

# *Pollenanalyse*

Stuifmeelonderzoek van Honing  
voor  
Imkers, Scholen  
en  
Laboratoria.

Uitgave Stichting Landelijk Proefbedrijf voor  
Insektenbestuiving en Bijenhouderij Ambrosiushoeve, Hilvarenbeek

redactie  
J.P. Kaas en A. de Ruijter

auteurs  
R.W.J.M. van der Ham, Rijksherbarium, Leiden  
J.P. Kaas, Bio Pré, Langeraar  
J.D. Kerkvliet, Inspectie Gezondheidsbescherming, Waren en Veterinaire  
Zaken, Amsterdam  
A. Neve, Leiden



© 1999 Stichting Landelijk Proefbedrijf voor Insektenbestuiving en Bijenhouderij  
Ambrosiushoeve

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd door middel van druk, fotokopie of film  
of op magnetische of elektronische informatiedragers zonder uitdrukkelijke toestemming van  
de uitgever.

Tekeningen en foto's:

Voorplaat	A. de Ruijter, J.P. Kaas, A. Neve.
Figuur 1 t/m 5	Rijksherbarium Leiden
Plaat 1 t/m17	A. Neve
Plaat 18 t/m 20	J.D. Kerkvliet

Druk: Drukkerij van de Ven, Slibbroek 10, 5081 NS Hilvarenbeek

## Voorwoord

Bijhouden is een fascinerende hobby. Het bijenvolk is nog steeds een mysterieuze samenleving van insecten waarvan nog lang niet alles bekend is. Belangstelling voor de natuur en een onderzoekende geest kenmerken dan ook de imker.

Ook het natuurproduct honing kent nog vele geheimen. Er worden regelmatig nieuwe ontdekkingen gedaan over inhoudstoffen en over de heilzame werking van honing. Het is dan ook niet verwonderlijk dat steeds meer imkers zich toeleggen op een nader onderzoek van hun honing. Het stuifmeel in de honing kan informatie geven over de botanische herkomst en pollenanalyse kan de imker dus veel informatie verschaffen.

Binnentreden in de wereld van het microscopisch kleine geeft aan het imkeren een extra dimensie. Wat er met het blote oog als fijn stof of meel uitziet, blijkt onder de microscoop een fantastische rijkdom aan vormen en structuren te vertonen.

De cursus palynologie voor imkers mag zich in een groeiende belangstelling verheugen. In een aantal jaren hebben de docenten van deze cursus veel informatiemateriaal vervaardigd.

Dankzij een subsidie van de Europese Unie in het kader van de maatregelen ter stimulering van de productie en de kwaliteit van honing, is het nu mogelijk gebleken om voor het eerst een Nederlandstalig handboek over stuifmeelonderzoek uit te geven.

De auteurs zijn stuk voor stuk deskundigen op het gebied van stuifmeelonderzoek, maar de individuele kwaliteiten (botanische kennis en waar kunstenaarsschap waar het gaat om het maken van de illustraties), maken dit boek tot een zeer bijzondere uitgave.

We hopen dat dit boek veel gebruikt zal worden door imkers, door scholen en door iedereen die zich wil laten verwonderen door het kleine in de natuur. En dat het boek zal bijdragen aan een grotere waardering voor het product honing.

Hilvarenbeek, augustus 1999

Drs. A. de Ruijter  
Directeur Ambrosiushoeve

1

# Inhoud

<b>Inleiding</b>	<b>3</b>
<b>Geschiedenis en Toepassing van palynologie</b>	<b>5</b>
Geschiedenis	5
Toepassingsgebieden van de Palynologie	6
<b>Plantensystematiek en Pollenmorfologie</b>	<b>12</b>
Diversiteit in het plantenrijk	12
Pollenmorfologie	14
<b>Pollen als voedingsmiddel</b>	<b>30</b>
Samenstelling van pollen	30
<i>Eiwit</i>	32
<i>Vet</i>	32
<i>Koolhydraten</i>	32
<i>Ruwvezel</i>	33
<i>Vitamines</i>	33
<i>Mineralen en sporenelementen</i>	33
Biologische eigenschappen	33
<b>Bijenbotanie en nectarverwerking</b>	<b>37</b>
Bloembouw	37
Voortplanting	37
Bestuivers	37
De honingbij als bestuiver	38
<i>Anatomie</i>	39
Nectar	40
Nectariën	42
<i>Nectariën op de bloemas</i>	42
<i>Nectariën op de bladorganen van de bloem</i>	43
<i>Nectarproductie</i>	44
Honing	44
Stuifmeel	45
<b>Pollen in honing</b>	<b>46</b>
Invloed van planten op pollengehalte	46
Bladhoning	47
Invloed v.d. bijen op het pollengehalte	47
Kwantitatieve pollenanalyse	48
Kwalitatieve pollenanalyse	49
Relatie pollen en nectar	50
Interpretatieregels	51
Pollenspectrum van Belgische en Nederlandse honing	53

<b>De microscoop</b>	<b>59</b>
De lichtmicroscoop: beschrijving	61
Het preparaat	63
Microscopische technieken	64
<b>Een pollenpreparaat van honing</b>	<b>67</b>
Het maken van een pollenpreparaat van honing	67
<i>De imkermethode of relatieve methode</i>	67
<i>Laboratoriummethode</i>	68
Beoordelen van een pollenpreparaat van honing	70
<i>Imkermethode</i>	70
<i>Laboratoriummethode</i>	75
<b>Pollenklompjes</b>	<b>78</b>
Pollerval	80
Het bestuderen van met een pollerval verzameld stuifmeel	81
<b>Pollentabel</b>	<b>84</b>
<b>Illustraties pollenkorrels</b>	<b>91</b>
<b>Literatuur</b>	<b>132</b>
<b>Appendix</b>	<b>136</b>
<b>Index</b>	<b>142</b>

## **Inleiding**

Stuifmeel, het poeder dat soms onder bloemenvazen wordt aangetroffen bestaat uit losse bijzonder kleine korrels. Wat in gewoon Nederlands stuifmeelkorrels heet, wordt in de Engelstalige landen en in de wetenschap aangeduid met de verzamelterm 'pollen'.

De tak van wetenschap die zich bezighoudt met de bestudering van pollen heet palynologie. Gaat het om bestudering van pollen in honing dan spreekt men wel van melissopalynologie. Wij zullen in dit boek de eenvoudiger term hiervoor gebruiken: pollenanalyse.

Veel imkers beperken zich niet tot het houden en verzorgen van één of enkele bijenvolken, maar gebruiken de bijen als centraal punt om door te gaan met verwante onderwerpen. Er zijn daarom ook nogal wat imkers die zich interesseren voor andere aspecten dan alleen de praktijk van het bijhouden. Door de onscheidbare relatie tussen bijen en bloemen zijn er onder imkers veel zeer goede amateur botanici te vinden.

Het inschatten van de bijenweide, d.w.z. het kennen van de drachtbronnen van de volken, is bij de meeste bijenhouders een kwestie van kennis en ervaring, maar vooral ook van speculaties, met name waar de drachtbronnen divers zijn.

Microscopisch bestuderen van honingmonsters, pollenanalyse dus, laat grote hoeveelheden stuifmeel uit de honing zien. Deze kunnen een belangrijke aanwijzing geven omtrent de oorsprong van de honing. Stuifmeelbeelden kunnen echter verwarrend zijn en overzicht van de overweldigende vormenrijkdom is nodig om de zaak te kunnen overzien. Registratie van een pollenbeeld is de eerste stap, interpretatie is minstens zo belangrijk.

De Nederlandse flora, met ruim 1500 soorten in ca 150 plantengeslachten waarbij opgeteld nog een aanzienlijke hoeveelheid gekweekte planten, levert de nectar die bij ons door de bijen verzameld wordt. De inhoud van de honingmaag van de bij is 50-60 kubieke millimeter ook wel microliter genoemd; 40-70 mg. Het suikergehalte van de nectar schommelt rond de 20%. In de kast wordt de nectar ingedikt tot honing met een suikergehalte van rond 80%. Driekwart van het gewicht aan water wordt dus verdampt. Een indruk van het aantal vluchten dat nodig is voor een willekeurige hoeveelheid honing valt hieruit te bepalen. Bij iedere vlucht wordt in de nectar een hoeveelheid pollen meegenomen die onderweg en in de kast nog wordt bewerkt maar uiteindelijk in de honing terecht kan komen. Met deze basisgetallen is het niet verrassend dat in honing zeer grote hoeveelheden stuifmeel aanwezig kunnen zijn. Tussen de 20.000 en 100.000 pollenkorrels per 10 gram is een normaal aantal.

Zowel in de bloem, als in de bij en in het volk vinden processen plaats die pollen hoeveelheid en soort kunnen beïnvloeden. Klimaat en grondsoort beïnvloeden nectarafscheiding. Bloemkleur, geur, leeftijd en vorm hebben effect op bestuiversbezoek. Bijgedrag kan een heel volk massaal van de ene op de andere drachtbron doen overschakelen door de rekrutering van de bijendans. En oogstmethoden van de imkers kunnen soort- en hoeveelheid pollen in de honing bepalen.

Kortom, bij de interpretatie van een pollenbeeld zijn veel factoren van belang die we in de loop van dit werk zullen bespreken.

In het buitenland bestaan een aantal schitterende redelijk recente werken over melissopalynologie die als enige nadeel de taal hebben. In het Nederlands bestaat er nauwelijks iets op dit gebied. Microscoperen is een praktische vaardigheid die al doende goed aan te leren is. Niet alles gaat altijd de eerste keer goed. Botanische kennis en theoretische achtergrond zijn geen voorwaarden maar helpen aanzienlijk bij het interpreteren van een pollenbeeld.

Dit boek is bedoeld om aan te sluiten op de algemene tendens om als imker honing te leveren van een hoge kwaliteit. Door theoretische inleidingen en veel praktische aanwijzingen in de eigen taal geven we de instrumenten aan om aan de hand van het stuifmeel en andere deeltjes, zelf de honingsoort en de kwaliteit vast te stellen.

De gebruikte Nederlandse en wetenschappelijke plantennamen zijn conform de 22ste druk van Heukels' Flora van Nederland.

In dit boek behandelen wij de geschiedenis en algemene toepassingen van de palynologie, botanische aspecten van pollenkorrels en hun belang voor het herkennen van plantengroepen en soorten, de rol van pollen in het plantenrijk en het nut van honing en pollen voor de bijen. Een uitgebreide lijst met illustraties van pollen van Nederlandse drachtplanten inclusief een pollentabel worden gegeven. Ondersteunende zaken als herbariëren, het maken van een pollencollectie, microscoperen en het maken van pollenpreparaten worden behandeld, terwijl ook het vervaardigen van een palynogram, een verzameld beeld van het pollenspectrum, maar vooral het interpreteren daarvan worden besproken.

Kortom een "How to" boek, met een uitgebreide bespreking van de achtergronden.



## Geschiedenis en Toepassing van palynologie

### *Geschiedenis*

Onderzoek aan pollen is door de kleine afmetingen van pollenkorrels noodzakelijkerwijs verbonden aan de ontwikkeling van de microscoop.

Antonie van Leeuwenhoek is een voorloper geweest bij het beschrijven van bacteriën en protozoën, meestal in water. Met zijn microscopen, die eigenlijk niet meer waren dan zeer zuiver geslepen loepjes, kon hij organismen als bacteriën en spermacellen zien. Het is niet onmogelijk dat hij ook pollen onder de loep heeft genomen, beschreven heeft hij dit echter niet. Van Leeuwenhoek leefde van 1632 tot 1723. Het type van de Van Leeuwenhoek microscoop is afgeleid van de enkelvoudig geslepen lenzen die rond 1300 al in Italië bekend waren.

Wat wij tegenwoordig verstaan onder microscoop is opgebouwd uit minimaal twee lenzen achter elkaar en er bestaat verschil van mening over wie deze heeft uitgevonden.

De Nederlander Zacharias Jansen wordt onder de mogelijke uitvinders genoemd. Zeker is, dat Robert Hooke een belangrijke rol heeft gespeeld in de ontwikkeling van de microscoop. Een beroemd werk uit 1665 over microscoopbeelden is van zijn hand. Het type microscoop door hem gebruikt wordt ook wel de microscoop van Hooke genoemd, in essentie is er in de loop der eeuwen nauwelijks iets aan veranderd.

Vroeg in de negentiende eeuw tekende een botanisch illustrator, Francis Bauer al ongeveer 175 soorten pollen vrij systematisch. Het echte werk begint pas rond 1900 en heeft alles te maken met bodemonderzoek.

De Zwitser Fruh publiceerde 'Kritische Beiträge zur Kenntniss des Torfes' in 1885. Kort erop volgden de Zweed Trybom (1885) en de Duitser Weber (vanaf 1895) met publicaties over palynologie. Ook de Deen Sarauw beschreef pollen in grondmonsters Terwijl G. Lagerheim (1860- 1926) geldt als de grondlegger van de moderne pollenanalyse door een aantal publicaties rond 1900.

Als echte 'geboortedatum' van de palynologie geldt echter de voordracht van von Post in 1916 over fossiel pollen in Zweedse moerassen. Hierna ontstond er in de loop der jaren een enorme diversiteit in toepassingen van pollenanalyse.

Rond 1914 werd bekend dat met behulp van pollen ook vervalsingen van geneesmiddelen konden worden opgespoord (Knell 1914).

Eén van de eerste publicaties over pollenanalyse van honing komt van Griebel (1930-31). Hierna vond de ontwikkeling van pollenanalyse van honing vooral plaats in de Duitstalige landen, wat culmineerde in hét standaardwerk over

pollenanalyse van Zander: Beiträge zur Herkunftbestimmung bei Honig, deel I-V (1935- 51), een zeer gedegen werk met microfoto's en tekeningen van meer dan 1000 pollensoorten. Zelfs nu nog actueel.

### ***Toepassingsgebieden van de Palynologie***

De belangrijkste gebieden waar palynologie tegenwoordig toepassing vindt worden hierna besproken, voor het gemak in hoofdstukken ingedeeld. Er is echter grote overlap mogelijk en de indeling is uit praktische overwegingen.

#### **1: Het achterhalen van de geschiedenis en verwantschappen van planten groepen (Botanie)**

Plantensoorten worden op grond van gemeenschappelijke kenmerken ingedeeld in verwante groepen. Onder deze kenmerken vallen ook die van de pollenkorrel.

Het is voorgekomen dat planten op grond van hun macroscopische (met het blote oog zichtbare) kenmerken ingedeeld werden in een bepaalde familie terwijl na bestuderen van de pollenkorrel met de microscoop bleek dat de plant in een volstrekt andere groep thuishoorde.

Zo is van het Eiland Reunion een plant beschreven die naar men dacht in de Steenbreekfamilie thuishoorde (Saxifragaceae). Pas toen men jaren later pollen van deze plant bestudeerde kwam men er achter dat het een vertegenwoordiger was van een volstrekt andere familie, die der Campanulaceae.

Met wat voorkennis is het vaak mogelijk op grond van de pollenkorrel de plantenfamilie te bepalen. Is dan ook nog de herkomst bekend, dan is de keus aan vertegenwoordigers van deze familie al wat beperkter. Op grond van de pollenkorrels zijn verschillende floragebieden in kaart gebracht. De Noordwest Europese flora bijvoorbeeld door Punt en Clarke.

Pollenkorrels kunnen worden geïsoleerd uit aardlagen die met andere methoden al zijn gedateerd (bijvoorbeeld met de C 14 methode). Op deze manier kan worden bepaald welke plantengroepen er miljoenen jaren geleden al op aarde voorkwamen en zelfs of ze de pollenflora domineerden of relatief zeldzaam waren.

Op deze manier kan door de millennia een volgorde van optreden van plantensoorten worden bepaald. Hiermee worden aanwijzingen verkregen welke plantengroepen van welke oudere groepen afstammen. Mede langs deze weg bepaalt men welke primitieve plantengroepen de voorlopers waren van de huidige moderne groepen.

De allerbelangrijkste bijdrage van de botanie uit praktische overwegingen is wel die waarbij de instrumenten worden aangedragen voor alle andere toepassingen. Het beschrijven en benoemen van de vormen van de pollenkorrels.

Zonder een uitgebreide terminologie en overzicht van de vele vormen en structuren en zonder verbanden tussen soorten planten en hun pollenkorrels kan geen van de andere toepassingen voort. Dit is te vergelijken met het samenstellen van een telefoonboek, als mensen geen naam hebben en er nog geen alfabet of straatnamen bestaan. Allereerst dient er een basissysteem te zijn om naar te werken.

## 2: Het nagaan van de geschiedenis van plantengemeenschappen

Met de publicatie van de lezing van Lennaert von Post in 1916 is de basis gelegd voor deze oudste tak van de palynologie.

Ook tegenwoordig nog daalt jaarlijks een regen van pollen van hoofdzakelijk windbestuivers op de aarde neer. Honderdduizenden en miljoenen jaren geleden was het niet anders. Waar lucht en licht vrijelijk kunnen toetreden wordt pollen ondanks alles over de jaren toch afgebroken.

Sporopollenine, de stof waaruit de wand van een pollenkorrel hoofdzakelijk bestaat, verteert zeer slecht. Een pollenkorrel die in een meer of in een andere zuurstofarme omgeving terecht komt en naar de bodem zinkt, zal nauwelijks verteren en na duizenden jaren nog herkenbaar blijven. De pollenkorrel verandert niet.

De vegetatie in een gebied verandert echter wel over dergelijke tijdsperiodes. In meergebieden wordt zo, jaar na jaar, laag na laag pollen op de bodem afgezet. De steeds aangroeiende veenlagen bevatten zo een gelaagdheid van pollen waaruit de vegetatie geschiedenis van een gebied kan worden terugberedeneerd.

Zelfs als het veen versteend is tot bruin- of steenkool kan fossiel pollen worden teruggevonden. Hoewel de gelaagdheid van de vele seizoenen pollenregen in de bodem duidelijk aantoonbaar is, is deze "stratificatie" niet zo sterk als b.v. de jaarringen van bomen. Toch geeft het een zeer betrouwbare indruk van de soorten pollen die in bepaalde perioden zijn gevallen en de vegetatie die dit pollen produceerde.

In het algemeen gaat men in deze tak uit van de grote hoeveelheden van pollen van bepaalde soorten. Toch kan het aantreffen van een enkele pollenkorrel van een afwijkende soort een hele theorie onderuithalen.

Schoon, d.w.z. zonder verontreinigingen bemonsteren van grond en het pollen is dan ook zeer belangrijk. Hiervoor zijn speciale grondboren ontwikkeld, wordt b.v. bemonsterd in een jaargetijde dat er geen stuifmeel in de

lucht zit en hebben de meeste professionele onderzoeksinstellingen een systeem van filters dat externe verontreinigingen van buitenaf uitsluit.

### 3: Het dateren van aardlagen

Voor het dateren van aardlagen bestaan verschillende methodes, alle met hun eigen nauwkeurigheid en andere karakteristieken. Pollenanalyse is slechts één van deze methoden die in sommige situaties echter bijzonder bruikbaar is. Als bijvoorbeeld een te dateren aardlaag een pollenspectrum vertoont dat overeenkomt met het pollenspectrum van een reeds gedateerde aardlaag in hetzelfde klimaatsgebied, is het zeer waarschijnlijk dat de ontstaansperiode van de aardlaag gelijk is.

Dit geldt niet slechts voor de vrij ruime geologische dateringen, waar men niet op honderdduizend jaar meer of minder kijkt, maar ook voor de archeologie waar men nauwkeuriger dateringen nodig heeft en klimaat, leefomgeving en akkerbouwgewassen moet dateren.

### 4: Het bestuderen van de klimaatsveranderingen door de eeuwen

Doordat er een zeer nauwe relatie bestaat tussen begroeiing in een gebied en het geproduceerde pollen, kunnen aan de hand van pollenspectra temperatuur en andere klimaatsfactoren worden bepaald.

De meest dramatische omslagen in klimaat en begroeiing zijn uiteraard terug te vinden in de ijstijden en tussenperiodes.

*Sedum rosae*, bijvoorbeeld, groeit in gebieden met een gemiddelde jaartemperatuur van 25 graden Celsius. Het aantreffen van pollen van deze soort duidt dus op een gemiddelde jaartemperatuur van 25 graden Celsius.

Van andere plantensoorten kan worden bepaald of ze een voorkeur hebben voor droge of natte groeiomstandigheden, pionierplanten zijn, of juist voorkomen in oude plantengemeenschappen als bossen. Klimaatsverschuivingen in gebieden kunnen met behulp van deze methodiek vrij nauwkeurig in kaart gebracht worden.

### 5: Het vervolgen van de invloed van de mens op het milieu

Tot ca 1940 dacht de wetenschap dat alle vegetatieveranderingen werden veroorzaakt door klimaatsveranderingen.

De onderzoeker Iversen kwam toen op het idee dat ook de mens behoorlijk invloed op zijn milieu kon hebben gehad. Verschillende beschreven pollen-diagrammen uit de na-ijstijd bleken goed te verklaren door aan te nemen dat de mens in het betreffende gebied flink aan het ontbossen en platbranden was geweest ten behoeve van de eigen landbouw. De meeste

informatie kan uit de pollensamenstelling worden gehaald als er nog geen geschreven bronnen bestaan, de z.g. prehistorie.

#### 6: Bestuderen van de pollensamenstelling in de atmosfeer en de invloed op menselijke gezondheid

Hoewel maar 10% van de bijna 400 plantenfamilies hun pollen via de wind verspreiden, de z.g. windbestuivers, kunnen dit voor de mens zeer belangrijke groepen zijn.

Jaarlijks, afhankelijk van weer en seizoen teistert een pollenregen een deel van de bevolking.

Bij windbestuivende plantensoorten is de kans dat een pollenkorrel min of meer bij toeval een stamper van een andere plant bereikt zeer klein, zeker in vergelijking met andere vormen van bloembestuiving.

Windbestuivers compenseren deze geringe kans door het produceren van gigantische hoeveelheden stuifmeel. In het seizoen kan dus met recht gesproken worden van een pollenbombardement.

Meestal zijn de enorme stofhoeveelheden in de lucht niet zichtbaar, hooguit als wat poeder op de auto's en merken mensen er niets van. Voor gevoelige types betekent de aanvang van de bloeitijd het begin van een onaangename periode die varieert tussen zeer onaangenaam en mogelijk levensbedreigend (bij astmapatiënten) tot een lichte of wat heviger 'hooikoorts'.

Allergie ontstaat pas na eerdere blootstelling aan een stof die de allergie veroorzaakt, het allergeen.

In Zweden bleek uit onderzoek dat 30% van de mensen allergisch was voor pollen, een groot aandeel hiervan was gevoelig voor berkenpollen (16%). Berken vormen een belangrijk deel van de windbestoven planten in Zweden. Het andere gedeelte toonde allergie voor graspollen. In Noord-Amerika betreft allergie voor pollen weer andere plantensoorten terwijl in ons klimaat, in Nieuw Zeeland en in Australië, met veel gras in de flora, soorten graspollen de grootste boosdoener zijn.

