

**INTERNATIONALE KOMMISSION FÜR BIENENBOTANIK
DER I. U. B. S.
METHODIK DER MELISSOPALYNOLOGIE**

J. LOUVEAUX, Anna MAURIZIO und G. VORWOHL

Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91 – Bures-sur-Yvette (France)
Institut national de la Recherche agronomique

3097 Liebefeld, Rosenweg 9 (Schweiz)

Landesanstalt für Bienenkunde, 7 Stuttgart-Hohenheim (Bundesrepublik Deutschland)

EINLEITUNG

Seit den grundlegenden Arbeiten ZANDERS (1935, 1937, 1941, 1949, 1951) wurde in vielen Ländern Europas und auch in aussereuropäischen Ländern eine grosse Zahl mikroskopischer Honiguntersuchungen durchgeführt. Die dabei gewonnenen Erfahrungen lassen es wünschenswert erscheinen, die von der Internationalen Kommission für Bienenbotanik der I.U.B.S. bearbeitete Methodik der Melissopalynologie (1962-1963) neu zu fassen. Die Anregung dazu gab eine Diskussion über die Auswertungsverfahren und über die Terminologie der mikroskopischen Honiguntersuchung, die anlässlich einer Arbeitstagung der Arbeitsgruppe für Honigforschung der Internationalen Kommission für Bienenbotanik in Hohenheim stattfand (Vorwohl 1968 b).

Beim formalen Aufbau der « Methodik » folgten wir dem « Standard layout for a standard method of food analysis », der vom Vereinigten Königreich Grossbritannien dem Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling im Rahmen des Joint FAO/WHO Food Standards Program vorgelegt wurde (Codex Analys. 68/8, June 1968).

1. — ZWECK DER MIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNG

Die mikroskopische Untersuchung des Honigs gibt Auskunft

1.1. — über die geographische Herkunft und

1.2. — über die botanische Herkunft des Honigs.

Die mikroskopische Untersuchung erlaubt ferner Feststellungen

1.3. — über die eventuelle Verschmutzung des Honigs mit Bienenbrut, Staub, Ruß usw.,

1.4. — über die Menge der Hefen (Gärung) und

1.5. — über eventuelle sonstige, im Honig normalerweise nicht vorhandene geformte wasserunlösliche Bestandteile.

2. — ANWENDUNGSBEREICH

2.1. — Die Bestimmung der *geographischen* Herkunft kann bei allen Honigen versucht werden, es sei denn, daß die Pollen durch Filterung völlig entfernt wurden.

2.2. — Die Bestimmung der *botanischen* Herkunft setzt voraus, daß der Honig durch Schleuderung gewonnen wurde. Das Pollenspektrum von Preßhonig, von Heide - (*Calluna* -) Honig, der mit Hilfe von Lösgeräten gewonnen wurde und von Honig, der durch Kieselgur oder ähnliche Materialien gefiltert wurde, ist durch sekundäre Beimengungen oder Entfernung von Pollen verändert. Die Voraussetzungen für eine korrekte Bestimmung der botanischen Herkunft sind in den genannten Fällen nicht mehr gegeben.

Gegebenenfalls muß durch Messung des Sedimentsgehalts und durch Bestimmung des absoluten Gehalts an pflanzlichen Elementen (Pollen, Honigtauelemente) geprüft werden, ob ein normaler Schleuderhonig vorliegt (siehe 4).

3. — QUALITATIVE MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

3.1. — Prinzip

Anreicherung der geformten mikroskopischen Elemente durch Zentrifugieren des in Wasser gelösten Honigs.

Untersuchung und Auswertung des mit Glyceringelatine eingedeckten Sediments unter dem Mikroskop.

3.2. — Reagenzien

Glyceringelatine nach KAISER.

3.3. — Apparate

Laborzentrifuge 2 500 - 3 000 U/min., relative Zentrifugalbeschleunigung ca. 1 350 g,

Zentrifugenröhrchen, unten spitz zulaufend, Inhalt ca. 100, 50 und 10 ml, Mikroskop, Vergrößerungen 320 - 450 und 800 - 1 000 - fach.

3.4. — Proben

3.41. — Die sogenannte Laboratoriumsprobe sollte 100 bis 200 g Honig umfassen.

3.42. — Die sogenannte Testprobe erhält man aus der Laboratoriumsprobe

durch gründliches Durchrühren. Handelt es sich um einen fest kristallisierten Honig, ist die Probe durch vorheriges leichtes Erwärmen zu erweichen.

Stark verschmutzte Honige werden bei 40°C verflüssigt und durch ein engmaschiges Tuch oder Sieb gegeben.

Wabenstücke mit Honig werden vorsichtig entdeckt. Man hält sie dann vor eine starke Lichtquelle, um Zellen festzustellen, die mit Pollen gefüllt sind. Mit Hilfe einer Pipette, die an eine Saugpumpe angeschlossen ist, saugt man dann den Honig aus den Wabenzellen ab, die frei von Pollen sind.

3.5. — Verfahren

3.51. — Anfertigung der Präparate.

10 g Honig (auf 0,1 g genau gewogen) werden mit 20 ml warmem Wasser (nicht über 40°C) aufgelöst, die Lösung 10 min. zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit vom Bodensatz abgegossen oder abgesaugt. Zur besseren Entfernung der Honigzucker empfiehlt es sich, den Bodensatz noch einmal mit etwa 10 ml destilliertem Wasser aufzunehmen, in ein kleineres Zentrifugenröhrchen zu überführen und wiederum 5 min. zu zentrifugieren. Man bringt den Bodensatz (mittels einer Platinöse oder eines dünnen Glasstabes) möglichst quantitativ auf einen Objektträger, verteilt ihn auf einer Fläche von etwa 20 × 20 mm und deckt ihn nach dem Trocknen (vorteilhaft in der Wärme, aber nicht über 40°C) mit Glyceringelatine ein. Diese wird vorher durch Erwärmen im Wasserbad bei 40°C verflüssigt.

Falls gewünscht, kann die Eindeckung der Präparate mit gefärbter Gelatine erfolgen (siehe 5.2.).

Zu empfehlen ist auch die Verwendung von Pasteur-Pipetten zur Entnahme des Sediments aus dem Zentrifugenröhrchen. Das kapillare Ende der Pipette ist zugeschmolzen. Es kann zum Aufrühren des Sediments verwendet werden. Nach Entfernung der zugeschmolzenen Spitze wird die Sedimentsaufschwemmung aufgenommen und auf einen Objektträger ausgeblasen. Die Pipette ist vorsichtig zu handhaben, um ein Splittern der Spitze zu vermeiden. Die im Zentrifugenglas zurückgebliebenen Sedimentsbestandteile nimmt man mit einem Tropfen Wasser auf und pipettiert nochmals. Die Pipette wird dann weggeworfen. Das Verfahren gewährleistet eine weitgehend quantitative Übertragung des Sediments. Da die Pipette nur einmal verwendet wird, ist garantiert, daß beim Auftragen des Sediments auf den Objektträger keine Verunreinigungen, insbesondere keine Pollen, aus anderen Honigen eingeschleppt werden.

