

# Praktische stuifmeelanalyse van honing en pollenklompjes

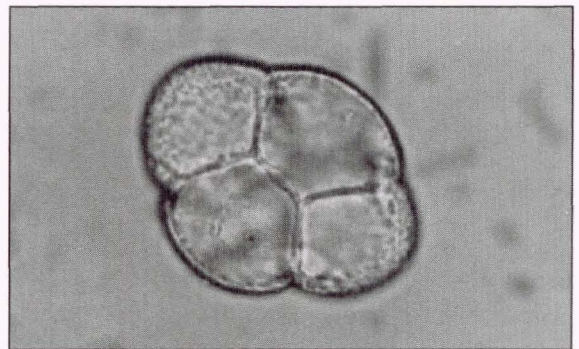
door J.D. Kerkvliet, *Inspectie Gezondheidsbescherming Keuringsdienst van Waren, Amsterdam*

**Stuifmeelanalyse van honing kan een antwoord geven op de vraag van welke bloemen de bijen nektar hebben gehaald om de honing te produceren. Als een bij een bloem bezoekt komt zij meestal eerst langs de helmknopjes waarop het stuifmeel zich bevindt. Iets van dat stuifmeel valt of wordt meegesleept in de nektar en komt zo tenslotte in de honing terecht. Men noemt dit wel de primaire inbreng van pollen. Storende factoren kunnen zijn pollen van windbloeiërs die in het haarkleed van de bijen zitten en zo in honing belanden (secundaire inbreng) of pollen die door toedoen van de imker (tertiaire inbreng) in honing terecht komen. In het laatste geval moet men denken aan het vroeger gangbare uitpersen van de raten met heidehoning waardoor ook bijenbrood in de honing terecht kon komen.**

## Bouw van de stuifmeelkorrel

Stuifmeel (pollen) is de term voor de mannelijke sporen van bedekt- en naaktzadige planten. Zowel de afmeting, de vorm en de structuur van de stuifmeelkorrel (het pollen) vormen specifieke kenmerken waardoor het pollen microscopisch te determineren is. Per plantenfamilie is er veelal overeenkomst in bouw waar te nemen en vaak ook binnen de geslachten. De afmetingen van de pollenkorrel variëren: de diameter bedraagt, afhankelijk van de soort, meestal 20 - 40 micrometer (1 micrometer = 0,001 mm). Uitschieters zijn bijvoorbeeld pollen van het vergeet-me-nietje (8 micrometer) en van maïs en sierpompoe (100 resp. 200 micrometer). De vorm van de pollenkorrel kan, ook weer afhankelijk van de soort, rond, ovaal, drie-hoekig of zeskantig zijn. Vooral de structuur van het oppervlak en de openingen daarin vormen een belangrijk identificatie gegeven. Een stuifmeelkorrel is opgebouwd uit een harde buitenwand, de exine. Onder deze exine bevindt zich de intine, een dun huidje dat de inhoud van de korrel omgeeft. De exine is voorzien van openingen, althans van plaatsen waar de wand dunner is. Tijdens de kieming van het pollen groeit door deze openingen de pollenbuis. Veel pollensoorten hebben drie van die openingen, maar

andere aantallen komen ook voor. Deze openingen kunnen rond zijn of de vorm van spleten (lengtegroeven of vouwen) bezitten. Daarnaast heeft het oppervlak van de pollenkorrel (exine) een kenmerkende structuur. Enkele voorbeelden: de familie van de kruisbloemigen bezit pollen met een fijn netwerk over het oppervlak en drie kiemspleten.



Pollen van Heide (*Calluna vulgaris*) 750 x

Pollen van veel Compositieten bezitten stekels en drie kiemspleten (zie foto op omslag), terwijl in de familie van de lipbloemigen het pollen meestal 6 kiemspleten bezit met vaak zeskantige pollen.

## Praktische uitvoering van de stuifmeel analyse

Vaak wordt gevraagd naar de praktische uitvoering van de analyse. Bij die uitvoering zijn vier onderdelen te onderscheiden: isolatie van het stuifmeel uit de honing, het maken van een preparaat voor microscopisch onderzoek, het microscopisch identificeren en tenslotte de interpretatie van wat men ziet naar de honingsoort.

