

Pollen sammeln und präparieren

Arbeitsanleitung und Rezepte

Klaus Henkel

Manuskript

Referat, gehalten am 19.10.83 und 10.1.96 in der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V.,
sowie am 20.8.86 auf der Arbeitstagung in Heiligkreuztal.
Veröffentlicht in: Mikroskopische Nachrichten, Mitteilungsblatt der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich,
1986, Hefte 8, 9, 10.

Zusammenfassung und Einleitung

Formenvielfalt, leichte Beschaffung und einfache Präparationsverfahren regen zur Beschäftigung mit Pollen an. Wegen ihres geringen apparativen Aufwands eignen sich besonders einige Zweige der angewandten Forschung für den Liebhabermikroskopiker, z. B.

- **Pollenanalyse** (Wald- und Klimageschichte, geologische und archäologische Altersbestimmung),
- **Aeropalynologie**
- **Honigpollenanalyse**
- **systematische Pollenkunde.**

Auch die **Grundlagenforschung** bleibt dem Amateur nicht verschlossen.

Aber auch wer einfach nur schauen und sich an der Formenvielfalt erfreuen will, wird die Pollenkunde faszinierend finden.

Für das Sammeln, Aufbereiten und Präparieren von Pollen hat sich eine überschaubare Anzahl von **Methoden** seit über sechzig Jahren bewährt. Die wichtigsten werden eingehend erläutert und viele Arbeitsdetails in Lichtbildern gezeigt. Alle erwähnten Rezepturen sind beschrieben.

Besonderer **Schwerpunkt** der Darstellung sind Checklisten und Handgriffe für den Anfänger.

Gliederung

- 1 Der Pollen "als solcher"**
 - 1.1 Die Funktion
 - 1.2 Die Form und die Größe
 - 1.3 Der Aufbau des Pollenkorns
- 2 Was macht die Pollen so interessant ?**
 - 2.1 Ihre Größe und Gestalt
 - 2.2 Die Grundlagenforschung
 - 2.3 Die angewandte Palynologie
 - 2.4 Die Arbeitsgebiete für den Amateur
 - 2.5 Die junge Wissenschaft
 - 2.6 Einfaches Beschaffen und Präparieren
- 3 Pollen sammeln**
 - 3.1 Die Utensilien
 - 3.2 Der Pollenkalender
 - 3.3 Womit beginnen ?
 - 3.4 Wir sammeln Windpollen
 - 3.5 Wir sammeln Insektenpollen
 - 3.6 Die Aufbewahrung
 - 3.7 Die Handzentrifuge
- 4 Pollen präparieren**
 - 4.1 Zweck der Präparate
 - 4.2 Pollen-Kurzpräparate
Glycerin; Luft und UHU; Luft und Klebeband;
Apathy; Chloralhydrat
 - 4.3 Pollen-Dauerpräparate
Glyzeringelatine; Gelatinol; Polyvinylactophenol;
Berlesegemisch; Balsam
 - 4.4 Pollen färben
Tusche; Eosin; Alcianblau; Eisenhämatoxylin
 - 4.5 Rezenten Pollen fossilisieren
 - 4.6 Fossilen Pollen verarbeiten
- 5 Rezepte**
- 6 Sammelkalender**
- 7 Definitionen:** Pektine, Kutin, Sporopollenin
- 8 Literatur**

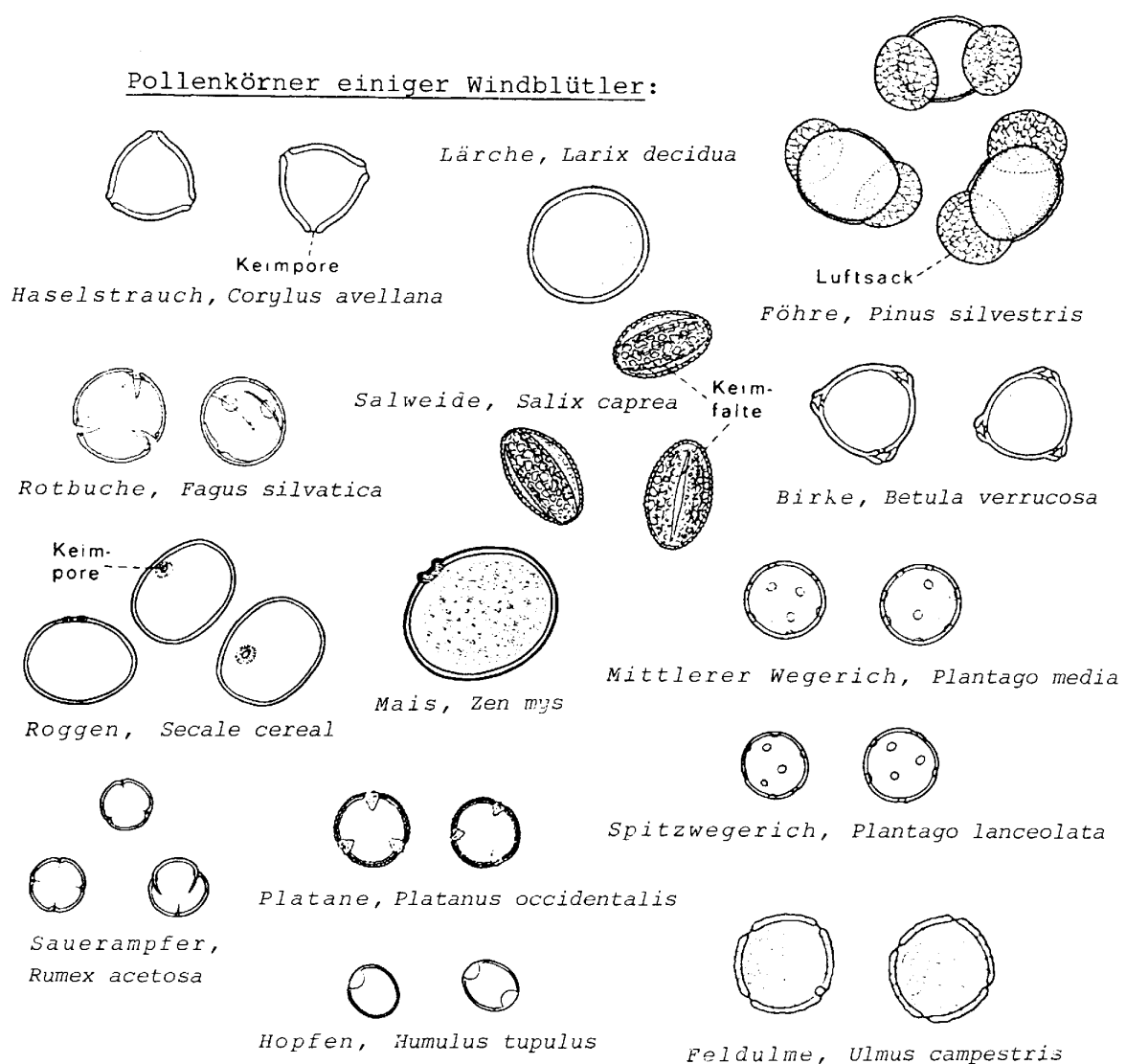
1 Der Pollen "als solcher"