10 g Honig sind die üblicherweise verwendete Standardmenge. Bei pollenarmen Honigen kann die Einwage verdoppelt werden (siehe auch VERGERON, 1964). Bei sedimentreichen Honigen verteilt man den Bodensatz vorteilhaft unter 2 Deckgläsern.

Die mikroskopische Untersuchung von Honigen, die reich an Kolloiden sind, wird erleichtert, wenn man an Stelle von Wasser verdünnte Schwefelsäure zur Auflösung des Honigs verwendet (5 g konzentrierte H₂SO₄ auf 1 l H₂O). Im stark sauren Milieu werden die Kolloide zum größten Teil gelöst und verbleiben daher beim Zentrifugieren in der überstehenden Flüssigkeit. Die Säure muß

sorgfältig durch zweimaliges Waschen des Sediments entfernt werden. Im übrigen verfährt man wie oben. geschildert.

Eine andere Methode zur Entfernung des größten Teils der Kolloide sowie kleiner unlöslicher Bestandteile, die die Beobachtung der Pollenkörner erschweren, ist die Filtrierung des in Wasser suspendierten Sediments durch ein Millipore-Filter von 3-5 μ . Die Pollen bleiben auf dem Filter zurück. Zur Montage der Pollen wäscht man das Filter aus und deckt das Sediment, wie oben beschrieben, ein. Die Einzelheiten über die Millipore-Filtertechnik sind unter 4.25 nachzulesen.

3.52. — *Durchführung der Mikroskopischen Untersuchung.*

Die Bestimmung der geographischen und der botanischen Herkunft beruht auf der Identifizierung der Pollen und der anderen Sedimentbestandteile eines Honigs und deren Auszählung. Die Identifizierung erfolgt mit Hilfe der Spezialliteratur und anhand von Vergleichspräparaten (siehe 5).

3.521. — Die Analyse kann « orientierend » oder « vollständig » sein. Im ersten Fall begnügt man sich mit der Identifizierung der häufigsten Partikel des Honigsediments und mit der Suche nach bestimmten charakteristischen Sedimentsbestandteilen, die im Rahmen der jeweiligen Fragestellungen wichtig sind.

3.522. — Die vollständige Analyse umfaßt die Bestimmung aller im Sediment vorhandenen Pollen und der anderen Bestandteile, soweit dies nach dem jeweiligen Wissensstand möglich ist.

Hinsichtlich der Auszählung der Sedimentbestandteile ist zu unterscheiden :

3.523. — *Die Schätzung :*

Sie wird vorteilhaft so vorgenommen, daß man 100 Pollenkörner (PK) auszählt. Ferner werden die auf 100 PK entfallenden Honigtauelemente gezählt.

3.524. — *Die Bestimmung der Häufigkeitsklassen.*

Sie beruht auf der Auszählung von 200 - 300 PK und der dazugehörigen Honigtauelemente. Bei artenarmen Pollenspektren genügen 200 PK, bei vielseitigen, artenreichen müssen 300 PK ausgezählt werden.

3.525. — *Prozentuale Auszählung.*

Die Häufigkeitsangabe in Prozenten ist bei der Formulierung der Resultate nur vertretbar, wenn sie auf der Auszählung von 1 200 PK beruht, vorteilhaft in 2 Präparaten aus 2 verschiedenen Ansätzen.

3.526. — Bei pollenarmen Honigtau-honigen genügt je nach Genauigkeitsgrad der Auswertung die Zählung von 50, 100 - 150 respektive 600 PK.

3.527. — Pollen windblütiger und nektarloser Pflanzen werden separat notiert. Von den windblütigen Pflanzen sind in diesem Zusammenhang wichtig :

Die Gramineen (Gräser, Getreide, Mais), die Cyperaceen (Sauergräser), *Rumex spp* (Ampfer), *Cannabis* (Hanf) und *Quercus spp* (Eichen). Die Coniferenpollen (*Abies*, *Pinus*, *Picea*, *Taxus*, *Juniperus*, *Larix*, usw.), und die Pollen von *Betula* (Birken) -, *Fagus* (Buchen) -, *Carpinus* (Hainbuchen) -, *Populus* (Pappel) -, *Alnus* (Erlen) - und *Corylus* (Haselnuß) - Arten spielen im Honig keine große

Rolle, desgleichen die Pollen von *Urtica* (Brennnessel), *Typha* (Rohrkolben) und Juncaceen (Simsen).

Als nektarlos, aber mehr oder weniger entomophil, sind die folgenden Pflanzen bekannt: *Papaver spp* (Mohn), *Plantago spp* (Wegerich), *Thalictrum spp* (Wiesenraute), Chenopodiaceen (Gänsefußgewächse), *Ambrosia spp* (engl.: Ragweed), *Artemisia spp* (Beifuß). Zweifelhaft sind die Cistaceen und *Filipendula spp*, die zum mindesten keine größeren Nektarmengen liefern.

3.528. — Abortive und mißgestaltete Pollenkörner werden mitgezählt, soweit sie sich identifizieren lassen.

3.529. — Als Honigtauelemente gelten:

Pilzhyphen und Pilzsporen, insbesondere die der Rußtaupilze, Algen und Wachselemente der Honigtauerzeuger. Mehrzellige Hyphen sowie mehrzellige Algen und Sporenkomplexe werden als 1 Element gezählt. Es empfiehlt sich, Pilzelemente, Algen und Wachselemente der Honigtauerzeuger getrennt zu notieren und zu zählen.

3.5291. — Pflanzenpathogene Pilzelemente, z. B. Sporen von Brand- und Rostpilzen und von falschem Mehltau (Uredinaceen, Ustilaginaceen, Peronosporaceen, MAURIZIO 1959) sind, wenn sie in größeren Mengen vorkommen, separat von den Honigtauelementen zu notieren. Sie können von den Bienen direkt mit dem Nektar eingetragen werden. Gelegentlich werden sie auch gehösel. Schließlich besteht auch die Möglichkeit, daß sie als Luftsediment in den Honigtau geraten.

3.5292. — Die sogenannte feinkörnige bzw. feinkristalline Masse kann in vielen Fällen als Anzeichen für Honigtau gewertet werden. Sie kommt aber auch in einigen Blütenhonigen vor und wird daher vorteilhaft unter « sonstige Sedimentbestandteile » aufgeführt.