### Isolatie van stuifmeel uit honing

Het rechtstreeks bekijken van pollen uit honing onder een microscoop is niet mogelijk aangezien honing te weinig stuifmeel bevat. Er zijn twee methoden om het stuifmeel uit honing te isoleren.

**Methode 1** werkt met een laboratoriumcentrifuge en gaat als volgt: los 10 g honing op in 20 ml gedemineriseerd water, breng de oplossing over in een centrifugebuis van ca 40 ml en centrifugeer gedurende 10 minuten in een laboratoriumcentrifuge bij ongeveer

2000 omwentelingen per minuut. Giet daarna de oplossing weg, voeg aan het residu 10 ml gedemineraliseerd water en centrifugeer weer op dezelfde manier. Giet daarna de oplossing weg en neem het residu op in een zeer kleine hoeveelheid water.

**Methode 2** is voor de imker goed uitvoerbaar; het is de bezinkmethode. Deze methode is uitgebreid gedemonstreerd tijdens de Open Dag van de VBBN op 26 oktober j.l. in Wageningen in de stand Stuifmeelonderzoek van Fieke Bos en ondergetekende. Deze methode werkt als volgt:

Los ongeveer 20 g honing (= een afgestreken eetlepel) op in 80 ml water en laat de oplossing 12 uur staan in een trechtvormig toelopend wijnglas of champagneglas. Het stuifmeel zakt naar de bodem. Overigens bezitten sommige honingsoorten zo weinig stuifmeel dat met het oog nauwelijks een residu op de bodem van het glas te zien is - dus niet ontmoedigd raken. Zuig de honingoplossing na die 12 uur voorzichtig weg, bijvoorbeeld met een hevel zoals een slangetje of een gebogen rietje, of met een plastic doseerspuit. Zuig het laatste deel van de oplossing zeer voorzichtig weg bijvoorbeeld met een pasteurpipet. Zorg er in ieder geval voor dat het al of niet zichtbare residu niet opwerfelt. Voeg daarna ongeveer 30 ml water toe aan het residu en meng met het residu. Laat het geheel minimaal 2, maar bij voorkeur 8 tot 12 uur staan. Zuig het water daarna weer op de bovenbeschreven voorzichtige wijze weg tot ongeveer 1 druppeltje overblijft.

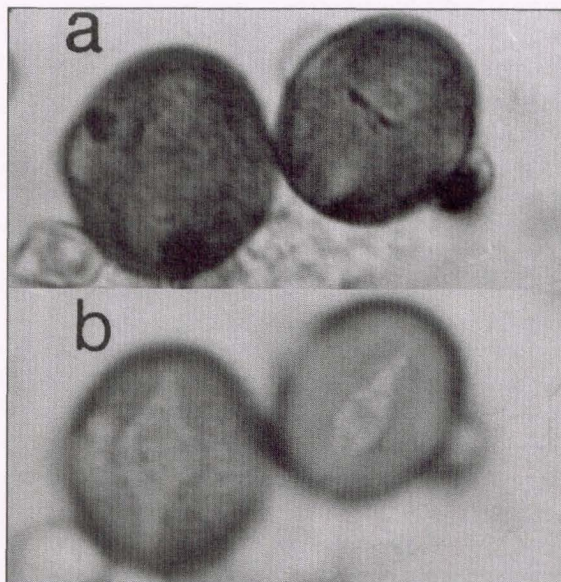
### Maken van een preparaat

Breng met een pipet een druppeltje van het via methode 1 of 2 verkregen water-stuifmeelmengsel op de linkerkant van een z.g. voorwerpglasje voor microscopisch onderzoek en even daarnaast, in het midden een tweede druppeltje. Laat het geheel drogen bij kamertemperatuur of op de CV radiator bij maximaal 40°C. Plak eventueel rechts een klein etiketje met gegevens over de honing. Voeg aan het gedroogde stuifmeel links op het glaasje een druppeltje warmgemaakte glycerol-gelatine volgens Kaiser toe en breng direct daarna een dekglasje aan. Dit reagens is een glycerine-water mengsel met conserveermiddel waarvan bovendien gelatine is toegevoegd, zodat het bij kamertemperatuur vast is, maar bij 40°C vloeibaar. Het verdient aanbeveling een gedeelte van deze oplossing over te schenken in een druppelflesje van 10 ml met bijbehorende druppelpipet (verkrijgbaar bij een apo-