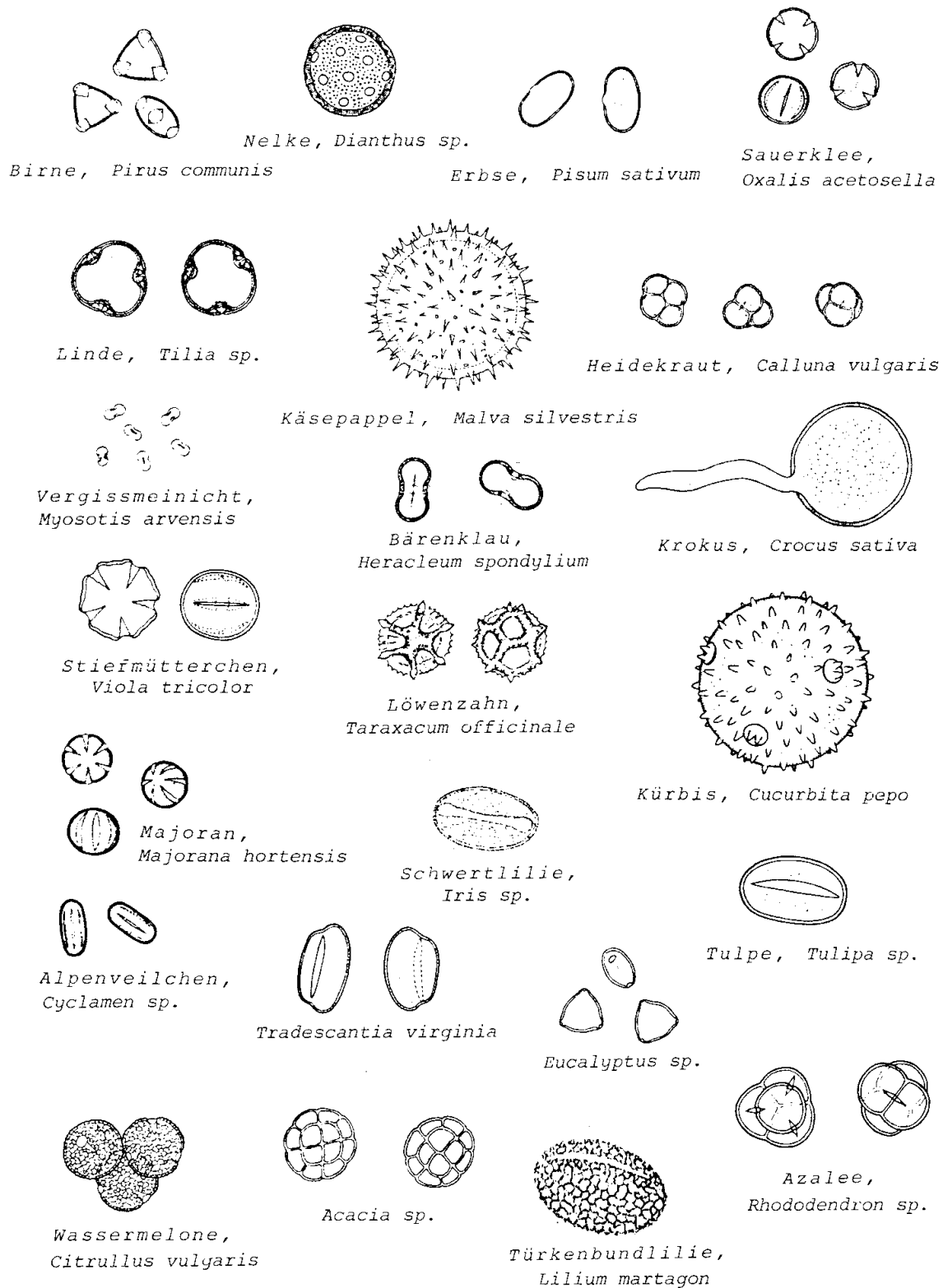
1.1 Die Funktion

Das Pollenkorn ist die männliche Keimzelle der Blütenpflanze. Es entsteht im Pollensack der *Anthere* (Staubbeutel). Jede Anthere enthält mehrere, meist vier Pollensackkammern, die – in Homologie zu den Farnpflanzen, aus denen die Blütenpflanzen entstanden sind – *Mikrosporangien* genannt werden. Aus den Pollenmutterzellen entstehen durch Reduktionsteilung *Mikrosporen*, die wir als Pollenkörner kennen. Sie sind für jede Pflanzenart von typischer Gestalt. (Literatur: 10, 11)

1.2 Die Form und die Größe

Die Abbildungen vermitteln einen Eindruck von der Formenvielfalt. (31)



Pollen einiger wichtiger Tierblütler:

Ebenso artspezifisch wie seine Gestalt ist die Größe des Pollenkorns, nämlich zwischen 5 und 100 µm.

Windpollen haben meistens glatte, rundliche, trockene Oberflächen. **Insektenpollen** sind meist klebrig, mit Vorsprüngen, Warzen oder Dornen ausgestattet. (31, 35, 36, und 50)

1.3 Der Aufbau des Pollenkorns

Den äußeren Abschluß des Pollenkorns, seine Haut, bilden zwei Membranen. Die innere, *Intine* genannt, liegt der äußeren, der *Exine*, dicht an. Die Intine ist zart, aus ihr geht der spätere Pollenschlauch hervor. Sie besteht hauptsächlich aus *Pektinverbindungen* (Definition siehe Abschnitt 7).

Die Exine hingegen ist sehr widerstandsfähig, mitunter mehrschichtig aufgebaut und zeigt die arttypischen Verdickungen und Unebenheiten, wie Dornen, Leisten, Warzen. Sie weist außerdem Stellen auf, die für den Austritt des Schlauches vorgesehen sind: Poren oder Keimfalten. Nur hier kann der Schlauch hinaus, denn die Exine ist zu robust, um durchbrochen zu werden. STRASBURGER nannte den Baustoff der Exine *Exinin*, ein den *Kutinen* ähnlicher Stoff (Definition s. Abschn. 7). Er löst sich nicht in konzentrierter Schwefelsäure, wird von ihr nur rotbraun gefärbt. Chlorzinkjod färbt meist gelbbraun, konzentrierte Kalilauge rötlich bis braun, darin Kochen zerstört die Exine nicht. Diese Robustheit ist die Ursache dafür, daß wir in Mooren und im Seegrund Pollen finden, die dort unter Luftabschluß Jahrtausende überdauert haben. Diesen Erhaltungszustand macht sich die Pollenanalyse zunutze.

Die einfachsten, primitivsten Pollenformen oder *Polligranen* sind die der hydrophilen Pflanzen. Bei uns gibt es nur wenige davon, z. B. die Ceratophyllen (im Aquarium) und die Najaden in der Ostsee (Horn- und Nixkräuter). Ihnen fehlt die Exine.

2 Was macht Pollen so interessant ?

2.1 Ihre Größe und Gestalt

Ihre Winzigkeit zwischen 5 und 100 µm schließt andere Beobachtungsmittel als das Mikroskop aus. Pollenkunde ist also ein exklusives Gebiet für Mikroskopiker. An Objektiven braucht man zur Übersicht einen Achromaten 10:1. Für Bestimmungen 40:1 und zum Studium des Feinbaus und für schwierige Bestimmungsfälle eine Ölimmersion 100:1. Notfalls wäre auch die Kombination 25:1 und 100:1 ausreichend. Planobjektive sind nicht notwendig.

Hellfeldbeleuchtung genügt nicht nur, sie ist sogar ideal, zeigt alles, was zu erkennen ist. Wenn also Hellfeld die Beleuchtung der Wahl ist, so sind es auch Hellfeldobjektive. Phasenkontrast bringt wenig an Erkenntniswert, und Phasenkontrastobjektive im Hellfeld benützt, vermindern Apertur und Auflösung merklich.

Manche Oberflächenstrukturen erkennt man recht gut im Dunkelfeld. Dazu wäre wegen der kugeligen Gestalt der Pollenkörner ein Kardiod-Dunkelfeldkondensor theoretisch am geeignetsten, aber schon eine behelfsmäßige, selbstgebastelte Dunkelfeldblende ist ein Gewinn. Ebenso schiefe Beleuchtung.