Astma is een ziekte van de longen waarvan de symptomen na inhaleren van pollen soms later verschijnen. Hooikoorts is een meer acute aandoening van slijmvliezen in de neus, mond en ogen. De reden waarom sommige mensen astmatische aandoeningen krijgen na blootstelling aan pollen en anderen niet, de soorten pollen die allergie veroorzaken als ook manier van verspreiding en aantallen in de lucht zijn belangrijke onderwerpen van studie in de gezondheidswetenschappen.

Eenzijds kunnen we met deze gegevens overgevoeligheden vaststellen en

maatregelen nemen die uiteindelijk kunnen leiden tot genezing. Anderzijds kunnen aan de hand van gevonden correlaties tussen klimaatgegevens en pollenhoeveelheden in de lucht voorspellingen gedaan worden zodat hooikoortspatiënten de slechte dagen kunnen vermijden of zich hierop anderszins kunnen voorbereiden. Ziekenhuizen vaardigen soms speciale weersverwachtingen voor hooikoortspatiënten uit.

De allergische reacties kunnen soms heel plantspecifiek zijn en niet alleen gelden voor b.v. grassen in het algemeen, maar bijvoorbeeld ook voor een enkele grassoort. Hierom is het bepalen van de bloeitijd van planten zeer belangrijk, deze wordt gemonitord en in kaart gebracht.

Er zijn verschillende instrumenten bedacht om pollen voor onderzoek uit de lucht te bemonsteren. Hierbij worden meestal grote hoeveelheden lucht opgezogen en uitgefilterd.

Naast het gebruik in de allergologie levert dit interessante gegevens voor de andere palynologische subdisciplines.

## 7: Criminologie

Dat de kennis van pollen ook een bijdrage kan leveren tot het oplossen van misdaden waarbij zowel fossiel als recent pollen een rol kan spelen illustreert een Sherlock Holmes-achtig verhaal dat wordt beschreven in Erdtman (1952).

Een verdachte van een moord die zou hebben plaatsgevonden langs de Donau werd ondervraagd. Het grote probleem was echter dat het lijk, het corpus delicti, nergens te bekennen was. Palynologische analyse van de aarde onder de schoenen van de verdachte toonde veel dennen- en elzenpollen, samen met fossiel pollen.

Langs de Donau was slechts een enkele plaats bekend waar dennen en elzen samen groeiden op fossiele grondlagen. Na confrontatie met deze kennis was de verdachte zo overbluft dat hij zowel de moord als de exacte plaats bekende waar deze had plaatsgevonden.

## 8: Honingonderzoek

Het gebruik van microscopische methoden voor het onderzoeken van honing stamt van 1895 toen Pfister pollenonderzoek als methode om de geografische herkomst van honing te bepalen besprak.

In 1908 volgde een studie van Young over pollen in Amerikaanse honingsoorten. In de dertiger jaren verschenen publicaties van Zander en Griebel in Duitsland. Hierna publiceerde Maurizio in Zwitserland veel over dit onderwerp en ook in Spanje, Italië en Zuid Amerika is recentelijk veel onderzoek verricht. Dit alles leidde uiteindelijk tot een belangrijke erkende tak van de palynologie; de melissopalynologie.

Het eerste grote standaardwerk over pollen in honing is van Zander en is verschenen in de periode 1935-1951. De vijf uitgebreide delen van "Beiträge zur Herkunftbestimmung bei Honig", zijn nog steeds van toepassing.

De meeste methoden van pollenonderzoek zijn uit historische overwegingen afkomstig uit de geologie. Hierdoor bestaan er verschillende methoden om pollen te scheiden van de grote hoeveelheden bodemdeeltjes eromheen. In het algemeen betreft het zeer bewerkelijke processen van koken in sterke logen en agressieve zuren waardoor veenbestanddelen, steen- of bruinkool en zelfs kiezel worden opgelost.

Ook referentiepollen moeten uit vergelijkingsoverwegingen deze behandelingen ondergaan.

Pollen uit honing en referentiepollen hiervan hoeven al deze bewerkingen niet te ondergaan. Het volstaat vaak om van referentiepollen het oppervlak te ontvetten met een oplosmiddel en het pollen uit een verdunde honingoplossing te centrifugeren of te laten bezinken.

Bij het bestuderen van honing is van belang te weten dat insectenbestoven bloemen aanmerkelijk minder pollen produceren dan windbestoven bloemen, Zo geeft Hei (*Calluna*) per bloem 'slechts' 4400 pollenkorrels, terwijl een enkel berkenkatje rond zes miljoen pollenkorrels kan produceren. Pollenkorrels van door insecten bestoven bloemen komen echter in grotere hoeveelheden voor in bloemenhoning dan die van windbloeiërs. Deze laatste vinden we meestal in honingdauwhoning, ook wel bladluishoning genoemd.

## Plantensystematiek en Pollenmorfologie

### *Diversiteit in het plantenrijk*

De mogelijkheid om op grond van de aanwezige 'pollenflora' iets te kunnen zeggen over de herkomst van een portie honing hangt nauw samen met de grote **diversiteit** in het plantenrijk. Deze is niet alleen aanwezig in voor ons gemakkelijk waarneembare onderdelen als bloemen en vruchten, maar ook in kenmerken die niet zonder meer met het blote oog zichtbaar zijn. Op weefselniveau zijn dit bijvoorbeeld kenmerken in de anatomie van het blad of het hout, op celniveau in de morfologie van het pollen, en op moleculair niveau in de aanwezigheid van bepaalde chemische stoffen of in de structuur van het erfelijk materiaal (DNA).

Het vermogen om onderscheid aan te brengen in die overstelpende variatie hebben we van nature meegekregen. Aanvankelijk had dit alles te maken met de strijd om het bestaan: als je wilt overleven, moet je bijzonder goed weten wat wanneer waar te halen is, en je moet eetbare vruchten goed kunnen onderscheiden van giftige evenbeelden. In de loop van de (pre)historie zullen er op die manier allerlei min of meer ordelijke systemen voor delen van het plantenrijk zijn ontstaan, bijvoorbeeld van planten die als medicijn werden gebruikt. Zo'n ordening noemen wij tegenwoordig een **kunstmatig systeem**. Ze zijn gebaseerd op één of enkele praktische kenmerken, zoals eetbaar of niet, goed tegen dit, goed voor dat, nuttig of schadelijk.

Na eeuwenlang alleen mondeling te zijn overgeleverd, werd de kennis ook steeds meer op schrift gesteld. Een van de eersten die naar de planten zelf keek en probeerde het hele plantenrijk te beschrijven en te ordenen, was Carolus Linnaeus (1707-1778). Zijn systeem was echter nog steeds kunstmatig. Hij baseerde zijn indeling op het aantal meeldraden per bloem. Een systeem dat het pollentype van een plant of plantengroep als grondslag zou hebben, zou net zo kunstmatig zijn. Ordenen op grond van één kenmerk werkt niet, tenminste niet als je streeft naar een **natuurlijk systeem** waarin planten die met elkaar verwant zijn in dezelfde groep zitten. Linnaeus' opvolgers hebben daarom veel meer kenmerken gebruikt. Doordat planten méér of minder met elkaar verwant zijn, was het ook mogelijk om het systeem hiërarchisch te maken: nauw verwante soorten werden in groepjes (geslachten) bij elkaar gezet, verwante geslachten in families, families in orden, etc. Elke soort heeft een naam, in ieder geval een Latijnse (internationaal!), vaak ook een in de landstaal. Iedere soort heeft ook een type. Het type van een soort is een bepaald (herbarium)exemplaar van die soort, dat bewaard wordt in een van de vele botanische instituten (herbaria) in de wereld. De officiële Latijnse naam van die soort is gebonden aan dat ene exemplaar. Als later iemand tot de conclusie komt dat die soort eigenlijk bestaat uit twee groepen die elk een soort vertegenwoordigen, dan houdt de groep waar het type-exemplaar in zit de oorspronkelijke naam. De andere moet dan een nieuwe naam (en een nieuw type!) krijgen. Zo heeft ook ieder geslacht een typesoort.



De **plantensystematiek** is een dynamische discipline binnen de botanie. Er worden nog steeds nieuwe soorten en zelfs geslachten ontdekt, die ook allemaal een plaatsje in het systeem moeten krijgen. Verwantschappen moeten opnieuw worden bekeken en bestaande classificaties moeten dan vaak worden herzien. Daar komt nog bij dat er steeds nieuwe onderzoek(s)methoden en kenmerken beschikbaar komen (denk aan DNA-analyse). Door zoveel mogelijk kenmerken te analyseren en daarna te combineren in een synthese, proberen taxonomen (biologen die zich bezighouden met het vergelijken, beschrijven en ordenen van organismen) tot een zo natuurlijk mogelijk classificatiesysteem te komen.

Planten die pollen produceren, vormen een natuurlijke groep binnen het plantenrijk: de **zaadplanten**. Deze groep zou met evenveel recht de 'pollenplanten' genoemd kunnen worden. Het nauwst verwant aan de zaadplanten zijn groepen als de mossen, wolfsklauwen, paardenstaarten en varens. Ze hebben geen zaden of pollen, maar sporen, en worden samen daarom wel als de **sporenplanten** aangeduid. De zaadplanten worden onderverdeeld in twee grote groepen: de **naaktzadigen** (gymnospermen) en de **bedektzadigen** (angiospermen). De laatste groep, ook wel te karakteriseren als de bloemplanten, wordt opgesplitst in de **eenzaadlobbigen** (monocotylen) en de **tweezaadlobbigen** (dicotylen). Beide vertonen een grote diversiteit aan bloemen, bloeiwijzen en bestuivingstypen en zijn als zodanig ook het meest interessant voor palynologen. Volgens grove schattingen (de opvattingen verschillen nogal) tellen de angiospermen ruim 240.000 soorten, bijna 14.000 geslachten en zo'n 377 families, terwijl de gymnospermen (naaldbomen e.d.) met ruim 750 soorten, 72 geslachten en 13 families een veel minder omvangrijke groep vormen.

Het feit dat het mogelijk is om een hiërarchisch systeem van soorten op te stellen op grond van de mate van verwantschap tussen die soorten, kan worden verklaard door de **evolutietheorie**. Levende organismen staan niet op zichzelf. Natuurlijk zijn ze op velerlei wijzen van elkaar afhankelijk in vaak zeer complexe ecosystemen, maar ze zijn ook verbonden door een meer of minder sterke 'bloedband'. Dat wil zeggen dat ze op een of ander niveau gemeenschappelijke voorouders hebben. Bij individuen van een zelfde soort is dat duidelijk: dat zijn de ouders, grootouders, etc. Maar ook soorten delen voorouders: **vooroudersoorten**. Zo zijn er op alle niveaus vooroudersoorten. Twee verwante families stammen van één vooroudersoort af. Twee minder sterk verwante families stammen ook van één vooroudersoort af, maar wel een die langer geleden leefde dan die van de twee sterker verwante families. Een soort kan door ontwikkelingen in het ecosysteem gesplitst worden in twee dochtersoorten. Door voortdurende verandering kunnen deze soorten ver uit elkaar groeien (evolueren) en op hun beurt weer verder splitsen, etc. De verschillen tussen de afstammelingen van beide oorspronkelijke dochtersoorten kunnen zo groot zijn geworden dat de twee groepen nu de status van familie 'verdienen'. Het kan zijn dat beide takken grote veranderingen hebben doorgemaakt, maar er zijn ook mechanismen denkbaar waarbij één tak een sterke evolutie vertoont, terwijl de andere min of meer dezelfde blijft. In de laatste groep kun je dan makkelijk(er) de voorouder herkennen, en in extreme gevallen spreekt

men dan wel van 'levende fossielen'. Het is duidelijk dat de afstammelingen van een bepaalde vooroudersoort niet alle even snel evolueren. Dat geldt ook voor de afzonderlijke kenmerken. Sommige veranderen nauwelijks, andere maken onder invloed van een sterke prikkel uit de omgeving een snelle ontwikkeling door, en weer andere lijken wel terug te keren naar een vroegere toestand. Dit verschilt van groep tot groep.

Taxonomen staan voor de taak om uit vergelijkingen tussen organismen de verwantschappen te destilleren. Als ze alle vooroudersoorten van een groep zouden kennen, zouden ze de evolutie binnen die groep kunnen reconstrueren. Fossielen (levende en echte) zijn echter relatief schaars en zeker te zeldzaam om de 'evolutieboom' als een legpuzzel in elkaar te passen. Ze zullen dit dus (vooral) met de recente afstammelingen moeten doen, met alle hiaten en onzekerheden van dien. Dit maakt dat verwantschapsrelaties en evolutieschema's een hypothetisch karakter hebben. Nieuw ontdekte soorten en kenmerken kunnen bestaande ideeën geheel op hun kop zetten. Over het algemeen is het toch wel zo dat twee planten die veel op elkaar lijken een recentere voorouder delen (korter geleden uit elkaar gegroeid) dan één van deze twee met een derde, minder gelijkende soort (langer geleden uit elkaar gegaan). De vooroudersoort van twee families zal meestal langer geleden hebben geleefd dan de voorouder van twee geslachten, etc.

### ***Pollenmorfologie***

De mogelijkheid om uit een pollenanalyse van een honingmonster conclusies te kunnen trekken over de herkomst van die honing, berust uiteindelijk dus op het feit dat het pollen, net als alle andere onderdelen van een plant, een bepaalde evolutie heeft doorgemaakt, waarbij allerlei speciale kenmerken zijn ontstaan. Voor het opstellen van verwantschapstheorieën is het van belang om deze kenmerken in een evolutionair licht te zien, maar voor een pollenanalyse telt alleen de diversiteit en in hoeverre de kenmerken karakteristiek zijn voor bepaalde plantengroepen. Net als in andere onderdelen van planten, bestaat er ook in het pollen een grote vormenrijkdom. Deze diversiteit is niet in alle delen van het plantenrijk even groot. Zo zijn er saaie families, met maar één of een paar pollentypen met weinig variatie. Zo'n groep is bijvoorbeeld de Grassenfamilie (Poaceae). Sommige families zijn berucht om hun grote pollen-diversiteit, bijv. de Acanthusfamilie (Acanthaceae). Deze beide extremen worden aangeduid als respectievelijk **stenopalien** en **eurypalien**. De meeste families zitten daar natuurlijk ergens tussenin.

Wat is een pollenkorrel?

Om te begrijpen welke fase een pollenkorrel in de levenscyclus van een zaadplant vertegenwoordigt, is het nuttig om eerst nog even naar de sporenplanten te kijken. Sporenplanten verspreiden zich niet zoals zaadplanten door zaden, maar door sporen. Deze worden gevormd in **sporangia**. In onrijpe sporangia bevinden zich sporenmoedercellen, die door een zogenoemde **reductiedeling** (meiose) elk 4 sporen opleveren. Het sporangium is dan rijp.

De sporen worden verspreid door wind of water en kunnen op een gunstig plekje kiemen. Er ontstaat dan een meestal min of meer bladachtig plantje (gametofyt) waarop eicellen en/of zaadcellen gevormd worden. Uit een **macrospore** groeit een vrouwelijke gametofyt (met alleen eicellen) Een mannelijke gametofyt ontstaat uit een **microspore** en levert alleen zaadcellen. Microsporen zijn over het algemeen duidelijk kleiner dan macrosporen. In geval van tweeslachtige gametofyten zijn alle sporen ongeveer hetzelfde en spreekt men van **isosporen**. Terug naar de gametofyt(en): door middel van (regen)water kan een zaadcel bij een eikel komen en deze bevruchten. Het embryo groeit uit tot sporofyt: de sporen-producerende plant (Paardenstaart, varen, etc.) zoals wij die kennen. De zaadplanten zoals wij die zien (kruid, struik, boom) vertegenwoordigen ook allemaal het sporofyt stadium. Produceren ze dan ook sporen? Ja zeker, maar deze worden niet zonder meer verspreid. Zaadplanten kennen geen isosporen. In meeldraden worden microsporen gevormd, in stampers macrosporen. In plaats van dat ze vrij komen en elders kiemen, ontwikkelen ze in de meeldraad of de stamper tot gametofyten. Bij de zaadplanten zijn dit geen kleine bladachtige plantjes, maar sterk gereduceerde, microscopische stadia. De mannelijke gametofyt is nog maar 2 of 3 cellen groot en blijft geheel omsloten door de oorspronkelijke wand van de microspore. Het geheel (gametofyt + wand) heet een **pollenkorrel**. Dit is het stadium dat verspreid wordt. Er worden dus geen microsporen verspreid die elders tot microgametofyt kiemen. Nee, er worden 'complete' microgametofyten verspreid (door wind, insecten, water etc.). Vrouwelijke stadia worden helemaal niet meer verspreid. Ze blijven in de stamper (één macrospore/ macrogametofyt per zaadknop), met als gevolg dat de pollenkorrel naar de stamper toe moet om een eikel te kunnen bevruchten. Om dat te bereiken hebben de zaadplanten tal van ingenieuze bestuivingsstrategieën ontwikkeld. Het doelgerichte transport van meeldraad naar stamper wordt **pollinatie** genoemd. Elke pollenkorrel bevat uiteindelijk twee **zaadcellen**. Deze bereiken hun doel niet via (regen)water, maar worden door een uitloper (**pollenbuis**) vanuit de pollenkorrel naar de stempel, door de stijl en de wand van het vruchtbeginsel, naar zaadknop getransporteerd, waar ze bij de bloemplanten de voor deze groep zo karakteristieke dubbele bevruchting tot stand brengen. De ene zaadcel bevrucht de eikel, waarna deze zich verder kan ontwikkelen tot het embryo. De andere versmelt met twee zgn. poolkernen, en levert zo een bijdrage aan het voedingsweefsel voor het embryo. Embryo en eventueel nog aanwezig voedingsweefsel, omgeven door een meer of minder stevige wand, vormen een zaad(je), dat na verspreiding (in of vanuit een vrucht) kiemt en een nieuwe plant kan opleveren, etc., etc.

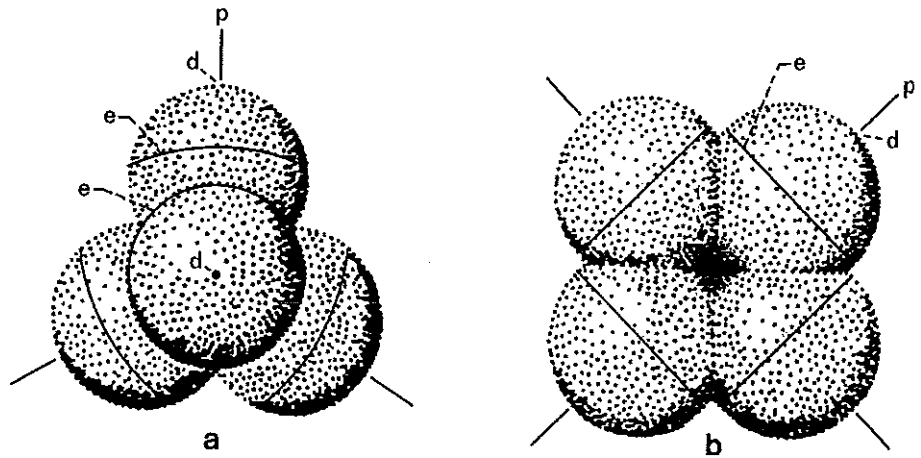


Fig. 1. Tetraden van microsporen (jonge pollenkorrels) met de oriëntatie van de polaire assen en equatoriale vlakken. Als de ontwikkelende microsporen van elkaar loslaten worden de volwassen korrels als monaden verspreid, als ze niet loslaten worden ze als permanente tetraden verspreid. a. tetrahedrale tetrade van een tweezaadlobbige plant (dicotyl; zie ook fig. 5w); b. tetragonale tetrade van een eenzaadlobbige plant (monocotyl; zie ook fig. 5v). p = polaire as, e = equatoriaal vlak, d = distale pool (de proximale polen bevinden zich steeds bij elkaar in het centrum van de tetrade).

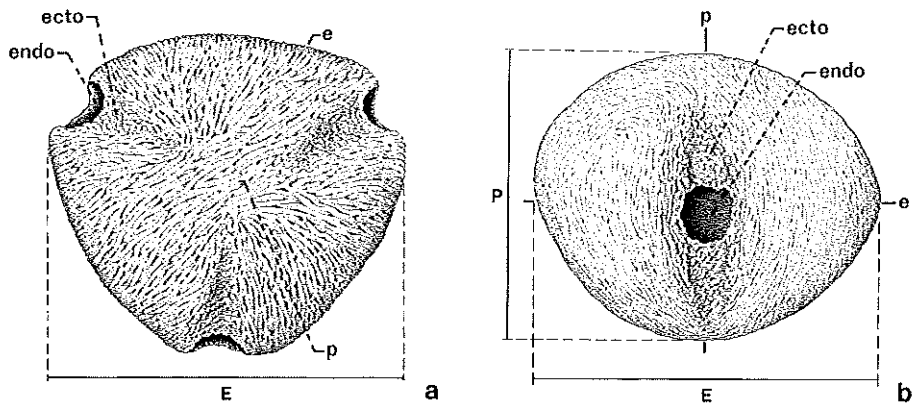


Fig. 2. Tricolporate pollenkorrel. a. polair aanzicht; b. equatoriaal aanzicht. p = pool of polaire as, e = equatoriale vlak, P = lengte polaire as, E = diameter equatoriaal vlak, ecto = ectoapertuur (colpus), endo = endoapertuur (porus).

