D 346

Concentratie en samenstelling van suikers in de nektar en vluchtige verbindingen in bloemen van Rhinanthus serotinus (Schönn.) Oborny, R.minor L. en hun hybriden in Nederland alsmede van enkele andere halfparasieten (Scrophulariaceae) uit West- en Midden-Europa.

Y.A.Holthuijzen

Doctoraal verslag Plantenoecologie, R.U.Groningen

januari 1979

Laboratorium voor
Plantenoecologie
Haren (Gr)

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

Inhoud blz.

I. Inleiding 1

II. Methode en materiaal 3

1. Concentratie en samenstelling van suikers in de nektar 3

1. Bepaling van de suikerconcentratie in de nektar 3

2. Bepaling van de samenstelling van suikers in de nektar 4

1. Dunnelaagchromatografie (TLC) 4

2. Papierchromatografie 6

a. Dalende chromatografie 6

b. Stijgende chromatografie 7

2. Bepaling van vluchtige stoffen in bloemmateriaal van halfparasieten 7

1. Dunnelaagchromatografie 8

2. Gaschromatografie 9

3. Massaspectrometrie 11

III. Resultaten 11

1. Suikergehalte in de nektar gedurende de dag 11

2.1. Het suikergehalte in de nektar van enkele halfparasieten in Nederland 13

1. Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden 13

2. Pedicularis palustris, P.sylvatica en Melampyrum pratense 13

2.2. Het suikergehalte in de nektar van enkele halfparasieten uit Midden-Europa 14

3. Suikersamenstelling van de nektar 15

1. Papier- en dunnelaagchromatografie 15

1. Papierchromatografie 15

2. Dunnelaagchromatografie 15

3.2. Suikersamenstelling van de nektar van enkele halfparasieten in Nederland 16

1. Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden 16

2. Pedicularis palustris, P.sylvatica en Melampyrum pratense 18

3.3. Suikersamenstelling van de nektar van enkele halfparasieten uit Midden-Europa 18

4. Vluchtige verbindingen in bloemen van halfparasieten 19

1. Dunnelaagchromatografisch onderzoek 19

1. Rhinanthus serotinus, R. minor en hun hybriden 19

2. Enkele halfparasieten uit Midden-Europa 21

2. Gaschromatografisch onderzoek 22

3. Massaspectrometrisch onderzoek 24

IV. Diskussie 25

V. Samenvatting 30

VI. Literatuur 32

VII. Figuren 55-61

Tabellen 62-77

Bijlagen 78-95

I. Inleiding

In Nederland komen drie Rhinanthus-soorten voor: Rhinanthus alectorolophus Poll., R.serotinus (Schönh.) Oborny en R.minor L. R.alectorolophus komt in Nederland alleen in het Krijtdistrict voor (Heukels en van Ooststroom, 1970). De twee andere soorten worden ook hierbuiten aangetroffen, in graslanden en duivalleien, langs sloten en wegen. In 1901 stelde von Sterneck reeds een hybride vast tussen R.serotinus en R.minor. Naderhand zijn talloze hybriden in Nederland beschreven (Hegi, 1974; Heukels en van Ooststroom, 1970).

Voor kruisbestuiving is Rhinanthus voornamelijk aangewezen op het vervoer van pollen door hommels (Bombus Latr.)(Kugler, 1970; Kwak, 1977). Deze insecten halen nectar en/of stuifmeel uit de bloemen als energie- en eiwitbron voor hun volkjes. Tijdens het bezoek vindt stuifmeeloverdracht plaats. Het ontstaan van hybride zwermen van R.serotinus en R.minor is grotendeels te danken aan de bestuiving door hommels (Drent, 1967; ter Borg, 1972 en Kwak, 1977, 1978).

Uit het onderzoek van Drent (1967) blijkt dat Rhinanthus glaber (=R.serotinus) en R.minor in duinvalleien verschillende niches bezetten, echter met een vrij grote overlapping. Een volledige oecologische scheiding treedt niet op en in het overlappingsgebied van beide soorten worden hybriden aangetroffen. Oudertypen blijven echter ook in mengpopulaties van R.serotinus en R.minor en hun hybriden bestaan. Hiervoor kunnen interne en externe reproduktieve isolatiemechanismen verantwoordelijk gesteld worden (Drent, 1967). Uit het onderzoek dat M.M.Kwak (Laboratorium voor Plantenoecologie, Haren) en studenten onder haar leiding instelden naar deze isolatiemechanismen bleek ondermeer dat externe ethologische isolatie tot stand kan komen door bloemvastheid van hommels (Kwak, 1978). Hommels kunnen dus op een of andere wijze discrimineren tussen deze nauwverwante soorten.

Kugler (1943) en Manning (1956) toonden aan dat hommels

gekonditioneerd kunnen raken op de kleur van een bloem, maar omdat de kleuren van bloemen van R.serotinus en R.minor vrijwel gelijk zijn is het de vraag of hommels niet op grond van andere factoren tussen deze nauwverwante halfparasieten discrimineren.
Kugler (1943) vond echter ook dat de geur bepalend is voor het aanvliegen en Brantjes (1976) stelde bij nachtvlinders vast dat de geur van de bloemen dient als orientatiemiddel en waarschijnlijk fungeert als sign-stimulus om het bloembezoekgedrag te aktiveren. Door Kuijer (1977) uitgevoerde discriminatieproeven met hommels op kunstbloemen waaraan de geur van R.serotinus was gegeven leverden echter door de wat summiere opzet geen overtuigend bewijs dat de geur invloed heeft op het aanvliegen en landen van hommels.

Naast de geur en de kleur van de bloemen kan de door de Rhinanthus-bloemen geproduceerde nectar een rol meespelen in het discriminatieproces. Hommels kunnen de afwezigheid van nectar konstateren tijdens het aanvliegen en ontrollen hun tong dan niet (Kugler, 1943; B.hortorum doet dit niet, Brian, 1957).
Wykes (1952) geeft aan dat bijen voorkeur voor bepaalde verhoudingen van suikers in de nectar hebben.