Die arttypische Gestalt des Pollenkorns ermöglicht – bei einiger Übung – die sofortige Bestimmung. Man ist nicht, wie bei Bakterien oder Pilzsporen, auf langwierige Versuche, Isolierung und Kultur angewiesen.

2.2 Die Grundlagenforschung

- Pollen- und Sporenmorphologie liefert die rein beschreibenden Grundlagen über den Bau der Sporen- und Pollenwandung. Es existiert eine eigene, sehr umfangreiche Terminologie (28, 50).
- Theoretische Grundlagen der angewandten Palynologie. Z. B. Produktion, Ausbreitung, Ausbreitung von Pollenkörnern (Aeropalynologie); unterschiedliche Widerstandsfähigkeit der Sporen- und Pollenwände in verschiedenen Medien (35, 36, 50).

2.3 Die angewandte Palynologie

- **Systematische Palynologie:** Pollenmorphologie wird mit Erfolg bei der Aufstellung von systematischen Einteilungen oder Verwandtschaftsbeziehungen herangezogen.
- **Geo- oder Paläopalynologie ("Pollenanalyse"):** Vegetations- und Klima-Vorgeschichte (Hochmoore!); Altersbestimmung von Vulkanausbrüchen, Datierung von vorgeschichtlichen Funden, von Gletscher- und Meeresspiegelschwankungen.
- **Fluoreszenz-Palynologie:** Mit ihrer Hilfe kann das Alter der Exine bestimmt werden.
- **Kryopalynologie (Gletscherkunde)**

- **Melitopalynologie: Honigpollenanalyse** zur Bestimmung von Tracht, Pflanze, Herkunftsland.

Einfache Methode: Honigprobe mit 2 bis 4 Teilen Leitungswasser verdünnen, zentrifugieren oder 24 Std in Spitzkelch (Malteserschnapsglas) sedimentieren lassen. Von Sediment und auch von Wasseroberfläche Proben mit Pipette absaugen, auf Objektträger, Deckglas auflegen. Vorsicht vor klebrigem Honig auf Objektiv-Frontlinse! (29, 53, 55)

- **Pharmakopalynologie:** Bestimmung von Pollen in Drogen zur Prüfung der Echtheit.
- **Iatropalynologie:** Anwendung in der Medizin (Allergien: Pollinosis, Heufieber).
- **Kopropalynologie:** Pollen in rezentem und fossilem Tierkot läßt Bestimmung der Futterpflanzen zu.
- **Forensische Palynologie:** Tat- und Aufenthaltsortbestimmung in der Kriminologie.
- **Phytopathologische Palynologie:** Sporenkunde zur Ausbreitung von Pflanzenkrankheiten (parasitische Pilze).

Auch Pollen können von Pilzen befallen werden: *Rhizophidium pollinis*, Algenpilz, ca. 5 bis 10 µm, treibt zarte Saugfäden in das Pollenkorn.

2.4 Die Arbeitsgebiete für den Amateur

Von den genannten Arbeitsgebieten eignen sich besonders und für den Anfang: Pollenanalyse, Honigpollenanalyse, und Aeropalynologie.

2.5 Die junge Wissenschaft

Die Pollenanalyse ist mit nur 100 Jahren eine recht junge Wissenschaft. Selbst die Literatur aus der Anfangszeit ist noch vollständig und leicht zugänglich, die Originalliteratur sogar überwiegend in deutscher Sprache. Eine stattliche Zahl von Forschungsinstituten in aller Welt beschäftigt sich seit Jahrzehnten ausschließlich mit Pollen und Sporen und veröffentlicht ihre Befunde in eigenen Fachzeitschriften.

2.6 Einfaches Beschaffen und Präparieren

Der Grundstock an Chemikalien und Gerätschaften ist nicht umfangreich. Am Mikroskop genügen einfache, gute achromatische Hellfeldobjektive.

3 Pollen sammeln

3.1 Die Utensilien

Pollen sammelt man auf Feld-, Wald- und Wiesenspaziergängen, im Park und im Garten. Eine Anzahl kleiner Gläschen bzw. einige Papier- oder Zellophantütchen kann man immer mit sich führen, sie belasten nicht. SCHWEGLER (44) empfiehlt einen Taschenkalender mit glattem Papier. Auf jede vierte Seite kann man die Blüten einer Art abdrücken oder Kätzchen ausstäuben, bis ein gut sichtbarer Fleck in der Pollenfarbe entsteht. Mit Bleistift Pflanzennamen notieren. Haltbar Wochen bis Monate. Auf Objektträger abdrücken oder sanft abschaben mit Deckglas.

3.2 Der Pollenkalender

Ein behelfsmäßiger Blütezeitkalender für unsere häufigsten Bäume findet sich im Kapitel 6, ein professioneller ist im Literaturverzeichnis erwähnt (47).

Wer ein Bestimmungsbuch für Bäume, Sträucher oder Gräser mitnimmt, beachte, daß es in die Tasche paßt und daß es sich überhaupt für Bestimmungen eignet. Diese beiden Bedingungen – sonst eher gegensätzlich – sind bei Büchern über Bäume und Sträucher durchaus vereinbar – siehe z. B. 42, 43.

3.3 Womit beginnen ?

Es ist sehr ratsam, zunächst mit Pflanzen zu beginnen, die Pollen in größerer Menge hervorbringen, also Kieferngewächse, Hasel, Birke, Pappel, Weide, Hainbuche, Linde, verschiedene Korbblütler u. a.. Es erleichtert die erste Sammeltätigkeit und man wird rascher mit der Präparationstechnik vertraut.

Windblütler produzieren ungleich mehr Pollen als Tierblütler. Beispiele: Sauerampfer je Sproß ca. 400 Millionen Pollenkörner; Nadelwälder in Schweden jährlich ca. 75.000 Tonnen.

3.4 Windpollen sammeln

Saubere Stopfen- oder Deckelgläschen (Achtung auch auf saubere Korken und Deckel!); auch saubere Papierbogen oder Zellophantütchen. Plastiktüten sind nicht so gut geeignet, weil die Pollenkörner wegen der statischen Aufladung des Kunststoffs innen anhaften und nur schwer auszuschütten sind. Sofortige Etikettierung, Selbstklebeetiketten; Bestimmungsbuch.

Kätzchen bis zum Rand in die Gläser pressen und sofort nach Rückkehr verarbeiten, sonst Verpilzung.

Kätzchen auf Karton ausbreiten, mit sauberem, ungeleimtem Papier zudecken. Abstand halten zwischen mehreren Arten, am besten in verschiedenen Räumen.

Wenn lufttrocken: Karton zur Rinne biegen, vorsichtig Beimengungen abklopfen, Pollen in ein Glas schütten; ca. 1 cm³ Eisessig dazugeben, verschließen. Einige Tage stehen lassen oder auch länger aufbewahren.

In der Wohnung kann man besser Vorsorge gegen Verunreinigung der Sammelprobe treffen. Es ist also nicht notwendig, Kätzchen draußen, im Freien auszustäuben. Dadurch würden Hände, Haare, Jackentaschen usw. voller Blütenstaub. Sauberes Arbeiten wäre dann nicht mehr möglich, jede weitere Sammelprobe würde auf diese Weise verunreinigt. Gefahr der Verunreinigung evtl. "statistisch" durch große Sammelmenge mindern.

Besser ist es, Kätzchen vorsichtig in ein Sammelglas zupressen, während sie noch am Zweig hängen, und dann im Glas vom Zweig mit einer Schere abzuschneiden. Dabei stäubt es am wenigsten.

3.5 Insektenpollen sammeln

Mit sauberer, jedes Mal zu reinigender Pinzette den Blüten die Staubbeutel entnehmen, in saubere Gläschen o. ä. geben; auf Objektträger zerzupfen, dann mit 1 cm³ Eisessig in Vorratsgläschen. Größere Materialmengen vorher trocknen.

