DE BESTUIVINGSECOLOGIE VAN DE RODE EN DE BLAUWE BLOEMEN VAN *PULMONARIA OFFICINALIS* EN *P. ANGUSTIFOLIA*

A. HAGEDOORN

D 344

D 344

De bestuivingsoecologie van de rode en de blauwe bloemen van *Pulmonaria officinalis* en *P. angustifolia*.

augustus 1985

door Alie Hagedoorn

Doctoraal-verslag van een aanvullend onderzoek aan 2 soorten *Pulmonaria* in navolging van een zelfde soort onderzoek door H.Hemmink in 1984.
Het onderzoek werd uitgevoerd in het voorjaar van 1985 en begeleid door Prof.Dr.B.M.Moeliono Afdeling Plantensystematiek van de Rijksuniversiteit te Groningen.

Hierbij wil ik mijn begeleider, Ben Moeliono en Alie Huizinga bedanken voor de goede adviezen en hulp bij het onderzoek.
Tevens wil ik mijn vriend, Wim Klaucke bedanken voor het geduld dat hij kon opbrengen bij het schrijven van het verslag en de hulp die hij af en toe gaf.

Rijksuniversiteit Groningen
Bibliotheek Biologisch Centrum
Kerklaan 30 — Postbus 14
9750 AA HAREN

INHOUDSOPGAVE

blz.
1. INLEIDING 4
1.1 Algemene inleiding 4
1.2 Pulmonaria en mogelijke bestuivers. 5
1.3 Doel- en vraagstellingen. 5
2. MATERIAAL EN METHODE. 6
2.1 Materiaal 6
2.2 Methode 7
2.2.1 Algemeen. 7
2.3 Gebruikte methoden in 1984. 7
2.3.1 Morfologische analyse 7
2.3.2 Ontwikkelingsstadia van de bloem. 8
2.3.3 Nectarbepaling. 8
2.3.4 Fertiliteitsbepaling van het pollen 10
2.3.5 Bepaling van het aantal pollenkorrels per helmhok 10
2.3.6 Receptiviteitsbepaling van de stempel 11
2.3.7 Bepaling van het U.V.nectarmerk 11
2.3.8 Bestuivers. 11
2.4 De door mij toegepaste methoden in 1985 12
2.4.1 Morfologische aspecten. 12
2.4.2 Tijdsduur van de bloei. 13
2.4.3 Nectarbepalingen. 13
2.4.4 Receptiviteitsbepaling van de stamper 14
2.4.5 Open of dicht zijn van de helmhokken. 14
2.4.6 U.V.-reflectie van de bloemen 14
2.4.7 Reflectie van licht van 350 tot en met 450nm. 14
2.4.8 Bezoekers 15
2.4.9 Bestuivers. 15
2.4.10Voorkeur voor rode/blauwe bloemen 15
2.4.11Tijdsduur van bezoek aan stadia 15
2.4.12Bestuiven 16
2.4.13Weersomstandigheden 16
3. RESULTATEN. 17
3.1 Ontwikkelingsstadia van de bloem en hun morfologische kenmerken 17
3.2 Tijdsduur van de stdia 25
3.3 Hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie ervan. 27

blz.
3.4 Fertiliteit van het pollen. 37
3.5 Aantal pollenkorrels per helmhok. 37
3.6 Receptiviteitsbepaling van de stempel 38
3.7 U.V.nectarmerk. 38
3.8 Reflectie van licht van 350 tot en met 490 nm.. . . 43
3.9 Bezoekers/Bestuivers in 1984. 44
3.9a Bezoekers in 1985. 48
3.10 Bestuivers. 49
3.11 Voorkeur voor rode/blauwe bloemen 50
3.12 Tijdsduur van het bezoek aan de stadia van de bloemen 51
4. DISCUSSIE EN CONCLUSIES 53
4.1 Ontwikkelings stadia van de bloem en hun morfologische kenmerken 53
4.2 Tijdsduur van de stadia 55
4.3 Hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie ervan . . 56
4.4 Fertiliteit van het pollen. 59
4.5 Aantal pollenkorrels per helmhok. 59
4.6 Receptiviteit van de stempel. 60
4.7 U.V. reflectie van de bloemen 61
4.8 Reflectie van licht van 350 tot en met 490 nm. . . . 63
4.9 Bezoekers/bestuivers in 1984. 63
4.10 Bezoekers in 1985. 64
4.11 Bestuivers (1985). 64
4.12 Voorkeur voor rode of blauwe bloemen 65
4.13 Tijdsduur van het bezoek aan de stadia van de bloemen65
4.14 Algehele conclusies, suggesties voor verder onderzoek en vergelijking met literatuur 66
5.LITERATUUR 73

1. INLEIDING

1.1 Algemene inleiding.

Eén van de manieren van bloemen om de aandacht te trekken van bestuivers is, door middel van de kleur van de kroonbladeren. Bij een aantal plantenfamilies verandert de kleur van de kroonbladeren tijdens de bloei (Faegri en Van der Pijl 1977).
Ondanks vele pogingen om een bevredigende ecologische verklaring van het belang van deze kleurverandering te geven, is het pas zeer recent gelukt. Cori gaf een ecologische interpretatie van de kleurverandering van het honingmerk van Lupine soorten (via Bos, e.a. 1983).
Bos e.a.(1983) geven zelf een aannemelijke verklaring voor de kleurverandering in de bloemkroon (van purper naar blauw) van Echium plantagineum L. . De kleurverandering in deze soort dient als signaal om duidelijk te maken waar bloemen zitten, die al dan niet een nectar beloning hebben voor eventuele bestuivers. Daarbij is er sprake van een nectarmerk tijdens bepaalde stadia van de bloei, dat niet zichtbaar is voor het menselijk oog, maar wel zichtbaar gemaakt kan worden onder U.V. licht. De bestuivers kunnen dit nectarmerk wel zien . Tegelijk met de aanwezigheid van bovengenoemde nectarmerken zijn de stempels van de betreffende bloemen ook receptief, zodat bestuiving door de betreffende bestuivers efficient kan zijn, met als gevolg een toename van de fitness en optimale zaadvorming. De kleurverandering van de bloemen van E. plantagineum L. kan dan geinterpreteerd worden als een ecologisch belangrijk, wederzijds aanpassingskenmerk (Bos, e.a. 1983).
Binnen het kader van het door de Werkgroep Systematiek en Morfologie van Hogere Planten (o.l.v. Ben Moeliono) gestarte onderzoek naar ecologische verklaringen van kleurveranin bloemen van soorten behorende tot de familie der Boraginaceae, heeft H.Hemmink in 1983 onderzoek gedaan aan de soorten Pulmonaria officinalis L. en P. angustifolia L. (Hemmink,1984).

In 1985 werd dit onderzoek gedeeltelijk herhaald door mij en waar nodig aangevuld met extra gegevens. Om een zo compleet mogelijk beeld te geven van de bestuivingsoecologie van P. officinalis L. en P. angustifolia L., zullen in dit verslag naast mijn resultaten, alle resultaten van H.Hemmink uit 1984 vermeld worden.

1.2 Pulmonaria en mogelijke bestuivers.

De reden waarom juist bovengenoemde soorten gekozen zijn is dat ik na dit onderzoek in het voorjaar een zelfde type onderzoek zou gaan doen aan Symphytum uplandicum x asperum. Het onderzoek aan Pulmonaria vormde op deze manier een goede inleiding en bracht ervaring in dit soort onderzoek.
De bloemkroon van P. officinalis L. is eerst rood en later paarsblauw. De kroon van P. angustifolia L. is eerst rood en later blauw . (Heukels en Van Oostrom 1975)
Bestuivers, die men op Pulmonaria soorten kan aantreffen, zijn:
- sachembijen (Anthophora sp.) (Müller 1883, Neger 1913, Widder 1943, Kostka 1922)
- hommels (Bombus sp.) (Heimans 1911, Garjeanne 1918, Neger 1913, Widder 1943, Proctor and Yeo 1973, Olesen 1978)
- wolzwevers (Bombylius sp.) (Heimans 1911, Widder 1943, Proctor and Yeo 1973)
- Psithyrus (Olesen 1978)
- honingbijen (Widder 1943)
- Diptera (Kostka 1922)

1.3 Doel- en vraagstellingen.

Enkele doelstellingen van dit leeronderzoek zijn:
- een stuk inzicht te krijgen in de relatie: planten en hun bestuivers.
- het leren kennen van een aantal bestuivers en hun leefwijze.
- ervaring opdoen in dit soort werk.

Tijdens dit doctoraalonderwerp werd geprobeerd een oplossing te vinden voor de volgende vraagstelling:

Is er (evenals voor Echium plantagineum L.) een ecologische interpretatie te geven voor de kleurverandering van de bloemen van Pulmonaria officinalis L. en P. angustifolia L. ?

Een aantal subvragen, die hiervoor eerst beantwoord moeten worden (zie ook Bos, e.a. 1983), zijn:

- Hoe is de morfologische ontwikkeling van de bloem van P. officinalis en P. angustifolia?
- Zijn er een aantal min of meer te onderscheiden ontwikkelingsstadia ?
- Zo ja, wat zijn de kenmerkende morfologische eigenschappen van deze ontwikkelingsstadia ?
- Zijn er, tussen de onderscheiden stadia, ook verschillen in:
  - nectarproduktie en suikerconcentratie van de nectar?
  - fertiliteit van het pollen?
  - aantal pollenkorrels per bloem?
  - receptiviteit van de stempel?
  - vorm en intensiteit van het U.V. nectarmerk?
- Wat zijn de kenmerken van wel of niet door bestuivers bezochte bloemen ?
- Welke bestuivers bezoeken de bloemen van beide soorten ?

2. MATERIAAL EN METHODE

2.1 Materiaal.

De in 1984 door H.Hemmink onderzochte planten stonden op een half beschaduwde plaats in de Wilde Planten tuin van de Hortus in Haren. De plek met P.angustifolia had een diameter van ca. 2 meter. De plek met P. officinalis planten was ca. 2 bij 3 meter groot.

De door mij onderzochte planten waren geplante exemplaren en stonden op een zonnige plaats in de Hortus te Haren. De P. angustifolia-planten waren alle kortstijlig en namen een perk van ± 1½ bij 2 meter in beslag. Het 1½ bij 1½ meter perk waar P. officinalis stond (direct naast het P. angustifolia perk) had een lagere dichtheid wat planten betreft, zodat ik betrekkelijk weinig van deze soort tot mijn beschikking had. Van deze laatste soort waren er zowel kortstijlige als langstijlige beschikbaar.

2.2 Methode.

2.2.1 Algemeen.

In 1984 werden de meeste waarnemingen en metingen aan planten gedaan die op de half beschaduwde plaats in de Wilde Plantentuin stonden. De hoeveelheid zon zal steeds vermeld worden bij de betreffende methoden en resultaten van waarnemingen en metingen. Halfbeschaduwde plaats krijgt aanduiding : HS. Zonnige plaats krijgt aanduiding: Z. Bij mijn resultaten uit 1985 zal ik dit niet vermelden daar alle planten op een zonnige plaats stonden.

De methoden zal ik verder voor 1984 en 1985 afzonderlijk bespreken. De methoden gebruikt door H.Hemmink in 1984 staan in hoofdstuk 2.3 en de door mij in 1985 toegepaste methoden staan in hoofdstuk 2.4.

2.3 Gebruikte methoden in 1984

2.3.1 Morfologische analyse.

Van de ontwikkeling van de bloem werd op de volgende manier een morfologische analyse gemaakt:

- Van verschillende stadia in de bloei (van verschillende bloemen) werd het volgende getekend (in kleur) en gemeten:
  - bloemkroon in kelk; hiermee werd de buitenkant van de bloemkroon en kelk weergegeven.
  - binnenzijde van de opengeknipte (geknipt in de onderste kroonslip) bloemkroon, met daarin de meeldraden.
  - bovenaanzicht van de bloem.
  - de stamper.

  Dit werd zowel voor P. officinalis (HS) als P. angustifolia (Z en HS) gedaan.
- Een aantal kenmerken van verschillende bloemonderdelen werd gedurende een aantal dagen in protocollen opgetekend (zie Fig. 1). Dit werd alleen voor P. officinalis (HS) gedaan. Hierbij werden 10 bloemen van 10 verschillende planten gedurende de periode van 'knop net open' tot het afvallen van de bloemkroon bekeken. Gedurende deze ontwikkelingsperiode werden er ook foto's gemaakt van één bloem.

2.3.2 Ontwikkelingsstadia van de bloem.

Aan de hand van de, door middel van de morfologische analyse gevonden, gegevens werd een aantal ontwikkelingsstadia onderscheiden. De kenmerkende morfologische eigenschappen voor die ontwikkelingsstadia werden weergegeven in een aantal kleurenfoto's gemaakt van de tekeningen en in een tabel + kleurenfoto's als samenvatting van het protocolleren.

2.3.3 Nectarbepaling.

Er werd een nectarbepaling uitgevoerd in HS op 18-4-1984. Hierbij werd zowel van gekooide (nylon kooi) als ongekooide bloemen de hoeveelheid nectar , door de dag heen (van 7.00 t / m 19.00 uur , om de twee uur) , bepaald.
Gekooide bloemen werden gebruikt, omdat het vermoeden bestond dat in ongekooide bloemen in de loop van de dag geen meetbare hoeveelheid nectar meer zou zitten.
Met 1 µl capilair pipetjes werd de hoeveelheid nectar bepaald. Terwijl de suikerconcentratie met een B & S pocket refractometer bepaald werd. Ook werd de temperatuur gemeten, zodat de gevonden waarden voor de suikerconcentraties voor de temperatuur gecorrigeerd konden worden. Het aantal bloemen, dat onderzocht werd per stadium, was minimaal 1 en maximaal 4. Oorzaken van zo weinig bloemen: te weinig bloemen gekooid, onervarenheid met nectarbepalingen. P. angustifolia was rond 25-4-1984 bijna uitgebloeid, zodat verdere nectarbepaing aan deze soort hier niet mogelijk was.
Van P. officinalis werd twee maal een nectarbepaling uitgevoerd in HS:

- 28-4-1984; bepaling als bij P.angustifolia, door de dag heen van 7.30 t/m 19.30 uur, om de twee uur van gekooide bloemen; van elk stadium werden minimaal 3 en maximaal 5 bloemen per stadium per tijstip onderzocht.
- 11-5-1984; bepaling om 9.00 uur, voordat er bestuivers aanwezig waren, aan ongekooide bloemen; deze bepaling werd gedaan om nog eens duidelijk de nectarhoeveelheden per stadium tot uitdrukking te brengen; van elk bloemstadium werden 10 bloemen onderzocht.

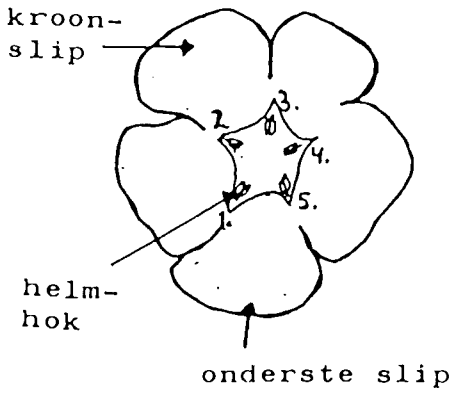
SOORT: BLOEMNUMMER:

WAARNEMINGS-DAGEN / BLOEM KENMERKEN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
KELK										
KLEUR										
LENGTE										
AFVALLEN										
KROON										
OPEN										
KLEUR BUITENZYDE										
KLEUR BINNENZYDE										
HOOFDNERVEN (KLEUR)										
NEKTARMERK (KLEUR)										
LENGTE										
STAND SLIPPENT.o.v. BUIS										
AFVALLEN										
MEELDRADEN										
KLEUR										
LANG/KORT										
VOLGORDE OPENGAAN VAN HELMHOKKEN										
HELMHOKKEN VERSCH. ROMPELD										
STYL										
KLEUR										
LANG/KORT										
LENGTE										
VORM VAN STEMPEL										
STEMPEL RECEPTIEF										

Figuur 1: Voorbeeld van een protocol zoals gebruikt voor P. officinalis (zie onder 2.2.2).

2.3.4 Fertiliteitsbepaling van het pollen.

Om de fertiliteit van het pollen in de verschillende onder-



Figuur 2: Nummering van de helmhokken in de bloem van *P. officinalis* (bloem in boven aanzicht).

scheiden stadia te bepalen werd als volgt te werk gegaan:

- Van een bloem werden de 5 helmhokken (genummerd 1 t/m 5 als in Fig. 2) op een objektglas naast elkaar op gemerkte plaatsen gebracht. Het pollen werd zo veel mogelijk vrijgeprepareerd. Vervolgens werd een kleuring toegepast met een mengsel van: - malachiet groen
  - acid fuchsine
  - orange G

  Hiermee kleuren fertiele pollenkorrels rood en steriele korrels groen (Alexander 1969).
- Er werden per helmhok (waar mogelijk) 200 fertiele pollenkorrels geteld in een bepaald gebiedje op het objektglas en daar werd tevens het aantal steriele korrels geteld, zodat het percentage fertiele pollenkorrels berekend kon worden per helmhok.
- Het gemiddelde van de 5 helmhokken per bloem werd berekend. Dit werd voor 5 bloemen per stadium van zowel *P. officinalis* (HS) als *P. angustifolia* (Z) gedaan.

2.3.5 Bepaling van het aantal pollenkorrels per helmhok.

Bij de telling van de hoeveelheid pollenkorrels werd steeds het aantal korrels van één helmhok (helmhok nr.1; zie Fig. 2) genomen. Dit helmhok werd in een reageerbuisje gedaan de pollenkorrels werden er met een prepareernaald zo goed mogelijk van vrijgemaakt. Bij de vrijgemaakte pollen werd 1 ml 0.1% safranine glycerine oplossing gedaan.

Het zo verkregen mengsel werd zo goed mogelijk gehomogeniseerd door roeren en door opzuigen met een pipet en weer terug laten stromen in reageerbuisje (3 keer).
Van dit mengsel werd 0.05 ml op een objektglas gebracht en hierin werden de aanwezige pollenkorrels geteld. Dit aantal werd weer met 20 (=verdunningsfactor) vermenigvuldigd en zo werd het aantal pollenkorrels per helmhok berekend.
Dit werd voor elk bloeistadium 5 keer gedaan voor zowel P. officinalis (HS) als P.angustifolia (Z).

2.3.6 Receptiviteitsbepaling van de stempel.

De stamper van een bloem werd losgeprepareerd. Deze werd gebracht in een 0.5 % waterstofperoxide (H_2O_2) oplossing op een horlogeglas. De mate van gasontwikkeling in de stempel was een maat voor de receptiviteit. Hierbij werden de volgende klassen onderscheiden:

- geen gasontwikkeling
-+ weinig gasontwikkeling
+ matig veel gasontwikkeling
++ veel gasontwikkeling

Voor elk stadium werden de stempels van 5 bloemen bekeken; zowel voor P. officinalis (HS) als P. angustifolia (Z).

2.3.7 Bepaling U.V. nectarmerk.

De opengeknipte (geknipt in de onderste kroonslip) kroon werd onder een U.V. lamp bekeken. Er werd getracht een verschil te zien tussen absorberende delen (metaalachtige blauwpaarse glans) en reflecterende delen (fluweelachtige lila weerschijn). Er werden steeds minstens 3 bloemen per stadium bekeken. De waarnemingen werden in zwart-wit tekeningen vastgelegd. Dit werd alleen voor P. officinalis (HS) gedaan, omdat P. angustifolia al uitgebloeid was op het tijdstip dat waarnemingen onder U.V. licht mogelijk waren.

2.3.8 Bestuivers.

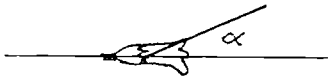
Voor het leren kennen van een aantal bestuivers werd in eerste instantie een aantal excursies (samen met Alie Huizinga en Ben Moeliono) naar de Hortus in Haren ondernomen. Hier-

bij werden een aantal insecten gevangen, die in het Lab. gedetermineerd werden met behulp van een aantal determineertabellen en boeken (Bouwman 1924, Van der Vecht 1928, Kruseman 1947, Benno 1950, Benno 1955, Den Boer 1977 en Chinery 1982).
Op de verschillende groeiplaatsen van de Pulmonaria soorten werden waarnemingen gedaan van de bestuivers. Er werd gelet op het aantal bloemen, dat per bestuiver bezocht werd en welke stadia er bezocht werden. Eerst werd er steeds gedurende periodes van 15 minuten waargenomen (van 19-4-1984 t/m 27-4-1984); zowel aan P. officinalis (HS) als P. angustifolia (HS en Z). Daarna werd er steeds gedurende periodes van 30 minuten waargenomen (van 30-4-1984 t/m 11-5-1984), alleen aan P. officinalis (HS).

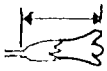
2.4 De door mij toegepaste methoden in 1985

2.4.1 Morfologische aspecten

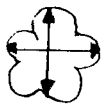
Bij mijn onderzoek in 1985 heb ik dezelfde stadia van de bloei van een bloem aangehouden als H.Hemmink dat deed in 1984.
De volgende morfologische aspecten zijn onderzocht voor ieder stadium en geprotocolleerd:
- kleuren van de verschillende bloemonderdelen
- de stand van de slippen ten opzichte van de kroonbuis



- de lengte van de stamper
- de lengte van de bloem



- de grootte van de bloemopening. Hiertoe werden de twee loodrecht op elkaar staande lengtes van de éne zijde van de bloem naar de andere zijde van de bloem gemeten.
  Door middel van de formule $O = \frac{1}{2}a \cdot \frac{1}{2}b \cdot \pi$ (= oppervlakte van een ellips) werd de grootte van de bloemopening bepaald. Dit werd zowel voor bestoven als onbestoven bloemen gedaan.