Op grond van de resultaten van deze onderzoekingen en in het kader van het onderzoek van M.M.Kwak naar de isolatiemechanismen tussen soorten uit het geslacht Rhinanthus werd door mij onderzoek verricht naar de verschillen in concentratie en samenstelling van suikers in de nectar en verschillen in geurstoffen in de bloemen van Rhinanthus-soorten. Op grond van de resultaten werd beoordeeld of hommels zouden kunnen discrimineren tussen de soorten en hun hybriden. Tegelijkertijd werd onderzocht of de verschillen in geurstoffen van de bloemen en verschillen in samenstelling van de nektar bij zouden kunnen dragen tot een taxonomisch onderscheid tussen de soorten en hun hybriden.

Ook andere halfparasieten in Europa zijn voor hun bestuiving aangewezen op hommelsoorten (Kwak, 1977, 1978; Faegri en van der

Pijl, 1966). Er werd daarom een vergelijkend onderzoek verricht naar de concentratie en samenstelling van suikers in de nektar en verschillen in geurstoffen in bloemen van enkele representanten van het geslacht Rhinanthus alsmede van enkele Pedicularis- en Melampyrum-soorten en Bartsia alpina uit Midden-Europa.

II. Methoden en materiaal

1. Concentratie en samenstelling van suikers in de nektar

1.1. Bepaling van de suikerconcentratie in de nektar.

Nektar van Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden werd door medewerkers van het Lab. voor Plantenoecologie van mei tot en met juli 's ochtends verzameld in de proeftuin te Haren. Tevens werd nektar verzameld van planten van populaties van Rhinanthus spp. uit het Zeegserloopje, Hornbulten, Smalbroek en Kantens en van planten van populaties van Melampyrum pratense, Pedicularis palustris en P.sylvatica uit het noorden van Drente.

De nektar werd opgezogen in lambda pipetten (1,2 en 10 µl), die afgesloten werden met een propje plasticine. Vervolgens werden de pipetjes tot kort voor analyse van de suikerconcentratie (en -samenstelling) bij -20°C opgeborgen.

Van 13 tot 26 juli 1977 werd door M.M.Kwak, S.J. ter Borg en mij in Duitsland, Zwitserland en Oostenrijk nektar verzameld uit bloemen van halfparasieten behorende tot de geslachten Rhinanthus, Pedicularis, Melampyrum en Bartsia. De nektar werd opgezogen in lambda pipetten die afgesloten werden met plasticine en vervolgens bij dagtemperatuur werden bewaard. Na 26 juli werden de pipetten tot kort voor gebruik opgeborgen bij -20 °C.

Het suikergehalte in de nektar werd bepaald met de Abbe-refractometer en met behulp van een ijklijn (Fig. 1). De refractometer gaf voor glucose- en fructose-concentraties van 0,1 tot 40 % (w/v; 1% suiker = 1 g suiker opgelost en aangevuld met gedestilleerd water tot 100 ml) precies dezelfde waarden aan.

Het verloop van het suikergehalte in de bloemen van Rhinanthus spp. werd op 23 augustus 1977 op de Kimmelsberg (Zeegse) en op 7 september 1977 in de proeftuin te Haren bepaald. Op de Kimmelsberg werd nektar opgezogen uit R.serotinus bloemen (10-20 bloemen/bepaling) en in de proeftuin te Haren uit bloemen van planten van de kruisingen F_1[1)]-hybride x R.serotinus en F_1-hybride x onbekend (10-20 bloemen/bepaling). Op de dag voorafgaande aan de bepaling werden de bloemen waaruit nektar getapt zou worden van 17.00 tot 18.00 uur omhuld met vitragezakjes. De bloemen bleven behalve tijdens de afname van de nektar 24 uur omhuld.

1) F_1=R.minor x R.serotinus

1.2. Bepaling van de samenstelling van suikers in de nektar

Scheiding van suikers in de nektar kan worden verkregen met behulp van dunnelaag- en papierchromatografie. Deze beide methoden worden hieronder afzonderlijk besproken. De gebruikte werkmethoden bij dit onderzoek zijn weergegeven in Tabel 1.

1.2.1. Dunnelaagchromatografie (TLC)

Bij dit onderzoek werd stijgende chromatografie toegepast waarbij gebruik gemaakt werd van kleine glazen bakken en voorgeprepareerde glazen of aluminiumfolieplaten waarop Kiezelgel F_{254} was aangebracht. In de bak werd een kleine hoeveelheid loopmiddel gegoten zó dat het vloeistofniveau de aangebrachte nektaroplossingen niet zou bereiken. Daarop werden de platen met de nektaroplossingen in de bak gezet, waarna de bak met een goed sluitende deksel werd afgesloten om verdamping van bestanddelen van het loopmiddel tegen te gaan. Nadat twee of hooguit drie platen in de bak waren geweest werd het loopmiddel verwijderd. De bak werd schoongemaakt en van een kort tevoren gemaakt loopmiddel voorzien. Afgezien van het aantal platen dat in de bak was geweest werd het loopmiddel ook na twee dagen verwijderd met het oog op verandering van de samenstelling van het loopmiddel door een verschillende verdamping van de bestanddelen.

Methode c uit Tabel 1 bleek een zeer goede scheiding van de

suikers te geven, evenals methode f. Vanwege de langere looptijd werd dit loopmiddel alleen ter kontrole van methode c gebruikt. De platen werden voor gebruik geimpregneerd met 0,1 N boorzuur en aceton (1:1; v/v)(gewijzigd naar Pifferi, 1965 en Pastuska, 1961).

Voor het bepalen van suikers in de nektar werd deze verdund met 0,1 ml gedestilleerd water. Op deze wijze waren ruwweg de concentraties van iedere afzonderlijke in de nektar voorkomende suiker tussen 0,1 en 1% (w/v). De bepalingen werden 2-5 maal verricht.

Op de platen werden 2 cm van de onderzijde van de platen en 1,5 cm van elkaar de nectaroplossingen (3 -4 g/l, zie ook Partridge, 1948) opgebracht. De opbrengpunten op de platen werden zo klein mogelijk gehouden door het water uit de oplossingen te verdampen met behulp van een föhn.