theek). Deze kleine hoeveelheid wordt dan telkens voor gebruik opgewarmd. Dit opwarmen gebeurt door het goed gesloten flesje in een pannetje heet water (ca 70°C) te zetten; na ±5 minuten is het vloeibaar. Soms zijn de kiemporiën en kiemspleten van de pollen beter te zien door aan glycerol-gelatine (zeer weinig) kleurstof (fuchsine) toe te voegen; neem voor de bereiding van dit reagens even contact op met de Keuringsdienst in Amsterdam. Eventueel wordt een druppel gekleurde glycerol-gelatine toegevoegd aan het stuifmeel op het middengedeelte van het voorwerpglasje. Een zo vervaardigd preparaat is jaren houdbaar.

### Microscopische identificatie

Bekijk het preparaat bij een vergroting van in totaal 400 x (bijvoorbeeld 40 x objectief en 10 x oculair). Aangezien zeer kleine cellen bekeken worden is een goede microscoop met ingebouwde verlichting noodzakelijk. De pollen worden op twee manieren bekeken. Ten eerste door scherp te stellen op de buitenomtrek van het pollen en ten tweede door scherp te stellen op de bovenzijde van het pollen. In het laatste geval komt de vorm van de kiemspleten en kiemporiën vaak beter tot uitdrukking.



Pollen van Klaver (*Trifolium repens*), scherpgesteld op de buitenomtrek (a) en op de bovenzijde (b). 1125 x vergroot.

Let er bovendien op dat de pollen niet altijd zo liggen als op de afbeeldingen in de boeken. Als we de vorm van de pollen vergelijken met onze aardbol liggen sommige pollen zo in beeld dat we naar de evenaar kijken, andere pollen liggen zo, dat we naar de Noord-

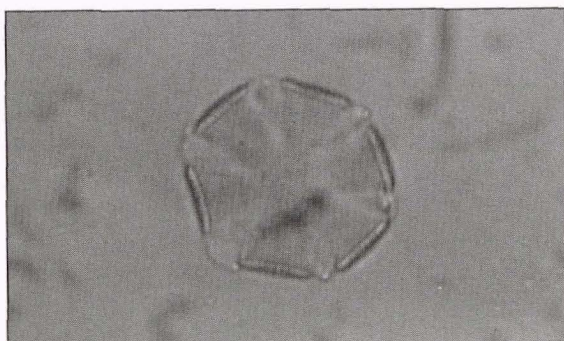
of Zuidpool kijken.

Let dus vooral op de vorm van het stuifmeel, de grootte van het stuifmeel en de structuur van het oppervlak met de vorm en het aantal kiemopeningen (spletten en poriën). De grootte van de diverse stuifmeelkorrels kan ingeschat worden door te vergelijken met het stuifmeel van koolzaad: de diameter van koolzaadpollen bedraagt 27 micrometer. Indien u enthousiast bent kunt u proberen om ca 100 pollen in het zo gemaakte preparaat te tellen en tevens te benoemen. Voor koolzaadhoning (aanbevolen voor beginners) zal dit geen problemen opleveren, evenmin als voor een (gekocht) potje klaverhoning. Sommige pollen zullen wat moeilijker te benoemen zijn, maar er zijn tegenwoordig redelijk goede pollenatlassen te koop. Bovendien kunt u zelf van bijenplanten uit de omgeving een vergelijkingspollenverzameling aanleggen; zie hieronder.

## Interpretatie

Indien u wilt weten of u werkelijk met heide-, linde- of klaverhoning te maken hebt dan zijn er een aantal regeltjes. In het algemeen geldt voor een soortbenaming van honing dat van iedere 100 pollen uit die honing er minstens 45 van de betreffende plantensoort afkomstig moeten zijn. Hier zijn uitzonderingen op: acacia (*Robinia pseudoacacia*) en linde minimaal 20, tijm minimaal 30, tamme kastanje minimaal 90. Echter bij bovengenoemde telling worden de pollen van windbloeiërs zoals grassen, zuring, papaver en gedeeltelijk ook tamme kastanje niet meegeteld; zij dragen niet bij aan de nektar. Bovenstaande 45% regel mag echter alleen toegepast worden als de honing per 10 gram tussen 20.000 en 100.000 pollen bevat. Dit is voor leken wat lastig vast te stellen; het komt er op neer dat er redelijk wat pollen in het preparaat moeten liggen en niet na veel zoeken een enkele. Ook mag het beeldveld niet bezaaid zijn met niets anders dan pollen, m.a.w. het beeldveld mag ook niet te vol zijn.