2.4.2 Tijdsduur van de bloei.

Zowel van bestoven als van onbestoven bloemen werd de tijdsduur van ieder stadium van de bloei van een bloem bepaald. Hiertoe werden twee planten van P. angustifolia en twee planten van P. officinalis gekooid (met nylon om een ijzeren frame). Twee maal per dag werd het stadium waarin een bepaalde bloem zich bevond genoteerd (op vrije dagen telkens één maal). Het tijdstip waarop een stadium begon werd bepaald door het midden te nemen tussen het tijdstip waarop de bloem zich nog niet in dit stadium bevond en het tijdstip waarop de bloem zich wel in het stadium bevond. Het tijdstip waarop een stadium eindigde werd op een zelfde manier (alleen omgekeerd) berekend. Van de op deze manier verkregen getallen werd het gemiddelde genomen.

2.4.3 Nectarbepalingen.

Alle bepalingen werden aan gekooide planten gedaan omdat er in de ongekooide bloemen te weinig nectar zat (niet meetbaar). Van de gekooide bloemen, die ook voor de duur van de stadia werden gebruikt, werd naast het bepalen van het stadium ook de hoeveelheid nectar in de bloemen gemeten (twee maal per dag). De metingen werden uitgevoerd door een 1 ulcapillair pipetje onder in de bloem te houden en, nadat alle nectar in het capilair was opgezogen, de lengte, die met vloeistof gevuld was, te meten met een schuifmaat. Uit deze gegevens kon de hoeveelheid nectar voor elk stadium voor zowel bestoven als onbestoven bloemen bepaald worden (voor zowel P. angustifolia als voor P. officinalis).
Naast deze nectarbepalingen werden nectarbepalingen aan planten gedaan die een aantal dagen achtereen gekooid geweest waren. Voor deze proef werd een grote kooi (2 bij 1½ meter en 60 cm hoog) over de planten geplaatst. Na een aantal dagen werd de hoeveelheid nectar bepaald met een 5 u l capillair.
De suikerconcentratie werd bepaald met een B & S pocket refractometer. Daar ongeveer een half gevuld 5 u l capillair nodig is voor één meting, werd telkens uit meerdere bloemen (wel van het zelfde stadium) nectar genomen. Iedere suikerconcentratie-me-

ting is dus al een gemiddelde van de suikerconcentratie van de nectar van een aantal bloemen. Van de zo verkregen procenten werd voor ieder stadium een gemiddelde berekend, omgezet naar g / l sucrose (Bolton, 1979) en gecorrigeerd op temperatuur (Bellingham , 1974)

2.4.4 Receptiviteitsbepaling van de stamper.

De receptiviteit van het stigma werd op dezelfde wijze bepaald als H.Hemmink dit deed in 1984 (zie 2.3.6.) . Er werd echter een andere schaal gebruikt: in plaats van vier klassen werd een schaal van 0 tot 10 gehanteerd. Van ieder stadium werden tien stigma's beoordeeld en hiervan werd een gemiddelde bepaald.

2.4.5 Open of dicht zijn van de helmhokken.

Er werd nagegaan in welk stadium de helmhokken open gingen. Bovendien werd gekeken wanneer de helmknoppen er verschrompeld en bruin uit gingen zien.

2.4.6. UV-reflectie van de bloemen.

Met behulp van een fluorescentie-microscoop werd de mate van ultra-violet licht-reflectie voor alle bloemonderdelen bepaald (behalve de kelk en de vruchtbeginsels). Dit werd voor alle stdia gedaan bij beide soorten *Pulmonaria* .

2.4.7 Reflectie van licht van 350 tot en met 490 nm.

Naast de reflectie van UV-licht werd bepaald in welke mate de bloemen licht van 350 tot en met 490 nm reflecteren. Hierbij werd wederom gebruik gemaakt van de fluorescentie-microscoop. Voor de bepaling van de reflectie van licht van 350- tot 460 nm werd gebruik gemaakt van het zgn. G-filter; van 390 tot 490 nm van het H2-filter en van 450 tot 490 nm van het I2-filter. Net als bij de UV-licht reflectie werden alle bloemonderdelen van alle stadia van zowel *P. angustifolia* als *P. officinalis* bestudeerd.

2.4.8 Bezoekers.

Tijdens de gehele onderzoeksperiode werden tijdens het observeren en protocolleren de nog niet geprotocolleerde bezoekers genoteerd. Voor zover niet bekend werden de insekten gevangen en gedetermineerd (Blom, 1984 ; Sandhall, 1979 ; van der Goot, 1981 ; Barendregt, 1978 ; Higgins, 1971 ; Chinery, 1975).

2.4.9 Bestuivers.

Om uit te vinden of een bepaalde bezoeker tevens een bestuiver van de soort was werden twee planten van P. angustifolia en twee planten van P. officinalis gekooid. Vele malen werden de kooien er af gehaald en werd de insekten de kans gegeven de bloemen te bestuiven. Na een bezoek werd genoteerd hoe lang het insekt de bloem bezocht, of het om nectar en/of pollen kwam, waar het insect vandaan kwam (van P. officinalis of van P. angustifolia of van elders), de tijd, de weersomstandigheden en de bezoeker zelf natuurlijk. Hierna kon gekozen worden uit 2 methoden:

- 1. de stamper werd op een objectglas in saffranine/glycerine gelegd en het aantal Pulmonaria en vreemd pollen op en naast de stempel werd onder een microscoop geteld (tussen P. angustifolia en P. officinalis pollen kon ik geen verschil ontdekken).
- 2. om de bloem werd een postzegelzakje aangebracht met de daarop benodigde gegevens. Na drie tot vier weken werd bekeken of de vruchtbeginsels uitgegroeid waren.

2.4.10 Voorkeur voor rode/blauwe bloemen.

Tijdens de gehele onderzoeksperiode werd gelet op voorkeur van de insekten. Gelet werd op de verhouding rode/blauwe bloemen aan de planten in een perk en het aantal malen dat de rode bloemen bezocht werden. Dit werd per soort bijgehouden.

2.4.11 Tijdsduur van bezoek aan stadia.

Per soort insekt werd bepaald hoe lang een insekt een bepaald stadium bezocht. Tot drie seconden werd dit telkens geschat, bij meer dan drie seconden werd de tijd met een stopwatch gemeten.

2.4.12 Bestuiven.

Herhaalde malen heb ik het al over bestoven bloemen gehad. Bij de bestuiving ben ik als volgt te werk gegaan. Bij P. angustifolia nam ik steeds pollen van de kortstijlige en bij P. officinalis nam ik pollen van de langstijlige als de kortstijlige bestoven moest worden en pollen van de kortstijlige als de langstijlige bestoven moest worden. Ik nam twee maal een open en niet bruine meeldraad uit een bloem en streek enkele malen de helmknoppen overlangs over het stigma. Van enkele bestoven bloemen werd de stamper na enkele dagen verwijderd en deze stamper werd op de groei van pollenbuizen beoordeeld. Dit ging als volgt: De stamper werd na het afhalen 24 uur of meer in FAA bewaard, gespoeld met leidingwater (± 2 uur), ± 16 uur in NaOH gedaan, gespoeld met leidingwater (± 2 uur) en op een objectglas gelegd in een 0,1 % oplossing wateroplosbaar aniline blauw in 0,1 N K_3PO_4. Na 4 uur werd het preparaat onder de fluorescentiemicroscoop (met UV-filter) bekeken (Martin, 1958). Pollenbuizen vormen een vrij rechte lijn in de stijl en reflecteren het UV-licht vrij sterk (niet te verwarren met de vaatbundels)(Kho, 1970). Er werd gelet op hoe ver de pollenbuizen in de stijl waren gegroeid, of de groei van de pollenbuis vanuit het pollen in het stigma te zien was en of er veel "callose-proppen" waren, en waar deze zich bevonden. Dit callose wordt gevormd door de stijl of het stigma wanneer er een pollenbuis vanuit "niet geschikt" pollen in het stigma komt, als de bevruchting al plaatsgevonden heeft of als er teveel pollenbuizen het stigma ingroeien.

2.4.13 Weersomstandigheden.

Omdat de weersomstandigheden nogal belangrijk zijn voor o.a. de nectarproductie en de hoeveelheid bezoek werd twee maal per dag de hoeveelheid wind , de hoeveelheid zon, of het regende of niet, genoteerd en werd de luchtvochtigheid en de temperatuur gemeten. De temperatuur en de luchtvochtigheid werden gemeten naast en op dezelfde hoogte als de Pulmonaria-bloemen.

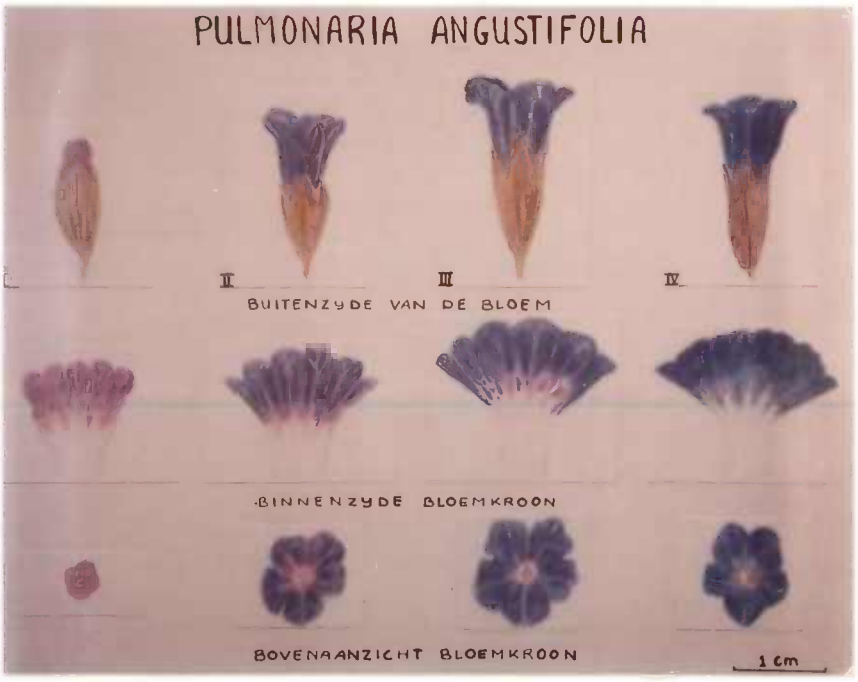
3. RESULTATEN

3.1 Ontwikkelingsstadia van de bloem en hun morfologische kenmerken

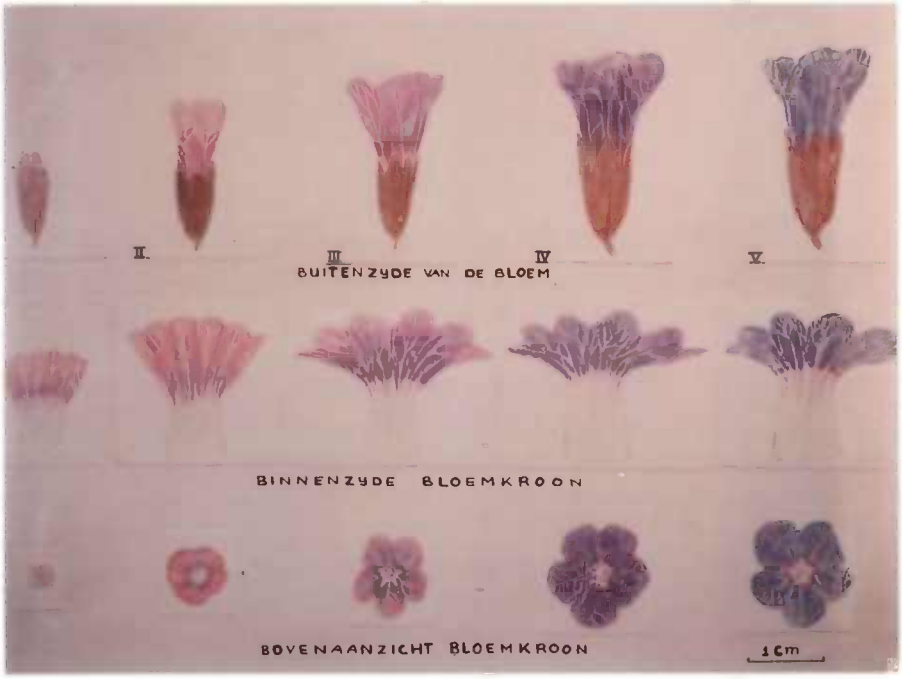
Door H.Hemmink werd in 1984 4 ontwikkelingsstadia (zie fig 3) bij P.angustifolia onderscheiden op grond van verschillen in de volgende morfologische kenmerken:

- vooral de kleur van de kroon.
- stand van de kroonslippen t.o.v. de kroonbuis.
- lengte van de kelk.
- lengte van de kroon (en daarmee lengte van de met de kroon vergroeide meeldraden).

Het onderscheiden van slechts 4 verschillende stadia berust op het feit, dat de kleurverandering vrij snel optreedt tijdens de ontwikkeling van de bloem. In stadium II (zie Fig. 3) is eigenlijk de gehele kroon al vrij blauwpaars, terwijl de kroon nog niet geheel is uitgegroeid.
Mijn gegevens over de kleuren van de bloem komen overeen met die van Hemmink uit 1984.(tabel 1)
In 1985 is de lengte van de bloem, de stand van de kroonslippen t.o.v. de kroonbuis en de grootte van de bloemopening gemeten (tabel 1). De lengte van de bloem verschilt voor alle stadia niet significant. De stand van de kroonslippen en de grootte van de bloemopening bleek voor stadium I, II, III significant te verschillen; stadium IV verschilde echter niet significant van stadium III.
Andere morfologische kenmerken als: vorm en lengte van de stamper en de vorm van de meeldraden werden ook bekeken in 1984. De stampers waren vanaf stadium I al ± 5 mm lang en naarmate de bloem zich ontwikkelde groeiden de stampers niet waarneembaar (niet weergegeven in figuur). De bloemen van stadium IV werden regelmatig met bruinige stempels waargenomen. Uit mijn onderzoek blijkt dat de stamper in stadium I wel iets kleiner is dan in de andere stadia maar hiervan niet significant verschilt. Bruine vlekken op het stigma heb ik reeds in stadium I waargenomen, naarmate de bloem ouder werd zag ik ze vaker en waren er meer. In stadium IV waren de stampers meestal al geheel bruin. Zowel in 1984 als in 1985 bleek dat er verder



Figuur 3: Ontwikkelingsstadia van de bloem van P. angustifolia



Figuur 4: Ontwikkelingssstadia van de bloem van P. officinalis

geen duidelijk waarneembare kleurververanderingen op in de stampers; ze waren in alle stadia groen-gelig.
Hemmink vermeld in zijn onderzoek dat in stadium I alle helmhokken open en de helmhokken in stadium IV grijs-paars waren. In mijn onderzoek bleek echter dat vaak nog 2 tot 3 helmhokken dicht waren in stadium I en dat in stadium IV de helmhokken bruinig waren. Zowel uit het onderzoek in 1984 als in 1985 bleek dat de helmhokken in stadium IV verschrompeld waren en dat de kleur in stadium I t/m III paarsachtig grijs was.
Naast deze waarnemingen zijn de bloemen microscopisch bekeken. Bij dit onderzoek viel op dat de rand van de kroonslippen bestaat uit één cellaag kleurloze cellen (in alle stadia). Bovendien was er in stadium I duidelijk onderscheid tussen de vaatbundels (kleurloos) en de rest van de cellen in de kroon (rood). Vanaf de kroonslippen naar beneden werden deze vaatbundels eerst rose en daarna paars naarmate de bloem in een ouder stadium kwam. In stadium III en IV was nog nauwelijks onderscheid met de rest van de cellen van de kroon. In het eerste stadium lagen de cellen netjes geordend

figuur 5: Twee verschillende bloemen van twee verschillende planten (A en B) van P. officinalis

Tabel 1: Morfologische gegevens van de verschillende stadia van P. angustifolia (bepaald in 1985)
(x = de gemiddelde waarde; n = aantal metingen; s.d = standaardafwijking)

stadium	I	II	III	IV
kleur van de bloem	rood-rose	rand kroon rose-rood; rest blauw	blauw	blauw
lengte bloem (mm)	x=12,4 n=10 s.d=1,8	x=16,6 n=10 s.d=0,8	x=17,6 n=10 s.d=0,6	x=15,9 n=10 s.d=1,3
stand van de slippen t.o.v. kroonbuis (°)	x=8,2 n=10 s.d=3,7	x=28,5 n=10 s.d=15,1	x=46,5 n=10 s.d=3,4	x=51,5 n=10 s.d=10,8
lengte stamper (mm)	x=4,5 n=10 s.d=0,7	x=5,1 n=10 s.d=0,7	x=5,1 n=10 s.d=0,6	x=5,2 n=10 s.d=0,6
grootte van de bloemopening (mm^2)	x=0 - -	x=55,2 n=40 s.d=5,1	x=106,5 n=70 s.d=26,8	x=74,0 n=45 s.d=24,1
verdere kenmerken	knop	-	-	verdorde kroonslippen;"gaten" in de kroon

aaneen; naarmate de bloem ouder werd, leek deze geordendheid van de cellen steeds minder te worden.
In 1984 werden door H. Hemmink 5 ontwikkelingsstadia van de bloem van P. officinalis onderscheiden (zie fig. 4) gebaseerd op de volgende morfologische kenmerken:

- vooral de kleur van de kroon.
- stand van de kroonslippen t.o.v. de kroonbuis.
- lengte van de kroon (en daarmee de meeldraden).
- lengte van de kelk.

Tabel 2: Morfologische gegevens (microscopisch) van de verschillende stadia van P. angustifolia (bepaald in 1985)

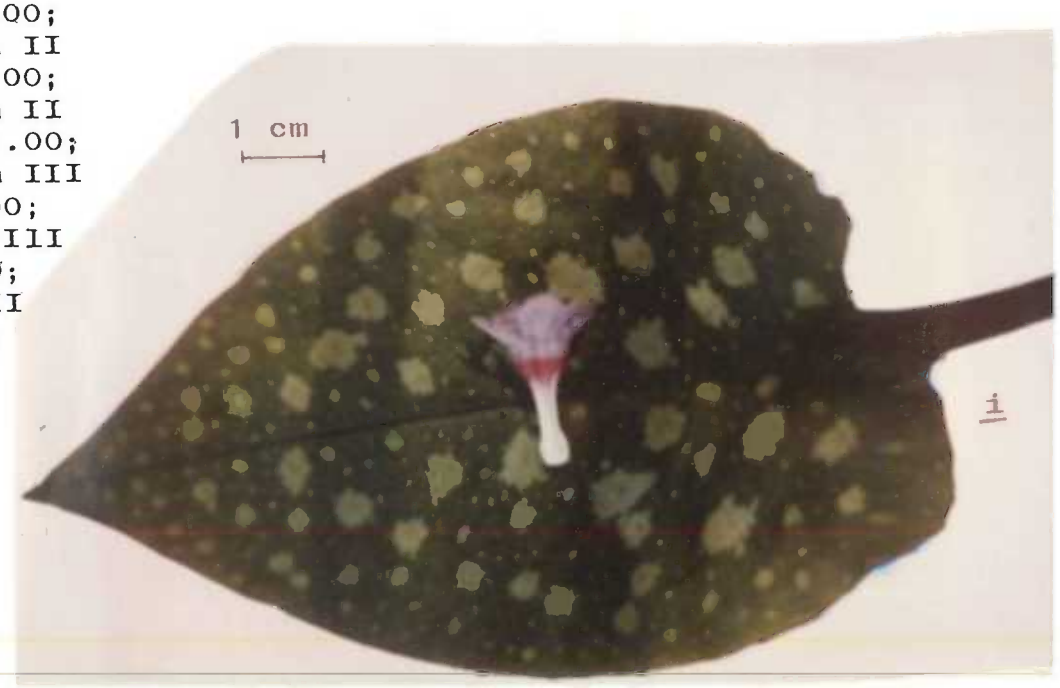
stadium	I	II	III	IV
bovenste rand kroon	smalle rand kleurloze cellen	als I	als I	als I
vaatbundels	kleurloze cellen;ongeveer rechthoekig	kleurloze cellen;dichtbij kroonslip rose cellen	rose cellen; dichtbij kroonslip geen onderscheid met rest cellen	overal rose cellen
rest van de kroon	min of meer ronde,rode cellen	cellen minder netjes aaneen; rose;aan de top paarse cellen	paarse cellen; cellen nog minder netjes naast elkaar	paarse cellen gaten in kroon: plaatsen waar cellen stuk zijn
kroonbuis	wit	wit	wit	wit
stigma	klein,hier en daar bruine vlekken	ziet er meer ontwikkeld uit meer bruine vlekken	als II	geheel of bijna geheel bruin
helmhokken	enkele open; enkele dicht	alle open	als II	bruinig

De kleurovergang van de bloem van P. officinalis van rozerood naar blauwpaars lijkt veel geleidelijker te verlopen dan bij P. angustifolia. Vandaar dat voor P. officinalis 5 ontwikkelingsstadia werden onderscheiden.

Door de ontwikkeling van 10 bloemen van P. officinalis gedurende hun bloeiperiode te volgen is gebleken, dat deze periode varieert van 5 tot 8 dagen. Hierbij dient te worden opgemerkt, dat er tussen bloemen (in hetzelfde stadium) van verschillende planten soms aanmerkelijke kleur- en vormverschillen bestonden. Een minderheid van de bloemen was veel blauwer van kleur in alle stadia (zie Fig. 5, bloem A).