3.6. — Formulierung der Resultate

3.61. — Die Identifizierung der Pollen kann vielfach nicht bis zur Gattung oder Art vorangetrieben werden. Die Verwendung der wissenschaftlichen Gattungs- oder Artnamen sollte auf die Fälle begrenzt werden, in denen eine sichere Bestimmung möglich ist. Wo diese Bedingung nicht erfüllt ist, muß durch einen geeigneten Zusatz zum wissenschaftlichen Namen deutlich gemacht werden, daß dieser im weiteren Sinne zu verstehen ist, z. B. *Trifolium repens s. l. (sensu lato)* oder *Trifolium repens*-Gruppe (d.h. Pollen, der nach Größe und Baueigentümlichkeiten ganz oder weitgehend *Trifolium repens* gleicht, der aber einer anderen Art angehören könnte, (z. B. *T. resupinatum* oder *T. arvense*). Fehlen detaillierte Kenntnisse oder muß aus Zeitgründen auf eine feinere Bestimmung verzichtet werden, kann der Pollen größeren Gruppierungen (Formen oder Typen) zugeordnet werden (z. B. *Teucrium*-Form, d.h. 3-colpater Labiatenpollen mit Opercula auf den Falten oder *Symphytum*-Typ, d.h. stephanocolporate Boraginaceen-Pollen, (MAURIZIO und LOUVEAUX 1967, VORWOHL 1968 a).

3.62. — Häufigkeitsangaben.

3.621. — Bei der Schätzung der Pollenhäufigkeit werden die folgenden Termini für die Häufigkeitsangaben verwendet:

« sehr häufig », für Pollenformen, die mehr als 45 % der ausgezählten 100 Pollenkörner stellen;

« häufig », für Pollenkörner mit einer Häufigkeit von 16 - 45 %;

« selten », für Pollenkörner mit einer Häufigkeit von 3 - 15 %;

« vereinzelt », für Pollenkörner mit einer Häufigkeit unter 3 %.

3.622. — Werden die Häufigkeitsklassen bestimmt, gelten die folgenden Termini :

« Leitpollen » (über 45 % der ausgezählten Pollen);

« Begleitpollen » (16 - 45 %);

« wichtige Einzelpollen » (3 - 15 %);

« Einzelpollen » (unter 3 %).

3.623. — Wurden mindestens 1 200 Pollenkörner gezählt, kann die Häufigkeit in Prozent ausgedrückt werden. Die Fehlerbreite liegt bei der Auszählung von 1 200 Pollenkörnern bei $\pm 1\%$. Die Angabe von Dezimalen ist demnach nicht gerechtfertigt. Pollenformen, deren Häufigkeit 1 % oder weniger beträgt, sollten lediglich als vorhanden notiert werden.

3.624. — Bei der Häufigkeitsangabe für Honigtauelemente (HTE) (s. 3.529 und 3.5210) sind die folgenden Termini zu verwenden : « wenig », wenn der Quotient HTE/PK, d.h. die Anzahl der Honigtauelemente dividiert durch die Zahl der Pollen nektarliefernder Pflanzen zwischen 0 und 1,5 liegt.

« mittlere Menge », wenn der Quotient HTE/PK zwischen 1,5 und 3,0 liegt,

« viel », wenn der Quotient HTE/PK zwischen 3 und 4,5 liegt, und

« sehr viel », wenn er 4,5 überschreitet.

3.625. — Bei der Häufigkeitsangabe für Pollen anemophiler und anderer nektarloser Pflanzen sind die folgenden Termini zu verwenden :

« vereinzelt », wenn die Anzahl der Pollenkörner der nektarlosen Pflanzen (insgesamt oder einzelner Pflanzenarten) weniger als 3 % der insgesamt gezählten Pollenkörner ausmacht,

« selten », wenn die Zahl der Pollen nektarloser Pflanzen 3 - 15 % der insgesamt gezählten Pollen ausmacht,

« häufig », wenn die Zahl der Pollen nektarloser Pflanzen 16 - 45 % der insgesamt gezählten Pollen ausmacht,

« sehr häufig », wenn die Zahl der Pollen nektarloser Pflanzen mehr als 45 % der insgesamt gezählten Pollen ausmacht.

Die Pollen nektarloser Pflanzen sind von den insgesamt gezählten Pollen abzuziehen, ehe die Häufigkeitsangaben für die Pollen nektarliefernder Pflanzen berechnet werden.

3.7. — *Interpretation*

3.71. — *Geographische Herkunft.*

Die verschiedenen Herkünfte sind in einigen, verhältnismäßig seltenen Fällen an Charakterformen zu erkennen, die nur in einem bestimmten Gebiet vorkommen. Häufiger gestattet das Auftreten bestimmter Pollenkombinationen (Honigtypen) die Lokalisierung der Region, in der der Honig erzeugt wurde.

Einzelheiten über Charakterformen und typische Kombinationen sind der Spezialliteratur zu entnehmen. Das Pollenspektrum eines Honigs wird bestimmt durch die pflanzengeographischen, landwirtschaftlichen und forstwirtschaftlichen Verhältnisse des Gebietes, in dem der Honig erzeugt wurde. Politische und administrative Grenzen bewirken keine schlagartige Änderung dieser Gegebenheiten.

Man kann daher auf Grund des mikroskopischen Befundes nicht in jedem Fall die Länder benennen, in denen der Honig erzeugt wurde, sondern nur die Region, die als Herkunftsgebiet in Frage kommt.

3.72. — *Botanische Herkunft.*

Die Bestimmung der botanischen Herkunft beruht auf der Identifizierung der Pollen und der anderen Sedimentsbestandteile und der Feststellung der Häufigkeit der verschiedenen Elemente. Aus der Häufigkeit der verschiedenen Pollen und der Honigtauelemente können Rückschlüsse auf den Anteil der entsprechenden Trachtquellen am Zustandekommen des Honigs gezogen werden.

Im allgemeinen darf angenommen werden, daß ein Honig dann vorwiegend aus einer bestimmten Nektarart entstanden ist, wenn der entsprechende Pollen als Leitpollen vorkommt (die Pollen der windblütigen und nektarlosen Pflanzen sind bei der Berechnung der Prozentsätze außer acht zu lassen). Die Regel gilt nur, wenn der Honig geringe Mengen Honigtauelemente enthält (weniger als 1 Honigtauelement auf ein PK nektarliefernder Pflanzen).

Honige, die vorwiegend aus Honigtautracht stammen, enthalten viel Honigtauelemente. In der Regel entfallen auf 1 PK 3 oder mehr HTE. Der Prozentsatz der Pollen windblütiger Pflanzen ist meist höher als in Blütenhonigen.

3.721. — *Spezielle Fälle.*

Die Pollen einiger Blüten sind im Honig überrepräsentiert, d. h. der Prozentsatz der gefundenen Pollen ist höher als der tatsächliche Anteil des entsprechenden Nektars, bei den Pollen einiger anderer Arten liegen die Verhältnisse umgekehrt, sie sind unterrepräsentiert.