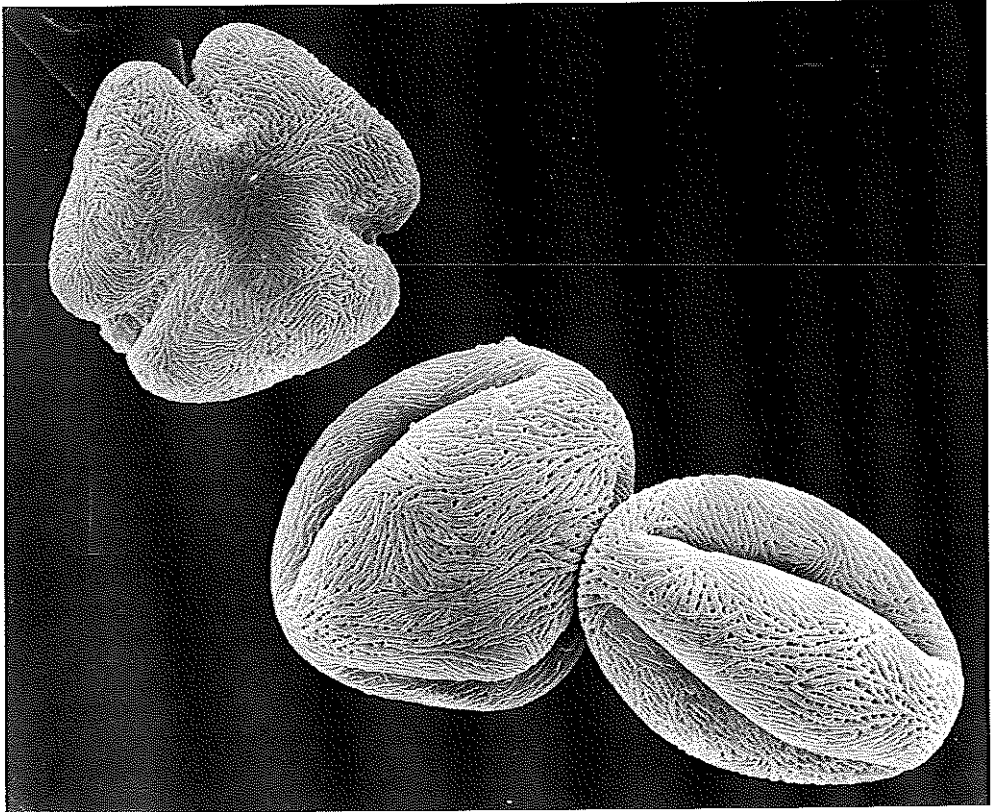


Fig. 3. Harmomegathie: geprepareerd pollen dat iets van de elasticiteit van een levende pollenkorrel laat zien. Linksboven een tricolporate korrel met naar buiten gevouwen aperturen (in een levende korrel kunnen de aperturen nog verder naar buiten, zodat de korrel bijna bolvormig wordt), rechtsonder een korrel met naar binnen gevouwen aperturen, in het midden een korrel in een intermediaire toestand.

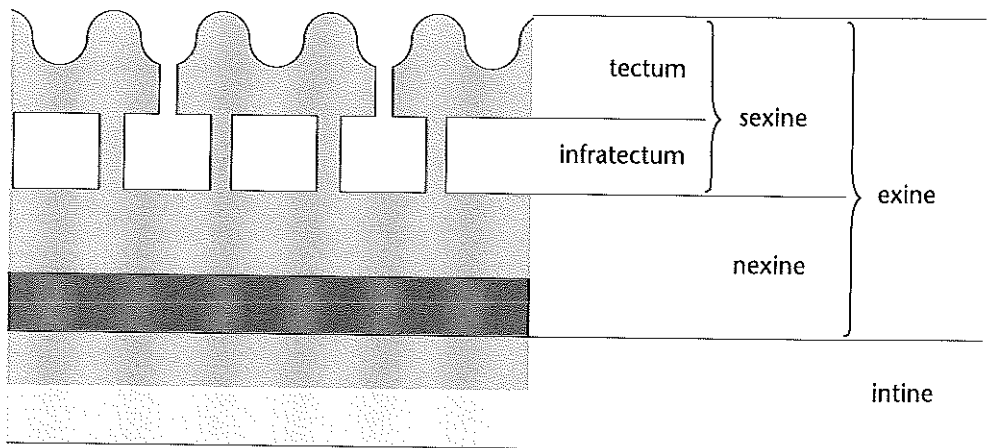
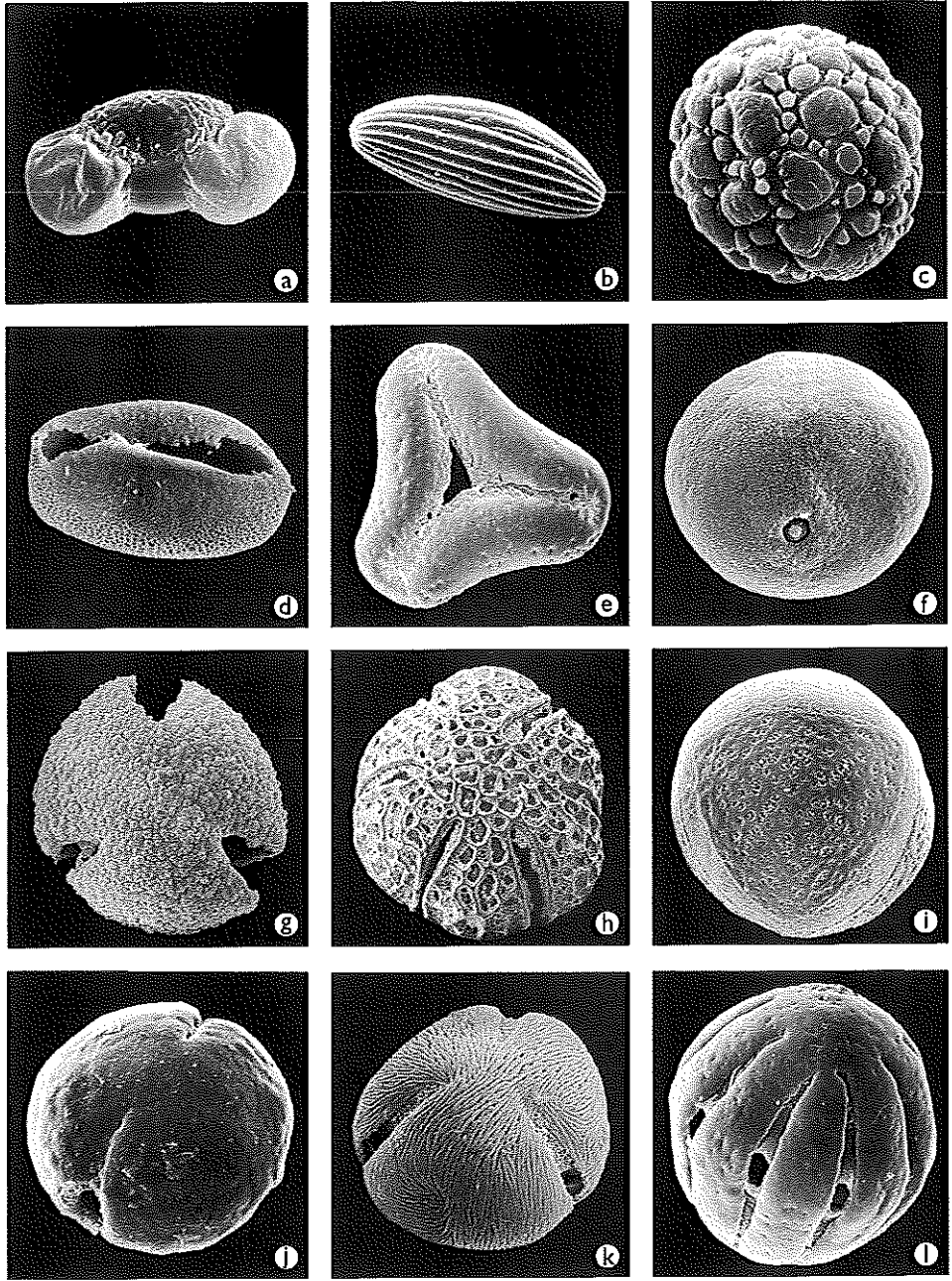


Fig. 4. Doorsnede door de wand van een pollenkorrel. De onderverdeling binnen de intine en de nexine berust op chemische verschillen, die alleen met de transmissie-electronenmicroscop (TEM) zijn waar te nemen.

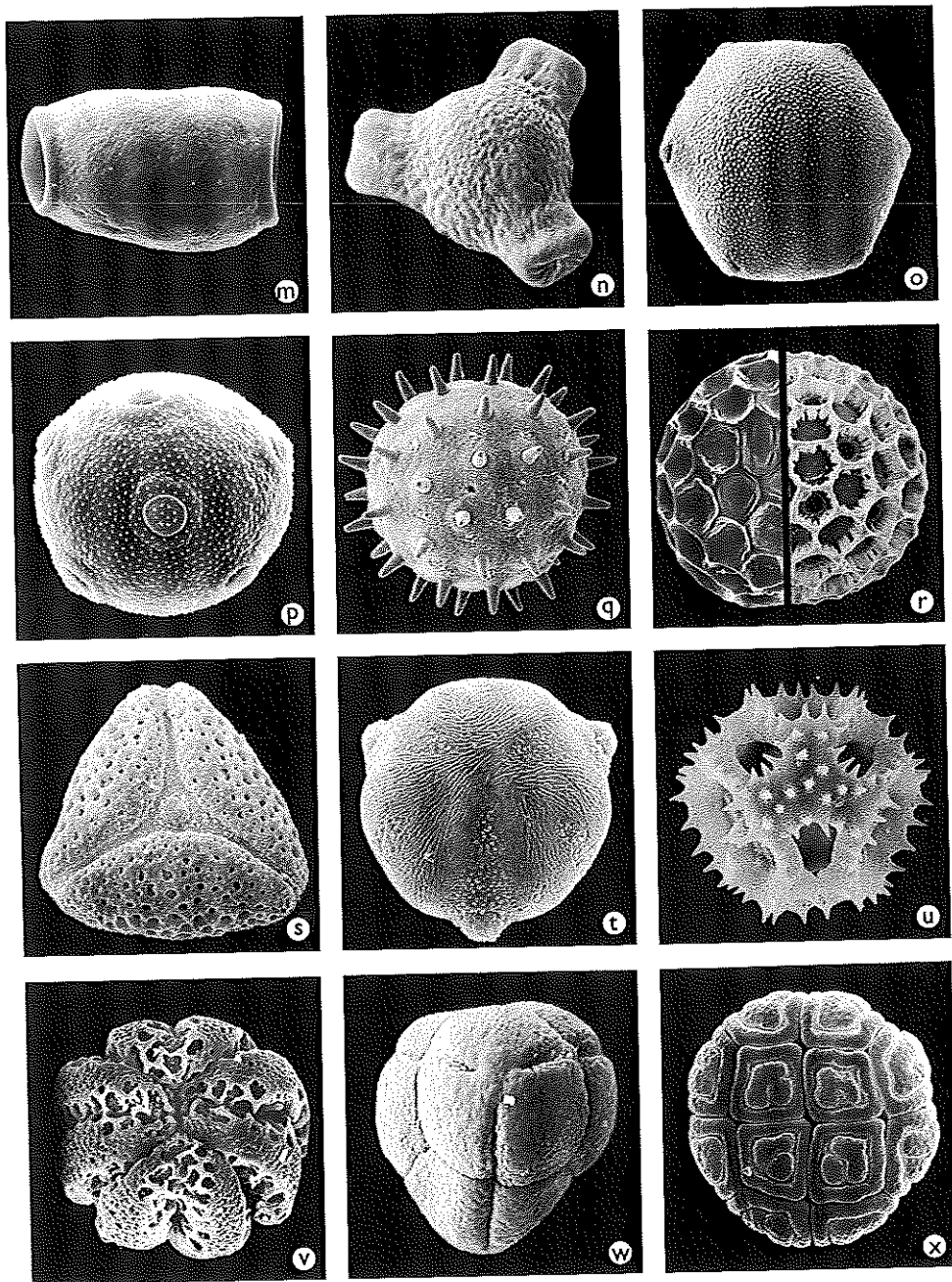
Fig. 5. Pollenklassen volgens het systeem van Iversen & Troels-Smith. De zeldzame klassen 7 (dicolpaat), 14 (pericolporaat) en 22 (dyaden) zijn niet afgebeeld.

- a. Klasse 1: vesiculaat (*Podocarpus* sp., Podocarpaceae; x 650).
- b. Klasse 2: polyplicaat (*Pistia stratiotes*, Araceae; x 750).
- c. Klasse 3: inaperturaat (*Amorphophallus cirrifer*, Araceae; x 1100).
- d. Klasse 4: monocolpaat (*Iris pseudacorus*, Iridaceae; x 450).
- e. Klasse 5: trichotomocolpaat (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae; x 800).
- f. Klasse 6: monoporaat (*Alopecurus pratensis*, Poaceae; x 1150).
- g. Klasse 8: tricolpaat (*Quercus robur*, Fagaceae; x 1300).
- h. Klasse 9: stephanocolpaat (*Catopheria chiapensis*, Lamiaceae; x 450).
- i. Klasse 10: pericolpaat (*Corydalis lutea*, Fumariaceae; x 850).
- j. Klasse 11: dicolporaat (*Alstonia angustifolia*, Apocynaceae; x 1900).
- k. Klasse 12: tricolporaat (*Litchi chinensis*, Sapindaceae; x 1950).
- l. Klasse 13: stephanocolporaat (*Utricularia leptoplecta*, Utriculariaceae; x 1500).
- m. Klasse 15: diporaat (*Alyxia rostrata*, Apocynaceae; x 750).
- n. Klasse 16: triporaat (*Oenothera* sp., Onagraceae; x 300).
- o. Klasse 17: stephanoporaat (*Pterocarya fraxinifolia*, Juglandaceae; x 1000).
- p. Klasse 18: periporaat (*Plantago lanceolata*, Plantaginaceae; x 1250).
- q. Klasse 18: periporaat (*Hibiscus rosa-sinensis*, Malvaceae; x 250).
- r. Klasse 18: periporaat (*Cobaea scandens*, Cobaeaceae; x 350, links met pollenkitt).
- s. Klasse 19: syncolpaat (*Jagera javanica*, Sapindaceae; x 1350).
- t. Klasse 20: heterocolpaat (*Lythrum salicaria*, Lythraceae; x 1200).
- u. Klasse 21: fenestraat (*Taraxacum officinale*, Asteraceae; x 1050).
- v. Klasse 23: tetrade, tetragonaal (*Furcraea undulata*, Agavaceae; x 450).
- w. Klasse 23: tetrade, tetrahedraal (*Erica carnea*, Ericaceae; x 800).
- x. Klasse 24: polyade (*Acacia dealbata*, Mimosaceae; x 800).



Figuur 5





Figuur 5, vervolg

In kort bestek wordt hieronder een overzicht van de pollenmorfologie van de zaadplanten gegeven, waarbij op een vijftal aspecten wordt gelet: 1. eenheid van verspreiding, 2. grootte van de korrel, 3. vorm van de korrel, 4. bouw van de wand, 5. apertuursysteem. In het overgrote deel van het onderzoek aan of met pollen gaat het om de wand van de korrels, welke dus vergelijkbaar (homoloog) is met de wand van een varenspre. De wand vertoont de meeste variatie en is ook meestal het enige dat goed zichtbaar is na preparatie van een pollen- of honingmonster. Vandaar dat hier verder weinig aandacht wordt besteed aan de inhoud van pollenkorrels.

### 1. Eenheid van verspreiding

Allereerst een paar termen: stuifmeel en pollen zijn taalkundig enkelvoudsvormen en hebben geen meervoudsvorm (net als lucht, stof, meel, etc.). Je spreekt van het stuifmeel of het **pollen** van een plant. Als je de losse deeltjes wilt aanduiden, moet je zeggen: stuifmeelkorrels of **pollenkorrels** (zoals je zegt stofdeeltjes of stofjes), en geen pollen of pollens.

De meeste planten verspreiden hun pollen als losse pollenkorrels (**monaden**, fig. 5a-u), al kunnen pollenkorrels die door insecten worden verspreid door 'pollenkitt' (fig. 5r) wel lichtelijk aan elkaar (en aan de bestuivers) plakken. Soms echter blijven de 4 dochtercellen (afkomstig van één pollenmoeder cel) bij elkaar, en worden dan in één pakketje (**tetrade**, fig. 5v, w) van 4 meer of minder sterk met elkaar vergroeide korrels verspreid. Tetraden komen voor in zo'n 50 families, vaak maar in een (klein) deel van de vertegenwoordigers. Soms is een hele familie gekarakteriseerd door het voorkomen van tetraden, bijv. de Heifamilie (Ericaceae). Veel zeldzamer is het geval waarbij dochtercellen twee aan twee losraken. Zulke 'halve tetraden' heten **dyaden** en komen voor bij Scheuchzeria (Scheuchzeriaceae). Pollenmoeder cellen kunnen soms nog één of meer delingen ondergaan voordat de meiose plaatsvindt. Als de korrels dan niet losraken, ontstaan eenheden (**polyaden**, fig. 5x) die, afhankelijk van het aantal delingen 8, 16, 32 of nog meer met elkaar vergroeide korrels bevatten, vaak in prachtige symmetrische patronen. Dergelijke polyaden komen voor in de Mimosafamilie (Mimosaceae). Bij de Orchideeënfamilie (Orchidaceae) en de Zijdeplantfamilie (Asclepiadaceae) zijn de eenheden nog groter. Doorgaans wordt in deze groepen de complete inhoud van een of twee helmhokken verspreid. Zo'n eenheid heet een **pollinium**.

### 2. Grootte van pollenkorrels

De grootte van pollenkorrels ligt meestal tussen de 20 en 50  $\mu\text{m}$  (1  $\mu\text{m}$  = 1 micron = 0,001 mm). Korrels van deze afmetingen worden blijkbaar makkelijk door de wind of door insecten getransporteerd. Kleinere korrels en grotere korrels vinden we vaak in planten met sterk gespecialiseerde bestuivingsystemen. De kleinste pollenkorrels (5  $\mu\text{m}$ ) komen voor bij het Vergeet-mij-nietje (*Myosotis*), de grootste (tot 350  $\mu\text{m}$ ) bij de Komkommerfamilie (Cucurbitaceae). De draadvormige korrels van Zeegrass (*Zostera*) kunnen wel 6000  $\mu\text{m}$  (6 mm!)

lang zijn. Kleine pollenkorrels zijn meestal relatief eenvoudig gebouwd. Bij de grotere is er meer 'ruimte' voor variatie en zijn ook veel complexere vormen te vinden. Korrels van planten die tot dezelfde soort behoren zijn doorgaans ongeveer even groot. Tussen soorten van één geslacht bestaan soms al grote verschillen. In *Amorphophallus*, een tropisch geslacht uit de Aronskelkfamilie (Araceae), zijn de kleinste korrels 28  $\mu\text{m}$  en de grootste 88  $\mu\text{m}$ ; mogelijk is er een verband met de aard en afmetingen van de bestuivers. Binnen de grotere families zijn aanzienlijke verschillen in grootte vrij normaal.

### 3. Vorm van pollenkorrels

De vorm van een pollenkorrel is een ruimtelijk kenmerk en als zodanig zeer divers. Ontzettend veel van de mogelijkheden zijn ook werkelijk gerealiseerd: rond, ellipsvormig, kubusvormig, haltvormig, draadvormig, etc., etc. De vorm wordt voor een groot deel bepaald door de positie, het aantal en de vorm van de aperturen (zie Apertuursysteem). Toch is er bij één bepaald apertuursysteem nog veel variatie mogelijk. Bij het beschrijven van de vorm van een korrel beperkt men zich tot twee aanzichten: het polaire en het equatoriale aanzicht. Net als bij de aardbol onderscheidt men bij een pollenkorrel twee polen en een equatoriaal vlak. De **proximale pool** is die welke in het jonge tetradestadium (het 4-cellige stadium vlak na de meiose, fig. 1) naar het centrum van de tetrade wees, de andere pool is de **distale pool**. De as tussen de polen is de **polaire as**. Er zijn vele equatoriale assen, welke samen het **equatoriale vlak** vormen. Bij een **polair aanzicht** (fig. 2a) kijk je naar 'n pool en beschrijf je de omtrek van het equatoriale vlak. Bij een **equatoriaal aanzicht** (fig. 2b) kijk je tegen de 'zijkant' van de korrel: je kunt op die manier de lengte van de polaire as (P) en de diameter van het equatoriale vlak (E) meten. De verhouding (P/E) tussen die twee, gecombineerd met de vorm van het equatoriale vlak, geven al een grove indicatie van de vorm van een pollenkorrel. Als P groter is dan E heet de korrel **prolaat** ('langwerpig', fig. 2b) te zijn, als E groter is dan P is de korrel **oblaat** ('plat', fig. 2b).

De vorm van een bepaalde pollenkorrel is niet geheel constant. Afhankelijk van de grootte van de korrel, de dikte van de wand en de aard van het apertuursysteem is een korrel tot op zekere hoogte elastisch en plooibaar. Dat is ook nodig, want een levende pollenkorrel moet zijn vorm kunnen aanpassen aan zijn inhoud. Bij het opengaan van de helmhokken ondergaan de levende korrels een zekere 'indrogings' (soms tot wel 50% volumereductie), waarbij de wand van de korrel de krimpende inhoud 'harmonieus' moet volgen. De aperturen of juist de tusseliggende wandgedeelten plooiën dan naar binnen. In deze betrekkelijke rusttoestand wordt het pollen getransporteerd. Aangekomen op een vochtige stempel vindt het omgekeerde proces plaats: de korrel neemt weer water op, herneemt zijn oude vorm en gaat kiemen. Het hele proces van het verwerken van volumeverandering tengevolge van het afstaan en weer opnemen van water duidt men aan met de term **harmomegathie**. Je kunt het natuurlijk alleen bij levend pollen waarnemen, maar bij geprepareerde (lege) korrels zie je binnen een preparaat vaak ook al een aanzienlijke variatie in vorm, die voor een deel de elasticiteit en mogelijkheden van de levende korrel illustreren (fig. 3).

#### 4. Bouw van de wand

De wand van een levende pollenkorrel bestaat uit twee duidelijk verschillende lagen: een binnenste laag, de **intine**, en een buitenste, de **exine** (fig. 4). De intine is min of meer vergelijkbaar met de normale plantencelwand, bevat onder meer cellulose en pectinen, en is gemakkelijk afbreekbaar. De exine daarentegen bestaat voor een groot deel uit **sporopollenine**. Deze stof is uiterst resistent tegen afbraak, en weerstaat sterke zuren en de tand des tijds met gemak. Zolang ze afgesloten zijn van zuurstof kunnen pollenkorrels (= exinewanden) miljoenen jaren ongeschonden bewaard blijven. De reden dat recente pollenkorrels vóór bestudering geprepareerd worden, is dat alle details van de exine daarna optimaal zichtbaar zijn met de lichtmicroscop (LM) en de raster-electronenmicroscop (REM).