3.6 Pollen aufbewahren

Die erste Stufe der Verarbeitung ist damit beendet: Aufbewahrung in Eisessig. Man kann die Pollen nun für längere Zeit aufheben oder bald weiter verarbeiten.

3.7 Die Handzentrifuge

Eine Handzentrifuge ist für die weiteren Arbeitsschritte sehr nützlich. Obwohl sie ein recht einfaches Instrument ist, sollte man die Gebrauchsanleitung sorgfältig beachten. Für den Anfang genügt aber auch **Sedimentieren** in Spitzgläsern.

4 Pollen präparieren

4.1 Zweck der Präparate

Im Gegensatz zu anatomischen Präparaten, wie Schnitte durch Stengel, Blätter, Blüten, tierische Organe, an denen man Aufbau und Funktionsweise studiert, dienen Dauerpräparate von Pollen eigentlich nur zur Bestimmung, als Vergleichsmuster zur Identifizierung. Deshalb ist darauf zu achten, daß die Pollen in ihrer typischen Gestalt im Dauerpräparat zu sehen sind. Sie wird beeinflusst von der Lage des Pollenkorns, seinem Quellungszustand, von der Präparationsmethode (Fixierung, Färbung) und vom Einschlußmittel.

Im Gegensatz zu diesen Pollen-Mustern in Dauerpräparaten werden diejenigen Pollenkörner, die bestimmt werden sollen, nicht in Dauer- sondern in Kurzpräparaten aufbereitet.

4.2 Pollen-Kurzpräparate

4.2.1 Einschluß in Glycerin

1. 1 Tropfen Glycerin (DAB 7) auf sauberen, mit Brennspritus gereinigten Objektträger.
2. Windpollen: Mit Lanzettnadel Pollen in den Tropfen rühren. Insektenpollen: Größere Antheren (z. B. Amaryllis, Clivia, Malva) über Tropfen hängen, mit Präpariernadel Pollenstaub abschaben; Blüten mit kleinen Antheren: Ganze Blüte über Glycerintropfen hängen, Antheren abklopfen, vorsichtig – damit keine Unreinheiten hineinfallen; zusammengeklebte Pollenpakete: Rühren mit Präpariernadel im Glycerin, Objektträger dabei nicht berühren, sonst Kratzer!
3. Deckglas auflegen. Kontrolle: Luftblasen an Pollen ? Bei kurzem Erhitzen wandern Blasen rasch zum Deckglasrand. Spiritusflamme. Vorsicht beim Erhitzen des Objektträgers auf der Herdplatte: Kann fettig werden!
4. Deckglas kurze Zeit beschweren (Schraube).
5. Nach Verdunsten oder Absaugen des unter dem Deckglas hervorgetretenen Glycerins: eine Schicht Umrandungslack auftragen.
6. Das Pollenpräparat ist jetzt monatelang haltbar.

4.2.2 Einschluß in Luft

4.2.2.1 In Luft mit UHU-Rand: Blütenstaub auf Objektträger streuen; breite Umrandung mit UHU streichen. Deckglas auflegen. Pollen schrumpfen meist etwas ein. Lebensdauer bis ca. 5 Jahre.

4.2.2.2 In Luft mit Klebeband: Blütenstaub auf sauberen Objektträger aufstreuen. Objektträgerbreites Tesa-Band an der Schmalseite des Objektträgers ankleben, straff spannen und sorgfältig auf den Objektträger streichen. Klebeband muß dicht anliegen, sonst sind nur schwarze Luftblasenränder sichtbar.

Überstehende Klebestreifenränder mit kurzem Ruck über Objektträgerkante abreißen. Die Pollen sollen nicht zu dicht liegen. Haltbar mindestens 2 Jahre; splitterfest, gut für Schulzwecke. Präparat kann bis ca. 300-fach vergrößert betrachtet werden.

4.2.2.3 Mit Kittmasse nach Apathy: Vom Referenten nicht ausprobiert.

4.2.3 Einschluß in Chloralhydrat: Vom Referenten nicht ausprobiert.

4.3 Pollen-Dauerpräparate

4.3.1 Präparate vom ganzen Pollenkorn

4.3.1.1 Einschluß in Glyzeringelatine

Der Glyzeringelatine-Einschluß ist – was immer man über die Glyzeringelatine sonst sagen mag – für Pollen am vorteilhaftesten und seit über 100 Jahren bewährt. Die Pollenkundler nehmen allerdings eine besondere, nicht die übliche nach KAISER, sondern nach Prof. KISSER. Der kritische Teil ist die Umrandung mit Deckglaslack. Über hundert Jahre Erfahrung in mikroskopischer Technik haben noch keinen "haltbaren Lack" hervorgebracht, die veröffentlichten Rezepte sind Legion. Das im folgenden angegebene Verfahren ist dennoch bewährt, der Lack haftet viele Jahrzehnte bombenfest.

1. Materialliste für den Einschluß

- .1 Pollen
- .2 kleines Reagenzröhrchen mit Stopfen
- .3 spitze Pipette
- .4 Aqua dest. (Achtung beim Kauf: Man bekommt mitunter ungefragt nur entsalztes Wasser für Bügeleisen, Batterien. Aqua dest. für bakteriologische Arbeiten verlangen (!) oder selber destillieren.
- .5 Fixiergemisch nach KISSER siehe Rezept 1
- .6 Eisessig (= reine, konzentrierte Essigsäure, 98-100%ig)
- .7 Handzentrifuge; nicht unbedingt erforderlich, aber sehr nützlich.
- .8 Objektträger; Deckglas
- .9 Deckglasschachtel
- .10 "Käseglocke" oder andere Abdeckhaube gegen Staub
- .11 Präpariernadeln, spitz und lanzett
- .12 Deckglaspinzette
- .13 Wärmebänkchen oder Herdplatte (Vorsicht vor Fett auf der Platte); beides nicht zwingend notwendig
- .14 Spirituslämpchen, Zündhölzer
- .15 Glyzeringelatine nach KISSER (nicht die übliche nach KAISER!), siehe Rezept 2
- .16 Lupe, ca. 6fach
- .17 "Schraube" als Gewicht

2. Arbeitsablauf beim Einschluß

- .1 Fixiergemisch nach KISSER (Rezept 1) in kleines Reagenzröhrchen.
- .2 Eine Messerspitze Pollen hinzu; dann 3 bis 6 Stunden im Dunkeln fixieren, dabei wiederholt aufschütteln. Nachdem sich die Pollen das letzte Mal gesetzt haben:
- .3 mit Pipette absaugen und in Aqua dest. mit gleicher Methode auswaschen; mehrmals. (Dieser Waschvorgang geht schneller mit der Handzentrifuge.)
- .4 Dekantieren, Gläschen umgekehrt auf nicht faserndes Filterpapier stellen, abwarten. (Wie oben .3 und .4 werden auch in Eisessig aufbewahrte Pollen behandelt.)
- .5 Objektträger und Deckglas mit Brennspritus reinigen; Deckglas für raschen Zugriff mit Pinzette "überstehend" auf Deckglasschachtel legen, alles sofort mit "Käseglocke" als Staubschutz abdecken.
- .6 Mit Lanzettnadel ein senfkorngroßes Stück Glyzeringelatine auf Objektträger geben, zudecken. Nadel reinigen.
- .7 Objektträger vorsichtig erwärmen bis Glyzeringelatine geschmolzen.
- .8 In den geschmolzenen Tropfen vorsichtig Pollen zugeben.
- .9 Eventuelle Luftblasen mit Lupe feststellen und mit heißer Nadel aufstechen.
- .10 Erwärmtes Deckglas auflegen, leicht andrücken bzw. das Präparat mit dem Deckglas nach unten auf einen Gegenstand legen, der kleiner als das Deckglas ist. Erstarren lassen. Die Pollenkörner liegen jetzt direkt am Deckglas (wichtig bei Verwendung starker Trockenobjektive oder der Ölimmersion).
- .11 2 bis 14 Tage in Präparatmappe flach liegend (!) aufbewahren.