3.7211. — *Überrepräsentierte Pollen.* Der extremste Fall der Überrepräsentierung liegt bei den *Myosotis*- (Vergißmeinnicht) Arten vor. Es empfiehlt sich daher, bei Honigsedimenten mit viel *Myosotis*, neben der üblichen Auszählung eine zweite Zählung unter Vernachlässigung von *Myosotis* vorzunehmen. Dieses Verfahren gibt die tatsächliche botanische Herkunft besser wieder als die übliche Auswertung.

Der Pollen von *Castanea sativa* gehört gleichfalls zu den überrepräsentierten Sedimentsbestandteilen. Es darf angenommen werden, daß ein Honig dann vorwiegend von *Castanea sativa* stammt, wenn im Sediment *Castanea*-Pollen mit einer Häufigkeit von ca. 90 % vorkommt. Bei Pollenspektren mit einem höheren *Castanea*-Prozentsatz empfiehlt sich, wie bei *Myosotis*, eine zweite Auszählung, unter Vernachlässigung der *Castanea*-Pollen. Honige, die vorwiegend aus einer Trachtquelle stammen, deren Pollen überrepräsentiert sind, zeigen in der Regel einen höheren absoluten Pollengehalt als die Honige von Trachtquellen mit normal- oder unterrepräsentierten Pollen. In zweifelhaften Fällen sollte daher neben der qualitativen Auswertung auch eine Bestimmung des absoluten Pollengehalts durchgeführt werden (siehe 4).

Zur Gruppe der überrepräsentierten Pollen muß auch *Cynoglossum* und *Mimosa pudica* gerechnet werden.

3.7212. — *Unterrepräsentierte Pollen*. Die folgende Liste gibt die praktisch wichtigsten Pollen an, die als unterrepräsentiert gelten müssen. Erreicht die Häufigkeit dieser Pollen mindestens die angegebenen Prozentsätze, kann angenommen werden, daß der in Frage stehende Honig vorwiegend aus dieser Quelle stammt :

<i>Lavandula spica</i> × <i>L. latifolia</i> (Lavandin).....	10-20 %
<i>Salvia</i> (europäisch).....	20-30 %
<i>Robinia</i>	30 %
<i>Tilia</i>	20-30 %
<i>Medicago</i>	30 %

Zur Gruppe der unterrepräsentierten Pollen gehören ferner *Chamaenerion*, Cucurbitaceen und *Rosmarinus*.

Die Antheren der Blüten einiger *Citrus*-Sorten sind weitgehend steril. Es gibt daher *Citrus*-Honige, in deren Sediment *Citrus*-Pollen nur mit einer Häufigkeit von 10-20 % vertreten ist.

Prinzipiell haben Honige von Trachtpflanzen mit unterrepräsentierten Pollen einen niedrigen absoluten Gehalt an pflanzlichen Elementen. In zweifelhaften Fällen ist also auch hier neben der qualitativen eine quantitative Auswertung (siehe 4) vorzunehmen.

3.7213. — Mit Anomalien in den Repräsentationsverhältnissen ist ferner zu rechnen bei Pflanzen, die neben floralem auch extrafloralen Nektar erzeugen, desgleichen bei den zweihäusigen Pflanzen, bei denen der Nektar der weiblichen Blüten frei von Pollen ist und schließlich bei Pflanzen, deren Pollen nicht ausgestreut wird, sondern zu Paketen verklebt ist (Pollinien), wie z. B. bei zahlreichen Orchidaceen und Asclepiadaceen.

3.7214. — Bei Honigen, deren Sediment einen höheren Prozentsatz nicht identifizierbarer Pollen enthält, ist eine Bestimmung der botanischen Herkunft nur mit Vorbehalt möglich, da über die Repräsentationsverhältnisse dieser Pollen nichts ausgesagt werden kann.

3.7215. — Einige Sortenhonige sind durch besondere chemische oder physikalische Eigenschaften charakterisiert, deren Erfassung den mikroskopischen Befund ergänzen und absichern kann.

Für Heide- (*Calluna*-) Honige liegen einfach durchführbare Verfahren zur Erfassung der Thixotropie und des Proteingehaltes vor. Honigtau-honige sind u. a. durch eine relativ hohe elektrische Leitfähigkeit ausgezeichnet.

Bei Robinien- und Tupelo-Honigen ist der hohe Fructosegehalt ein zusätzliches charakteristisches Merkmal.

3.8. — Reproduzierbarkeit

VERGERON (1964) hat eine statistische Untersuchung über die Wiederholbarkeit (repeatability) der Auszählungen vorgenommen. Die Ergebnisse der Arbeit sind bei den Anweisungen über die Auszählung von Präparaten (3.52 und 3.62) berücksichtigt. Die Reproduzierbarkeit der Häufigkeitsangaben bei parallelen

Untersuchungen des gleichen Honigs in verschiedenen Labors war bisher gut. Eine systematisch angelegte Ringanalyse steht bisher noch aus. Die statistische Auswertung von Ringanalysen ist insofern problematisch, als die Ergebnisse der Identifizierung und der Auszählung von der Übung und Erfahrung des Untersuchers abhängig sind. Eine Ringanalyse gibt daher u. U. mehr Auskunft über den Wissensstand der Untersucher als über die Leistungsfähigkeit der Methode.

4. — QUANTITATIVE MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

4.1. — *Bestimmung der Sedimentsmenge im Honig*

4.11. — *Zweck der Untersuchung.*

Die Bestimmung der Sedimentsmenge ist im engeren Sinne kein mikroskopisches Verfahren, muß aber hier behandelt werden, da die Ergebnisse der Sedimentsbestimmung erkennen lassen, ob bestimmte mikroskopische Auswertungsverfahren zulässig sind (siehe 2.2).

Die Sedimentbestimmung gibt

4.111. — Auskunft über die Gewinnungsart (Preßhonig, Seimhonig, Schleuderhonig, gefilterter Honig) und

4.112. — Hinweise auf eventuelle Verfälschungen oder auf das Vorhandensein größerer Mengen honigfremder Partikel (Schmutzteilchen, Pollenersatzmittel, Hefen, u.s.w.).

4.12. — *Anwendungsbereich.*

Die Sedimentbestimmung ist bei allen Honigen anwendbar.

4.13. — *Prinzip des Verfahrens.*

Gewinnung des Honigsediments durch Schleuderung einer Honiglösung. Messung des Sediments in kalibrierten Zentrifugengläsern.