Figuur 6: Ontwikkeling van een bloem van P. officinalis (van 7-5-1984 t/m 14-5-1984)

a: 7-5, 12.00 uur; stadium I
b: 8-5, 14.00; stadium II
c: 9-5, 12.00; stadium II
d: 10-5, 14.00; stadium III
e: 11-5, 12.00; stadium III
f: 12-5, 13.00; stadium III
g: 13-5, 10.00; stadium IV
h: 13-5, 17.00; stadium V
i: 14-5, 10.00; afgevallen kroon.



Ook was de vorm anders; de kroonslippen waren veel minder openstaand (zie fig. 5).
De in 1984 onderzochte bloemen waren alle kortstijlig en hadden relatief lange meeldraden. De bloemkleuren per stadia zijn weergegeven in figuur 4 en 6. De kelk verandert tijdens de ontwikkeling van de bloem nauwelijks van kleur en is groenrood.

Tabel 3 : Morfologische gegevens van de bloemen van *P. officinalis* (onderzoek 1985)
(x=gemiddelde waarde; n= aantal metingen; s.d=standaarddeviatie)

stadium	I	II	III	IV	V
kleur	rose-rood	rose-rood	rose	blauw-lila/blauw	blauw
lengte bloem (mm)	x=13,4 n=10 s.d=1,9	x=15,5 n=10 s.d=2,8	x=15,7 n=10 s.d=1,4	x=16,0 n=10 s.d=1,6	x=15,2 n=10 s.d=2,6
stand kroonslippen t.o.v. kroonbuis (°)	x=7,2 n=10 s.d=2,8	x=28 n=10 s.d=10,3	x=45,5 n=10 s.d=6,0	x=49,0 n=10 s.d=8,1	x=34,0 n=10 s.d=14,1
grootte van de bloemopening (mm^2)	x=0 - s.d= -	x=47,7 n=53 s.d=7,0	x=97,2 n=71 s.d=11,6	x=111,3 n=81 s.d=7,6	x=53,9 n=33 s.d=21,9
lengte van de stamper					
kortstijlig: (mm)	x=5,8 n=10 s.d=1,2	x=8,0 n=9 s.d=0,7	x=8,3 n=10 s.d=0,5	x=7,2 n=10 s.d=0,6	x=8,0 n=10 s.d=0,5
langstijlig: (mm)	x=4,2 n=2 s.d=1,2	x=5,2 n=8 s.d=0,6	x=6,3 n=3 s.d=0,6	x=4,6 n=1 s.d=-	x=5,1 n=10 s.d=0,5
opmerkingen	knop	bloem nog niet wijd openstaand	geheel open staand	niet verdord	verdorde kroonslippen

Tabel 4: Morfologische (microscopische) gegevens van de stadia van P. officinalis (uit 1985)

stadium	I	II	III	IV	V
rand van de kroonslippen	smalle rand kleurloze cellen	als I	als I	geen mooie rechte rand meer	als IV
vaatbundels	kleurloos	als I; aan top van kroonslip geen onderscheid met rest cellen	gelig;bijna zelfde kleur als rest cellen(vooral kroonslip)	geel-rose	gelig,goed zichtbaar t.o.v.de rest vooral naar kroonbuis toe
rest kroon	rood;cellen netjes aaneen;weinig kleurloos ertussen	rood;cellen minder netjes aaneen; meer kleurloos ertussen	cellen soms rose soms blauw	veel blauwe cellen,vooral aan kroonslip;cellen zien er ingeklapt uit	veel ingeklapte en kleurloze cellen;naar kroonbuis toe cellen minder stuk
kroonbuis	wit	als I	als I	als I	als I
stigma	weinig of geen bruine vlekken	als I	als I	bijna helemaal bruin	bijna helemaal bruin
helmhokken	alle dicht	alle open	alle open; meer pollen eruit	meeste pollen eruit	meeste pollen weg

In 1985 werd wat betreft P. officinalis zowel kortstijlige als langstijlige ondrzocht. Net als bij P. angustifolia werden dezelfde stadia gehanteerd als in 1984. De kleuren van de bloemen kwamen geheel overeen met die van 1984. De lengte van de bloem (Tabel 3) blijkt voor alle stadia niet significant te verschillen, hetzelfde geldt voor de lengte van de stamper van de langstijlige bloemen. Bij de kortstijlige bloemen blijkt alleen stadium I significant te verschillen t.o.v. de rest van de stadia, hetzelfde geldt voor de stand van de kroonslippen t.o.v. de kroonbuis (kortstijlig en langstijlig samen gemeten). Beide zijn in stadium I beduidend kleiner. In 1984 bleek dat in alle stadia de stamper ± 5 mm was.

De grootte van de bloemopening blijkt voor alle stadia significant te verschillen uitgezonderd voor stadium III en IV, en neemt van stadium I naar IV toe en in stadium V weer af. De oorzaak voor dit laatste is dat in stadium V de kroonslippen of nog een groter gedeelte van de bloem verwelkt is.
In tegenstelling tot de resultaten van 1984 bleek in 1985 dat in stadium I t/m III soms al bruine vlekken op het stigma zaten naast de vaak bijna geheel bruine stigma's in stadium IV en V (tabel 4). Ook bleek in 1985 in tegenstelling tot in 1984 dat de helmhokken in stadium I nog alle dicht waren. Uit beide onderzoeken bleek dat de kleur van de stijl niet zichtbaar veranderde tijdens de bloei en dat de helmhokken veranderden van paarsgrijs in stadia I t/m III naar iets grijzer in stadium IV en V; in deze laatste stadia waren ze meestal ook verschrompeld.

3.2 Tijdsduur van de stadia

Het was in 1985 de bedoeling dat de tijdsduur van de stadia van zowel bestoven als onbestoven bloemen gemeten zou worden. Zowel bij P. angustifolia als bij P. officinalis is het echter niet gelukt de bloemen met succes te bestuiven. Bij P. angustifolia bleek dat stuifmeel van de langstijlige genomen had moeten worden. Waarom de bestuiving bij P. officinalis niet gelukt is is niet duidelijk. De vruchtbeginsels van deze soort groeiden na bestuiving niet uit terwijl de pollenbuizen wel zeer ver in de stijl groeiden, er weinig callose-proppen in zowel de stijl als in het stigma waren en de groei van het pollen in het stigma duidelijk te zien was onder de fluorescentiemicroscoop. Op mogelijke redenen waarom de bestuiving bij deze soort niet gelukt is zal ik in de discussie uitgebreid op terug komen. Het is zeer betreurenswaardig dat de bestuiving niet gelukt is omdat verwacht werd dat na de bestuiving een snelle kleurverandering zou optreden.
Ondanks dat de bestuiving niet gelukt is, zal ik toch de tijdsduren van de stadia van de "bestoven" bloemen weergeven omdat deze tijden toch nog verschillen van de tijden van de stadia van de onbestoven bloemen.

Tabel 5 : Tijdsduur van de stadia van de bloemen van P. officinalis en P. angustifolia (onbestoven en "bestoven") (x= gemiddelde tijdsduur; n= aantal; s.d= standaardafwijking; alle tijden zijn weergegeven in uren en minuten)

P. angustifolia

stadium	I	II	III	IV	Totale bloeitijd
onbestoven	-	x=21:23	x=29:56	x=18:47	x=81:25
	-	n=15	n=15	n=15	n=15
	-	s.d=13:18	s.d=15:17	s.d=14:02	s.d=17:55
"bestoven"	-	x=19:36	x=33:25	x=22:06	x=88:22
	-	n=15	n=15	n=15	n=15
	-	s.d=9:29	s.d=15:46	s.d=14:54	s.d=17:28

P. officinalis

stadium	I	II	III	IV	V	Totale bloeitijd
onbestoven	-	x=17:47	x=19:20	x=24:38	x=12:44	x=82:42
	-	n=24	n=24	n=24	n=24	n=24
	-	s.d=9:03	s.d=14:00	s.d=13:39	s.d=8:23	s.d=17:35
" bestoven"	-	x=16:45	x=21:43	x=19:23	x=18:02	x=87:25
	-	n=22	n=22	n=22	n=22	n=22
	-	s.d=8:01	s.d=14:02	s.d=11:56	s.d=14:07	s.d=27:03

De tijdsduur van de stadia en de totale bloeitijd van de bloei van één bloem zijn weergegeven in tabel 5. Hierin valt te zien dat bij P. angustifolia de tijdsduur van het rode stadium (II) vrij kort is (± 21 uur), die van stadium III het langst en die van het verwelkte stadium het kortst is. Voor P. officinalis geldt dat het rode stadium (II) ook zeer kort is, stadium III (vnl.rood) iets langer, stadium IV (blauw) het langst en stadium v(verwelkte bloem) het kortst is. De bloemen zitten vanaf de laatste twee stadia al vrij los in de kelk en als de bloem verwelkt duurt het dan ook vrij kort voordat de bloem afvalt. De totale bloeitijden zijn voor beide soorten ± 82 uur. De bestuiving werd meestal uitgevoerd in stadium II, als de bestuiving gelukt was zouden we een vrij snelle kleurverandering van rood naar blauw verwachten. Bij P. angustifolia zou

dan stadium II en bij P. officinalis II en III korter moeten zijn. Hoewel de bestuiving niet gelukt is, zijn de stadiaduur van stadium II bij de "bestoven" bloemen toch korter dan de onbestoven. Ook zijn de totale bloeitijden langer bij de "bestoven" bloemen. De gemiddelden liggen echter alle nog vrij dicht bij elkaar en men moet rekening houden met de grote standaardafwijkingen. De tijdsduur van de stadia bleken zeer sterk afhankelijk te zijn van de weersomstandigheden. Bij mooi weer waren de tijden ongeveer de helft van de tijden bij slecht weer. De standaardafwijkingen zijn daarom alle ook zeer groot.
In 1984 werd ook de duur van de stadia bijgehouden. In dit verslag word het volgende gezegd:
De volgende beschrijving geldt voor 9 van de 10 geprotocolleerde bloemen. De bloem bevindt zich meestal tot 2 dagen voordat zij afvalt in stadium III (zie Fig. 6). Stadium IV wordt meestal ca. 1-1,5 dag voordat zij afvalt bereikt. Terwijl alleen gedurende de laatste 1-0,5 dag, voordat hij afvalt, van stadium V gesproken kan worden (zie Fig.6). Het verwelken van de kroon begon soms in stadium IV, meestal in stadium V.

3.3 Hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie ervan.

De in 1984 gevonden gemiddelde waarden voor de hoeveelheid nectar per bloem en de suikerconcentratie zijn weergegeven in de Ta-

Tabel 6 : Hoeveelheid nectar (in µl) gemiddeld in gekooide bloemen van P.angustifolia (HS) bepaald op 18-4-1984. (H=hoeveelheid nectar, s.d=standaardafwijking, n=aantal)

Temperatuur		3°C	6°C	10°C	13°C	15°C	15°C	10°C
Tijdstip		7.00	9.00	11.00	13.00	15.00	17.00	19.00
Stadium								
I	H	0.22	0.17	0.15	0.29	0.24	0.31	0.33
	s.d.	-	0.00	0.06	0.12	0.03	-	0.32
	n	1	2	2	2	2	1	2
II	H	0.19	0.27	0.27	0.27	0.59	0.66	0.75
	s.d.	0.08	-	0.02	0.08	-	0.15	0.04
	n	2	1	2	3	1	2	2
III	H	0.34	0.32	0.49	0.65	1.14	1.22	1.43
	s.d.	0.02	0.02	0.26	0.22	0.22	0.16	0.19
	n	3	4	3	3	3	3	2
IV	H	0.24	0.51	0.37	0.47	1.02	0.98	0.87
	s.d.	0.21	0.03	0.12	0.02	0.02	0.08	0.04
	n	2	3	3	2	2	2	2

bellen 6, 7, 8 en 9 voor P.angustifolia en voor P. officina-
in de Tabellen 10 en 11en in de grafieken van Fig. 7 en Fig. 8.

Tabel 7: Percentages suiker van de in Tabel 1 gegeven hoeveelheden nectar in gekooide bloemen van P. angustifolia (HS) bepaald op 18-4-1984. (S=%suiker, s.d.=standaard afwijking en n=aantal bloemen)

Temperatuur Tijdstip		3° C 7.00	6° C 9.00	10° C 11.00	13° C 13.00	15° C 15.00	15° C 17.00	10° C 19.00
Stadium								
	S	11.0	11.7	16.2	21.2	33.0	46.5	19.5
I	s.d.	-	2.5	5.3	7.4	26.8	-	0.7
	n	1	2	2	2	2	1	2
	S	8.2	14.0	19.5	18.6	33.5	31.0	35.6
II	s.d.	1.1	-	2.8	7.1	-	9.9	4.2
	n	2	1	2	3	1	2	2
	S	12.5	20.7	25.7	22.8	34.2	33.7	31.5
III	s.d.	0.5	2.2	5.7	2.8	5.8	2.5	4.6
	n	3	4	3	3	3	3	2
	S	15.5	10.3	14.7	20.5	33.5	34.3	24.0
IV	s.d.	5.7	3.2	5.8	0.7	0.7	10.9	14.8
	n	2	3	3	2	2	2	2

Tabel 8: Hoeveelheid nectar (in µl) gemiddeld in ongekooide bloemen van P. angustifolia (HS) bepaald op 18-4-1984. (H=hoeveelheid nectar, s.d.=standaardafwijking, n=aantal bloemen)

Temperatuur Tijdstip		3° C 7.00	6° C 9.00	10° C 11.00	13° C 13.00	15° C 15.00	15° C 17.00	10° C 19.00
Stadium								
	H	0.03	0.11	0	0	0	0	0
I	s.d.	0.04	0.03					
	n	2	3	1	2	2	2	2
	H	0.29	0.11	0.03	0.03		0	0.07
II	s.d.	0.08	0.04	0.04	0.04			0.01
	n	2	2	2	2	0	2	2
	H	0.28	0.21	0.10	0.02	0.03	0	0.11
III	s.d.	0.16	0.03	0.05	0.04	0.06		0.09
	n	4	2	3	3	4	4	3
	H	0.26	0.27	0.29	0.02	0	0	0.03
IV	s.d.	0.17	0.07	0.18	0.04			0.04
	n	2	2	3	3	4	2	4

Tabel 9 : Percentages suiker van de in Tabel 3 gegeven hoeveelheden nectar in ongekooide bloemen van P. angustifolia (HS) bepaald op 18-4-1984. (S=%suiker, s.d.=standaard afwijking en n=aantal bloemen)

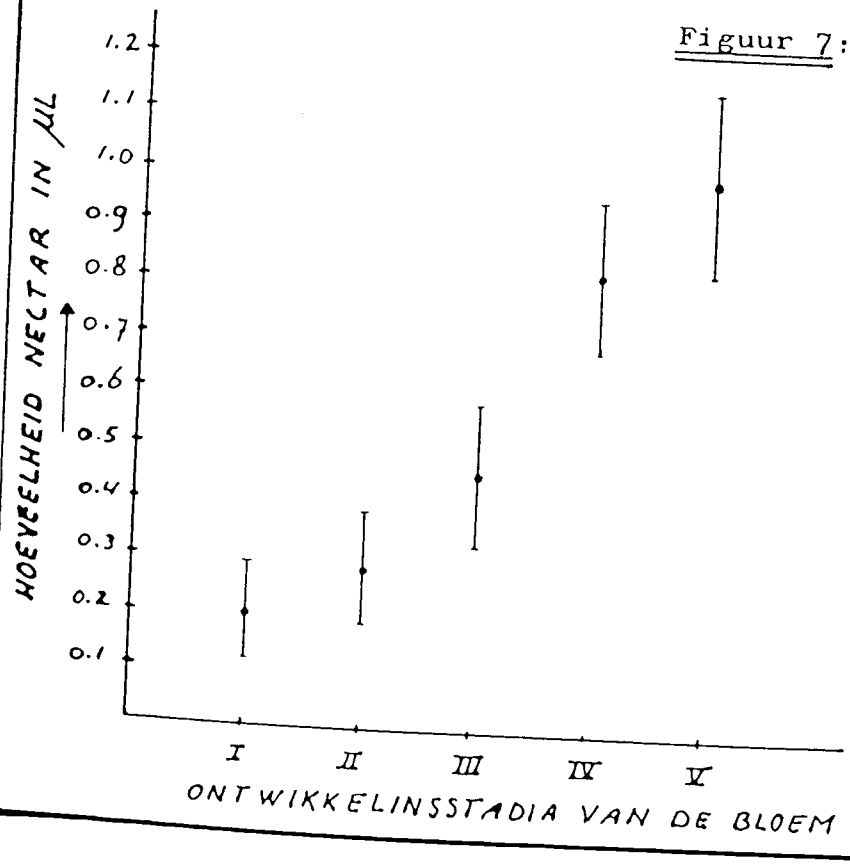
Temperatuur Tijdstip	3°C 7.00	6°C 9.00	10°C 11.00	13°C 13.00	15°C 15.00	15°C 17.00	10°C 19.00
Stadium							
I S	-	9.3					
I s.d.		5.8					
I n	2	3					
II S	6.5	9.5	4.5	-			12.0
II s.d.	2.1	3.5	6.3				
II n	2	2	2	2			1
III S	7.5	3.7	8.7	-	-		14.2
III s.d.	1.5	1.1	2.5				1.1
III n	3	2	3	3	3		2
IV S	22.7	8.7	14.7	-			11.8
IV s.d.	19.4	4.6	11.5				8.2
IV n	2	2	3	3			4

Tabel 10: Hoeveelheid nectar (in ul) gemiddeld in gekooide bloemen van P. officinalis (HS) bepaald op 28-4-1984. (H=hoeveelheid nectar, s.d.=standaardafwijking, n=aantal bloemen)

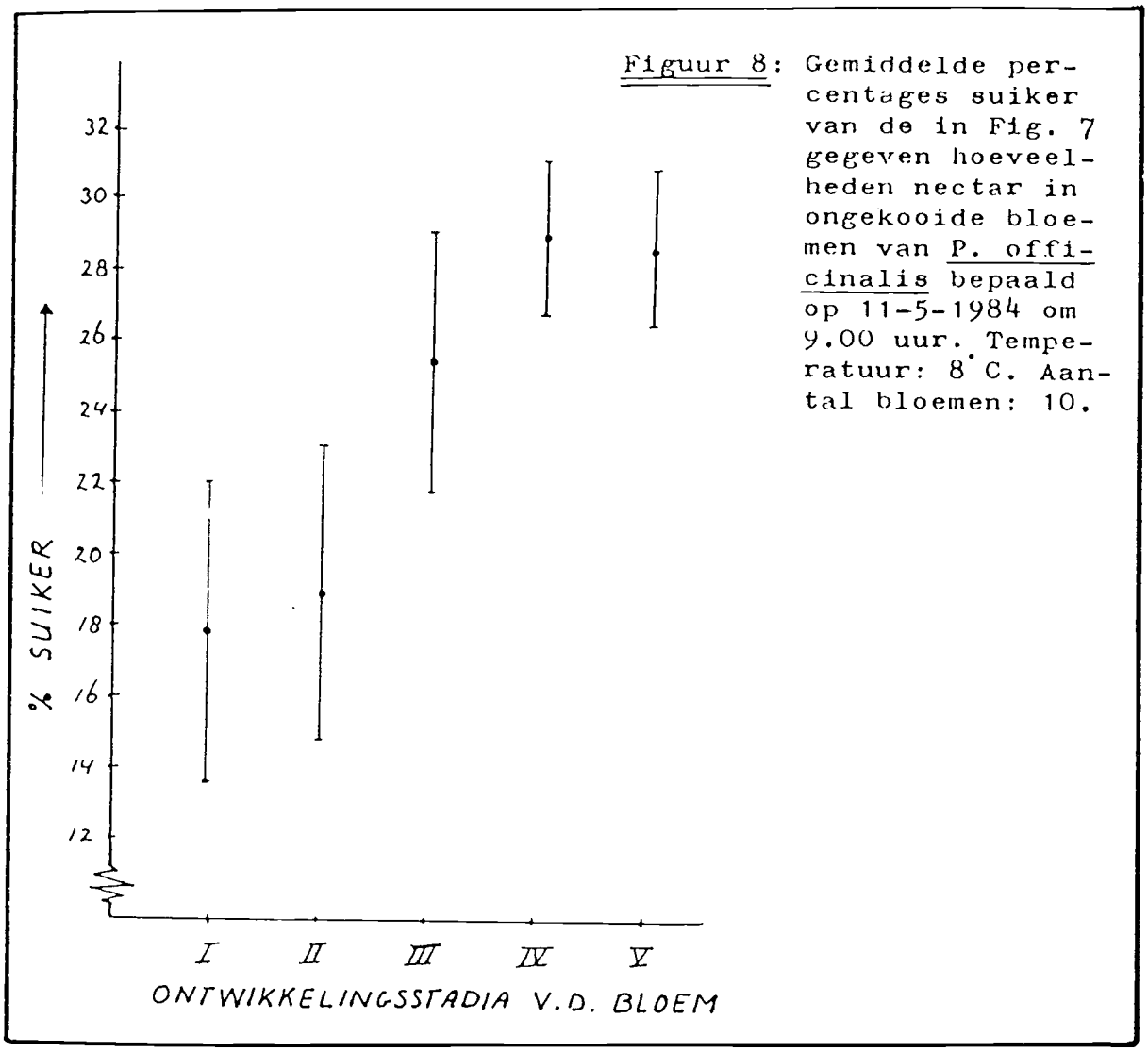
Temperatuur Tijdstip	6°C 7.30	9°C 9.30	13°C 11.30	18°C 13.30	17°C 15.30	18°C 17.30	11°C 19.30
Stadium							
I H	0.13	0.05	0.02	0.06	0.20	0.17	0.18
I s.d.	0.08	0.04	0.02	0.02	0.12	0.05	0.12
I n	5	3	3	3	3	3	5
II H	0.08	0.24	0.18	0.32	0.26	0.42	0.18
II s.d.	0.06	0.15	0.10	0.01	0.22	0.08	0.10
II n	5	3	3	3	3	3	5
III H	0.56	0.27	0.54	0.89	0.94	0.69	0.71
III s.d.	0.09	0.15	0.19	0.36	0.05	0.38	0.26
III n	5	3	3	3	3	3	5
IV H	0.53	0.59	1.09	1.39	1.41	1.59	2.28
IV s.d.	0.25	0.25	0.39	0.69	0.42	0.18	0.37
IV n	5	3	3	3	3	3	5
V H	0.39	0.73	0.77	1.10	1.12	1.43	2.22
V s.d.	0.14	0.07	0.17	0.34	0.83	1.07	0.51
V n	5	3	3	3	3	3	5

Tabel 11: Percentages suiker van de in Tabel 5 gegeven hoeveelheden nectar in gekooide bloemen van P. officinalis (HS) bepaald op 28-4-1984. (S=%suiker, s.d.=standaard afwijking en n=aantal bloemen)

Temperatuur Tijdstip	6°C 7.30	9°C 9.30	13°C 11.30	18°C 13.30	17°C 15.30	18°C 17.30	11°C 19.30
Stadium							
I S	11.5	6.0	-	14.0	22.6	21.3	23.4
I s.d.	4.1				3.2	2.0	7.6
I n	5	1	1	1	3	3	5
II S	18.5	18.3	13.0	20.2	29.5	26.8	25.5
II s.d.	5.1	5.1	7.1	2.0	11.3	3.3	18.4
II n	5	3	3	3	3	3	5
III S	21.0	20.5	28.0	34.8	40.0	41.2	40.2
III s.d.	2.9	3.9	10.5	7.0	3.9	7.1	6.9
III n	5	3	3	3	3	3	5
IV S	19.6	23.5	32.2	33.6	37.2	36.2	37.3
IV s.d.	9.4	7.0	3.4	3.6	6.5	2.0	4.2
IV n	5	3	3	3	3	3	5
V S	21.2	24.2	26.3	31.8	38.0	36.5	32.8
V s.d.	5.6	2.8	0.5	4.2	6.3	7.9	2.1
V n	5	3	3	3	3	3	5



Figuur 7: Gemiddelde hoeveelheid nectar (met standaardafwijking) in ongekooide bloemen van P. officinalis (HS) bepaald op 11-5-1984 om 9.00 uur. Temperatuur: 8°C. Aantal bloemen per stadium: 10.