De bouw van de exine heeft twee aspecten: structuur (wat je in een doorsnede ziet) en sculptuur, ook wel ornamentatie genoemd (wat je aan de buitenkant ziet). De exine van pollenkorrels van bloemplanten heeft een vast bouwplan (fig. 4). Er zijn drie lagen te onderscheiden. De binnenste laag (nexine) is min of meer massief en homogeen, maar kan plaatselijk verdikkingen of verdunningen vertonen. De middelste (infratectum) en de buitenste laag (tectum) zijn zelden massief, en worden samen wel aangeduid als de sexine. Het infratectum bestaat meestal uit kortere of langere zuiltjes (columellair infratectum) tussen het tectum en de nexine. Soms zijn ze vertakt of zeer onregelmatig gevormd. Het infratectum kan ook ontwikkeld zijn als een poreuze laag van sporopolleninekorreltjes (granulair infratectum). Het tectum is het meest variabele onderdeel van de exine. Dit is natuurlijk een gevolg van het feit dat het tectum het raakvlak van de pollenkorrel met de buitenwereld is tijdens belangrijke processen als transport en kieming. Het kan op allerlei manieren geperforeerd zijn: van niet of nauwelijks, met kleine 'speldenprik-gaatjes' of wat grotere gaatjes, tot een grofmazig netwerk. De buitenzijde van het tectum is meestal niet glad, maar voorzien van kortere of langere, kleinere of grotere uitsteeksels, richels, wratten etc. Alles bij elkaar maakt dit dat pollenkorrels onvoorstelbaar divers geornamenteerd zijn, in ieder geval te divers om in woorden uit te drukken. Enkele algemene ornamentatietypen: psilaat (tectum glad, zonder gaatjes, fig. 5j), punctaat (tectum met 'speldenprikjes', fig. 5m), perforaat (tectum met gaatjes, fig. 5u), reticulaat (tectum netvormig, fig. 5h, r, of met een òpliggend netwerk), striaat (tectum met min of meer parallelle langwerpige elementen: muri, fig. 5k, t), rugulaat (tectum met kriskras gerangschikte langwerpige elementen: muri), scabraat (tectum ruw door scabrae kleiner dan 1 µm, fig. 5f, o, p), verrucaat (tectum met wratten groter dan 1 µm, fig. 5a, g, n), echinaat (tectum met stekels, fig. 5q, u).

Zowel de nexine, het infratectum als het tectum kunnen relatief dik of dun, of zelfs helemaal afwezig zijn. Als het tectum ontbreekt (het pollen heet dan in-tectaat), zorgt het 'infratectum' vaak nog voor enige ornamentatie, vaak min of meer echinaat of verrucaat. In zeldzame gevallen is een exine (bijna) afwezig,

meestal bij planten die in een zeer vochtige omgeving groeien of waarvan het pollen in het water terecht komt, zoals sommige vertegenwoordigers van de Gemberfamilie (Zingiberaceae) en de Zeegrasfamilie (Zosteraceae). Blijkbaar is de functie van de exine (onder meer) bescherming van de inhoud van een pollenkorrel tegen uitdroging. In een vochtig milieu is dit gevaar niet zo groot en kan een exine grotendeels gemist worden. Een andere vaak genoemde functie van de exine is de opslag (op en in tectum en infratectum) van allerlei stoffen die een rol spelen bij transport en kieming (factoren als geur, kleur, herkenning etc.). Bij het ontbreken van een exine gaan ook de mogelijkheden voor bescherming en opslag verloren, maar een deel van deze functies wordt mogelijk overgenomen door de intine. Vaak is in pollenkorrels zonder of met een dunne exine de intine extra dik. Dit verband is in een normale pollenkorrel ook waarneembaar: onder aperturen (dit zijn gaten of dunne plekken in de exine; zie Apertuursysteem) is de intine doorgaans duidelijk verdikt (oncus). Dergelijke verdikkingen spelen een grote rol bij de waterhuishouding van een korrel.

## 5. Apertuursysteem

Het apertuursysteem van een pollenkorrel bestaat uit één tot vele tientallen afzonderlijke aperturen. Een **apertuur** (zie bijvoorbeeld, fig. 5d, e) is een opening of een dunne plek in de wand. Aperturen spelen een rol bij de waterhuishouding van een korrel. Een andere belangrijke functie een apertuur is het doorlaten van de **pollenbuis** (zie: "Wat is een pollenkorrel?" onder Pollenmorfologie in dit hoofdstuk).

De vorm van een apertuur is eenvoudig tot zeer complex. Hier maken we alleen onderscheid tussen langwerpige en rond tot elliptisch, en tussen enkelvoudig en samengesteld. Een langwerpige apertuur (meer dan twee keer zo lang als breed) wordt een **colpus** (mv. colpi, fig. 5d, l) genoemd, een ronde tot elliptische (minder dan twee keer zo lang als breed) een **porus** (mv. pori, fig. 5f, m, p). Bij de bespreking van de structuur van de exine hebben we al gezien dat hierin twee lagen onderscheiden kunnen worden: de sexine en de nexine. Een apertuur kan zich bevinden in de sexine, in de nexine, of zowel in de sexine als in de nexine (op dezelfde plaats). In beide eerste gevallen is er sprake van een enkelvoudige apertuur (fig. 5i). Omdat de andere laag gewoon doorloopt, is het geen opening maar een dunne plek in de exine. Er is wel een opening als de sexine en nexine op dezelfde plaats onderbroken zijn; er is dan sprake van een samengestelde apertuur (fig. 5g, k). De onderbreking in de sexine heet dan de **ectoapertuur**, die in de nexine **endoapertuur**. Waar ecto- en endoapertuur overlappen is er een echte opening in de exine. Ze kunnen elkaar geheel overlappen: twee colpi (fig. 5g) of twee pori (fig. 5m) op precies dezelfde plaats in de wand. Ze kunnen ook verschillend van vorm zijn: de ectoapertuur een colpus en de endoapertuur een porus (fig. 5j, k, l), of andersom: de ectoapertuur een porus en de endoapertuur een colpus.

Pollenkorrels worden doorgaans geïnclassificeerd op grond van hun apertuursysteem. Een korrel met enkelvoudige aperturen heet **colpaat** als die aperturen colpi zijn, en **poraat** als het pori zijn. Korrels met samengestelde

aperturen waarvan de ecto- en endoaperturen elkaar volledig dekken heten, afhankelijk van de vorm van de aperturen, ook colpaat of poraat. Korrels met samengestelde aperturen waarvan de ectoapertuur een colpus is en de endoapertuur een porus (of andersom) heten **colporaat**. Met toevoegingen als 3-, 4- en 5- geeft men aan hoeveel aperturen er in een korrel aanwezig zijn. Zo heeft een 3-colporate korrel drie colporate aperturen, en 5-porate korrel vijf pori.

De positie van de aperturen hangt voor een groot deel af van het aantal, en dit is weer afhankelijk van de plantengroep. Bij de naaktzadigen (gymnospermen) en eenzaadlobbige planten (monocotylen) is er meestal één apertuur, die zich dan **op de distale pool** van de korrel bevindt (zie: "3. Vorm van pollenkorrels" onder Pollenmorfologie in dit hoofdstuk en figuur 1). Bij sporen van varens e.d. bevindt de apertuur zich juist **op de proximale pool**. Bij tweezaadlobbige planten (dicotylen) zijn er heel vaak drie aperturen aanwezig, die zich dan op gelijke afstanden **in het equatoriale vlak** (op de equator) bevinden (fig. 2). De aperturen in de sexine **duidelijk** zichtbaar op de buitenzijde van de korrel) zijn dan vaak colpi die met hun uiteinden naar beide polen wijzen. Ze staan loodrecht op het equatoriale vlak en verlopen meridionaal (in 'aardbolterminologie': volgens de meridianen, de lijnen die de polen met elkaar verbinden). In alle genoemde groepen komen ook pollenkorrels zonder aperturen voor (**inaperturaat** pollen, fig. 5c). Vaak is de wand van dergelijke korrels erg dun of zijn er dunne plekken ten gevolge van een ongelijkmatige ornamentatie, waardoor de pollenbuis dan toch makkelijk zijn weg naar buiten kan vinden.

Op grond van het aantal, de positie en de vorm van aperturen en enkele andere makkelijk waarneembare kenmerken hebben Iversen & Troels-Smith in 1950 een **classificatiesysteem voor pollenkorrels** opgesteld. Veel determineersleutels gaan nog steeds op (delen van) dit systeem terug. Hoewel het ontworpen is vanuit een Noordwest-Europese visie, zijn ook pollenkorrels uit andere delen van de wereld makkelijk in één van de 24 klassen te plaatsen. Met behulp van aanvullende kenmerken, zoals afmeting en vorm van de pollenkorrel, de structuur van de wand en het ornamentatiepatroon, kan iedere klasse verder worden onderverdeeld. Je kunt het systeem voor een bepaald gebied of een bepaalde plantengroep de vorm van een determineersleutel geven, en voor zover er kenmerken beschikbaar zijn, kun je daar dan pollenkorrels (tot op zekere hoogte) mee **determineren**. In veel gevallen is gebleken dat de soorten van een groep (bijv. een geslacht) niet of nauwelijks uit elkaar te houden zijn. In de sleutel kom je bijv. uit op pollen van het *Quercus*-type (Eikenpollen). Hoe groter de pollen-diversiteit in een groep hoe gedetailleerder de resultaten bij het determineren.

Een korte bespreking van de pollenklassen van Iversen & Troels-Smith geeft een goed overzicht van de diversiteit in apertuursystemen. De pollenkorrels in de klassen 1- 20 zijn steeds monaden, terwijl de klassen 22 - 24 de meercellige verspreidingseenheden vertegenwoordigen. De klassen 1 en 2 bevatten enkele speciale pollentypen van gymnospermen en monocotylen, klasse 3 de inaperturate pollenkorrels, de klassen 4 - 6 korrels met één distale apertuur, de klassen 7 - 10 korrels met twee of meer colpi, de klassen 11 - 14 korrels met

twee of meer colporate aperturen, de klassen 15 - 18 korrels met twee of meer pori, en de klassen 19 - 21 een aantal bijzondere pollentypen van angiospermen. Bij de bespreking van de afzonderlijke klassen hieronder worden steeds een aantal voorbeelden van planten met het desbetreffende pollentype genoemd.

1. **Vesiculaat** (fig. 5a): pollenkorrels met een of meer luchtzakken (meestal twee). Diverse gymnospermen, zoals Den (*Pinus*) en Spar (*Picea*).

2. **Polyplacaat** (fig. 5b): pollenkorrels met ± brede overlangse richels en groeven. *Ephedra* (*Ephedra*), een heester uit warme droge streken (niet inheems), en *Pistia*, een tropische waterplant.

3. **Inaperturaat** (fig. 5c): pollenkorrels zonder (duidelijke) aperturen. Diverse gymnospermen, zoals Jeneverbes (*Juniperus*), *Larix* (*Larix*) en *Taxus* (*Taxus*), monocotylen, zoals Aronskelk (*Arum*) en Kalmoes (*Acorus*), en dicotylen, zoals Populier (*Populus*) en Sterrenkroos (*Callitriche*).

4. **Monocolpaat** (fig. 5d): pollenkorrels met één distale colpus. Veel monocotylen, zoals Iris (*Iris*), Lelie (*Lilium*), Look (*Allium*) en Tulp (*Tulipa*), en sommige dicotylen, zoals Magnolia (*Magnolia*).

5. **Trichotomocolpaat** (fig. 5e): pollenkorrels met één distale driepuntige apertuur. Soms in enkele monocotylen, zoals de Leliefamilie (Liliaceae) en de Palmenfamilie (Arecaceae).

6. **Monoporaat** (fig. 5f): pollenkorrels met één distale porus. In monocotylen, zoals de Cypergrassenfamilie (Cyperaceae), de Eendenkroosfamilie (Lemnaceae), Egelskop (*Sparganium*) en de Grassenfamilie (Poaceae).

7. **Dicolpaat**: pollenkorrels met twee equatoriale colpi. Zeldzaam in dicotylen, bijv. Kartelblad (*Pedicularis*). Soms als afwijking in tricolpate groepen.

8. **Tricolpaat** (fig. 5g): pollenkorrels met drie equatoriale colpi. Algemeen in dicotylen, bijv. in de Kaardebolfamilie (Dipsacaceae), de Kamperfoeliefamilie (Caprifoliaceae), de Rozenfamilie (Rosaceae) en de Valeriaanfamilie (Valerianaceae).

9. **Stephanocolpaat** (fig. 5h): pollenkorrels met meer dan drie equatoriale colpi. In dicotylen, zoals Springzaad (*Impatiens*) en vertegenwoordigers van de Lipbloemenfamilie (Lamiaceae), bijv. Lavendel (*Lavandula*), Munt (*Mentha*) en Salie (*Salvia*).

10. **Pericolpaat** (fig. 5i): pollenkorrels met meer dan drie niet-equatoriale colpi (indien wel equatoriaal, dan niet loodrecht op het equatoriale vlak). Zeldzaam in dicotylen, bijv. in Spurrie (*Spergula*), Veenwortel (*Persicaria amphibium*), Helmbloem (*Corydalis*) en de Posteleinfamilie (Portulaccaceae).

11. **Dicolporaat** (fig. 5j): pollenkorrels met twee equatoriale, colporate aperturen. Zeldzaam in dicotylen. Soms als afwijking in tricolporate groepen.
12. **Tricolporaat** (fig. 5k): pollenkorrels met drie equatoriale, colporate aperturen. Zeer algemeen in dicotylen.
13. **Stephanocolporaat** (fig. 5l): pollenkorrels met meer dan drie equatoriale, colporate aperturen. In dicotylen, zoals de Blaasjeskruidfamilie (*Utriculariaceae*), de Vleugeltjesbloemfamilie (*Polygalaceae*) en vertegenwoordigers van de Ruwbladigenfamilie (*Boraginaceae*), zoals Bernagie (*Borago*) en Smeerwortel (*Symphytum*).
14. **Pericolporaat**: pollenkorrels met meer dan drie niet-equatoriale, colporate aperturen (indien wel equatoriaal, dan niet loodrecht op het equatoriale vlak). Zeldzaam in dicotylen, bijv. in een aantal Duizendknoop soorten (*Persicaria*) en Zuring soorten (*Rumex*).
15. **Diporaat** (fig. 5m): pollenkorrels met twee pori. Zeldzaam in monocotylen ( $\pm$  distaal), zoals Herfsttijloos (*Colchicum*). Soms als afwijking in triporate dicotylen (equatoriaal).
16. **Triporaat** (fig. 5n): pollenkorrels met drie equatoriale pori. In dicotylen, zoals in vertegenwoordigers van de Berkenfamilie (*Betulaceae*), de Brandnetelfamilie (*Urticaceae*), de Hazelaarfamilie (*Corylaceae*), de Hennepfamilie (*Cannabaceae*), de Kaardebolfamilie (*Dipsacaceae*) en de Klokjesfamilie (*Campanulaceae*).
17. **Stephanoporaat** (fig. 5o): pollenkorrels met meer dan drie equatoriale pori. In dicotylen, zoals in Els (*Alnus*) en Iep (*Ulmus*). Vaak in groepen met triporaat pollen.
18. **Periporaat** (fig. 5p, q, r): pollenkorrels met meer dan drie (tot vele) min of meer regelmatig over de korrel verspreide pori. In dicotylen, zoals vertegenwoordigers van de Anjerfamilie (*Caryophyllaceae*), de Ganzenvoetfamilie (*Chenopodiaceae*) en de Kaasjeskruidfamilie (*Malvaceae*). Zeldzaam in monocotylen, bijv. Waterweegbree (*Alisma*).
19. **Syncolpaaat** (fig. 5s): pollenkorrels met aperturen (ectocolpi, al of niet equatoriaal) waarvan de uiteinden elkaar verbonden zijn. In dicotylen, zoals Watergentiaan (*Nymphoides*).
20. **Heterocolpaaat** (fig. 5t): pollenkorrels met colpate en colporate equatoriale aperturen. In dicotylen, zoals de Kattenstaartfamilie (*Lythraceae*).
21. **Fenestraat** (fig. 5u): pollenkorrels met een aantal grote onderbrekingen (lacunae: 'vensters') in de sexine. In dicotylen, vooral bekend van veel vertegenwoordigers van de Compositiefamilie (*Asteraceae*).



22. **Dyaden:** pollen dat in eenheden van twee vergroeide pollenkorrels wordt verspreid. Bekend van *Scheuchzeria* (*Scheuchzeria*).

23. **Tetraden** (fig. 5v, w): pollen dat in eenheden van vier meer of minder sterk samenhangende pollenkorrels wordt verspreid. In mono- en dicotylen, zoals de Heifamilie (*Ericaceae*), de Teunisbloemfamilie (*Onagraceae*) en sommige Lisdodde soorten (*Typha*). Bij monocotylen liggen de vier korrels in één vlak (fig. 5v) of op een rijtje, bij dicotylen liggen er meestal drie tegen elkaar en de vierde er bovenop (tetraeder-rangschikking, fig. 5w).

24. **Polyaden** (fig. 5x): pollen dat in eenheden van meer dan vier pollenkorrels wordt verspreid (8, 16, 32, etc.). In dicotylen: in vertegenwoordigers van de Mimosafamilie (*Mimosaceae*).

## Pollen als voedingsmiddel

### *Samenstelling van pollen*

Zowel het bijenbroed als de jonge bijen krijgen stuifmeel gemengd met honing als voer. Voor hen is dit een voedingsmiddel van levensbelang. De imker kan verzamelde stuifmeelklompjes van de achterpoten van de bij oogsten met een 'pollenval'. Na drogen van de klompjes worden deze verkocht voor menselijke consumptie. Soms wordt aan de voedingswaarde van dit stuifmeel voor de mens getwijfeld. We bespreken hier daarom achtereenvolgens chemische samenstelling, voedingswaarde en andere eigenschappen.

In 1942 kwamen twee Amerikaanse onderzoekers, Todd en Bretherick met een vrij volledige analyse van 34 verschillende pollensoorten. Zij stelden wisselende gehalten vast van koolhydraten, eiwitten, vetten en mineralen. Latere onderzoekers voegden hieraan gegevens toe over vrije aminozuren, vitamines, sporenelementen en andere stoffen. De samenstelling van alle constituenten is echter sterk wisselend; zo bevat pollen van de Den (*Pinus*), een windbestuiver, slechts 7% eiwit terwijl dat van de Amandel (*Prunus amygdalus*), een typische insectenbestuiver, 29% bevat. Het vitamine C gehalte kan ook wisselen. Metingen verschillen van 30 tot 190 milligram per 100 gram pollen.

Tabel 1 t/m 5 vatten samen wat over door bijen verzameld stuifmeel bekend is uit verschillende wetenschappelijke bronnen en eigen onderzoek van de Keuringsdienst van Waren. Bijen veranderen de samenstelling van pollen o.a. door het toevoegen van nectar waardoor het koolhydraatgehalte aanmerkelijk hoger wordt. Het watergehalte van vers stuifmeel is ca 25%. Na drogen wordt dit teruggebracht tot ca 11 %.

**Tabel 1** Water en voedingsstoffen per 100 gram in door bijen ingezameld pollen (gemiddelde watergehalte 11,2 %; energie 925 KJ/100 g of 216 Kcal/100 g) in procenten.

Stof	Gem. geh.	Minim. geh.	Maxim. geh.
Water	11,2	7,0	16,2
Eiwit	16,8	5,2	25,1
Vet	4,4	0,8	12,8
Koolhydraten:			
glucose	8,8	3,1	15,3
fructose	16,8	12,6	21,9
overig	2,2	-	-
zetmeel	meestal afwezig	0	11,0
Voedingsvezel	2,9	0	25,8

**Tabel 2** Vitaminengehalten (gemiddelde, minimum en maximum waarden) in door bijen ingezameld pollen in milligram per 100 gram droge stof en de aanbevolen dagelijkse hoeveelheid (ADH) voor de mens in milligram.

Vitamine	Gem.	Min.	Max.	ADH
Beta caroteen	11	.	.	1
Thiamine (B1)	1,02	0,63	1,25	1,4
Riboflavine (B2)	1,53	0,98	2,05	1,6
Niacine (B3, PP)	9,26	5,15	11,0	18
Pantotheenzuur (B5)	1,60	0,91	2,05	6
Pyridoxine (B6)	0,32	0,24	0,39	2
Biotine (B8, H)	2,5	.	.	0,15
Foliumzuur (B9)	0,96	0,83	1,05	0,4
Ascorbinezuur (C)	30	.	.	60
Tocopherol (E)	3,2	.	.	10
Rutine (P)	560	200	800	.
Calciferol (D)	0,03(in µg)			

**Tabel 3** Gehaltes aan mineralen(gemiddelde, minimum en maximum waarden) in door bijen ingezameld pollen in milligram per 100 gram droge stof en de voor de mens aanbevolen dagelijkse hoeveelheden (ADH) in milligram.

Mineraal	Gem.	Min.	Max.	ADH
Kalium	1329	430	7564	3100
Natrium	161	23	1678	2000
Fosfor	286	83	402	800
Calcium	321	20	1764	800
Magnesium	207	12	583	300

**Tabel 4** Gehaltes aan sporenelementen (gemiddelde, minimum en maximum waarden) in door bijen ingezameld pollen in µg per 100 gram droge stof en de voor de mens aanbevolen dagelijkse hoeveelheden (ADH) in µg.

Element	Gem.	Min.	Max.	ADH
Ijzer	17.000	17.000	18.000	14.000
Mangaan	4.500	1.700	11.200	5.000
Cobalt	14	-	-	3
Koper	1.100	200	2.000	2.500
Zink	12.700	3.000	25.100	15.000
Fluor	-	-	-	1.500
Jood	7	-	-	150
Chroom	24	24	61	125
Seleen	-	-	-	50
Zwavel	305.000	96.000	609.000	-
Molybdeen	14	-	-	160
Nikkel	500	-	-	-

### *Eiwit*

Het eiwitgehalte van pollen is sterk afhankelijk van de soort plant waarvan het pollen afkomstig is. De voedingswaarde voor bijen neemt toe naarmate het eiwitgehalte hoger is. In het algemeen zijn de werkelijke eiwitgehaltenes ca  $\frac{3}{4}$  van wat in de tabel staat aangegeven. Dit houdt verband met onnauwkeurigheden in de vroegere eiwitbepalingen die ook andere stikstofverbindingen als eiwit meetelden. Ook voor de mens behoren eiwitten tot de belangrijkste bouwstenen van het lichaam.

Eiwitten, of proteïnen zijn zelf weer opgebouwd uit combinaties van 22 aminozuren. Een tiental van deze aminozuren kan het lichaam zelf niet maken. Ze worden essentiële aminozuren genoemd. Het lichaam moet ze daarom in z'n geheel uit voedingsstoffen betrekken. Eiwitten waarin alle essentiële aminozuren in een goede verhouding voorkomen worden eiwitten met een hoge biologische waarde genoemd. Voorbeelden hiervan zijn eiwitten uit vlees, vis, melk, soja. Stuifmeel bevat weliswaar veel essentiële aminozuren, maar niet in uitgebalanceerde hoeveelheden. Indien u zou besluiten vanaf heden alleen maar pollen te eten om in uw eiwitbehoefte te voorzien, dan heeft u 225 gram per dag nodig. Over deze hoeveelheid circuleren een aantal foutieve opgaven in de literatuur. Hierdoor wordt pollen onterecht ook wel als 'supervoeding' aangemerkt, hoewel het wel een redelijke aanvullende eiwitbron kan zijn.

