

INTERPRÉTATION STATISTIQUE DES RÉSULTATS EN MATIÈRE D'ANALYSE POLLINIQUE DES MIELS

Ph. VERGERON

*Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux
Bures-sur-Yvette (Seine-et-Oise)*

SOMMAIRE

L'auteur a étudié la sécurité des résultats obtenus en analyse pollinique. En particulier, les variations des pourcentages inhérentes à la préparation microscopique ont été observées ainsi que celles des pourcentages en fonction du nombre de grains de pollen comptés. Le nombre d'espèces végétales rencontrées suivant l'importance du nombre de grains de pollen observés a été également étudié.

INTRODUCTION

Le chercheur effectuant une analyse pollinique la termine en général par l'établissement d'un spectre pollinique, c'est-à-dire la liste des espèces végétales observées et celle des pourcentages correspondants. Pour obtenir ce spectre, il effectue en général une ou deux préparations microscopiques à partir de 10 à 20 g de miel. Ayant fait l'inventaire des espèces végétales présentes, il compte 100 à 300 grains de pollen afin d'établir les pourcentages en question.

Nous pouvons nous demander quelle est la valeur exacte du spectre pollinique ainsi obtenu et, en particulier, quelle est la confiance que nous devons avoir dans les pourcentages calculés. Autrement dit, dans quelle mesure les résultats de l'analyse pollinique sont-ils reproductibles ? Par ailleurs, nous pouvons nous interroger sur l'opportunité des constantes établies telles que, par exemple, le poids du miel habituellement utilisé pour les analyses. Le problème posé est donc celui de la valeur des chiffres obtenus en fonction de chaque élément analytique variable.

Nous serons ainsi amenés à étudier les problèmes suivants :

1° *Variations des pourcentages inhérentes à la préparation microscopique elle-même.* Nous observerons dans ce cas les variations des pourcentages en fonction de la place des grains de pollen dans la préparation, ce qui nous amène en définitive à tester l'homogénéité de la répartition des grains de pollen sur la lame, et les variations en fonction du poids de miel utilisé.

2° *Variations des pourcentages en fonction du nombre de grains de pollen comptés.* Nous essaierons de déterminer un nombre moyen minimum estimé donnant aux pourcentages calculés une zone de sécurité d'intervalle que nous aurons choisi comme étant acceptable pour résoudre les problèmes posés.

3° *Variations du nombre d'espèces végétales rencontrées en fonction du nombre de grains de pollen comptés.* Nous considérerons alors, d'une part, la présence, ou l'absence, de certaines espèces à des niveaux différents déterminés au cours du comptage, d'autre part, la possibilité d'observer, ou de ne pas observer, les espèces se rencontrant à faible pourcentage. Il est évident que ces considérations n'intéressent guère les espèces végétales dominantes.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Les miels utilisés sont des miels français et proviennent de régions donnant des spectres polliniques simples et bien connus. Ce choix évite la présence de nombreux pollens non déterminés et, par cela même, augmente la valeur réciproque des divers pourcentages. Ces miels ont donné un culot de centrifugation normal. La méthode utilisée est, à peu de chose près, celle de la Commission internationale de botanique apicole (MAURIZIO et LOUVEAUX, 1963). Le poids de miel utilisé (10 g) est dilué dans 20 ml d'eau distillée additionnée d'acide sulfurique dans la proportion de 5 g par litre. La solution obtenue est centrifugée pendant 10 minutes à 3 200 tours/minute. Le liquide superflu est jeté de façon à ne conserver que le culot de centrifugation. Ce dernier sera débarrassé de tout reste acide par un lavage à l'eau distillée suivi d'une deuxième centrifugation semblable à la première. Le pollen en suspension dans la dernière goutte de liquide est prélevé aussi complètement que possible à la pipette Pasteur et étendu sur une lame ou sur une surface correspondant à celle de la lamelle (16 × 16 mm). Cette lame est séchée sur platine chauffante, puis les grains de pollen sont inclus dans une goutte de gélatine glycinée.

Les grains de pollen sont comptés sous le microscope (objectif × 40 — oculaire × 8) champ par champ, un inventaire des espèces et une numération étant faits sur chacun d'eux. Les champs sont choisis entièrement au hasard en déplaçant la platine du microscope suivant deux directions perpendiculaires.

RÉSULTATS

1° *Variations des pourcentages et du nombre des espèces végétales en fonction du nombre des grains de pollen comptés.*

Une préparation microscopique correspondant à un miel de Sainfoin français a été obtenue selon la méthode exposée plus haut. Les pourcentages ont été établis sur 100 grains de pollen. Sur la même préparation, la même analyse a été répétée 30 fois, en prenant chaque fois des champs fixés au hasard. Nous avons, en somme, utilisé la méthode du « sous-échantillonnage ». L'échantillon complet, global, est représenté par l'ensemble des 100 grains de pollen. Le « sous-échantillon » est le champ microscopique.

Pour plus de commodité et pour éviter tout choix venant de l'expérimentateur, nous avons terminé sur le dernier grain de pollen du dernier champ microscopique. Nous avons en fait des échantillons de 97 à 104 grains de pollen, mais nous avons toujours ramené à 100 par le calcul, ce qui évite beaucoup de complications et n'entraîne qu'une erreur très minime. Nos calculs statistiques où $n = 100$ s'en trouvent simplifiés.

Les résultats de ces 30 analyses sont portés dans le tableau 1.

Nous constatons que les pourcentages des différentes espèces varient dans de grandes proportions. Pour ce qui est des espèces dominantes, ils peuvent passer du simple au double. Ainsi, celui du Sainfoin passe de 23,1 à 43 (analyses 20 et 3). Le trèfle blanc a un pourcentage moyen de 19,1. Or, nous pouvons constater qu'il disparaît complètement dans l'analyse 27. Cet accident ne se serait pas produit dans le cas d'une analyse courante car l'observateur ayant fait un inventaire préalable aurait fatalement remarqué un pollen aussi important. Mais nous constatons que statistiquement il est possible que le hasard fasse disparaître un élément important si la numération ne porte que sur 100 grains.