3. Materialliste für Reinigung und Lackring

- .1 Pinsel mit kurzen, harten, weißen Borsten
- .2 Bleiglätte (PbO), gelbes Pulver (Achtung: es gibt auch rotes!)
- .3 alte Lanzettnadel
- .4 Haarpinsel, am besten Nr. 1, für Bleiglätte
- .5 Marderhaarpinsel Nr. 1 für Deckglaslack
- .6 Umrandungslack, immersionsölfest, z. B. von Chroma
- .7 (eventuell) Lackverdünner: Aceton

4. **Arbeitsablauf** beim Reinigen und beim Lackring

- .1 Nach 14 Tagen: Deckglasrand mit alter Lanzettadel umfahren und ausgetretene Glyzeringelatine auf diese Weise abschneiden und als Häutchen abziehen. Alle gröberen Partikel entfernen.
- .2 Mit Pinsel 3.4 (s. o.) Bleiglätte aus Vorratsglas aufnehmen und überall dort eine mäßige Pulverschicht aufputzen, wo sich Glyzeringelatine-Reste befinden, also rund um das Deckglas usw.
- .3 Mit Weißborsten-Pinsel 3.1 Bleiglättepulver so lange scheuernd über die zu reinigende Glasfläche führen, bis alle glyzeringelatinefeuchten Teile von der Bleiglätte aufgenommen und mit Hilfe des schnellenden Pinsels entfernt sind. Durch Abschnellen des Pinsels am Objektträgerrand wird dieser ebenfalls staubfrei. Die ganze Prozedur .2 und .3 am besten über dem Waschbecken im Bad, nicht in der Küche! Anschließend Pulverreste im Waschbecken wegspülen. Noch besser: auf Balkon oder Terasse. Die Mengen an "Chemikalienstaub", die dabei in die Gegend verstreut werden, sind außerordentlich klein.
- .4 Das Bleioxid bildet mit dem Glycerin der Gelatine in kürzester Zeit einen steinharten Kitt, entzieht der Glyzeringelatine am äußersten Rand das Glycerin und überzieht ihre Oberfläche mit einer harten Schicht, die außen gut abschließt, den Lack gut annimmt und ihn dauernd festhält.
- .5 Mit Pinsel 3.5 (am besten auf Lackring-Drehscheibe) Ring ziehen, auf lückenlose Verbindung achten. Wenn völlig lufttrocken, zweite Schicht, später dritte. Zu dünner Lack zerfließt, zu dicker kleckst; Pinsel steil halten.

4.3.1.2 Einschuß in Gelatinol

Soll sich bei dunklen Pollen bewährt haben, da es sie etwas aufhellt. Vom Referenten nicht ausprobiert.

4.3.1.3. Polyvinylactophenol

hellt ebenfalls etwas auf, was durch Milchsäurephenol bewirkt wird. Dieses sehr einfach anzuwendende Einschußmittel wird jedoch nie vollständig hart, weshalb sorgfältige Lagerung erforderlich ist. Es entstehen sehr leicht Luftblasen, die kaum entfernbar sind. Auch quellen die Pollenkörner mitunter erheblich stärker als in Glyzeringelatine, sie haben dann eine mehr rundliche, "aufgeblasen" wirkende, untypische Form.

Meine Versuche mit diesem Einschußmittel, möchte ich als nicht erfolgreich bezeichnen.

4.3.1.4 Berlesegemisch

hellt ebenfalls auf. Hoher Brechungsindex. Nicht probiert.

4.3.1.5. Einschuß in Balsam, z. B. Malinol

Nach Färbung zu empfehlen, z. B. mit Eosin oder Alcianblau oder Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN.

Im allgemeinen genügt Glyzeringelatine nach Kisser allen Ansprüchen, so daß die anderen Einschußmittel nur für besondere Zwecke und Beobachtungen zu empfehlen sind.

4.4 Pollen färben

4.4.1 Mit Tusche

Hochwertige Zeichentusche oder bakteriologische Tusche (z. B. BURRI-Tusche von CHROMA), verdünnt mit Aqua dest.

- .1 Ein kleiner Tropfen verdünnter Tusche auf Objektträger, daneben ein kleiner Tropfen mit angereichertem Pollenmaterial.
- .2 Beide Tropfen mit Präpariernadel verrühren. Vorsicht vor Kratzern auf dem Objektträger!
- .3 Mit der Kante eines zweiten Objektträgers möglichst dünn ausstreichen (wie bei Blutaussstrichen); lufttrocknen.
- .4 Einschuß in Balsam. Die Pollenkörner sind ungefärbt auf dunklem Untergrund gut sichtbar.

Haltbarkeit unbekannt, wahrscheinlich beliebig lange.

4.4.2 Mit Eosin und Einschluß in Balsam

4.4.3 Alcianblau

Besonders geeignet für Kerndarstellungen sind große Pollenkörner mit relativ dünnen Wänden, z. B. Lilie.

- .1 Pollen in Alcianblaulösung einstreuen, färben ca. 1 Tag.
- .2 Farblösung abgießen, ohne viele sedimentierte Pollen zu verlieren.
- .3 Pollen mit Präpariernadel in der Objektträgermitte anreichern.
- .4 1 Tropfen Glyzeringelatine auf Objektträger bringen, den Tropfen mit Pollenaufschwemmung vorsichtig einrühren, Luftblasen vermeiden.
- .5 Mit Deckglas abdecken.

Kerne blau, der generative Spermakern zeigt dichtere Knäuelstruktur.

Alcianblaulösung hält sich nicht lange, immer frisch ansetzen.

4.4.4 Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN

(soll sich auch für fossilisierte Pollen bewährt haben.)

Mehrere Autoren vermelden hervorragende Resultate; s. a. STEHLI, Mikroskopie für Jedermann.

- .1 Pollenkörner oder Schnitte davon aus Aqua dest. für 3 bis 12 Std in Eisenalaun (2,5 %ig) zum Beizen.
- .2 Benützte Beize nicht wegschütten, jedoch nicht mehr zum Beizen verwenden!
- .3 Präparat mehrmals kurz in Aqua dest. abspülen und 1 bis 36 Std in Hämatoxylin nach HEIDENHAIN färben.
- .4 Spülen in Aqua dest.
- .5 Rückübertragen in Eisenalaunlösung zum Differenzieren. Es genügt die schon gebrauchte Lösung (siehe Ziff. .2).
- .6 Achtung: Mikroskopische Kontrolle: Schnitte und Körner verlieren schnell die Farbe. Herausnehmen bzw. abspülen, sobald Konturen und Strukturen klar sind, sobald sie durchsichtig werden. Abspülen in *Leitungswasser* (entspricht "Brunnenwasser" nach ROMEIS). Auf keinen Fall in Aqua dest! Mikroskopische Kontrolle: Wenn gut, in Leitungswasser gründlich auswaschen, ca. 10 min. Wenn noch nicht gut: weiter differenzieren, evtl. in verdünnter Eisenalaunlösung.

Eine Gegenfärbung ist möglich mit Orange G oder Lichtgrün bzw. Fastgreen FCF, jedoch ohne Gegenfärbung ebenfalls sehr übersichtlich und klar.

Einschluß nach Wässerung über Xylol in Balsam, z. B. Malinol, oder auch ohne Gegenfärbung in Gelatinol.

