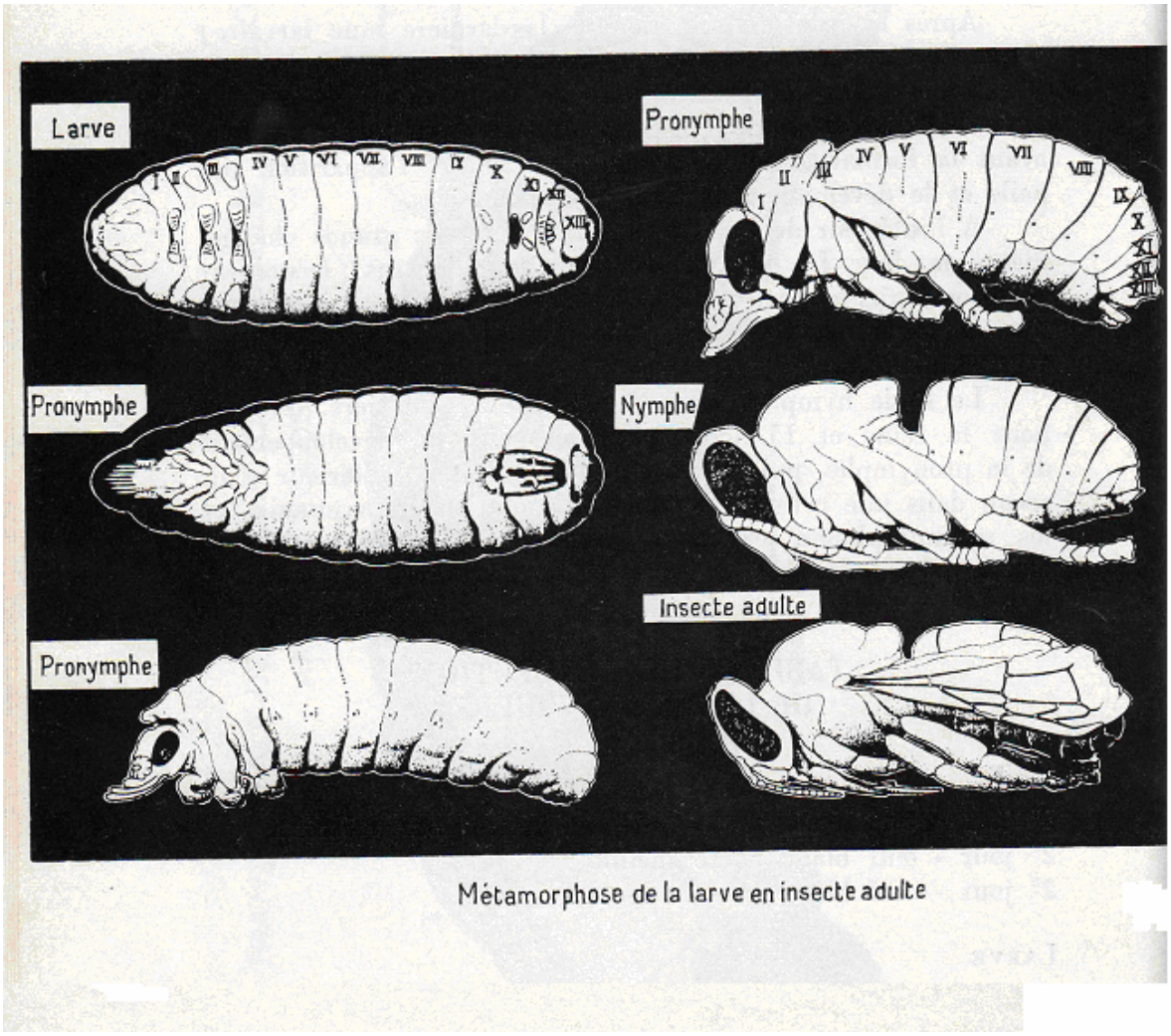


Figure .3 : Métamorphose de la larve en insecte (Regard *et al* ., 1973) .

Tableau 5 : Phases successives de développement de l'abeille (Louveaux *et al* 1985)

PHASES SUCCESSIVES	REINE	OUVRIERE	MALE
Stade embryonnaire			
Durée d'incubation de l'œuf en jours	3	3	3
Stade larvaire			
Nourrissent des larves	5	5	6
Filage du cocon	1	2	3
Période de repos	2	3	4
Stade nymphal			
Transformation des larves en nymphes	1	1	1
Durée de l'état de nymphe	3	7	7
Durée totale de développement			
En temps normal	15	21	24
En condition très favorable	14 et demi	20	24
En conditions très mauvaises	22	24	28
L'éclosion a lieu et la larve apparaît	Le 4ème jour	Le 4ème jour	Le 4ème jour
La cellule est fermée	Le 9ème	Le 9ème	Le 9ème
L'abeille sort de la cellule à l'état d'insecte parfait	Le 16ème	Le 22ème	Le 25ème

Tableau ,6 : La valeur alimentaire des pollens (Jacobs , 2004).

Pollens des différentes fleurs	**Espérance de vie de l'abeille**	**Augmentation de l'espérance de vie comparée au témoin négatif**
Saule	45,8	16,6
Pommier 1	41,4	11,2
Pommier 2	46,8	17,6
Pommier 3	48,8	19,6
Pissenlit	38,9	10,7
Maïs 1	29,7	0,5
Maïs 2	30,5	1,3
Maïs 3	29,5	0,3
Témoin négatif 1	29,2	0
Fraise	63,3	28
Mélange de pollen	62,8	27,5
Témoin négatif 2	35,3	0
Haricot	54,5	26,8
Bruyère	49,8	21,9
Kiwi	45,5	18,3
Témoin négatif 3	27,9	0
Haricot	55,4	24
Tomate	36,4	5
Témoin négatif 4	31,4	0

3.5. Choix du pollen

Le pollen est très important pour la colonie ; c'est l'apport protéique pour les jeunes larves, il est essentiel à leur développement.

3.5.1. Critères de choix des pollens par les abeilles :

L'importance du butinage du pollen a conduit à s'interroger sur l'existence d'une préférence des abeilles pour certains pollens .Par exemple, il existe une préférence de certaines colonies pour la luzerne (Ginsberg ,1975).

a) Choix selon l'odeur, le goût, la couleur, la morphologie

L'odeur pollinique est sans aucun doute un facteur important parmi ceux influençant le butinage des abeilles et on a remarqué que les plantes dont la pollinisation dépend de la visite des abeilles sont celles dont l'odeur pollinique est la plus importante.
L'importance du rôle joué par l'odeur du pollen n'empêche pas qu'au moment de la sélection de la plante les autres sens peuvent entrer en jeu (Schmidt, 1975).

b) La couleur

Elle peut servir d'indicateur : certaines fleurs changent de couleur avec l'âge ou le sexe. La facilité de manipulation du pollen pourrait jouer un rôle, les études faites par Vassière et Vincent (1994) ont montré que la taille du grain et la présence d'épines à sa surface, rendant la formation des pelotes plus difficiles et plus longue, conduisent par exemple à éviter la collecte du pollen de coton et non son odeur répulsive supposée par Moffet (1975).

c) Choix du pollen en fonction de sa teneur en protéines et de sa composition en acides aminés

Certains auteurs ont démontré que les abeilles butineuses ne montraient pas de préférence marquée pour les pollens riches en protéines (Roulston et Cane., 2000). D'autres auteurs prennent en compte non pas la teneur en protéines mais la composition des pollens en acides aminés.

3.5.2. Impact du régime pollinique sur la physiologie de l'abeille

Des équipes de recherche se sont penchées sur l'impact du pollen ou de ses composants sur le développement de certains organes de l'abeille induisant indirectement la force de la colonie. Ainsi, sachant que les sécrétions des glandes hypopharyngiennes distribuées par les nourrices au cours du nourrissement des larves déterminent la caste de celles-ci, des méthodes ont été mises au point pour étudier l'impact de tel ou tel pollen sur le développement de ces glandes (De Grott. ,1953, Cite par Louveaux ,1968).

a) Impacts sur le développement des glandes hypopharyngiennes et des organes sexuelles

Le développement de ces glandes ne dépend pas des acides aminés essentiels présents dans le pollen mais de la quantité totale de protéines ingérées. Divers auteurs dont Maurizio (1950) ont cherché à classer les pollens en fonction de leur action sur le développement des glandes hypopharyngiennes (Tableau ,7).

Des travaux plus récents (Pernal *et al*., 2000) ont montré que le pollen de pommier, de mélilot ou de phalécie donnent de bons résultats contrairement au tournesol et au pin.

Une carence en pollen influence la tâche des nourrices et les soins au couvain ce qui produit des larves sous alimentées et mal operculées (Blaschon *et al*., 1999) . Les nourrices peuvent aussi réagir à cette carence en réduisant le nombre de larves à nourrir (Schmiki *et al*., 2001). Le pollen conditionne donc non seulement l'élevage des larves mais aussi la capacité des jeunes ouvrières à élever le couvain (Loper *et al.*, 1980) (Tableau ,8).

Tableau, 7 : Effets de certains pollens sur le développement des glandes pharyngiennes (Maurizio *et al* .1950).

Pollen sans effet	**Pollen à action modérée**	**Pollen efficace**
Conifères (dont Pin), Noisetier, Peuplier, Bouleau.	Erable, Hêtre, Orme, Buis, Pissenlit, Mais	Arbres fruitiers, Châtaigniers, Saule Bruyère, Coquelicot, Trèfle.

Tableau ,8 : Quantité de pollen nécessaire pour la nourriture de la larve (Loper *et al.,* 1980)

Usage	**Quantité de nourriture dont le pollen**	**Auteurs**
Nourrissage de la larve	23 pelotes durant 6 jours soit 3,8 pelotes par jour	Caille ,1974
Nourrissage de la larve	4,20 mg par jour (mélange pollen + sucre)	Loper et Berdel ,1980
Nourrissage de la larve	125 à145 mg de pollen	Winston ,1993
Nourrissage de la larve	42 mg en 5 jours soit 8,4 mg par jour	Haydac, 1968
Nourrissage d'une butineuses	100mg	Caille ,1974

b) Effet sur la longévité et la taille des abeilles :

On a montré, à partir de 25 pollens différents, que la longévité des abeilles domestiques adultes augmentait avec la quantité totale de protéines ingérées. De même la taille de l'individu *A. mellifera* varie en fonction des protéines consommées. La composition du pollen se rapproche de celle de certaines farines de légumineuses (farine de soja par

exemple) ou encore des levures ; cependant, pour l'abeille c'est un aliment qu'elle ne confond pas avec les autres sauf en cas de disette profonde.
On trouve dans le pollen des protéines, des acides aminés libres des sucres divers de l'amidon des graisses des matières minérales, des vitamines des pigments et autres dont l'inventaire n'est pas encore achevé (Roulston *et al*., 2000)**.**

c) La collecte du pollen

Chez l'ouvrière , les pattes présentent une série de dispositifs adaptatifs qui permettent à l'insecte de nettoyer toute la surface de son corps et de le débarrasser du pollen dont il se couvre pendant toute la durée du butinage , puis de confectionner des pelotes qui sont ramenées à la ruche .

Lorsqu'elle récolte du pollen, la butineuse déchire les étamines des fleurs avec ses mandibules. Elle humecte le pollen avec du nectar La première paire pattes faites la toilette de toute la partie antérieure du corps et rassemble le pollen qui s'est fixé sur les poils.
La deuxième paire de pattes récolte le pollen qui se trouve sur le thorax et dans la région ventrale. Le pollen est rassemblé sur la brosse qui se trouve sur le premier article du tarse.
Le pollen est ensuite transféré aux corbeilles sur la troisième paire de pattes. La brosse à pollen d'une patte est grattée par le peigne de la patte opposée. De la face interne, le pollen est poussé vers la face externe, donc vers la base de la corbeille (Figure 4).

Toute nouvelle addition de pollen est poussée contre la précédente, et ainsi le pollen monte le long du tibia, ou il s'accumule sous forme de pelotes .La masse du pollen est maintenue en place par les longs poils recourbés qui se trouvent en bordure. Tous ces mouvements sont si rapides qu'il a fallu les filmer pour les décomposer et comprendre comment l'abeille fait ses pelotes (Louveaux, 1987).

3.5.3 La mise en réserve des aliments

L'abeille, insecte social, récolte des aliments et les met à la disposition de la collectivité ; une butineuse de pollen ne consomme pas de pollen .Lorsqu'elle a terminé la confection de ses deux pelotes, elle revient et dépose sa charge dans une cellule sans plus s'en occuper. Ce sont d'autres abeilles qui assureront le tassement au fond de la cellule avec un apport de salive ; d'autres qui mangeront le pollen lorsque les ferments lactiques l'auront transformé en une sorte d'hydrolysat de protéines.
De même la butineuse de nectar ne travaille pas pour elle-même .Rentrée à la ruche, elle régurgite son butin auprès d'autres abeilles qui vont l'entreposer dans le rayon et assurer

progressivement sa transformation en miel par un apport en salive et par évaporation de l'eau en excès. Le miel mis en réserve en été ne sera consommé que durant l'automne et l'hiver et même jusqu'au printemps suivant (Figure,5) .

Les réserves en pollen moins importantes en poids auront leur utilité, surtout au début de l'automne et à la fin de l'hiver (Jacobs, 2004)

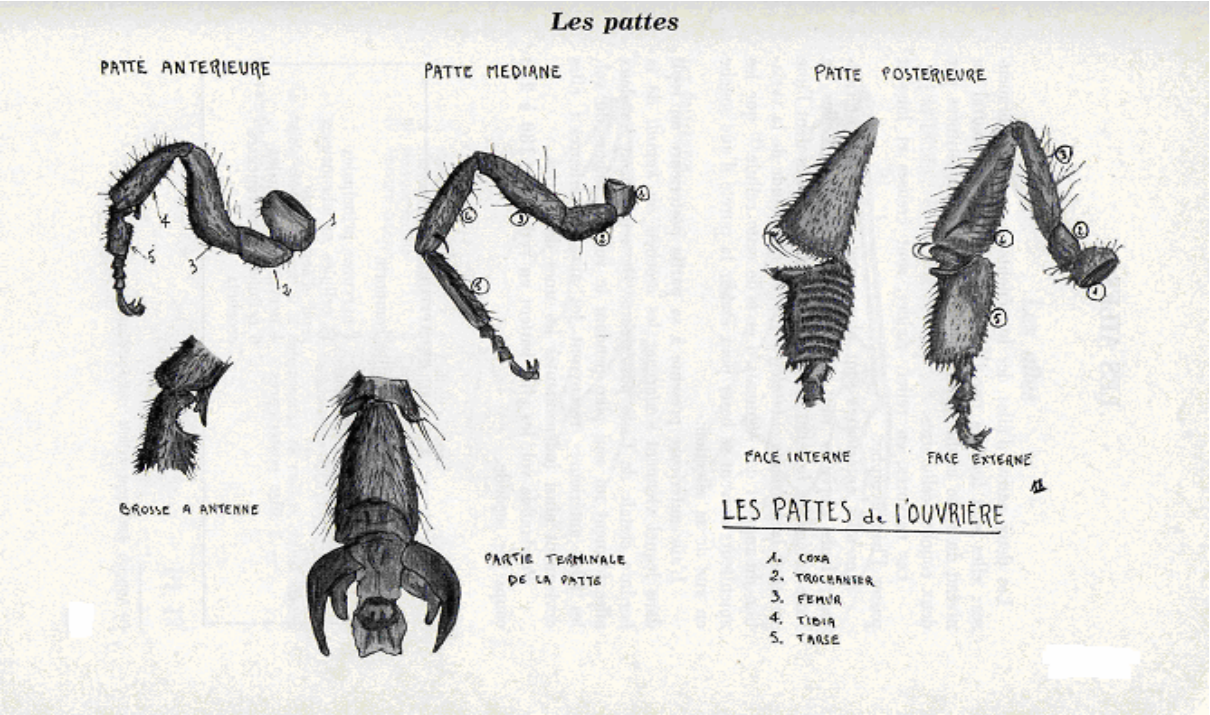


Figure 4 a: Les pattes de l'ouvrière (Regard *et al.* 1973)

Figure ,5 : Diversité des grains de pollen (à gauche) et stockage dans les alvéoles (taches jaunes et bleues) du pollen et du miel.

3.5.4. Les besoins alimentaires

L'ouvrière qui vient de naître donc de sortir de sa cellule natale à l'état d'insecte parfait, est encore un être inachevé il lui faudra consommer de grandes quantités de pollen pendant six à neuf jours pour achever sa croissance et pour que son système glandulaire se développe. Privées de pollen les jeunes ouvrières vivent peu de temps et sont incapables de sécréter de la gelée royale. En revanche, l'abeille âgée n'a plus que des besoins très réduits en aliments azotés ; elle ne consomme que du miel ou du nectar.

Chez la larve le tube digestif est très simple .Il n'y a ni jabot ni poche rectale. Le ventricule s'étend sur toute la longueur du corps, il est fermé du coté de l'anus jusqu'à la fin du sixième jour de la vie larvaire, ou il s'ouvre pour l'évacuation en une seule fois de tous les déchets alimentaires de la larve qui commence sa nymphose. Pendant les trois jours qui suivent son éclosion, la jeune larve ne reçoit comme aliments que des sécrétions provenant des glandes hypo pharyngiennes et mandibulaires des abeilles nourrices.

Tous les pollens n'ont pas la même valeur alimentaire pour les abeilles, les différences tiennent à leur richesse en protéines ; mais ce facteur n'est pas le seul .En fait on ne connaît pas de façon complète les besoins alimentaires de la colonie d'abeilles.

D'un point de vue purement quantitatif, une forte colonie d'abeilles récolte au cours d'une année environ 100 kilogrammes de nectar et de 30 à50 kg de pollen (Louveaux, 1985).

4. LE POLLEN

Le pollen (du grec palé : farine ou poussière) constitue chez les végétaux supérieurs, l'élément fécondant mâle de la fleur : ce sont de minuscules grains de forme plus ou moins ovoïdes de quelques dizaines de micromètres de diamètre initialement contenus dans l'anthère à L'extrémité des étamines.

4.1. Les pièges a pollen

Il en est de plusieurs sortes dans le commerce et elles sont à peu près toutes équivalentes. La partie la plus importante est « la grille à pollen » qui n'est autre qu'une plaque de plastique percée de nombreux trous. On remarque que dans les premiers temps qui suivent la pose des ruches ; une grande agitation des butineuses qui se calment par la suite en quelques heures. Il est préférable d'installer les ruches au début du printemps afin que les abeilles aient le temps de s'y habituer progressivement.

Le rendement des trappes est ajusté à 10% environ du pollen récolté (Jacobs, 2004) On pourrait augmenter le rendement en augmentant la bousculade à l'entrée, c'est-à-dire en diminuant le nombre de trous de la plaque perforée.

L'observation de la récolte de chaque ruche donne des éléments intéressants sur la colonie. Une forte rentrée de pollen va souvent de paire avec une bonne miellée. On s'aperçoit également que chaque ruche a des préférences .Il y'a toujours un pollen dominant mais qui peut varier fortement d'une colonie à l'autre sur un même emplacement .Un tiroir sera rempli d'un pollen noir et celui d'a coté jaune, une récolte nulle dénonce une anomalie (Jacobs, 2004).

4.2. La conservation

Le pollen prélevé des trappes ne peut être conservé en l'état très longtemps ,1 à 2 semaines. Il existe deux méthodes pour assurer la conservation : la congélation et la déshydratation partielle (séchage).

4.2.1. La congélation

Ce procédé ne demande pas d'investissement ; il est de plus en plus utilisé car il permet de conserver toutes les qualités du pollen frais.