Figuur 8: Gemiddelde percentages suiker van de in Fig. 7 gegeven hoeveelheden nectar in ongekooide bloemen van P. officinalis bepaald op 11-5-1984 om 9.00 uur. Temperatuur: 8°C. Aantal bloemen: 10.

In 1985 werden wederom de hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie van de nectar in ieder stadium van de bloemen gemeten. Hoewel zoals eerder vermeld de bestuiving niet gelukt is zal ik wederom de gev nden waarden van de "bestoven" bloemen wel vermelden. Alle gegevens staan in tabel 12 en 13 en figuur 9 tot en met 11. Uit deze gegevens blijkt het volgende:
In het knopstadium (I) is er geen nectar in de bloemen aanwezig. Bij P. officinalis neemt de nectarproduktie toe naarmate stadium III bereikt wordt, en als de bloem blauw is neemt de nectarproduktie weer af. In het laatste stadium is de hoeveelheid nectar nog maar zeer klein. (fig. 9a en b)
In figuur 9c zijn de waarden voor stadium IV en V hoger. Dit

Tabel 12 : Hoeveelheid nectar in "bestoven" en onbestoven bloemen van P. angustifolia en P. officinalis ; gemeten twee keer per dag aan gekooide planten (uit 1985) (x=gemiddelde waarde in µl; s.d= standaardafwijking in µl; n=aantal metingen; data= de data waarop de metingen werden gedaan)

P. officinalis

	data	stadium				
		I	II	III	IV	V
onbestoven	28/4 t/m 13/5	x=0 s.d=0 n=10	x=0,12 s.d=0,24 n=15	x=0,17 s.d=0,33 n=25	x=0,10 s.d=0,35 n=18.	x=0,00 s.d=0 n=6
"bestoven"	28/4 t/m 13/5	x=0 s.d=0 n=10	x=0,05 s.d=0,12 n=13	x=0,24 s.d=0,56 n=22	x=0,20 s.d=0,43 n=18	x=0,02 s.d=0,05 n=9

P. angustifolia

	data	stadium			
		I	II	III	IV
onbestoven	28/4 t/m 8/5	x=0 s.d=0 n=10	x=0,14 s.d=0,39 n=13	x=0,30 s.d=0,40 n=19	x=0,07 s.d=0,16 n=10
"bestoven"	28/4 t/m 8/5	x=0 s.d=0. n=10	x=0,10 s.d=0,26 n=10	x=0,09 s.d=0,20 n=24	x=0,06 s.d=0,18 n=9

komt omdat hier de bloemen toen ze gekooid werden nog in een vroeger stadium waren (de bloemen waren langer gekooid) als bij de metingen. Bijvoorbeeld: Tijdens de kooiing is een bloem in stadium III, deze produceert veel nectar; de bloem gaat over in stadium IV en daarna in V en de nectarproduktie wordt gemeten: de hoeveelheid nectar gemeten in stadium V is dan de hoeveelheid geproduceerd in stadium III, IV en V samen. Omdat de suikerconcentratie-meting (fig.10) van dezelfde meting afkomstig is als die weergegeven in fig 9a moet bij de interpretatie hiervan ook met bovengenoemd verschijnsel rekening gehouden worden. De suikerconcentratie stijgt van stadium II naar III en neemt in stadium IV en nog meer in stadium V af. Door de lange tijd dat de bloemen gekooid zijn,

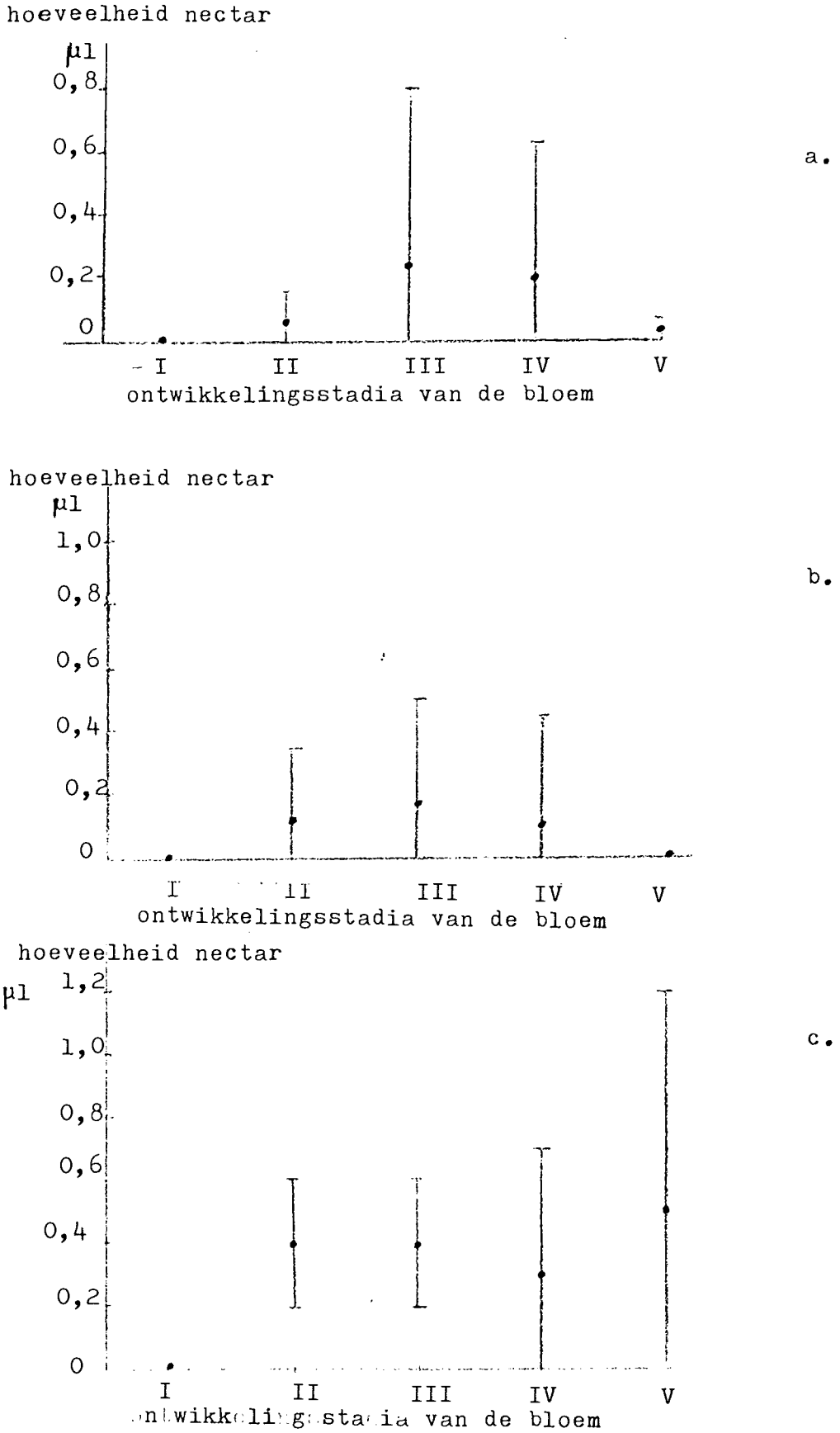
Tabel 13 : Hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie hiervan in de bloemen van P. angustifolia en P. officinalis gemeten na een aantal dagen kooien. (gemeten in 1985) (x=gemiddelde hoeveelheid in µl; c= concentratie suiker in g sucrose/l; s.d=standaardafwijking; n=aantal metingen; d.d=datum; a.d= aantal dagen dat de bloemen gekooid zijn; w=windsterkte; z=hoeveelheid zon; +=veel; -=weinig; L= luchtvochtigheid in % ; T=temperatuur in Celsius)

				P. officinalis						
d.d	L	T	w	z	a.d	stadia I	II	III	IV	V
15/5	56	22	-	+	1	x=0 s.d=0 n=4	x=0,4 s.d=0,2 n=4 c=338,1 s.d=?	x=0,4 s.d=0,2 n=9 c=470,6 s.d=?	x=0,3 s.d=0,4 n=14 c=456,9 s.d=?	x=0,5 s.d=0,7 n=12 c=403,0 s.d=?

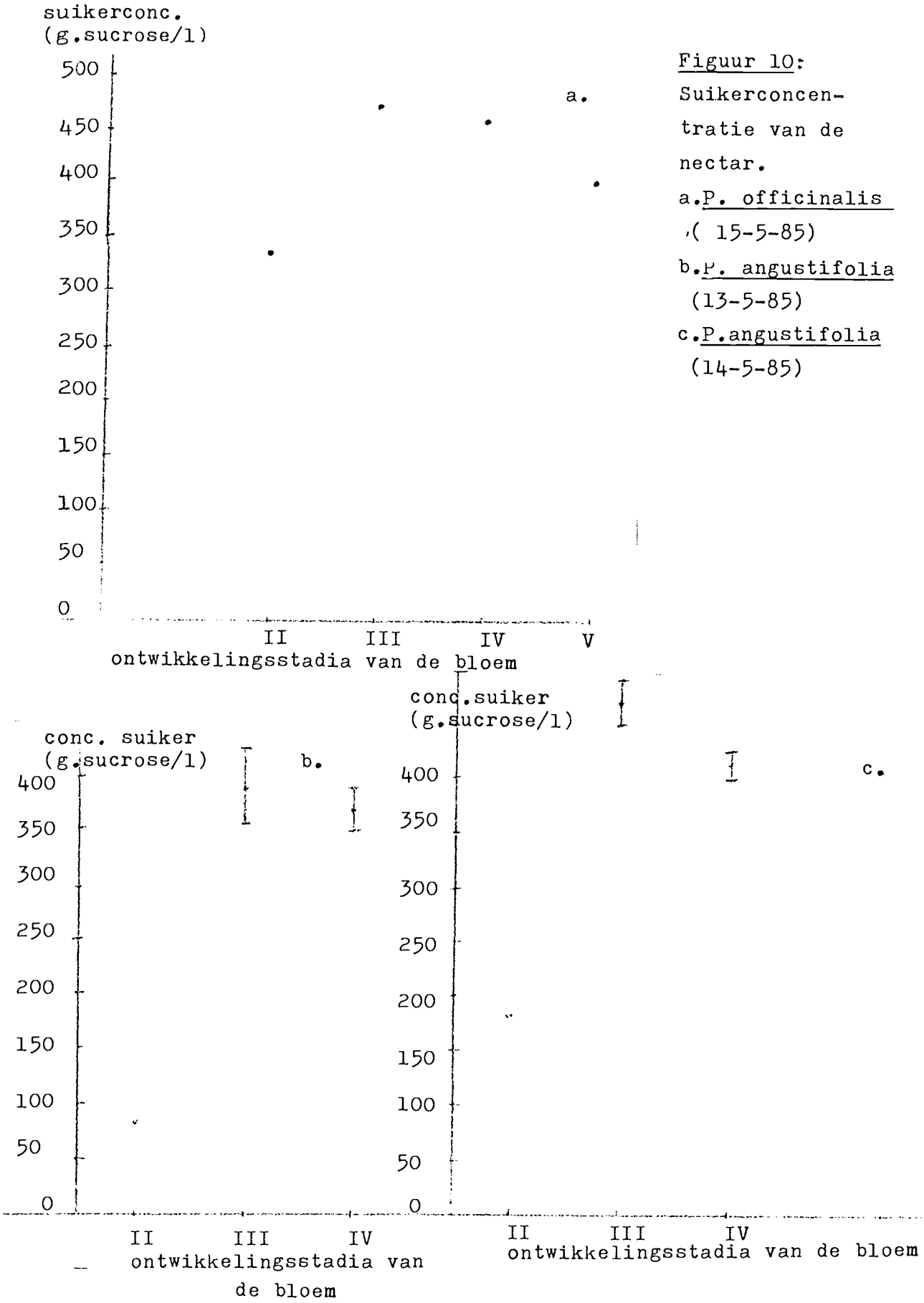
				P. angustifolia					
d.d	L	T	w	z	a.d	stadia I	II	III	IV
13/5	64	18	-	+	6	x=0 s.d=0 n=41	x=0,2 s.d=0,9 n=41 c=181,5 s.d=?	x=0,6 s.d=0,8 n=70 c=470,6 s.d=20,1	x=0,3 s.d=0,3 n=42 c=4,16,2 s.d=10,0
14/5	70	19	+	+	7	x=0 s.d=0 n=12	x=0,3 s.d=0,3 n=12 c=82,4 s.d=?	x=0,7 s.d=0,6 n=21 c=389,8 s.d=35,4	x=1,1 s.d=0,3 n=16 c=370,0 s.d=20,1

zullen de suikerconcentratie-waarden in stadium IV en V in werkelijkheid lager zijn dan de gevonden waarden (In stadium IV en V is ook nectar aanwezig uit stadium III).

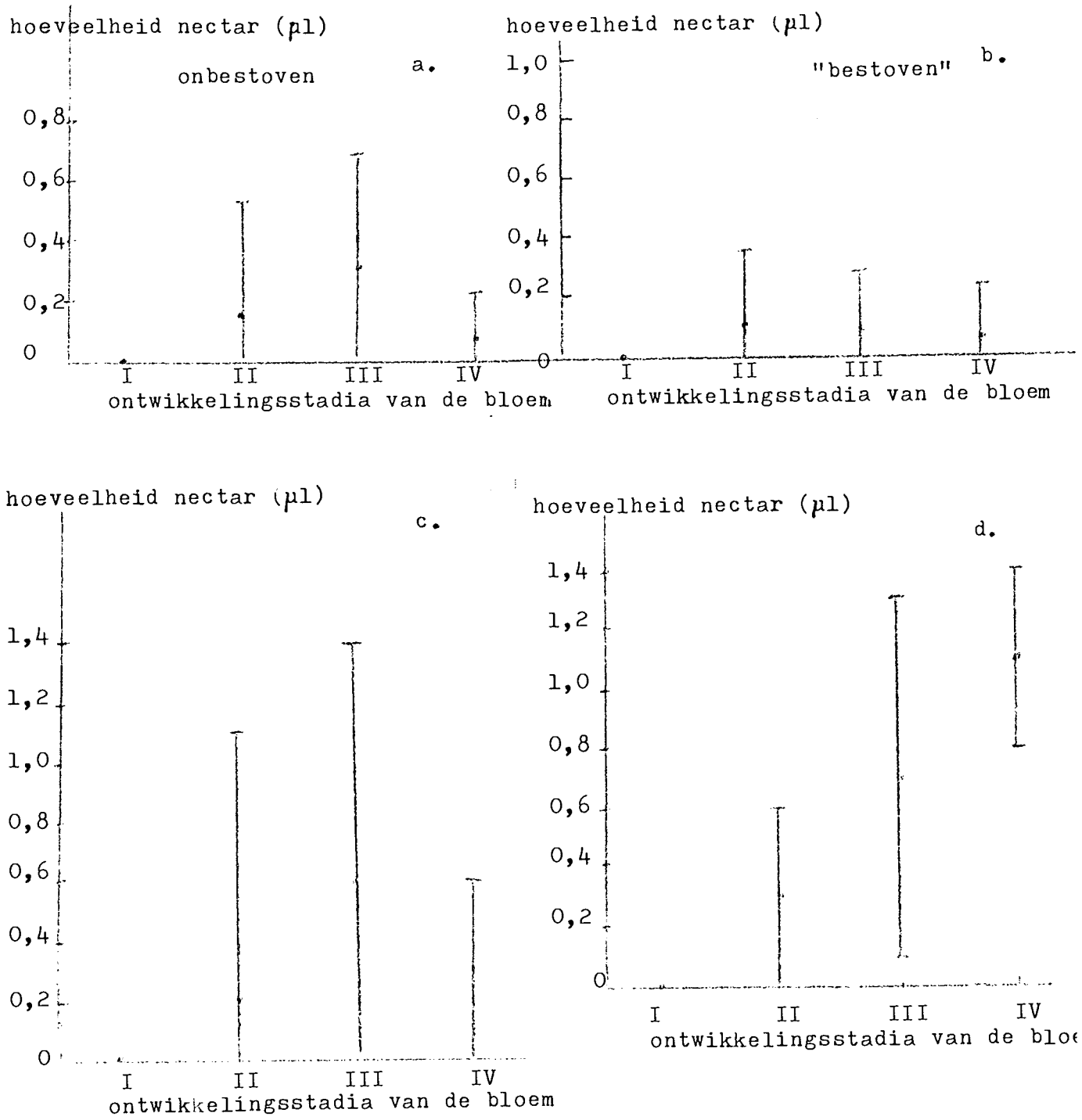
Voor P. angustifolia geldt hetzelfde, behalve dan dat hier vier stadia zijn. Het blauwe stadium begint echter net als bij P. officinalis in stadium IV en hier neemt dan ook net als bij P. officinalis de suikerconcentratie en de nectarproductie af (fig.10b en c en fig.11).



Figuur 9 : Hoeveelheid nectar in de bloemen van P. officinalis.
a.onbestoven bloemen ; b."bestoven" bloemen ; c. 1 dag gekooid
a en b ½ dag gekooid



Figuur 10:
Suikerconcentratie van de nectar.
a. P. officinalis (15-5-85)
b. P. angustifolia (13-5-85)
c. P. angustifolia (14-5-85)



Figuur 11: nectarhoeveelheden in de bloemen van P. angustifolia

a. in onbestoven bloemen; b. in "bestoven" bloemen

a en b een ½ dag gekooid

c. 7 dagen gekooid ; meting op 14-5-85

d. 6 dagen gekooid ; meting op 13-5-85

3.4 Fertiliteit van het pollen.

In 1984 werd de fertiliteit van het pollen getest. Dit werd in 1985 niet herhaald.
In tabel14 worden de percentages fertiele pollen per bloem weergegeven. Hierbij moet opgemerkt worden, dat in stadium III voor beide soorten er meestal tussen de honderd en tweehonderd fertiele korrels geteld konden worden en dat in stadium IV voor beide soorten en stadium V voor P. officinalis er meestal minder dan honderd pollenkorrels geteld konden worden.

Tabel 14 Gemiddeld percentage fertiele pollenkorrels per bloem voor de verschillende ontwikkelingsstadia van P. angustifolia (Z) en P. officinalis (HS). Aantal bloemen per stadium is 5. s.d.=standaardafwijking.

Soort \ Stadium		I	II	III	IV	V
P. angustifolia	%	97.1	97.1	96.2	95.6	
	s.d.	1.7	0.9	2.3	2.5	
P. officinalis	%	94.9	96.4	96.1	97.3	97.7
	s.d.	1.0	1.9	2.2	1.3	1.4

3.5 Aantal pollenkorrels per helmhok.

Evenals de fertiliteitsbepaling van het pollen werd het aantal pollenkorrels per helmhok alleen in 1984 uitgevoerd

Tabel15 : Gemiddeld aantal pollenkorrels per helmhok voor de verschillende ontwikkelingsstadia van P.angustifolia (Z) en P. officinalis (HS). Aantal helmhokken van verschillende bloemen: 5. p=aantal pollenkorrels; s.d.= standaardafwijking.