Nadat het vloeistoffront zich 12-13 cm van de opbrengpunten op de plaat had verwijderd werd de plaat uit de vloeistof genomen en gedroogd. Vervolgens werden de platen bekeken onder U.V. 254 en U.V. 365, waarna bespuiting plaatsvond met sproeireagentia.Goede resultaten werden verkregen met het toepassen van de sproeireagentia I en II (Tabel 1) na elkaar (naar analogie van Baily & Bourne, 1960).

Tussen de bespuitingen werd de plaat verhit gedurende 10 min bij 105-110 °C (Pastuska, 1961; Patridge, 1948 en Pifferi, 1965).

Om de vlekken na bespuiting langer zichtbaar te houden werden ze bespoten met Licht-Spray Schutzlack (Tetenal, Hamburg). Dit bleek echter geen goede conserveringsmethode te zijn omdat de vlekken na enige tijd vervaagden. Ook het opbergen van de platen in de diepvries (-20 °C) bood geen soelaas, want de vlekken verdwenen na enige tijd. Het vlekkenpatroon kan echter wel zeer nauwkeurig fotografisch worden vastgelegd, maar omdat het opstellen van de apparatuur te veel tijd in beslag nam werden slechts van enkele gescheiden nektaroplossingen dia's gemaakt.

In de nektar werden drie suikers aangetroffen die het hoofd-

bestanddeel van de nektar vormen, namelijk glucose, fructose en sucrose. Van deze suikers werd de verhouding waarin zij in de nektar voorkwamen bepaald door het oppervlak van de vlekken op de chromatografieplaten te vergelijken met de grootte van vlekken van concentratiereeksen van glucose, fructose en sucrose, van 0,1 % oplopend met 0,1 % tot 3,5 % suiker. De gevonden verhoudingen werden omgerekend naar een glucosewaarde 1, zodat de verhoudingen van de suikers in de nektar van alle behandelde soorten vergelijkbaar en onafhankelijk waren van de concentratie en de hoeveelheid opgebrachte nektar op de platen.

Van bekende en onbekende suikers werd na bespuiting van de plaat de kleur vastgesteld en werd de R_f-waarde

$$\left(=\frac{\text{afstand(in cm) afgelegd door de suiker (of onbekende stof)}}{\text{afstand(in cm) afgelegd door het vloeistoffront vanaf het opbrengpunt van de suiker (of onbekende stof)}}\right)$$

en R_g-waarde $\left(=\frac{\text{afstand (in cm) afgelegd door de suiker of onbekende stof}}{\text{afstand (in cm) afgelegd door de glucoseoplossing}}\right)$

berekend. Op elke plaat liepen voor de berekening van de juiste R_f- en R_g- waarden één of meer bekende suikers met bekende concentratie mee. De R_f- en R_g-waarden van bekende suikers in de nektar werden berekend voor het loopmiddel c(Tabel 1) en zijn in Tabel 2 vermeld. Van onbekende stoffen in de nektar werden de R_f- en R_g-waarden ook met het loopmiddel c (Tabel 1) vastgesteld en deze stoffen zijn in Tabel 2 aangegeven met de cijfers 1 t/m 6.

1.2.2.Papierchromatografie

a.Dalende chromatografie

In een glazen bak, 100 x 70 x 30 cm werden bovenin bakjes bevestigd. Tot 1 cm boven de bodem werd de bak met water gevuld. Vervolgens werden op de bodem 4 cm hoge bakjes geplaatst. Aan de bakjes bovenin werd papier bevestigd waarop op ongeveer 5 cm van de rand en 3 cm van elkaar nektaroplossingen en bekende suikeroplossingen, ongeveer 3 -4 g/l bevattend, werden aangebracht. Aan de andere zijde van

het 100 cm-lange papier werden haaietanden geknipt zodat de loopvloeistof zich niet in het papier op zou hopen, maar af zou druipen in de op de bodem staande bakjes. De bak werd na het opbrengen van de nektaroplossingen gesloten en bleef 24 uur gesloten voor het instellen van het equilibrium. De bak werd daarna zeer kort geopend voor toevoeging van het loopmiddel g (Tabel 3) in de bovenste bakjes. Er werd voor gezorgd dat het vloeistofniveau in de bakjes de spots niet bereikte. Na 48 uur werden de papieren strips verwijderd en gedroogd, waarna zij bespoten werden met reagens II (Tabel 5). De beoordeling vond na bespuiting plaats.

b.Stijgende chromatografie

In glazen bakken die ook gebruikt werden voor de TLC-methode werd een kleine hoeveelheid van de loopvloeistoffen h of i (Tabel 3) gegoten. Op Whatman no.1 werden spots aangebracht van bekende suikers en van Rhinanthus serotinus- of R.minor-nektar, ongeveer 2 cm van de rand van het papier, zó dat het vloeistofniveau van het loopmiddel in de bak de spots niet kon bereiken. De spots werden 1,5-2 cm van elkaar aangebracht. De bak werd gesloten en na de vereiste looptijd werd het papier verwijderd en gedroogd, waarna bespuiting met reagens II plaatsvond. Na de bespuiting vond de beoordeling plaats.

II.2.Bepaling van vluchtige stoffen in bloemmateriaal van halfparasieten.

Geurstoffen in bloemen van Rhinanthus spp. moeten gezocht worden in vluchtige verbindingen zoals oliën, alkoholen, esters e.d. die zich in het bloemblad of in het klierhaarepitheel op het oppervlak van de bloem bevinden.

Hendriks (1974) geeft aan dat de samenstelling van de vluchtige oliën bij Mentha spp. in de eerste plaats genetisch beinvloed wordt en dat de samenstelling van de oliën bij de F_1 van de kruising M.suaveolens x M.longifolia door dominante overerving via M.suaveolens tot stand komt.Vluchtige oliën zouden dus mogelijk informatie kunnen verschaffen over de genetische achtergrond van Rhinanthus spp. en hun hybriden.

Indien geen verschillen in aanwezigheid van vluchtige bestanddelen bij Rhinanthus spp. en hun hybriden aantoonbaar zou zijn, bood het onderzoek naar de vluchtige verbindingen ook de mogelijkheid eventuele concentratieverschillen op te sporen.