Dés la récolte, on trie le pollen, on le verse dans des sachets en matière plastique (200 à500g) Et on le place au congélateur a-20°C .Une fois décongelé, le pollen se conserve facilement une dizaine de jours au réfrigérateur. (Percie Dusert, 2005)

4.2.2. Le séchage

Il consiste à provoquer une déshydratation partielle du pollen récolté .Le pollen des trappes est souvent plus humide que celui prélevé directement sur la fleur, car l'abeille l'humidifie au cours de la confection des pelotes.

Le séchage va emmener l'humidité à 4,5% par un passage à l'étuve.

« Magazine mensuel d'information apicole L'abeille de France Avril 2005. »

4.3 . Valeur thérapeutique

L'action du pollen sur l'organisme humain a été étudiée depuis 1950.De nombreuses communications scientifiques relatives au pollen affirment que ses effets bienfaisants sont nombreux et bien marqués .Chauvin et Lenormand les classent ainsi :

a) Action régulatrice des fonctions intestinales chez les malades atteints de constipation chroniques ou, au contraire des diarrhées résistantes aux antibiotiques.

b) Chez les enfants anémiés, le pollen provoque une remontée rapide du taux d'hémoglobines dans le sang.

c) Le pollen amène aussi une reprise rapide du poids et des forces chez les convalescents et c'est un euphorisant.

Au total, le pollen tonifie, stimule, rééquilibre et désintoxique. Le pollen contient une forte teneur en glucose –oxydase on pense que l'activité antibactérienne est liée à cet enzyme. (Lavie ,1952)

4.4. Rôle

Administré aux larves, issues d'ovules fécondés à partir du 3ème jour de la naissance, le pollen provoque l'atrophie de leurs organes génitaux (castration nutritiale) et leur évolution en ouvrière.

A ce sujet, le pollen emmagasiné par les abeilles dans les ruches est beaucoup plus actif que le pollen récolté dans les trappes.

Selon Chauvin la consommation du pollen par les jeunes abeilles entraîne une prolongation de la durée de leur vie, un développement des glandes pharyngiennes (qui produisent une partie de la gelée) et une croissance des ovaires des abeilles récemment écloses. Par contre les abeilles âgées consomment peu de pollen. Pour certains auteurs l'activité du pollen varie selon l'espèce de plante qui le fournit .Les pollens les plus efficaces viendraient des Bruyères ,des Châtaigniers du coquelicot ,des arbres fruitiers du saule et du trèfle. Le pollen frais est plus actif que le pollen conservé.

4.5. Les facteurs de la récolte du pollen par les abeilles

Le temps mis par les butineuses pour récolter une charge de pollen est té variable ; mais en moyenne un peu plus de 10 minutes .Le nombre de voyages, de 10à 50 par jour.

Le nombre de fleurs de la même espèce qu'il faut visiter pour assurer une charge est très variable ; par exemple une fleur de pavot donne 110mg de pollen, soit 10 charges ; le trèfle blanc seulement une charge pour 585 fleurs.

Evidemment les conditions météorologiques ont une grande importance pour la récolte ; la taille des pelotes est tout à fait variable.

La récolte au piège est en moyenne de 2kg par ruche et par an (insuffisant pour Louveaux ,1985)). La récolte croit rapidement de Mars à Mai, reste égal de Mai à Juillet .puis

diminue assez brutalement à partir du 15 Juillet. La récolte du pollen est proportionnelle à la surface du couvain (Louveaux ,1987).

Dans les Pyrénées, il existe des ruches dites à » viandes », caractérisées par leurs énormes récoltes en pollen qui constituent un véritable fléau .En effet, la ruche très lourde fait croire à l'apiculteur qu'il pourra disposer de beaucoup de miel, alors que tous les rayons sont pleins de pollen avec seulement une pellicule de miel dessus.

4.6. Les plantes préférées

On sait depuis peu que les abeilles sont attirées vers certains pollens par des facteurs chimiques spéciaux, inégalement répartis dans les différentes espèces .C'est peut être ce qui explique le tout petit nombre de plantes réellement fréquentées par les abeilles, parmi tous les choix possibles que leur offre les fleurs .A cela s'ajoutent les goûts individuels pour certaines plantes.

Certaines abeilles sont attirées par le pollen, d'autres par le nectar et d'autre encore par le pollen et le nectar (Rabiet ,1986.).

Louveaux (1985) a remarqué que, certaines colonies préféraient le saule plusieurs années de suite, alors que d'autres plantes étaient disponibles et effectivement choisies de préférence au saule par des ruches voisines.

Il peut paraître étonnant que l'abeille fasse ces distinctions, mais des chercheurs anglais ont montré qu'elle en était capable.

On constate que les abeilles préfèrent les pollens les plus riches en azote, comme Louveaux (1985) l'a démontré.

4.6.1. Concentration en azote de quelques plantes

Le pollen de Trèfle blanc (Trifolium repens) est riche en matières azotées (23,71 à29, 25 %) ; Celui du Pissenlit (11,12 à12, 18%), celui du Saule marsault (24,06%) etc. Notons que les pourcentages varient selon les auteurs, sans doute selon les conditions de vie des plantes qui ont fourni ces pollens. Les pollens ramenés à la ruche ne renferment que 3 à 3.5 % d'azote au début du printemps, mais en Mai la teneur atteint 5% puis baisse régulièrement, sauf une petite hausse en septembre. (Rabiet,1984)

Voici une liste sommaire des plantes à pollen (P) et à nectar (N) de mars à avril ou mai suivant les climats (début de printemps).

De mars à avril

- Peuplier	P	Frênes	P
- Saule	PN	Bouleau	P
- Aulne	P	Pissenlit	PN

D'avril à juin juillet

-Marronnier	PN	Graminées	P
- Trèfle	PN	Cistes	P
- Genet	PN		
-Sainfoin	PN		

De mai juin à Sept

-Crucifères	PN	Ronces	PN
- Trèfles	PN	Mais	P
- Coquelicot	P		
- Arbres fruitiers	PN		

P : pollinifères N : nectarifère PN : pollinifères nectarifère .

D'après Louveaux (1985); la flore pollinifère ; importante pour l'abeille est essentiellement composée de plantes communes ou très communes ; appartenant aux familles les plus diverses.

4.6.2. Sécrétion du nectar

La sécrétion du nectar obéit à certaines lois naturelles décrites par Rabiet,(1986)

-Une espèce nectarifère sécrète du nectar lorsqu'elle vit dans des conditions semblables à celle du milieu où la sécrétion naturelle l'a créée ; dans des conditions différentes, la sécrétion est moindre et peut même être nulle.

-L'adaptabilité nectarifère est généralement inférieure à l'adaptabilité générale de la plante ; Elle diffère selon les espèces ; elle est faible sinon nulle chez certaines.

4.6.3. Production de pollen

Les espèces qui se perpétuent par graines produisent du pollen, mais il faut remarquer que n'en fournissent pas :

-chez les espèces, dioïques, les sujets femelles

-chez les espèces monoïques, les sujets femelles.

La quantité de pollen produite par fleur (male ou hermaphrodite) est très différente d'une espèce à l'autre ;cela tient au nombre d'étamines ,très variable ,au nombre de sacs polliniques que portent celles-ci (il est généralement de quatre par étamine),au volume des sacs polliniques . Durant la même saison, et durant même chaque journée de celle-ci, production de pollen et sécrétion de nectar sont généralement discontinues sur une même plante.

La discontinuité de la production de pollen est un phénomène normal, inhérent au végétal, inévitable ; les sacs polliniques s'ouvrent dés que la fleur est arrivée à un stade de développement permis par les conditions atmosphériques. Une fois les sacs polliniques vides (pollen emporte par le vent), l'abeille ne s'intéresse plus qu'au nectar.(Rabiet ,1986)

4.6.4. Les lois du butinage

- Le nectar est prioritaire ; les abeilles, lorsqu'elles s'éloignent de la colonie, recherchent et récoltent normalement du nectar.
- La récolte du nectar entraîne celle du pollen : elles font la récolte du nectar et celle du pollen simultanément chaque fois que possible.
- Quand une plante est butinée, son exploitation pour le nectar et pour le pollen se poursuit tant qu'elle est capable de fournir l'un ou (et) l'autre -la récolte du nectar reste prioritaire.
- Le besoin conduit à la récolte spéciale d'autres matières que le nectar ; il fait que les abeilles s'écartent de la recherche du nectar pour récolter autre chose : eau, propolis, pollen ; en particulier, lorsque la récolte simultanée du nectar et du pollen ne fournit pas suffisamment de cette deuxième matière, certaines abeilles vont spécialement en chercher.

(Rabiet 1986).

4.6.5. Quantité de pollen récolté

Pour récolter une charge de pollen, l'ouvrière travaille aux champs pendant huit minutes en conditions favorables et quinze minutes par temps défavorables .Elle rapporte 12 à14 mg s'il provient du mais et 25mg du pommier. Elle met cinq minutes pour emmagasiner sa récolte .Une pelote de pollen pèse environ 6,5mg soit 155 pelotes pour 1g.

Il faut quatre pelotes par jour pour l'élevage d'une abeille pendant six jours. Il faut à peu près un kilo de pollen pour élever un kilo d'abeilles ce qui représente environ 75000 voyages .Reamur a estimé qu'une forte colonie récolte et utilise au moins 25 kilos de pollen pour une Année (Caille ,1974).

4.6.6. Besoins de la colonie en matières azotées

C'est dans les cinq premiers jours suivant leur naissance que les jeunes abeilles consomment le plus de pollen .Durant cette période, leur poids et la teneur en azote de leur corps augmentent de 50% (Chauvin ,1968). Leurs glandes nourricières se développent parallèlement, permettant ainsi à ces jeunes ouvrières de sécréter les gelées nécessaires à l'élevage du couvain .A cet effet les jeunes ouvrières consomment des quantités énormes de pollen qui doivent être disponibles dans la ruche ou être compensés par des apports.

Ces abeilles sont abondamment pourvues de protéases intestinales et les acides aminés passent de l'intestin à l'hémolymphe.

Les sécrétions des glandes nourricières produisent alors, sous forme de gelées, une nourriture riche en protéines distribuées au couvain, à la reine et aux ouvrières de tous âges (Crailshem, 1990).

La période de nourrice terminée, son poids et ses réserves en azote diminuant progressivement, l'ouvrière devient butineuse (Chauvin, 1968). A la fin de l'été lorsqu'il n'y a plus de couvain à nourrir, les jeunes ouvrières, accumulent d'importantes réserves azotées dans leur corps adipeux sous forme d'inclusions protidiques .Elles sont aptes à vivre durant toute la période d'hivernage (abeilles d'hiver) assurant ainsi la perrénité de la colonie.

Depuis un demi siècle, de très nombreux travaux ont été effectués sur les besoins en matières azotées des colonies d'abeilles. Le pollen est un aliment indispensable au développement de la colonie. Il a des effets directs sur la longévité des abeilles, sur les sécrétions glandulaires et sur le développement des organes sexuels (Chauvin 1968 ; Hydak, 1961, 1963,1968 ; Herber . ,1985 ; Pain , 1961 et 1968) .

-Tous les pollens n'ont pas la même valeur alimentaire. Aucun d'entre eux ne procure à la colonie tous les éléments dont elle a besoin, d'où la nécessité d'apports provenant d'une flore variée (Haydak., 1968 ; Louveaux, 1958 ,1968 ; Ricchiardelli ,1993).

- Une carence en pollen est toujours néfaste à la colonie .Elle réduit la longévité des abeilles ,provoque une réduction de l'élevage et engendre à la fin des phénomènes de cannibalisme (œufs et larves) (Weiss .1984) .

- En cas de pénurie ,il est possible d'apporter à la colonie du pollen ou des produits de substitution ,mais ces apports n'ont jamais le même effet que le pollen récolté directement (Gilliam *et al* .,1989) ;(Wahl, 1968)

5. PALYNOLOGIE

Le mot Palynologie a été introduit par Hyde et Williams en 1944. La palynologie est l'étude scientifique des pollens .Un pollen est souvent spécifique d'un groupe végétal (famille, genre), parfois même de l'espèce : il est possible d'identifier une espèce végétale par l'observation de son pollen. Les caractères observés sont la taille (de 2,5 à 200 micromètres), la forme générale et ceux de l'exine : la stratification, les sculptures et granulations de la surface, le nombre , la forme et la disposition des apertures (Figure ,6) **.**

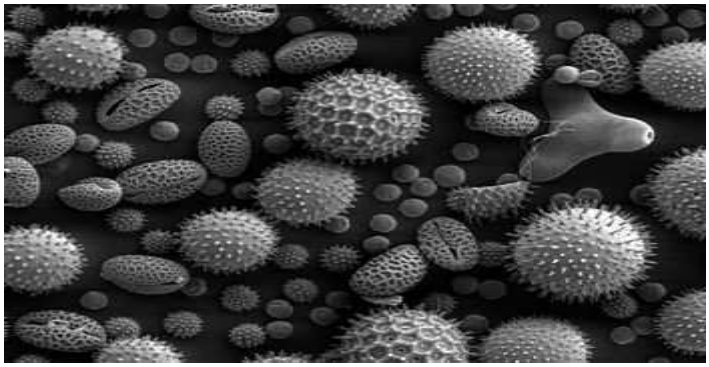
Les applications de la palynologie sont nombreuses :

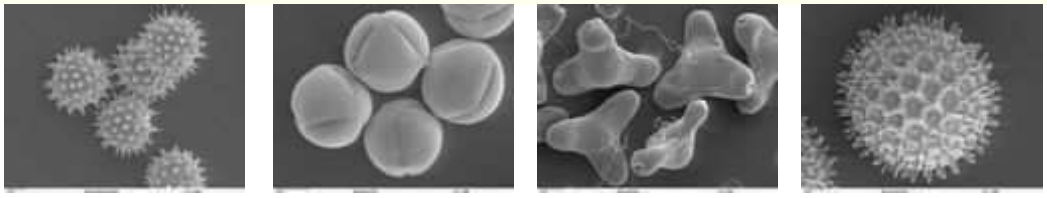
La palynologie apporte des éléments utiles dans les études de systématique végétale ;

La palynologie est l'étude des pollens fossiles, et permet de donner des informations sur le climat et la végétation au cours de l'ère quaternaire ;

L'aéropalynologie, qui consiste à analyser la présence dans l'air de différents types de pollens a des applications en médecine. (Pathologies allergiques) et en agronomie (pollinisation) ;

La mélissopalynologie est l'étude des pollens présents dans le miel, ce qui permet de détecter Les mélanges et les fraudes.





pollen de tournesol pollen de ricin *Oenothera fruticosa Ipomoea purpurea*

Figure, 6 : Pollen de plusieurs plantes : tournesol , (*Helianthus annuus*), volubils (*Ipomoea purpurea*),onagre (*Oenothera fruticosa)* et ricin commun (*Ricinus communis*).

5.1. Physiologie du grain de pollen

Le grain de pollen est constitué schématiquement d'une enveloppe pollinique comportant une membrane externe complexe : le sporoderme

Cette cellule centrale avec 2 noyaux est riche en acides aminés ,en vitamines hydrosolubles et en oligoéléments, notamment le sélénium. Le sporoderme a une vocation de protection de cette cellule qui est l'élément vivant important pour la plante .(Figure ,7). Une cellule vivante comme le pollen doit rester vivante pour pouvoir féconder la fleur.

Les principaux dangers sont : l'écrasement, la dessiccation, l'oxydation par l'air et la dégradation par les rayons ultraviolets .Le grain de pollen doit rester réactif vis à vis de l'environnement. Il doit germer sur le pistil de la fleur de la même espèce. Le grain de pollen gère tous ces dangers par sa constitution même.

- L' Ecrasement

La partie interne (intine) du sporoderme est constituée par un enchevêtrement de fibres de celluloses résistantes mais souples qui laisse le grain gonfler ou se rétracter.

- La dessiccation

L'exine contient des substances lipidiques qui s'opposent à la dessiccation et par conséquent à la mort du pollen .L'exine permet donc au pollen de rester hydraté, il est fondamental de respecter cette hydratation pour ne pas dégrader le grain de pollen.

- L'oxydation

Les acides gras du pollen sont les supports des antioxydants les plus puissants du règne végétal : tocophérols (vitamine E) provitamine A , vitamine D et phytostérols .Ce sont les substances biochimiques de protection de la cellule végétale .Les antioxydants sont d'un intérêt majeur en nutrition humaine(ou animale).

- Les rayons ultra violet

Le rayon ultra violet est très agressif sur les cellules .La vitamine E et la provitamine A protège des rayonnements solaires.

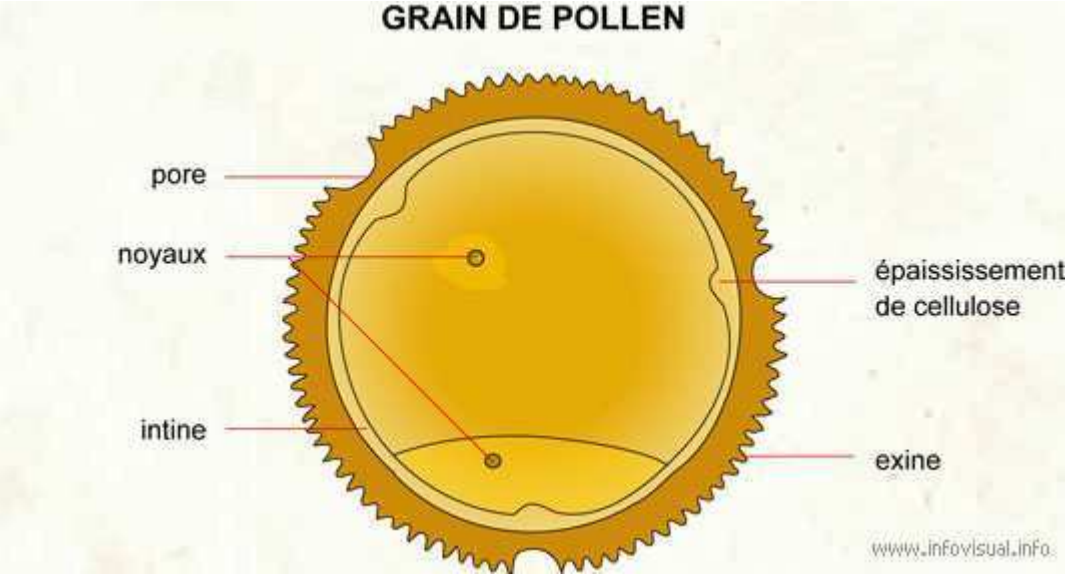


Figure ,7 : Schéma d'un grain de pollen (Anonyme ,5)

Grain de pollen: partie microscopique qui se forme dans l'anthère et qui sert d'agent mâle de fécondation des végétaux à fleurs.

Épaississement de cellulose: Épaississement fibreux.

Exine: couche externe du grain de pollen.

Intine: couche interne du grain de pollen.

Noyaux: centre de contrôle de l'activité cellulaire.

Pore: petit trou.

5.2. SPECTRE POLLINIQUE

La recherche du pollen dans le miel demande une certaine expérience et une connaissance des différents pollens. La taille et la forme des grains sont le premier indice pour déterminer l'espèce florale. Beaucoup de grains de pollens ont à peu prés la même morphologie il faut donc un œil avisé et expérimenté pour donner une réponse fiable.
Le matériel utilisé actuellement dans le domaine de la recherche facilite la tache. Des microscopes très performants permettent d'avoir des images très nettes et en trois dimensions.

Pour certains chercheurs, il est difficile de prévoir la réaction des abeilles dans le choix des fleurs. .Toutefois en faisant plusieurs comptages dans le même miel on peut conclure à une dominance florale. ; pour éviter des appellations frauduleuses.

5.2.1. Le contrôle de qualité et d'appellation

Lorsque l'analyse a pour objet de contrôler une appellation florale (miels de romarin, de lavande de sapin d'acacia …), l'analyse se borne à tester la conformité avec les normes admises. Les tests utilisables pour contrôler l'origine florale d'un miel sont nettement plus complexes que ceux relatifs à la qualité .Ils sont plus nombreux, et certains d'entre eux ne servent que dans des cas particuliers. Les miels d'une origine florale donnée ont une odeur et une saveur suffisamment caractéristiques pour que les caractères qui se dégagent de la dégustation soient discriminants et fortement pris en considération.