Soort \ Stadium		I	II	III	IV	V
P.angustifolia	p	1012	2056	640	380	
	s.d.	457	860	329	359	
P.officinalis	p	1388	6288	1496	132	44
	s.d.	374	4860	1160	101	55

In Tabel 15 zijn de resultaten van de pollenkorreltelling weergegeven. Opvallend zijn hier de enorme verschillen tussen de genomen monsters. In vrijwel alle stadia voor beide soorten zijn de standaardafwijkingen enorm. Waarschijnlijk is de gevolgde methode hier debet aan.

3.6 Receptiviteitsbepaling van de stempel.

De gegevens uit het onderzoek van 1984:
De receptiviteit van de stempels kreeg een klasse aanduiding zoals in de methoden onder 2.3.6 staat vermeldt. In Tabel 16 zijn de gemiddelden van de gevonden waarden weergegeven.

Tabel 16: Gemiddelde receptiviteit van de stempel voor de verschillende ontwikkelingsstadia van P. angustifolia (Z) en P. officinalis (HS). Aantal stempels per stadium is 5.

Soort \ Stadium	I	II	III	IV	V
P. angustifolia	-	-+	+	++	
P. officinalis	-	-+	+	++	++

In 1985 werd een schaal van 0 tot 10 gebruikt: 0 is geen gasontwikkeling en 10 is zeer veel. De resultaten zijn weergegeven in tabel 17. De stempel van P. angustifolia is in stadium I niet receptief, en de receptiviteit lijkt in stadium IV het grootst te zijn. De stempel van P. officinalis is meestal niet receptief in stadium I en indien het dit wel is, is de receptiviteit zeer laag. In stadium IV is de receptiviteit het hoogst.

3.7 U.V.nectarmerk.

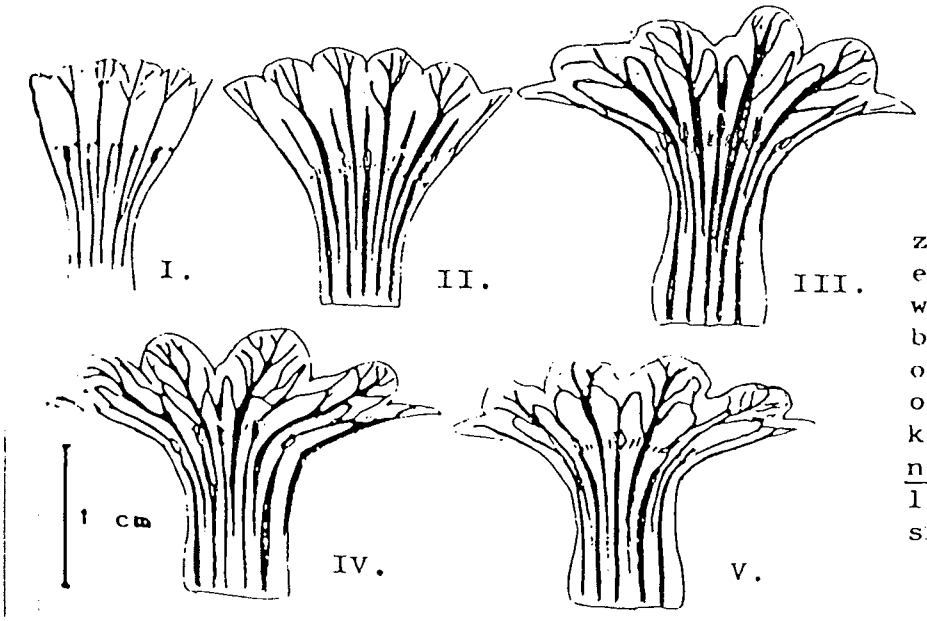
Bij het onderzoek in 1984 bleek hetvolgende:
Het onderscheiden van een U.V. nectarmerk aan de bloemen van P. officinalis was zeer moeilijk. In Fig. 12 is getracht het verschil weer te geven tussen de absorberende delen en refflecterende delen van de bloemkroon. Het zijn vooral de nerven en de

Tabel 17: Receptiviteit van de stempel van P. angustifolia en P. officinalis (schaal van 0 tot 10)

(x= gemiddelde waarde; s.d = standaardafwijking; n= aantal metingen)

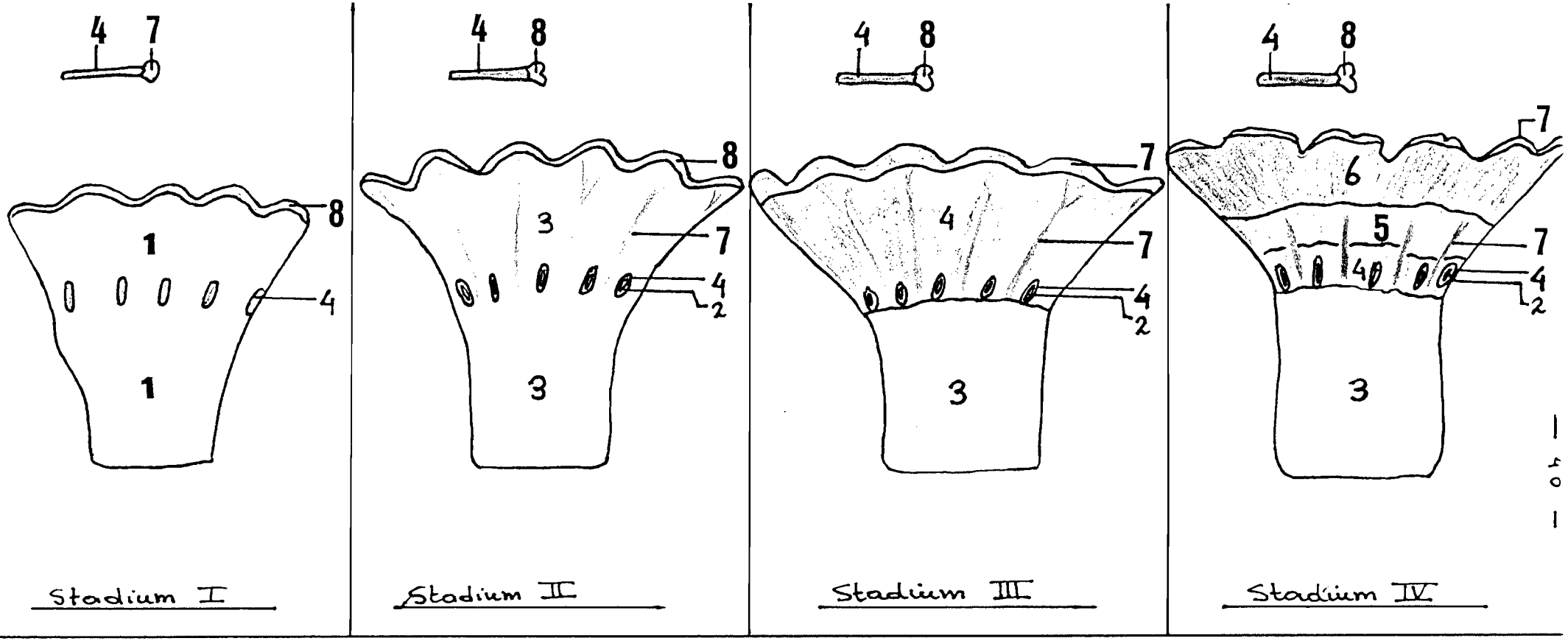
stadium	I	II	III	IV	V
P.angustifolia	x=0 s.d=0 n=10	x=1,6 s.d=1,9 n=10	x=7,1 s.d=2,2 n=10	x=9,7 s.d=0,5 n=10	
P.officinalis	x=0,2 s.d=0,4 n=10	x=1,5 s.d=2,8 n=10	x=6,1 s.d=3,2 n=10	x=9,4 s.d=1,3 n=10	x=8,6 s.d=1,5 n=10

meeldraden (in de kroonbuis), die reflecteren. Verder is er, vanaf stadium I, een toename te zien van het aantal reflecterende nerven op de kroonslippen. In stadium V neemt de reflectie van de nerven langs de randen van de slippen heel iets af. De helmhokken lichtten onder U.V. licht zwak wittig op. De 'harenkrans' op de hoogte van de helmhokken reflecteerde het U.V. licht matig. Het gedeelte onder deze 'harenkrans', dat zonder U.V. licht rood is (zie Fig. 4), absorbeerde het U.V. licht sterker dan de rest van de kroon.



Figuur 12: Schematische weergave van, onder U.V. licht, reflecterende (hier zwart weergegeven) en absorberende (hier wit) delen van de binnenzijde van de opengeknipte (op de onderste kroonslip) kroon van P.officinalis. in verschillende ontwikkelingsstadia.

In 1985 werd dit onderzoek uitgebreid herhaald. De resultaten zijn weergegeven in fig. 13 en 14 en op de volgende bladzijden.
(Pa= P. angustifolia ; Po= P. officinalis)

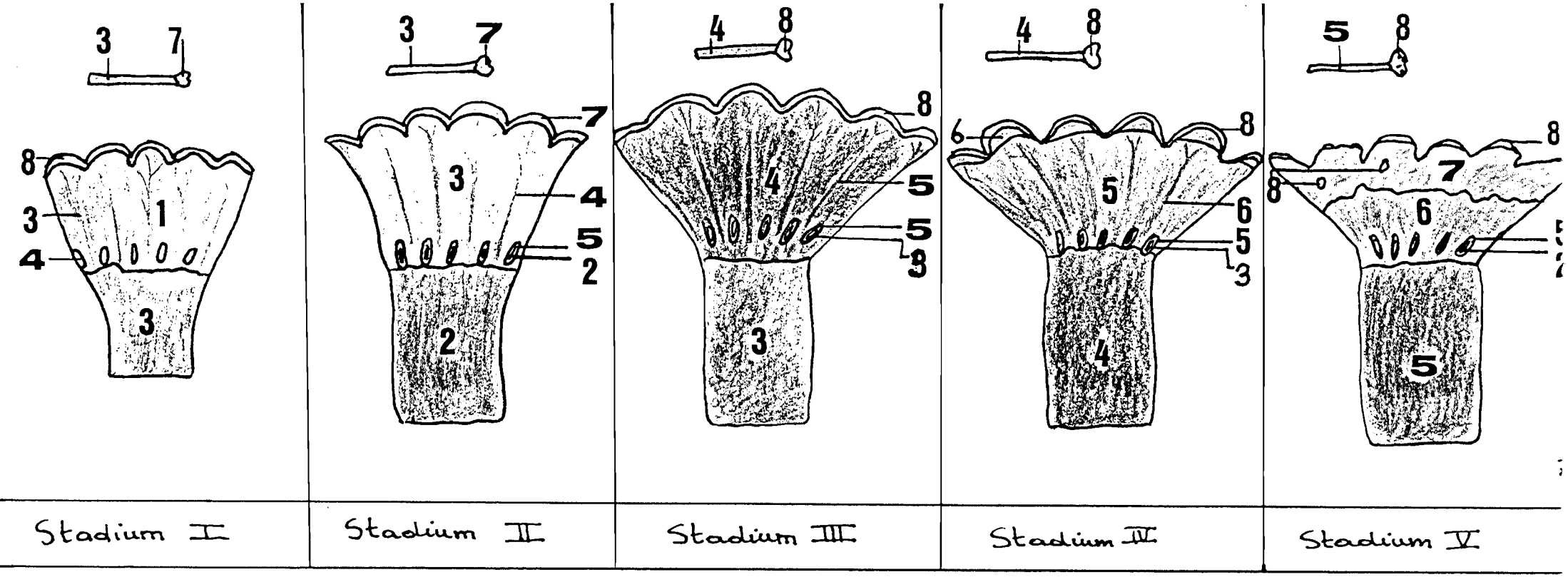


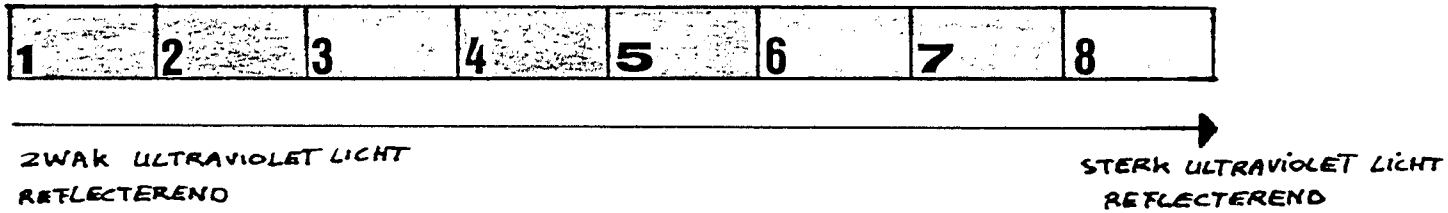
1	2	3	4	5	6	7	8

ZWAK U.V. LICHT REFLECTEREND → STERK U.V. LICHT REFLECTEREND

Figuur 13: U.V. Licht-reflectie in de bloemen van P. angustifolia

In de stadia waarin de bloem rood/rose is (I en II bij Pa.;I,II en III bij Po) worden de kroonslippen begrensd door een sterk U.V.reflecterende rand. Deze rand komt overeen met een rand kleurloze cellen; de rest van de cellen van de kroon zijn rood (behalve de vaatbundels). Als de bloem blauw wordt, wordt deze rand vager. Tegelijkertijd plasmolyseren de cellen van de kroonslippen; dit begint aan de top. Uiteindelijk zien de kroonslippen er geheel verdord uit (stadium IV bij Pa.; stadium V bij Po.). Tevens zijn er in dit laatste stadium plaatsen elders in de kroon waar de cellen geplasmolyseerd zijn. Al deze geplasmolyseerde cellen reflecteren U.V.-licht vrij sterk. Zoals eerder gezegd reflecteert de smalle band aan de kroonslippen minder sterk naarmate de bloem blauw en ouder is. Het aantal geplasmolyseerde cellen neemt echter toe zodat de smalle sterk reflecterende rand in de rood-bloeiende stadia plaats maakt voor een steeds breder wordende zwak reflecterende rand in de blauwbloeiende stadia. Het U.V.-nectarmerk,wat overeenkomt met de ligging van de vaatbundels (en die kleurloos zijn), reflecteert het sterkst in stadium II, III bij Pa. en in stadium III, IV en V bij Po. . In het knopstadium reflecteert dit nectarmerk niet meer dan de rest van de kroon; in stadium II zeer sterk ten opzichte van de rest van de kroon (bij Pa.), bij Po. is de reflectie in stadium III sterker ten opzichte van de rest van de kroon in vergelijking met stadium II en in stadium IV is deze het sterkst. Bij Pa. is de reflectie in stadium III iets minder dan in stadium II maar er is nog wel duidelijk verschil met de rest van de kroon; in stadium IV is er vooral in de bovenste helft van de kroon, waar zich veel geplasmolyseerde cellen bevinden, geen onderscheid meer tussen nectarmerk en de rest van de kroon.
Wat betreft de rest van de bloem kan het volgende opgemerkt worden:
De kroon (uitgezonderd de rand van de kroonslippen en de vaatbundels) en de kroonbuis reflecteren in het knopstadium zeer zwak en naarmate de bloem ouder wordt steeds feller.
De stijl reflecteert in alle stadia matig en gelijk; het stigma reflecteert in het knopstadium matig en in alle andere stadia fel. Naarmate de bloem ouder wordt komen er steeds meer bruine vlekken op het stigma die geen U.V.-licht relecteren. In het knopstadium reflecteren de helmknoppen geheel en matig. In alle andere stadia reflecteren vooral de randen van de helmknoppen. Het pollen reflecteert altijd even sterk. Een deel van de helmknoppen gaat in het





Figuur 14: U.V.-licht reflektie in de bloemen van P officinalis

knopstadium al open. Als de bloem volop rose-rood is zijn ze alle open. De kroonschubben reflecteren in alle stadia iets meer U.V.-licht dan het omringende weefsel, maar dit is niet erg veel meer. De haren die zich op de kroonschubben bevinden reflecteren gelig licht; als de bloem verwelkt gaan de haren blauwachtig reflecteren.

* Pa. = Pulmonaria angustifolia
Po. = Pulmonaria officinalis

3.8 Reflectie van licht van 350 tot en met 490 nm.

Dit onderzoek werd alleen in 1985 uitgevoerd. De resultaten zijn vermeld in tabel 18.

Tabel 18: reflectie van licht van 350 tot en met 490 nm.

	Pulmonaria officinalis					Pulmonaria angustifolia			
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV
rand kroon	++	+	++	++	+++	++	++	++	++
rest kroon	+-	+	++	++	+++	+	+-	+--	+--
nectar-merk	+	+	++	+++	+++	+	+	++	++
helmknop	+	++	++	++	++	+	+	+	+
kroon-buis	+	+-	+	++	+	+	+	+*	+*
stigma	++	+	++	++	+	++	++	++	++
stijl	+	+-	++	++	++	+	+-	+	+

* van 450 nm t/m 490 nm vager dan de reflectie in stadium II
(+++ = zeer sterke reflectie; ++ = iets minder ;+= middelmatige reflectie; +-= weinig reflectie; +-- = zeer weinig reflectie)

Wat bij Po. vooral opvalt is dat bij een ouder wordende bloem de meeste bloemonderdelen sterker het licht gaan reflecteren. dit geldt voor alle bloemonderdelen behalve voor het stigma. In stadium II refecteert de rand van de kroon, de stijl, het stigma en de kroonbuis echter iets minder sterk dan in stadium I. De kroonbuis reflecteert bovendien in het laatste stadium minder dan in stadium IV.

Bij Pa. reflecteert de rand van de kroon, de helmknoppen en het stigma even sterk in alle stadia. de stijl reflecteert minder in stadium II. Het nectarmerk reflecteert sterker in de laatste stadia. De kroonbuis reflecteert bij 450 tot 490 nm minder sterk in de laatste stadia. De rest van de kroon reflecteert minder naarmate de bloem ouder wordt.

Po.= Pulmonaria officinalis
Pa.= Pulmonaria angustifolia

3.9 Bezoekers / bestuivers in 1984.

Tabel 19: Bestuivers bezoek aan de bloemen van P. angustifolia (HS enZ), waargenomen van 19-4-1984 t/m 25-4-1984. ♀=vrouwtje; ♂=mannetje; K=koningin.

Datum	Tijd	Aantal bloemen in waarnemingsgebied	Bestuiver	Aantal bezochte bloemen
19-4	11.50 tot 12.05 uur	ca. 300 in HS	Anthophora pilipes F. ♂	24
			Anthophora pilipes F. ♀	65
			Osmia sp. ♀	29
			Anthophora pilipes F. ♂	2
			Anthophora pilipes F. ♂	9
			Anthophora pilipes F. ♂	8
			Anthophora pilipes F. ♂	129
			Anthophora pilipes F. ♂	15
			Anthophora pilipes F. ♂	85
			Anthophora pilipes F. ♂	14
			Anthophora pilipes F. ♀	11
			Anthophora pilipes F. ♂	1
			Anthophora pilipes F. ♂	12
			Anthophora pilipes F. ♂	12
			Anthophora pilipes F. ♂	3
			Anthophora pilipes F. ♂	8
19-4	12.10 tot 12.25 uur	ca. 150 in Z	Bombus agrorum F. K	17
			Bombus terrestris L. K	36
			Bombus terrestris L. K	2
			Anthophora pilipes F. ♂	20
			Anthophora pilipes F. ♂	4
25-4	14.05 tot 14.20 uur	ca. 90 in HS; hoofdzakelijk stadium III en IV bloemen	Anthophora pilipes F. ♂	11
			Anthophora pilipes F. ♂	7
			Anthophora pilipes F. ♂	2
			Anthophora pilipes F. ♀	4
			Anthophora pilipes F. ♂	1
			Anthophora pilipes F. ♂	3
			Anthophora pilipes F. ♂	22
			Bombus agrorum F. K	25
			Osmia sp. ♀	64

In Tabel 19 is weergegeven welke bestuivers er tijdens een gedeelte van de bloei op P. angustifolia (HZ en Z) zijn waargenomen. Opvallend is, dat het vooral de mannetjes van Anthophora pilipes F. zijn, die de bloemen van deze soort bezoeken. In Tabel 20 is weergegeven welke bestuivers er tijdens een gedeelte van de bloei op P. officinalis (HS) zijn waargenomen. Tot en met 25 april 1984 zijn het vooral de mannetjes

Tabel 20: Bestuivers bezoek aan de bloemen van P. officinalis (HS), waargenomen van 19-4-1984 t/m 11-5-1984. ♀=vrouwtje; ♂=mannetje; K=koningin; w=werkster; p=naast nectar ook pollen verzameld.

Datum	Tijd	Temperatuur	Aantal bloemen in waarnemingsgebied	Bestuiver	Aantal bezochte bloemen
19-4	11.30 tot 11.45 uur		ca. 280	Bombus agrorum F. K K	16
				Anthophora pilipes F. o	58
				Anthophora pilipes F. o	16
				Anthophora pilipes F. o	6
				Anthophora pilipes F. o	2
				Anthophora pilipes F. o	2
				Anthophora pilipes F. o	3
				Anthophora pilipes F. o	26
				Anthophora pilipes F. o	6
				Anthophora pilipes F. o	4
				Anthophora pilipes F. o	5
				Anthophora pilipes F. o	1
				Anthophora pilipes F. o	4
25-4	13.45 tot 14.00 uur		ca. 250	Anthophora pilipes F. o	2
				Bombus terrestris L. K	4
				Bombus agrorum F. K K	5
				Anthophora pilipes F. o	2
				Anthophora pilipes F. o	14
				Anthophora pilipes F. o	6
				Anthophora pilipes F. o	3
				Anthophora pilipes F. o	14
				Anthophora pilipes F. o	4
				Anthophora pilipes F. o	20
				Anthophora pilipes F. o	26
				Anthophora pilipes F. o	20
				Anthophora pilipes F. o	4
				Anthophora pilipes F. o	8
27-4	11.15 tot 11.30 uur		ca. 200	Anthophora pilipes F. o	2
				Bombus terrestris L. K	3
				Bombus terrestris L. K	5
				Bombus derhamellus K. K	16
				Anthophora pilipes F. o	56
				Bombus derhamellus K. K	6
				Bombus agrorum F. K	20
				Bombus agrorum F. K	4
				Bombus derhamellus K. K	6

Tabel 20 : Vervolg.