De vluchtige verbindingen in het onderzochte materiaal werden met behulp van een organisch oplosmiddel (aether) of door verhitting (waarna de vluchtige verbindingen onmiddelijk condenseerden, TAS) vrijgemaakt. Een aantal methoden werden vervolgens aangewend voor de scheiding van de vluchtige verbindingen.

2.1. Dunnelaagchromatografie

Bij het dunnelaagchromatografische onderzoek werd gebruik gemaakt van Kiezelgel F_{254}-platen. Als loopmiddel werd in eerste instantie hexaan : ether (80 : 20, v/v) gebruikt. Door het experimenteren met een groot aantal loopvloeistoffen (Tabel 4) bleek de scheiding van vluchtige verbindingen met hexaan : ether (80:20, v/v) niet volkomen geweest te zijn. De beste scheiding voor de te onderzoeken verbindingen in R.serotinus leverde hexaan : ether : petroleumether (10 :20 : 5,v/v) en dit mengsel werd gedurende de rest van het onderzoek gebruikt.

Er werd met een onverzadigde kamer op kamertemperatuur (20°C) gewerkt. De loopafstand bedroeg 15-17 cm. Nadat de plaat gedroogd was werd deze bekeken onder UV 365 en UV 254.

De beoordeling van het vlekkenpatroon vond direkt na bespuiting met het reagens, genoemd in Tabel 4, plaats. Het vlekkenpatroon met UV-licht en verkregen met het reagens werd overgenomen op transparant papier.

Het kwalitatieve onderzoek op dunnelaagplaten van vluchtige verbindingen van Rhinanthus-soorten, hun hybriden, Pedicularis-, Melampyrumsoorten en Bartsia alpina vond plaats met behulp van de TAS-methode (TAS: Thermomikro- Abtrenn-, Transfer- und Auftrage-Verfahren nach Stahl). Hierbij worden kleine hoeveelheden (blad- of bloemmateriaal) direkt uit de diepvries of gedroogd overgebracht in een TAS-patroon. Eén zijde van het patroon wordt afgesloten met

een siliconschijfje. Het patroon wordt in een oven geschoven zodat de tapstoelopende opening van het patroon gericht is op de dunnelaagplaat. Het TAS-patroon bevindt zich 1,5 mm van de dunnelaagplaat. Gedurende 90 seconden wordt het patroon bij 200 °C verhit, waarbij de vluchtige stoffen uit het materiaal verdampen en op de plaat condenseren. Na 90 seconden wordt het patroon verwijderd en de dunnelaagplaat 1,5 cm opgeschoven, waarna een volgend patroon ingebracht wordt.

De hoeveelheid bloemmateriaal werd niet afgewogen, maar afhankelijk van de grootte van de bloem werden varierende aantallen van de onderdelen van de bloem genomen :

onderdeel bloem of hele bloem	aantal
hele bloem	1- 3
kronen	3- 6
kelken	3- 6
stijl en stempel	6-20
vruchtbeginsel	3-10
meeldraad en hokken	4-10 (x4)

Dunnelaagchromatografie werd ook toegepast bij extracten van kronen en kelken die, geplet en ongeplet, 24 uur geextraheerd waren in methanol of ether. Voor de scheiding van de bestanddelen werden 30-40 µl op een dunnelaagplaat gebracht, waarna scheiding met hexaan : ether : petroleumether (10 : 20 : 5, v/v) werd verkregen.

2.2. Gaschromatografie

Met een vastestofinjector werden enkele milligrammen plantemateriaal in de Perkin Elmer Gaschromatograaf F_{30} van Farmacognosie te Groningen gebracht. Ook werd met behulp van de vastestofinjector gescheiden fracties van de dunnelaagplaten in de gaschromatograaf gebracht. De omstandigheden waaronder de scheiding plaatsvond staan vermeld in Tabel 5. Het onderzoek werd verricht aan kronen

(waarin de meeldraden) van R.serotinus en R.minor en kruisingsprodukten van deze soorten en in een enkel geval aan kelkmateriaal van R.serotinus en R.minor.

Van de pieken in de gaschromatogrammen werden de retentietijden (d.i. de tijd waarna de stof van de kolom afloopt) vergeleken. De retentietijd is afhankelijk van de volgende factoren:

F_c=flow rate (ml/min)

t_R=tijd tussen injectie van het materiaal en detectie

V_R=volume gas dat tussen injectie en detectie verloopt

waarbij $V_R = t_R \cdot F_c$

Als maat voor de efficiency van de kolom wordt het begrip "aantal theoretische schotels" ($n = 5{,}54 \left(\frac{t_R}{w_h}\right)^2$, waarbij w_h=piekbreedte op halve hoogte) gehanteerd. Het aantal theoretische schotels werd bepaald met 3 µl 3-octanol,waaraan ethylacetaat was toegevoegd. Het aantal theoretische schotels bedroeg 2998 ($5{,}54 \cdot \left(\frac{18{,}6}{0{,}8}\right)^2$).Dit geeft aan dat het scheidend vermogen van de kolom vrij goed was.

Met behulp van een gaschromatogram is het mogelijk de concentratie van een stof in het plantemateriaal te bepalen. Een maat voor de concentratie is de piekhoogte x ½ breedte op halve hoogte van de piek. Van een bekende verbinding kan de concentratie bepaald worden door van deze verbinding een bekende concentratie in de gaschromatograaf te spuiten. In het kroonbladmateriaal werden echter geen bekende (geurende) verbindingen gevonden. Kwantitatief onderzoek werd daarom niet uitgevoerd en in de chromatogrammen werden alleen "hoge" en "lage" pieken onderscheiden. Een piek werd "hoog" genoemd als zijn lengte, gerekend vanaf de basislijn van het chromatogram meer bedroeg dan de halve hoogte van de hoogste piek en voor een lage piek werd aangehouden: pieken tussen de helft en kwart van de hoogste piekhoogte.

Voor detectie van eventueel voorkomende alkanen werd 2 µl van een reeks van n-alkanen van $C_{10}H_{22}$ t/m $C_{24}H_{50}$ ingespoten, afzonderlijk

en samen met kroonbladmateriaal van R.serotinus.