La dégustation d'un miel dans le but d'en déterminer l'origine florale ou de détecter des goûts parasites doit se faire selon une technique précise. Les sensations du dégustateur sont à la fois olfactives, gustatives et tactiles (Antinelli et Breyne, 2004).

5.2.2. L'examen microscopique du miel

L'examen microscopique va dans beaucoup de cas douteux permettre de trancher pour ou contre une appellation. Dans les miels naturels on peut trouver en suspension différents éléments : des spores, des levures, des champignons, des fragments de végétaux et du pollen (Antinelli et Breyne ,2004).

5.2.3. Les grains de pollen

Les grains de pollen proviennent des fleurs que l'abeille a visitées .En récoltant le nectar, elle touche les étamines .Des grains de pollen tombent dans les gouttelettes de nectar,

et celui-ci s’en trouve marqué d’une façon presque indélébile .Dans le jabot de l’abeille pendant le retour à la ruche une partie de ces grains de pollen vont être absorbés et passer dans l’intestin ; mais le reste demeurera dans le nectar ensuite dans le miel, jusque sur la table du consommateur.

Par des techniques très simples de dilution et de centrifugation du miel, on peut au laboratoire, séparer les grains de pollen et les autres constituants et confectionner des préparations microscopiques.

L’intérêt des grains de pollen présents dans le miel est d’être identifiables comme appartenant à telle ou telle espèce de plante, un œil exercé ne ferait pas de confusion entre le pollen d’acacia et celui de l’olivier .De plus le pollen est très résistant et se conserve très bien dans le miel (Rabiet ,1981).

5.2.4. L’origine des grains de pollen

L’identification sous le microscope de pollens contenus dans un miel porte le nom d’analyse pollinique. L’analyse pollinique aboutit à la détermination d’un **spectre pollinique**, c’est-à-dire la liste des plantes dont on a trouvé le pollen, avec le pourcentage de chacun de ces pollens .Reste à interpréter ce spectre qui moins facile que de l’établir et ce pour différentes raisons. L’expérience prouve qu’un miel de sainfoin récolté dans des conditions normales contient une majorité de grains de pollen de sainfoin et qu’un miel de colza contient lui aussi une majorité de grains de pollen de colza .Mais on peut dire que pour chaque plante ,il existe un rapport relativement fixe entre quantité de nectar et nombre de grains de pollen .Ce rapport dépend de la morphologie de la fleur ,du nombre des étamines et de la quantité de pollen qu’elles fournissent,ainsi que la quantité de nectar par fleur et de sa concentration .
Le robinier faux acacia fournit un nectar abondant et pauvre en pollen ; son miel sera en règle générale pauvre en pollen alors qu’un miel de colza ou de châtaignier sera toujours beaucoup plus riche.

Il faut savoir qu’un miel de miellat de sapin ne contient pas de pollen de sapin, en effet il n’existe aucun lien entre la floraison du sapin et la production de miellat .En revanche les gouttelettes de miellat tombées sur les feuilles constituent des pièges gluants pour les pollens flottants issus de plantes anémophiles, on va donc retrouver dans le miel de miellat du sapin toutes sortes de grains de pollen (Antinelli et Breyne 2004).

5.2.5. Principaux types de miel dans le monde

Les miels sont séparés en deux catégories distinctes : Les miels mono floraux qui proviennent d'une façon prédominante d'une plante déterminée (acacia, romarin..) et les miels polyfloraux, qui proviennent de multiple récoltes faites par les abeilles sur une période plus ou moins longue et sans dominance nette d'une plante particulière .Les miels « monofloraux » appelés aussi « unifloraux », ou encore « Miels de cru », tandis que les miels polyfloraux sont communément appelés « Miels toutes fleurs».

a) Miels de colza

Produit à partir du nectar des fleurs de *Bassica napus var oleifera*, plante oléagineuse. Le miel de colza est récolté en mai-juin, saveur douce, sans caractère bien net, teneur en eau en moyenne 18%.Le pH relativement élevé (pH 4). Le spectre des sucres est caractérisé par l'abondance du glucose (48%), qui domine nettement sur le fructose (44%), les sucres mineurs sont peu abondants (4,5%).Ce spectre montre une nette tendance à la cristallisation spontanée et très rapide.

Le spectre pollinique montre un fort pourcentage de pollen de colza (95%), les pollens secondaires sont rares .Ces pollens secondaires appartiennent à la flore printanière assez banale, (arbres fruitiers, pissenlit saule) qui n'est caractéristique d'aucune région précise **(**Bocquet. 1994à 2001).

b) Miels d'acacia

Dans le monde, le robinier faux acacia est planté sur plus de trois millions d'hectares.ce qui le place juste après l'eucalyptus et les peupliers hybrides. (Keresztesi ,1988). C'est le miel produit par les fleurs du robinier faux acacia (*Robinia Pseudoacacia*).

Le miel est récolté en juin ,très clair beaucoup de finesse .Teneur en eau inférieure à 18% , pH 4.

Le spectre des sucres est très intéressant par sa richesse en lévulose (près de 50%) et sa pauvreté en glucose (34%).Les sucres secondaires (10%) de disaccharides (saccharose et maltose), 3% d'erlose sucre spécifique des miels. Une telle composition en sucres a pour conséquence une faible cristallisation.

Lorsqu'un miel d'acacia est très pur, son spectre pollinique est pauvre en espèces .Le pollen d'acacia domine (Belin ,1989).

c) Miels de lavande

Issus des fleurs de lavande du genre *Lavandula* ainsi que leur hybrides cultivés sous le nom de lavandin. Les miels de lavande fine sont plus colorés que ceux de lavandin ; cela peut provenir du fait que le pollen de lavande soit très pigmenté .Chez les lavandins, hybrides stériles, les étamines sont vides ou presque .Le nectar n'est donc pas enrichi en pigments par le pollen et le miel est très clair **(**Boquet ,1999-2001).

Les miels de lavande et de lavandin sont pauvres en eau souvent moins de 17%.

Avec un pH de 3,5 le spectre des sucres montre un équilibre entre le lévulose (42%) et le glucose (39%) ; les disaccharides sont abondants (13%), surtout le saccharose.

Les miels de lavandin cristallisent rapidement et à grains fins, ceux de la lavande sont à, cristallisation lente et grossière .le spectre pollinique révèle une forte présence de pollen de lavande **(**Boquet ,1999-2001).

d) Miels de romarin

Issus des fleurs de romarin *Rosmarinus officinalis* . La récolte se fait en Mai, la teneur en eau du miel est de (17,5%), son arôme très délicat ; leur goût est très fin lorsqu'ils sont très purs.Leur pH environ 3,8 ; le spectre des sucres, glucose (39%), fructose (43%), les disaccharides (13%) surtout du maltose et 2% d'erlose. Cristallisation rapide à grains fins.

Le pollen de romarin peut être différemment représenté selon les régions de production. Il peut arriver qu'un miel de romarin ne contienne guère plus de 10% de pollen de romarin, les autres fleurs étant très représentatives de la flore visitée par les abeilles pour le pollen.

D'une façon générale, les miels de romarin sont riches en espèces. ; Il est courant de trouver plus d'une trentaine de type de pollen dans un même miel ce qui indique une flore locale très variée (Sabot 1980).

e) Miels de callune

Les miels de callune sont produits par les abeilles à partir du nectar de la bruyère callune, *calluna vulgaris* .Le miel de callune a des caractères tellement originaux qu'on ne saurait les confondre avec aucun autre .Il a une saveur corsée, légèrement amère, et une odeur florale puissante.

La teneur en eau est élevée : souvent égale à 22 ou 23 %, ce qui est anormal pour un miel ordinaire mais admis pour un miel de callune pur .On note également une certaine turbidité, due à la présence de protéines.

Le pH est compris entre 4 et 4,6 ; l'acidité est moyenne .Le spectre des sucres note une dominance nette du fructose sur le glucose et le peu d'importance des sucres secondaires. Cette composition entraîne une faible vitesse de cristallisation. On peut encore noter comme caractère original, une forte teneur en amylase.

Le spectre pollinique des miels de callune peut révéler une faible teneur en pollen de callune, ceci est du au mode d'extraction assez particulier, utilisation de picoteuse, entraîne dans le miel une quantité importante de pollen stocké par les abeilles(Bocquet., 1994-2002).

f) Miels de miellat de sapin

Du fait de leur composition très particulière, les miels de sapin ont une saveur douce, peu sucrés, et leur arome est faible. Teneur en eau 18%, viscosité normale, pH assez élevé (4,6 à 5).

Le spectre des sucres est nettement différent de celui des miels à fleurs de qualité courante. Le fructose (37%) domine sur le glucose (32%) on trouve (11%) de disaccharides et du mélézitose (10%). L'activité antibactérienne est plus forte que celle des miels floraux .
Les miels de sapin jouent un très grand rôle en Europe centrale en raison de l'étendue des forêts de conifères en Allemagne, en Suisse, en Autriche et au-delà vers l'Est (Bloc, 1987).

g) Miels unifloraux divers

Les quelques miels que nous venons d'évoquer sont les plus connus et qui jouent un rôle important dans l'économie des pays producteurs de miel .A coté de ces miels très réputés il existe une vingtaine de miels qui peuvent être obtenus à l'état unifloral plus ou moins régulièrement .

-Moutarde des champs *(Sinapis arvensis).*

Il existe de grandes analogies entre le miel de colza et celui des crucifères botaniquement voisines, (appartiennent aux genres *Sinapus, Raphanus* et *Brassica*. Le miel de moutarde est un miel clair à cristallisation très rapide (Sabot , 1980).

-Tilleul (*Tilia)*

Les miels sont clairs avec des reflets verts, leur teneur en eau est élevée, arôme très prononcé il rappelle la plante d'origine .La cristallisation est rapide ils contiennent souvent du miel de miellat, car les tilleuls hébergent de nombreux pucerons.

Le miel de tilleul contient 36,5% de glucose et 39,27% de lévulose le tilleul en pleine floraison peut donner 1000kg de miel à l'hectare (un seul arbre donnant jusqu'à 16kg de miel) Les miels de tilleul très purs, en provenance de Russie, de Pologne et d'extrême Orient ont un arôme très fort. (Bouseta *et al* ., 1992) .

-Saule(*Salix alba L*.)

Les saules sont parmi les premiers arbres à fleurir et fournissent ainsi pollen et nectar dès mars –avril. Si le saule blanc produit pollen et nectar, c'est toutefois le saule marsault (*Salix caprea)* qui est le plus productif : 150 kg/ ha. Il donne un miel jaune d'or qui cristallise finement (Renaud *et al.*, 2005).

-Luzerne *(Medicago sativa)*

Le miel de luzerne est clair, de goût neutre, qui cristallise rapidement et sous une forme assez grosse,il contient 36,8% de glucose,40,24 % de lévulose ;1hectare de luzerne produit environ 380kg de miel (Sabot,1980) .

-Trèfle blanc (*Trifolium repens*)

Le miel de trèfle blanc est un miel d'excellente qualité, arôme peu prononcé à cristallisation fine. (Abeille de France ,janvier 2005). Renaud et Delaunay

-Trèfle violet (*Trifolim pratense)*

Miel clair de saveur agréable, cristallise rapidement.Le trefle produit environ 100kg de miel par hectare. .Il contient 36,96% de glucose et 40,24% de lévulose (Renaud et Delaunay, 2005)

-Sainfoin (*Onobrychis sativa)*

Les miels sont d'excellente qualité, pauvres en eau ; leur cristallisation est fine .La production de miel est d'environ 600kg par hectare . (Sabot, 1980)

-Arbres fruitiers (*Prunus*, *Pyrus*.)

Les miels des arbres fruitiers sont assez rares à l'état pur .Les miels de pommier sont clairs, à cristallisation rapide et à grain fin.

-P**oirier,(***Pyrus communis***)**

la production de nectar par fleur varie suivant les variétés de 0,8 à 2mg .La concentration en sucre du nectar du poirier oscille entre 2 et 37%.

-Abricotier,(Prunus armeniaca)

Les fleurs d'abricotier sont attractives par leur couleur .Les nectaires peuvent sécréter 5mg de nectar par fleur et par jour .La concentration en sucre du nectar varie de 5 à 25% (Donadieu, 2005).

-Aubépine (*Crateagus oxyacantha)*

Cristallisation rapide, gout agréable .(Louveaux,1985)

-Ronce (*Rubus)*

Miel clair, de bonne qualité et de saveur agréable, qui cristallise lentement.

-Lierre (*Hedera helix*)

Miel de coloration moyenne et cristallisation rapide.

-Tournesol (*Heliantus annus)*

Miel de belle couleur, agréable, ne cristallise pas rapidement. Un hectare donne environ 50kg de miel .

-Bleuet (*Centaurea cyanus*)

Miels clairs, cristallisation fine, légèrement amers.

-Pissenlit (*Taraxacum dens-leonis).*

Les miels de pissenlit ont une couleur jaune oranger, saveur forte, cristallisation rapide et à gros grains.il contient 36,64%de glucose et 51,50%de lévulose .

-Rhododendron (*Rhododendron)*

Le miel est clair, saveur douce, cristallise lentement. Car ils sont riches en fructose et en saccharose.

-Bruyère cendrée (*Erica cinerea).*

Cette bruyère donne un miel très coloré d'un goût très fort.

-Bruyère arborescente *(Erica arborea)*

Le miel n'est pas très connu à l'état pur.

-Thym (*Thymus vulgaris*)

Coloration moyenne des miels qui sont très aromatiques.

-Sarrasin (*Fagopyrum esculentum)*

Sa production est très réduite à l'état pur .C'est un miel bien caractéristique ,à la fois par sa couleur d'un roux très foncé et par son arôme tout à fait spécial ,très recherché pour la fabrication de pain d'épices au miel .

-Bourrache (*Borago officinalis* **)**

La bourrache plante mellifère, produit environ 200kg / ha d un miel clair à odeur et goût agréable.

-Châtaignier (*Castanea sativa*)

Le pollen de châtaignier est présent dans une forte proportion de miels français récoltés après le mois de juin.

La composition des miels de châtaignier a fait l'objet de nombreuses études. On sait qu'ils sont plus riches en fructose qu'en glucose, donc une cristallisation lente .Ils sont riches en diastases (Donadieu, 2005) .

h) Miels exotiques

Les miels produits en Europe et en Amérique du Nord sont de loin les mieux connus du point de vue de la composition et des propriétés .Ils ne représentent qu'une petite partie de la production mondiale de miel .D'immenses territoires de l'Afrique, de l'Asie, de l'Australie et des Amériques centrale et du Sud produisent des miels dont la composition est assez peu connue.

-Les miels d'eucalyptus sont de qualité très variable selon qu'ils proviennent de l'une ou de l'autre des quelques cinq cents ou six cents espèces existantes et dont beaucoup sont mellifères .Ils ont une odeur caractéristique .

-Les miels dits « d'oranger »provenant des cultures d'agrumes, qu'il s'agisse d'orange de citron ou de pamplemousse. Miels produits dans les pays méditerranéens et en Californie.

-Les miels de vipérine, de coton, de liriodendron, d'acacia..., sont des miels exotiques assez connus (Louveaux, 1985) .

i) Miels polyfloraux

Les miels polyfloraux représentent la part la plus importante de la production.

En effet pour produire des miels monofloraux, il faut installer des ruches à proximité de sources importantes de nectar ou de miellat de la plante recherchée.

Les miels polyfloraux sont des produits essentiellement variables de composition complexe.

Dans la région de Sétif tous les miels sont polyfloraux .Il existe quelques légères dominances de certaines espèces mais le spectre pollinique ne révèle pas de dominance florale

(Maurizio, 1985).

5.2.6. Composition du pollen

Le pollen est un aliment très riche, de composition variable .Les principaux constituants peuvent connaître des différences plus ou moins importantes suivant les espèces les saisons et les années et pour une même espèce, le lieu de culture .Néanmoins il y'a une idée générale représentée dans le schéma suivant (Figure, 8).

5.2.7. Le pollen, complément alimentaire majeur

Le pollen est un aliment très riche en tous les éléments nécessaires à l'abeille les anglais l'appellent « le pain d'abeilles ». Les tableaux (9 et 10) nous donnent plus d'information sur les constituants majeurs du pollen et les oligoéléments présents.

Nous avons inséré un tableau des besoins quotidiens ou Apports Journaliers Recommandés pour l'homme afin de mieux apprécier la richesse de cet « aliment ».

Certains minéraux sont peu représentés dans le pollen, comme la silice, le calcium le magnésium, 3% de l'AJR, le cuivre 17% le fer, le phosphate et le molybdène 8% . .

Pour trois éléments, les teneurs participant de manière courante à l'alimentation ; le chrome 12%, et surtout le zinc et le manganèse 17% ; d'autant que ces oligoéléments sont souvent très peu présents et qu'ils interviennent dans de nombreuses réactions biologiques .Le zinc permet l'activité de plus de 200 enzymes touchant tous les métabolismes.

Le pollen est donc un excellent complément alimentaire pour l'homme, un apport d'une à deux cuillères à soupe (12g) par jour est conseillé pour l'homme soit à titre thérapeutique ou pour son entretien quotidien **(**Louveaux *et al* ,1985).

Tous les auteurs donnent à peu prés les mêmes valeurs .Les différences s'expliquent par le fait qu'ils n'ont pas travaillé sur le même matériel (pollen), ni avec les mêmes méthodes. La composition du pollen d'après Jean - Prost (1985) ne diffère pas tellement, les teneurs en quelques éléments sont très rapprochées.

Eau 30 à 40%

Protéines 11 à 35% parmi lesquels de nombreux acides aminés

Des glucides (sucres, amidon 20 à40%

Des lipides (matières grasses) 1 à 20%, peu dans les pollens **anémophiles**, davantage dans le pollen entomophile

Des matières minérales : 1 à 7 % des résines

Des matières colorantes

Des vitamines A, B, C, D, E

Des enzymes, des antibiotiques.

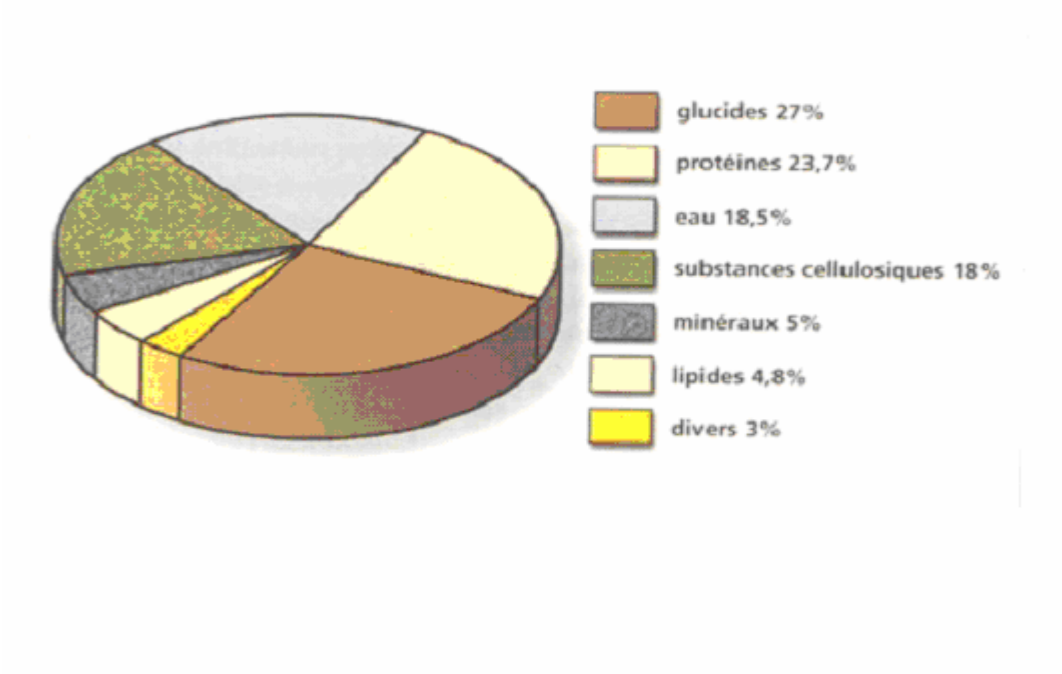


Figure ,8 : Composition du pollen (Anonyme, 4)

Tableau,9 : Dosage des matières minérales et oligoéléments en % des cendres (Anonyme,5).