4.5 Rezenten Pollen fossilisieren

Fossile Pollen aus Hochmooren, vom Seegrund oder aus Gesteinsschichten sind im Laufe der Jahrtausende durch Druck und Scherkräfte deformiert oder zerrissen worden. Nur selten findet man ein Korn in der ursprünglichen "Idealform". Die Aufbereitung solcher Proben mit Kalilauge, Natriumchloratlösung, Salz- oder Schwefelsäure hinterläßt dann noch zusätzlich ihre Wirkungen, gibt ihnen sozusagen den Rest. Die Pollenkörner entsprechen nun nicht mehr den Idealformen, wie sie in den Dauerpräparaten nach Ziff. 4.3 vorliegen oder in Lehr- bzw. Bestimmungsbüchern abgebildet sind. Hinzu kommt, daß nach so langer Zeit vom Pollenkorn nur noch die Exine übrig geblieben ist und es nicht mehr sehr "ähnlich" ist. Deshalb bereitet man selbstgesammelte rezente Pollen zu Vergleichspräparaten so auf, daß sie den zerquetschten und aufgeplatzten fossilen gleichen, man "fossilisiert" sie. Ohne solche Vergleichspräparate ist die zuverlässige Bestimmung der fossilen Pollen bei der Pollenanalyse nicht möglich.

1. Materialliste für die Fossilisierung

- .1 Essigsäureanhydrid ("reinst")
- .2 Schwefelsäure (H_2SO_4), konz., nicht rauchend
- .3 (Hand-)Zentrifuge (braucht man für diesen Arbeitsprozeß unbedingt!)
- .4 Wasserbad-Topf, ca. 10 cm tief
- .5 Stativ mit Reagenzglasklammer und Reagenzglas
- .6 Thermometer bis 150 °C
- .7 Meßpipette
- .8 Glasstab
- .9 Aceton oder Isopropanol (Isopropylalkohol)
- .10 Glycerin, weiß, DAB 7
- .11 Zum Bleichen: Natriumchlorat NaClO_3 -Lösung (1 Gewichtsteil NaClO_3 -Kristalle, 2 Teile Aqua dest.); Salzsäure HCl konz.
- .12 Glyzeringelatine nach KISSER

➡ weiter wie bei 4.3.1.1, .1 und .3.

2. Arbeitsablauf beim Fossilisieren

- .1 Herstellen des Azetolysierungsgemisches nach ERDTMAN – siehe Rezept 4; je Probe ca. 10 ml, da das Gemisch nach "einigen Stunden seine Wirksamkeit verliert".
- .2 Vorratsgläschen mit Pollen in Eisessig aufschütteln, möglichst vollständig in Zentrifugenglas schütten.
- .3 Zentrifugieren, ca. 30 sec, bei "nicht zu hoher Tourenzahl". Dekantieren.
- .4 Bodensatz mit ca. 10 ml Azetolyseflüssigkeit nach Ziff. .1 übergießen; bei "geringen Materialmengen entsprechend weniger".
- .5 Zentrifugenglas (.4) in Wasserbad setzen: Kochtopf, ca. 10 cm tief: Glas mit hölzerner Stativklammer; Achtung: Wassertemperatur beim Einsetzen nicht höher als 70 °C, damit das Zentrifugenglas nicht zerspringt. (Heftige Reaktion des Azetolysegemisches mit Wasser!)
- .6 Wasserbad erhitzen. Dabei Pollenmaterial mit Glasstab vorsichtig mehrmals aufwirbeln.
- .7 Sobald das Wasser kocht: Wärmezufuhr beenden, Röhrchen vorsichtig herausnehmen und
- .8 zentrifugieren; ca. 1 min; Azetolyseflüssigkeit abgießen.
- .9 Wasser auffüllen, ca. 10 ml; Daumen drauf, durchschütteln; wenn Schaum, einige Tropfen Aceton oder Isopropanol hinzugeben.
- .10 zentrifugieren, abschütten.
- .11 Glycerin verdünnen; einige ml verdünntes Glycerin (1:1 mit Aqua dest.) zugeben, aufschütteln; 15 min stehen lassen.
- .12 Menge nach Aufrütteln halbieren, Hälfte in zweites Zentrifugenglas; 4 bis 5 ml Eisessig zur zweiten Hälfte, 1 bis 2 Tropfen Natriumchloratlösung dazu (1 Gewichtsteil NaClO_3 -Kristalle + 2 Teile Aqua dest.); 1 bis 2 Tropfen konz. Salzsäure dazu, mit Glasstab umrühren. Bleichung ist (meistens!) nach wenigen Sekunden beendet.
- .13 Zentrifugieren; abgießen.
- .14 Waschen mit 10 ml Wasser: zentrifugieren; abgießen.
- .15 Mit erstem Gläschen (ungebleichte Pollen) zusammenmischen.
- .16 Zentrifugieren, dekantieren, Glas umgekehrt mit Oberseite nach unten auf nicht fuselndes Filtrierpapier stellen.
- .17 Pollen einschließen.
- .18 Pollenreste aufbewahren: In Präparategläschen, konz. Glycerin hinzu, verschließen.

ENDE

Anmerkung zu .17: Wie bei 4.3.1.1 2. .5 ff

4.6 Fossilen Pollen verarbeiten

Die bisherigen Rezepte und Verfahrensweisen galten – von einigen hübschen Färbungen abgesehen – der Anfertigung von Vergleichspräparaten. Wer ein geeignetes Hochmoor oder einen Seegrund in der Nähe weiß, kann sich nun der eigentlichen Disziplin, der Pollenanalyse widmen. Sie ist nicht Gegenstand dieses Einführungsreferates.

Die Entnahme von Moorproben aus einem Torfstich, ihr Aufschluß, das Gewinnen der Pollen, das Auszählen der Pollenarten, das Anfertigen eines Pollendiagramms sind nicht schwieriger als die bisher geschilderten Methoden für die Vergleichspräparate.

Für den Anfang ist die kleine Schrift von FILZER: *Kleines Praktikum der Pollenanalyse*, Sonderdruck aus MIKROKOSMOS 1956, sehr empfehlenswert. Dort sind alle notwendigen Schritte und Handgriffe eingehend beschrieben (15).

Man beachte im Großraum München:

Pollenanalysen sind nur dort möglich, wo Pollen jahrtausendlang unter *völligem Luftabschluß* überdauert haben, also im anaeroben Seegrund und in Hochmooren, in denen die durch Sphagnum gebildete Torfschicht so dicht, fest und hoch gewachsen ist, daß sie vom Grundwasser und dem darin enthaltenen Sauerstoff getrennt ist. Das ist in Tief- oder Flachmooren (der Vorstufe von Hochmooren) nicht der Fall, dort hat der Sauerstoff im Wasser Zutritt zur Sphagnum-/Torfschicht und den darin eingebetteten Pollen: Sie verrotten so gründlich, daß man im Flachmoor kaum Pollen finden kann. Das trifft in unserer Münchener Gegend zu auf die Isar- und Ampermoore, wie das Dachauer, Graßfinger und Hackenmoos, die alle auf dem Kies- und Schottergrund des Isarschwemmlandes gewachsen sind und fast an allen Stellen noch lange genug Kontakt zum Wasser hatten. Hochmoore gibt es noch im Nordwesten von München (*Haspelmoor* und das *Wildmoos*), im Süden bei *Münsing* oberhalb des Starnberger Sees, das *Königsdorfer Filz* und von da an südlich überall bis zu den Alpen. Auch in Oberschwaben existieren noch etliche lohnende Hochmoore. In Norddeutschland gibt es *nur* Hochmoore, oft von beachtlicher Größe. Dort und noch nördlicher, in Schweden, ist auch die Pollenanalyse entwickelt worden.