4.14. — *Apparate.*

Zentrifugengläser ca. 100 ml Inhalt (s. 3.3)

Zentrifuge (s. 3.3)

Wasserstrahlpumpe oder andere geeignete Absaugvorrichtung, Zentrifugengläschen, ca. 10 ml Inhalt, auslaufend in ein graduiertes parallelwandiges Endstück, Fassungsvermögen 20 μ l, Unterteilung 1 μ l (1).

4.15. — *Proben* (siehe 3.4).

4.16. — *Verfahren.*

10 g Honig werden auf 0,01 g genau abgewogen und mit ca. 20 ml warmem Wasser (nicht über 40°) aufgelöst. Man zentrifugiert die Lösung 10 min. lang, saugt die überstehende Lösung vorsichtig von oben her ab, so daß über dem Sediment eine Flüssigkeitssäule von 1-2 cm verbleibt. Das Sediment wird aufgewirbelt, quantitativ in ein geeignet dimensioniertes graduiertes Glas überführt und nochmals 10 min. zentrifugiert. Erweist sich die Sedimentmenge als sehr hoch bzw. extrem niedrig, kann die Einwaage halbiert, respektive verdop-

(1) sogenannte Trommsdorffröhrchen.

pelt werden. Es empfiehlt sich, den kalibrierten Teil des Zentrifugenglases in ein Stück Vakuumschlauch oder eine Metallhülse zu stecken, so daß während des Zentrifugierens die Last des Oberteils des Glases durch den Gummischlauch und nicht durch das relativ schwache graduierte Endstück getragen wird.

4.17. — *Auswertung und Beurteilung.*

Die Füllung des graduierten Teils der Zentrifugen-Maßröhrchen wird abgelesen. Schleuderhonige enthalten wenig Sediment. In der Mehrzahl der Fälle ergeben 10 g Honig 1,5-3,5 μ l. Mehr als 10 μ l Sediment zeigen an, daß ein Tropf-, Preß- oder Seimhonig vorliegt, es sei denn, daß die Vermehrung der Sedimentmenge auf honigfremden Stoffen beruht (Mehl, Pollenersatzmittel, Schmutz, Hefen usw.). Sehr niedrige Sedimentgehalte weisen auf natürlicherweise pollenarme Honige hin (z. B. Orangenhonig), können aber auch durch die Behandlung des Honigs (Filterung durch sehr engporige Materialien) oder durch Verfälschungen (z. B. Zuckerfütterung) verursacht sein.

4.2. — *Bestimmung der absoluten Zahl geformter pflanzlicher Bestandteile im Honig*

4.21. — *Zweck der Untersuchung.* Feststellung der absoluten Zahl der in der Gewichtseinheit vorhandenen pflanzlichen Elemente.

4.22. — *Anwendungsbereich.* Bei allen Honigen möglich.

4.23. — *Bestimmung nach Maurizio.*

4.231. — *Prinzip der Methode.* Gewinnung des Sediments einer bestimmten Menge Honig. Aufschwemmung desselben in einer abgemessenen Menge Wasser. Ausstreichen einer bekannten Menge der Aufschwemmung auf einer umschriebenen Fläche eines Objektträgers. Auszählung der geformten Elemente und Berechnung ihrer Zahl in der Gewichtseinheit Honig.

4.232. — *Apparate und Geräte.*

Erlenmeyerkolben mit 100 ml Marke

Zentrifugengläser, 10 ml Inhalt, kalibriert

Zentrifugengläser, 100 ml, siehe 3.3

Zentrifuge, siehe 3.3

Breed-Pipette 0,01 ml kalibriert

Objektträger

Mikroskop (etwa 300-fache Vergrößerung) mit Kreuztisch und Netzokular.

4.233. — *Proben* (siehe 3.4).

4.234. — *Verfahren.*

4.2341. — *Anfertigung der Präparate.* Es werden zweimal je 50 g des durchgemischten Honigs in Erlenmeyerkölbchen (auf 100 ml geeicht) abgewogen, bis zur Marke von 100 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt und im Wasserbad gelöst. Steht wenig Honig zur Verfügung oder liegen sedimentreiche Honige vor, genügen zwei Parallelabwägungen von 10-30 g. Die Honiglösung wird in 100 ml fassenden Zentrifugengläsern 5 min. zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird vorsichtig abgegossen, das Sediment mit einer ausgeglühten Platinöse aufgewirbelt und in ein 10 ml fassendes, kalibriertes Zentrifugenglas umgegossen (mehrmals mit destilliertem Wasser nachspülen, um das ganze Sediment zu

erfassen). Dann wird nochmals 5 min. zentrifugiert, die überstehende Lösung abgegossen oder abgesaugt und das Sediment tropfenweise bis zur gewünschten Marke aufgefüllt. Die Flüssigkeitsmenge wird der jeweiligen Sedimentmenge angepaßt, um im Präparat die günstigste Verteilung der pflanzlichen Bestandteile zu erhalten (vergl. statistische Auswertung in MAURIZIO 1939). Erfahrungsgemäß ergibt bei sauber gewonnenen Schleuderhonigen die Auffüllung des Sediments aus 50 g Honig auf 0,5 ml die geeignetste Verteilung. Bei sedimentreichen Honigen empfiehlt sich eine Verdünnung auf 1 ml oder mehr.

Das Sediment wird nun mit der Platinöse aufgewirbelt, mit Hilfe einer auf 0,01 ml kalibrierten « Breedpipette » aufgenommen, auf einen Objektträger ausgeblasen und mit Hilfe eines vorgezeichneten Schemas auf der Fläche von 1 cm² ausgebreitet. Auf jeden Objektträger kommen zwei Parallelausstriche desselben Sediments, d. h. es werden für jeden Honig je zwei Parallelausstriche der beiden Abwägungen, im ganzen vier Ausstriche hergestellt. Man läßt die Ausstriche antrocknen, wobei sich an der Oberfläche eine Art Glasur bildet, die ein Mikroskopieren ohne Deckglas erlaubt.

4.2342. — *Zählung der pflanzlichen Elemente.* Die Auszählung der pflanzlichen Elemente geschieht bei etwa 300-facher Vergrößerung mit Hilfe eines Netzokulars.

In jedem der vier Ausstriche werden je 100 Blickfelder ausgezählt, wobei man ungefähr in halber Höhe des Ausstriches am Rande beginnt und mit Hilfe eines Kreuztisches quer zum andern Rand verschiebt. Dadurch werden die Rand- und Mittelpartien des Ausstriches gleichmäßig berücksichtigt.

In jedem Gesichtsfeld werden die Pollenkörner, Pilzsporen und Algenzellen separat gezählt und verzeichnet.

4.235. — *Beurteilung.* Der absolute Gehalt an Pollenkörnern, Pilzsporen und Algenzellen wird als Mittelwert aus den 400 ausgezählten Blickfeldern für 1 oder 10 g Honig berechnet (auf Grund der ursprünglichen Honigmenge, der Sedimentverdünnung und der Fläche eines Blickfeldes).