		AJR EN MG FAO/OMS
Potassium	**20 à 45**	**2000 à 6000 mg**
Magnésium	**1 à 12**	**300 à 400 mg**
Calcium	**1 à 1, 5**	**900 à 1000 mg**
Cuivre	**0,05 à 0 ,08**	
Fer	**0,01 à 0, 3**	**12 à 18 mg**
Silicium	**2 à 10**	
Phosphore	**1 à 20**	**700 à 900 mg**
Soufre	**1**	
Manganèse	**1,4**	
SELENIUM DANS12 G DE POLLEN	**600 à 700 mg dans 12 g**	**55 à 70 microns g**

Tableau,10 : les composants du pollen **(**Louveaux *et al* ,1985).

Composants	TENEUR EN G POUR 100G MS		BESOINS QUOTIDIENS A.J.R.
	MINIMUM	MAXIMUM	
EAU	3 %	4 %	
Sucres réducteurs	20 %	40 %	
Sucres non réducteurs	0 %	20 %	
LIPIDES (AGV)	1 %	20 %	
PROTIDES	11 %	35 %	60 g à 80 g
CENDRES	1 %	7 %	
ACIDES AMINES (EN % DU POIDS SEC TOTAL)			
ARGININE	4,4 à 4, 7		
HISTIDINE	2,0 à 3,5		
ISOLEUCINE	4,5 à 5,8		12 à 28mg
LEUCINE	6,7 à 7, 5		16 à 42mg
LYSINE	5,9 à 7,0		12 à 44mg
METHIONINE	1,7 à 2,4		10 à 22mg
PHENYLALANINE	3,7 à 4, 4		16 à 22mg
THREONINE	2,3 à 4,0		8 à 28mg
TRYPTOPHANE	1,2 à 1,6		3 à 4mg
VALINE	5,5 à 6,0		14 à 25mg
DOSAGE DES VITAMINES EN (µg/g)			
THIAMINE OU VIT B1	5,75 à10, 8 mmg		1,1 à 1, 5 mg
RIBOFLAVINE OU VIT B2	16,3 à 19,2mmg		1,4 à 1, 8 mg
VITAMINE A	50 à 200 mg/kg		800 à 900microns g
VITAMINE C	70 à 300 mg/kg		30 à 40 mg
VITAMINES TOUS LES GROUPES			
ANTIBIOTIQUES	Présence		

D’après Louveaux ,(1985) la teneur en protéines peut varier entre 7 et 30% elle est en moyenne de 20% . La plupart des acides aminés sont présents soit à l’état libre soit dans les protéines. La fraction lipidique du pollen est d’importance très variable selon que celui-ci est anémophile ou entomophile .Les pollens entomophiles enrobés d’un liant gras en sont riches ; ainsi le pollen de Pissenlit contient plus de 14% de lipides alors que quelques pollens de pins dépassent à peine 2%. Les glucides du pollen sont surtout des sucres ; une bonne partie de ces sucres (glucose, lévulose) provient du nectar utilisé par l’abeille pour confectionner ses pelotes.

5.2.8. Protéines et acides aminés

La teneur en protéines varie fortement selon le type de plantes .Seul environ 1/10 sont des acides aminés libres .La détermination des protéines est effectuée par dosage de l’azote
Le taux de protéines a fait l’objet de plusieurs études

5.2.9. Lipides

Dans ce cas aussi il y’a des différences selon le type de plante. Les lipides, composés principalement de matières grasses polaire et neutre (mono glycérides, diglycérides et triglycérides) et de petites quantités d’acides gras.

5.2.10. Sucres

Se trouvent en grandes quantités dans le pollen, ils composent le grain de pollen si on doit considérer la matière cellulosique et l’amidon.

5.2.11. Sels minéraux et éléments de trace

Les fluctuations naturelles sont considérables, le potassium étant cependant un des composants principaux.

5.2.12. Vitamines

Le pollen contient diverses vitamines la concentration en vitamine C couvre les besoins journaliers .Le pollen contient également des flavonoides qui sont des antioxydants très intéressants du point de vue alimentaire.

Pour conclure ce chapitre sur le pollen, nous dirons qu’il y’a encore des choses à découvrir pour peu que les moyens de dosages et d’analyses soient simplifiés et accessibles.

6. BACTERIES LACTIQUES ET PROBIOTIQUES

La prise en compte du lien entre l'alimentation et la santé dans l'esprit du consommateur a augmenté considérablement, notamment en Europe .De plus en plus de gens adhèrent à l'idée qu'il est possible de réduire le risque de maladies et de demeurer en bonne santé en adoptant un style de vie, une bonne alimentation.

De plus, le développement d'aliments fonctionnels, dont ceux contenant des probiotiques est de plus en plus renforcé par :

- le vieillissement de la population
- l'augmentation du coût de soins de santé,
- le désir du consommateur à une certaine autonomie dans la gestion de son capital santé
- l'existence plus importante d'arguments scientifiques solides reliant alimentation et pathologies;
- l'opportunité offerte ainsi à l'industrie alimentaire d'entrer dans un second souffle ;
- l'évolution de la législation.

La quête d'une consommation de produits « Santé » par le consommateur semble en effet résulter de plusieurs facteurs, à la fois sociologiques, scientifiques et économiques.

Au cours des trente dernières années, le concept de probiotiques a pris racine dans l'industrie alimentaire (Anonyme, 6. 2003).

6.1. Les allégations santé relatives à l'utilisation des probiotiques

Dans le domaine alimentaire ,une allégation est une mention qui indique qu'une denrée alimentaire possède des caractéristiques ,propriétés ou effets particuliers liés à son origine ; ses propriétés nutritives sa nature sa production ,sa transformation sa composition ou toute autre qualité .

Sous la définition générale reconnue au niveau international, le Codex alimentarus a établi une typologie des allégations à trois grands groupes :

6.1.1. Les allégations nutritionnelles quantitatives

Elles apportent des informations relatives aux quantités de nutriments, énergétiques ou non, présents dans l'aliment .Ces quantités sont indiquées en grammes assortis éventuellement du pourcentage qu'elles représentent par rapport aux apports journaliers recommandés (AJR).

6.1.2. Les allégations fonctionnelles

Elles décrivent l'effet physiologique d'un nutriment sur une fonction de l'organisme : exemple le calcium participe au maintien du capital osseux.(Martin ,2001)

6.1.3. Les allégations sante

Elles correspondent à toute indication ou présentation publicitaire établissant ou suggérant un lien entre un produit et la santé.

De nombreuses recherches scientifiques permettent de justifier l'utilisation des allégations santé pour les produits contenant des probiotiques .Les autorisations d'usage sont très différentes selon les pays (Martin, 2001).

Au Japon, les produits alimentaires reconnus comme FOSHU (Food For Spécial Heath Use) doivent être approuvés par le ministère de la santé

6.2. Rôles et intérêts des bactéries lactiques

6.2.1. Pharmacologie des bactéries lactiques chez l'homme :

Le mode d'action du pro biotique est de mieux en mieux compris grâce à une approche pharmacologique. Cette dernière a pour but d'identifier les principes actifs, et décrire leur pharmacocinétique et démontrer les effets bénéfiques ou néfastes.

6.2.2. Principes actifs :

Les principes actifs des probiotiques ne sont pas les mêmes pour tous les effets. Certains sont bien établis, notamment des enzymes qui peuvent être actives dans l'intestin ex : la lactase des bactéries lactiques. (Marteau et Shanahan 2003).

6.2.3. Pharmacocinétique (survie dans l'intestin - adhérence –colonisation)

La plupart des études de pharmacocinétiques ont décrit le devenir des probiotiques ingérés, c'est-à-dire leur survie dans le tractus intestinal.

6.3. Méthodes d'étude

Des modèles *in vitro* peuvent aider à prédire la survie de probiotiques *in vivo* ; leur adhérence à l'épithélium ou au mucus intestinal (Lee *et al*.2000 ; Ouwehand *et al*; Servin et Coconnier, 2003 ; Marteau et Shanahan, 2003).Il est ainsi possible d'étudier la sensibilité de la souche au pH ou aux concentrations d acides biliaires.

Les spores de *Bacillus thermophilus* sont souvent utilisées comme marqueurs de transit parce qu'elles ne se multiplient pas et ne sont pas détruites dans le tractus gastro

intestinal Marteau et Sanahan, 2003).

Il est souvent cité que les concentrations de probiotiques doivent viser à dépasser 10^6 UFC/g dans l'intestin grêle et de 10^8 UFC/g dans le colon, cependant la base scientifique de ces données est fragile.

L'expression des résultats de survie en pourcentage est souvent utilisée car elle permet une comparaison facile de différents probiotiques. Cependant, c'est la concentration de probiotiques au site d'action qui est la plus importante.

6.4. Facteurs influençant la pharmacocinétique des probiotiques

La survie des probiotiques dépend de leur résistance intrinsèque,de facteurs liés à l'hôte et du vecteur alimentaire ou galénique dans ou avec lequel ils sont ingérés. La sécrétion acide gastrique constitue un facteur de défense majeur et la résistance à l'acide diffère fortement entre micro-organismes(Simon et Gorbach,1997 ;Cook,1994). La bile,tout particulièrement les acides biliaires ,est le second facteur important qui,par exemple,influence le pourcentage de survie de lactobacilles ou bifidobactéries ingérées (Simon et Gorbach,1997 ; Marteau *et al.*,1997). L'équilibre de la flore et le devenir des probiotiques ingérés dépend aussi d'interactions microbiennes qui influent la compétition pour des substrats ou pour des sites d'adhérence et les modifications de l'environnement par des sécrétions bactériennes comme celles des bactériocines (Simon et Gorbach,1997).

6.5. Survie de probiotiques ingérés dans le tube digestif et colonisation

Certains micro-organismes sont détruits dés leur passage dans l'estomac alors que d'autres ont une capacité de survie jusque dans les selles .Les bactéries du yaourt *lactobacillu*s *delbruekii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* ont une résistance à l'acide faible et sont rapidement détruites en quelques minutes à pH 1. Pochart *et al* .,ont observé que les concentrations de bactéries viables parvenant au duodénum chez les sujets sains ayant ingérés 430g de yaourt contenant 10^7 UFC/ml était d'environ 10^5 UFC/ml au moment du pic (Pochart *et al .,1999).*Certains auteurs ont observé la survie de quelques bactéries du yaourt jusqu'à la fin de l'iléon terminal chez une partie de**s** sujets volontaires.

La possibilité d'une colonisation durable de l'écosystème digestif par un probiotique a été considéré pendant longtemps comme conceptuellement impossible en raison d'un grand déséquilibre de force en faveur de l'écosystème endogène, quantitativement plus abondant et surtout occupant les sites d'adhérence. La majorité des travaux a confirmé ce dogme de « résistance à la colonisation » encore appelé « effet de barrière » (Ducluzeau ,1999).

Néanmoins, plusieurs études convaincantes ont aussi désormais montré que des souches adhérentes de *L .plantarum* et *L. rhamnosus* pouvaient coloniser de manière prolongée la muqueuse jéjunale et /ou rectale chez quelques sujets .Johanson *et al* ont été les premiers à montrer la possibilité d'une colonisation durable de la muqueuse intestinale par des probiotiques ingérés (Johanson *et al* .1993).

6.6. Effets démontrés

L'évaluation des probiotiques n'échappe pas à la règle désormais générale dite de «*évidence–based médecine* » ou de « médecine fondée sur les preuves » qui exige que toute affirmation scientifique soit caractérisée par un niveau de preuve.

6.6.1. Amélioration de la digestion du lactose

Le premier effet démontré avec un haut niveau de preuve a été l'amélioration de l'intolérance au lactose et de la mal absorption de ce sucre par des bactéries lactiques et tout particulièrement celles du yaourt (Kolars *et al.* ,1984 ;Marteau *et al.*,1990 ; De Verse *et al* .,2001).

Le lactose est un disaccharide formé de glucose et de galactose reliés entre eux par une liaisons sa digestion nécessite une lactase qui coupe cette liaison et autorise alors l'absorption des sucres simples libérés .Plusieurs situations peuvent diminuer la digestibilité du glucose la plus fréquente est le déclin physiologique de l'activité lactasique (Marteau et Korpela, 2000).

Trois explications possibles à cet effet clinique ont été recherchées :

- une action de la lactase véhiculée par les probiotiques dans l'intestin ;
- une stimulation de la lactase intestinale humaine résiduelle par les probiotiques en transit ;
- un ralentissement du transit intestinal ou de la vidange gastrique permettant une meilleure digestion du lactose par la lactase humaine résiduelle.

Plusieurs travaux explicatifs ont montré que la lactase des bactéries lactiques participait à la digestion du lactose dans l'intestin (De Vrese *et al* .2001).

6.6.2. Autres effets directs enzymatiques

Dans un modèle d'insuffisance pancréatique exocrine, un lactocoque génétiquement modifié pour libérer de la lipase améliorait la digestion des lipides (Drouault *et al.2002*).

6.6.3. Effet curatif

L'utilisation de probiotiques ou de produits laitiers fermentés au cours des gastro entérites aigues est une pratique répandue.

Plusieurs mécanismes ont été proposés et étayés pour expliquer cet effet thérapeutique. Parmi les hypothèses avancées (qui ne s'excluent pas mutuellement) figurent : une immunomodulation (par exemple une augmentation significative de cellules circulantes capables de sécréter des immunoglobulines).

6.6.4. Effet préventif

Dans l'essai de Savedraa *et al. (*1994), une association de *Bifidobactérium* et *S thermophilus* ajoutés au lait usuel diminuait de moitié le risque de diarrhée nocosomiale. Le mécanisme de l'effet préventif (qui ne semble pas universel) n'est pas connu mais ces travaux ont, du fait de la fréquence de la pathologie un grand intérêt

6.7. Probiotiques et alicaments

Les probiotiques sont des microorganismes ingérés vivants .Généralement, il s'agit de bactéries ou de levures présentes soit dans des aliments soit dans des médicaments ou des compléments alimentaires.

Les genres bactériens les plus fréquemment retrouvés dans des préparations revendiquant des propriétés probiotiques sont Bifidobactérium, Lactobacillus acidophilus ; L.casei, L.rhamnosus L.plantarum, Enterococcus facium.
(Saarela *et al.*200Morelli, 2000 ; Dunne *et al.*2001)

6.8. Caractéristiques proposées comme critères pour aider à la sélection des microorganismes potentiellement probiotiques

L'innocuité totale doit être le premier critère ,les bactéries lactiques (*Lactobacille*s et *Bifidobactéries*) ont prouvé leur innocuité chimique dans l'organisme .(Marteau e*t al* ,1998)

- Absence de toxicité ou pathogénie
- Possibilité de production à grande échelle,
- Possibilité de cryoprotection
- Propriétés organoleptiques et technologiques
- Résistance à l'acide
- Résistance à la bile
- Adhérence à plusieurs lignées de cellules intestinales et /ou au mucus.
- Production de substances d'intérêt (bactériocines …).

6.9. Flore intestinale, un enjeu sur la santé

La qualité de la flore intestinale est importante pour l'assimilation, pour l'immunité, pour réguler le transit et pour la synthèse des vitamines et des acides aminés.

Assimilation : car elle possède un énorme potentiel enzymatique, qui la rend capable dégrader des nutriments et des micronutriments assimilables.

Immunité : car elle filtre les déchets et élimine les agresseurs (toxines, bactéries étrangères, virus) et donc allège le travail du foie.

6.9.1. Les prébiotiques

Ce sont des nutriments qui vont être les plus adaptés pour nourrir la flore intestinale ; ils vont permettre la croissance de la flore en optimisant l'activité des bactéries lactiques Ces prébiotiques sont des fibres des glucides naturels d'origine végétale .

Ils résistent à la digestion (humaine), arrivent dans leur totalité dans le gros intestin et sont utilisés par la flore du colon comme nutriments.On trouve des prébiotiques dans toutes les graines germées, dans les céréales, pollen frais**,** le lait de jument en poudre **(**Marteau et Rambaud,1998)

6.9.2. Les probiotiques

Ce sont des bactéries vivantes ou revivifiables qui vont améliorer, stabiliser et reconstituer une flore intestinale saine.

Les probiotiques, ce sont les souches de bifidobactéries, les lactobacilles les streptococcus

Ce qui est important dans le choix d'un probiotique c'est qu'il puisse arriver intact dans les intestins après avoir passé l'estomac. La Figure (9) montre la répartition de la flore gastro-intestinale de l'homme (Gibson et Roberfroid ,1995).

6.9.3. Les ferments du pollen

En 1952, les professeurs Chauvin et Lavie ont observé in vitro que le pollen exerçait un effet antibiotique à l'encontre de certains germes pathogènes de la flore intestinale de passage humaine (*Proteus, Salmonella, E. coli….)*

En 1960, Pain et Maugenet ont montré que le pollen stocké dans les ruches subissait une fermentation lactique permettant sa conservation .Les microorganismes ou ferments qui interviennent dans cette fermentation sont apportés par l'abeille .En effet ces germes prolifèrent dans le tube digestif de l'abeille et notamment dans son jabot rempli de nectar

servant à la confection de pelotes au cours du butinage et constituant la seule source d'ensemencement des pelotes de pollen .

Face à ces données bibliographiques l'axe de recherche et développement relatif à l'étude du pollen frais s'est articulé autour de la présence de ferments lactiques dans le pollen et son pouvoir anti bactérien.

Les travaux effectués par Lamine ont montré la présence de flore lactique dans le pollen de l'ordre de quelques millions de germes par gramme .Cette teneur est fortement réduite voire, inexistante dans le pollen séché.

Les tests réalisés in vitro, relatifs à l'activité antibactérienne du pollen ont révélé que ce sont les bactéries lactiques présentes à l'état naturel dans ce produit qui sont responsables de cette activité (Anonyme ,6). Par ailleurs ce phénomène s'apparente plus à un effet barrière qu'à une réelle présence d'antibiotiques dans le pollen.

Les bactéries lactiques ont été classées parmi les probiotiques par plusieurs chercheurs. Depuis un certain nombre d'années, il fallait apporter la preuve de leur action dans l'organisme, les recherches ne se sont jamais arrêtées.