### *Vet*

Ook het vetgehalte van stuifmeel is sterk afhankelijk van de soort pollen. Zo werd in stuifmeel van de Gewone paardenbloem (*Taraxacum officinale*) 13% vet gemeten terwijl dat van Maïs (*Zea mays*) slechts 2,2% bevatte. De voedingswaarde wordt vooral bepaald door het soort vetten: enkelvoudig of meervoudig onverzadigd, of verzadigd vetzuur. Pollen bevat hoofdzakelijk enkelvoudig en meervoudig onverzadigde vetzuren, die een gunstig effect hebben op het cholesterolgehalte en vetgehalte in het bloed.

### *Koolhydraten*

De suikers glucose (druivensuiker, dextrose) en fructose (vruchtensuiker, laevulose) komen in door de bijen verzameld pollen in aanmerkelijk grotere hoeveelheden voor dan in met de hand verzameld pollen. De reden hiervoor is, dat bijen bij het verzamelen van pollen nectar aan de pollenklompjes toevoegen.

Opmerkelijk is ook de variatie in het gehalte aan zetmeel. De meeste pollen-soorten bevatten geen zetmeel maar enkele uitschieters juist weer erg veel. In met de hand verzameld maïspollen zit bijvoorbeeld maar liefst 22% zetmeel.

Dit is bij microscopisch onderzoek dan ook als kleine ovale korrels (2 bij 7 micrometer) in de maïspollen waar te nemen. Ook pollen van andere grassen dan Maïs, van *Cistus* en van Eik zijn zetmeelrijk. Koolzaad en Klaver bevatten daarentegen geen zetmeel. Waarschijnlijk heeft zetmeel voedingswaarde voor de bijen; net als bij de mens bevat het speeksel van de bijen het enzym amylase (diastase) waarmee zetmeel kan worden afgebroken.

### *Ruwvezel*

Het ruwvezelgehalte van pollen (voor de mens van belang voor de darmwerking, bijvoorbeeld zemelen) is normaal niet groot. Stuifmeel van coniferen is echter een uitzondering, hierbij werd een gehalte van 25% gemeten.

### *Vitamines*

De gehalten aan vitamines staan vermeld in tabel 2. Ter vergelijking is hierbij ook de aanbevolen dagelijkse hoeveelheid aangegeven. Hieruit blijkt dat, om in de dagelijkse vitaminebehoefte te voorzien, men in de orde van 200 gram pollen per dag zou moeten eten. Toch bevat pollen opmerkelijk grote hoeveelheden B vitamines: B1, B2, B3 en B6. Dit wordt slechts geëvenaard door tarwekiemen, runderlever en gedroogde biergisttabletten. Vitamine D ontbreekt vrijwel geheel in pollen. Het vitamine C gehalte neemt sterk af bij bewaring.

### *Mineralen en sporenelementen*

In tabel 3 staan de gehalten aan mineralen en in tabel 4 de gehalten aan sporenelementen vermeld. Vooral ijzer, mangaan en zink zijn in opmerkelijke hoeveelheden aanwezig. In Nederland is de hoeveelheid zink in ons dagelijks voedsel aan de lage kant. Hierom is pollen wat dat betreft een goede aanvulling.

Behalve de hierboven genoemde bestanddelen worden er in pollen nog meer stoffen aangetroffen. Hieronder zijn fysiologisch gedefinieerde stoffen als plantenhormonen (brassinen in Koolzaad), stoffen met invloed op de mens (eetlustbevorderende stoffen), enzymen, flavonoïden en vele andere.

### *Biologische eigenschappen*

#### *Voerproeven bij dieren*

Stuifmeel kan, op grond van de chemische samenstelling, op zichzelf een goede aanvulling zijn op een gevarieerde voeding. Een andere benaderingswijze om de voedingswaarde van pollen vast te stellen is te kijken hoe dieren reageren op een stuifmeeldieet. In de loop der jaren zijn verschillende van

dergelijke proeven verricht, maar niet altijd met duidelijke resultaten. Vaak is de eerste periode een opmerkelijke groei te zien, gevolgd door een achterstand ten opzichte van de controleproeven, waarschijnlijk door optredende deficiënties. Muizen, gevoerd met Mesquite (*Prosopis juliflora*) pollen vertoonden minder sterke groei dan soortgenoten op een dieet van ei-, eiwit of melkpoeder. De wisselende resultaten van dergelijke proeven hangen mogelijk samen met de verschillende soorten pollen. Caillais beschrijft dat stuifmeel als aanvulling op het dieet de groei van kinderen bevordert (Herold, 1976).

#### Geneeskrachtige werking van pollen

Meestal consumeert de mens stuifmeel ter voorkoming, verlichting of genezing van kwalen. Hoewel de werking niet zo spectaculair is als die van propolis worden opmerkelijke gevallen van verbetering vermeld. Het meeste onderzoek naar de farmacologische werking van pollen is niet geheel naar de huidige wetenschappelijke maatstaven verricht. Vaak betreft het enquêtes onder patiënten, zodat het placebo effect niet uit te sluiten is. Chauvin (1968) meldt dat stuifmeel de darmwerking reguleert, dat wil zeggen het werkt zowel tegen verstopping als tegen diarree (!). De dosis is echter irrealistisch hoog, meer dan anderhalve kilo per dag. Verder zou stuifmeel het hemoglobinegehalte van het bloed verhogen en eetlustopwekkend werken bij bejaarden en herstellers.

Ook Zwitsers onderzoek (Uccusic, 1983) wijst op een eetlustopwekkende werking van pollen en op een aantal andere positieve resultaten.

Caillais noemt nog meer subjectief beoordeelde verbeteringen. Zo zou stuifmeel 'versterkend' werken, het 'welbevinden' verbeteren, 'geestelijke arbeid' verlichten en bloedtoevoer naar de hersenen verhogen. Voorts, nog steeds volgens Caillais, verbetert consumptie van stuifmeel het gezichtsvermogen, gaat haaruitval tegen en werkt genezend bij prostaatontstekingen (Herold 1976).

Misschien komen dergelijke vage en wat zweverige omschrijvingen wel bekend voor uit advertenties over "stuifmeelpollen" en "bijenpollen" in sommige weekbladen. Een aantal meer wetenschappelijke onderzoeken heeft echter wel degelijk afname van ontstekingen en infecties aangetoond.

Ook kan stuifmeel desensibilisatie geven van allergie (hooikoorts). Via de Apimondia congressen wordt deze informatie bekend gemaakt. Pollen in combinatie met koninginnengelei is wel gebruikt tegen stralingsziekte (Uccusic, 1983).

#### Vertering van pollen door de mens

Naar aanleiding van beweringen dat pollen vanwege de resistente buitenlaag niet verteerbaar is voor de mens heeft de Keuringsdienst van Waren te Haarlem (Kerkvliet, 1990) een verteringsproef opgezet.

Hierbij werden drie pollensoorten met namaak maagzuur behandeld. Het bleek dat 90% van de mineralen oploste in het maagzuur en dus beschikbaar is voor de spijsvertering van de mens.

#### Ongewenste bestanddelen

##### Natuurlijke bestanddelen

Stuifmeel dat niet goed gedroogd is kan gaan schimmelen. Hierbij kan in een aantal gevallen aflatoxine worden gevormd als bijproduct van de schimmel. Aflatoxine is een kankerverwekkende stof die ook wel wordt aangetroffen in slecht bewaarde pinda's en gedroogde vijgen. Aflatoxine is enige jaren geleden aangetroffen in een pollenmonster in Frankrijk. In Nederland zijn nog geen gevallen bekend.

In sommige planten komen van nature alkaloiden voor met toxische eigenschappen. Sinds 1980 worden planten hierop onderzocht. In *Senecio* soorten en in *Echium* zijn gehalten van 0,3% normaal. In slangenkruidhoning uit Nieuw Zeeland is een gehalte van 1 mg per kg gemeten. Pollen is echter nog niet onderzocht. *Echium* pollen zit soms als donkerblauwe klompjes in Spaans stuifmeel.

##### Milieucontaminanten

Stuifmeel kan resten van bestrijdingsmiddelen bevatten en residuen van zware metalen. De Keuringsdienst van Waren heeft een enkele keer verhoogde hoeveelheden bestrijdingsmiddelen gemeten in pollen. Het pollen was afkomstig uit een boomgaard waar zineb en captan (beide fungiciden) waren toegepast.

Tabel 5 geeft een overzicht van de lood en cadmium gehalten van Nederlandse en buitenlandse pollen. Voor de meeste plantaardige producten is de norm voor lood 0,3 mg/kg en voor cadmium 0,1 mg/kg. Cadmiumgehalten in de bepaalde Nederlandse pollensoorten zijn dus zeer laag.

Tabel 5

Gehalten aan lood (Pb) en cadmium (Cd) in mg/kg van een aantal pollen

Soort	Herkomst	Jaar	Lood	Cadmium
Gemengd	Spanje	1983	0,25	0,10
Gemengd	Spanje	1984	0,08	0,06
Gemengd	Arizona	1983	0,23	0,10
Koolzaad 1	Nederland	1985	0,22	0,02
Koolzaad 2	Nederland	1987	0,31	0,01
Struikhei	Nederland	1988	1,10	0,01
Roos	Nederland	1987	0,50	0,02

### Verkoop van pollen

Pollen voor de verkoop moet worden gedroogd om schimmelvorming tegen te gaan. De vitamines in pollen blijven het best bewaard als gedroogd pollen droog en donker wordt bewaard. Het bewaren van vers, niet gedroogd stuifmeel in de diepvries is een ander alternatief. Bruine potten met een schroefdeksel (lucht- en vochtdicht) zijn aan te raden. Regelmatig controleren op schimmelvorming!

Bij verkoop moet op het etiket staan:

De naam van het product (stuifmeel of pollen). De inhoud in grammen en naam en adres van de producent. Ook een partijcode en houdbaarheidstermijn moeten aangegeven worden.

Verder verdient het aanbeveling te vermelden dat pollen droog en donker bewaard dient te worden.



## Bijenbotanie en nectarverwerking

### *Bloembouw*

In het verre verleden zijn tijdens het Krijttijdperk (135-70 miljoen jaren geleden) de bloemen ontstaan. Bladen boven aan de plant kregen een speciale vorm en functie ten dienste van de voortplanting. Bloemen van de bedektzadigen (Angiospermae) zijn van buiten naar binnen gezien opgebouwd uit kelkbladen, kroonbladen, meeldraden en een of meer stampers. De kelkbladen dienen als bescherming en ondersteuning van de kroonbladen. In de regel zijn ze groen. Over het algemeen wordt door de kroonbladen vorm aan een bloem gegeven. Het zijn meestal de elementen die kleur en geur aan de bloem geven. Ze dienen als herkenningsteken van de bloesem voor bestuivers. In de meeldraden vindt de productie plaats van de mannelijke geslachtscellen, het stuifmeel. Een meeldraad is opgebouwd uit een helmdraad en vier helmhokjes, waarin zich het stuifmeel vormt. Een stamper bestaat uit een vruchtbeginsel met daarop geplaatst een stijl en een stempel. In het vruchtbeginsel worden de vrouwelijke geslachtscellen, de eicellen, gevormd.

### *Voortplanting*

De planten kunnen zich op twee manieren voortplanten: geslachtelijk en ongeslachtelijk. Bij de geslachtelijke voortplanting versmelten de mannelijke en vrouwelijke voortplantingscellen. Bij de ongeslachtelijke voortplanting, ook wel vegetatieve voortplanting genoemd, ontstaat een nieuwe plant uit een enkele cel of een groep cellen van de oorspronkelijke plant. Er vindt daarbij geen versmelting van cellen plaats. Voor de geslachtelijke voortplanting is het nodig dat de mannelijke cellen uit de meeldraden overgebracht worden naar de vrouwelijke cellen in het vruchtbeginsel, met andere woorden dat er bestuiving plaatsvindt. Wanneer na de bestuiving een stuifmeelkorrel op de stempel tot ontkieming komt, vormt er zich een pollenbuis in de stijl waardoor de generatieve kern vanuit de stuifmeelkorrel naar de eicel in een zaadknop van het vruchtbeginsel wordt gebracht. Daarna vormt zich het zaad in het vruchtbeginsel dat tot een vrucht gaat uitgroeien.

### *Bestuivers*

Binnen een bloem kan bestuiving spontaan plaatsvinden wanneer het stuifmeel uit de helmknoppen op de stempel valt. Sommige bloemen hebben bewegende meeldraden die het stuifmeel op de stempel brengen als bestuiving op een andere wijze uitblijft. Maar als een plant bij zelfbestuiving geen zaad kan vormen, ze is dan zelfsteriel, dan is zij afhankelijk van invloeden van buiten. De meeste bedektzadige planten zijn voor de bestuiving afhankelijk van dieren. Bestuivers kunnen zijn: zoogdieren, vogels en insecten, die de bloemen bezoeken om daarop hun voedsel te halen in de vorm van nectar, olie of stuifmeel. Van de dieren nemen de insecten de belangrijkste plaats in, en wel die behorend tot de orden van kevers (Coleoptera), vliesvleugeligen (Hymenoptera), vliegen (Diptera) en vlinders (Lepidoptera).

Er zijn ook bedektzadige planten waarvan de bestuiving uitsluitend plaatsvindt door het overbrengen van het stuifmeel door de luchtstroom, de windbestuiving, of door water.

### ***De honingbij als bestuiver***

Van de vliesvleugeligen hebben de bijen (Apoidea) zich sterk aangepast aan het bezoeken van bloemen. Ze verzamelen er zowel nectar op als stuifmeel. Lagere solitair levende bijen vertonen een grotere afhankelijkheid van de planten die ze bestuiven en zijn voor het maken van hun nest sterk afhankelijk van het weer en van het vinden van een geschikte nestgelegenheid. De honingbij is onafhankelijker en beter geschikt als bestuiver. Hij produceert zelf materiaal voor het nest in de vorm van was en is het gehele jaar door actief als de temperatuur maar hoog genoeg is. De honingbij is polylectisch, dat wil zeggen dat ze een breed scala van plantensoorten bezoekt die niet met elkaar verwant zijn. De bijen bezoeken bloemen uiteraard uit eigen belang. Ze verzamelen er de nodige voedingsstoffen, nectar en stuifmeel. Hiermee voorzien ze in de behoefte van een volk voor eiwit (stuifmeel) en koolhydraten (nectar). Ten aanzien van het verzamelen van nectar heeft het brede scala van plantensoorten echter ook zijn beperkingen. De bloemen moeten overdag in bloei staan en er moet nectar in de bloem aanwezig zijn die voor de bij bereikbaar is. Bovendien moet in de nectar een gehalte aan suiker aanwezig zijn dat door de bij kan worden waargenomen. Voor het verzamelen van stuifmeel is de bereikbaarheid van het vrijgekomen stuifmeel een vereiste. Stuifmeel wordt ook verzameld op bloemen zonder nectariën zoals de Bosanemoon (*Anemone nemorosa*) en windbestuivers zoals grassen (Poaceae) en op bloemen waarvan de nectar onbereikbaar is zoals de Gevlekte dovenetel (*Lamium maculatum*) en de Vingerhelmbloem (*Corydalis solida*).

Honingbijen oriënteren zich op bloemen met behulp van gezicht en reuk. Op afstand speelt gezicht, dat wil zeggen de vorm en de kleur, een rol. Dicht bij de bloem wordt de geur belangrijk, maar ook het honingmerk dat de weg moet wijzen naar het nectarium. In het honingmerk ontbreekt in het algemeen de kleur ultraviolet. Sommige bloemen bezitten voor de nabije oriëntatie nog een geurmerk, bestaande uit delen van de bloemkroon die anders of intensiever geuren.

In twee eigenschappen verschillen honingbijen van de meeste andere bestuivers:

- Ze zijn bloemvast, dat wil zeggen een enkele bij bezoekt, behoudens een enkele uitzondering, in een bepaalde periode alleen de bloemen van dezelfde plantensoort. Bloemvastheid is het resultaat van een kortstondig leerproces, waarin de bij getraind wordt op de combinatie vorm-kleur-geur.
- Ze bezitten een rekruteringsvermogen door middel van de bijendans, waardoor ze worden gedirigeerd naar een drachtbron. Ook kunnen ze massaal omschakelen naar een betere drachtbron, wanneer een hoger suikergehalte van de nectar door speurbijen wordt meegedeeld aan de haalbijen, en zo een eerder druk bezochte drachtbron volkomen negeren ten gunste van een bron waar met minder moeite meer te bereiken is.

Voor het grootbrengen van een enkele werksterlarve zijn circa 125 mg honing en 70-150 mg pollen nodig. Op basis van dergelijke gegevens kan worden bepaald dat in Europa een geheel groot volk per jaar 15-30 kg pollen consumeert en 60-80 kg honing (Seeley, 1985). Stuifmeel wordt direct in de cellen opgeslagen voor zover niet direct gebruikt. Honing is het resultaat van een voorbewerking door de bijen waardoor de suikersamenstelling verandert, zowel in soort (meer enkelvoudige suikers) als in concentratie (van ruwweg 20% tot 80% suiker). Is de eenmaal gevormde honing rijp, dan wordt deze in de raten met een wasdekseltje afgedekt. Gedurende de vorming van honing door de bijen vanaf het moment van verzamelen tot het opslaan in de cellen kunnen veranderingen in de pollensamenstelling plaatsvinden. Om deze te begrijpen is enig inzicht nodig in het spijsverteringsstelsel van de honingbij.

### *Anatomie*

Het spijsverteringsstelsel van de honingbij kan worden onderverdeeld in een gedeelte voor het ventiel en een gedeelte achter het ventiel. Alle verzamelde nectar die zich in het gedeelte voor het ventiel bevindt, kan weer worden opgegeven voor verwerking tot honing. Zowel de monddelen, de slokdarm en de honingmaag bevinden zich in het voorgedeelte en worden dus min of meer gebruikt ten dienste van het volk.

Het gedeelte na het ventiel bestaat uit de maag, de dunne darm en de endeldarm. Alles wat hier terechtkomt, wordt door de bij verteerd, er is geen weg terug. Dit gedeelte wordt dus uitsluitend gebruikt ten dienste van het individu. Pollen uit verzamelde nectar wordt gedeeltelijk gefilterd door de zuigtong. Belangrijker is echter de actieve filterwerking van het ventiel.

Dit heeft de volgende functies:

- Het opgesloten houden van opgenomen nectar in de honingmaag (afsluiting).
- Het doorlaten (pompen) van de voor de bij zelf benodigde hoeveelheid nectar (energie).
- Het tegengaan van het terugstromen van de inhoud van de maag naar de honingmaag (krop).
- Het actief onttrekken van stuifmeel uit de nectar in de honingmaag.

Het ventiel bestaat in hoofdzaak uit:

- De kop, het in de honingmaag gelegen gedeelte.
- De hals, een kort gedeelte tussen de maag en de honingmaag.
- Een in de maag uitstekend gedeelte.

Aan de opening van de kop liggen vier driehoekige kleppen. Door Bailey (1952) is de werking hiervan diepgaand onderzocht. Spierbewegingen vergroten en verkleinen regelmatig de inhoud van de kop. Als de inhoud kleiner wordt, gaan de kleppen dicht en wordt de nectar teruggeperst in de honingmaag. Tegelijkertijd is door spieren de hals afgesloten en kan de nectar niet naar de maag vloeien. Stuifmeelkorrels blijven achter in de 'beharig' van de kleppen en verzamelen zich in de kanalen tussen de kleppen. Van tijd tot tijd wordt het

verzamelde stuifmeel door een 'slikbeweging' naar de maag afgevoerd. De hoeveelheid stuifmeel die op deze wijze door de kop uit de nectar wordt gefilterd is aanzienlijk. Niet alle soorten stuifmeel worden op deze wijze in evenredige hoeveelheden uit de nectar verwijderd.

### **Nectar**

De biologische betekenis van nectar is die van een beloning die de plant stelt tegenover het werk dat bezoekers verrichten om stuifmeel van de ene naar de andere plant te transporteren. Deze beloning bestaat uit een energierijke zoete vloeistof die uiteindelijk afkomstig is uit veranderd plantensap. Om de potentiële bestuivers te laten weten dat er mogelijk een beloning voor de te verrichten diensten klaarstaat, bedienen de planten zich van duidelijke reclameborden die de consument door kleur, geur, vorm en openingstijden moeten verleiden tot een bezoek.

Nectar is afkomstig uit de plantensappen die zich in de meeste gevallen in het bastgedeelte van de vaatbundels bevinden, het deel dat ook wel floëem genoemd wordt. Door assimilatie worden in de groene delen van planten met behulp van licht en koolzuur suikers gevormd die in verschillende delen van de plant kunnen worden vastgelegd in de vorm van zetmeel. Zetmeel is echter niet oplosbaar in water, en om de reservestof van het ene deel van de plant naar het andere te kunnen vervoeren, wordt dit afgebroken in kleinere bouwstenen, suikers als saccharose, die via het plantensap kunnen worden getransporteerd. Nectar wordt afgescheiden door een gedifferentieerd weefsel in de plant (klier), het nectarium, waardoor het plantensap wordt opgenomen, veranderd en aan de andere zijde weer wordt uitgescheiden.

### **Samenstelling**

In het nectarium worden uit de in het plantensap aanwezige meervoudige suikers, als bijvoorbeeld saccharose, enkelvoudige suikers gevormd, zoals fructose en glucose. In sommige planten zoals de Witte paardenkastanje (*Aesculus hippocastanum*) en de Bergcentaurie (*Centaurea montana*) ontbreekt het enzym invertase in de nectariën en bevat de nectar saccharose. De suikerconcentratie is specifiek voor elke plantensoort en schommelt tussen 8% bij bijvoorbeeld de Keizerskroon (*Fritillaria imperialis*) en 70% bij de Wilde marjolein (*Origanum vulgare*). Bovendien heeft iedere plantensoort een specifiek nectartype met min of meer vaststaande verhoudingen tussen de hoofdsuikers saccharose, fructose en glucose.

Percival (1961) heeft van een groot aantal planten de nectarsamenstelling onderzocht en kwam tot de volgende typen:

- Nectar met overwegend saccharose. Veel soorten van de Ranonkelfamilie (Ranunculaceae) vallen hieronder.
- Nectar met de drie hoofdsuikers in ongeveer gelijke hoeveelheden, zoals van bijvoorbeeld het Wilgenroosje (*Chamerion angustifolium*) en de Witte honingklaver (*Melilotus albus*).

- Nectar met een overmaat aan glucose en fructose of uitsluitend met deze enkelvoudige suikers. Hiertoe behoren veel planten uit de Kruisbloemenfamilie (Brassicaceae).

In laboratoriumproeven geven bijen de voorkeur aan nectar met ongeveer gelijke hoeveelheden van de drie hoofdsuikers (Wykes, 1952a). In het vrije veld laten ze deze voorkeur vallen en bezoeken ze ook planten met een ander nectartype (Percival, 1961).