Nach den bisherigen Erfahrungen liegt der absolute Gehalt pflanzlicher Bestandteile für pollenarme Blüten-Sortenhonige (z. B. Robinienhonig, *Citrus*-Honig) in der Regel unter 20 000 in 10 g, d. h. in der Gruppe I. Die Mehrzahl der Blütenhonige und der Mischhonige aus Blüten- und Waldtracht besitzt einen zwischen 20 000 und 100 000 liegenden absoluten Teilchengehalt, Gruppe II; in der Gruppe III, mit einem zwischen 100 000 und 500 000 liegenden Teilchengehalt finden sich einseitige Honigtauhonige und pollenreiche Blütenhonige (*Myosotis*- und *Castanea*-Honige); die Gruppe IV mit 500 000 bis 1 Million Bestandteilen in 10 g Honig umfaßt besonders pollenreiche Blütenhonige und einen Teil der Preßhonige; zur Gruppe V, mit über 1 Million pflanzlicher Bestandteile, gehören nur noch pollenreiche Preßhonige.

Die Resultate der Auszählung können in einer Formel dargestellt werden, z. B. « 32/38/0,7-II », d. h. 32 000 Pollenkörner, 38 000 Pilzsporen und 700 Algenzellen in 10 g Honig, mit Einreihung in die Gruppe II der fünf Gruppen des absoluten Gehaltes pflanzlicher Bestandteile. Die Formel zeigt, daß es sich bei dem betreffenden Honig um einen Mischhonig aus Nektar- und Honigtautracht handelt. Ein reiner Blütenhonig würde z. B. die Formel « 28/1/0-II » zeigen.

Die Zahlenangabe für 10 g Honig wurde gewählt, weil 10 g die Standardmenge für die mikroskopische Untersuchung ist. Man kann selbstverständlich auch 1 g Honig als Bezugsbasis nehmen.

4.24. — *Bestimmung nach Demianowicz.*

4.241. — *Prinzip* (siehe 4.231).

4.242. — *Apparate und Geräte* (siehe 4.232).

4.243. — *Proben* (siehe 3.4).

4.244. — *Verfahren.*

4.2441. — *Anfertigen der Präparate.*

4.24411. — *Einartenhonige* (experimentell gewonnen).

Ein Tropfen Honig wird unverdünnt auf ein vorher gewogenes Deckglas gebracht und dieses nochmals gewogen. Dann wird das Deckglas umgekehrt und auf einen Objektträger gelegt. Die Honigmenge muss so gewählt werden, dass nach Auflegen des Deckglases auf dem Objektträger kein Honig über den Rand herausquillt.

4.24412. — *Sortenhonige.*

Die Präparation erfolgt im wesentlichen wie bei MAURIZIO. DEMIANOWICZ empfiehlt Quadrate von 1 cm Seitenlänge mit Tusche auf die Objektträger aufzuzeichnen. Die Tuscheränder verhindern das Ausfließen der Sedimentaufschwemmung aus dem vorgeschriebenen Bezirk.

4.2442. — *Zählung.*

Statt der Auszählung von 100 Blickfeldern pro Ausstrich werden Streifen quer über das Präparat ausgezählt. Die Anzahl der Streifen richtet sich nach der absoluten Teilchenmenge im Honig. Liegt diese voraussichtlich unter 12 000 Elementen, sind 8 Streifen auszuwerten, bei 12 000 bis 96 000 Elementen empfiehlt sich die Auszählung von 4 Streifen und bei mehr als 96 000 Partikeln die Auswertung von 2 Streifen. Aus den erhaltenen Zahlen berechnet man die Zahl der pflanzlichen Elemente pro cm² und daraus auf Grund der eingewogenen Honigmenge und dem Verdünnungsgrad der Sedimentaufschwemmung die Menge der geformten pflanzlichen Bestandteile in der Gewichtseinheit.

4.245. — *Beurteilung* (siehe 4.235).

4.25. — *Bestimmung nach Louveaux.*

4.251. — *Prinzip der Methode.* Abtrennung des Sediments einer gewogenen Menge Honig. Aufschwemmung des Sediments mit Wasser und Filtration durch ein Filter bekannter Fläche, dessen Porenweite kleiner ist als der Durchmesser der zu zählenden pflanzlichen Elemente. Durchsichtigmachen der Filter mit Immersionsöl. Zählung der auf dem Filter zurückgehaltenen Elemente unter dem Mikroskop. Berechnung der Zahl der Partikel in der Gewichtseinheit Honig aus der Größe des Blickfeldes, der Zahl der Blickfelder, der Anzahl der geformten Elemente, der Gesamtfläche des Filters und der untersuchten Honigmenge.

4.252. — *Reagenzien.* Immersionsöl Millipore, Refraktionsindex 1,515.

4.253. — *Apparate und Geräte.*

Zentrifugengläser 100 ml (siehe 3.3)

Zentrifuge (siehe 3.3)

Wasserstrahlpumpe oder andere Absaugvorrichtung

Pyrex-Mikro-Filtrationsgerät der Millipore Filter Corporation XX 10 025 00,

Filter 25 mm Durchmesser, weiß, eben, Porenweite ca 1 μ .

Mikroskop (siehe 3.3)

Objektträger mindestens 2,5 cm breit

4.254. — *Proben* (siehe 3.4).4.255. — *Verfahren.*

4.2551. — *Anfertigung der Präparate.* Eine bestimmte Honigmenge wird auf 1 mg genau abgewogen. Üblicherweise sind 10 g eine geeignete Menge. Bei sehr pollenarmen Honigen kann die Menge auf 20 g erhöht werden. Bei sehr pollenreichen Honigen empfiehlt sich eine geringere Einwaage, da sonst zu viele Pollen im Blickfeld die Zählung erschweren. Die eingewogene Menge wird mit etwa 20 ml destilliertem Wasser (vorteilhaft warm, aber nicht über 40 °C) aufgelöst und 10 min. zentrifugiert. Die überstehende Lösung saugt man von oben her mit einer Saugvorrichtung ab, wobei man über dem Sediment eine Flüssigkeitssäule von 1-2 cm beläßt. Das Zentrifugenglas wird nochmals mit destilliertem Wasser gefüllt und die Aufschwemmung ein zweites Mal zentrifugiert. Nach Absaugen der überstehenden Flüssigkeit (wie oben beschrieben) schwimmt man den Bodensatz mit etwa 10 ml dest. Wasser gleichmäßig auf und gibt ihn in den Zylinderaufsatz des Filtergeräts. Unter Einschaltung des Vakuums saugt man die Aufschwemmung durch das Filter. Die Zugabe eines Detergenzmittels beschleunigt die Passage. Das Zentrifugenglas wird mit mehreren kleinen Partien dest. Wassers nachgespült, die gleichfalls durch das Filter gesaugt werden. Die Wände des Zylinders wäscht man ehe das Filter trocken fällt mit dest. Wasser nach. Bei diesen Nachspülvorgängen vermeide man starke Turbulenzen im Zylinderaufsatz, damit sich die Sedimentpartikel möglichst gleichmäßig absetzen. Nach dem Durchsaugen wird das Filter aus der Apparatur genommen und getrocknet. Der Zylinderaufsatz ist sorgfältig mit einem Detergenz zu reinigen. Man gibt auf einen Objektträger einige Tropfen Immersionsöl, anschließend wird das völlig trockene Filter auf das Öl gelegt, das in das Filter eindringt und es transparent macht. Man gibt 1-2 weitere Tropfen Immersionsöl auf das Präparat und deckt mit einem passenden Deckglas zu.