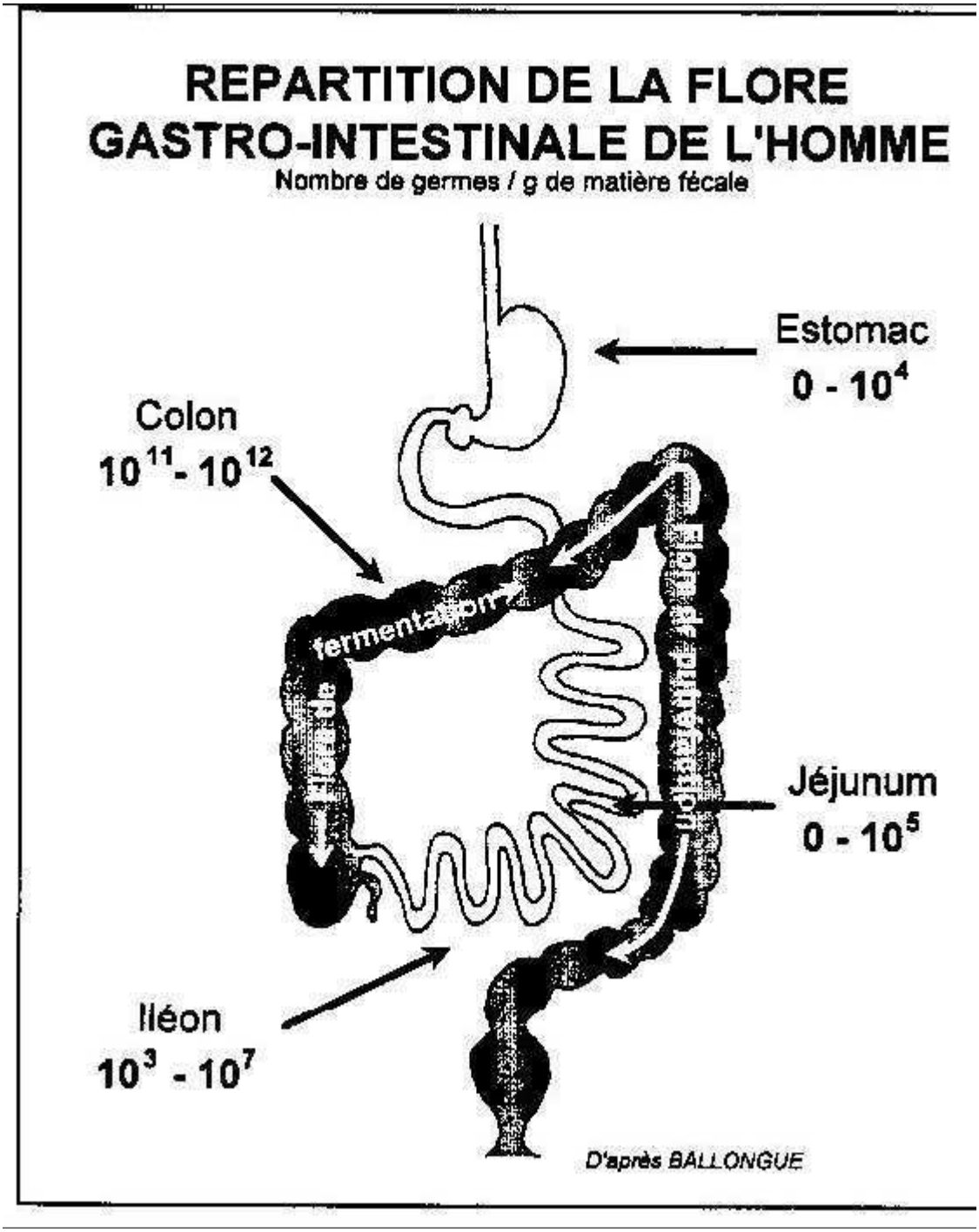


Figure ,9 : Répartition de la flore gastro-intestinale de l'homme (Gibson et Roberfroid ,1995)

7. LES BACTERIES LACTIQUES

7.1. Définition

On désigne sous le nom de bactéries lactiques un ensemble de bactéries procaryotes hétérotrophes, morphologiquement et physiologiquement hétérogènes.

Leur métabolisme glucidique a pour principal produit terminal l'Acide Lactique sous différentes formes.

```
                COOH                          COOH
                 I                             I
D(-)          H - C - OH          L(+)      OH - C  - H
                 I                             I
                CH3                           CH3
```

La quantité de cet acide est liée à la quantité de substrat dégradée (hydrate de carbone) et de la voie métabolique empruntée pour cette excrétion :

La voie d'Embden Meyerhof Parnas (E.M.P) dans laquelle le catabolisme du glucose donne exclusivement de l'acide lactique : c'est l'homofermentation.

La voie des pentoses –phosphate dans laquelle le catabolisme du glucose donne outre l'acide lactique, le dioxyde de carbone, l'éthanol et de l'acide acétique, c'est l'hétéro fermentation.

7 .2. Propriétés générales

A quelques exceptions prés les principales caractéristiques des bactéries lactiques ou groupe lactique sont d'être GRAM positif, Immobiles, asporogènes, anaérobies mais aérotolérantes

De ne posséder ni catalase (certaines souches possèdent une pseudo catalase),

Ni nitrite réductase ni cytochrome- oxydase et de produire des quantités abondantes d'acide lactique par fermentation de substances hydrocarbonées .Parmi les bactéries répondant à ces caractéristiques on distingue quatre genres bactériens (Tableau, 14 et Tableau, 15).

Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus et Lactobacilles.

Selon Ingram (1975), il existerait autour d'un groupe de bactéries lactiques typiques une zone périphérique constituée d'espèces ou de genres intermédiaires mal définis.
Ce point de vue n'est pas partagé par London qui estimait en 1976 , que les études réalisées au cours des vingt dernières années concernant l'écologie la phénotypie ,et la génotypie des bactéries lactiques confirment l'intuition d'Orla- Jensen qui dès 1919 assimilait ces bactéries à « un groupe naturel » .

Ainsi, pour London il parait clair que l'existence chez toutes les bactéries du groupe lactique d'enzymes spécifiques du métabolisme énergétique démontre l'étroite affinité naturelle et donc l'étroite relation phylogénique entre les genres ; *Streptococcus ,Leuconostoc Pediococcus et Lactobacillus* .

7.3. Origines

Des bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavités buccales et vaginales, fèces …).
Certaines espèces semblent adaptées à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées que dans leur habitat naturel

Si les connaissances dans le domaine restent fragmentaires, on peut cependant tenter les généralisations suivantes :

Les espèces du genre *Streptococcus* se rencontrent surtout chez les hommes, les animaux et les oiseaux toutefois certaines espèces ont été isolées des plantes.
Les espèces du genre *Lactobacillus* se rencontrent plus couramment dans la nature où elles sont associées aux plantes, aux animaux et aux hommes. Peu d'espèces ont un caractère pathogène. Les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent que sur les plantes.

7.4. Classification

La classification des bactéries lactiques a été le souci de plusieurs chercheurs (Orla –Jensen 1919 ., Sneath *et al* .1986 ; Novel ,1993 . Leclerc *et al* .,1995).

7.4.1. Caractères morphologiques

Il existe dans ce groupe bactérien deux types morphologiques bien distincts : les cocci et les bacilles.

Le groupe lactique est formé de quatre genres bactériens et cinquante neuf espèces identifiées, celles –ci sont disséminées dans la classification de Bergey et constituent un groupe assez hétérogène aux point de vue morphologique et physiologique (tableau,11).

Tableau , 11 : Identification des bactéries lactiques (Sharpe 1981, Kandler et Weiss, 1986)

Catégorie : genre	Nombre d'espèces	Morphologie	Produits finaux de fermentation
Homofermentaires			
Streptococcus	21	Sphère	Acide lactique au Moins 1,8 mole de Glucose
Pediococcus	5	Sphère	
Lactococcus	15	Sphère	
Hétérolactiques			
Leuconostoc	6	Sphère	Acide lactique, Acétique, éthanol CO_2 ,1 mole par mole de glucose
Lactobacillus	11	Bâtonnet	
TOTAL	59		

7.4.2. Classification moderne

La composition de l'ADN des bactéries lactiques permet de connaître l'homogénéité des espèces constituant ces genres : le coefficient de Chargaff qui est le rapport A+T/G+C que l'on exprime par le GC% montre une composition assez proche pour les genres *Streptococcus ,Leuconostoc et Pediococcus* .

Par contre le genre *Lactobacillus* est caractérisé par l'hétérogénéité de ses espèces (Leclerc *et al* .1995). A présent la séquence de l'ARN ribosomal est devenue une aide importante dans la classification de nouveaux genres (Collins *et al.* 1990 ;Novel ,1993 ;Leclerc *et al* .,1995).

7.5. Les différents genres de bactéries lactiques

- **Genre *Streptococcus*** : Appartenant à la famille des Streptococcaceae.

Les espèces de ce genre se caractérisent par des cellules ovoïdes, sphériques ou quelques fois allongées en fuseaux . Elles se divisent sur un seul plan pour former des paires ou des chaînettes, les Streptocoques lactiques se distinguent par leur capacité à croître à des températures extrêmes : 45°C pour les thermophiles et 10 °C pour les mésophiles.

Ces derniers sont maintenant appelés Lactocoques et constituent le genre *Lactococcus.*

Elles ne sont ni hémolytiques ni pathogènes, elles ne poussent ni dans un milieu à pH=9 ni dans un milieu contenant 6,5% de NaCl.

Dans le genre *Lactococcus, on* distingue : *Lactococcus lacis* *Lactococcus raffinolactis.* Comme dans le manuel de Bergey's (Sneath *et al.* 1986) sous ancienne dénomination : *Streptococcus lactis* et *Streptococcus raffinolactis.* Gravie et Farrow (1982) ont proposé de rassembler sous le nom collectif de *Lactococcus lactis* trois sous espèces.

- *Lactococcus lactis subps lactis*
- *Lactococcus lactis subps diacetylactis*
- *Lactococcus lactis subps cremoris*
- On peut ajouter à ces deux espèces, Streptococcuus *thermophilus* en raison de la similitude de la composition en GC% de leur ADN avec les lactocoques.

Les principaux caractères des espèces du genre *Streptococcus* sont regroupés dans le (Tableau ,12)

- **Genre *Leuconostoc***

Les espèces appartenant au genre *Leuconostoc* sont des cellules sphériques souvent lenticulaires associés en paires ou en chaînes Ces espèces sont hétéro fermentaires, voie des hexoses monophosphate formant de l'acide lactique lévogyre du CO2 et de l'éthanol (Larpent et Larpent ,1985 .). Mésophiles et caractérisées par la production, à partir du citrate du lait, du diacetyle en empruntant la même voie métabolique que les :

Lactococcus lactis.

Leuconostoc lactis

Leuconostoc paramésentéroides

Leuconostoc lactis subps diacetylactis (Devoyod et Poullain ,1988).

L'hybridation ADN-ADN et le GC%de l'ADN (Gravie ,1983) permettent de distinguer :

Leuconostoc Mésentéroides qui comporte trois sous espèces :

Leuconostoc mésentéroides subs cremoris p mésentéroides

Leuconostoc mésentéroides subps dextrnicum

Leuconostoc mésentéroides subps crémoris

Leuconostoc lactis

Leuconostoc paramésentéroides

Leuconostoc oenos.

Les caractéristiques distinctives de ces espèces sont résumées dans le (Tableau, 13).

Tableau ,12 : Caractéristiques conventionnelles distinctives des espèces de *Lactococcus* et *Streptocoques* lactiques (Desmazeaud, 1992 ; Novel, 1993 ; Larpent, 1996)

	Lactococcus	**subsp**			***Lactococcus raffinolactis***	***Streptococcus thermophilus***
		Lactis	***Cremoris***	***Diacetylactis***		
Morphologie		**0,5-1**	**0,6-1**	**0,5-1**	**ND**	**0,7- 0,9**
CROISSANCE à	**10 °C**	+	+	+	+	-
	40° C	+	-	+	-	+
	45° C	-	-	-	-	+
	PH 9,2	+	-	+	**ND**	+
	PH9, 6	-	-	-	**ND**	-
Culture Dans lait avecbleu demetylène	**0,1%**	+	+	+	**ND**	-
	0,3%	+	+	+	-	-
NaCL	**2 %**	+	+	+	+	-
	4 %	+	-	+	+	-
	6 ,5%	-	-	-	-	-
Citratase		-	-	+	**ND**	+
Réductase		+	+	+	+	-
Acétoine		-	-	+	**ND**	-
ADH		+	-	+	-	-

ND : non déterminé

- **Genre *Pediococcus***

Les espèces sont des cellules de forme sphérique et se reproduisent selon deux plans perpendiculaires conduisant à la formation de tétrades.

Elles fermentent les sucres en produisant exclusivement de l'acide lactique DL ou (L+).

Leurs exigences nutritionnelles, leur faible activité protéolytique et chez la plupart des espèces, leur incapacité d'utiliser le lactose ne leur permettent pas d'acidifier et de coaguler le lait (Desmazeaud, 1992).

Les espèces se différencient par leur tolérance à la température, au pH et au NaCL et par leur spectre fermentaire (Gravie 1986). Leurs caractéristiques sont données au (Tableau ,14).

La taxonomie moléculaire permet de distinguer par hybridation ADN-ADN huit espèces (Gravie ,1986) :

Pediococcus damnosus	*Pediococcus pentaceus*
Pediococcs parvulus	*Pediococcus acidilactici*
Pediococcus inopiratus	*Pediococcus halophilus*
Pediococcus dextrinicus	*Pediococcus uraneequi.*

Les *pediocoques* sont largement répandus sur les produits naturels d'origine végétale. Ces bactéries sont responsables d'accidents de fabrication ; elles sont redoutées en brasserie (Leveau et Bouix, 1980).

- ***Lactobacillus***

Le genre *Lactobacillus* appartient à la famille des *Lactobacillaceae.*

Il comprend de nombreuses espèces caractérisées par des cellules d'aspects variés :

Bacilles long et fin, bâtonnets courts et flexueux, coccobacille fréquemment en chaînettes.

Ce genre regroupe des bacilles homo fermentaires et des bacilles hétéro fermentaires.

En se basant sur la taxonomie moderne, la classification d'Orla –Jensen est modifiée et divise le genre *Lactobacillus* en trois groupes (Kandler et Weiss., 1986**).**

Groupe I : Les *Lactobacilles* homofermentaires obligatoires contenant des espèces homofermentaires obligées qui produisent plus de 85% d'acide lactique à partir du glucose.

Il renferme en particulier *Lactobacillus delbruekii* et ses sous espèces : *Lactobacillus bulgaricus* ,*Lactobacillus lactis* et *Lactobacillus leichmanii* qui font partie du premier complexe et qui peuvent produire jusqu'à 18g / l d'acide lactique D (**-) (**Novel,1993).

Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus grasseri et *Lactobacillus helveticus* appartiennent à un deuxième complexe et qui peuvent produire jusqu'à27g /l (Novel ,1993)

Groupe II : Les *Lactobacillus* homofermentaires facultatifs. Il renferment des espèces qui produisent généralement peu d'acide (3à 13g / l) soit de (L+) soit de DL selon les espèces (Novel ,1993) .Ce groupe contient les *Streptobacterium* d'Orla-Jensen et de nouvelles espèces; les plus représentatives sont *Lactobacillus plantarum ,Lactobacillus casei* et *Lactobacillus sake* .

Groupe III : Les *Lactobacillus* hétérofermentaire obligatoires. Espèces qui se caractérisent par une faible production d'acide (5g/l) sous forme DL (Novel 1993). Des espèces du genre *Betabactérium* d'Orla-Jensen appartiennent à ce groupe. Les espèces les plus remarquables de ce groupe sont *Lactobacillus brevis, Lactobacillus kefir* etc…Les caractéristiques distinctives des différentes espèces et sous espèces du genre *Lactobacillus* sont rassemblées dans le (Tableau ,15)

- **-Genre *Bifidobacterium***

Les espèces appartenant au genre *Bifidobacterium* produisent plus de l'acide acétique que l'acide lactique (Novel, 1993).Elles sont caractérisées par leur diversité morphologique. Les cellules peuvent être coccoides ou allongées souvent arrangées en chaînes, en V, en palissades. Elles sont mésophiles et ne supportent pas les pH acides : 5,0 4,5 (Scardovi ,1986 ; Reuter ,1989).

Afin de relier les nouveaux noms aux anciens noms le (Tableau ,16) illustre la nouvelle classification de certaines bactéries lactiques.

Tableau ,13 : Caractéristiques distinctives des espèces du genre Leuconostoc (Leveau et Bouix 1980 : Novel 1993 ; Larpent 1996)

	Leuconostoc mésentéroide	Subps		*Leuconostoc*	*Leuconostoc*	*Leuconostoc*
	mésenteroide	***dextranicum***	***cremoris***	***paramesenteroide***	***Lactis***	***Oenos***
Composition en GC%	**37-41**	**37-40**	**38-40**	**37-38**	**43-45**	**37-39**
Croissance à :						
10°C	+	+	+	+	+	+
37°C	+	+	-	+	+	-
39°C	-	-	-	-	+	-
45°C	-	-	-	-	-	-
Heterofermentaire	+	+	+	+	+	+
Réductase	-	-	-	-	-	-
Citratase	-	-	+	-	-	-
Arginine dihydrolases	-	-	-	-	-	-
Formation de dextranes	+	+	-	-	-	-

Tableau ,14 : Caractéristiques distinctives des espèces du genre *Pédiococcus.*

(Leveau et Bouix, 1980 ; Larpent-Gourgaud, 1990 ; Novel, 1993)

	Pc	*Pc*	*Pc*	*Pc*	*Pc*	*Pc*	*Pc*	*Pc*
	damnosus	*parvulus*	*inopinatus*	*dextrinicus*	*inopentosaceus*	*acidilactis*	*halophilus*	*urinaequi*
Type d'acide lactique produit	DL	DL	DL	L (+)	DL	DL	L (+)	L (+)
Croissance à pH, 4,2	+	+	-	-	+	+	-	-
pH, 7,5	-	+	+/-	-	+	+	+/-	+
pH, 8,5	-	-	-	-	+/-	+/-	+	+
T° 35°C	-	+	+	+	+	+	+	+
T° 40°C	-	+	-	+	+	+	-	+
NaCL4**%**	-	+	+	+	+	+	+/-	+
6,5**%**	-	+	-	-	+	+	+	+
Homofermentation	+	+	+	+	+	+	+	+
Diacetyle	+	-	-	-	-	+	-	ND
Hydrolyse de l'arginine	-	-	-	-	+	+	-	-

Pc : *pediococcus* **ND :** Non déterminé**.**

Tableau ,15 : Caractères distinctifs de quelques espèces de *Lactobacillus* (Leveau et Bouix ,1980 ; Larpent –Gougaud, 1990 ; Novel **,1993).**

Espèces	Croissance 15°	Croissance 45°C	ADN GC%	Acide lactique	ADH	Lactose	Saccharose	Ribose	Xylose
Lb Delbrueki subsp Delbrueki	-	+	49-51	D (-)	+	-	+	-	-
Subsp Bulgaricus	-	+	49-51	D (-)	-	+	-	-	-
Subsp Lactis	-	+	49-51	D (-)	-	+	+	-	
Lb Acidophilus	-	+	34-37	D (+)	-	+	+	-	
Lb Grassei	-	+	33-35	D (+)	-	+	+	-	
Lb Helveticus	-	+	38-40	D (+)					
Lb casei subps casei	+	-	45-47	L (+)	-	+	-	-	
Lb casei subps pseudoplantarum	+	-	45-47	DL	-	+	+	+	
Lb casei subps tolerans	+	-	45-47	L (+)	-	+	+	+	
Lb casei subps rhamnosus	+	-	45-47	L (+)	-	+	-	-	
Lb Sake	+	-	42-44	DL	-	+	+	+	
Lb Bevaricus	+	-	42-	L (+)	-	+	+	+	

		44						
Lb Plantarum	+ -	44-46	DL	+	+	+	+	
Lb bifermentans	+ -	44-46	DL	-	-	-	+	-
Lb brevis	+ -	45-47	DL	+	+	+	+	+
Lb bukneri	+ -	44-46	DL	+	+	+	+	+

Lb : Lactobacillus + : croissance tardive

Tableau ,16 : Correspondance entre les anciens noms et les nouveaux des espèces du groupe lactique (Cogan ,1989 ; Desmazaud ,1992)

ANCIENS NOMS	NOUVEAUX NOMS
S L Streptococcus lactis	*Lactococcus lactis subsp lactis*
S D Streptococcus diacetylactis	*Lactococcus lactis subsplactis diacetylactis*
S C Streptococcus crémoris	*Lactococcus lactis subsp cremoris*
S T Streptococcus thermophilus	*Streptococcus salivarus subsp thermophilus*
S M Streptococcus mésenteroides	*Leuconostoc mésentéroides subsp mésenteroides*
L C Leuconostoc crémoris	*Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris*
L D Leuconostoc dextranicum	*Leuconostoc mésentéroides subsp dextranicum*
LbB Lactobacillus bulgaricus	*Lactobacillus delbrueki subsp bulgaricus*
LbL Lactobacillus lactis	*Lactobacillus delbrueki subsp lactis*
LbA Lactobacillus acidophilus	Ne change pas
LbH Lactobacillus helveticus	Ne change pas

MATERIEL ET METHODES

1. SOURCE D'ISOLEMENT : LE POLLEN

L'étude des différents pollens du point de vue qualitatif et bactériologique nous permettra de mettre en évidence les différences qui pourraient exister dans les trois zones étudiées : AMMOUCHA, BOUGAA et GUENZET.