5 Rezepte

R 1 Fixiergemisch nach KISSER

Aqua dest.	90 ml
Formol 40 %ig	8 ml
Kupferazetat	10 mg
Milchsäure	5 Tropfen

(Essigsäure als Ersatz für die Milchsäure ist möglich)

Die ursprüngliche Farbe, z. B. Blattgrün bleibt im allgemeinen erhalten.

Glasröhrchen mit Fixiergemisch und Pollen in Abständen wiederholt schütteln; Fixieren und Schütteln im Dunkeln! Nach einigen Stunden, nachdem die Pollen sich zum letzten mal gesetzt haben, mit Pipette die Fixierflüssigkeit absaugen und nach der gleichen Methode wässern, mehrmals, zuletzt mit Aqua dest..

R 2 Glyzeringelatine nach KISSER (nicht KAISER!)

Blattgelatine (z. B. Gelatine extra von CHROMA)	50 g
Leitungswasser	175 ml
Glyzerein konz. reinst	150 ml
Karbolsäure	7 g (?)

Umrandungslack soll bei Anwendung dieser Methode nicht notwendig sein, aber es ist besser, wenn man umrandet. Anderenfalls ist man nie sicher, ob nicht Immersionsöl die Glyzeringelatine doch auflöst.

R 3 Glyzeringelatine – allgemeiner Arbeitsablauf

1. Die Blattgelatine muß absolut rein sein und säurefrei. Haushaltsgelatine ist nicht geeignet, da noch SO_2 vom Bleichen darin enthalten ist.
2. Gelatine muß in Aqua dest. gut vorgequollen sein.
3. Das Lösen darf nicht über offener Flamme, sondern nur im Wasserbad erfolgen. Bad max. 60 bis 80 °C.
4. Der Karbolsäurezusatz darf nicht in Form von fester oder verflüssigter Karbolsäure, sondern muß nach Beendigung des Lösungsvorgangs als gesättigte, wässrige Lösung erfolgen.
Vorsicht vor Staub!!!
5. 7 g Gelatine "I a" (Chroma, Stuttgart) in Becherglas mit 35 ml Aqua dest. übergießen und gut abgedeckt 24 Std quellen lassen.
6. Dann 38 ml reinstes Glyzerin zugießen und langsam im Wasserbad erwärmen.
7. Während des Lösungsvorgangs ab und zu mit sauberem Glasstab umrühren, ohne Luft in die Lösung zu bringen.
8. Nach völliger Lösung der Gelatine so lange im Wasserbad weiter erwärmen, bis alle Luftblasen entwichen sind, nicht mehr rühren!
9. Nun 7 ml gesättigte wässrige Karbolsäure vorsichtig zufließen lassen und durch vorsichtiges Umschwenken vermischen.
10. Abfüllen in kleine, weithalsige Gläschen von ca. 10 bis 20 ml Inhalt oder in Klemmdeckelgläser mit Weckring-Verschluß

Die darin erkaltete Glyzeringelatine ist gebrauchsfertig.

R 4 Azetolysegemisch nach ERDTMAN

Eisessigsäure / Eisessig / Essigsäureanhydrid

Essigsäureanhydrid, reinst 9 Volumenteile

Schwefelsäure H_2SO_4 , konz., nicht rauchend 1 Volumenteil

Vorsichtig mischen, H_2SO_4 Tropfen um Tropfen in den Essigsäureanhydrid fließen lassen, dann sorgfältig durchmischen. Die Temperatur steigt dabei auf ca. 70 °C. Beim Mischen evtl. kühlen (im kalten Wasser).

R 5 Bleichmittel für dunkle Pollen

1. Vor dem Versetzen mit Glyzerin mit etwas Eisessig übergießen und wenige Tropfen konz. Natriumchloratlösung und gleich viele Tropfen konz. Salzsäure HCl hinzufügen.
2. Nach kurzer Zeit (wenige Sekunden bis einige Minuten) zwei Mal waschen und zentrifugieren.

6 Sammelkalender

Februar	Schwarzerle / Roterle, <i>Alnus glutinosa</i> Hasel, <i>Corylus avellana</i>
März	Silberpappel, <i>Populus alba</i> Schwarzpappel, <i>Populus nigra</i> Grauerle, <i>Alnus incana</i> Zitterpappel / Espe, <i>Populus tremula</i> Feldulme / Rüster, <i>Ulmus carpinifolia</i> (<i>U. campestris</i>) Bergulme, <i>Ulmus glabra</i> (<i>U. montana</i>) Flatterulme, <i>Ulmus laevis</i> (<i>U. effusa</i>)

April	Eibe, <i>Taxus baccata</i>
	Salweide, <i>Salix caprea</i>
	Ahorn
	Birken
	Birnen, Kirschen, Zwetschgen, Pfirsich
	Weiden
	Eschen
	Fichte, Lärche
	Holunder
	Mistel
Mai	Bergahorn
	Rotbuche
	Apfel
	Eichen
	Kastanien
	Tanne, Kiefer
	Gräser!
Juni	Sommerlinde, Winterlinde
	Robinie ("Falsche Akazie", <i>Acacia pseudoacacia</i>)
	Glockenheide
	Gräser!
Juli	Silberlinde
	Heidekraut
	Gräser!

7 Definitionen

- **Pektine** [gr], makromolekulare Naturstoffe, die in den wachstumsfähigen Geweben der meisten höheren Pflanzen vorkommen und als Hauptbestandteil der Mittellamelle (Kittsubstanz zwischen den Zellen) für den Zusammenhalt des Gewebes wichtig sind. Sie liegen in den Pflanzen in unlöslicher Form (als sog. Protopektine) an andere Zellwandteile gebunden vor, können aber durch Hydrolyse in wasserlösliche Produkte überführt werden.

Pektine bestehen aus Pektinsäure, deren Carboxylgruppen z. T. mit Methanol verestert sind. Pektine werden vor allem aus Apfelresten, Schalen von Zitrusfrüchten und Zuckerrübenschnitzeln gewonnen; sie zeichnen sich durch ausgeprägtes Geliervermögen aus und finden daher in der Lebensmittelindustrie als Gelmittel Verwendung, ferner u. a. auch als Verdickungsmittel, Schutzkolloide und Emulgatoren in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie, sowie in der Film-, Lack-, und Klebstoffindustrie.

(Meyers enzyklopädisches Lexikon)

- **Kutin** (Cutin) [lat], wachsartiges Gemisch aus Erstern höher gesättigter und ungesättigter Bestandteile der Kutikula, des Abschlußgewebes pflanzlicher Sprosse und Blätter.

(Meyers enzyklopädisches Lexikon)

- **Exine** (Straka (50) Die Exine wird zu einem wichtigen Teil aus *Sporopollenin* aufgebaut. Das sind chemisch sehr widerstandsfähige hochpolymere Ester von Fettsäuren oder Carotinoiden; sie sind die widerstandsfähigsten Substanzen in der belebten Welt, die wir kennen.

8 Literatur (nur zur Einführung.)

Die mit * gekennzeichneten Publikationen befinden sich im Bestand der Bibliothek der Mikrobiologischen Vereinigung München e. V.