4.2552. — *Zählung und Auswertung.* Die geformten pflanzlichen Bestandteile werden in 100 Blickfeldern bei 800-facher Vergrößerung ausgezählt. Dabei sind die Ränder und die zentrale Partie der kreisrunden Filterfläche möglichst gleichmäßig zu berücksichtigen. Der Durchmesser der genutzten Filterfläche läßt sich im allgemeinen leicht erkennen, da die Sedimentbestandteile das Filter bräunlich oder gelblich anfärben. Gegebenenfalls filtert man zur Ermittlung der genutzten Filterfläche eine Tuscheaufschwemmung durch die Apparatur.

Die Zahl der geformten Elemente in der untersuchten Honigmenge ergibt sich nach der folgenden Formel

$$N = \frac{F \cdot n}{f \cdot a}$$

N = Gesamtzahl der in der untersuchten Honigmenge enthaltenen geformten Elemente;

F = Nutzbare Filterfläche in mm^2 ;

f = Größe des Blickfelds in mm^2 ;

n = Anzahl der Elemente im Blickfeld;

a = Zahl der ausgewerteten Blickfelder.

4.2553. — *Beurteilung* (siehe 4.235).

4.26. — *Reproduzierbarkeit.*

Eine Ringanalyse zwischen verschiedenen Labors mit einer oder mehreren Bestimmungsmethoden wurde bisher noch nicht durchgeführt, auch eine umfassende Prüfung der Reproduzierbarkeit der Zählungsergebnisse bei ein und demselben Präparat nach Art der Untersuchungen von VERGERON steht noch aus. Bei Untersuchungen der absoluten Teilchenzahl in verschiedenen Labors ergab sich aber bei vergleichbaren Honigen immer brauchbare Übereinstimmung.

5. — ANFERTIGUNG VON VERGLEICHSPRÄPARATEN

5.1. — *Zweck des Verfahrens*

Eine Sammlung von Vergleichspräparaten ist eine wertvolle und notwendige Ergänzung der melissopalynologischen Literatur.

5.2. — *Reagenzien*

Diäthyläther pro analysi

Basisches Fuchsin (NB) Merck in alkoholischer Lösung (0,1 %) zur Anfärbung der Glyceringelatine,

Glyceringelatine nach KAISER.

5.3. — *Proben*

Blüten von Pflanzen, deren wissenschaftlicher Namen und Populärbezeichnungen bekannt sind. ZANDER empfiehlt, die Pflanzen erst im Labor erblühen zu lassen (offene Blüten werden im Freiland vielfach durch den Wind oder Insektenbesuch mit Pollen anderer Pflanzen kontaminiert).

5.4. — *Verfahren*

5.41. — *Ungefärbte Präparate von entfetteten Pollen.*

Die Antheren, die ganzen Blüten oder ganze Blütenstände werden in einem mit Äther gefüllten Uhrglas ausgewaschen. Man gießt den Äther ab, erneuert ihn, schwenkt um und gießt wiederum ab. Nach dem Verdunsten der Ätherreste wird der Pollen auf einen Objektträger übertragen und verteilt. Man deckt mit Glyceringelatine ein, die bei 40° verflüssigt wurde. Bei langsam quellenden Pollen verbleibt das Präparat nach dem Eindecken auf der Wärmplatte oder im Wärmeschrank, bis der gewünschte Quellungsgrad erreicht ist. Bei sehr leicht platzenden Pollen empfiehlt es sich, die Entfettung des Pollens mit Äther direkt auf dem Objektträger durchzuführen und rasch einzudecken, wobei die Erwärmung auf das unbedingt notwendige Maß einzuschränken ist.

5.42. — *Ungefärbte nicht entfettete Präparate.*

Man streift den Pollen auf den Antheren auf einen Objektträger ab oder zerzupft reife Antheren auf diesem. Die Pollen werden mit einer Nadel verteilt und nach Entfernung eventuell vorhandener Antherenreste oder anderer Verunreinigungen mit Glyceringelatine eingedeckt.

5.43. — *Entfettete gefärbte Präparate.*

Man verfährt wie unter 5.4.1, verwendet aber statt einfacher angefarbte Glyceringelatine. Zur Anfärbung wird in die Gelatine tropfenweise alkoholische Fuchsinlösung eingerührt. Die Affinität der Pollen zur Fuchsin-Glyceringelatine ist unterschiedlich. Manche Pollen färben sich leicht, andere nur zögernd an. Man halte verschieden stark angefarbte Glyceringelatine vorrätig. Diese Farbabstufungen erhält man durch Zugabe von 0,2-1,5 ml alkoholischer Fuchsinlösung zu 10 ml erwärmter flüssiger Glyceringelatine.

5.5. — *Haltbarkeit der Präparate*

Die Vergleichspräparate verändern sich mit der Zeit. Bei Präparaten, die nicht entfettet sind, verblaßt die Farbe des Öls, das die Pollen bedeckt. Aber auch die natürliche Farbe der Exine verblaßt. Bei allen Präparationsarten macht sich eine Quellung und Vergrößerung der Pollen bemerkbar. Alte Präparate sind keineswegs wertlos, weil sie unter Umständen bestimmte Einzelheiten besonders gut zeigen. Zum Größenvergleich sind sie aber nicht mehr geeignet. Die Sammlung muß also nach einigen Jahren durch neue Präparate ergänzt werden. Die Umrandung der Präparate mit Caedax, Kanadabalsam oder Krönings Deckglaskitt wird zur Verbesserung der Haltbarkeit empfohlen.