Pollen van Thijm (*Thymus sp.*), 750 x vergroot



## Vergelijkingsmateriaal

Er zijn de laatste jaren een aantal goede boeken verschenen waarin afbeeldingen staan van stuifmeelkorrels. Drie boeken en een artikelenserie zijn hieronder vermeld.

Een andere uitstekende methode om vertrouwd te raken met de pollenanalyse is het aanleggen van een vergelijkingsverzameling van stuifmeel van drachtplanten uit uw omgeving. Dit gaat als volgt: pluk een aantal bloemen met steeltje en zet deze ongeveer drie dagen binnenshuis in een vaasje met water. Op deze manier geven de meeste bloemen grote hoeveelheden stuifmeel. Breng wat van dit stuifmeel op een voorwerpglasje en voeg om de stuifmeelkorrels te ontvetten één druppel ether of benzine toe. Pas op, want zowel ether als benzine zijn **zeer brandbaar**. Voeg, als de ether of benzine verdampt zijn, een druppel opgesmolten glycerol-gelatine toe zoals onder 2. beschreven en daarna een dekglasje. Een dergelijk preparaatje is ca 5 jaar houdbaar.

## Stuifmeelanalyse van pollenklompjes

De uitvoering hiervan is eenvoudiger daar geen isolatie van pollen als onder 1. beschreven nodig is. Breng heel weinig stuifmeel op twee plaatsen op een voorwerpglasje zoals onder 2 beschreven en voeg aan beide hoeveelheden stuifmeel een druppel water toe om de suikers op te lossen. Laat het geheel drogen bij kamertemperatuur of op de CV radiator bij maximaal 40°C en ga verder volgens 2.

## Tenslotte

Veel succes bij de pollenanalyses; indien u er ondanks al deze raadgevingen niet uitkomt kunt u altijd de auteur even bellen. Hij is bereikbaar via de Keuringsdienst in Amsterdam.

## A practical approach of the analysis of pollen in honey and pollen loads (English summary)

The pollen grains present in honey might give us information about the flowers visited by the bees. In this report the macroscopical structure of pollen grains is discussed from the perspective of honey identification. Two procedures for the isolation of pollen grains from honey samples are provided: (1) in this procedure pollen grains are sedimented by centrifugation of a diluted honey sample (10 gr honey/20 ml water, 2000 rpm during 10 min). (2) In the second procedure pollen grains are collected at the bottom of a wine glass during a sedimentation period of 12 hours of a diluted honey solution (20gr/ 80 ml water).

## Bijenpaviljoen op Floriade in 1992

door Leon Gütz

Van 15 april tot en met 11 oktober 1992 wordt te Zoetermeer de 10-jaarlijkse Wereldtuinbouw-tentoonstelling Floriade gehouden. Hoewel de tentoonstelling zich in eerste instantie op het tuinbouwbedrijfsleven in binnen- en buitenland richt, wordt ook deze keer de geïnteresseerde buitenstaander niet vergeten. Naast de zakelijke inzendingen zijn daarvoor op het terrein speciale gedeelten ingeruimd met als thema's ondermeer 'milieu', 'consument', 'recreatie' en 'de toekomst'.

Op een dergelijk grootschalig 'natuurevenement' (men verwacht circa 3 miljoen bezoekers) mogen de bijen uiteraard niet ontbreken. Op het professionele vlak verzorgt de Ambrosiushoeve een inzending, waarbij de nadruk zal liggen op de bedrijfskundige aspecten van de honingbij, zoals het nut en de noodzaak van de bijen voor de bestuiving. De hobbyistische kant van de zaak is volledig toebedeeld aan de oprechte amateurs. Al in het voorjaar van 1989 is de werkgroep

"Bijenpaviljoen Floriade 1992" ontstaan. Deze groep bestaat uit een aantal enthousiaste imkers van de diverse subverenigingen van de VBBN uit de regio. In de afgelopen drie jaar is de werkgroep op diverse fronten actief geweest, met als resultaat dat de inzending voor de Floriade vaste vorm begint te krijgen. Deze inzending heeft een plaats gekregen binnen het thema "recreatie". Dit past goed in de doelstelling van de werkgroep: zich richten op het grote publiek. Via de inzending willen wij trachten iets van het enthousiasme over te dragen van dat wat ons zo boeit in het leven van de honingbij.