Naast suikers bevat nectar geringe hoeveelheden organische verbindingen. De normaal in het plantensap aanwezige stikstof en fosforverbindingen worden voor een aanzienlijk deel door de nectariën uitgefilterd, waardoor het gehalte in de nectar slechts een fractie is van dat in de plantensappen (Lüttge 1961). De mate van filtratie is afhankelijk van de bouw van de nectariën. Bij primitieve vormen van nectariën wordt relatief meer van de genoemde verbindingen doorgelaten dan bij hoger ontwikkelde nectariën. Van enkele planten, zoals bijvoorbeeld van de Watermunt (*Mentha aquatica*), bevat de nectar vitamine C.

#### Secundaire stoffen in nectar

Tijdens of na de uitscheiding kunnen van buitenaf nog verschillende stoffen en deeltjes in de nectar terechtkomen.

Onder deze zogenaamde secundaire toevoegingen bevinden zich onder andere:

- stuifmeelkorrels
- schimmelsporen
- calciumoxalaatkristallen.

#### Stuifmeelkorrels

In bloemen waarvan de geopende helmknoppen zich boven de afgescheiden nectar bevinden, kan het stuifmeel spontaan in de nectar terechtkomen. Ook als gevolg van bezoek van insecten kan stuifmeel in de nectar geraken. In beide gevallen is de bloembouw van wezenlijk belang. De plaats van het nectarium is in veel gevallen bepalend voor het gehalte aan stuifmeel in de nectar en komt daarom in dit hoofdstuk uitvoerig ter sprake. Ook 'vreemd' stuifmeel uit de atmosfeer of van insectenbezoek kan in de nectar terechtkomen en een uiteindelijke honinganalyse bereiken.

#### Schimmelsporen

Sporen van paddestoelen en schimmels verplaatsen zich in veel gevallen door de lucht. Ze kunnen in de in de bloem aanwezige nectar terechtkomen maar zich ook hechten aan het haarkleed van de bij en zo in de verzamelde nectar terechtkomen. Bijen verzamelen ook gericht sporen van schimmels. In Nederland zijn waarnemingen bekend van het verzamelen van roestsporen op bladeren van populieren en wilgen (Neve, 1993, 1996). Door transport en verwerking van nectar kunnen sporen in de opgeslagen honing terecht komen en in genomen monsters worden aangetroffen. Vooral bladhoning staan bekend om hun schimmelsporen (echter niet uit nectariën). Er bestaan echter ook schimmels die een zoete afscheiding produceren, Moederkoorn (*Claviceps purpurea*) een schimmelziekte van Rogge, kan zelfs predomineren.

Ook brandschimmels, valse meeldauwsoorten en schimmels uit het bijenvolk zelf kunnen het pollenbeeld 'verrijken' (Zander & Maurizio, 1975). Voorbeelden van in honing aangetroffen schimmelsporen staan vermeld in plaat 20.

#### Calciumoxalaatkristallen

Een groot aantal planten is in staat oxaalzuur te vormen, vaak in de planten aanwezig als calciumoxalaat in kristalvorm. Deze kristallen kunnen, afhankelijk van de plantensoort, aanwezig zijn in de bloemdelen of in de andere plantendelen. De kristallen vormen zich in speciale cellen en zijn, afhankelijk van de soort, verschillend van vorm. Voorbeelden van in honing aangetroffen kristallen van calciumoxalaat zijn afgebeeld in plaat 20.

#### *Nectariën*

De nectar wordt door de plant afgescheiden via nectariën. Al naar gelang de plaats op de plant kunnen we nectariën verdelen in:

- florale nectariën, gelegen op een deel van de bloem;
- extraflorale nectariën, elders op de plant buiten de bloem gelegen.

Een andere indeling van nectariën houdt verband met de functie die ze in de bestuiving hebben. Werken nectariën mee aan het proces van bestuiving dan worden ze nupitaal genoemd, ontbreekt die functie dan heten ze extra-nupitaal. In een aantal gevallen is deze grens moeilijk aan te brengen.

Plaats van de nectariën in de bloem

#### *Nectariën op de bloemas*

Nectariën op de bloemas kunnen zich op verschillende plaatsen in een diversiteit aan vormen bevinden.

Een grove indeling van de plaatsing kan worden gemaakt in drie groepen: onder aan het vruchtbeginsel, boven aan het vruchtbeginsel en elders op de bloemas. Ter plaatse van de nectariën is de bloemas vaak dikker en kussenvormig. Deze verdikking wordt wel met 'discus' aangeduid. De verdikking onder aan het vruchtbeginsel vinden we ofwel tussen bloemkroon en meeldraden, ofwel tussen meeldraden en vruchtbeginsel. In het laatste geval heeft het nectarium de vorm van een schijf gelegen rond de basis van de vruchtbladen. Deze vorm vinden we bijvoorbeeld bij soorten van de Heifamilie (Ericaceae), Lipbloemenfamilie (Lamiaceae), Vlambloemenfamilie (Polemoniaceae) en Vlinderbloemenfamilie (Fabaceae). Bij de grote Kruisbloemenfamilie (Brassicaceae) ligt het nectarium ook onder aan het vruchtbeginsel op de bloemas. Er is een diversiteit aan vormen bij de verschillende soorten. De discus kan cirkelvormig, maanvormig of driehoekig zijn en kan rond de voet van de verschillende meeldraden zijn gelegen, maar ook aaneengesloten rondom de meeldraden liggen. Een mooi voorbeeld van een boven het vruchtbeginsel gelegen nectarium is te vinden bij de Schermbloemenfamilie (Apiaceae). Het omsluit geheel de basis van de stijl en heet daarom ook wel stylopodium. Bij sommige soorten van de Rozenfamilie (Rosaceae) is de bloemas uitgegroeid tot een bekervormige

bloembodem, los van het vruchtbeginsel. Aan de rand ervan staan kelk, meeldraden en bloemkroon. Het nectarium is hier op de binnenzijde van de bloembodem gelegen. Bij soorten van de Teunisbloem (*Oenothera*) ligt het bekervormige deel van de bloembodem tegen het vruchtbeginsel en zet zich daarboven buisvormig voort. Aan de rand van het buisvormig deel staan ook hier kelk, meeldraden en bloemkroon. Het buisvormig deel (hypanthium) lijkt door de kleur deel uit te maken van de bloemkroon maar is in feite een deel van de bloemas. Het nectarium ligt onder aan het buisvormig deel. Een zelfde plaatsing van het nectarium vinden we bij de *Fuchsia magellanica*.

### *Nectariën op de bladorganen van de bloem*

#### Op de kelkbladen

Bloemen van de Linde (*Tilia*) hebben een nectarium op de bovenzijde van de kelkbladen dat wordt afgedekt met een beharing. Haren op de kelkbladen van het Kaasjeskruid (*Malva*) scheiden nectar af, dit zijn de zogenaamde trichoomnectariën. Bij sommige planten zoals de Reuzenbalsemien (*Impatiens glandulifera*) heeft een van de kelkbladen een speciale vorm. Het heeft een spoor met aan het eind een nectarium. De afgescheiden nectar kan tijdelijk in de spoor worden opgeslagen.

#### Op de kroonbladen

Bij veel planten liggen de nectariën op de kroonbladen. Bij het Gewoon speenkruid (*Ranunculus ficaria* subsp. *bulbilifer*) hebben deze aan het begin een uitstulping waarin de nectariën zijn gelegen. Duidelijk zichtbaar zijn de nectariën aan de basis van de kroonbladen van de Berberis (*Berberis*); ze hebben een met de kroonbladen contrasterende oranje kleur. Kroonbladen kunnen wat vorm betreft ook zijn aangepast aan de plaats van de nectariën. Zo heeft de bloemkroon van de Echte valeriaan (*Valeriana officinalis*) aan de voorkant een uitstulping met daarin een kort spoorvormig gedeelte, waarin het nectarium. Bij de Rode spoorbloem (*Centranthus ruber*) hebben de bloemen een duidelijk zichtbaar spoor waarin zich eveneens het nectarium bevindt. De spoor dient tevens als opslag voor de vrijgekomen nectar. Bij de Winterakoniet (*Eranthis hyemalis*) hebben de kelkbladen de functie van lokmiddel overgenomen van de bloemkroon. De kroonbladen zijn klein en hebben de vorm van een beker. Onderin liggen de nectariën en de beker dient als tijdelijk opslag voor de nectar. Als de kroonbladen geheel ten dienste staan van de nectarafscheiding worden ze nectarbladen genoemd. Ook het Nieskruid (*Helleborus*) en Juffertje-in-het-groen (*Nigella damascena*) hebben deze bekervormige nectarbladen.

#### Op de meeldraden

Ook op de meeldraden kunnen we nectariën aantreffen. Bij de Adderwortel (*Persicaria bistorta*) liggen de nectariën aan het begin van de helmdraden. In een aantal gevallen heeft een of meer meeldraden een aanhangsel dat in een spoor van de bloemkroon reikt. Op dit aanhangsel bevinden zich nectariën.

Mooie voorbeelden hiervan zijn het Driekleurig viooltje (*Viola tricolor*) en de Vingerhelmbloem (*Corydalis solida*).

#### Op de stamper

Hier ligt het nectarium in vele gevallen op de wand van het vruchtbeginsel zoals bij de Wilde liguster (*Ligustrum vulgare*) en de Boksdooorn (*Lycium barbarum*). Bij de Muurpeper en verwante soorten van het Vetkruid (*Sedum*) ligt het nectarium onder aan het vruchtbeginsel en heeft de vorm van een schubachtige uitstulping. De Wijnruit (*Ruta graveolens*) heeft een nectarium de vorm van een ronde kussentjes gelegen op het vruchtbeginsel. Op de vruchtbladen van een aantal soorten van de Leliefamilie (Liliaceae) zoals Look (*Allium*) en Sterhyacint (*Scilla*) heeft het nectarium een onopvallende plaats. Hierbij zijn de vruchtbladen langs de rand omgebogen. De tegen elkaar gelegen delen vormen de scheidingswanden van het vruchtbeginsel. Plaatselijk is er een ruimte in de scheidingswanden, daar bevindt zich het nectarium. De nectar wordt via kanaaltjes naar boven of naar beneden afgevoerd. Dit type nectariën heet ook wel septaalnectariën (septum=scheiding).

#### Extraflorale nectariën

Een aantal planten bezit ook nectariën die buiten de bloemen zijn gelegen, deze worden extraflorale nectariën genoemd. In veel gevallen worden ook deze door de bijen bezocht. Hun functie voor de bestuiving is dan hoogstens indirect omdat ze bijen naar de plant lokken. Dit type nectariën is bijvoorbeeld te vinden bij de Centaurie (*Centaurea*) op de omwindselbladen van het bloemhoofdje. Bijen bezoeken deze hoofdjes als ze nog gesloten zijn. Extraflorale nectariën komen ook voor op de bladvoet van Kers (*Prunus*), Populier (*Populus*), Wilg (*Salix*) en Wikke (*Vicia*).

#### *Nectarproductie*

Als een plant goed gedijt zal zij nectar kunnen produceren. Toch zijn er factoren die de nectarproductie beïnvloeden. Volgens Huber (1956) oefent de temperatuur een grote invloed uit op de nectarafscheiding. Een temperatuursverhoging heeft tot een specifieke grenswaarde een verhoging van de suikerafgifte tot gevolg. Ook wordt de nectarafgifte beïnvloed door de bodemvochtigheid. Een betere waterverzorging geeft een hogere suikerafscheiding. In nectarafscheiding heeft elke plantensoort een eigen ritme. De nectar kan bijvoorbeeld gelijkmatig over de gehele dag worden afgescheiden maar ook alleen in de voormiddag of uitsluitend in de namiddag. Afhankelijk van de hoofdsort bestuivers eventueel ook 's avonds of 's nachts (bijvoorbeeld door nachtvlinders en vleermuizen bestoven planten).

#### *Honing*

De nectar wordt in de honingmaag naar het volk gebracht. De haalbij geeft bij terugkeer in het volk de nectar door aan de bijen die zich nog in het volk bevinden. De nectar wordt van bij tot bij doorgegeven, waarbij tegelijkertijd



speeksel uit de voedersap- en speekselklieren met de nectar wordt vermengd. In het speeksel bevinden zich enzymen. Tenslotte wordt de nectar in de cellen opgeslagen. De nectar is dan maar beperkt houdbaar omdat het watergehalte te hoog is; dit moet worden verlaagd tot circa 20%. De bijen gaan nu de nectar indampen. Dat doen ze door een beetje nectar op te nemen in de honingmaag en dit herhaaldelijk naar buiten te brengen. Tegelijkertijd wordt door bijen in het volk gewaaierd met de vleugels waardoor een luchtstroom in het volk ontstaat. De nectar verandert nu in honing. Als die rijp is wordt de cel afgedekt met een wasdekseltje.

### *Stuifmeel*

Het vrijkomen van stuifmeel in een bloem is voor een deel afhankelijk van de weersomstandigheden. Bovendien heeft iedere plant onder dezelfde condities haar eigen ritme van stuifmeelafgifte.

Een bijenvolk voorziet in zijn eiwitbehoefte door middel van stuifmeel. Het eiwit is de bouwstof voor het voedersap waarmee de larven, de koningin en de darren worden gevoed.

Bijen beginnen eerst met het verzamelen van stuifmeel als de temperatuur boven 10°C is gestegen.

Het stuifmeel wordt verzameld aan de buitenzijde van de achterpoten. Tijdens het bloemenbezoek komt het stuifmeel in de beharing van de bij terecht; met pootbewegingen wordt het daaruit geborsteld en naar de achterpoten gewerkt. Daar komt het terecht in de stuifmeelkammen aan de binnenzijde van het eerste voetlid van de achterpoten. Als beide achterpoten tegen elkaar worden gewreven komt het stuifmeel uit de kammen via de pollenpers tussen scheen en eerste voetlid aan de buitenzijde van de poot. Dit zijn de herkenbare stuifmeelklompjes aan de achterpoten van de haalbijen, die worden vastgehouden tussen de beharing van het korfje (corbicula). Bij terugkomst in het volk steekt de bij de achterpoten in een cel en wrijft met de middelste poten de stuifmeelklompjes eraf. Hierna wordt het stuifmeel door andere bijen aangestampd. Als een cel geheel gevuld is, wordt het stuifmeel afgedekt met een dun laagje honing.

Het stuifmeel wordt dicht tegen het broednest of onder de honingvoorraad voor de winter opgeslagen. De opgeslagen voorraad stuifmeel zorgt er onder meer voor dat de laat in het jaar geboren bijen kunnen beschikken over voldoende eiwitten in hun lichaam om in het voorjaar het nieuwe broed te kunnen voorzien van voldoende bouwstoffen. Winterbijen slaan de eiwitten op in een vetlichaam in het achterlijf.

Het stuifmeel dat in de cellen wordt opgeslagen ondergaat een verandering in de samenstelling daarvan. De aanwezige suikers worden geïnverteerd en het stuifmeel verliest zijn kiemkracht.

Bij de spijsvertering van de bij wordt alleen de inhoud van de stuifmeelkorrels verbruikt. De wand van de korrels ondervindt tijdens de spijsvertering geen verandering, hij blijft geheel in stand of valt in stukjes uiteen.

## Pollen in honing

Het is al ongeveer honderd jaar bekend dat honing kleine hoeveelheden pollen bevat. Hierdoor is het mogelijk te bepalen van welke planten de honing afkomstig is, de zogenaamde botanische herkomstbepaling. Ook is het mogelijk te bepalen uit welk land, of uit welk gebied de honing afkomstig is. Dit wordt de geografische herkomstbepaling genoemd.

### *Stuifmeel kan via een drietal wegen in de honing terechtkomen*

- De primaire inbreng van stuifmeel gebeurt doordat in de nectar van de plant stuifmeel van dezelfde bloem zit. Dit kan vanuit de meeldraden komen in een nog gesloten bloem, of ook doordat bij verstoring van de meeldraden door b.v. een haalbij of wind wat pollen in de nectar valt. De nectar wordt opgezogen en verzameld in de honingmaag van een haalbij. Terug in het volk wordt de nectar afgegeven en inclusief dit pollen tot honing verwerkt. Op deze simplistische gang van zaken zijn legio uitzonderingen die o.m. onder bijenbotanie worden besproken. Hierbij komt ook nog dat bijen in de honingmaag pollen tot op zekere hoogte kunnen 'uitfilteren'.
- De secundaire inbreng van pollen in honing is verontreiniging van nectar met stuifmeel uit de bijenkast. Het gaat hier meestal om pollen uit de haren van de bij, over het algemeen van windbloeiërs afkomstig. Naast een nectarstroom is er in de kast ook nog een stuifmeelstroom, niet noodzakelijk van planten die ook nectar produceren. Ingezamelde stuifmeelklompjes, die normaal dienen als voer voor het broed worden in aparte cellen, gescheiden van de nectar opgeslagen. In uitzonderingsgevallen kan nectar zo met 'verkeerd' stuifmeel besmet raken, in de praktijk treedt echter zelden zo'n besmetting op storende wijze op.
- De tertiaire inbreng van pollen komt door de imker zelf. Hierbij mengt wel degelijk het opgeslagen pollen met honing. Vooral pershoning is wat dit betreft berucht en gigantische hoeveelheden pollen 'vervuilen' de honing zodat de goede botanische herkomst niet meer te achterhalen is. De geografische herkomst is zo echter nog wel te bepalen. In ons land wordt heidehoning nog op een dergelijke manier gewonnen. Ook veel Afrikaanse honingen worden zo geoogst. In tegenstelling tot normale gecentrifugeerde honing is pershoning gekarakteriseerd door miljoenen pollenkorrels per monster van 10 gram.

### *Invloed van planten op pollengehalte*

Voor alle soorten honing, behalve pershoningen, geldt dat het aantal pollenkorrels te gering is om direct, zonder voorbereiding microscopisch onderzoek te kunnen uitvoeren. Wel variëren de aantallen pollenkorrels in honing sterk. Globaal kan gesteld worden dat slingerhoning uit midden Europa

zo'n 20.000 tot 100.000 pollenkorrels per monster van 10 gram bevat. Per potje van 450 gram is dat ongeveer 1.000.000 (1 miljoen) pollenkorrels. Dit lijkt veel, in totaal wegen deze echter maar ongeveer 15 mg, evenveel als twee klompjes stuifmeel aan de achterpoot van een bij. Uit Nederlands onderzoek (Kerkvliet en van der Putten, 1980) blijkt dat onze honing gehaltes heeft van 5.000 tot 20.000 pollenkorrels per 10 gram (met uitzondering van hei- en phaceliahoning). Honingen uit midden Amerika zijn daarentegen veel rijker aan pollen. Van invloed op het stuifmeelgehalte van de honing zijn de stuifmeelproductie per plant, de bloembouw en filtratie van het pollen in het ventiel in de bijenmaag. Per plantensoort kan de pollenproductie sterk verschillen. Zo produceert Zuring, een windbloeiër, 180.000 pollenkorrels per bloem, Winterlinde (*Tilia cordata*) produceert ca 43.000 pollenkorrels per bloem. Vooral windbloeiërs produceren enorme hoeveelheden stuifmeel.

Botanische kenmerken van de bloem zijn ook van invloed op het uiteindelijke pollengehalte (zie bijenbotanie en nectarverwerking). Verschillende planten hebben nectarklieren buiten de bloemen, z.g. extraflorale nectariën.

### ***Bladhoning***

Officieel wordt deze honingsoort honingdauwhoning genoemd. Dit honingtype ontstaat doordat bijen de zoete afscheidingsproducten van blad- en dopluizen inzamelen en tot honing verwerken. Op deze kleverige honingdauw bevinden zich altijd schimmelsporen en pollen van windbloeiërs uit de lucht. Deze worden in de honing verwerkt. Uit microscopisch onderzoek is af te leiden dat het om honingdauwhoning gaat. Voorbeelden zijn de donkere najaarshoningen en de in Duitsland populaire dennenhoning.

### ***Invloed van de bijen op het pollengehalte***

De belangrijkste reden van het relatief gering aantal pollenkorrels in honing is gelegen in het spijsverteringssysteem van de bij zelf. Het ventiel (proventriculus), gelegen aan het uiteinde van de honingmaag, is in staat pollen uit nectar te filtreren. Dit gebeurt dan ook in grote hoeveelheden. Demianowicz (1964) demonstreerde de invloed van de bij op het pollengehalte van honing. Op 46 proefveldjes, ieder afgeschermd door een fijn gazen kooi, werden kleine bijenvolken geplaatst. Van 45 volken kon op deze manier honing worden gewonnen waarvan het aantal pollenkorrels per 10 gram werd bepaald. Dit verschilde sterk per soort. Grotere pollenkorrels bleken vrijwel niet in de honing terug te vinden terwijl kleinere korrels sterk vertegenwoordigd waren. Op grond hiervan werd een indeling van honingsoorten in verschillende klassen gemaakt, gebaseerd op de hoeveelheid pollenkorrels in een monster honing. Tabel 6 vermeldt de resultaten van een deel van de kooiproeven. Gegevens uit Nederland en Nigeria bevestigen dit onderzoek. Zo worden in teunisbloemhoning (pollengrootte 90 micrometer) hooguit 1- 2 pollenkorrels per monster van 10 gram gevonden naast een groot aantal andere soorten.

Cassave pollen (110 micrometer) komt ook zeer weinig voor in cassavehoning (Mutsaerts en Kerkvliet 1999).

**Tabel 6** Aantal pollenkorrels per 10 gram en pollenafmetingen in experimenteel gewonnen monoflorale honingen volgens Demianowicz.

Soort	Afm. in $\mu\text{m}$	Min.	Max.
Wilgenroosje	60	0-	740
Bernagie	32	1.500	3.000
Korenbloem	36	6.000	12.000
Witte klaver	27	12.000	24.000
Slangenkruid	17	24.000	48.000
Koolzaad	27	48.000	96.000
Witte honingklaver	25	48.000	96.000
Framboos	23	48.000	96.000
Rolklaver	19	192.000	394.000
Veldshondstong	11	3 miljoen	6 miljoen
Vergeet-mij-nietje	7	100 miljoen	200 miljoen

Ohe et al. (1994) voerden in het proefstation te Celle kooiproeven uit waarbij zowel in het begin (net verzamelde nectar) als aan het eind (verzegelde honing) het pollengehalte werd bepaald. Hierbij werden bijen, die net nectar hadden verzameld gefixeerd in vloeibare stikstof (-196°C). Het aantal pollenkorrels in de honingmaag werd vervolgens geteld en gerelateerd aan het volume van de verzamelde nectar, dit gehalte werd dan vergeleken met de pollenkorrels in de honing. Resultaten van deze vergelijking staan in tabel 7. Het blijkt dat gedurende het proces van het maken van honing minstens 99% door de proventriculus wordt uitgefilterd. Overigens moet erbij bedacht worden dat door de enorme hoeveelheid bijen die aan het inzamelen van de nectar deelnemen toch nog voldoende stuifmeelkorrels in honing te vinden zijn om conclusies te trekken.