Les pourcentages des espèces isolées sont en moyenne encore plus fluctuants. Ainsi, celui du Colza passe de 0 à 4 (analyses 1 et 24), celui des Papilionacées de 1 à 9,2 (analyses 1 et 25). Dès maintenant, nous pouvons donc constater que, sur 100 grains, les pourcentages des différentes espèces végétales rencontrées sont très incertains et beaucoup trop instables pour qu'ils puissent être pris en considération. De plus, dans les 30 analyses effectuées le nombre total des espèces (correspondant donc à 3000 pollens) est de 31. Or, sur 100 grains, nous n'avons trouvé que de 8 à 19 espèces. La moyenne du nombre d'espèces trouvées est voisine de 13. En effet, 10 analyses sur les 30 ont présenté 13 espèces et 18 de 12 à 14. Ceci montre bien que, dans la majorité des cas, on ne peut guère espérer épuiser toute la préparation en ne comptant qu'un nombre aussi faible de grains de pollen.

2° Homogénéité du système

Nous nous sommes assurés, avant d'aller plus loin, que les différences observées au tableau 1 sont bien dues uniquement au hasard et non à un autre phénomène provenant du mode de préparation par exemple.

Nous avons donc effectué un χ^2 général en calculant cette valeur pour chaque analyse (par rapport à la population générale constituée par les résultats des 30 analyses) et en additionnant les valeurs ainsi obtenues. Nous ne prenons pas en considération les grains de pollen non déterminés qui constituent un exemple trop hétérogène.

Notons qu'il s'agit d'un χ^2 à 870 degrés de liberté : $\nu = (30-1)(31-1) = 870$.

Le tableau 2 donne les résultats dans la première colonne de nombres : χ^2 .

Dans le cas d'un nombre de degrés de liberté si élevé, on calcule l'expression $\sqrt{2\chi^2} - \sqrt{2\nu - 1}$ qui suit la distribution normale. Nous avons obtenu ici $\chi^2 = 1096,48$, ce qui nous donne :

$$2 \sqrt{\chi^2} - \sqrt{(2 \times 870) - 1} = 4,9$$

Nous constatons qu'il n'y a aucune probabilité d'obtenir une telle valeur. Par conséquent, on ne peut pas conclure que les grains de pollen sont répartis d'une

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Onobrychis sativa</i>	42	36	43	40	32,1	35,7	31,4	40,7	33	41	34,5	33,6	40,7	31
<i>Sinapis</i> sp.	5	3	3	4,7	2,7	2,7	1,8	1,8	1	3	—	3,6	3,8	3
<i>Castanea vulgaris</i>	14	13	20	13,3	17,1	7,3	15,7	10,1	20,3	6	20,9	4,3	11,6	19
<i>Papaver</i> sp.	1	10	4	—	2,7	8,2	3,7	2,7	2,9	4	3,6	1,8	—	—
Rosaceae (Arbres fruitiers) .	1	2	—	2	1	1	1,8	2,7	3,8	4	3,6	0,9	1,9	—
<i>Lotus corniculata</i>	9	3	11	8,5	7,3	4,5	6,4	9	7,7	6	5,4	4,5	10,6	6
<i>Trifolium repens</i>	18	17	11	17,1	20,1	22	25,9	25	23,3	19	21,8	23,6	22,3	16
Papilionaceae	1	3	4	1	3,6	2,7	1,8	1,8	1	3	3	3,6	0,9	7
<i>Rhamnus frangula</i>	4	2	1	3,8	4,5	2,7	1,8	1	1	—	1,8	3,6	0,9	2
<i>Cornus sanguinea</i>	1	3	—	1	1	1	1,8	—	—	3	—	—	—	1
<i>Centaurea cyanus</i>	1	1	—	1	3,6	—	1,8	1	1	—	0,9	0,9	0,9	2
<i>Centaurea jacea</i>	1	3	—	1	1,8	4,5	1,8	—	—	3	0,9	4,5	—	5
Oleaceae	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>Trifolium pratense</i>	—	3	—	—	1	2,7	—	1,8	—	2	0,9	0,9	—	2
<i>Carduus</i> sp.	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Robinia pseudacacia</i>	—	—	—	—	1	—	—	1	2	1	—	—	0,9	1
<i>Brassica napus</i>	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	2
<i>Thymus</i> sp.	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
<i>Knautia</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
<i>Calluna vulgaris</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,9	—	—	—
<i>Plantago</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,9	—	—	—
<i>Rumex</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,9	—
<i>Taraxacum officinale</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>Melilotus</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
<i>Salix</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Tilia</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ombelliferaeae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Liliaceae	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Lonicera</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Echium</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Helianthemum</i> sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Inconnus	1	—	3	—	—	3,6	2,7	—	2	4	0,9	1,8	2,9	2

façon homogène dans la préparation. La considération des χ_1^2 individuels est, par contre, intéressante. Certains relevés forment un groupe assez homogène, en particulier ceux qui donnent un χ_1^2 compris entre 10 et 15. Par contre, d'autres aboutissent à des valeurs nettement plus élevées atteignant et dépassant 30. Or, nous pouvons constater qu'il s'agit alors de relevés où sont portées des espèces végétales repérées rarement ou même une seule fois.

Par exemple, le relevé 10 présente 1 grain de pollen de *Knautia*, le seul qui ait été rencontré durant nos opérations. La moyenne générale pour cette espèce est donc $\frac{1 \times 100}{3000} = 0,03$ p. 100 en considérant la population unique constituée par les 30 analyses. Cette espèce ajoute donc à elle seule au χ_1^2 du relevé 10 $\frac{(1 - 0,03)^2}{0,03} = 30,1$.