Op verschillende plaatsen op het buitenterrein komen de bijen aan de orde. Zo zullen er diverse (historische) korven en kasten worden opgesteld, passend bij de betreffende periode. Verder zal ook een gedeelte van de voorlichting aan het publiek in de openlucht plaatsvinden, via tentoonstellingspanelen met daarop wederwaardigheden over bijen en het bijenleven. Uiteraard ontbreken levende bijen niet. In het paviljoen is via een ingenieuze constructie voorzien in een tweetal observatievitines, waarbinnen complete bijenkasten worden geplaatst.

Het is de bedoeling dat de bijen-inzending, tijdens de openingsuren van de Floriade zal worden bemenst. In eerste instantie voor het geven van eenvoudige voorlichting aan het publiek en het toezien op de tentoonstelling. Daarnaast zullen er ook speciale 'evenementen' zijn, zoals demonstraties honingslingeren, het behandelen van volken, korfvlechten, het maken van kaarsen e.d.

In het afgelopen najaar heeft de werkgroep via diverse kanalen imkers benaderd om zich aan te melden als vrijwilliger. Voor diegenen die de werving tot nu toe hebben gemist nog even in het kort de belangrijkste kenmerken: deelnemers hebben gratis toegang tot de Floriade op de dag van hun "dienst", zijn vrijwilliger en ontvangen dus geen vergoeding. Daarnaast is enthousiasme voor bijen belangrijker dan grootste theoretische kennis, daar de voorlichting zich in eerste instantie richt op leken. De werving van vrijwilligers is zeer succesvol verlopen en de bemensing van het paviljoen is grotendeels rond. Momenteel is er nog met name behoefte aan enkele reserves die in geval van nood op relatief korte termijn oproepbaar zijn. Wilt u meedoen en heeft u zich nog niet aangemeld, doe dit dan zo spoedig mogelijk via een schriftelijke reactie aan: Werkgroep Bijenpaviljoen Floriade, Van Wijngaardenstraat 55, 2722 CN Zoetermeer. Tot ziens in het bijenpaviljoen op de Floriade 1992!

(vervolg van pagina 65; continuation from page 65)

The thus prepared samples of pollen grains can be studied by a light microscope. For this the samples are mounted on microscopical slides in Kaisers glycerol-gelatin. For the identification several books are recommended.

### Literatuur

- Rex Sawyer, Pollen Identification for Beekeepers. University College Cardiff Press, P.O Box 78 Cardiff, CF 1 XL U.K. 1981. Engelstalig boek, bevat 254 foto's van pollen. Prijs ca f 40,-. Bedoeld voor Engelse honing maar ook van toepassing op Nederlandse honing. Naar mijn idee is het bijgevoegde kaart-systeem voor pollenidentificatie niet goed bruikbaar. ISBN 0-90-6449-29-4
- Rex Sawyer, Honey Identification. Cardiff Academic Press, Cardiff 1988. Engelstalig boek met 125 foto's van pollen van handelshoningsorten uit de hele wereld. Prijs ca f 80,-. ISBN 1-871254-00-0.
- G. Ricciardelli d'Albore en L. Persano Oddo, Flora Apistica Italiana. Uitgegeven door G. Ricciardelli d'Albore, Istituto di Entomologia Agraria, Università degli Studi, Borgo XX Giugno, 06100 Perugia, Italia. Geschreven in het Italiaans met 300 foto's van pollen van de Italiaanse bijenflora; ook geschikt voor Nederlandse honing. De plantennamen zijn in het Latijn vermeld en de foto's bezitten allen dezelfde vergroting van 500 x. Het boek moet u zelf per (Engelse of Duitse) brief aanvragen op het vermelde adres. Prijs ca f 40,-.
- J.D. Kerkvliet en A.P.J. van der Putten. Stuifmeelanalyse van Nederlandse honing. - Artikelenserie uit het Maandschrift voor de Bijenteelt, jaargang 1980 pag. 68, 69, 90, 91, 112, 113, 142, 143, 166, 167, 190 en 191.