**Tabel 7** Aantal pollenkorrels in de honingmaag van verzamelende bijen en in corresponderende honing per 10 gram. (bron: Von der Ohe 1994)

Soort	Honingmaag	Honing
Koriander	1.318.500	400
<i>Euphorbia</i> soort	33.850	220
Framboos	2.976.230	20.930

### ***Kwantitatieve pollenanalyse***

Bij de kwantitatieve pollenanalyse wordt het totale aantal pollenkorrels, dat zich in 10 gram honing bevindt, berekend. Dit wordt ook wel de absolute pollentelling genoemd. Onderzoekslaboratoria hechten hier i.h.a. meer waarde aan

dan de imker. Men kan hiermee onderscheid maken tussen honing met overrepresentatieve en onderrepresentatieve pollen, en tussen geslingerde en geperste honing. In het geval van geperste honing mag de pollenanalyse niet voor de botanische herkomstbepaling gebruikt worden. In grote delen van Afrika en Azië wordt honing nog verkregen door uitpersen van de raten. Een methode om de absolute pollengehaltes te bepalen is gepubliceerd door de International Commission for Plant Bee Relationships, (Louveaux et al 1978). Een variant van deze z.g. Maurizio methode staat beschreven in het hoofdstuk "het maken van een pollenpreparaat van honing" (laboratorium methode). Afhankelijk van het pollengehalte wordt een indeling in vijf groepen gemaakt (tabel 8).

**Tabel 8** Groepsindeling van honing naar pollengehalte in 10 gram.

Groep	Pollengehalte	Voorbeeld
I	< 20.000	<i>Robinia</i> en <i>Citrus</i> , ook Nederlandse honingen
II	20.000- 100.000	Meeste honingsoorten
III	100.000- 500.000	Vergeet-mij-nietje, Tamme kastanje
IV	500.000- 1 miljoen	Sommige extreem pollenrijke honingen, pershoningen
V	1 miljoen of meer	Pershoning

### ***Kwalitatieve pollenanalyse***

Voor de imker is de kwalitatieve analyse van pollen in honing wellicht interessanter. Dit omvat het identificeren van pollen en het vaststellen van hun relatieve bijdragen (percentages) aan het pollenspectrum in het monster. Om een zeer globale indruk te krijgen van de botanische herkomst van honing is het voldoende ca 100 pollenkorrels te tellen, te benoemen en hiervan uitgaand de percentages vast te stellen. De richtlijn van de eerder genoemde ICPBR beveelt aan 200 tot 300 pollenkorrels te tellen en te benoemen, percentages uit te rekenen en een indeling in de onderstaande frequentieklassen te maken:

- Hoofdpollen, indien het aandeel 46% of meer bedraagt
- Begeleidende pollen (=nevenpollen), indien het aandeel 16 t/m 45% bedraagt.
- Belangrijke minderheidspollen (bijpollen), indien het aandeel 3 t/m 15% is
- Minderheidspollen (eveneens bijpollen genoemd) indien het aandeel minder dan 3% bedraagt.

Men vindt deze indeling vaak terug in publicaties over melissopalynologie.

Om statistisch verantwoorde percentages te geven moeten, zo is gebleken uit een onder Duitse laboratoria gehouden vergelijkend onderzoek, minstens 500 pollenkorrels geteld en benoemd worden (Behm et al. 1996).

### ***Relatie pollen en nectar***

Als de percentages van pollen zijn vastgesteld bestaat er een aardige indruk op welke plantensoorten de bijen gevlogen hebben. Anders wordt het als bepaald moet worden of de honing een echte soorthoning is. De huidige EU wetgeving stelt dat honing met een bepaalde soortnaam mag worden aangeduid, maar de honing moet dan overwegend van de genoemde soort afkomstig zijn en o.a. de microscopische eigenschappen van die soort bezitten. Hierbij speelt dus de vraag bij welk percentage pollen een honing als een soorthoning (ook wel monoflorale honing) opgevat mag worden. Gebaseerd op onderzoek door Zander en Maurizio in de vijftiger jaren, en zeer veel publicaties van Maurizio in diverse tijdschriften, heeft de ICPBR een aantal regels opgesteld m.b.t. eensoorthoningen. Een aantal uitzonderingen hierop houdt verband met de groepsindeling in tabel 8.

Meestal geldt dat indien het pollenaandeel 46% of meer is, van eensoort-honing gesproken mag worden. De verdere groepsindeling is als volgt:

Groep I: (minder dan 20.000 pollenkorrels per 10 gram). Bestaat uit honingsoorten met ondervertegenwoordigd pollen. Dit zijn onder meer Robinia (*Robinia pseudoacacia*), Linde (*Tilia*), Distel (*Cirsium*) en de buitenlandse soorten Lavendel (*Lavandula*) en Citrus. Door bloembouw of lage pollenproductie komt weinig pollen in de honing terecht. Hierdoor is ook het procentueel aandeel laag, veelal 10- 20% of nog minder. Ondanks deze lage pollenhoeveelheden is de nectarbijdrage zeer hoog en wordt van soorthoning gesproken.

Groep II: (20.000- 100.000 pollenkorrels per 10 gram). Omvat veel honingsoorten die door slingeren verkregen zijn. Voorbeelden zijn fruitbloesem, klaver en koolzaadhoning en bijvoorbeeld enkele buitenlandse honingsoorten zoals koffiebloesem en Boekweit. Hier geldt meestal de 45% regel: als het aandeel pollen hoger is dan 45% mag de honing opgevat worden als soorthoning. Honing met 46% pollen van Klaver is dus echte klaverhoning volgens de regels. Tot groep II behoren ook de gemengde bloemenhoningen, hoewel sommige Nederlandse bloemenhoningen duidelijk in groep I vallen. Mogelijk zijn klimatologische omstandigheden van invloed op de pollenproductie.

Groep III (100.000 tot 500.000 pollenkorrels per 10 gram). Bestaat uit de pollenrijke honingsoorten als Phacelia, Tamme kastanje en Vergeet-mij-nietje. Doordat hun pollen vrij klein zijn en de stuifmeelproductie hoog komen er flinke hoeveelheden pollen in de honing voor. Deze pollen zijn dus oververtegenwoordigd. Als bijvoorbeeld 90 procent van het pollen in een monster van Tamme kastanje afkomstig is, mogen we pas spreken van een tamme kastanjehoning.

Groep IV (500.000- 1.000.000 per 10 gram) en groep V (meer dan 1 miljoen pollenkorrels per 10 gram) bevatten pershoningen maar ook enkele slingerhoningen met een enorme stuifmeelproductie. Zo bevat de in Engeland populaire "leatherwood" honing (in België verhandeld onder de naam woudhoning uit Tasmanië; een *Eucryphia* sp.) vaak tussen de 1 en 2 miljoen pollenkorrels per monster van 10 gram. Het spreekt vanzelf dat het *Eucrypha* pollenaandeel zo rond de 100% ligt. Van pershoningen kan overigens de botanische herkomst niet meer bepaald worden omdat hier het opgeslagen pollen van stuifmeelleverende planten en het pollen van nectarleverende planten met de honing worden vermengd. Wel kan op grond hiervan de geografische herkomst worden bepaald. Honing die is aangeduid met een land of streek moet volledig uit dat gebied afkomstig zijn.

Demianowicz (1964) heeft een uitgebreider berekeningssysteem geïntroduceerd om de relatie tussen pollenaandeel en nectaraandeel te berekenen. Haar methode is gebaseerd op het totaal aantal aanwezige pollenkorrels. Elke door haar verkregen honingsoort (45 soorten) kreeg een pollencoëfficiënt, waarmee het mogelijk was om uit het procentuele pollengehalte het procentuele nectaraandeel in de honing te bepalen. In de praktijk blijkt dit soort berekeningen te ingewikkeld en te onzeker, temeer daar van slechts een beperkt aantal honingsoorten deze coëfficiënten bepaald zijn. Bovendien is het nog maar de vraag of op grond van een onderzoek naar honingen in midden Europa uitspraken gedaan kunnen worden over honing uit andere delen van de wereld. Hierom wordt er de laatste jaren naar gestreefd om per honingsoort, soms ook per land, een apart minimaal pollenpercentage vast te stellen. De European Honey Commission is momenteel bezig honingsoorten te inventariseren en richtlijnen op te stellen. Wij geven in dit boek aan de hand van ICPBR richtlijnen en eigen aanvullingen per honingsoort een minimaal pollenpercentage.

### **Interpretatieregels**

De richtlijnen om verantwoorde uitspraken over de botanische herkomst van honing te kunnen doen laten zich het best in onderstaande vier regels weergeven.

1: Indien bruine schimmelsporen (plaat 20, blz. 130) aanwezig zijn in ongeveer even grote of grotere hoeveelheden als pollenkorrels is de honing overwegend bladhoning. Pollen van planten die men dan aantreft zijn vaak op het kleverige bladoppervlak met honingdauw blijven plakken, ze hebben niet of nauwelijks bijgedragen aan de nectar. In dat geval kan men slechts vaststellen dat het om bladhoning (honingdauwhoning) gaat. Vaak zijn dit donker gekleurde honingsoorten, in sommige jaren echter ook vrijwel witte larixhoning. Verdere analyse op pollen heeft dan geen zin omdat er geen relatie is met de nectarbronnen.

2: Bij het tellen van pollenkorrels in het preparaat worden windbloeiers als Eik, Beuk, coniferen, Populier, Hazelaar, Els, Maïs en andere grassen, Zuring,

*Papaver*, Weegbree en de Ganzenvoetfamilie apart geteld. Voor het berekenen van de procentuele samenstelling van het pollen worden ze niet meegeteld. In de praktijk gaat het hierbij vaak om wilde grassen en Mais.

3: Het pollen van Tamme kastanje en Vergeet-mij-nietje kan soms in enorme hoeveelheden aanwezig zijn. Deze pollen worden eveneens buiten beschouwing gelaten bij het tellen van de stuifmeelkorrels. Indien hun aandeel groter is dan 80 of 90% worden ze meegeteld. Pas in dat geval kan de nectar overwegend van deze bloemen stammen.

4: Een honing (soorten van Belgische of Nederlandse herkomst) mag pas dan met een bepaalde soortnaam worden aangeduid als aan de criteria genoemd in tabel 9 voor het pollenaandeel is voldaan.

**Tabel 9** Minimaal pollenpercentage betrokken op het totaal aantal pollen in 10 gram en groepsindeling voor monoflorale honingen

Soort	Min.%	Groepsindeling ***.
<i>Robinia</i>	20	I meestal
<i>Borago</i>	10*	I meestal
<i>Crambe</i>	30	I
Distel	20*	I
Fruitbloesem	45	II (ook wel I of III)
Hei	30- 45**	II- III soms IV
Klaver	45	II
Koolzaad	45	II soms III
Lamsoor	?	I
Linde	20	I
Paardenbloem	?	?
Phacelia	90	II/ III
Tamme kastanje	90	II/ III
Teunisbloem	1****	I
Vergeet-mij-nietje	90	III/ IV
Rode bosbes	45	?
Wilg	70*	II/ III
Wilgenroosje	?	?

\* Voorlopig gehanteerd door de Inspectie Gezondheidsbescherming Waren en Veterinaire Zaken (Voorheen Keuringsdienst v. Waren).

\*\* Oogsten van heidehoning kan met de z.g. ericaborstel of door persen. Hierdoor komt soms verzameld pollen(bijenbrood) in de honing terecht waardoor het percentage *Calluna* pollen wordt verlaagd.

\*\*\* Groepsindeling volgens ICPBR regels (zie tabel 8).

\*\*\*\* Slechts enkele teunisbloempollenkorrels aanwezig in 10 gram honing

? Voor een aantal honingsoorten (bijvoorbeeld Lamsoor en Paardenbloem) zijn nog geen criteria vastgesteld, percentages liggen hier vrij laag (orde van 5%). Teunisbloempollen (*Oenothera*) is vrijwel niet terug te vinden in



teunisbloemhoning, dit geldt ook voor het Wilgenroosje (*Chamerion angustifolium*)

### ***Pollenspectrum van Belgische en Nederlandse honing***

Martens et al. (1964) onderzochten 2674 honingmonsters uit België. Vooral de in tabel 10 genoemde soorten waren in de honing aanwezig. Er werd bepaald in welk percentage van de onderzochte honingmonsters de betreffende pollensoorten aanwezig waren. Hierbij werd onderscheid gemaakt in hoofdneven- en bijpollen (resp. meer dan 45%; 15- 45% en minder dan 15%). Als voorbeeld: in 80,6% van de honingmonsters die hoofdpollen bezaten was het hoofdpollen van Klaver afkomstig.

**Tabel 10** Procentuele verdeling van belangrijkste in Belgische honing aanwezige hoofd- neven- en bijpollen (n= 2674, bron Martens et al.) \*

<b>Soort</b>	<b>Hoofd</b>	<b>Neven</b>	<b>Bij</b>
Witte klaver	80,57	33,06	1,26
Tamme kastanje	6,90	15,37	5,09
Rolklaver	2,70	11,13	7,56
Moerasspirea	2,24	8,65	6,51
Fruitbloesem	1,69	3,22	4,01
Honingklaver	1,60	7,63	8,71
Struikhei	1,46	3,60	0,71
Moerasvergeet-mij-nietje	0,59	2,26	1,66
Wilg	0,46	3,87	2,76
Braam/Framboos	0,27	3,87	7,56
Kruisbloemenfamilie	0,18	1,07	5,27

\* Verder worden als belangrijke pollensoorten genoemd: Rode klaver; Vergeet-mij-nietje; schermbloemigen, Tuinboon, Esdoorn, Paardenkastanje, Els, Asperge, *Borago*, Korenbloem, composieten, Slangenkruid, Berenklauw, Liguster, Liliaceae, Sporkehout, *Robinia*, Zuring, Linde.

Tabel 11 geeft een samenvatting van de resultaten van onderzoeken van 1971 t/m 1984. (Bron: Kerkvliet J.D. 1984 Stuifmeelanalyse van Nederlandse honing vroeger en nu. Maandschrift voor de bijenteelt 86: 75- 78).

Tabel 11 Overzicht van in Nederlandse honing gevonden pollen

Soort	Latijnse naam	Voorkomen in % van onderzochte honing monsters
Wilg	<i>Salix</i> spp.	96,4
Witte klaver + hybr.	<i>Trifolium repens</i> + hybr.	68,2
Koolzaad	<i>Brassica napus</i>	60,6 *
Prunus- soorten	<i>Prunus</i> spp.	55,0
Liguster- soorten	<i>Ligustrum</i> spp.	45,6
Linde	<i>Tilia</i> spp.	39,4
Braam/Framboos	<i>Rubus</i> spp.	36,3
Robinia	<i>Robinia pseudoacacia</i>	30,0
Paardenkastanje	<i>Aesculus hippocastanum</i>	26,3
Tamme kastanje	<i>Castanea sativa</i>	23,1
Gewone rolklaver	<i>Lotus corniculatus</i>	23,1
Sporkehout	<i>Rhamnus frangula</i>	22,5
Tuinboon/Wikke	<i>Vicia</i> spp.	21,9
Struikhei	<i>Calluna vulgaris</i>	21,9
Gewone paardenbloem	<i>Taraxacum officinale</i>	21,9
Honingklaver	<i>Melilotus albus/officinalis</i>	17,5
Korenbloem	<i>Centaurea cyanus</i>	17,5
Akkerdistel	<i>Cirsium arvense</i>	16,9
Cotoneaster	<i>Cotoneaster</i> spp.	16,9
Fluitenkruid	<i>Anthriscus sylvestris</i>	16,3
Grassen	Poaceae	16,3
Esdoorn	<i>Acer</i> spp.	16,3
Zuring	<i>Rumex</i> spp.	15,6
Lipbloemenfamilie	Lamiaceae	13,8
Heggenrank	<i>Bryonia dioica</i>	12,5
Veldhondstong	<i>Cynoglossum officinale</i>	12,5
Lelifamilie	Liliaceae	12,5
Zonnebloem	<i>Helianthus annuus</i>	11,9
Appel	<i>Malus</i> spp.	11,3
Rode klaver	<i>Trifolium pratense</i>	11,3
Weegbree	<i>Plantago</i> spp.	10,0
Wilgenroosje	<i>Chamerion</i> spp.	10,0
Eik	<i>Quercus</i> spp.	9,4
Aster	<i>Aster</i> spp.	9,4
Viooltje	<i>Viola</i> spp.	8,8
Berenklauw	<i>Heracleum sphondylium/ mantegazzianum</i>	8,8
Moerasspirea	<i>Filipendula ulmaria</i>	8,1
Gewone dophei	<i>Erica tetralix</i>	8,1

Tabel 11, vervolg

Soort	Latijnse naam	Voorkomen in % van onderzochte honing monsters
Slangenkruid	<i>Echium vulgare</i>	8,1
Struikspirea	<i>Spiraea</i> spp.	7,5
Klokje	<i>Campanula</i> spp.	6,9
Boekweit	<i>Fagopyrum esculentum</i>	6,3
Vergeet-mij-nietje	<i>Myosotis</i> spp.	5,6
Kruiskruid	<i>Senecio</i> spp.	5,6
Anjerfamilie	Caryophyllaceae	5,0
Rozenfamilie, overig	Rosaceae rest	5,0
Guldenroede	<i>Solidago</i> spp.	5,0
Klaproos	<i>Papaver</i> spp.	5,0
Phacelia	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	5,0*
Ganzenvoetfamilie	Chenopodiaceae	4,4
Komkommer/augurk	<i>Cucumis sativus</i>	4,4
Boterbloem	<i>Ranunculus</i> spp.	4,4
Kruisbloemenfamilie, overig	Brassicaceae rest	3,8
Gewone vlier	<i>Sambucus nigra</i>	3,8
Sint-Janskruid	<i>Hypericum perforatum</i>	3,8
Herik/Witte mosterd	<i>Sinapis</i> spp.	3,1*
Kaardebolfamilie	Dipsacaceae	3,1
Den	<i>Pinus</i> spp.	2,5
Knopherik/Radijs/ Bladramenas	<i>Raphanus</i> spp.	2,5*
Alsem	<i>Artemisia</i> spp.	2,5
Sneeuwbes	<i>Symphoricarpos</i> spp.	2,5
Lamsoor	<i>Limonium vulgare</i>	2,5
Inkarnaatklaver	<i>Trifolium incarnatum</i>	1,9
Overige		
Vlinderbloemigen	Fabaceae rest	1,9
Rhododendron	<i>Rhododendron</i> spp.	1,9
Echte kamille	<i>Matricaria recutita</i>	1,9
<i>Magnolia</i>	<i>Magnolia</i> spp.	1,9
Berberis	<i>Berberis</i> spp.	1,9
Jeneverbes	<i>Juniperus</i> spp.	1,3
Steenbreekfamilie	Saxifragaceae	1,3
Dophei, overig	<i>Erica</i> spp.	1,3
Nachtschadefamilie.	Solanaceae	1,3
Cypergrassenfamilie	Cyperaceae	1,3

Tabel 11, vervolg

Soort	Latijnse naam	Voorkomen in % van onderzochte honing monsters
Gele kornoelje	<i>Cornus mas</i>	1,3
Olijfwilg	<i>Elaeagnus</i> spp.	1,3
Hulst	<i>Ilex</i> spp.	1,3
Kamperfoelie	<i>Lonicera</i> spp.	1,3
Springzaad	<i>Impatiens</i> spp.	1,3
Vlambloem	<i>Phlox</i> spp.	1,3
Druif	<i>Vitis vinifera</i>	1,3
Ruit	<i>Thalictrum</i> spp.	0,6
Brem	<i>Cytisus</i> spp.	0,6
Echte karwij	<i>Carum carvi</i>	0,6
Bosbes	<i>Vaccinium</i> spp.	0,6
Gilia	<i>Gilia</i> spp.	0,6
Klit	<i>Arctium</i> spp.	0,6
Veldbies	<i>Luzula</i> spp.	0,6
Kogeldistel	<i>Echinops</i> spp.	0,6
Weigelia	<i>Weigelia</i> spp.	0,6
Vlas	<i>Linum usitatissimum</i>	0,6
Stinkende gouwe	<i>Chelidonium majus</i>	0,6
Ooievaarsbekfamilie	Geraniaceae	0,6
Hemelboom	<i>Ailanthus altissima</i>	0,6
Taxus	<i>Taxus baccata</i>	0,6
Populier	<i>Populus</i> spp.	0,6
Echte valeriaan	<i>Valeriana officinalis</i>	0,6
Walnoot	<i>Juglans regia</i>	0,6
Heidebrem	<i>Genista</i> spp.	0,6
Kardinaalsmuts	<i>Euonymus</i> spp.	0,6
Rood peperboompje	<i>Daphne mezereum</i>	0,6

\* Inmiddels is door de afnemende teelt van Koolzaad deze pollensoort aanzienlijk gedaald op de ranglijst. *Phacelia* en groenbemesters als Mosterd en Bladramenas worden tegenwoordig echter vaker aangetroffen.

Nederlandse voorjaarshoning (zie ook plaat 18)

De Keuringsdienst van Waren heeft sinds 1971 een systematisch onderzoek uitgevoerd naar honderden Nederlandse honingen, direct afkomstig van imkers (Kerkvliet en van der Putten 1980). In tabel 12 zijn de belangrijkste pollensoorten, die in 22 monsters gemengde voorjaarshoning gevonden werden, vermeld. Hiernaast werden in voorjaarshoningen nog aangetroffen: Robinia (*Robinia pseudoacacia*) en Vuurdoorn (*Pyracantha coccinea*). Deze pollensoorten lijken sterk op elkaar en zijn niet apart vermeld. Ook werden, in afnemende volgorde van frequentie, gevonden: Tamme kastanje (*Castanea sativa*), Zuring (*Rumex* spp.), Moerasspirea (*Filipendula ulmaria*), Linde (*Tilia* spp.), Heggenrank (*Bryonia dioica*), Veldhondstong (*Cynoglossum officinale*), Gewone paardenbloem (*Taraxacum officinale*), Blauwe druifhyacint (*Muscari odorata*), Anjerfamilie (Caryophyllaceae) en grassen (Poaceae). Hieronder zijn enkele zomerbloeiërs.

**Tabel 12**

Overzicht van in 22 Nederlandse voorjaarshoningen gevonden pollensoorten

Soort	Aantal monsters met	Pollenpercentage
Wilg	19	2-58
Prunus	15	2-36
Witte klaver	12	2-40
Kruisbloemenfamilie	11	2-58
Paardenkastanje	11	2-34
Tuinboon	9	2-38
Esdoorn	8	2-35
Fluitenkruid	8	1-6
Braam	8	2-75
Sporkehout	6	2-12
Rolklaver	5	1-80

Nederlandse zomerhoning (zie ook plaat 19)

Uit onderzoek van 55 monsters Nederlandse zomerhoning werden de volgende resultaten verkregen (tabel 13). Wel moet hierbij vermeld worden dat zomerhoning bij sommige imkers niet gescheiden wordt van de voorjaars-honing zodat tevens typische voorjaarsbloeiërs vertegenwoordigd zijn.