Le pollen étudié est un amalgame de plusieurs fleurs que nous allons nommer P1, P2 et P 3.

L'étude va porter sur :

- L'étude bactériologique
- Le dosage des protéines
- Le dosage des sucres
- La vitamine C
- La mise en évidence de certains acides aminés
- Le spectre pollinique

2. ETUDE BACTERIOLOGIQUE

2.1. Conditions de culture :

Les souches sont cultivées à 30°C en anaérobiose, en sachant qu'il y a des souches micro aérophiles qui poussent plus ou moins bien dans les deux conditions.

2.2. Milieu sélectif :

Le plus utilisé pour les bactéries lactiques est le **MRS** (Man Rogosa et Sharp), milieu riche en protéines et en sucre, il contient en plus du Tween 80 du polysorbate qui empêche le développement des levures.

2.3. Isolement :

A partir de chaque échantillon on dilue 1g de pollen dans 9 ml d'eau physiologique.

On prélève 1ml de la solution qu'on introduit aseptiquement dans des tubes à essais contenant 9ml de lait écrémé stérilisé. Après incubation pendant 24h à 30°C, lorsqu'il y a production de coagulum et d'acide lactique la coagulation prouve la présence de bactéries lactiques dans le milieu.

La production d'acide permet d'éliminer certains germes et constitue une première étape de purification.

2.4. Purification

La purification des souches a été réalisée par repiquage à partir d'un tube contenant le coagulum et le lactosérum sur des boites contenant la gélose MRS stérile. Les boites sont incubées 24 h à 48h à 30°C. Les souches obtenues (des colonies blanches d'environ 0.5 mm de diamètre en surface) en culture pure sont inoculées dans des tubes contenant du MRS stérile en solution, Après 24h d'incubation à 30°C, Des repiquages à partir des ses tubes ont été réalisés sur des boites de MRS, l'opération est répétée deux à trois fois jusqu'à obtention de colonies homogènes

2.5. Identification

2.5.1. Morphologie

L'aspect macroscopique des colonies a été observé directement sur les boites d'isolement. Les aspects microbiologiques tels que la taille, la forme et l'arrangement des cellules ainsi que la mobilité ont été observé à l'état frais d'une culture fraîche sous microscope.

2.5.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram est un aspect important et essentiel pour identifier une bactérie isolée et vérifier la pureté de l'isolat. Les bactéries ayant retenu le violet de gentiane après les étapes de coloration au lugol et fuschine (voir étapes en annexe) ; sont dites GRAM+ . Les bactéries lactiques sont des GRAM+.

2.5.3. Catalase

Le test de la catalase sert à déterminer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Une goutte de peroxyde d'hydrogène (3%) est déposée sur une lame lavée et sechée A l'aide d'un cure-dent prendre la souche bactérienne à identifier (culture de à 24 h) et la déposer dans la solution de peroxyde d'hydrogène (Schaad, 1988). Attendre environ deux minutes et lire la réaction obtenue : elle est positive lorsqu'il y a présence de bulles révélant le dégagement d'oxygène. Les bactéries lactiques ont une catalase négative.

2.5.4. Croissance en présence d'NaCl

L'effet d'NaCl sur la croissance des bactéries isolées a été étudie en ajustant les cultures en batch à des concentrations différentes d'NaCl (2%, 4% et 6%).

2.5.5. Métabolisme fermentaire.

Ce test est défini par Gibson et Abd El Malek (1945). Il se traduit par un dégagement de CO_2 caractéristique des espèces hétérofermentaires (Coppola et al.,1997).

Dans ce but, des tubes ont été remplis par 10 mL de bouillon de Briggs ou bouillon de Naylor et Sharp (selon les bactéries). Une cloche de Durham a été introduite et l'ensemble a été stérilisé par autoclavage.Les tubes ont été inoculés par les souches isolées et incubés à 45°C pour les Lactobacilles et à 37°C pour les Streptocoques pendant 3 jours.

2.5.6. Tests physiologiques et biochimiques

Les bactéries présentant une réaction positive à la coloration de Gram et dénuée d'activité catalase ont été retenues pour être identifiées. Elles ont alors été soumises à une série de tests simples permettant une pré-identification: croissance en milieu (MRS pour les lactobacilles, M17 pour les coques lactiques) et recherche du type homo- ou hétérofermentaire par la méthode classique de Gibson & Abd El Malek (1945). Les bactéries ont ensuite été identifiées au niveau de l'espèce ou de la sous-espèce en établissant leurs profils fermentaires à l'aide du microsystème d'identification API® 20 E (BioMérieux).

2.5.7. Ensemencement d'une galerie api

➢ **Préparation de la galerie :**

• mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au dessus de l'évier.

• Placer la galerie sur le fond de la boîte elle doit être manipulée avec la pince.

• Recouvrir la boîte avec son couvercle.

• Inscrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte (Figure, 10).

➢ **Préparation de l'inoculum :**

Réalisez une suspension de la souche à étudier. La suspension doit avoir une densité suffisante

➢ **Inoculation de la galerie**

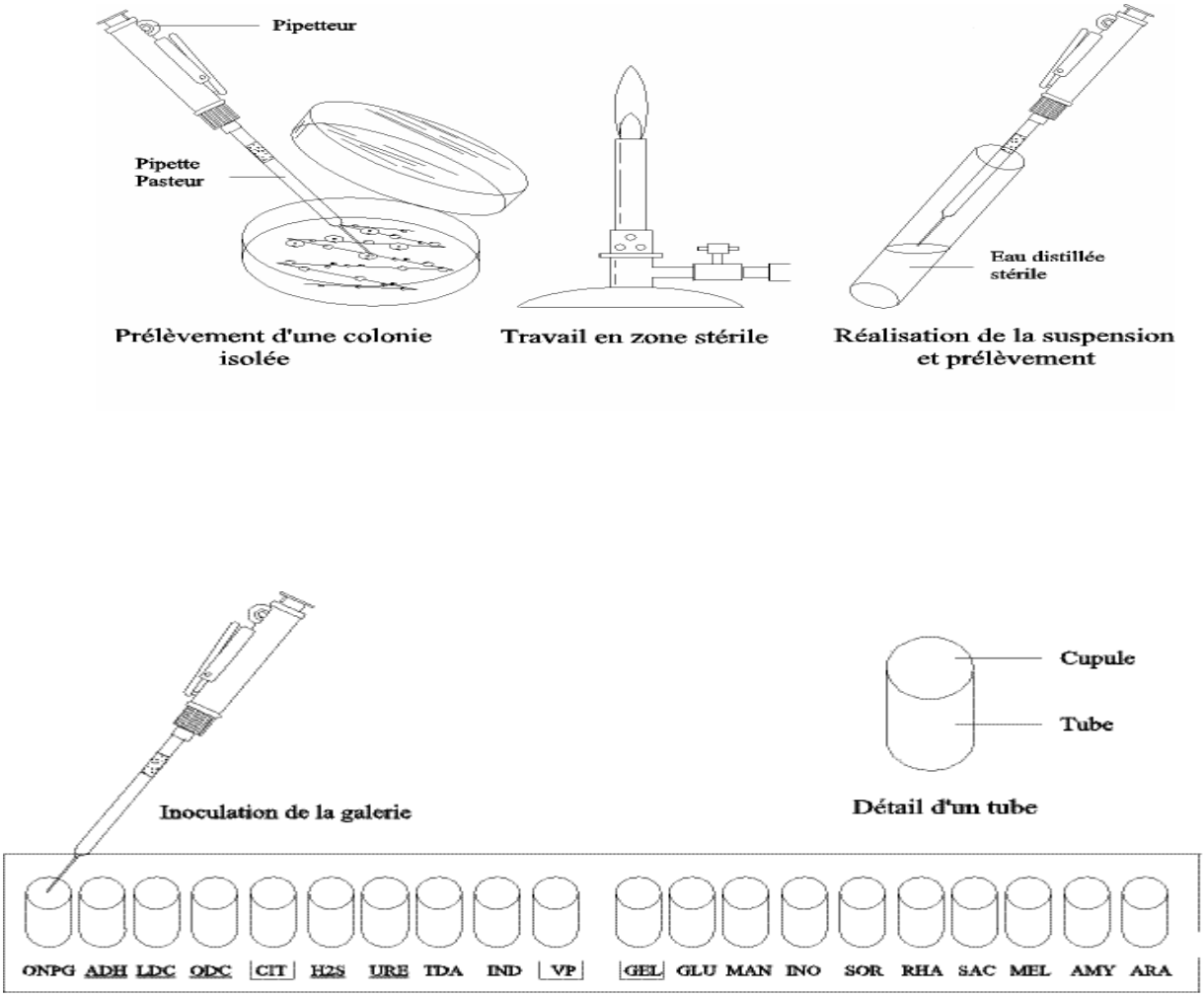
• remplir les cupules de suspension en évitant les bulles d'air.

- **Mode de remplissage :**

Le principe d'identification de la galerie API est le même que celui enzyme/substrat. Chaque cupule contient un substrat différent sur lequel le micro organisme va réagir. Chaque bactérie ayant des affinités avec un ou plusieurs substrats. A partir d'une suspension bactérienne remplir chaque tube. Pour les milieux dont le nom est encadré (ex : CIT , VP) remplir aussi la cupule. Pour les milieux dont le nom est souligné (ex : H2S) créer l'anaérobiose (absence d'oxygène) en remplissant la cupule d'huile de paraffine. Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau distillée, puis la galerie posée dans le support et le couvercle posé par dessus. L'ensemble est incubé à une température 35 - 37° C pendant 24 à 48h.

- **Lecture et détermination**

Des tableaux d'identifications sont fournis avec les galerie, il s'agit d'une représentation schématique de la galerie sélectionnée (Figure, 10) .



Figure, 10: Ensemencement d'une galerie api

2.5.8. Production de dextranes.

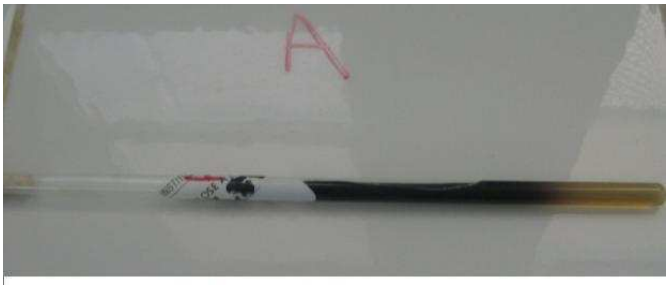
De nombreuses espèces libèrent dans le milieu des macromolécules glucidiques : dextranes, cellulose. En général, cette production est décelée par observation de colonies gluantes sur un milieu favorable : milieu hypersaccharosé pour les Leuconostoc ou la gélose nutritive à 5% de saccharose .On peut éventuellement réaliser une révélation au lugol qui donne une coloration violette (Figure, 11) avec colonies gluantes entourées de rouge.

Ce test nous a servi à l'identification de nos souches, ainsi les échantillons étudiés contiennent des *Leuconostoc mésentéroides subsp dextranicum*. Ces bactéries intéressent l'industrie fromagère.

Figure ,11 : production de polysaccharides produit par certaines souches de bactéries lactiques

2.5.9. Hydrolyse de l'esculine.

Elle est mise en évidence (selon l'aptitude à résister à la bile) soit sur gélose bile esculine soit sur gélose à l'esculine. (Colonies noires). Certaines bactéries hydrolysent l'esculine en rompant la liaison glucosidique libérant du glucose et de l'esculétine. Par sa fonction phénol L' esculétine donne avec des sels de fer (citrate de fer ammoniacal) une réaction colorée noire. Le test positif de l'esculine place nos bactéries dans le genre *Leuconostoc, espèce mésentéroides* et *subsp dextranicum et Lactobacillus plantarum.* (Figure, 12).



Test Esculine (positif) Amoucha

Figure,12 : Hydrolyse de l'esculine, test positif **.**

2.5.10. Dosage de l'acidité.

L'acidité est titrée de façon précise à l'aide de soude N/9 (Soude Dornic). Un échantillon de 10 g du produit est placé dans un bêcher contenant 90 mL d'eau distillée en présence de 0,1 mL de phénol phtaléine à 1%. La soude est ajoutée à la burette jusqu'au virage au rose de l'échantillon. La coloration doit persister 10 secondes.

L'acidité est exprimée en degré Dornic qui correspond au nombre de 1/10 de mL de soude Dornic N/9 nécessaires pour assurer la neutralisation totale de l'acide (Guiraud,1998).

Les souches sont ensemencées dans 6ml de lait écrémé et incubées à 32°C jusqu'à coagulation. Après homogénéisation, on verse le contenu dans des flacons contenant 200ml de lait écrémé stérile qu'on incube à 32°C.

Les mesures de l'acidité sont faites à intervalle régulier 0 heures, 3heures ,6heures, 9heures 12heureset 24 heures d'incubation.

2.5.11. Mesures du pH

C'est à l'aide d'un ph-mètre que les mesures seront effectuées préalablement étalonné avec des solutions tampons.

2.6. Concentration en sucres des différents pollens (Méthode Bertrand)

Cette méthode de dosage des sucres repose sur les propriétés réductrices des glucides. Le dosage de Bertrand permet donc de doser l'ensemble des sucres dits réducteurs comme le glucose, le fructose mais aussi le lactose. Le saccharose, qui n'est pas réducteur peut être dosé après hydrolyse qui libère les fonctions réductrices du glucose.

Le dosage se déroule en trois étapes :

- Réduction de la liqueur de Fehling par les glucides réducteurs

- Isolement du cuivre formé
- Dosage du cuivre par manganimétrie

Le résultat est déduit d'une table établie expérimentalement par Bertrand qui relie la quantité de cuivre isolé à celle des glucides .La manipulation consiste à déterminer une masse de cuivre (méthode en annexe).

2.7. Concentration en azote et protéines des différents pollens (Méthode kjeldahl)

L'azote est dosé après minéralisation du pollen avec de l'acide sulfurique pur et destruction de la matière organique qui le constitue.

La méthode Kjeldhal est applicable pour le dosage de l'azote de différents composés azotés tels que les amines et les sels d'ammonium quaternaires . Le dosage de l'azote Kjeldahl repose sur la transformation des composés azotés dosables par minéralisation de l'échantillon. L'azote Kjeldahl repose sur la transformation des composés azotées dosables par minéralisation de l'échantillon On détruit la molécule organique en l'oxydant à ébullition par H_2SO_4 concentré en présence d'un catalyseur : le carbone s'élimine sous forme de CO_2 , l'hydrogène sous forme de H_2O et l'azote reste en solution sous forme de NH_4^+.

Après distillation, l'ammoniac dégagé est récupéré et dosé avec une solution d'acide sulfurique 0,05 moles/l. Le dosage est terminé dés que la coloration est stable.

2.8. Mise en évidence de la présence des acides aminés dans le pollen

La séparation des acides aminés par électrophorèse. L'électrophorèse sur papier est basée sur la migration des particules chargées dans une solution, sous l'influence d'un champ électrique. Le principe de l'électrophorèse sur papier a comme support une bande de papier imbibée d'une solution tampon permettant de fractionner un mélange de plusieurs constituants en fonction de leur polarité sous l'action d'un champ électrique à un pH déterminé ;

Les acides aminés sous forme ionisés migreront vers l'électrode (+) ou (-) selon leur charges.

Le dépôt du mélange (pollen) à analyser se fait à l'aide d'une micropipette sur une ligne perpendiculaire à l'axe de migration.

Des acides aminés (tampon) sont déposés de la même manière pour nous permettre de comparer les migrations.

2.9. Dosage de la vitamine C

Elle est basée sur la réduction de l'iode par l'acide ascorbique en présence d'empois d'amidon. Après dilution du pollen dans de l'eau, on ajoute de l'empois d'amidon (2 à 3 gouttes) et on titre avec de l'iode 0,1N .

L'acide ascorbique est oxydé par l'iode.

Acide ascorbique **+ I** $_2$----------Acide dihydroascorbique **+2HI** .

2.10. L'analyse pollinique

Le miel porte en lui-même un véritable certificat d'origine sous la forme de millions de grains de pollens qu'il contient en suspension dans la masse .Ces particules végétales microscopiques et suffisamment variées pour qu'on puisse les identifier sous le microscope.

Pour effectuer cette analyse , on homogénéise tout d'abord un échantillon du miel puis on prélève une petite quantité (10 à 15 gr).Celle-ci ,après dilution et centrifugation forme ce qu'on appelle un culot de centrifugation dans lequel les pollens se sont accumulés . On en prélève une quantité nécessaire pour effectuer un examen microscopique, entre lame et lamelle .La lecture des préparations requiert une grande habitude et une compétence en **palynologie .**La science qui traite des pollens dans le miel s'appelle la mellisopalynologie

Il existe des collections de pollens de référence qui ont été réalisées par des mellisopalynologues.

La détermination doit être qualitative et quantitative .On procède à un comptage ou une estimation quantitative par examen d'un champ visuel donné .Ceci permet de déterminer si le pollen est dominant , d'accompagnement , isolé , ou rare **,** en fonction de la fréquence d'observation .

RESULTAS ET DISCUSSION

1. Caractérisation des bactéries lactiques isolées

1.1. Observation microscopique

Elle permet de distinguer les différentes formes et dispositions des bactéries (Figure, 13). Présence de *Lactocoques* groupés en deux (particularité des *Leuconostoc)* Les *Pédiococcus* sont disposés en paires ou en tétrades. Les bacilles sont presque inexistants, sauf dans du pollen prélevé de la fleur (*Moricandia arvensis*), boite colorée au bleu de méthylène .Les bactéries lactiques ne proviennent pas uniquement du tube digestif de l'abeille ,mais elles existent sur les plantes .Dans la partie « origine des bactéries lactiques » il est bien spécifié leur existence chez certaines plantes .

1.2. Caractères biochimiques

La caractérisation des bactéries lactiques isolées de différents échantillons de pollen de la région de Sétif a été basée sur des tests morphologiques physiologiques et biochimiques.
Les tests d'identification nous permettent de faire un premier classement de nos souches (Tableau,17). On peut à priori conclure que les souches isolées appartiennent aux 2 grandes familles :

Streptococcaceae et ***Lactobacillaceae.***

Genres *Leuconostoc et Lactobacillus.*

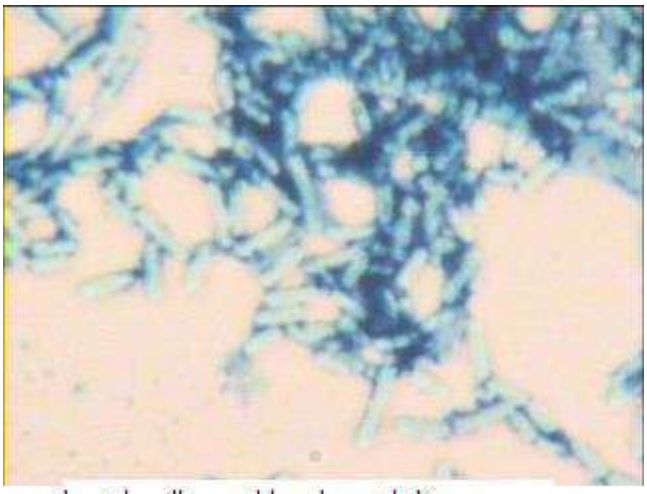
Espèce *Leuconostoc Mésentéroides et Leuconostoc Dextranicum.*

Espèce *Lactobacillus plantarum.*

La détermination des espèces a été basée sur le profil métabolique obtenu à partir des tests sur galerie API 20E.