- (1) Aichele D. und Schwegler H.-W.: Unsere Gräser. 5. Aufl., , Stuttgart 1978
- (2) * Allan, R.: Blütenstaub. In: Mikrokosmos 4, 1910/11, 36-39
- (3) Antesberger, H.: Pollen erzählen Waldgeschichte. In: Kosmos 7/75, 278-281

- (4) * Armbruster, L. / Jacobs: Pollenformen und Honigherkunftsbestimmung. Berlin 1934/5
- (5) Armbruster, L. / Oenike: Pollenformen als Mittel der Honigherkunftsbestimmung. Neumünster/Holst. 1929
- (6) * Bertsch K.: Pollenanalytische Untersuchung in Oberschwaben. In: Mikrokosmos 19, 1925/26, S. 138-142
- (7) Beug, H.-J.: Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete. Lieferung 1, 64 Seiten, G. Fischer, Stuttgart 1961
- (8) * Binsfeld, R.: Die Präparation von Pollenkörnern. Mitteilg. In: Mikrokosmos 20, 1926/27, 19
- (9) * Bulst, W.: Das Grabtuch von Turin. Karlsruhe 1978
- (10) Dietz, H.: Antherenbau und Pollenentwicklung bei bedecktsamigen Pflanzen. In: Mikrokosmos 45, 1955/56, S. 182-186
- (11) * Dietz, H.: Pollen, Samenanlage und Befruchtung bei bedecktsamigen Blütenpflanzen. a.a.O., 47, 1957/58, S 318-325
- (12) Evenius J. / Focke, E.: Mikroskopische Untersuchung des Honigs. In: Handbuch der Lebensmittelchemie. V., S 560-590, 1967
- (13) Faegri, K. / Iversen, J.: Textbook of Pollen Analysis. 1964
- (14) * Filzer, P.: Blütenstaub im Honig. In: Mikrokosmos 59, 1970, S. 129-134
- (15) * Filzer, P.: Kleines Praktikum der Pollenanalyse. Sonderdruck aus Mikrokosmos, 2. Aufl. 1956, 14 S.
- (16) Firbas, F.: Spät- und nacheiszeitliche Waldgeschichte Mitteleuropas nördlich der Alpen, I - II. 1949/52
- (17) * Freytag, K.: Pollenkunde als Hobby ? In: Mikrokosmos 60, 1971, 311-315
- (18) * Gaecks: Präparation von Pollen. Mitteilg. In: Mikrokosmos 31, 1937/38, 23
- (19) Gassner, G.: Mikroskopische Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genußmittel. 3. Aufl., Stuttgart 1955
- (20) * Griebel, C.: Honigpollenuntersuchungen. In: Mikrokosmos 25, 1931/32, 140-145
- (21) Grosse-Brauckmann, G. / Stix, E.: Bestimmung des Pollen- und Sporengehalts der Luft. Ber. d. Dt. Bot. Ges. 81, 1968, 528
- (22) Horak, F. / Jäger, S.: Die Erreger des Heufiebers. Medizinisch-botanische Dokumentation der Pollenallergie in Mitteleuropa. München 1979
- (23) * Jung, A.: Pollen. Leicht beschaffbare Studienobjekte. In: Mikrokosmos 66, 1977, 384-387
- (24) Kapp, R.: How to Know Pollen and Spores. Pictured Key. Dubuque, Iowa/USA
- (25) * Kolumbe, E.: Pollenanalyse im Schulunterricht. In: Mikrokosmos 41, 1951/52, 123-126
- (26) * Kräusel, R.: Das Mikroskop in der Paläobotanik. I. Die Pollenanalyse. Mikroskopie für Naturfreunde IX, 1931, 201-210
- (27) Kräusel, R.: Die paläobotanischen Untersuchungsmethoden. Jena 1929
- (28) * Kremer, B. P.: Pollen und Pollenanalyse. I. Strukturelle Grundlagen der Pollenbeschreibung. In: Mikrokosmos 74, 1985, S. 141-146; II. Einige Verfahren und Versuchsanregungen. aaO., S 173-179.
- (29) * Mahler, A.: Pollen im Bienenhonig. In: Mikroskopische Nachrichten, Mitteilungsblatt der Mikroskopischen Gesellschaft Zürich 1979, Heft 5+6, S. 42-65.
- (30) Mahler, A.: Pollen im Bienenhonig. Unterlagen für die Teilnehmer an den Mikroskopikertagen in Heiligkreuztal 1986.
- (31) * Mandl, A.: Feinbau und Formenvariabilität der Pollenkörner. In Mikrokosmos 64, 1975, S. 186-189; 384-387
- (32) Maurizio, A. / Grafl, I.: Das Trachtpflanzenbuch. Imker Freund Bücher Bd. 4, 2. Aufl., München 1980
- (33) Maurizio, A.: Quantitative Pollenanalyse von Schweizerhonigen. In.: Schweiz. Bienen-Zeitung 1939, 11, 1-5
- (34) * Minder, L.: Die Mikroskopie des Honigs. In: Mikrokosmos 19, 1925/26, 150-155
- (35) * Negretti, W.: Der Pollen der Haselpflanze. In: Mikrokosmos 72, 1983, S. 38-41
- (36) * Negretti, W.: Die Windblütigkeit des Haselstrauches. aaO. 97-100
- (37) * Olufsen: Anleitung zum Studium fossiler Pollenkörner. In: Mikrokosmos 18, 1924, S. 182-186
- (38) * Olufsen: Das Aeroplankton von Wien. In: Mikrokosmos 19, 1925/26, 16 f.
- (39) * Olufsen: Pollenanalytische Untersuchungen von Mooren. aaO. S 138-144
- (40) Puls, K. E.: Pollen im Anflug. Möglichkeiten zur Vorhersage des Risikos für Allergie durch Blütenstaub. In: Umschau 1982, H. 9, S. 288-292
- (41) * Reiß, J.: Vereinfachte mikrobiologische Untersuchungsverfahren. III. Quantitative Bestimmung von Keimzahlen in der Luft. In: Mikrokosmos 72, 1983, 80-85

- (42) Rushforth, K.: Bäume. Bern 1981
 - (43) Rytz, W.: Unsere Sträucher. Hallwag Taschenbuch Nr. 29, 5. Aufl., Bern 1979
 - (44) * Schwegler, H.-W.: Blütenstaub. Mikroskopie in der Schule. In: Mikrokosmos 50, 1961, S. 117-120; 179-183
 - (45) * Sopper, A.: Blütenstaub. In: Mikrokosmos 49, 1960, 311-314
 - (46) * Starke, K.-H.: Pollen und Sporen an Gesteinen des Erdmittelalters. Eine Methode zur Gewinnung sogenannter Sporomorphem. in: Mikrokosmos 61, 1972, S. 163-165
 - (47) Stix, E.: Pollenkalender. Stuttgart 1982
 - (48) Straka, H.: Das Experiment: Aus der Praxis der Pollenanalyse. In: Biologie in unserer Zeit 1973, 60-63
 - (49) Straka, H.: Der Pollen. Eine Kompaßnadel für die Systematik ? Naturwissensch. Rundschau 39, 1986, H. 10, S. 432-437
 - (50) Straka, H.: Pollen- und Sporenkunde. Stuttgart 1975
 - (51) Straka, H.: Pollenanalyse und Vegetationsgeschichte. Die neue Brehm-Bücherei. Wittenberg Lutherstadt 1957
 - (52) * Thaler, H.: Dauerpräparate von Honigpollen. In: Mikrokosmos 51, 1962, 240-243
 - (53) * Thaler, H.: Mikroskopische Untersuchung des Honigpollens. In: Mikroskopie für Naturfreunde, XI, 1933, S. 37-42
 - (54) Zbären, D. u. J.: Mikroskopieren. Hallwag Taschenbuch Nr. 28, Bern 1979
 - (55) * Ziesak, W.: Honig. In: Mikrokosmos 52, 1963, S. 38-43
- Wichtiger Nachtrag:
- (56) Fægri / Iversen: Bestimmungsschlüssel für die nordwesteuropäische Pollenflora. für den Gebrauch im Studium und Praxis; aktualisierte deutschsprachige Fassung; Bestimmungsschlüssel aus Textbook of Pollen Analysis. G. Fischer, Stuttgart 1993, kt. 48,00 DM ISBN 3-334-60439-X.
-