2.3.Massaspectrometrie

In de massaspectrometer Finnigan 3300 Comp. System van het Farmaceutisch Laboratorium te Groningen werd een extract ingespoten van bloemen van R.serotinus verzameld in de omgeving van Taarlo en bloemen van R.serotinus, afkomstig van herbariummateriaal van de afdeling Plantenoecologie te Haren.

De werkomstandigheden met de massaspectrometer staan vermeld in Tabel 6. Voor het extract werd 14 g vers materiaal gebruikt en 12 g droog materiaal (tesamen ongeveer 800 bloemen). Het materiaal werd uitgeschud met ether, afgefiltreerd en vervolgens afgedampt. Van kwantitatief veel voorkomende verbindingen werden massaspectra opgenomen.

III. Resultaten

1.Het suikergehalte in de nektar gedurende de dag

Het verloop van het suikergehalte over de dag in de bloemen van R.serotinus afkomstig uit Zeegse staat weergegeven in Fig. 2. Het suikergehalte bedraagt tussen 8.45 en 10.45 uur 19-36 %. Daarna vindt een forse stijging plaats tot 70 % (11.45 uur). Vanaf dit tijdstip blijft het suikergehalte tot 15.45 uur schommelen tussen 30 en 50 %. De waarde die werd gevonden voor de suikerconcentratie om 17.45 uur is waarschijnlijk niet juist omdat vele luizen in de afgetapte bloemen huisden.

Het glijdend gemiddelde van de suikerconcentratie over de dag geeft ook een stijging te zien vanaf 8.45 uur. Omstreeks het middaguur worden gemiddeld de hoogste waarden -tussen 40 en 50 % suiker- gevonden. Daarna zet een daling in tot 35 %. De gemiddelde waarden van het suikergehalte houden gelijke tred met de stijging en de daling van de temperatuur zoals uit Fig. 2 blijkt.

De hoeveelheid nektar per bloem is het grootst om 10.45 uur,

daarna vindt een sterke daling plaats, die zijn dieptepunt bereikt om 13.45 uur. De hoeveelheid nektar neemt vervolgens weer toe om tegen 17.45 uur weer het niveau van 8.45 uur te bereiken.

Om 18.45 werd nogmaals nektar afgenomen. De hoeveelheid nektar die werd aangetroffen, staat weergegeven in Fig. 3. De bloemen blijken dan vrijwel geen nektar te bevatten. Een gedeelte van de bloemen die om 13.45 en 15.45 werden afgetapt, werd in plaats van met vitrage door plastic omhuld. De gemiddelde hoeveelheid nektar in deze bloemen ligt aanmerkelijk hoger dan in de door vitrage omhulde bloemen. Dit moet waarschijnlijk gezien worden als een gevolg van verdamping. Uit de resultaten van de met plastic omhulde bloemen blijkt dat er wel nektar geproduceerd wordt.De verdamping is bij de gegeven temperaturen blijkbaar zo groot dat nauwelijks een meetbare hoeveelheid nektar gevonden wordt.

Het suikergehalte in de nektar van bloemen uit de proeftuin te Haren staat weergegeven in Fig. 4. Afgezien van het zeer hoge suikergehlate in de bloemen van "F_1 x onbekend " om 11.30 uur, schommelt het gehalte bij de bloemen van beide kruisingen vanaf 8.30 uur tot en met 13.30 uur tussen 25 en 37 %. Om 14.30 uur is het suikergehalte tot bijna 50 % toegenomen en daalt na dit tijdstip bij de bloemen van "F_1 x onbekend" tot 22 %. Bij de bloemen van "F_1 x R.serotinus" neemt vanaf 14.30 uur het suikergehalte echter toe.

De temperatuur neemt vanaf 8.30 tot 11.30 uur met 6 °C toe en blijft daarna tussen 19 en 22 °C schommelen. Hoewel de temperatuur indirekt (via de vochtigheidsgraad) de concentratie van de suiker beinvloedt, lijkt de temperatuurstijging en de afname van de humiditeit tot 12.15 uur weinig invloed te hebben op het suikergehalte, dat vrij konstant blijft.

Het verschil in suikergehalte dat na 14.30 uur optreedt tussen de verschillende kruisingen kan niet door een verschil in stand-

plaatsomstandigheden veroorzaakt zijn. Uit bloemkenmerkmetingen van Kwak (ongepubl.) werden ook geen aanwijzingen gevonden voor het uiteenlopen van de suikergehalten; de bloemen van beide kruisingen bleken op grond van hun kenmerken tussen de F_1-hybriden en R.serotinus in te staan.

III.2.1. Het suikergehalte in de nektar van enkele halfparasieten in Nederland

2.1.1. Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden

Binnen de soorten is een grote variatie in het suikergehalte te vinden (Bijlage 1, Tabel 16). De gemiddelde waarden van de suikerconcentraties verschillen weinig tussen R.serotinus, R.minor en hun hybriden (Tabel 7). R.minor heeft gemiddeld een iets lager suikergehalte dan R.serotinus in gebieden waar zij tesamen voorkomen. In Kantens bereikt de suikerconcentratie van R.minor zeer hoge waarden. Kruisingen van R.minor x R.serotinus (in de rest van het verslag de "F_1" genoemd) en kruisingen van de F_1 met de beide oudertypen leveren gemiddeld iets meer dan 30 % suiker op. De kruising van R.minor als man of vrouw geeft gemiddeld de laagste suikergehalten, terwijl kruisingen van R.serotinus als eicel- of pollenleverancier hogere suikerpercentages leveren.

De spreiding in de suikerpercentages van de nektar van één soort (of van planten van dezelfde kruising) kan een gevolg zijn van a) een bestaande variatie in de populatie, b) een verschillende ouderdom van de bloemen waaruit nektar werd afgenomen (Nektar van oudere bloemen kan veranderen door inwerking van enzymen op de suikers; zie ook Loper c.s.,1976) en c) het tijdstip van de dag waarop nektar werd afgetapt (zie III, 1).

2.1.2. Pedicularis palustris, P.sylvatica en Melampyrum pratense

De nektar van P.palustris bevat gemiddeld 36,7 % suiker.Op één en dezelfde dag (1 juni) worden concentraties van 24,5 tot 53,8 % suiker gevonden(Tabel 8).