In Ländern mit warmem und feuchtem Klima besteht die Gefahr, daß Glyceringelatine-Präparate schmelzen oder verschimmeln. Um die Präparate zu schützen, sollte man sie entweder in einem Kühlschrank (Kühlraum) aufbewahren, oder mit Paraffin versiegeln. Der Paraffinverschluss wird wie folgt hergestellt (ERDTMAN, 1966, 1969): das Pollen-(Honigsediment-) material wird auf dem Objektträger auf beschränkter Fläche ausgestrichen und mit einer so kleinen Menge Glyceringelatine eingeschlossen, daß diese den Rand des Deckglases nicht erreicht und auf allen Seiten etwa 5 mm frei läßt. In einem Porzellantiegel wird Paraffin verflüssigt und mit einem Glasstäbchen an den Rand des Deckglases gebracht. Hat man den Objektträger vorher leicht erwärmt, so breitet sich das Paraffin im freigelassener Raum unter dem Deckglas schnell aus und versiegelt den Ausstrich hermetisch. So kann die Gelatine, auch wenn sie bei höheren Temperaturen flüssig würde, nicht ausfließen und bleibt auch vor Schimmelpilzen geschützt.

Eingegangen im September 1969.

Reçu pour publication en septembre 1969.

LITERATUR

- ARMBRUSTER L., OENIKE G., 1929. *Die Pollenformen als Mittel zur Honigherkunftsbestimmung*, Wachholtz, Neumünster.
- ARMBRUSTER L., JACOBS J., 1934-1935. Pollenformen und Honigherkunftsbestimmung. *Arch. Bienenkunde*, **15**, (8), 277-308, **16** (1, 2/3) 17-106.
- BEUG H. J., 1961. *Leitfaden der Pollenbestimmung*. 1 Lfg., G. Fischer, Stuttgart.

- BROWN C. A., 1960. *Palynological techniques*. Baton Rouge.
- DEMIANOWICZ Z., 1961. Pollenkoeffizienten als Grundlage der quantitativen Pollenanalyse des Honigs. *Pszczeln. Zesz. Nauk.*, **5**, (2), 95-105.
- DEMIANOWICZ Z., 1964. Charakteristik der Einartenhonige. *Ann. Abeille*, **7**, (4), 273-288.
- ERDTMAN G., 1966. *Pollen morphology and plant taxonomy*. I. *Angiosperms*. Off-set edition with addendum. Hafner, New-York.
- ERDTMAN G., 1969. *Handbook of Palynology*. Munksgaard, Copenhagen.
- EVENIUS J., FOCKE E., 1967. *Mikroskopische Untersuchung des Honigs. Handbuch der Lebensmittelchemie*. Bd. 5, Teil 1, 560-590, Springer, Berlin.
- FAEGRI K., IVERSEN J., 1964. *Textbook of modern pollen analysis*. 2 nd. Ed., Munksgaard. Copenhagen.
- GENIER G., 1966. Le pollen des Ericacées dans les miels français. *Ann. Abeille*, **9**, (4), 271-321.
- GONTARSKI H., 1951. Zur Analyse der Formbestandteile des Waldhonigs. *Z. Bienenforsch.*, **1**, (3), 33-37.
- GRIEBEL C., 1930-1931. Zur Pollenanalyse des Honigs. *Z. Unters. Lebensmittel*, **59**, (1), 63-79, (2/3) 197-211, (5) 441-471, **61**, (3) 241-306.
- HYDE H. A., ADAMS K. F., 1958. *An atlas of airborne pollen grains*. Macmillan, London.
- INTERNATIONALE KOMMISSION FÜR BIENENBOTANIK DER I.U.B.S., 1962-1963. Methodik der Honig-Pollenanalyse. *Z. Bienenforsch.* **6** (4), 115-116. — *Bee World*, **43**, (4), 122-124. *Ann. Abeille*, **6** (1), 75-76.
- LOUVEAUX J., 1961. Techniques améliorées pour l'analyse pollinique des miels, *Z. Bienenforsch.*, **5**, (7), 199-204.
- LOUVEAUX J., 1966. Essai de caractérisation des miels de Callune (*Calluna vulgaris* Salisb.), *Ann. Abeille*, **9**, (4), 351-358.
- LOUVEAUX J., 1968. *L'analyse pollinique des miels*. In *Traité de biologie de l'abeille*, T. III, 325-362, Masson, Paris.
- LOUVEAUX J., VERGERON Ph., 1964. Étude du spectre pollinique de quelques miels espagnols. *Ann. Abeille*, **7**, (4), 329-347.
- MAURIZIO A., 1939. Untersuchungen zur quantitativen Pollenanalyse des Honigs. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.*, **30**, (1/2), 27-69.
- MAURIZIO A., 1949. Beiträge zur quantitativen Pollenanalyse des Honigs *Beih. Schweiz. Bienenztg.*, **2** (18), 320-421.
- MAURIZIO A., 1955. Beiträge zur quantitativen Pollenanalyse des Honigs 2. *Z. Bienenforsch.*, **3**, (2), 32-39.
- MAURIZIO A., 1958. Beiträge zur quantitativen Pollenanalyse des Honigs. 3. *Ann. Abeille*, **1**, (2), 93-106.
- MAURIZIO A., 1959. Zur Frage der Mikroskopie von Honigtauhonig. *Ann. Abeille*, **2**, (2), 145-157.
- MAURIZIO A., 1966. Das Pollenbild europäischer Heidehonige. *Ann. Abeille*, **9**, (4), 375-387.
- MAURIZIO A., LOUVEAUX J., 1965. *Pollen de plantes mellifères d'Europe*. Union des groupements apicoles français, Paris.
- MAURIZIO A., LOUVEAUX J., 1967. Les méthodes et la terminologie en méliisso-palynologie. *Rev. Palaeobotan. Palynol.*, **3**, 291-295.
- VAN CAMPO M., 1954. Considérations générales sur les caractères des pollens et des spores et sur leur diagnose. *Bull. Soc. Bot. France*, **101**, (5/6), 250-281.
- VERGERON Ph., 1964. Interprétation statistique des résultats en matière d'analyse pollinique des miels. *Ann. Abeille*, **7**, (4), 349-364.

- VORWOHL G., 1964. Die Beziehungen zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft. *Ann. Abeille*, 7, (4), 301-309.
- VORWOHL G., 1966. Das mikroskopische Bild der Pollenersatzmittel und des Sediments von Futterteigen. *Z. Bienenforsch.*, 8, (5), 222-228.
- VORWOHL G., 1968 a. Grundzüge einer modernen Pollenbeschreibung im Rahmen der Bienen- und Honigkunde. *Z. Bienenforsch.*, 9, (5), 224-230.
- VORWOHL G., 1968 b. Bericht über die Diskussion der Auswertungsverfahren und über die Terminologie der mikroskopischen Honiguntersuchung. *Z. Bienenforsch.*, 9, (5), 230-231.
- ZANDER E., 1935, 1937, 1941, 1949, 1951. *Beiträge zur Herkunftsbestimmung bei Honig*. I. Reichsfachgruppe Imker, Berlin, II, III, V, Liedloff Loth Michaelis, Leipzig, IV, Ehrenwirth, München.
-