Dans le cas du relevé 27, l'absence totale de Trèfle blanc n'entraîne une augmentation du χ_1^2 que de $\frac{10,1^2}{19,1} = 10,1$. Pourtant le relevé 27 est beaucoup plus

AU I

15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	Moyenne
34,6	29,5	37,7	38	37,7	23,1	36	35	35,5	37	28	30	38	41,5	36,5	41,9	35,8
0,9	3,8	1,5	2,8	0,9	0,8	4	1	—	4	4,6	1	1	4,4	1,9	0,9	2,4
18,2	19	8,6	19	14,1	19,8	20	10	15,8	8	11,2	14	6	17,6	14,4	11,4	14,4
0,9	1,9	1,5	0,9	1,8	4,9	1	2	3,7	2	4,6	2	3	2,6	—	1,9	2,9
0,9	1,9	—	—	—	3,3	1	1	1,8	3	0,9	2	6	2,6	—	1,9	1,7
2,8	3,8	8,6	7,6	8,4	9,9	5	8	4,6	4	7,4	6	19	—	8,6	7,6	7
19,2	16,1	19,6	9,5	20,7	20,6	21	21	17,7	24	20,5	24	—	13,2	27,8	15,2	19,1
2,8	7,6	3,9	8,5	7,5	3,3	3	5	4,8	6	9,3	4	7	7	2,8	3,8	4,1
2,8	3,8	3,1	0,9	3,7	2,4	1	2	1,8	3	1,8	2	3	2,6	1,9	—	2,2
0,9	—	0,7	3,8	—	0,8	—	1	0,9	—	—	1	4	—	—	0,9	0,9
3,8	—	1,5	—	—	—	2	—	—	—	—	3	3	0,8	0,9	—	1
1,9	3,8	3,9	1,9	—	0,8	—	—	4,6	1	2,8	2	2	2,6	0,9	2,8	1,9
1,9	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	0,9	—	0,2
0,9	1,9	2,3	—	—	1,6	2	1	1,8	1	0,9	—	2	—	0,9	0,9	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
—	—	—	0,9	—	0,8	1	1	—	—	2,8	1	—	—	—	—	0,5
1,9	0,9	2,3	2,8	—	1,6	—	3	0,9	4	1,8	2	3	0,8	—	0,9	1
—	—	0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	0,1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
0,9	—	—	—	0,9	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	0,9	0,15
—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,06
—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	0,13
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
—	—	—	0,9	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1
0,9	—	—	—	0,9	—	—	1	0,9	—	—	—	—	—	—	—	0,1
—	0,9	—	0,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,06
—	—	—	—	0,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,03
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	0,03
4,8	4,7	3,1	3,8	1,8	4,1	—	4	1,8	4	2,8	3	3	2,6	0,9	7,6	2,5

individualisé, par rapport aux autres relevés, par l'absence d'une plante dominante, que le relevé 10 par la présence d'un grain de pollen d'une plante rarissime.

C'est pour cela que nous avons établi le χ^2_2 à 435 degrés de liberté, en négligeant toutes les espèces végétales se trouvant dans la population globale des 30 relevés à moins de 0,15 p. 100. Le χ^2_2 obtenu est de 566,18 (tabl. 2) et donne une expression $(\sqrt{2\chi^2_2} - \sqrt{2\nu - 1})$ égale à 3,8. Nous ne pouvons donc que conserver la conclusion précédente. Mais les χ^2_2 individuels nous semblent davantage représenter la répartition exacte des grains de pollen dans la préparation microscopique. Ils nous montrent en particulier, que cette répartition est souvent uniforme, mais qu'elle peut devenir très hétérogène comme dans les relevés 2, 3, 9, 14, 18, 25 et 27 qui paraissent de loin les plus aberrants. Autrement dit, si la préparation semble homogène dans son ensemble, il existe des plages dans lesquelles la répartition des différents grains de pollen varie énormément.

3° *Étude du centre et des bords de la préparation*

La méthode de montage n'est-elle pas en partie responsable de cette homogénéité ? Cela est peu probable ; en effet, au moment où les grains de pollen sont inclus dans la gélatine glycinée, ils sont le plus parfaitement possible étalés. Mais la formation obligatoire d'un « courant » de gélatine peut entraîner plus ou moins les grains de pollen, le déplacement pouvant être proportionnel à leur taille, par exemple, les plus lourds étant les moins déplacés.

TABLEAU 2

N° Analyse	χ_2^2	χ_1^2
1	16,88	14,47
2	68,21	36,32
3	21,42	20,50
4	13,68	12,76
5	13,62	11,70
6	14,82	13,90
7	19,31	9,48
8	11,39	10,47
9	34,55	33,63
10	51,73	19,74
11	28,97	12,78
12	17,07	15,67
13	49,17	15,85
14	61,42	21,23
15	41,01	10,66
16	28,43	15,57
17	26,24	9,89
18	50,37	31,21
19	54,96	14,34
20	17,46	16,54
21	55,27	13,81
22	117,75	12,99
23	15,79	9,99
24	20,83	19,91
25	27,80	27,58
26	27,98	10,25
27	153,49	35,74
28	18,28	16,31
29	15,69	14,77
30	12,89	8,12
Total	1 096,48	566,18

Un essai succinct a été réalisé. Nous avons divisé la lamelle en 9 carrés égaux, 1 central et 8 périphériques dont 4 latéraux et 4 en angle. Nous avons compté 1000 grains de pollen dans un carré de chacune de ces catégories, le carré central (*a*), un carré latéral (*b*) et un carré angle (*c*). Ces résultats sont consignés dans le tableau 3.

La différence observée entre les nombres d'espèces décelées dans chacun des cas n'est guère significative. Les espèces isolées ne sont même pas identiques dans les

trois cas. De plus, il ne semble pas que les grains de pollen de petite taille, par exemple, soient systématiquement entraînés vers les bords de la préparation. Il y a, en effet, autant de Châtaignier en « a » qu'en « c ». De même, les pollens de grande taille ne sont pas régulièrement moins nombreux en « c » et « b » qu'en « a » (Sainfoin, Trèfle violet,