Datum	Tijd	Temperatuur	Aantal bloemen in waarnemingsgebied	Bestuiver	Aantal bezochte bloemen
30-4	13.00 tot 13.00 uur		ca. 120	Bombus agrorum F. K	12
				Bombus terrestris L. K	16
				Bombus terrestris L. K	4
				p Bombus pratorum L. K	24
				p Bombus agrorum F. K	11
2-5	9.30 tot 10.00 uur		ca. 150	Bombus pratorum L. K	28
				Bombus terrestris L. K	41
				Bombus terrestris L. K	47
	12.00 tot 12.30 uur			Bombus terrestris L. K	18
				Bombus agrorum F. K	42
				Bombus derhamellus K. K	23
				Bombus terrestris L. K	23
				Bombus pratorum L. K	11
				Bombus terrestris L. K	17
				Bombus pratorum L. K	5
	15.00 tot 15.30 uur			Bombus terrestris L. K	61
				Bombus pratorum L. K	25
				Bombus terrestris L. K	8
				Bombus agrorum F. K	34
				Bombus terrestris L. K	2
				Bombus pratorum L. K	4
				Bombus agrorum F. K	46
				Bombus pratorum L. K	54
	17.00 tot 17.30 uur			Bombus pratorum L. K	12
				Bombus agrorum F. K	36
				Bombus terrestris L. K	4
				Bombus terrestris L. K	4
				Bombus agrorum F. K	2
4-5	10.00 tot 10.30 uur		ca. 160	Bombus pratorum L. K	14
				Bombus pratorum L. K	3
				Bombus agrorum F. K	18
				Bombus agrorum F. K	4
				Bombus agrorum F. K	31
	12.15 tot 12.45 uur			Bombus pratorum L. K	38
				Anthophora pilipes F. ♂	2
				p Bombus terrestris L. K	61
				Anthophora pilipes F. K	3
				Bombus pratorum L. K	18
				Bombus terrestris L. K	6
				Bombus terrestris L. W	76
				Anthophora pilipes F. ♂	13
				Bombus terrestris L. W	70

Tabel 20 I: Vervolg.

Datum	Tijd	Temperatuur	Aantal bloemen in waarnemingsgebied	Bestuiver	Aantal bezochte bloemen
4-5	15.00 tot 15.30 uur		ca. 160	Bombus terrestris L. K	6
				Bombus terrestris L. w	24
				Bombus agrorum F. K	13
				Bombus terrestris L. K	2
				Bombus agrorum F. K	57
				Anthophora pilipes F.o	5
	16.45 tot 17.15 uur			Bombus derhamellus K.K	4
				Bombus agrorum F. K	82
				Bombus terrestris L. K	2
				Bombus pratorum L. K	100
				Anthophora pilipes F.o	17
				Bombus agrorum F. K	4
				Bombus agrorum F. K	54
				Bombus terrestris L. w	67
				Bombus terrestris L. w	16
7-5	8.45 tot 9.15	7°C	ca. 150	Bombus agrorum F. K	3
	10.15 tot 10.45	9°C		Bombus pratorum L. K	8
				Bombus agrorum F. K	9
	12.00 tot 12.30	10°C		Bombus derhamellus K.K	103
	14.00 tot 14.30	11°C		Bombus agrorum F. K	4
				Bombus agrorum F. K	3
				Bombus agrorum F. K	62
	15.30 tot 16.00	11°C		Bombus agrorum F. K	4
	17.30 tot 18.00	9°C		Bombus pratorum L. K	16
11-5	10.15 tot 10.45	9°C	ca. 90	Bombus agrorum F. K	57
	11.45 tot 12.15	8°C		Bombus terrestris L. w	44
				Bombus terrestris L. w	7
				Bombus terrestris L. w	4
				Bombus agrorum F. K	55
	17.00 tot 17.30			Bombus agrorum F. K	8
				Bombus agrorum F. K	22

van Anthophora pilipes F., die deze soort bezochten. Daarna zijn het vooral een aantal Bombus soorten, die waargenomen zijn als bezoekers.

Voor zowel P. angustifolia (HS en Z) als P. officinalis werd geen verschil in voorkeur van de bestuivers voor bloemen in een bepaald ontwikkelingsstadium waargenomen. Er werden gedurende alle waarnemingsperioden steeds bloemen uit alle ontwikkelingsstadie bezocht door de bestuivers. Zelfs bloemen die al afgevallen waren werden nog bezocht door insekten (vooral hommels), die er waarschijnlijk ook nog nectar uithaalden (ze bleven er 1,5 à 2,5 seconden op zitten).
In bijna alle waargenomen gevallen werd er nectar gehaald door de bestuivers. Slechts in enkele gevallen werd waargenomen dat er ook pollen werd gehaald.

3.9a Bezoekers in 1985.

In tabel 21 staat vermeld welke bezoekers in 1985 zijn waargenomen op P. officinalis en P. angustifolia.

Tabel 21: Bezoekers van P.angustifolia en P.officinalis
(- = geen bezoeker; + = wel bezoeker)

Bezoeker	P. officinalis	P. angustifolia
Akkerhommel		
Megabombus pascuorum		
Koningin	+	+
♀ of ♂	+	+
Aardhommel		
Bombus terrestris		
Koningin	-	+
♀ of ♂	-	+
Anthophora pilipes ♀	+	+
♂	+	+
Weidehommel		
Pyrobombus pratorum		
Koningin	-	+
Rhingia campestris		
(snuitvlieg)	+	+
Osmia rufa	+	+
Anthocharis cardamines	+	+

In tabel 22 is te zien dat Anthophora pilipes ♂ bij P. angustifolia en de koningin van de akkerhommel bij P. officinalis het grootste deel van het bezoek uitmaakte. Bovendien valt op dat de meeste insekten om nectar kwamen en niet om pollen.

Tabel 22: % bezoek van een soort insekt ten opzichte van het totale bezoek en het doel van het bezoek bij P. officinalis en P. angustifolia (N= nectar;P=pollen)

soort	P. officinalis		P. angustifolia	
	% van het totale bezoek	doel bezoek	% van het totale bezoek	doel bezoek
Aardhommel koningin	-	-	3,8 %	N
Aardhommel ♀ of ♂	-	-	2,5%	N
Akkerhommel koningin	40%	50% N 50% NP	30%	58%N 42%NP
Weidehommel koningin	-	-	1,3%	N
Anthophora pilipes ♂	24%	60% N 40% NP	38,8%	NP
♀	3%	NP	5%	NP
Rhingia campestris	20%	N	15%	N
Osmia rufa	1%	N	2,5%	N
Anthocharis cardamines	1%	N	1,3%	N

Aan het eind van de bloeitijd was vooral Rhingia campestris aanwezig en waren de andere soorten vrijwel afwezig. De rest van de bloeitijd was Rhingia campestris nauwelijks aanwezig.

3.10 Bestuivers.

In 1985 werd tevens uitgezocht welke bezoekers tevens bestuivers waren. De gegevens over de hoeveelheid pollen die overgebracht werd en hoe vaak het vruchtbeginsel uitgroeide na het bezoek van een bepaalde soort staan vermeld in tabel 23.
De bezoekers die niet vermeld zijn hebben de proefplanten niet bezocht en hier zijn dus geen gegevens van.

Tabel 23: Hoeveelheid pollen door het insekt overgebracht (vreemd en Pulmonaria-pollen) en het aantal malen dat het vruchtbeginsel uitgroeide. (hoeveelheid pollen in aantallen; aantal malen dat het vruchtbeginsel uitgroeide in %; x= gemiddelde waarde; n= aantal malen getest; s.d = standaardafwijking)

	P. officinalis			P. angustifolia		
bezoeker	Pulmonaria-pollen	vreemd pollen	uitgroei vruchtbeginsel	Pulmonaria-pollen	vreemd pollen	uitgroei vruchtbeginsel
Akkerhommel: koningin	x=26,7 n=3 s.d=3,5	x=0 n=3 s.d=0	x=16,7 n=6	x=5,7 n=3 s.d=4,7	x=0,3 n=3 s.d=0,6	x=100 n=4
Akkerhommel ♀ of ♂	x=208 *a n=1 s.d= -	x=14 n=1 s.d=-	?	x=1 n=1 s.d=-	x=0 n=1 s.d=-	?
Anthophora pilipes ♂	x=2,8 n=4 s.d=3,1	x=0 n=4 s.d=0	x=50 n=4	x=4,2 n=6 s.d=6,1	x=0 n=6 s.d=0	x=43 n=7
Rhingia campestris	x=71 *b n=1 s.d=-	x=7 n=1 s.d=-	x=0 n=1 s.d=-	?	?	?

*a: naast de stempel 129
*b: naast de stempel 61

Uit deze gegevens blijkt dat de akkerhommel de belangrijkste bestuiver van P. angustifolia en in mindere mate ook Anthophora pilipes een bestuiver van deze soort is. Anthophora pilipes blijkt wel de belangrijkste bestuiver te zijn van P. officinalis. Bij deze soort is de akkerhommel ook een belangrijke bestuiver maar wel minder belangrijk als Anthophora pilipes. Hoewel Rhingia campestris wel pollen overbrengt op stempel is onduidelijk of deze soort echt een bestuiver is. Hetzelfde geldt voor de kleinere akkerhommels.

3.11 Voorkeur voor rode/blauwe bloemen.

In 1985 bleek er nauwelijks voorkeur voor rode bloemen te zijn.

Dit zou aan de weersomstandigheden kunnen liggen die tijdens de gehele bloeiperiode zeer slecht waren. Ik kom hier in de discussie uitgebreid op terug. Er moet bij de beoordeling van voorkeur of niet terdege rekening gehouden worden met de verhouding rode en blauwe bloemen aan de planten. De rode bloemen waren tijdens de gehele bloeiperiode en natuurlijk vooral aan het eind van de bloeiperiode zeer sterk in de minderheid. Alle insecten brachten de meeste tijd door op blauwe bloemen en bezochten af en toe een rode bloem tussendoor. Zelfs werden afgevallen bloemen, die op de bladeren lagen, onderzocht op nectar. Dit laatste heb ik alleen bij hommels gezien. Van voorkeur voor rode bloemen was dus nauwelijks of geen sprake.

3.12 Tijdsduur van het bezoek aan de stadia van de bloemen.

De resultaten van dit deel van het onderzoek staan in tabel 24 en 25. Alle waarnemeingen zijn gedaan in de periode 18 - 4 - '85 tot 17-5-'85.
Bij P. angustifolia valt op dat de duur van het bezoek aan stadium II en III vaak iets langer is dan het bezoek aan stadium IV. Bezoek aan stadium I duurt ook vrij lang omdat het insect de bijna open bloem open moet zien te krijgen. Bij P. officinalis is de duur van het bezoek aan stadium II vaak het langst. Wat betreft stadium I geldt hetzelfde als voor P.angustifolia. Het bezoek aan stadium V duurt meestal het kortst . Bekijken we de resultaten per soort insect dan zien we dat de akkerhommel (koningin) stadium III van P.officinalis en stadium IV van P.angustifolia (stadium I tel ik hier niet mee omdat het bezoek hier nauwelijks bestaat uit voedsel verzamelen.) het langst bezoekt. Voor de aardhommmel is dit ook stadium III van P. officinalis. Anthophora pilipes bezoekt stadium IV van P.officinalis en stadium III van P. angustifolia het langst. Rhingia campestris bezoekt stadium II van zowel P. angustifolia als P. officinalis het langst.

Tabel 24: tijdsduur van het bezoek van insecten aan de verschillende stadia van de bloemen van P.angustifolia
Alle tijden zijn weergegeven in seconden.
(x=gemiddelde tijdsduur; s.d=standaardafwijking; n=aantal waarnemingen)

stadium	I	II	III	IV
bezoeker				
Aardhommel koningin	-	x=1,6 n=10 s.d=0,6	x=2,0 n=32 s.d=1,9	x=1,3 n=10 s.d=0,9
Aardhommel ♀ of ♂	-	x=1,2 n=6 s.d=0,4	x=1,0 n=11 s.d=0	x=1,0 n=1 s.d=-
Akkerhommel koningin	x=3,8 n=8 s.d=3,0	x=1,4 n=44 s.d=0,8	x=1,3 n=83 s.d=0,6	x=1,9 n=60 s.d=2,0
Weidehommel koningin	-	x=1 n=4 s.d=0	x=1 n=9 s.d=0	-
Anthophora pilipes ♂	x=1 n=1 s.d=-	x=1,5 n=28 s.d=0,7	x=1,4 n=71 s.d=0,6	x=1,3 n=35 s.d=2,0
Anthophora pilipes ♀	-	x=1 n=4 s.d=0	x=1,2 n=17 s.d=0,4	x=1 n=4 s.d=0
Osmia rufa	-	x=2 n=1 s.d=-	x=2,3 n=3 s.d=0,6	-
Rhingia campestris	-	x=88 n=8 s.d=91	x=8,2 n=5 s.d=3,2	x=16 n=22 s.d=19
Anthocharis cardamines ♂	-	-	-	x=5 n=1 s.d=-

Tabel 24: Tijdsduur van het bezoek van insecten aan de verschillende stadia van de bloemen van P. officinalis
Alle tijden zijn weergegeven in seconden.
(x=gemiddelde tijdsduur; s.d= standaardafwijking; n=aantal waarnemingen)

stadium	I	II	III	IV	V
bezoeker					
Akkerhommel koningin	x=1,3 n=4 s.d=0,5	x=1,6 n=14 s.d=0,6	x=1,8 n=24 s.d=0,9	x=1,6 n=53 s.d=0,9	x=1,4 n=20 s.d=0,8
Akkerhommel ♀ of ♂	x=5,5 n=2 s.d=3,5	x=2,4 n=5 s.d=1.1	x=1,6 n=8 s.d=0,7	x=1,2 n=13 s.d=0,4	x=1,3 n=6 s.d=0,5
Anthophora pilipes ♂	x=1,0 n=2 s.d=0	x=1,1 n=22 s.d=0,3	x=1,2 n=45 s.d=0,5	x=1,2 n=48 s.d=0,4	x=1,0 n=13 s.d=0
Anthophora pilipes ♀	-	x=1,5 n=2 s.d=0,7	x=1 n=1 s.d=-	x=1,3 n=6 s.d=0,5	x=1,0 n=2 s.d=0
Rhingia campestris	-	x=43,5 n=16 s.d=136,7	x=21,2 n=13 s.d=22,2	x=21,7 n=21 s.d=25,0	x=6,8 n=8 s.d=4,1
Osmia rufa	-	x=1 n=1 s.d=-	-	-	-
Anthocharis cardamines ♂	-	x=6 n=1 s.d=-	-	-	-

4. DISCUSSIE EN CONCLUSIES

4.1 Ontwikkelings stadia van de bloem en hun morfologische kenmerken.

De conclusies en de discussie van dit onderdeel van het onderzoek komen geheel overeen met die van H.Hemmink uit 1984. Ik zal hier dan ook grotendeels zijn conclusies vermelden.

Wanneer we naar de morfologische ontwikkeling van de bloem van P. officinalis kijken en vooral letten op de kleur van de kroon, dan zien we dat die verloopt van (over het algemeen) rozerood via een blauwpaarse verkleuring, die onderaan de kroonslippen begint, naar uiteindelijk een blauwpaarse kroon (zie ook de Fig. 4 en 6). De kleurverschillen en stand van de kroonslippen tussen bloemen in hetzelfde stadium, van verschillende planten op het onderzochte plekje (HS) van 2x 3 m., waren soms opvallend (zie ook Fig. 5). Zo waren bloemen van bijv. stadium IV bij een aantal planten (de minderheid) donker blauwpaars met minder uitstaande kroonslippen, terwijl ze aan andere planten meer licht rood-blauwpaars (lila) waren en meer uitstaande kroonslippen hadden. In stadium I waren dan de kleuren resp. rood en rozerood. P. officinalis, die tegelijkertijd in Haren elders bloeide, had daar een kleurovergang van roze (stadium I) naar licht roodpaars met practisch geen blauw en wijd openstaande slippen (stadium V). Op nog andere plaatsen (o.a. in de Hortus in Haren) werden weer andere kleurovergangen waargenomen. De flora van Heukels en Oostrom (1975) maakt melding van een kleurverandering van de kroon van rood naar blauwpaars. Ook bestond de indruk, dat de mate van kleurverandering (intensiteit van paars en blauwpaars) op een bepaald moment mede afhankelijk was van het weer; bijv. hoe warmer en droger des te sneller de kleurverandering in de tijd en des te intenser de blauwpaarse kleuring. Oorzaken van de verschillen tussen planten zijn mij verder niet bekend, maar er zou gedacht kunnen worden aan:

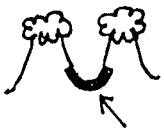
- verschil in grondsoort tussen standplaatsen
- verschil in vochtigheid en/of pH van de bodem tussen standplaatsen
- verschil in beschaduwing tussen standplaatsen
- verschillende variëteiten van één soort; dit omdat nauwverwante soorten van o.a. het geslacht Pulmonaria zeer gemakkelijk kruisbaar zijn, zodat er makkelijk variëten kunnen ontstaan (Strey 1931)

De hier in de resultaten weergegeven beschrijving van de kleurverandering in de bloem van P. officinalis kan, volgens mij, voorlopig alleen maar gelden voor de meeste door mij onder-

zochte planten en de door H. Hemmink onderzochte planten (HS) in de Hortus te Haren.
De door mij aangeduidde ontwikkelingsstadia (I t/m V, zie Fig. 4) zijn natuurlijk niet absoluut, maar meer bedoeld als hulpmiddel bij het beantwoorden van de vraagstelling. Een fijnere verdeling in stadia is mogelijk, evenzo een grovere.
Bij P. angustifolia was er een kleurovergang in de bloemkroon van rood met blauwpaarse vlekjes tussen de nerven (stadium I, Fig. 3) naar blauw (stadium V, Fig. 3). De kroon is eigenlijk alleen geheel rood als ze nog bijna geheel besloten ligt in de kelk. Er was slechts sprake van geringe variatie in kleurverandering in de kroon en vorm van bloemen van verschillende planten. De flora van Heukels en Oostrom (1975) vermeldt voor P. angustifolia een kleurovergang van rood naar blauw.
Ook hier is de door mij gemaakte indeling in ontwikkelingsstadia (stadia I t/m IV) van de bloem niet absoluut, maar de verdeling kan grover of fijner.
Opvallend is wel de snelle overgang van rood met blauwpaarse vlekken naar blauw. Hoe snel dit in de tijd kan verlopen zal ik in de conclusie en de discussie van de tijdsduur van de stadia bespreken.

4.2 Tijdsduur van de stadia.

Zoals al in de resultaten vermeld is de bestuiving van de bloemen niet gelukt. In de eerste plaats moet de kortstijlige bestoven worden met pollen van de langstijlige, en de langstijlige met pollen van de kortstijlige (Olesen, 1978). Dit is bij de bestuiving van P. angustifolia niet gedaan. Waarom de bestuiving bij P. officinalis niet gelukt is, is niet duidelijk. De hoeveelheid pollen overgebracht op de stempel was misschien niet voldoende. Er is namelijk een bepaald minimum aan pollen nodig om zeker te zijn van bevruchting (Cruden, 1977). Iets wat ook van invloed kan zijn op het wel of niet bestoven worden, is de vorm van het stigma. Op het stigma van Pulmonaria bevinden zich namelijk papillen met een soort kroon er boven op (fig 15). Het pollen moet tussen de papillen "gedrukt" worden want tussen de papillen ligt de receptieve zône. Alleen



Figuur15: vorm van de oppervlakte van het stigma en de receptieve zône.

hier vanuit kan een pollenbuis groeien (Heslop-Harrison, 1981). Daar de papillen dicht bij elkaar liggen is het niet eenvoudig het pollen goed op het stigma te krijgen.
Maar dit alles is niet waarschijnlijk omdat er wel pollenbuizen in het stigma gegroeid waren. Misschien was het pollen niet fertiel genoeg.
Bij P. officinalis is de duur van het rode stadium ± 18 uur. Het overgangsstadium (III) duurt ongeveer 19 uur en het blauwe stadium ± 37 uur. Bij P. angustifolia duurde het rode stadium ongeveer 21 uur en het blauwe stadium (III en IV) ± 50 uur. De overgang van rood naar blauw is in tegenstelling tot bij P. officinalis hier veel sneller.
Bij deze tijden moet men er rekening mee houden dat de bloemen gekooid waren en dat er een micro-klimaat onstaat in de kooi, wat een vertragend effect heeft op de bloei (minder zon). De werkelijke tijden zijn dus waarschijnlijk kleiner dan de gevonden tijden. Bovendien moet men er rekening mee houden dat de emasculatie van de bloemen, wat gebeurde net voor de bestuiving, de bloemen enigzins beschadigd en dit heeft tot gevolg dat de bloem sneller verwelkt en dus waarschijnlijk ook sneller blauw wordt. Ook het brengen van stuifmeel op de stempel van de kortstijlige bloemen kan de bloemen soms beschadigen. Dit zou een verklaring kunnen zijn voor het sneller blauw worden van de "bestoven" bloemen.