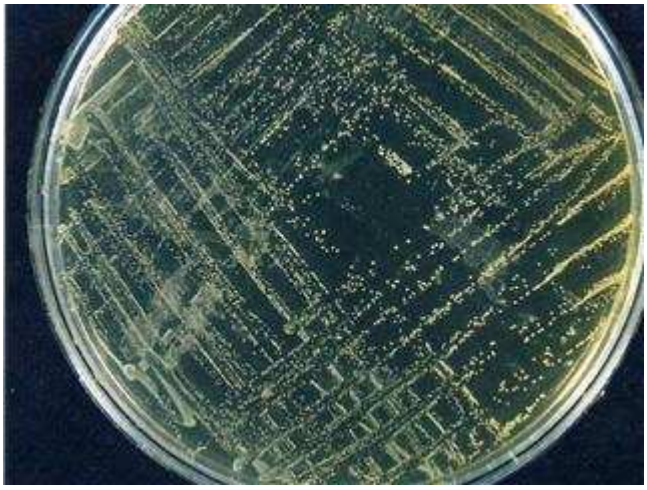
1.2.1. O.N.P.G. (Orthonitrophenyl-D-galacto-pyranoside) (**ONPG**).

La recherche directe de la β-Galactosidase chez de telles bactéries permet grâce à une méthode simple, de mettre rapidement en évidence la présence de cette enzyme de grand intérêt diagnostique (entérobactéries). La solution d**'ONPG** contenue dans la galerie est incolore, Cette molécule est scindée, comme le lactose par la β-Galactosidase qui libère l'orthonitrophénol, jaune en solution. Les souches **SP1**, **SP2**, **SP3**, ont une ONPG **+** .

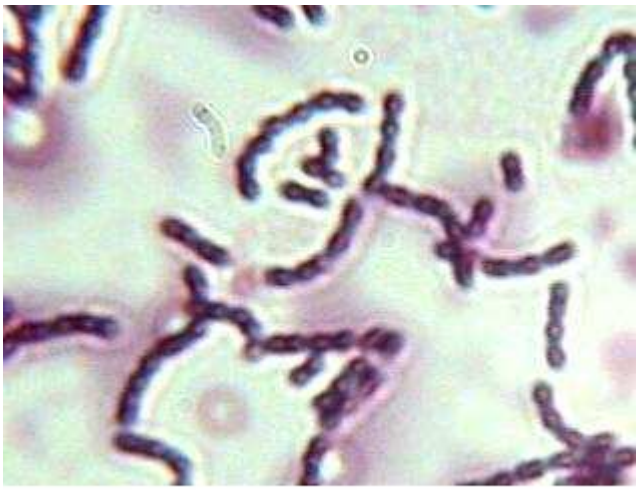


Lactobacilles au bleu de methyléne

Lactobacilles du pollen de Moricandia **.**



Colonies de bactéries lactiques



Lactocoques

Figure, 13: Aspects morphologiques des bactéries isolées

1.2.2. Dégradation d'acides aminés particuliers

Beaucoup d'espèces microbiennes possèdent des enzymes capables de dégrader les acides aminés de manière plus ou moins spécifique .Il s'agit de décarboxylases donnant des amines, de désaminases donnant des acides et de l'ammoniac ou de systèmes particuliers tel la tryptophanase qui produit de l'indole à partir de tryptophane : « A.D.H. (Arginine dihydorlase.), LD.C**.** (Lysine –décarboxylase),O.D.C**.** (Ornithine Décarboxylase) ».

Les bactéries appartenant à ces familles fermentent le glucose, dans un premier temps les milieux s'acidifient. A pH acide, les décarboxylases et les dihydrolases présentent une activité maximale. Dans un deuxième temps, les bactéries en étude possèdent ces enzymes ; les métabolites aminés formés à partir des aminoacides alcalinisent les milieux et font virer l'indicateur de pH au violet.

Les tests sont négatifs pour les L.D.C. et O.D.C. (Figure, 14). Par contre les résultats de l'A.D.H. les souches étudiées possèdent l'Arginine Di-Hydrolase
qui libère dans le milieu du NH_3 **.**

1.2.3. Présence de CITRATE (-)

Les tests qui se caractérisent par une coloration bleue du milieu sont négatifs pour les trois souches **SP1.SP2 et SP3** (Figure, 14).

1.2.4.Production d'H_2S :

l'absence de coloration noire**,** traduit la négativité du test (Figure, 14)**.**

1.2.5. Urée

Absence de coloration rouge du milieu (test négatif, Figure, 14).

1.2.6. Désamination : T.D.A.

Le test consiste à mettre en évidence la présence de la Tryptophane Désaminase qui se caractérise par une coloration brune du cupule (Figure, 14). Ce n'est pas très net ; comme ce test est associé à celui de l'indole et de l'urée qui sont tous les deux négatifs alors, nous pouvons le considérer ainsi (-).

1.2.7. Indole

Résultat négatif. Pas d'anneau rouge à la surface. Ce test ne concerne pas les bactéries lactiques il se trouve dans la gamme des galeries pour d'autres tests .

1.2.8. Réaction de Vosges Proskauer

Elle permet la mise en évidence de l'acetylméthyl-carbinol ou l'acétoine, **VP (+).**.

1.2.9. Test au rouge de méthyle (R M).

Pour la recherche de la production d'Acétoine. La réaction est positive **(+)**

La recherche de l'Acétoine est une analyse courante dans l'identification des espèces bactériennes ; ***Streptococcus, Lactococcus et Enterococcus.***

Les espèces isolées sont des *mésentéroides subsp cremoris* appartenant à la famille des *Leuconostoc.*

Les bactéries productrices d'acétoine sont recherchées dans l'industrie laitière et en particulier dans la fabrication du yaourt à cause des composés aromatiques produits par ces espèces (acétaldéhyde, diacetyle et acétoine).

1.2.10. Hémolyse

Tous les tests effectués sur la gélose au sang se sont révélés négatifs on dit alors Hémolyse gamma

1.2.11. Croissance en présence d'NaCl

L'effet d'NaCl sur la croissance des bacteries isolées a été étudie en ajustant les cultures en batch à des concentrations differentes d'NaCl **(**2%, 4% et 6%).

Les cultures ont poussé plus ou moins bien à 2%, légèrement à 4% et pas du tout à 6%.

Dans la classification du (Tableau 15) *Lactococcus lactis ,Cremoris etdiacetylactis* poussent à 2%.

Tableau, 17 : Caractéristiques biochimiques des bactéries lactiques isolées de différents échantillons de pollen.

Test	SP1	SP2	SP3
ESCULINE	+	+	+
ADH	+	+	+
LDC	-	-	-
ODC	-	-	-
CATALASE	-	-	-
O N P G	+	+	+
HEMOLYSE	-	-	-
RM	+	+	+
VP	+	+	+
CITRATES	±	±	±
REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE 1%	+	+	+
REDUCTION DU BLEU DE METHYLENE 3%	±	±	±

1.2.12. Etude de la fermentation des différents sucres

L'aptitude des différentes souches à fermenter les sucres permet une identification des espèces et sous-espèces lactiques présentes dans le pollen (Tableau, 17).

Un isolement supplémentaire des bactéries lactiques a été fait au niveau du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital Universitaire de Sétif.

Les résultats des tests figurent sur la figure (14) des Galeries api. On va les interpréter dans l'ordre de leur position sur la photo en omettant la gélatine.

- **Glucose (Fermentation +)**: Ce sucre est fermenté par toutes les espèces et sous –espèces des bactéries lactiques et autres.
- **Mannose** (F**ermentation** +): Le mannose est fermenté par la majorité des bactéries lactiques ,tous les genres, et pratiquement toutes les espèces . La réaction est variable pour

les *Leuconstocs LL (Leuc.lactis,), LD (Leuc.dextranicum*), ainsi que pour l'espèce *LbH.Lactobacillus (Lb.helveticus)*

➢ **Inositol (Hexahydroxycyclohexane**) : Considéré comme une vitamine car elle est indispensable à certaines espèces supérieures et microbiologiques. Deux dérivés de l'Inositol offrent des propriétés particulières : l'acide inositohexaphosphorique ou l'acide phytique correspond à l'estérification de six fonctions hydroxyles de l'Inositol par 6 molécules d'acide phosphorique. L'acide phytique se comporte comme une substance décalcifiante et déminéralisant en raison de l'insolubilité du phytate au cours de la digestion.

Cette complexité de l'Inositol expliquerait peut être cette fermentation à peine amorcée ou inachevée.

➢ S**orbitol (** Hexa alcool ou Hexitol) : il conserve un pouvoir sucrant (60% du saccharose).

C'est peut être à cause de la fraction de saccharose présente dans le sorbitol, qu'il y' a cette légère fermentation.

➢ **Rhamnose :** Très légère fermentation , pas d'intérêt pour les bactéries lactiques.

➢ **Saccharose :** La coloration jaune du cupule montre une fermentation du saccharose par les Bactéries lactiques. donc un test positif. En se basant sur les critères et identification des bactéries lactiques nous constatons que le saccharose est fermenté par : *Streptococcus thermophilus ST, Streptococcus faecialis SFs : les Leuconostoc lactis LL Leuconostoc.mesentéroides LM, et Leuconostoc dextranicum LD* .Parmi *les Lactobacilles* ,3 souches fermentent le saccharose : les *LbL, LbA, LbP.Lb.lactis Lb.acidilactis, Lb.Pantarum*.

Réaction v**ariable** (v) avec *les : SL, Str.lactis, et SFm, Str.faecium*. ; Avec *PA, Pediococcus acidilactis*, variable également avec *Lactobacillus casei*. Lbc.

➢ **Melibiose :** sucre en **C12** n'est pas fermenté par nos souches ,par contre quand on se réfère à la classification des bactéries lactiques (tableau, 18) ce sucre est fermenté par *LbP Lactobacilles plantarum* .

➢ **Amylose :** fermentation positive mais il n'apparaît pas dans les sucres de classification.

➢ **Arabinose :**fermentation incomplète. Dans le tableau de la classification , ce sucre est fermenté par : les Leuconostocs LM ,(*Leuconostocs mésentéroides*), par les *Pediococcus* (**PA)** *P . Acidilactis* et (**PP)** : *P.pentosareus*.

Réaction variable avec les : *Streptococcus lactis* (**SL).** *Streptococcus faecium* **(SFm)**, et *Lactobacillus plantarum* **(LbP).**

Tableau, 18: Fermentation des différents sucres par les souches isolées du pollen

SOUCHES / SUCRES	SP1	SP2	SP3
GLUCOSE	+	+	+
MANNOSE	+	+	+
INOSITOL	±	±	±
SORBITOL	±	±	±
RHAMNOSE	±	±	±
SACCHAROSE	+	+	+
MELIBIOSE	-	-	-
AMYLOSE	+	+	+
ARABINOSE	+	+	+

Tests biochimiques des bacteries lactiques isolées du pollen (SP I)

Figure, 14 : Résultas des tests biochimiques des bactéries isolées du pollen après incubation.

.

1.2.13 Production d'acide lactique

La production d'acide par les souches isolées du pollen prouvent encore la présence des ferments lactiques et leur pouvoir acidifiant.L'activité n'est pas intense mais rejoint la même vitesse trouvée par d'autres auteurs quant à l'activité des bactéries lactiques (Tableau, 19).

Par cette mesure nous voulions tester nos souches et prouver qu'elles sont productrices d'acide lactique puisque c'est l'élément essentiel des probiotiques.

Sinon ce test est surtout utilisé pour connaître les aptitudes technologiques des bactéries lactiques. La production d'acide est légèrement variable entre les échantillons mais suit une progression normale.

Le pH qui est en étroite liaison avec l'évolution de l'acide dans le milieu suit une allure normale qui va en décroissant (Tableau, 20).

La confirmation sur la présence des bactéries lactiques est un encouragement pour la poursuite de ce travail qui ouvre un éventail assez large et très intéressant.

Notre travail s'est basé sur les caractères généraux des bactéries lactiques parce que nous voulions surtout prouver leur présence dans le pollen.

La population bactérienne aurait été intéressante à connaître mais dans ce cas il faut travailler sur un même pollen conservé dans les mêmes conditions et surtout n'ayant subi aucun traitement de chauffage .Nous avons vu plus haut l'influence de la dessiccation sur la présence des bactéries en général et particulièrement les bactéries lactiques.

Il faut noter que nos échantillons n'ont pas subi de chauffage mais ont été desséchés à l'air libre et à l'ombre.

Des tests effectués sur du pollen prélevé directement sur la plante ont donné des résultats étonnants dans la mesure où la présence des lactobacilles était dominante.

Les pollens étudiés contiennent tous des ferments lactiques ou PROBIOTIQUES.

Les nouvelles recherches et la nouvelle réglementation placent les bactéries lactiques dans la catégorie des probiotiques pour diverses raisons et diverses actions bénéfiques sur l'organisme à cause de l'acide lactique produit par différentes espèces, leurs actions sur les germes pathogènes ….Cet aspect est plus développé dans le chapitre : Ferments lactiques et probiotiques.

Tableau,19 : Production d'acide lactique en degré dornic °D

Temps / Echantillons	0 heures	3 heures	6 heures	9 heures	12 heures	24 heures
SP1	20 *	23,33	26,33	29,33	33,33	53,00
SP2	20	23,33	27	29,67	34	52,33
SP3	20	23,33	27	29,67	33,67	53

*Moyenne de trois répétitions

Tableau, 20 : Evolution du pH pendant 24 heures d'incubation**.**

Temps / Echantillons	0 heures	3 heures	6 heures	9 heures	12 heures	24 heures
SP1	6,6*	6,47	6,27	5,97	5,63	4,63
SPII	6,6	6,47	6,20	5,93	5,6	4,63
SPIII	6,6	6,5	6,3	5,97	5,73	4,63

***** Moyenne de trois répétitions

2. Concentration en sucres des différents pollens

L'intérêt du pollen du point de vue alimentaire est connu depuis fort longtemps ; sa consommation par les abeilles est une nécessité. Pour l'homme il constitue un complément très intéressant par ses apports nutritionnels. L'étude de quelques composants sur les trois échantillons retenus nous donne une idée sur la qualité du pollen de l'année 2007, car les concentrations changent inévitablement.

Le pollen a un goût légèrement sucré et quelques fois acidulé ; les sucres contenus dans le pollen ,proviennent du nectar apporté par l'abeille ..

Le grain de pollen en tant que matière végétale, ne contient presque pas de sucre ; les glucides présents sont de l'amidon et de la cellulose, constituants des végétaux.

Il serait intéressant de connaître la concentration en glucides de quelques pollen sur le végétal même avant la mise pelote par les abeilles.

Les analyses faites sur les différents pollens (Tableau, 21) montrent des écarts peu significatifs mais en même temps nous constatons que ces résultats prouvent que les abeilles ont butiné des fleurs diverses avec des nectars plus ou moins riches en sucre.

La présence du sucre dans le pollen a plusieurs provenances : lorsque les abeilles collectent ou ramassent du pollen elles se servent du nectar ou du miel pour confectionner des pelotes qu'elles transportent à la ruche ; le miellat qui est également riche en sucre contribue à la richesse du pollen par le biais de l'abeille.

L'autre source c'est le pollen lui-même .Comme tous les végétaux, il est constitué de matière cellulosique, amidon et autre. .

Il serait intéressant de faire un dosage sur le pollen frais c'est-à-dire pris sur la fleur pour situer la part de sucre apportée par l'abeille à travers le miel, miellat ou nectar et celle existant dans la nature.

Les taux de sucre, variables entre les trois zones retenues (Ammoucha, Bougaa et Guenzet) est du à la diversité des plantes.

Ces taux de sucre varient avec les fleurs butinées, les saisons, et dans la même journée ; Même si on estime que la majorité du sucre contenu dans le pollen provient des sécrétions salivaires de l'abeille.

Ce tableau indique une grande richesse en sucres réducteurs ; le pollen (P1) qui correspond à la zone de Ammoucha renferme un taux moyen de 35.20% (une liste des différentes espèces de plantes de Ammoucha se trouve en annexe).

La richesse du pollen en glucides le place parmi les aliments ayant un apport énergétique très intéressant environ 250 à 260 Kcal.

3. Concentration en azote et protéines des différents pollens

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'azote contenu dans le pollen.

Ces résultats seront multiplies par le coefficient 6,25 afin de trouver la concentration en protéines (tableau, 22 et tableau, 23).

Les résultats obtenus sont dans les normes, les pollens des différentes localités contiennent à peu prés les mêmes doses de protéines .la flore mellifère n'est pas très différente et cela explique les résultats assez rapprochés.

La concentration en protéines est le meilleur indicateur de la flore mellifère d'une région, les légumineuses sont riches en protéines et leurs fleurs constituent une source de

protéines pour les abeilles qui choisissent (d'après certains auteurs) les plantes en fonction des besoins de la ruche en protéines.

Quand les ouvrières sont en train de constituer le couvain, elles ont un grand besoin de pollen qui est la source principale en protéines. Pour le miel elles choisiront le fleurs nectarifères ou les pollinifères - nectarifères comme les arbres fruitiers (pommiers, poiriers, amandiers, oliviers …) et d'autres espèces déjà évoquées.

D'après certains auteurs même s'il y'a une multitude de fleurs les abeilles choisissent souvent les mêmes espèces. Ce qui expliquerait encore ces concentrations si proches.

Une partie des acides aminés est apportée par les abeilles grâce aux enzymes qu'elles sécrètent, ces enzymes se retrouvent dans le nectar ou le miel utilisé pour confectionner les pelotes de pollen. L'autre partie existe déjà dans le pollen à l'état pur.

Nous donnons un aperçu sur la flore de Ammoucha en annexe.

Des espèces très variées qui ne peuvent donner qu'un miel de qualité et un pollen de haute valeur alimentaire.

Vous trouvez également en annexe, quelques espèces florales de la région de la ville de Sétif, dans les espaces verts de la ville et de l'université Farhat Abbas.

Ces fleurs sont représentées avec leur pollen respectif observé au laboratoire de recherche de l'université de Sétif.

Tableau ,21 : Quantités de sucre contenu dans le pollen (g sucre/100g pollen)

Essai / Pollen	**1ER**	**2EME**	**3EME**	**MOYENNE± SEM**
P 1	35 ,5	34,86	35,26	**35,20±0.28**
P 2	33,4	33, 4	33,56	**33,45±0.09**
P 3	29,1	29,0	29,25	**29,11±12**

Tableau ,22 : Concentration en azote (%) dans les différents pollens

Essai / Pollen	1ER	2EME	3EME	MOYENNE ± SEM
P 1	3,46	3,01	3,29	**3,25 ± 0.20**
P 2	3,22	3,43	3,46	**3,37 ± 0.28**
P 3	3,71	3,50	3,64	**3,61 ± 0.10**

Tableau, 23. Concentration en protéines (%) dans les différents pollens

Essai / Pollen	1ER	2EME	3EME	MOYENNE
P1	21,62	18,81	20,56	**20,33 ± 1.41.**
P 2	20,12	21,44	21,62	**21,06 ± 0.81**
P 3	23,19	21,87	22,75	**22,60 ± 0.67**

4. Mise en évidence de la présence des acides aminés dans le pollen

Le pollen est connu pour sa richesse en acides aminés ; nos tests confirment la présence de certains. Nous n'avons pas pu les quantifier, mais nous avons mis en évidence leur présence dans nos échantillons.

Présence de : **leucine, serine, tryptophane, phénylalanine, histidine, valine, arginine et proline** dans les trois échantillons (Tableau, 24). La présence de ces acides aminés et surtout les acides aminés essentiels, montre encore une fois l'intérêt de cet aliment dans la nutrition humaine.