Het percentage suiker in de bloemen van P.sylvatica schommelt tussen 25 en 45 %, met een gemiddelde van 38,2 %. De spreiding in het suikerpercentage is bij deze soort minder groot dan bij P.palustris.

Het suikergehalte van de bij Huis ter Heide groeiende M.pratense bedroeg gemiddeld 37,3 % met een spreiding van 21,0 tot 57,8 % (Tabel 8).

Alle drie soorten vertonen, net zoals bij Rhinanthus spp. werd gevonden een vrij grote spreiding in het suikergehalte.Mogelijk hangt deze spreiding ook samen met factoren zoals die in III.2.1.1. vermeld zijn.

2.2.Het suikergehalte in de nektar van enkele halfparasieten uit Midden-Europa.

De suikergehalten in de nektar van enkele onderzochte halfparasieten staan vermeld in Bijlage 2, Tabel 17. De variaties in de suikerconcentraties in de nektar van planten van dezelfde soort zijn soms vrij aanzienlijk.Mogelijk speelt hier de standplaats (en gastheren ?) een rol maar ook kunnen factoren als de lange bewaartijd bij dagtemperatuur, waardoor enzymatische reakties gemakkelijk kunnen verlopen en de tijd van de dag waarop de nektar werd afgetapt, hun invloed doen gelden. In Tabel 9 zijn de gemiddelde suikergehalten in de nektar voor de verschillende in het buitenland verzamelde soorten samengevat.

Binnen het gelacht Rhinanthus bereikt de hybride van R.minor x R.aristatus het hoogste suikergehalte, terwijl R.minor de laagste, maar toch nog 44 % suiker in de nektar heeft. Nektar van R.alectorolophus afkomstig uit Davos heeft gemiddeld 10 % suiker meer in de nektar dan de in Nederland uit zaad,afkomstig uit de Alpen, opgekweekte R.alectorolophus. De nektar van deze planten bevatte gemiddeld 31 % suiker.

Bij de onderzochte Pedicularis soorten heeft de nektar van de

hybride P.tuberosa x P.rostrato-spicata het laagste suikergehalte van 12 %, waarna P.sceptrum carolinum volgt met 18 % en de hoogste waarde bereikt tenslotte P.rostrato-spicata met 72 % suiker (Tabel 9 Voor Bartsia alpina werd een suikerpercentage van 83 % gevonden.

III.3. Suikersamenstelling van de nektar

3.1. Papier- en dunnelaagchromatografie

3.1.1. Papierchromatografie

De resultaten die met behulp van de papierchroamtografie werden verkregen waren zonder uitzondering bedroevend slecht. Afgezien van de te hoge concentraties suikers die in de eerste fase van het onderzoek werden gebruikt, waardoor het beeld op de papieren strips vertroebeld werd door de optredende staartvorming, was ook door het gebruik van de juiste suikerconcentraties, 3 -4 g/l/spot geen bevredigend beeld op de papierstrips te verkrijgen. Van deze methode werd dan ook bij het verdere onderzoek geen gebruik gemaakt.

3.1.2. Dunnelaagchromatografie

Na de eerste moeilijkheden in het begin van het onderzoek, teweeg gebracht door het niet toepassen van het impregneermiddel en het gebruik van te hoge suikerconcentraties waardoor staartvorming optrad, werden na het onderkennen van deze obstakels goede resultaten verkregen.

In de nektar van vrijwel alle onderzochte soorten (Bijlage 1 en 2, Tabel 16 resp. Tabel 17) vormden de suikers glucose, fructose en sucrose het hoofdbestanddeel. Daarnaast werden lactose en rhamnose in kleine hoeveelheden in de nektar van enkele halfparasieten gevonden. De onbekende stoffen 1 t/m 6 (Tabel 2) werden in de nektar van vrij veel halfparasieten aangetroffen.

Nadat de nektar uit de lambdapipetjes verdund was met gedestilleerd water, werd de oplossing meteen op de platen gebracht en gescheiden. Wanneer de scheiding door de hoge (of te lage)

concentraties van de suikers geen bevredigend resultaat opleverde, werd opnieuw door het opbrengen van minder (of meer) µl de scheiding herhaald. Een hernieuwde scheiding van de suikers na ongeveer twee weken wees uit dat afwijkingen ontstonden ten opzichte van het voordien verkregen chromatogram. Vaak was een daling van het sucrose-gehalte merkbaar en steeg het fructosegehalte. In enkele gevallen liep het glucosegehalte op en in sommige gevallen verdween glucose. Eén of meer van de onbekende stoffen 1 t/m 6 verschenen in enkele gevallen op het chromatogram. De kleur van de nektar werd in sommige gevallen blauw, vooral bij de buitenlandse soorten en in het bijzonder bij R.minor. Deze blauwkleuring werd als blauwe vlek op het chromatogram na scheiding even boven het opbrengpunt terug-gevonden. Om te onderzoeken of deze ongewone kleuring het gevolg was van het oplossen van plasticine in de nektar of de aanwezigheid van aceton, een middel gebruikt bij het schoonmaken van het glas-werk, werden plasticine en aceton en een mengsel van beide op de plaat gebracht, maar bij de beoordeling van de plaat na bespuiting werd niets aangetoond. Nektarmetingen die na twee weken werden verricht, werden dan ook vanwege de optredende veranderingen buiten beschouwing gelaten. Toch kunnen deze bevindingen mogelijk een verklaring zijn voor onder andere de extreme waarden in de nektar van enkele R.minor-planten (zie III 3.2.1.).

3.2. Suikersamenstelling van de nektar van enkele halfparasieten in Nederland

3.2.1. Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden

In de nektar van de beide Rhinanthus-soorten en hun hybriden werden drie suikers, glucose, fructose en sucrose gevonden, die de belang-rijkste komponenten van de nektar vormden. Daarnaast werd een aantal van de onbekende stoffen 1 t/m 6 aangetoond. Hoewel het mogelijk is dat naast suikers ook aminozuren in de nektar voorkomen lijkt detectie met de gevolgde methode vrijwel uitgesloten, gezien de

werkmethoden van Baker & Baker (1976), en moet aangenomen worden dat de onbekende stoffen suikers zijn of, ten gevolge van het verlopen van enzymatische reakties, omzettingsprodukten van suikers zijn.