4.3 Hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie ervan.

Bij de resultaten uit 1984 kan het volgende opgemerkt worden. Wanneer we ingaan op de hoeveelheid nectar aanwezig in de bloemen van de beide onderzochte Pulmonaria soorten en de suikerconcentratie ervan, dan moet opgemerkt worden, dat de door mij gevolgde methode nogal wat onzuiverheden inhield. Vooral wat

betreft de bepalingen gedaan aan P. angustifolia op 18-4-1984 (zie de Tabellen 6 t/m 9) en in mindere mate de bepalingen gedaan aan P. officinalis op 28-4-1984 (zie Tabel 10 en 11). Wanneer de hoeveelheid nectar, genomen uit een bloem, te klein was om er met de refractometer de suikerconcentratie van te meten, dan moest er verdund worden met gedestilleerd water. Er wordt getwijfeld of dit wel steeds goed gedaan is. Ook was de afleesbaarheid van de refractometer soms moeilijk. Hierdoor wil ik aan de suikerconcentratie resultaten geen belangrijke conclusies verbinden. Wel lijkt er een tendens te bestaan van toename van de suikerconcentratie door dedag heen voor beide soorten. Dit was ook wel te verwachten, omdat er een toename van de verdamping van het vocht in de nectar te verwachten is naarmate de dag verstrijkt.

In 1985 is de nectar niet verdund maar is telkens een hoeveelheid nectar uit hetzelfde stadium van de bloem genomen zodat de resultaten van dit onderzoek meer betrouwbaar zijn dan die uit 1984. Zoals in de resultaten ook al vermeld is moet bij de interpretatie van de concentratie van de nectar van de laatste stadia rekening gehouden worden met het feit dat er in deze bloemen er zich ook nectar bevind uit eerdere stadia. We zien dat naarmate de bloem ouder wordt de suikerconcentratie toeneemt, in stadium III op z'n hoogst is (zowel bij P. angustifolia als bij P. officinalis) en als de bloem nog ouder is de suikerconcentratie weer afneemt.

Wat betreft de hoeveelheid nectar kan wat betreft het onderzoek in 1984 het volgende opgemerkt worden.

Gezien het kleine aantal bloemen per stadium waarvan de hoeveelheden nectar zijn bepaald, kunnen hier moeilijk duidelijke conclusies getrokken worden voor wat betreft de nectarproduktie door de dag heen, van de bloemen van P.angustifolia. Wel is het opvallend, dat het steeds de stadium III bloemen zijn, die de meeste nectar hebben (de hele dag door)(zie Tabel 6). Stadium IV bloemen hebben minder, maar ook nog relatief veel, terwijl bloemen uit stadium I steeds weinig hebben en stadium II iets meer dan de laatste.

Voor de gemiddelde hoeveelheden nectar per bloem zoals gegeven in Tabel 10 voor P. officinalis geldt ook weer: het aan-

tal onderzochte bloemen lijkt te klein om harde conclusies te trekken. Wel zijn er een aantal tendenzen zichtbaar gemaakt, dacht ik. Er is een tendens van toename in de nectarproductie naarmate de bloem zich in een verder gevorderd ontwikkelingsstadium bevindt. Stadium IV en V bloemen bevatten steeds de meeste nectar.(zie Tabel 6).
Aan de nectar bepaling gedaan aan P. officinalis op 11-5-1984 wil ik meer waarde hechten, gezien het aantal bloemen (10 per stadium), dat onderzocht is.(zie Fig. 7). Ook voor wat betreft de suikerconcentratie bepaling(zie Fig. 8). Voor dit laatste geldt echter weer (maar in mindere mate dan voor de eerder gedane bepalingen, gezien de opgedane ervaringen), dat bij verdunning de meting met de refractometer niet geheel nauwkeurig is. We kunnen, volgens mij, wel concluderen, dat hoe ouder de bloem des te groter de aanwezige hoeveelheid nectar en waarschijnlijk des te groter de suikerconcentratie van deze nectar.

Wat betreft het onderzoek in 1985 kan ik het volgende concluderen:
De hoeveelheid nectar neemt toe van stadium I, wanneer er geen nectar in de bloemen zit, naar stadium III, wanneer de hoeveelheid het grootst is. Daarna neemt de hoeveelheid nectar weer af. Dit geldt voor P. officinalis. Voor P. angustifolia geldt hetzelfde, maar hier is de grootste hoeveelheid nectar in stadium II of III of er ergens tussenin het grootst. Bij de interpretatie van de getallen moet echter ook weer rekening gehouden worden met het ontstaan van een micro-klimaat in de kooien. Bovendien is het mogelijk dat het lange tijd niet weghalen van de nectar een negatieve invloed heeft op de nectarproductie. Verder moet opgemerkt worden dat door de kleine hoeveelheden nectar de fout, die gemaakt wordt als niet alle nectar met het pipetje opgezogen wordt (deze kans is vrij groot), vrij groot kan zijn.
We kunnen echter wel concluderen dat de hoeveelheid nectar en de concentratie suiker toeneemt naarmate de bloem ouder wordt en (dit in tegensteling tot wat Hemmink zegt) dat in de laatste stadia deze weer afnemen.

Hiertegenover staan de beweringen van Müller (1883), Neger 1913 en Garjeanne (1918), die zeggen dat de blauwe bloemen van P. officinalis geen of weinig nectar bezitten en dat alleen de jonge rode bloemen rijk aan nectar zijn. Er zou zelfs sprake van zijn, dat alleen de zeer jonge bloemen met de kroonslippen nog niet uitgespreid, nectar zouden bevatten (Garjeanne 1918). De beweringen van Müller (1883) zijn gebaseerd op waarnemingen van het gedrag van insekten op deze bloemen. Volgen hem was het makkelijk te zien of een bloem van P. officinalis nectar bezat (rood) of niet (blauw); in het eerste geval bleef de tong van een bzoekend Anthopora pilipes F. mannetje 1 tot 1,5 seconde in de kroonbuis, terwijl in het andere geval de tong direkt teruggetrokken werd. Waar Neger (1913) en Garjeanne (1918) hun beweringen op baseren wordt door hen niet duidelijk gemaakt.

4.4 Fertiliteit van het pollen.

We zien, dat de fertiliteit van het pollen in de verschillende ontwikkelingsstadia van de bloem van zowel P. angustifolia als P. officinalis niet noemenswaard van elkaar verschillen en dat bij beide soorten de optimale fertiliteit van het pollen reeds in stadium I bereikt is. (zie Tabel 14).

4.5 Aantal pollenkorrels per helmhok.

De vraag rijst hier in hoeverre er deugdelijke conclusies aan deze resultaten (zie Tabel 15) verbonden kunnen worden, gezien de enorme variaties tussen de genomen monsters per stadium. In ieder geval kan, volgens mij, gesteld worden, dat er aan de gevolgde methode het één en ander mankeerde (zie onder 2.3.5):

- van te weinig bloemen (5) werd een helmhok genomen.
- één helmhok per bloem is te weinig.
- het homogeniseren van de vrijgeprepareerde pollenkorrels was te onnauwkeurig.

Al met al zien we toch een tendens, zoals die te verwachten

was (verwachting was: hoe ouder de bloem hoe vaker er bestuivers zijn geweest, hoe meer pollen er weggehaald is) namelijk, dat in vroege ontwikkelingsstadia van de bloem (voor P. angustifolia stadia I en II en voor P. officinalis stadia I, II en III) er meer pollenkorrels aanwezig zijn dan in latere. Verdere conclusies durf ik wat dit punt betreft niet te trekken. En lijkt het mij aanradenswaardig om dit gedeelte van het onderzoekje nog eens over te laten doen.

4.6 Receptiviteit van de stempel.

In 1984 bleek dat voor beide soorten het lijkt, dat de receptiviteit van de stempel toeneemt naarmate de bloem ouder wordt (zie Tabel 16). We zien dat de stempel sterk receptief is nadat er al veel stuifmeel is verdwenen (vergelijk Tabel 15 en 16).
H. Hemmink concludeert hieruit het volgende: Waarschijnlijk hebben deze soorten hiermee een tweede mechanisme, naast dimorphie (=sommige planten van deze soorten hebben bloemen met korte stijlen en lange meeldraden, andere planten hebben lange stijlen en korte meeldraden (Heimans e.a. 1965); de door mij onderzochte soorten P. officinalis (HS) en P. angustifolia (HS enZZ) hebben allemaal korte stijlen en lange meeldraden), ontwikkeld om de kans op zelfbestuiving te verkleinen.
In 1985 bleek de receptiviteit bij beide soorten ook toe te nemen naarmate de bloemen ouder worden, alleen stadium V bij P. officinalis heeft een iets lagere receptiviteit dan stadium IV. In de laatste stadia zijn de stempels van beide soorten bruinig. Het lijkt mij daarom vergezocht om zoals Hemmink dat deed van dimorphie te spreken.
Prof. Dr. Moeliono vertelde mij, dat hij vaker waargenomen heeft dat juist bruinige stempels een sterke gasontwikkeling vertonen. Ik twijfel daarom aan de gevolgde methode en denk dat het raadzaam is de bepaling nog eens te doen, maar dan met een andere methode.

4.7 U.V. reflectie van de bloemen.

H.Hemmink zei hierover in 1984 hetvolgende:
Onder U.V. licht was er op de bloemen van P. officinalis moeilijk een nectarmerk of iets wat daar op leek waar te nemen. Nu moet hierbij natuurlijk duidelijk gesteld worden, dat ik volkomen geen ervaring heb met het onderscheiden van nectarmerken en heb ik wat dit punt betreft dan ook misschien geen recht van spreken. Toch wil ik nog enkele opmerkingen maken hier.
De in Figuur 9 weergegeven verschillen in reflekterende en absorberende delen van de bloemkroon waren lang niet zo duidelijk als deze Figuur doet vermoeden. De verschillen waren voor mij tamelijk vaag. Misschien zien de bestuivers ze scherp, met hun voor U.V. licht gevoelige ogen.
Een, volgens mij, nauwkeuriger methode van U.V. nectarmerk bepaling zou wellicht gewenst zijn, zoals bijv. o.a. Kugler (1963) deze heeft uitgevoerd bij een groot aantal plantensoorten. Hij fotografeerde bloemen onder U.V. licht. Hierbij legde hij verschil in U.V. reflectie tussen verschillende bloemdelen vast op zwart-wit foto's, terwijl hij tegelijk een vaste verdeling in grijzen op de foto opnam, die een maat weergaven voor de U.V. reflectie. Zo kon hij achteraf vrij nauwkeurig kontroleren wat het verschil (en of het verschil duidelijk genoeg was) in reflektie was tussen delen van de bloem (absorptie is dan reflektie=0). Hij vond met deze methode, dat bloemen van Pulmonaria officinalis, zowel in het zichtbare licht als onder U.V. licht, geen nectarmerk vertoonden.
Ik durf dan, mede in vergelijking met de resultaten van een onderzoek als dat van Kugler (1963), ook geen conclusie te verbinden aan de door mij gedane waarnemingen aan de bloemen van P. officinalis.

Uit mijn onderzoek in 1985 blijkt er wel degelijk een nectarmerk aanwezig te zijn. Hoewel ik waarschijnlijk niet meer ervaring heb als H.Hemmink wat betreft het zien van U.V. nectarmerken, meen ik toch dat het U.V.-nectarmerk in dit geval wel behoorlijk duidelijk was. Hemmink heeft de bloemen echter onder een U.V.-lamp bekeken terwijl ik de bloemen onder de fluorescentie-microscoop bekeken heb. Misschien is dit laatste makkelijker vooral omdat naarmate er een grotere vergroting genomen wordt, de re-

flectie duidelijker waargenomen wordt. Alle bloemen zijn bekeken bij een vergroting van 10 x 40 en de reflectie zal dus minder zijn als we dit met het blote oog zouden kunnen bekijken. Hiermee moet rekening gehouden worden bij de conclusies en bij de resultaten.

Zowel bij P. angustifolia als bij P. officinalis blijkt dat vooral de rand van de kroonslippen en de vaatbundels het U.V. licht reflecteren. Deze rand aan de kroonslippen wordt vager naarmate de bloem ouder wordt. De vaatbundels reflecteren in het knopstadium niet en in de volgende stadia zeer sterk. In het knopstadium reflecteert de rest van de kroon nauwelijks. Naarmate de bloem blauw en ouder wordt reflecteert de rest van de kroon steeds meer. De sterkste reflectie van de kroon begint aan de top van de kroonslippen zodat de reflecterende rand aan de kroonslippen steeds breder wordt, en is steeds minder naarmate dichter bij de kroonbuis. Het is zeer belangrijk de reflectie van de rand van de kroonslippen en de vaatbundels ten opzichte van het omringende weefsel (= rest van de kroon) te bekijken. Samenvattend kunnen we zeggen dat in het knopstadium de rand van de kroonslippen zeer sterk en de vaatbundels niet reflecteren ten opzichte van de rest van de kroon. In de rode stadia is de reflectie van de rand van de kroonslippen en de vaatbundels zeer sterk reflecteren ten opzichte van de rest van de kroon. In de blauwe stadia reflecteert de rest van de kroon zo sterk dat de rand van de kroonslippen en de vaatbundels hiervan nauwelijks meer te onderscheiden zijn onder U.V.licht. Op grond van het bovenstaande en wat in de resultaten vermeld staat kom ik tot de conclusie dat de vaatbundels in ieder geval een U.V.nectarmerk vormen (voor zowel P.angustifolia als voor P. officinalis). De sterkte van de reflectie en de breedte van de reflecterende rand aan de kroonslippen zouden evenals de vaatbundels een maat kunnen zijn voor de insecten (die U.V. kunnen zien) om aan te geven in welke fase van de bloei de bloem zich bevindt. Hieraan zou het insect dan kunnen zien of het lonend is om de bloem te bezoeken (na het leren kennen van weinig en meer belonende bloemen van de soorten).

Dit alles is dus in tegenstelling met wat Kugler (1963) zegt en min of meer ook met wat H.Hemmink in 1984 zegt.

4.8 Reflectie van licht van 350 tot en met 490 nm.

Zowel de rode bloemen als de blauwe bloemen reflecteren licht van 460 tot 490 nm zodat we kunnen concluderen dat er in de rode bloemen wel degelijk "blauw aanwezig is". Dit is belangrijk omdat de bezökers van Pulmonaria geen rood kunnen zien (Proctor, Yeo, 1973). Naarmate de bloemen ouder worden zien wij de bloemen blauwer worden en de reflectie van het licht van 350 tot en met 490 nm wordt dan ook sterker. Bij P. angustifolia reflecteert een groot gedeelte van de kroon het licht minder naarmate de bloem ouder wordt. Dit klopt niet met wat we met het blote oog zien en ik kan hier geen verklaring voor bedenken. Het is daarom raadzaam "de rest van de kroon" (zie tabel 18) van P. angustifolia nog eens te bekijken met betrekking tot de reflectie van dit licht in de diverse stadia.

4.9 Bezoekers/bestuivers in 1984.

Wat betreft bezoekers/bestuivers (H.Hemmink maakt geen onderscheid tussen bezoekers en bestuivers) en de voorkeur voor rode of blauwe bloemen concludeert H.Hemmink het volgende:
Naast de te verwachten bestuivers als hommels (Bombus) en sachembijen(Anthophora) werd ook enkele malen een metselbij (Osmia) waargenomen (zie Tabel 19).
Bij zowel P. officinalis als bij P. angustifolia werden bloemen uit alle, door mij onderscheiden, ontwikkelingsstadia bezocht door de waargenomen bestuivers. Er werd door de bestuivers geen onderscheid gemaakt tussen rode, paarse of blauwe bloemen. Zelfs bloemen, die al afgevallen waren werden bezocht. Dit in tegenstelling tot wat een aantal onderzoekers in het verleden meldden: jonge 'honingrijke' bloemen van P. officinalis worden bijna uitsluitend door de diverse bestuivers (Bombus sp., Anthophora sp.) bezocht (Müller 1883, Neger 1913, Garjeanne 1918, Kotska 1922 via Moeliono pers. med.).
Oorzaak van het feit, dat bestuivers, zoals door mij waargenomen,

bloemen uit alle stadia bezoeken, zou kunnen zijn dat er in alle stadia nectar aanwezig is.(zie Tabel 6, 8, en 10 en Fig. 7). Dat anderen wel verschil in bestuiversbezoek hebben waargenomen zou verklaard kunnen worden door het feit, dat er in de betreffende waarnemingsgebieden meer (of uitsluitend) nectar in de jonge bloemen aanwezig was. Of misschien waren het bloemen met lange stijlen en korte meeldraden en hebben deze bloemen alleen maar nectar in de vroege ontwikkelingsstadia van de bloem. De afwezigheid van nectar in oudere blauwpaarse bloemen van P. officinalis is, voor zover ik weet, nooit aangetoond; alleen maar aangenomen (Müller 1883, Neger 1913, Garjeanne 1918).

4.10 Bezoekers in 1985.

De akkerhommel (Megabombus pascuorum)en Anthophora pilipes ♂ zijn de voornaamste bezoekers van zowel P. officinalis als P. angustifolia. Voor de rest van de bezoekers verwijs ik naar tabel 21. De meeste bezoekers kwamen voor de nectar en niet voor het pollen. De hoeveelheid bezoek was erg weinig doordat de weersomstandigheden tijdens de bloeiperiode nogal slecht waren. Bovendien bestond de indruk dat er minder hommelkolonies in de omgeving van de bloemen waren dan in voorgaande jaren. Er waren veel meer planten van P. angustilfolia als van P. officinalis en eerstgenoemde werden dan ook veel meer bezocht.

4.11 Bestuivers (1985).

De Akkerhommel (koningin en ♀ of ♂) brachten vrij veel pollen op de stempel, Anthophora pilipes ♂ iets minder. De reden voor het niet altijd bevrucht zijn van een bloem na een bezoek van één van bovenstaande bezoekers kan zijn dat het insekt geen geschikt pollen bij zich had. Verder is het mogelijk dat de bloemen wel bevrucht waren maar dat de vruchtbeginsels niet uitgroeiden door het micro-klimaat in de postzegelzakjes in de kooien of dat de pollenbuizen niet wilden groeien in dit micro-klimaat. Ook is het mogelijk dat de stempel niet erg receptief was of dat het pollen weinig fertiel was.
De hoeveelheid pollen overgebracht op de stempel door de insek-

ten was vaak erg weinig. Het zou kunnen dat één bezoek van een insect vaak niet voldoende is om op het minimum aan pollen, dat nodig is voor de bevruchting (Cruden,1977), te komen. Vaak zijn er een aantal bezoeken nodig om van bevruchting zeker te zijn (Rosov, 1958). Verder moet het pollen tussen de papillen op het stigma gedrukt of getrapt worden door het insect (receptieve zône). Dit gebeurt natuurlijk niet met alle pollenkorrels die op de stempel komen.
Als werkelijke bestuiver ("bevruchter") van P. officinalis en P. angustifolia heb ik de Akkerhommel (koningin) en Anthophora pilipes ♂ kunnen aantonen. Van de Akkerhommel ♀ of ♂ en Rhingia campestris is in ieder geval aangetoond dat ze pollen van Pulmonaria overbrengen.

4.12 Voorkeur voor rode of blauwe bloemen.

In mijn onderzoek in 1985 heb ik nauwelijks of geen voorkeur gezien van de bezoekers. De rode bloemen werden in verhouding even vaak bezocht als blauwe bloemen. Zelfs afgevallen bloemen werden onderzocht op nectar.
Daar zovelen het verschijnsel van voorkeur wel waargenomen hebben (Müller 1883, Neger 1913, Garjeanne 1918, Kostka 1922) was de verwachting toch wel dat het tijdens mijn onderzoek ook zo zou zijn.
Een mogelijke verklaring voor het niet aanwezig zijn van voorkeur is slechte weersomstandigheden. Wanneer de temperatuur laag is en er geen zon is produceren planten namelijk minder nectar. Willen de insecten toch aan de benodigde energie komen om te leven, voor het broed te zorgen en te vliegen, komen, dan moeten ze alle aanwezige nectar- en/of pollen-bronnen bezoeken die in hun buurt aanwezig zijn. Dit betekent dus zowel de rode bloemen en de blauwe bloemen en zelfs de verwelkte bloemen bezoeken.

4.13 Tijdsduur van het bezoek aan de stadia van de bloemen.

We kunnen niet zeggen dat de rode bloemen langer bezocht worden door de insecten. Het lijkt erop dat de hommels het overgangsstadium van rood naar blauw bij P. officinalis het langst

bezoeken en bij P. angustifolia stadium IV. Anthophora pilipes ♂ bezoekt de blauwe stadia van beide soorten het langst, terwijl Rhingia campestris de rode bloemen het langst bezoekt. De tijden zijn echter nogal klein en de kans op fouten is daarom nogal groot. We kunnen echter wel zeggen dat van een echte voorkeur voor rode bloemen in de vorm van een langer bezoek aan deze bloemen geen sprake is (uitgezonderd misschien Rhingia campestris).