TABLEAU 3

	a	b	c
<i>Onobrychis sativa</i>	304	290	342
<i>Trifolium repens</i>	145	182	158
<i>Castanea vulgaris</i>	152	182	150
<i>Rhamnus frangula</i>	24	22	24
<i>Sinapis</i> sp.	26	30	14
Oleaceae	2	—	—
<i>Centaurea jacea</i>	17	16	26
<i>Centaurea cyanus</i>	70	6	10
<i>Lotus corniculata</i>	80	86	78
<i>Melilotus</i> sp.	34	16	10
Papilionaceae	84	56	56
<i>Brassica napus</i>	17	24	30
<i>Papaver</i> sp.	38	20	24
<i>Medicago sativa</i>	13	—	—
<i>Trifolium pratense</i>	13	2	12
<i>Taraxacum</i>	3	—	2
<i>Echium</i> sp.	1	—	—
<i>Cornus sanguinea</i>	2	4	26
<i>Fagopyrum esculentum</i>	2	—	4
<i>Carduus</i> sp.	1	—	—
<i>Robinia pseudacacia</i>	3	2	4
<i>Calluna vulgaris</i>	5	—	—
Rosaceae	20	40	22
<i>Salix</i> sp.	3	8	2
<i>Rumex</i> sp.	5	6	4
Ombelliferaeae	1	2	2
<i>Thymus</i> sp.	—	4	—
Liliaceae	—	4	—
<i>Jasione montana</i>	—	4	—
<i>Vicia sativa</i>	—	2	—
Caryophyllaceae	—	—	2
<i>Tilia</i> sp.	—	—	2
<i>Plantago</i> sp.	—	—	2

Cornouillier sanguin). Pour ce qui est des espèces dominantes, nous avons effectué un χ^2 à 22 degrés de liberté. Nous avons obtenu les résultats suivants :

a	27,05
b	19,05
c	10,61
	56,71

Or, avec une valeur de 40,29, il n'y a qu'une très faible probabilité d'obtenir un χ^2 supérieur avec 22 degrés de liberté. Les différences entre les trois carrés sont donc

certaines. Cependant, il semble bien que l'hétérogénéité entre ces trois plages coïncide avec l'hétérogénéité générale de la préparation et, de toute façon, aucun phénomène précis ne se dégage des résultats.

4° *Variations des pourcentages et du nombre d'espèces en fonction du poids de miel*

Les analyses polliniques sont, en général, réalisées à partir de 10 à 20 g de miel. Nous avons essayé de vérifier si la même opération était possible avec une quantité

TABLEAU 4

	5 g	10 g	15 g*	20 g	30 g	100 g
Rosaceae (Arbres fruitiers)	3	2,3	2,7	1,7	1,7	1,1
<i>Castanea vulgaris</i>	61,4	69,3	61,7	66,8	64	75,5
<i>Sinapis</i> sp.	11,3	8,8	8,4	10,5	10	6,2
<i>Trifolium pratense</i>	2,7	1,7	2,4	1,2	1,4	0,8
<i>Robinia pseudacacia</i>	1,7	0,4	0,5	0,6	1,3	0,5
<i>Trifolium repens</i>	8,9	8,3	9,1	7,8	9,6	7,6
<i>Melilotus</i> sp.	1,6	1,1	2,2	1,4	1,7	1,3
<i>Quercus</i> sp.	1,2	0,1	0,1	0,3	0,4	0,3
<i>Brassica napus</i>	0,6	1,1	1,4	1,5	1	0,7
Rosaceae	0,8	1	1,9	0,5	0,5	0,5
<i>Helianthus</i> sp.	0,1	0,1	0,1	—	0,1	0,1
<i>Salix</i> sp.	0,8	0,7	1,3	1,9	2	1,2
<i>Taraxacum officinale</i>	0,3	0,2	0,4	0,3	0,9	0,1
<i>Vicia</i> sp.	1,2	0,8	0,7	0,5	0,6	0,5
<i>Helianthemum</i> sp.	0,5	0,1	0,7	0,2	0,4	0,2
<i>Onobrychis sativa</i>	1,7	0,5	1,1	0,5	0,7	0,6
<i>Rumex</i> sp.	0,4	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3
<i>Lotus</i> sp.	1	1,3	1,2	1,2	0,5	1
<i>Tilia</i> sp.	0,1	0,1	0,8	—	0,1	—
<i>Sarothamnus</i> (type)	0,3	0,2	0,4	0,5	0,3	0,6
<i>Centaurea jacea</i>	0,3	0,2	0,6	0,2	0,2	0,5
<i>Echium</i> sp.	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3
Ombeliferaceae	—	0,4	—	0,2	0,1	—
<i>Ligustrum</i> sp.	—	0,2	0,4	0,3	0,7	0,2
<i>Medicago sativa</i>	—	0,1	0,7	0,4	0,6	0,3
Cucurbitaceae	—	0,1	—	—	—	—
<i>Fagopyrum esculentum</i>	—	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2
<i>Achillea</i> sp.	—	0,2	0,3	0,1	0,1	0,2
<i>Centaurea cyanus</i>	—	—	0,2	0,4	0,2	0,2
<i>Zea mais</i>	—	—	0,1	0,1	—	—
<i>Pinus</i> sp.	—	—	0,1	—	—	—
<i>Papaver</i> sp.	—	—	0,1	0,2	0,1	0,1
<i>Cornus sanguinea</i>	—	—	—	0,1	—	—
Liliaceae	—	—	—	0,1	0,1	—
<i>Calluna vulgaris</i>	—	—	—	0,1	—	0,1

moindre de produit ou si, au contraire, elle était plus sûre en employant davantage de miel. Des fractions de solution de miel dans l'acide sulfurique N. 10 (0,25 g de miel par ml de sol. — solution au 1/4 g/cm³) sont centrifugées conformément à la

méthode classique. Chaque fraction correspond à 5 g de miel. Les culots de centrifugation obtenus sont prélevés dans leur totalité et on monte entre lame et lamelle le nombre nécessaire de culots pour obtenir des préparations correspondant respectivement à 5, 10, 15, 20, 30, et 100 g de miel. 1 000 grains de pollen sont comptés dans chaque préparation. On obtient ainsi six spectres polliniques complets — espèces et pourcentages (tabl. 4). De plus, les nombres d'espèces végétales rencontrées lorsque 100, 500 et 1 000 grains de pollen sont comptés, sont notés (fig. 1).