Nos résultats servent à un début dans la recherche et surtout le dosage des acides aminés indispensables par des méthodes plus précises.

Tableau ,24 : Mise en évidence de la présence des acides aminés

Acides aminés / Pollen	Leu	Ser	Trp	Phe	Hist	Val	Arg	pro
P1	+	+	+	+	+	+	+	+
P2	+	+	+	+	+	+	+	+
P3	+	+	+	+	+	+	+	+

5. Dosage de la vitamine C dans les différents pollens

L'acide ascorbique ou vit C, intervient dans :

-les oxydoréductions comme donneur de protons et d'électrons, en raison de ses propriétés réductrices

-la biosynthèse réparatrice des collagènes des tissus conjonctifs,

-la conversion de la tyrosine en noradrénaline,

-Facilite l'absorption intestinale.

La vitamine C est l'isomère L de l'acide ascorbique. Elle comporte une fonction ènediol sur les carbones 2-3. Cette fonction est très oxydable ; il se forme alors de l'acide dihydro - ascorbique . L'acide ascorbique est décomposé par l'oxygène de l'air et par de nombreux oxydants.

La différence entre les trois pollens étudiés est expliquée par l'emplacement géographique et l'origine botanique des pollens étudiés (Tableau, 25). Nous remarquons pour le pollen (P2) et qui correspond à la zone de Bougaa a une concentration élevée en vit C dû en majorité à l'oxalis, (fleur très riche en acide ascorbique VIT C) très répandue dans la zone de Bougaa l'eucalyptus y contribue aussi.

Les chiffres donnés par certains auteurs quant à la concentration du pollen en vitamine C se situent entre 20 et 300 mg.

La richesse du pollen en vit C est très variable d'une espèce végétale à l'autre tout comme les produits végétaux que nous consommons.

L'homme peut agir pour augmenter cette teneur en multipliant les espèces florales riches en vit C, placer ou déplacer son rucher en fonction des stades de floraison des différentes espèces végétales.

Tableau, 25 : Doses de Vitamine C contenues dans le pollen (mg/kg)

Essai / Pollen	**1ER**	**2EME**	**3EME**	**MOYENNE**
P 1	88	88	176	**117,3**
P 2	264	176	176	**205,3**
P 3	88	88	176	**117,5**

6. Le spectre pollinique

L'identification des différents pollens se fait par comparaison en utilisant l'atlas photographique . Il est très difficile de faire un comptage des pollens dans le cas des miels polyfloraux. Nous avons quelques photos sur les miels des trois régions que nous avons retenu à savoir : Ammoucha, Bougaa et Guenzet.

On ne peut pas tirer une conclusion valable quant à la dominance de certains pollens quand on sait d'après la bibliographie que même dans les miels monofloraux, il existe des pollens étrangers à l'espèce supposée dominante.

S'il est facile de différencier le pollen d'eucalyptus (triangulaire) et celui de l'acacia (découpé en quartier) pour les autres pollens ayant à peu prés la même forme (arrondie ou allongée) il faut beaucoup d'expériences pour tirer une conclusion sur la dominance de certaines espèces.

Nous avons établi une série d'images représentant quelques espèces florales avec leurs pollens respectifs afin de guider certaines recherches éventuelles sur le pollen dans la région de Sétif.

Pour cela, nous avons récolté du pollen de la plante même avec prise de photo. (Voir annexe)

Au laboratoire, nous avons fixé le pollen récolté entre lame et lamelle .Les observations faites au microscope nous donnent la forme globale caractéristique de chaque pollen.

Nous remarquons quelques similitudes dans la forme de certains pollens, surtout dans la forme arrondie .Il existe des techniques modernes avec des prises en trois dimensions qui révèlent d'autres aspects.

Grâce au concours de certains apiculteurs de la région de Ammoucha, nous avons établi une liste des espèces florales existantes. Ammoucha (Voir annexe).

La présence de toutes ces espèces contribue à la production d'un miel de qualité.

Il est rare de trouver en Algérie des miels monofloraux ou à dominance florale spécifique à part quelques régions comme la Mitidja où le miel d'agrumes est dominant, avec un goût caractéristique ou encore les régions où l'eucalyptus est très dominant.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les résultats obtenus révèlent que les pollens de la région de Sétif possèdent de grandes qualités nutritionnelles.

Les principaux composants : Les protéines et les glucides, qui se trouvent en quantités appréciables et dans les normes internationales montrent la présence d'une flore riche et variée .

Les doses de glucides trouvées dans les trois pollens sont intéressantes pour la quantité d'énergie que les sucres peuvent apporter dans la ration alimentaire humaine.

Du point de vue vitamines ,la présence de la vitamine C que nous avons retrouvé dans les trois pollens avec une dominance pour la zone de Ammoucha est un plus dans la composition du pollen ; Des vitamines du groupe B , la vitamine A et les antioxydants constituent un apport important pour l'homme.

Nous avons vu quelle était l'importance des protéines pour des larves dont la principale nourriture se compose de pollen et de nectar. L'état de santé d'une colonie est étroitement lié à la nourriture des larves d'abeilles et la disponibilité des « aliments » dépend de la présence des fleurs dans le secteur apicole quand on sait que 1kg d'abeilles consomme 60 kg de pollen par an ; pour 20 ruches il faut une tonne de pollen par an .

Une composition protéique variée implique obligatoirement des ressources polliniques variées tout au long de l'année . La disparition de la biodiversité végétale entraîne. la dépopulation des ruches .

Beaucoup de travaux ont montré l'importance du pollen dans les mécanismes de défense naturelle contre la nosémose et la loque européenne ainsi que dans la durée de vie « des abeilles d'hiver ».

Dans l'alimentation humaine le pollen est un produit d'une grande richesse nutritionnelle.

A ses effets thérapeutiques découverts depuis longtemps vient s'ajouter la présence de Bactéries Lactiques reconnues comme Probiotiques par l'O.M.S (l'Organisation Mondiale de la Santé) .

Les résultats des tests que nous avons effectués sur les différents pollens confirment la présence de quelques espèces de bactéries lactiques :*Lactobacillus plantarum* et des *Leuconostoc Mésentéroides dextranicum* .

Le pollen est malheureusement méconnu du grand public et surtout très peu exploité .Dans un pays où les ressources protéiques sont maigres et ne sont pas à la portée de tous ; il serait intéressant d'encourager les apiculteurs à placer des trappes à pollen dans leurs ruchers et de leur expliquer qu'il n'y a pas d'effet sur la production de miel.

Des séances de vulgarisation sur l'importance du pollen et la distribution des trappes à pollen seraient un bon moyen pour encourager les apiculteurs de se lancer dans cette voie.
Le spectre pollinique ou la recherche des grains de pollen est surtout utilisé pour démasquer des fraudeurs qui utiliseraient de manière abusive une dénomination géographique, ou botanique qui induirait le consommateur en erreur.

Pour le moment le problème ne se pose pas en Algérie où presque tous les miels sont multifloraux ; à part les miels d'agrumes dans les régions de Blida, Boufarik, Chleff et Mohammadia dans la wilaya de Mascara .Les surfaces occupées par les agrumes sont dominantes et la floraison de ces espèces fruitières est étalée sur une bonne partie de l'année.
La diversité des variétés précoces et tardives au sein même des différentes espèces implique une présence permanente des fleurs de Citrus.

Le miel des agrumes est très caractéristique au goût et à l'arôme et la recherche du pollen dans ces miels serait une perte de temps. La présence de l'eucalyptus dans la zone de Blida permet l'utilisation du nom « Miel d'Eucalyptus » caractéristique par son arôme et un goût particulier. Dans la région de Sétif, les miels des différentes zones étudiées n'ont pas une grande particularité ou une identité spécifique reconnaissables à l'odeur, la consistance ou la couleur.

On peut dire que l'avenir de l'apiculture dépend du développement de l'agriculture. La plantation des arbres fruitiers dont le pollen et le nectar sont très appréciés par les abeilles ; est indispensable pour la survie de l'apiculture dans la région et pour un rendement meilleur en miel. Il faut une diversification de la flore et prévilegier les espèces dont le pollen serait riche en matières azotées .
L'autre solution que nous proposons; c'est d'éviter une utilisation abusive des désherbants chimiques qui limiterait la source de nectar et de pollen. Les mauvaises herbes peuvent s'avérer utiles à nos amies les abeilles et surtout à leurs larves.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

André ECK . ,(1987) Le fromage Technique et documentation, Lavoisier**.**

Antinelli et Breyne., (2004) Bull.Tech.Api .Fevrier 2005

Belin .M ,(1989) Acacia et environnement mellifère des colonies d'abeilles .
L' abeille de France N°738 ,233-235 .

Bloc. A .,(1987).L'exploitation des miellats de pucerons par l'abeille .Bull.Tech.Api,2004.

Bouseta A. , ;Collin S. ,Dufour J.P. ,1992. Caractéristic aroma profiles of unifloral honeys obtained with a dynamic headspace .

Bocquet .A.(1987) L'exploitation des miellets de pucerons par l'abeille Bull.tech .Api ,2004

Bocquet .A (1999-2001) Description des principaux types de miels .

Bocquet .A (1994 2002) Flore mellifère .

Caillas A ., (1974) Le Rucher de Rapport et les produits de la ruche .7ème Edition Paris .Nombre de pages ,505 .

Caillas A .,(1953) Les Abeilles Source de Jouvence et de Vitalité .Le pollen et la Gelée Royale .ORLEANS , (Loiret).

Chauvin R. (,1968) Digestion et nutrition des adultes in Traité de Biologie de l'Abeille . T. 1 , 346-377 .Massonn Ed .,Paris.
Chauvin R .,(1976) Les Abeilles et moi .Edition Hachette ., Paris .Nombre de pages 162.

Cook GC (1994) Hypochlorhydria and vulnérability to intestinal infection.*Eur j Gastroenterol Hepatol* ,**6 :** 693-695.

Crailsheim K.,(1990.) The protein balance of the honey bee worker .Apidologie , **21** (5),431-446 .

Dafni A ,Hesse M , Pacin E ., (2000) Pollen and Pollinisation Springer wien New York

Desmazeaud M.J ,et Vassal (1979) Activité protéolytique intracellulaire de streptocoques lactiques mesophiles .

De Grot (1953) ,cité par Louveaux (1968)

De vrese M ,Stegelmann A , RIichter B, Fenselaus, Laue C, Schremzemeir J (2001) .Probiotics-composition for lactase insuffisiancy .*Am J Clin Nutr* ,73 (2 Suppl):421S -429S

Donadieu Yves (2005) w.w.w.01 Santé .com Abeilles et fleurs 2005 .

Drouault S ,Corthier G ,Ehrlich SD, Renault P(1999) .Survival ,physiology ,and Lysis of Lactococcus lactis in the digestive tract .*Appl Environ Microbiol* , **65 :** 4881-4886.

Drouault S ,Juste C ;Marteau P *et al*.(2000). Oral Treatment with Lactococcus lactis Expressing Staphylococcus hiycus Lipase Enhances Lipid Digestion jn Pigs with Inducted Pancreatic Insufficiency, Appl *environment Microbiol.* **68:** 3166-3168

Ducluzeau R (1989) .Role of experimental microbial ecology in gastroenterology. *In :Microbial ecology and intestinal infections,* Bergogne Berezin E (ed.) Springer –Verlag .Paris :7-26 .

Dunne C , O'Mahony L ,Murphy L , Thornton G , Morrissey D O'Halloran S, Feeney M ,

FlynnS , Fitzgerald G ,Daly C, Kiely B , O'Sullivan GC , Shanahan F ,Collins JK (2001).In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin :correlation with *in vivo* findings . *Am J Clin Nutr* **,73** (suppl) :386S-392S**.**

Fert G.,(1992) L'Elevage des reines, 3ème édition, O.P.I.D.A. Ed., Echaufour.

Frans J.Jacobs Professeur et directeur du laboratoire de Zoophysiologie Université de Gand Belgique

Gibson GR et Roberfroid MB (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiotia introducing the concept of Probiotics J.Nutr 1995,125;1401-12.

Goût J et Jardel C,(1998) Le monde du miel et des abeilles .

Gilliam M . ;Prest D.B.,Lorenz S.J.,(1989) Microbiology of pollen and bee bread:taxonomy and enzymology of molds . Apidologie, **20** (1) ,53-68 .

Guiraud J P .; (1998) .Microbiologie Alimentaire . DUNOD Paris .614 pages.

Guiraud J P., (2003), Microbiologie Alimentaire .DUNOD Paris. 604 pages.

Haydak M.H.,(1961) Influence of storage on the nutritive value of pollens for newly emerged honey bees ,Am. Bee J.,101 , 354-355.

Haydak M.H.(1963) Influence of storage on the nutritive value of pollen for brood rearing by honey bees .J.Apic .Research, **2,** 105-107 .

Haydak M.H.,(1968) Nutrition des larves d'abeilles in Chauvin, Traité de Biologie de l'Abeille , T.1.302-333.Masson Ed.,Paris .

Herbert E.W. Jr,Vanderslice J.T.,Higgs D.J.,(1985) Effect of dietary vitamin C levels on the rate of brood production of free flaying and confined colonies of honey bees.Apidologie, **16** (4), 343-344.
Jacobs (2004)

Karl Von Frish .,(1956). Vie et Moeurs des Abeilles .Editions Albin Michel, Paris .200 pages.

Kereszesi (1988) cité par Bocquet.M Description des principaux types de miels.(1999-2001).

Landauer (1952) cité par Pierre Jean-Prost .Apiculture (1987)
Larpent J-P , M . Larpent - Gougaud (1985) Eléments de Microbiologie .Edition, Hermann, Paris. 434 pages.

Lavie P (1963) L'identification des substances antibactériennes dans le miel

Lee YK ,Lim CY,Teng WL et al (2000).Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria *.Appl Environment Microbiol* , 66 **:** 3692-3697.

Le Lezec et A.Beloin .Revue de l'apiculture :Abeilles et fleurs ,Mai 2005,N°661 .

Le Lezec .M et Beloin. I.N.R.A. Angers . Revue de l'apiculture :Abeilles et fleurs N° 662.Juin 2005

Lenoir J ,Hermier J ,Weber F ,(1992) . Les groupes microbiens d'interêt laitier .

Leonard E.W., Reichelderfer C.F., Dhimanuki H, (1983.) Pollen importation a possible route for pest introduction. Apidologie, 14: (4),303-307.

Louveaux J.,(1958) Recherches sur la récolte du pollen par les abeilles (Apis mellifica L.).Thèse .Paris ,206 pages.

Louveaux J., (,1968) Etude expérimentale de la récolte du pollen in Chauvin , Traité de Biologie de l'Abeille , T. 3 ,174-203.Masson Ed.,Paris .

Louveaux J ., (1985) Les Abeilles et Leur Elevage .2ème Edition ,OPIDA Orme ,France .238 pages .

Luquet FM ., (1986) Lait et produits laitiers Tec et Doc Lavoisier .

Luquet F M ., Corrieu G .,(2005) Bactéries Lactiques et Probiotiques . Tech et Doc Lavoisier, Paris .282 pages.

Marteau P , Flourie B ,Pochart P *et al* (1990) .Effect of the bacterial lactase activity in yogurt on the intestinal absorption of lactose : an in vivo study in lactase –deficient humans .Br *j Nutrition* ,64 **;**71-79.

Marteau P , Rambaud JCProbiotiques et gastroentérologie

Martin A (2001) . Aliment santé (alicaments) et allegations .Cahier de Nutrition et de Diétetique .

Mathieu Laetitia « Robinier ou faux acacia ,histoire de miel » La santé de l'abeille ,N°173 Sept-Oct 1999.

Morelli L (2000) . In vitro selection of Probiotics lactobacilli : a critical appraisal .*Curr Issues Intest Microbiol* ,1 :59-67 .

NIiklin J . ,Graeme -Cook K . ,Paget T .et Killington R ., (2000) L'essentiel en Microbiologie . Editions Berti. Paris .358 pages .

Ouehand AC, Tuomola EM ,TolkoS , Salminen S (2001).Assesment of Adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus . *International Journal of food Microbiology* ,**64 :** 119 -126 .

Pain J .,(1961.) Sur quelques facteurs alimentaires, accélérateurs du développement des œufs dans les ovaires (Apis m.L.).Ins, soc. **8** ,31-93.

Pain J., (1968.) Nutrition et développement des organes sexuels adultes ,in Chauvin ,Traité de Biologie de l'Abeille ,T.1,410-435,Masson Ed.,Paris .

Pain J., Maugenet J., (1961). Recherches biochimiques et physiologiques sur le pollen emmagasiné par les abeilles .Ann. Abeille, 9, 209-236. F3Jchjartdelli–D'albore (,1993).Composicione chimica del polline. L'ape nosta amica, XV (1), 17-22.

Pochart P., Dewit O, Desjeux JF, Bourlioux P., (1989)
(Viable starter culture, **B**-galactosidase activity and lactose in duodénum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans .*Am J Clin Nutr,* **49 :** 828-831.

Prost J-P (1987) Apiculture .Connaitre l'Abeille -Conduire le rucher. Tech et Doc Lavoisier, Paris. 559 pages.

Rabiet .E (1981) Plantes mellifères et plantes apicoles.

Rabiet . E., (1986) Abeilles et Pollinisation, Jonzac, France. 320 pages.

Regard A .Douhet, Adam L., (1973), L'Abeille de A à Z .Embryologie –Anatomie. Paris. 84 pages.
Renaud et Deaunay .Abeille de France ,Janvier 2005

Renaud et Delaunay .J.P Botanique .Abeille de France et l'apiculteur ,Mai 2005,N°914

Roulston et Cane .,(2000) Bulletin Technique N°129 ,Janvier 2005.

Saarella M, Mogensen G ,Fonden R ,Matto J ,Mattila-Sandholm T (2000). Probiotic Bacteria :safety , functional and technological properties .*J Biotechnol* ,**84 :** 197-215 **.**

Saavedra JM ,Bauman NA,Oung I, Pernan JA ,Yolken RH (1994).Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarhoea andsshedding of rotavirus .*Lancet* , **344 :**1046-1049.

Sabot J. (1980) -150 Plantes Mellifères .Paris .92 pages.

Servin AL ,Coconnier MH (2003).Adhesion of probiotic strains to intestinal mucosa and interaction with pathogens .*Best Pract Res Clin Gastroenterol* ,**17:**741-754.

Simon GL ,Gorbach SL (1987) .Intestinal Flora and gastro-intestinal function In:Johnson LR (ed.) Physiology of the gastro-intestinal tract ,Volume 2.New-York :*Raven Press,*1729- 1747

.Vassière et Vincent,(1994) ,in Bulletin Technique Apicole .N°129 Janvier 2005.

Vesa TH ,Marteau P ,Korpela R (2000) .Lactose intolerance .*J Am Coll Nutr* ,**19 :** (2 Suppl):165S-175S

Vivino A.E., Palmer L.S., (1944.) The chemical composition and nutrition value of pollens collected by bees .Archiv.Bioch. **4:**129-136.

Wahl O, (1968) Le Nourrissement in Traité de Biologie de l'Abeille, T.4, 163-180.Masson Ed., Paris.

Weiss K.,(1984) Regulierug des Proteinhaushaltes im bienenvolk (Apis mellifica L.) duch Brutkannibalismus .Apidologie . **15** (3) ,334-339 .

Anonyme (2007) L'apiculture en Algérie .Le Quotidien National El Watan N°5168, Le 7 Novembre 2007.L'apiculture en sept dates .

Anonyme ,1 Ministère de l'agriculture (Service des statistiques agricoles).

Anonyme ,2 .Direction des Services Agricoles de Sétif

Anonyme,3 www.infovisual.info
Anonyme,3 www.infovisual.info

Anonyme,4 www.technique-apiculture.info

Anonyme,5 AJR en mg FAO/OMS 1974

Anonyme,6 www.naturosante.com/rubriques/dossiers/pollen/pollen3