4.14 Algehele conclusies , suggesties voor verder onderzoek, en vergelijking met literatuur.

De vraagstelling bij dit onderzoek was: Is er (evenals voor Echium plantagineun L.) een ecologische interpretatie te geven voor de kleurverandering van de bloemen van Pulmonaria officinalis L. en P.angustifolia L. ? In dit onderzoek werd evenals in het onderzoek van A.Hemmink in 1984 van een bepaalde hypothese uitgegaan die een ecologische verklaring vormt voor de kleurverandering van de bloemen. Deze hypothese luidt als volgt:

De bloemen van P.angustifolia en P.officinalis zijn voor dat ze bevrucht zijn rood en rijk belonend. Als ze bevrucht zijn worden de bloemen in een korte tijdsperiode blauw en zijn dan veel minder belonend. De insekten leren na een aantal bezoeken dat het meer lonend is de rode bloemen te bezoeken en bezoeken dan nog alleen de rode bloemen, wat zowel in het voordeel is van de planten (meer kans op bestuiving door meer bezoek aan onbevruchte bloemen) als voor de insekten (meer voedsel in dezelfde tijd als wanneer ook de blauwe bloemen zouden worden bezocht). Dat de kronen wel aan de plant blijven zitten, als ze bevrucht zijn, maakt de plant meer opvallend en dus aantrekkelijker voor de insecten en zal dan ook meer bezocht worden (Faegri,van der Pijl,1979).

Dat bloemen verwelken na bevruchting is een algemeen bekend verschijnsel. Maar ook het groeien van een pollenbuis in de stijl is een initiatie van verwelking (Gilissen,1976,1977). Bij Pulmonaria zou het nu kunnen zijn dat in plaats van verwelking eerst enige tijd de bloem blauw wordt en daarna pas verwelkt. De bloem zit als hij blauw wordt al vrij los in de kelk (begin van een soort verwelking?). De kleurverandering van de bloem van

rood naar blauw gebeurt vrij eenvoudig. De kleur van de rode bloemen wordt veroorzaakt door anthocyanen en de verhouding hiervan met het co-pigment en zoals bekend wordt anthocyaan blauw bij een meer basischer pH. Door verandering van de pH in het celsap zal de bloem dus blauw worden (Asen,1976; Neger,1913).
Het is belangrijk bij ieder aspect zowel de bestoven als onbestoven bloemen te bekijken.
Ter beantwoording van de vraagstelling zal ik nu op alle subvraagstellingen ingaan (zie 1.3).
Morfologische ontwikkeling van de bloemen: Behalve de kleur zijn er een aantal andere morfologische aspecten bekeken zoals de grootte van de bloemopening, maar al deze morfologische eigenschappen bleken nauwelijks te verschillen tijdens de ontwikkeling van de bloem. Bij P.angustifolia zijn 4 en bij P.officinalis zijn 5 ontwikkelingsstadia van de bloem onderscheiden. Dit gebeurde voornamelijk op kleur omdat andere morfologische eigenschappen zoals lengte van de bloem en grootte van de bloemopening niet voor alle ontwikkelingsstadia significant bleken te verschillen. In tabel 25 staat vermeld waaraan de stadia werden

Tabel 25: Het herkennen van de stadia van P.officinalis en P. angustifolia.

stadium	P. angustifolia	P.officinalis
I	knop, rood	knop,rood
II	rood,bloem open	rood,bloem iets open
III	blauw,kroonslippen niet verwelkt	rood, bloem ver open
IV	blauw,kroonslippen verwelkt	blauw, kroonslippen niet verwelkt
V		blauw, kroonslippen verwelkt

herkend.
Als de bloem niet bestoven is verwachten we dat de kleur van de bloem rood blijft of in ieder geval langer rood blijft dan als de bloem bestoven is. In 1985 is de bestuiving van de bloemen niet gelukt (voor mogelijke redenen zie hiervoor 4.2) zodat we over mogelijke initiatie van het blauw worden van de bloem door het groeien van een pollenbuis of bevruchting geen uitspraak kunnen doen. Wel kunnen we zeggen dat ook als de bloemen niet bestoven

zijn de bloem blauw wordt. Volgens Kostka (1922) zijn de tijden van rood en blauw bloeiend bij wel en niet bestoven echter ongeveer gelijk. Wat betreft de tijdsduur van de verschillende stadia van de onbestoven bloemen verwijs ik naar de resultaten (3.2). Wat betreft de beloning van de bloemen in de vorm van nectar kon ik het volgende concluderen: De hoeveelheid nectar neemt toe van 0 in het knop-stadium tot het hoogst in de fase waarin de bloem net blauw is of op het punt staat blauw te worden (bij P. officinalis). Hierna neemt de hoeveelheid nectar weer af. Het zelfde geldt voor de suikerconcentratie van de nectar in de verschillende ontwikkelingsstadia. De hoogste suikerconcentratie en hoeveelheid nectar van P.angustifolia valt in stadium III. Wanneer er net als bij P.officinalis 5 stadia waren ingedeeld zou het misschien in dit tussenliggend stadium van II en III het hoogst zijn (overgangsstadium van rood naar blauw als bij P. officinalis). H.Hemmink vond in 1984 dat de hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie ervan steeds toenam naarmate de bloem ouder werd. Volgens Neger (1913) is de haarkrans die zich op de zeer kleine kroonschubben van Pulmonaria bevindt, bedoelt om het inregenen en dus verdunning van de nectar te voorkomen. Dit lijkt mij vergezocht omdat de bloemen min of meer hangend zijn en het lijkt mij bowendien sterk dat de niet echt dichte harenkrans regen tegen kan houden. Omdat de bestuiving van de bloemen niet gelukt is kan ik niet het verband aantonen tussen de hoeveelheid nectar, de kleur van de bloem en het wel of niet bestoven zijn van de bloem. Alleen tussen de eerste twee kon ik een verband aantonen. Deels om te zien welk pollen genomen moest worden voor de bestuiving en deels om te zien wat de relatie van met het stadium van de bloem werd de fertiliteit van het pollen bepaald. Dit bleek voor alle stadia ongeveer hetzelfde te zijn. Het aantal pollenkorrels per helmhok bleek af te nemen naarmate de bloem ouder wordt. Dit klopt met de verwachting dat hoe ouder de bloem is hoe meer pollen is weggehaald door de insecten. Wat betreft nectar en pollen kunnen we zeggen dat en de rode stadia maar vooral het overgangsstadium van rood naar blauw meer belonend is (zeker bij P.officinalis, wellicht bij P.angustifolia) dan de andere stadia. Dit klopt met de hypothese.
Om dezelfde redenen als de fertiliteit van het pollen werd de

receptiviteit van de stempel bepaald. In tegenstelling tot de conclusies van Hemmink hierover twijfel ik sterk aan de gebruikte methode van de bepaling (zie 4.6) en durf geen conclusies aan de resultaten te verbinden. In 1984 werden door H.Hemmink onder andere correlaties gelegd tussen de hoeveelheid nectar, de receptiviteit van de stempel en het aantal pollenkorrels per helmhok (Hemmink,1984). Daar mijn resultaten en conclusies niet overeenkomen met de zijne zal ik deze correlaties niet overnemen in mijn verslag.
Wat betreft een U.V. nectarmerk kan ik het volgende concluderen. Er is een U.V. nectarmerk aanwezig. De ligging hiervan komt overeen met de ligging van de vaatbundels en het wel of niet opvallen van dit nectarmerk wordt bepaald door de mate van reflectie van het omliggende weefsel. In de rode stadia is dit nectarmerk het duidelijkst. Verder bleek dat de bloemen zogenaamde window-panes (vensters) bezitten, wat inhoudt dat onder in de kroonbuis (waar de nectar afgegeven wordt) meer licht is met daar om heen donkere banen. De insecten reageren sterk op dit licht en vooral ook op het contrast (Faegri en van der Pijl, 1979). Dit kunnen we ook als een soort nectarmerk beschouwen. De bezoekers van Pulmonaria kunnen geen rood zien. Uit het onderzoek van de reflectie van licht van 350 tot 490 nm. blijkt dat de rode bloemen wel "blauw bevatten". Het zou kunnen zijn dat er kleine verschillen in golflengte zijn tussen de verschillende stadia. Dit zou nog onderzocht kunnen worden. Insecten kunnen in ieder geval het verschil zien tussen 2 vrij dicht bij elkaar liggende golflengten (Grossmann,1970). Vanuit de ogen van de insekten ziet de rode bloem er uit als grijsblauw (de insekten zien rood als grijs (Faegri en van der Pijl, 1979)) en de blauwe bloemen als blauw. Naast dit alles bevatten de kroonslippen een sterk U.V. reflecterende rand, die naarmate de bloem ouder wordt, breder en vager wordt. Bovendien komen er door de insekten zogenaamde krabsporen (Widder,1943) op de bloem, die eerder blauw worden dan de rest van de bloem en bestaan uit geplasmolyseerde cellen (in de resultaten "gaten" genoemd) die het U.V. licht sterk reflecteren. We zouden eigenlijk, omdat dit onderzoek over debestuivingsoecologie gaat, van een kleurverandering van grijs-blauw met duidelijk U.V.nectarmerk en ultraviolette rand aan de kroon naar blauw-ultraviolet zonder duidelijk U.V.nectarmerk en met een bredere, vagere

ultraviolette rand aan de kroon moeten spreken in plaats van een kleurverandering van rood naar blauw.
De belangrijkste bezoekers en tevens bestuivers van beide soorten Pulmonaria zijn de Akkerhommel (Megabombus pascuorum) en Anthophora pilipes ♂. Rhingia campestris bleek ook een belangrijke bezoeker. In 1984 bleek de Aardhommel (Bombus terrestris) ook een belangrijke bezoeker te zijn en Rhingia campestris bleek in dit jaar niet waargenomen te zijn op de planten. In 1985 en 1984 bleken de insekten geen of nauwelijks voorkeur te vertonen voor de rode bloemen. Een verklaring hiervoor zouden de slechte weersomstandigheden kunnen zijn (zie 4.2). Voorkeur voor rode bloemen (eigenlijk grijs-blauw) lijkt niet erg logisch omdat hommels meestal de voorkeur geven voor planten met blauwe of paarse bloemen (Proctor en Yeo,1973). Aan de andere kant zitten de blauwe bloemen van Pulmonaria los in de kroon en is de kans dat de bloem afvalt tijdens een bezoek vrij groot. Bovendien is de hoeveelheid nectar en pollen in de laatste rode stadia vrij groot en dit alles zou dus een voordeel zijn voor de insekten om juist deze bloemen vaak te bezoeken. Ook werd in 1985 geen voorkeur waargenomen in de vorm van langere bezoektijden aan de rode bloemen. Alleen Rhingia campestris bezocht deze bloemen langer dan de blauwe bloemen.
De samengevatte conclusies staan voor P. angustifolia in tabel 26 en voor P. officinalis in tabel 27 .
De algemene conclusie luidt: De beloning van de rode bloemen (vooral van diegene die nog net niet blauw zijn) van P. officinalis is dermate hoog dat vooral bezoek aan deze stadia lonend is voor de insekten en zou dus een oecologische verklaring kunnen zijn voor de kleurverandering van rood naar blauw bij deze soort. Voor P.angustifolia zou dit ook kunnen als de grootste hoeveelheid nectar en pollen, en de grootste suikerconcentratie in het denkbeeldige stadium tussen stadium II en III valt (overgangsstadium van rood naar blauw).
Ik moet hier echter wel bij vermelden dat het een oecologische verklaring zou kunnen zijn omdat ik in dit jaar geen voorkeur voor rode bloemen van de insekten heb kunnen waarnemen en deze voorkeur moet bestaan als we zeker willen zijn van deze oecologische verklaring! Omdat velen (Müller 1883,Neger 1913,Garjeanne 1918,kostka 1922,en anderen) deze voorkeur wel waargenomen hebben,

Tabel 26: Samengevatte conclusies voor P. angustifolia betreffende een aantal kenmerken van de bloem tijdens verschillende ontwikkelingsstadia. Verklaring der tekens: -=niet of geen; -+=weinig; +=matig; ++=veel; ?=onduidelijk; ??= geen conclusie; o=niet onderzocht.

Kenmerken \ Stadium	I	II	III	IV
Kleur van de kroon (zie ook Figuur 3)	rood	rood, soms al iets blauwig	blauw-paars	blauw
Nectar	-	++	++	+
Fertilitet pollen	+	+	+	+
Aantal pollenkorrels per helmhok	++?	++?	+?	-+?
Receptiviteit van de stempel	-?	-+?	++?	++?
Helmhokken open	-+	+	+	+
U.V. nectarmerk	-	+++	+	+
Suikerconcentratie van de nectar	-	++	++	+
Bestuivers/bezoekers	+	+	+	+

ben ik van mening dat er onder bepaalde omstandigheden wel voorkeur voor rode bloemen moet zijn. Welke omstandigheden dit zijn is mij niet duidelijk (misschien betere weersomstandigheden). Genoemde auteren hebben echter vaak gezien dat juist de allerjongste rode bloemen het meest bezocht werden. Dit lijkt mij onwaarschijnlijk omdat vooral wat nectar betreft, deze bloemen weinig belonend zijn.

Een aantal vragen bleven in dit onderzoek onbeantwoord en zijn dus suggesties voor verder onderzoek:

Voor zowel P. anfustifolia als P.officinalis:

- Hoe groot is het aantal pollenkorrels per bloem van een bepaald stadium?

Tabel 24: Samengevatte conclusies voor *P. officinalis* betreffende een aantal kenmerken van de bloem tijdens verschillende ontwikkelingsstadia. Verklaring der tekens: -=niet of geen; -+=weinig; +=matig; ++=veel; ?=onduidelijk; ??= geen conclusie.

Stadium / Kenmerken	I	II	III	IV	V
Kleur van de kroon (zie ook de Figuren 4 en 6)	roze-rood	roze-rood	roze boven met grootste deel lila-paars	geheel lila-paars met van onderaf blauw-paars	geheel blauw-paars
Nectar	-+	+	++	+	+-
Fertiliteit pollen	++	++	++	++	++
Aantal pollenkorrels per helmhok	+?	++??	+?	-+?	-+?
Receptiviteit van de stempel	-?	-+?	+?	++?	++?
Helmhokken open	+	+	+	+	+
U.V. nectarmerk	-	+++	+++	+	+-
Suikerconcentratie van de nectar	-	++	+++	+	+
Bestuivers/bezoekers	+	+	+	+	+

- Wat is de receptiviteit van de stempel in de verschillende ontwikkelingsstadia? (een andere methode gebruiken dan hier gebeurd is)
- Is er, wanneer er andere omstandigheden zijn, wel voorkeur voor rode bloemen? Onder deze omstandigheden (b.v.een gebied waar de planten niet aangeplant zijn, maar inheems en/of betere weersomstandigheden) zou dan het gehele onderzoek herhaald moeten worden om te zien of b.v. de grootste hoeveelheid nectar en de grootste suikerconcentratie ervan, het meeste pollen, samenvallen met een andere fase van de bloei van de bloem.
- Treedt er een snelle kleurverandering van rood naar blauw op wanneer de bloem bestoven/bevrucht wordt?
- Geven de bloemen wanneer bestoven minder nectar af?

- Zijn er kleine verschillen in golflengte (kleur) in de verschillende stadia van de bloemen?

Voor P.officinalis:

-Hoe zijn waargenomen verschillen in bestuiversbezoek (bestuivers alleen op rode , zeer jonge bloemen door o.a. Müller (1883), Neger (1913), Garjeanne (1918), Kostka (1922) waargenomen) te verklaren?

-Wat zijn de oorzaken van de grote kleurverschillen tussen bloemen (uit hetzelfde stadium) binnen de onderzochte populatie en tussen deze en andere populaties?

Voor P.angustifolia:

-Wanneer er een extra stadium tussen stadium II en III van P. angustifolia ingedeeld wordt, is dan in dit stadium de hoeveelheid nectar en de suikerconcentratie ervan het hoogst in vergelijking met de andere stadia?

Aan de doelstellingen van het onderzoek is ruimschoots voldaan:

-Er is ervaring opgedaan voor het onderzoek aan Symphytum uplandicum x asperum.

-Ik heb behoorlijk wat inzicht gekregen in de relatie : Planten en hun bestuivers.

-Ik heb een aantal bloembezoekers erbij geleerd en heb meer inzicht gekregen in de wijze waarop zij de bloemen bezoeken en leven.

5.LITERATUUR

Alexander,M.P.,1969. Differential staining of aborted and non-aborted pollen. Stain Technology 44: 117 - 122.

Asen,S., 1976. Known factors responsible for infinite flower color variations. Acta Horticulturae 63: 217 - 223

Barendregt,A, 1978. Zweefvliegentabel. 6de druk.Jeugdbondsuitgeverij.

Bellingham, 1974. Instructions for the use of the hand refractometer. Bellingham & Stanley Ltd. Kent,England.

Benno,P., 1950. Bijen en hommels. Wat leeft en groeit. Uitgeverij Het Spectrum.Utrecht.

Benno,P.,1955. Vliesvleugelige insecten - Hymenoptera. Wetensch. mededelingen Kon. Ned. Nat. Hist. Ver. No.18.

Blom,J.van der, 1984. Hommeltabel. Geheel herziene uitgave, Jeugdbondsuitgeverij.

Boer,P. den, 1977. Hommeltabel. 7de druk.Jeugdbondsuitgeverij.

Bolten, A.B., 1979, On the calculation of sugar concentration in flower nectar. Oecologia (Berl.) 41 : 301 - 304.

Bos,M.,A.Huizinga, B.M.Moeliono, P. atering,1983. An ecological interpretation of the colour change of flowers of Echium plantagineum L.. In Press.

Bouwman,B.E., 1924. Een nieuwe determineertabel. De levende natuur 28: 137 - 143.

Chinery,M., 1975. Elseviers insektengids voor West-Europa. 2de druk Uitgeverij: Elsevier - Amsterdam/Brussel.

Cruden,R.W.,1976. Intraspecific variation in pollen-ovule ratios and nectar secretion - preliminary evidence of ecotypic adaptation. Ann. Missouri Bot. Gard.63: 277 - 289.

Cruden,R.W.,1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution 1977 vol.31 : 32 - 46.

Faegri,K., van der Pijl,L.,1979. The principles of Pollination Ecology. Uitgeverij : Pergamon Press, New York.

Garjeanne, 1918. Botanische indrukken van een gemobiliseerde in Walcheren. De levende natuur: 22 : 121 - 130.

Gilissen,L.J.W., 1976. The role of the style as a sense-organ in relation to wilting of the flower. Planta (Berl.) 131: 201- 202.

Gilissen,L.J.W., 1977, Style controlled wilting of the flower. Planta 133: 275 - 280.

Goot,V.S. van der, 1981. De zweefvliegen van Noordwest-Europa en Europees Rusland, in het bijzonder van de Benelux. Uitgeverij: Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging.

Grossmann,K.,Beller,E.J., 1970. Das Erlernen Farbsignsle durch Honigbienen. Z.f. Tierpsychol.29: 449 - 466, Heft 5. Verlag Paul Porey, Berlin und Hamburg.

Heimans, E.,Thijsse,Jac.P., 1911. Primula veris. De levende natuur 2: 25 - 30.

Heimans,E.,Heinsius,H.W., Thijsse,Jac.P., 1965. Geïllustreerde flora van Nederland. Uitgeverij: W.Versluys B.V. Amsterdam, 21ste druk.

Hemmink,H., 1984. Enige aspecten van de bestuivingsoecologie van Pulmonaria officinalis en P.angustifolia. Doctoraalverslag.

Heslop-Harrison,Y., 1981. Stigma characteristics and angiosperm taxonomy. Nordic. Journal of Botany vol.1.no.3 (august 1981).

Heukels,H.,Ooststroom, S.J. van, 1975 en 1977. Flora van Nederland. Uitgeverij: Wolters-Noordhoff Groningen.

Higgins,L.G.,Riley,N.D., 1971. Elseviers vlindergids. Uitgeverij: Elsevier Amsterdam/Brussel.

Kho,Y.,Baër,J., 1970. Die Fluoreszenzmikroskopie in der botanischen Forschung. Zeiss informationen 76: 54 - 57.

Kostka,G., 1922. Farbenwechsel und Insektenbesuch bei Pulmonaria officinalis L.. Öster. Bot. Zeitsch. 71: 246- 254.

Kruseman,G., 1947. Tabellen tot het bepalen van Nederlandse soorten der Genera Bombus Latr. en Psithyrus Lep.. Tijdschr. voor Entom. 88: 173 - 180.

Kugler,H., 1963. U.V. Musterungen auf Blüten und ihr Zustandekommen. Planta 59: 296 - 329.

Martin,F.W.,1958. Staining and observing pollentubes in the style by means of fluorescence. Stain Technology 34: 125 - 128.

Müller,H., 1883. The effect of change of colour of Pulmonaria officinalis upon its fertilizers. Nature 28: 81.

Neger,Fr.W.,1913. Biologie der Pflanzen. Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart.

Olesen,J.M.,1978. Floral morphology and pollen flow in the heterostylous species Pulmonaria obscura dumort (Boraginaceae). New Phytol. 82 : 757 -767.

Proctor,M.,Yeo,P., 1973. The pollination of flowers. Uitgeverij: Collins, St.James'sPlace, London.

Rosov,S.A.,Screbtsova,N.D., 1958. Honey bees and selective fertilisation of plants. XVII International Beekeeping congress jg.2 (1958) : 494 - 501.

Sandhall, Å.,Andersson,H., 1979. Vliegen en muggen. Uitgeverij Elmar B.V..

Strey,M., 1931. Karyologischen studien an Boraginoideae. Planta 14: 682 - 730.

Vecht,J. van der, 1928. Fauna van Nederland afl.IV. Hymenoptera, Anthophila (Q XII m), A.Andrena. Leiden.

Widder,F., 1943. Zur Blütenbiologie von Pulmonaria rubra als Bienenfutterpflanze. Oest. Bot. Zeitschr. 92: 196 -201.