Les variations des pourcentages sont très irrégulières. Seul le dernier spectre

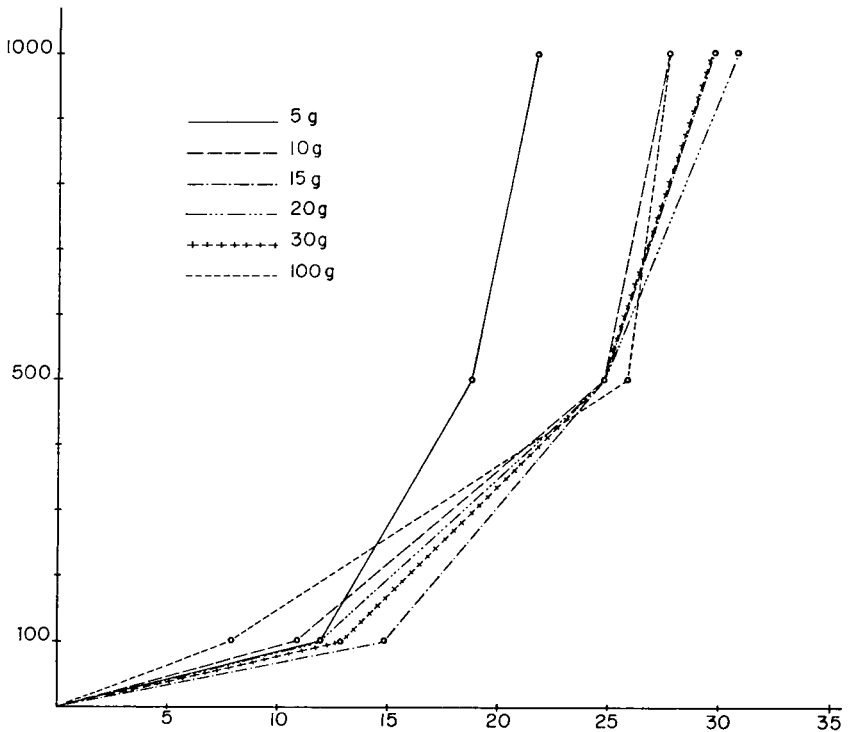


FIG. 1. — Nombre d'espèces rencontrées en fonction du poids de miel employé dans l'analyse et du nombre de grains comptés

(en abscisses nombre de grains de pollen comptés, en ordonnées nombre d'espèces identifiées)

semble présenter un pourcentage de l'espèce dominante (ici le Châtaignier) légèrement plus fort que les 5 autres : 75,5 p. 100, alors que la moyenne dans les cinq premiers est de 64,6 p. 100. Il ne semble pas que cette différence soit hautement significative, mais elle s'explique facilement. Chaque champ microscopique contient, pour une préparation réalisée à partir de 100 g de miel, un nombre très élevé de grains de pollen. L'observation des 100 grains nécessite donc un changement de champ moins fréquent que dans les autres cas, au détriment des espèces isolées dont les grains de pollen sont très dispersés. Le pourcentage de l'espèce dominante augmente alors.

Toutes les préparations ont donné un nombre total d'espèces végétales compris entre 28 et 31, sauf celle correspondant à 5 gr. de miel où 22 espèces seulement ont été décelées. Par contre, 100 grains ayant été observés, 11 à 15 espèces avaient été

reconnues, sauf dans la préparation correspondant à 100 gr. (8 seulement). Il semble encore ici que ce phénomène soit dû au changement de champ microscopique trop peu fréquent.

Les courbes (fig. 1) montrent donc bien qu'à partir de 10 grammes nous obtenons un spectre relativement complet. Mais des poids moindres sont insuffisants et l'augmentation de la quantité de miel utilisée dans l'analyse augmente trop le nombre de grains de pollen par champ microscopique et par conséquent rend l'étude de la préparation trop localisée.

5^o) — *Lois statistiques suivies par la distribution étudiée.*

Revenons au tableau 1. La preuve est donc faite de l'imprécision des résultats obtenus en comptant une centaine de grains de pollen. Quel nombre faut-il donc atteindre pour accéder à une précision suffisante? Le problème est facile à résoudre par des calculs statistiques simples et en considérant la loi théorique suivie avec la meilleure approximation par la distribution expérimentale.

Nous avons calculé, pour chaque espèce végétale, la moyenne et la variance (X et σ^2). Nous pouvons établir une courbe (fig. 2) en portant en abscisse la moyenne et en ordonnée la variance. Nous constatons alors que les premiers points de la courbe se trouvent approximativement sur le tracé d'une droite de forme ax où le coefficient angulaire a est égal à 1, c'est-à-dire la bissectrice de l'angle formé par les axes. Les premiers points, correspondant aux espèces végétales dont le pourcentage est bas, suivent donc la loi de Poisson, car nous savons que la propriété essentielle de cette loi est :

$$\sigma^2 = M$$

où σ^2 est la variance et M la moyenne. Les valeurs les plus faibles suivent bien cette propriété. Quant aux espèces dominantes, leur pourcentage se rapprochant de 0,5, nous devons les considérer comme suivant la loi binominale, ainsi que toutes les espèces donnant un point sur la courbe 2 s'écartant trop de la droite définie ci-dessus.

6^o) *Nombre de grains de pollen comptés et précision des pourcentages*

Considérons maintenant le cas de l'espèce dominante du tableau 1 : le Sainfoin dont la moyenne de présence est de 35,8 p. 100.

Nous considérerons alors que la proportion des grains de pollen de Sainfoin dans la préparation $p = 0,358$ est la meilleure estimation de la véritable proportion P que nous ne connaissons pas. Quelles valeurs limites pouvons-nous donner à P ?

En admettant que la loi normale soit la meilleure approximation, puisque nous considérons une espèce dont la distribution suit la loi binominale, nous avons :

$$p = P \pm 2 \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}} \quad (1) \quad \text{où } \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}} \text{ est l'erreur-type que nous multiplions par 2, car nous choisissons comme seuil de probabilité environ 5 p. 100.}$$

En élevant (1) au carré, nous obtenons une équation de second degré en P dont les solutions sont les limites cherchées. Nous trouvons, du reste, que l'intervalle de sécurité va de 0,26 à 0,46 représentant une variation de 20 p. 100.