Naast de in de tabel vermelde soorten werden ook nog aangetroffen *Phacelia* (*Phacelia tanacetifolia*), *Esparcette* (*Onobrychis viciifolia*), *Wikke/Tuinboon* (*Vicia* spp.) *Slangenkruid* (*Echium vulgare*), *Vergeet-mij-nietje* (*Myosotis* spp.), *Alsem* (*Artemisia vulgaris*), *Look* (*Allium* spp.), *Viooltje* (*Viola* spp.), *Lipbloemenfamilie* (Lamiaceae), *Blauwe knoop* (*Succisa pratensis*), *Sneeuwbes* (*Symphoricarpos* spp.), *Struikspirea* (*Spiraea* spp.), *Asperge* (*Asparagus* spp.), *Kruisbloemenfamilie* (Groenbemesters; Herik, Witte mosterd, Bladramenas).

*Veldhondstong* (*Cynoglossum officinale*), *Wilde liguster* (*Ligustrum vulgare*) en *Heggenrank* (*Bryonia dioica*) worden vooral in het duingebied gevonden, *Korenbloem* (*Centaurea cyanus*) en *Tamme kastanje* (*Castanea sativa*) meer in het oosten en zuiden van Nederland.

Aan monoflorale honingsoorten worden vooral lindehoning, klaverhoning, phaceliahoning, distelhoning en boragehoning gewonnen. Incidenteel wordt honing van *Dophei* (*Erica tetralix*), *Rode bosbes* (*Vaccinium vitis-idaea*) en *Bosbes* (*Vaccinium corymbosum*) geoogst. In lamsoorhoning van Terschelling werden o.a. aangetroffen: *Lamsoor* (*Limonium vulgare*) tussen 8 en 56%, *Zandblauwtje* (*Jasione montana*), *Witte klaver* en *Hei*.

**Tabel 13**

Overzicht van in 55 Nederlandse zomerhoningën gevonden pollensoorten

Soort	Aantal monsters met	Pollenpercentage
Witte klaver	38	2- 50
Liguster	33	1- 74
Wilg	32	1- 60
Kruisbloemenfamilie	30	2- 69
Linde	27	2- 22
Prunus	23	1- 46
Braam	20	1- 19
Robinia	19	1- 23
Rolklaver	17	1- 47
Korenbloem	13	1- 15
Paardenkastanje	12	2- 10
Heggenrank	13	2- 18
Hondstong	12	3- 37
Honingklaver	8	1- 63
Sporkehout	15	1- 6
Tamme kastanje	9	2- 47

## De microscoop

De ontwikkeling van de microscoop is begonnen met de ontwikkeling van de kunst van het slijpen van glazen lenzen, waarschijnlijk in het Venetië van de veertiende eeuw.

Geslepen enkelvoudige lenzen werden gebruikt als vergrootglazen en brillen, soms met een dermate grote perfectie dat ze tot aanzienlijke vergroting in staat waren, zoals de Van Leeuwenhoek microscopen.

Toenemend gebruik en toenemende kennis van de lenzen leidden tot het combineren van enkelvoudige lenzen in telescopen enerzijds en microscopen (microscopen van Hooke) anderzijds.

Hoewel een enkelvoudige lens in staat kan zijn om een bacterie zichtbaar te maken is hiermee de uiterste grens wel bereikt. Het meest praktische vergrotingsbereik hiervan ligt zo rond de 10 maal.

De ontwikkeling van het combineren van lenzen in samengestelde (compound) microscopen maakte aanzienlijke hogere vergrotingen mogelijk. De normaal gebruikte vergroting van een tegenwoordige microscoop ligt tussen de 100 maal en 400 maal. Met gebruik van wat kunstgrepen (olie immersie) zijn vergrotingen tot 1500 x mogelijk, hierboven treden door de golflengte van het licht storingen op en kan geen scherp beeld meer verkregen worden. Met zichtbaar licht is het dus fysisch onmogelijk om groter te vergroten.

Iets anders wordt het als geen zichtbaar licht meer gebruikt wordt om een beeld te vormen, maar elektronen met een aanzienlijk kleinere golflengte. Het oplossend vermogen neemt spectaculair toe en scherpe beelden met hoge dieptescherpte zijn te verkrijgen. Preparaten voor de elektronenmicroscoop dienen echter ingewikkeld te worden voorbereid om ze elektronen te laten reflecteren. Vaak moeten ze worden voorzien van een uiterst dun laagje goud of koolstof in hoogvacuüm. Hierna worden ze geplaatst in de preparaatkamer waar ze worden gebombardeerd met elektronenbundels. Uiteindelijk wordt het beeld geprojecteerd op een beeldbuis. Elektronenmicroscopen zijn zeer groot, uiterst kostbaar en eigenlijk alleen maar beschikbaar voor professionele onderzoekers.

Voor het normale routine pollenonderzoek wordt de samengestelde microscoop gebruikt. Deze geeft voldoende vergroting om in een vrij plat vlak herkenbare beelden van pollenkorrels te vormen. Preparaten worden ingeklemd tussen twee glaasjes en het uiteindelijke beeldvlak waarop een scherp beeld wordt verkregen is vaak maar enkele micron dik. Het verkregen beeld is 'plat', twee dimensionaal maar kan met hoger en lager stellen van de lenzen gewisseld worden zodat toch een ruimtelijk inzicht wordt verkregen.

Om het beeld nog meer te verduidelijken worden in onderzoek vaak aanpassingen gebruikt: donkerveld, fase contrast, polarisatie en fluorescentiemicroscopen zijn alle variaties op de gewone optische samengestelde microscoop.

Soms moeten heel kleine preparaten worden voorbereid onder sterke vergroting. Hiertoe gebruikt men prepareermicroscopen, in vergelijking met de doorvallend lichtmicroscoop vrij zwak (tot ca 40x) vergrotende microscopen met werkruimte onder het objectief, een dubbel oculair zodat diepte te zien is en een ruime scherptediepte waarbij het beeld niet wordt omgedraaid.

Deze zogenaamde stereomicroscopen zijn ideaal om b.v. met naalden meeldraden uit elkaar te peuteren voor een pollenpreparaat. Ze hebben wel meerdere lenzen, maar vergroten niet zo sterk als de doorvallend licht microscopen. Praktisch gezien zijn het dus superloepen. Hoewel de voorbereiding van een preparaat vaak onder een prepareermicroscoop plaatsvindt, worden bij microscopie toch meestal variaties op samengesteld licht microscopen gebruikt, hiernaast voor het professionelere werk ook vaak elektronenmicroscopen.

Elektronenmicroscopen:

Letterlijk betekent microscoop "klein kijker". Strikt genomen vallen elektronenmicroscopen hier ook onder. Ze werken echter volgens een geheel ander principe dan de klassieke microscoop.

Bij elektronenmicroscopie worden bundels elektronen afgevuurd op een voorbereid oppervlak. De bundels worden met elektrische velden gemanipuleerd die vergelijkbare effecten hebben als lenzen op licht. Hierna kunnen de weerkaatste bundels op een beeldscherm zichtbaar worden gemaakt (vgl. televisiebuizen).

Elektronenmicroscopen zijn kostbaar, groot en vergen specialisten om ermee om te kunnen gaan. Te bekijken preparaten dienen met een laagje goud of koolstof te worden bedekt en de uiteindelijke beelden zijn alle zwart-wit. De mogelijke vergrotingen zijn echter aanmerkelijk hoger en de beeldkwaliteit is aanmerkelijk beter dan bij lichtmicroscopen. Een voorbeeld van foto's met de elektronenmicroscoop is te vinden in figuur 3 en 5.

Op het doorvallend lichtmicroscoop is een aantal variaties bedacht die elk hun eigen toepassingen hebben.

Fase contrast microscopen maken gebruik van het faseverschil van een lichtstraal na het passeren van een object. Dit maakt structuren zichtbaar die normaal niet van het omringende medium te scheiden zouden zijn.

Polarisatiemicroscopie maakt gebruik van een lichtbron met gepolariseerd licht (stralen met één trillingsrichting). Een dun object dat ook polariseert geeft karakteristiek oplichtende beelden. Deze techniek wordt veel in de geologie toegepast, ook bij honingonderzoek (zie appendix voor het maken van een polarisatiefilter).



Fluorescentiemicroscopen hebben een lichtbron met ultraviolet licht. Voorbewerkte preparaten met gebonden fluorescerende stoffen lichten onder deze microscoop op.

Bij donkerveld microscopen komt het licht niet recht door het preparaat maar schuin van onder of opzij. Hierdoor worden de stralen anders gebogen en weerkaatst en komen bepaalde structuren veel duidelijker tot hun recht.

### *De lichtmicroscoop: beschrijving*

Iedere lichtmicroscoop is onder te verdelen in drie gedeelten:

- het mechanische gedeelte
- het optische gedeelte
- de verlichting
  
- Mechanisch

Het mechanische gedeelte van de microscoop bestaat uit de objecttafel waarop preparaten worden geplaatst. Deze is in het eenvoudigste geval voorzien van twee preparaatklemmen, maar heeft meestal een kruistafel met nonius die het verschuiven van preparaten in twee oriëntatierichtingen mogelijk maakt.

Verder een objectieffrevolver waarop verscheidene lenzen, de objectieven, zijn aangebracht. Ieder objectief heeft een andere vergroting en is door draaien van de revolver te verwisselen.

De dunne buis waarvoor het gebruikte objectief staat heet de tubus. Bovenaan bevindt zich de lens waar we in eerste instantie door kijken, de ooglenzen of het oculair. Het gedeelte met oculair, tubus en objectief vormt een gefixeerde optische eenheid die boven het preparaat staat.

Om nu het preparaat scherp in beeld te krijgen moeten we de afstand tussen deze optische eenheid en het preparaat veranderen. Dit gebeurt door een stelschroef aan de tubus. Voor grof bijstellen bij lagere vergrotingen is er een normale stelschroef, voor fijner bijregelen bij hogere vergrotingen, de fijnstelschroef.

Draait u de bovenzijde van de stelschroef naar u toe, dan gaat de tubus omhoog. Draait u deze van u af, dan gaat deze omlaag. Bij sommige microscopen beweegt i.p.v. de tubus de objecttafel omlaag resp. omhoog, het effect is uiteraard hetzelfde. Voor fijnstellen werkt de fijnstelschroef op dezelfde wijze.

## - Optisch

Het optische gedeelte bestaat in principe uit de twee genoemde lenzen; oculair en objectief, aan weerszijden van de tubus. Hun onderlinge afstand ligt vast, alleen als geheel kunnen ze versteld worden.

Soms is door prisma's het bovenste gedeelte van de optiek verdeeld in twee lenzen. Zodoende zijn er dan twee identieke oculairen; voor ieder oog een. We spreken dan van een binoculaire microscoop. Werken hiermee is rustgevender voor de ogen.

Oculairen zijn te verwisselen door uitnemen en vervangen. De meest gangbare vergrotingen zijn 10 x en 15 x. Ook bestaan er oculairen die een ruitpatroon of strepen (liniaaltje) op het preparaat projecteren. Bij uitnemen van een oculair altijd een afdekdopje op de tubus plaatsen vanwege stof.

In de objectieffrevolver zitten als meest gangbare waarden 4x, 10x, 40x, en 100x (soms iets hoger).

De totale vergroting van het beeld is te verkrijgen door de objectiefwaarde te vermenigvuldigen met de oculairwaarde. Meestal dus 40x, 100x, 400x en 1000x.

Bij een oculair van 10x en een objectief van 100x, een totale vergroting dus van 1000 x, worden wel heel hoge eisen gesteld aan de lenzen. Hierbij is de vergroting zo sterk dat de grens van het mogelijke bereikt wordt en ook de lichteigenschappen voor beeldervaging en vertekeningen kunnen zorgen. Ook de breking door de lucht en zelfs de dikte van het dekglaasje kunnen hierbij een rol spelen. Invloed van effect van het laagje lucht tussen objectief en dekglas wordt weggewerkt door een speciaal soort olie dat het licht net zo verbuigt als het glas (gelijke brekingsindex heeft). Deze olie heet immersie olie. Een lens van 100x is dan ook een olie immersie lens en moet altijd gebruikt worden met immersie olie.

## - Verlichting

De verlichting van de microscoop is in zijn eenvoudigste vorm een spiegel met een holle zijde en een rechte zijde. Deze dient om van buiten komende lichtstralen (zonlicht of lamplicht) evenwijdig door het preparaat te laten vallen. Belangrijk hierbij is of de invallende lichtstralen evenwijdig zijn (zon) of divergeren, uit elkaar wijken, met als oorsprong een puntlichtbron. Het recht dan wel hol zijn van de spiegel kan zorgen dat de uitvallende stralen toch weer evenwijdig zijn.

De hoeveelheid licht kan onder meer worden geregeld door middel van een diafragma, een bijstelbare ronde opening. Er is soms een velddiafragma aanwezig, meestal in de voet van de microscoop boven de lamp. Er is altijd een irisdiafragma aanwezig onder de preparaattafel.

Een condensor is een zich onder het preparaat bevindende lens die de invallende stralen concentreert en evenwijdig laat uittreden, recht onder het preparaat.

De totale lichthoeveelheid kan vaak worden geregeld door het bijstellen van de lampsterkte of veranderen van de irisdiafragma opening.

Een uitwendige condensor met lamp is ook mogelijk, deze gaat dan via de vlakke spiegel, dit is de Köhler verlichting.

Naast het regelen van de totaal door het preparaat vallende hoeveelheid licht vermindert het velddiafragma ook buiten het beeldvlak vallend licht dat als "strooilicht" de beeldkwaliteit kan beïnvloeden.

Nadelen van de samengestelde microscopen zijn het omkeren van de stralen, de geringe scherptediepte en de kleine afstand tussen preparaat en objectief.

#### **- Het preparaat**

Om een object onder een doorvallend licht microscoop te kunnen bekijken moet het hiervoor eerst geschikt gemaakt worden.

- Het moet doorzichtig, klein en/of plat zijn. Soms dient het in zeer dunne plakjes te worden gesneden.

- Het moet in een insluitmiddel zitten (lucht verstoort de breking van het licht), er zijn permanente en tijdelijke insluitmiddelen. Een voorbeeld van een tijdelijk insluitmiddel is b.v. water. Na bekijken verdampt dit en is het preparaat niet meer bruikbaar. Een voorbeeld van een permanent preparaat is canadabalsem. Dit heeft een met glas vergelijkbare brekingsindex en na voorbewerking (ontwateren, kleuren) hierin ingesloten preparaten zijn tientallen jaren na dato nog bruikbaar. Glycerinegelatine dat voor pollen wordt gebruikt geeft insluitingen die mits goed behandeld verschillende jaren kunnen meegaan. Glycerinegelatine is een semi-permanent insluitmiddel.

Structuren van preparaten zijn niet altijd duidelijk en worden soms verhuld door versturende stoffen in- of op het preparaat. Om de structuren dan zichtbaar te maken dient het object te worden gereinigd (b.v. ontvet of ontkleurd) waarna met specifieke kleurstoffen die zich hechten aan bijvoorbeeld zure of basische verbindingen in het object, zowel bepaalde onderdelen kunnen worden gekleurd als het contrast van het beeld kan worden verbeterd.

Pollenkorrels worden meestal ontvet met een druppel oplosmiddel (aceton, ether, chloroform) waarna ze worden ingesloten in glycerinegelatine met kleurstof. De meest gebruikte kleurstof is basisch fuchsine. Meestal zijn

gekleurde pollenpreparaten daarom roze-achtig. Kleuring met andere stoffen is echter ook mogelijk, zo geeft methylgroen als kleurstof de kleur groen.

Het object wordt op een glaasje, het objectglas, gebracht om het makkelijk hanteerbaar te houden en om het licht te kunnen laten doervallen. Boven op het object en insluitmiddel komt een flinterdun glaasje om het geheel vlak te houden, uitdrogen of vervuilen van het preparaat tegen te gaan en werken met olie immersie mogelijk te maken. Omdat de lichtbundels na door het preparaat te zijn gepasseerd door dit dekglasje heen vallen is dikte en brekingsindex hiervan belangrijk. Deze staan meestal op de verpakking aangegeven. Bij het objectglas telt dit minder.

Standaardmaten voor objectglasjes zijn rechthoekig 76 bij 26 mm. Zo passen ze alle in preparaat verzamel dozen. Dekglasjes zijn vrijwel altijd vierkant of rond met zijden of diameter kleiner dan de breedte van het objectglas, 18x18 mm of 22x22 mm zijn veelgebruikte maten.

### ***Microscopische technieken***

Bij het bestuderen van pollenkorrels worden een aantal microscopische technieken gebruikt. Deze worden hier besproken.

#### **- 1 Olie immersie**

Bij zeer sterke vergrotingen verstoort de dunne luchtlaag tussen dekglas en preparaatglas de breking van het doervallende licht. Vervangen van deze luchtlaag door een laagje olie van dezelfde brekingsindex als het glas ondervangt dit probleem.

Bij het werken met immersie olie (1000 x vergroting) handelt u als volgt:

- Leg het preparaat ter bestudering op de objecttafel van de microscoop en zoek het te vergroten gedeelte op bij de laagste vergroting (overzichts objectief).
- Draai steeds een sterker objectief voor en stel het preparaat zo bij dat het te bestuderen gedeelte centraal in het beeld valt.
- Bij de op een na hoogste vergroting (10 x 40) brengt u ofwel een druppeltje immersie olie aan op het 100x objectief, of u legt een druppel immersieolie op het dekglas. Hierna draait u deze 100x lens voor (de druppel olie moet contact maken met het dekglas). Vervolgens stelt u met de fijnstelschroef het object scherp. Dit is de 1000x vergroting.

#### **- 2 Optische coupe**

De meeste onder de microscoop te bestuderen preparaten zijn doorzichtig. Door de geringe scherptediepte kan geen volledig beeld worden verkregen en ziet u alles maar scherp in een smal beeldvlak.

U kunt de hoogte van de lens echter wel telkens iets hoger of lager stellen en zo een indruk van alle aan elkaar geplaatste beeldvakken krijgen. Het principe is vergelijkbaar met een krentenbrood door een snijmachine halen en zo een indruk krijgen van de plaatsing van spijs en krenten. Een doorsnede van een

bestudeerd onderwerp is zo'n plakje ter dikte van de scherptediepte en heet een optische coupe.

### - 3 L.O. analyse

L.O. analyse is in de palynologie een belangrijk hulpmiddel bij het bestuderen van oppervlaktestructuren.

Het maakt gebruik van optische secties bij zeer sterke vergrotingen waarbij de scherptediepte en de breking van het licht alleen te vertalen zijn in donker en lichte vlekken.

De structuren zelf en het optreden van lichte en donkere vlekken en patronen op een bepaalde doorsnede van het oppervlak van een pollenkorrel (hoogte) dienen "gelezen" te worden. Dit vergt enige ervaring en vergelijking met bekende oppervlaktestructuren.

De term L.O. komt trouwens van Lux/Obscuritas, dit is Latijn voor licht/donker. Voorbeelden van verschillende microscoopbeelden op het oppervlak van een pollenkorrel worden gegeven in plaat 1t/m17.

### - 4 Kalibreren van een oculairmicrometer

Een lens met een vergroting van 10 x of van 40 x geeft slecht een indicatie van de vergroting. Het is geen precieze maat. Het beeld van de microscoop is dan ongeveer 10 x vergroot of ongeveer 40 x. Als werkelijke, exacte maten gaan tellen wordt het belangrijk te weten wat de precieze vergroting is. Met een meetlat in het oculair zijn streepjes te tellen die over het preparaat te zien zijn (hiervoor is een speciaal meetoculair noodzakelijk). Zo'n meetoculair moet worden geijkt met een objectmicrometer; een preparaat van exact een bepaalde lengte die wordt opgemeten door de combinatie van objectieven en meetoculair. Hierna is de afwijking terug te berekenen. Ook een preparaat van het pollen van de hazelaar (*Corylus avellana*) kan gebruikt worden: de pollenkorrels zijn 25 micrometer groot. Als de afmetingen van een pollenkorrel belangrijk zijn kan met de oculairmicrometer de maat worden bepaald waarna de werkelijke maat kan worden terugberekend.

### - 5 Werken met de kruistafel

Iedere moderne microscoop is voorzien van een kruistafel met millimeterverdeling. De kruistafel zorgt ervoor dat het preparaat onder het objectief kan worden verschoven. Zowel in horizontale als in verticale richting, langs de millimeterstrepen. Hierdoor wordt het preparaat dus min of meer voorzien van coördinaten, vergelijkbaar met die van een landkaart. Een pollenkorrel bevindt zich dus bijvoorbeeld op 4 mm horizontaal en 7 mm verticaal. Bij een blijvend pre-paraat kan in hetzelfde preparaat dezelfde pollenkorrel weer exact op deze coördinaten worden teruggevonden.

Ook maakt de kruistafel het systematisch doorzoeken van het preparaat mogelijk, het objectglas kan in regelmatige banen doorzocht worden.

Omdat de millimeterindeling nog vrij grof is, is een kruistafel ook nog voorzien van een nonius.

#### - 6 Nonius

Het principe van de nonius is terug te vinden op een normale schuifmaat. Naast de normale millimeterindeling bevindt zich nog een afstand van 9 mm die is onderverdeeld in tien regelmatige afstanden van elk 0,9 mm. Hierdoor is het mogelijk om met een relatief grove indeling de nauwkeurigheid van het raster van de kruistafel met de factor 10 te vermeerderen. Iedere afstand op de nonius komt dus eigenlijk 0,1 mm te kort. Eerst worden de hele millimeters afgelezen. Ga als volgt te werk om tienden van millimeters af te lezen. Kijk welk streepje van de nonius samenvalt met een millimeterstreepje. Dit streepje op de nonius geeft dan de tienden van millimeters aan. Bijvoorbeeld als het middelste streepje van de nonius samenvalt met een millimeterstreepje, wordt ,5 toegevoegd aan de eerder afgelezen millimeters. Vooral bij de hogere vergrotingen is een normale millimeterindeling te grof en is de nonius een uitkomst.

Nog een paar praktische tips bij het microscoperen

- Zorg voor een goede werkhouding.
- Breng (indien aanwezig) de condensor zo dicht mogelijk onder het objectglas zonder het te raken (dit om strooilicht te voorkomen).
- Stel het velddiafragma zo in dat de lichtbundel juist het gezichtsveld omvat.
- Werk van een lage vergroting naar een hogere.
- Speel met de stelschroef, d.w.z. zorg dat van het bestudeerde object verschillende hoogtes worden bekeken.
- Maak zoveel mogelijk aantekeningen en notities, vertrouw niet op uw geheugen.
- Berg preparaten goed gelabeld en systematisch op.