In R.serotinus werd lactose slechts één keer aangetoond (Bijlage 1, Tabel 16). Lactose werd, evenals rhamnose in een aantal planten van populaties van R. minor gevonden. De zes onbekende stoffen kwamen vaker bij R.minor dan bij R.serotinus voor. Bij enkele planten van hybriden werden lactose, rhamnose en een aantal van de zes onbekende stoffen aangetroffen.

In Bijlage 1, Tabel16 zijn de verhoudingen van de drie belangrijkste suikers in de nektar van alle onderzochte Rhinanthus-planten vermeld. Gemiddeld liggen de verhoudingen van de drie belangrijkste suikers in de nektar van R.serotinus en R.minor uiteen: R.serotinus heeft ten opzichte van glucose 4-5 maal hogere sucrose en fructose-gehalten, terwijl R.minor-nektar gemiddeld 0-1 maal meer sucrose en 2-3 maal meer fructose dan glucose bevat (Tabel 10).

Voor planten waarvan de bloemen als afwijkend werden beschreven zijn de verhoudingen van de suikers in de nektar in Tabel 11 gegeven. Bij de afwijkende R.serotinus-planten ligt vooral de sucrose-waarde lager, terwijl de fructose-waarde een factor twee onder het gemiddelde van de "normale" R.serotinus-planten (Tabel 10) ligt. De verhoudingen van de suikers die voor de afwijkende planten werden gevonden, benaderen vrij dicht de gemiddelde R.minor-suikerverhouding. Afwijkende planten van R.minor geven ten opzichte van de "normale" R.minor-planten gemiddeld iets lagere fructose-waarden.

De suikerverhouding in de nektar van F_1-hybriden(Tabel 11) ligt tussen de suikerverhoudingen van R.serotinus en R.minor in. De hoeveelheid sucrose en glucose is ongeveer gelijk, terwijl fructose ten opzichte van de beide andere suikers iets meer aanwezig is. De verhouding van de drie belangrijkste suikers in de overige hybride kruisingen wisselt nogal (Tabel 11).

Kan op grond van de verhouding van de suikers nektar van een willekeurige Rhinanthus-plant tot R.serotinus, R.minor of F_1-hybriden worden gerekend ? Voor het beantwoorden van deze vraag werd de verhouding fructose/sucrose bepaald (Tabel 12). Het gemiddelde en spreiding van de F/S (fructose/sucrose)-waarde werd voor R.serotinus, R.minor en de F_1-hybriden uitgezet in Fig. 5. Vooral binnen R.minor-extreem (Tabel 12) is de spreiding zeer groot. Als de extreme waarden weggelaten worden uit de berekening van de gemiddelde F/S-waarde voor R.minor dan ligt de waarde van F/S voor R.minor het hoogst en bij R.serotinus het laagst, terwijl de F_1 een tussenpositie inneemt. De drie groepen overlappen elkaar sterk (Fig. 5) en er treedt geen significant verschil op tussen de gemiddelde waarden van F/S van R.serotinus en R.minor (Tabel 12).

3.2.2. Pedicularis palustris, P.sylvatica en Melampyrum pratense

Van het geslacht Pedicularis werden twee soorten op suikersamenstelling van de nektar onderzocht, namelijk P.palustris afkomstig van het Zuidlaardermeer en P.sylvatica, afkomstig uit Peest en Eenerbrug. Beide soorten hebben gemiddeld 8-10 maal meer sucrose en 3-4 maal meer fructose dan glucose in de nektar (Tabel 8). In de nektar van M.pratense uit Huis ter Heide werd gemiddeld 4-5 maal meer fructose en sucrose dan glucose gevonden.

3.3. Suikersamenstelling van de nektar van enkele halfparasieten uit Midden-Europa

De verhoudingen van de suikers in de nektar staan vermeld in Bijlage 2, Tabel 17. Uit Tabel 9, waarin de gemiddelde verhoudingen van de suikers zijn gegeven, blijkt dat R.minor en R.antiquus zeer dicht bij elkaar liggen en ten opzichte van de andere Rhinanthus-soorten vrij lage fructosen en sucrose-waarden hebben. R.alectorolophus uit Davos heeft een zeer lage sucrose-waarde, terwijl de in Nederland gekweekte soorten een meer dan 9 maal hogere sucrose waarde geven.

Hetzelfde doet zich voor bij de in Nederland afgetapte R.aristatus-planten die meer dan 3x hogere sucrose-waarden hebben.

P.verticillata heeft ongeveer 3 maal meer fructose en sucrose dan glucose in de nektar.P.foliosa heeft bijna 7 maal meer fructose dan glucose en sucrose in de nektar.P. tuberosa heeft in het geheel geen sucrose in de nektar en de kruising van deze soort met P.rostrato-spicata geeft een samenstelling van de suikers die vrijwel gelijk is aan de suikersamenstelling van P.tuberosa, maar zeer afwijkend is van de suikersamenstelling van P.rostrato-spicata. P.sceptrum-carolinum bevat zeer weinig sucrose en 2 maal zoveel fructose dan glucose.

De verhouding van de suikers in de nektar van Bartsia alpina benader die van de F_1-hybriden van R.minor en R.serotinus. Melampyrum arvense geeft gemiddeld zeer hoge sucrose waarden en een lage fructose-waarde

III. 4. Vluchtige verbindingen in bloemen van halfparasieten

4.1. Dunnelaagchromatografisch onderzoek

4.1.1. Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden

Met het loopmiddel hexaan/ether werden voor de kronen van R.serotinus en R.minor vlekkenpatronen gevonden zoals afgebeeld in Fig. 6. Vlak onder het vloeistoffront bevinden zich de koolwaterstof terpenen, die na bespuiting met het sproeireagens zichtbaar werden. De overige vluchtige verbindingen zijn esters, ketonen en alkoholen, aangetoond met behulp van UV-licht. De vlekken 8 en 9 zijn verbr-andingsprodukten en werden in alle chromatogrammen gevonden. Kelken, meeldraden en vruchtbeginsels gaven hetzelfde beeld als de kronen. Stampers gaven alleen de vlekken 8,9 en soms 10. Stampers bevatten dus vrijwel geen of zeer geringe concentraties van vluchtige verbindingen Om te onderzoeken of de bij R.minor en R.serotinus aangetroffen vlekken terug te vinden waren bij kruisingsprodukten werden de vlekken genummerd (1 t/m 14, Fig. 6). Er waren echter geen verschille

aantoonbaar tussen de in Bijlage 3, Tabel 18 vermelde planten die met behulp van de TAS-methode en het loopmiddel hexaan : ether (80 : 20, v/v) onderzocht werden.