L'erreur-type étant inversement proportionnelle à la racine carrée de l'effectif $n = 100$, si nous voulons diviser l'intervalle de variation x fois, nous devons multiplier notre effectif n par x^2 . Autrement dit, si nous voulions connaître le pourcentage des grains de pollen de Sainfoin dans la préparation, à 1 p. 100 près, nous devrions compter 40 000 grains de pollen! Nous avons estimé qu'il nous suffisait de connaître ces pourcentages avec un intervalle de sécurité de 0,06, c'est-à-dire $p \pm 0,03$. Dans ce cas, le nombre de pollens observés devra atteindre à peu près 1 200. Des calculs identiques sur les autres grains de pollen dont la distribution suit la loi bino-

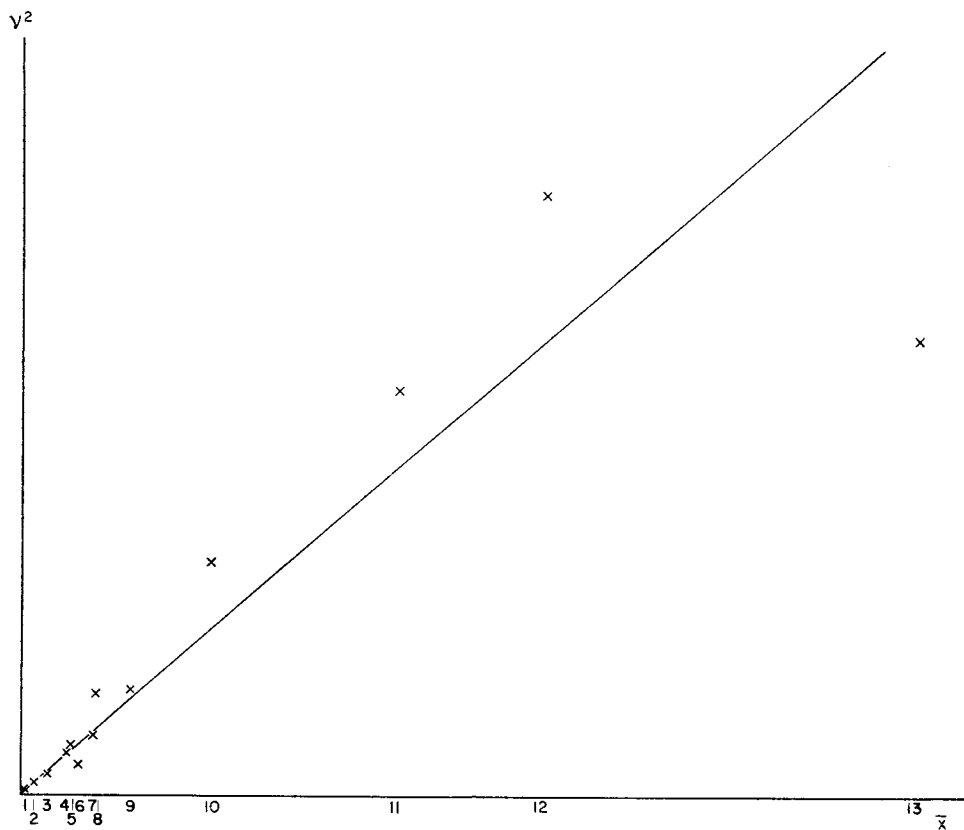


FIG. 2. — Précision des résultats obtenus en comptant une centaine de grains

Moyenne en fonction de la variance pour

- | | | |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 1 Oleaceae | 6 <i>Rhamnus frangula</i> | 11 <i>Castanea vulgaris</i> |
| 2 <i>Robinia pseudacacia</i> | 7 <i>Sinapis arvensis</i> | 12 <i>Trifolium repens</i> |
| 3 <i>Trifolium pratense</i> | 8 <i>Papaver</i> sp. | 13 <i>Onobrychis sativa</i> |
| 4 Rosaceae (Arbres fruitiers) | 9 Papilionaceae | |
| 5 <i>Centaurea jacea</i> | 10 <i>Lotus corniculatus</i> | |

minale nous ont conduit à des résultats semblables. Le raisonnement est différent pour ce qui est des grains de pollen dont la distribution suit celle de POISSON.

Considérons, toujours dans le tableau 1, le Trèfle violet dont la moyenne de présence est égale à 1 p. 100 ; d'où $p = 0,01$. Les fréquences relatives des échantillons

de 100 pollens comprenant 0, 1, 2, etc. pollen de Trèfle violet sont égales aux termes du développement de la série de POISSON

$$e^{-m} \left(1 + \frac{m}{1} + \frac{m^2}{2!} + \dots + \frac{m^r}{r!} + \dots \right) \text{ où } m = nQ = 100 \times 0,01 = 1.$$

Les tables déjà établies nous donnent : probabilité 0,36 de ne pas trouver de pollen de Trèfle violet, probabilité de 0,36 d'en trouver un seul, probabilité de 0,18 d'en trouver 2, etc. Ceci est du reste bien vérifié puisque, sur 30 relevés, 10 ne contenaient pas de Trèfle violet et 9 en possédaient un seul.

Si $n = 500$

on a $m = nQ = 500 \times 0,01 = 5$.

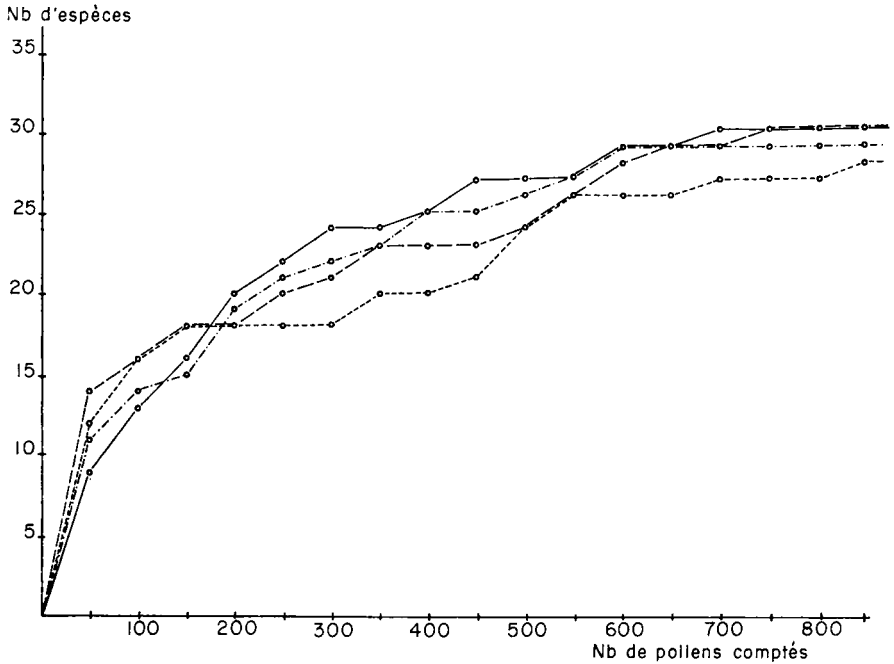


FIG. 3. — Nombre d'espèces trouvées en fonction du nombre de pollens comptés (Les 4 courbes correspondent à 4 échantillons différents)

La probabilité de ne pas observer de pollen de Trèfle violet est alors faible : 0,006 soit 0,6 p. 100. Si nous considérons alors des pollens dont la moyenne de pourcentage est très faible, comme le Thym pour qui $m = 0,1$ p. 100 ou 0,001, la probabilité de les trouver devient très faible. Ainsi, pour le Thym, avec $n = 100$, la probabilité de n'en pas trouver est égale à 0,90; avec $n = 1000$, elle est égale à 0,36 et avec $n = 2000$ à 0,135.

En définitive, en comptant 1200 pollens, on ne peut espérer raisonnablement détecter les pollens que pour lesquels $M = 5$, c'est-à-dire ceux pour qui $5 = 1200q$ d'où $q = \frac{5}{1200} = 0,004$, c'est-à-dire dont le pourcentage est de 0,4. Au-dessous, la découverte de l'espèce végétale devient de moins en moins probable.

Il est illusoire de parler à ce moment-là de sécurité de pourcentage calculé. Par exemple, dans le relevé 22, la Vipérine est accompagnée de l'indication de 1 p. 100. Or, sur la population globale des 2 000 grains de pollen, son pourcentage n'est plus que de 0,03 p. 100. Ce chiffre ne représente du reste qu'imparfaitement la réalité. En effet, sur 30 observations, 29 furent négatives. En fait, le nombre de grains de pollen de Vipérine existant dans la préparation est sûrement très faible.

7°) — *Nombre d'espèces en fonction du nombre de grains de pollen comptés*

Le nombre d'espèces végétales découvertes dans une préparation dépend évidemment du nombre de pollens observés. Nous l'avons démontré de la façon suivante :

Nous comptons les grains de pollen dans une préparation et nous notons les espèces végétales décelées à intervalles réguliers, en l'occurrence à 50 pollens, 100, 150, 200, etc. jusqu'à 850. Nous avons réalisé des comptages sur 4 miels différents

TABEAU 5

	Fréquence d'apparition dans les 100 premiers grains de pollen comptés	Pourcentage dans la population totale
<i>Trifolium repens</i>	6	56
<i>Castanea vulgaris</i>	6	8,5
Rosaceae (Arbres fruitiers)	6	8
<i>Trifolium pratense</i>	6	5,3
<i>Sinapis</i> sp.	6	4,2
<i>Cornus sanguinea</i>	4	1,8
Rosaceae	4	1,3
<i>Salix</i> sp.	5	1,1
<i>Onobrychis sativa</i>	4	1,1
<i>Lotus corniculata</i>	3	1,1
<i>Brassica napus</i>	3	1
<i>Lonicera</i> sp.	}	— de 1 %
<i>Rumex</i> sp.		
Ombelliferaeae		
<i>Trifolium incarnatum</i>		
<i>Rhamnus frangula</i>		
<i>Taraxacum</i>		

et nous obtenons le graphique de la figure 3. La courbe moyenne présente une pente très raide jusqu'à $n = 100$. La pente diminue entre $n = 100$ et $n = 700$. Il se forme alors un pallier. Nous pouvons donc penser qu'à partir de $n = 850$ le nombre des espèces végétales non rencontrées sera très faible et que les plus importantes sont déjà notées. Nous appliquons, en fait, ici, le principe de la courbe de GUINOCHEZ utilisée par la phytosociologie.

Dans le cas d'un aperçu rapide de la préparation, lors d'un comptage de

100 grains de pollen par exemple, nous reconnaissons à peu près systématiquement certaines espèces végétales, parce que leur proportion dans la population générale est particulièrement élevée ; les autres ne sont observées que tout à fait accidentellement. Pour nous faire une idée plus précise de ce phénomène, nous avons compté 6 fois de suite 1 000 pollens sur la même préparation de miel de Trèfle blanc. Nous avons pris soin de noter les espèces reconnues après comptage des 100 premiers grains de pollen. De plus, nous avons calculé la moyenne des pourcentages de chaque espèce sur l'ensemble de 6 000 pollens. Les résultats intéressants sont consignés au tableau 5. Ainsi, des espèces mineures sont repérées très vite, mais seulement accidentellement. Par contre, il est raisonnable d'espérer avoir dans ce cas reconnu seulement les espèces dont les pourcentages sont supérieurs à 4 ou 5 p. 100. *Pour le spectre étudié*, seuls les pourcentages supérieurs à 4 p. 100 se sont retrouvés dans les 100 premiers grains de pollen observés. Il semble logique que la fréquence d'apparition au début de l'analyse soit à peu près proportionnelle au pourcentage de l'espèce correspondante.

DISCUSSION

La préparation effectuée à partir de 10 à 20 g. de miel de la façon que nous avons exposée semble donc être un matériel correct. Il présente certains inconvénients au point de vue statistique, mais nous n'entrevoions pas encore parfaitement la possibilité de les éviter. Par conséquent, le problème est de savoir comment l'utiliser au mieux afin d'obtenir des résultats valables.

L'hétérogénéité de la distribution des grains de pollen entre la lame et la lamelle est certaine. Elle n'est pas générale, mais des plages disséminées sont nettement différentes de l'ensemble. Elles se situent apparemment sur toute la surface de la préparation, aussi bien dans son centre que sur ses bords. Il serait difficile de trouver deux plages ou plus qui formeraient un ensemble parfaitement homogène, mais cette hétérogénéité ne semble pas être due à un phénomène constant ou du moins bien apparent.

Le remède est donc d'augmenter l'effectif n , c'est-à-dire le nombre des grains de pollen comptés. Nous avons fixé n à 1 200. Mais nous travaillons par la méthode du sous-échantillonnage ; les sous-échantillons étant les champs microscopiques, le nombre de ces derniers doit être augmenté parallèlement à celui des grains de pollen. Il serait illusoire de croire améliorer la méthode en augmentant le nombre de grains de pollen par champ microscopique. Nous augmenterions alors l'importance relative de chaque sous-échantillon en diminuant le nombre. L'hétérogénéité serait alors intensifiée. Ainsi, nous avons montré que l'augmentation du nombre de grains de pollen dans la préparation microscopique par celle du miel intervenant n'est pas à recommander. Le poids du miel restant fixé aux environs de 10-20 g, le nombre de pollens et de champs microscopiques est donc augmenté.

Les champs étant choisis au hasard, on évite la casualisation de l'opération. Cette casualisation alourdirait la méthode et la rendrait de toute façon peu utilisable. Les résultats acquis en mélissopalynologie demandent en général de nombreuses analyses qui, casualisées, prendraient beaucoup trop de temps.

L'hétérogénéité du système en partie neutralisée, on peut essayer d'adjoindre à

chaque espèce un pourcentage. D'après les résultats de nos calculs, il nous paraît illusoire de vouloir parvenir à une trop grande précision. Une décimale, dans l'état actuel des choses, n'a pas de signification bien établie. De plus, tous les faibles pourcentages obtenus sont sujets à caution. Le grain de pollen trouvé à l'état isolé ne peut pas nous transmettre, par sa seule apparition, une image fidèle de sa vraie répartition dans l'ensemble des grains de pollen se trouvant sur la préparation microscopique. Pour les pourcentages inférieurs à 1 p. 100 — sur 1 200 pollens comptés — il serait souhaitable de n'indiquer seulement que sa présence par un signe, le + des phytosociologues, par exemple. La pratique classique partageant les espèces en dominantes, accompagnement et isolées est, en fait, souvent plus réaliste, surtout si elle est maniée par un palynologue expérimenté. Si le nombre des pollens comptés est inférieur à 500, une classification grossière est préférable à une liste de chiffres erronés.

La recherche de l'origine géographique de miels présente d'autres problèmes. Plus que leur pourcentage, la présence ou l'absence de certaines espèces est déterminante. Dans ce cas, le millier de grains de pollen doit être compté. Nous avons montré qu'une analyse rapide permet de déceler, en plus des dominantes qui ne peuvent échapper, des espèces isolées ou même très isolées. Or, la présence dans un spectre établi succinctement, de telles espèces, est absolument arbitraire, car elles n'ont pas plus d'importance ou même parfois moins, que certaines qui n'ont pu être décelées. Par conséquent, une attention particulière doit être portée au nombre de grains de pollen minimum que nous avons déterminé.

CONCLUSION

L'analyse pollinique des miels doit ainsi donner des résultats de plus en plus précis. Des progrès restent à faire. L'hétérogénéité des préparations microscopiques pourra être réduite lorsque nous en connaîtrons les causes. Il serait intéressant d'étudier les actions réciproques des débris organiques ou minéraux avec les grains de pollen. Nous trouvons souvent dans les préparations des agglomérats de grains de pollen sur un débris quelconque, qui nuisent à l'homogénéité de l'ensemble. La suppression de ces débris au cours des manipulations serait donc importante.

De plus, la présentation des spectres polliniques doit évoluer. Elle doit être adaptée à la précision exacte de l'analyse. Nous devons nous habituer à ne présenter dans ces spectres que des chiffres ayant une signification certaine ce qui, malheureusement, n'a pas tout le temps été bien observé.

RÉSUMÉ

INTERPRÉTATION STATISTIQUE DES RÉSULTATS EN MATIÈRE D'ANALYSE POLLINIQUE DES MIELS

Les préparations polliniques nécessaires à cette étude ont été obtenues selon la méthode MAURIZIO-LOUVEAUX légèrement modifiée. On a observé que la même analyse répétée 30 fois, en comptant chaque fois 100 grains de pollen, donnait des résultats fort variables. Cela semble dû d'abord à un manque d'homogénéité de la préparation microscopique. Le poids de miel utilisé intervient pour le

nombre d'espèces rencontrées. Il semble que les meilleurs résultats sont obtenus avec 15 g de miel environ. Le nombre d'espèces varie également avec le nombre de pollens comptés. Le millier de grains de pollen observés doit être atteint. Un minimum identique est nécessaire pour réduire l'espace de variation probable des pourcentages obtenus à 6 ou 7 p. 100.

Par conséquent, une partie importante de la préparation doit être observée d'une façon approfondie au cours de l'analyse et les résultats ne doivent être présentés qu'avec des chiffres ayant une signification réelle.

SUMMARY

STATISTIC INTERPRETATION OF THE RESULTS OF POLLEN ANALYSIS OF HONEYS

The pollen preparations necessary for this study have been obtained by a slightly modified version of the MAURIZIO-LOUVEAUX method. It was observed that the same analysis repeated 30 times counting 100 grains of pollen a time, gave very varying results. At first sight, this would seem to be due to a lack of homogeneity in the microscopic preparation. The weight of honey used depended on the number of varieties encountered. It would seem that best results are obtained with about 15 g of honey. The number of varieties also fluctuates with the number of pollens counted. It is essential to observe at least a thousand pollen grains, this being a minimum for the reduction of the range of variation in the probable percentages obtained to 6 or 7 p. 100.

Consequently, a large part of the preparation must be studied thoroughly in the course of the analysis and results should be presented only if they can offer figures having any true significance.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- MAURIZIO A., LOUVEAUX J., 1963. Commission internationale de Botanique apicole (U. I. S. B.). Méthodes d'analyse pollinique des miels. *Ann. Abeille*, **6** (1), 75-76.
-