Door experimenteren met enige loopmiddelen, vermeld in Tabel 4 en met behulp van de tweedimensionale scheidingstechniek werd duidelijk dat in de (14) vlekken veel meer stoffen schuilgingen. De tweedimensionale scheidingstechniek die toegepast werd op vluchtige verbindingen uit de kronen van R.serotinus (Fig. 7) wijst uit dat vooral in de onderste vlekken van de chromatografie-platen verkregen met het hexaan/ether loopmiddel verschillende andere stoffen verborgen zaten. Met de toepassing van het loopmiddel hexaan :ether:petroleumether (10 : 20 : 5,v/v) werd door het uiteen-trekken van de vlekken een totaal verschillend beeld verkregen ten opzichte van de chromatogrammen gemaakt met hexaan/ether. Door de weinige tijd die mij nog restte werd nog een gering aantal chromatogrammen van kronen en kelken gemaakt. Uit deze chromato-grammen blijkt wel degelijk een verschil tussen de vluchtige verbindingen in kronen (en kelken) van R.minor en R.serotinus voor te komen (Fig. 8), terwijl ook de vluchtige verbindingen in kronen binnen de soort verschillen (Fig. 9). Tevens blijken verschillen op te treden in vluchtige verbindingen van kronen en meeldraden.

Grote overeenkomst is te vinden in vluchtige verbindingen in kelken van R.minor x F_1-hybride(Fig. 10). De kelken van 1A en 15 bevatten grotendeels dezelfde vluchtige verbindingen als de kronen zoals uit vergelijking van Fig. 10 met Fig. 11 blijkt. Een groot aantal vluchtige verbindingen in kronen van kruisingsprodukten van R.serotinus en R.minor worden op dezelfde plaatsen in de chromatogrammen aangetroffen (Fig. 11), maar daarnaast treden vooral boven het opbrengpunt verschillen op, zelfs binnen de kronen van één plant (nr. 51). Naast taxonomische verschillen die tussen nauwverwante soorten en hun kruisingsprodukten op kunnen treden,

ontstaan de verschillen zoals in plant nr. 51, mogelijk ook door: a) een verschillende ouderdom van de bloemen, waardoor verschillen op gaan treden in de geurstoffen en b) een te geringe concentratie van de vluchtige verbindingen waardoor detectie niet mogelijk is.

In niet geconcentreerde extracten van kronen en kelken werden met behulp van de dunnelaagchromatografische scheidingsmethode geen vluchtige stoffen aangetoond. Waarschijnlijk werd een te geringe hoeveelheid materiaal voor het maken van de extracten gebruikt.

Konklusie

Hoewel het met de TAS-methode mogelijk is verschillen tussen soorten en hun kruisingsprodukten aan te geven, blijft het een arbitraire zaak om alleen op grond van de gelopen afstand vanaf het opbrengpunt te besluiten of de stoffen dezelfde zijn. Wellicht was een qualitatieve beoordeling van de vluchtige verbindingen in kronen en kelken mogelijk geweest wanneer met het loopmiddel hexaan/ether/petroleumether meer chromatogrammen van R.serotinus en R.minor gemaakt waren.

4.1.2. Enkele halfparasieten uit Midden-Europa

R.minor en R.antiquus, afkomstig van verschillende populaties in Zwitserland vertonen enige overeenkomst wat betreft de vluchtige verbindingen in de kronen (Fig. 12). Tenminste 10 verbindingen worden op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen van deze halfparasieten aangetroffen.

Kronen van hybriden van R.minor x R.aristatus leveren vrijwel dezelfde vluchtige stoffen op als de moederplant kronen (Fig. 13b). In chromatogrammen van kronen van R.aristatus (Fig. 14) van verschillende populaties zijn niet altijd dezelfde verbindingen terug te vinden. Planten van de standplaatsen Alp Grüm en Bernina, wei 1 vertonen de grootste overeenkomst en in iets mindere mate blijken de vluchtige verbindingen terug te vinden in planten uit Ardez.

De chromatogrammen van kronen van R.alectorolophus (Fig. 15), afkomstig uit Davos, laten verschillen zien tussen vluchtige verbindingen van kronen van planten a) van een andere vindplaats (populatie) en b) waarvan de kronen verschillend getint zijn, maar van dezelfde vindplaats (populatie). Tocht treden ook verschillen op tussen kronen met dezelfde beschrijving, zoals uit Fig. 15 blijkt voor de lichte vorm van R.alectorolophus uit Davos.

In de eerste plaats viel in de chromatogrammen van soorten uit het geslacht Pedicularis een wat forse terpenen vlek op terwijl ook het aantal van elkaar te onderscheiden terpenen groter is dan bij de onderzochte soorten uit het geslacht Rhinanthus.

De grootste overeenkomst in vluchtige verbindingen bestaat tussen kronen van P.recutita, P.foliosa en P.tuberosa (Fig. 16). Zoals te verwachten, is de overeenkomst in vluchtige verbindingen het grootst bij planten van dezelfde soort, zoals voor P.tuberosa in Fig. 16 duidelijk blijkt.

Kruisingsprodukten of planten van vermoedelijke kruisingen van soorten uit het geslacht Pedicularis hebben in hun kronen weinig overeenkomstige verbindingen van de vader- of moederplant (Fig. 17).

Bij planten van dezelfde populatie uit het geslacht Melampyrum bestaat veel overeenkomst in vluchtige verbindingen in zowel de kronen als kelken (Fig. 18). De planten uit Crusch zijn duidelijk afwijkend van de Nolle-planten en daarbij is de overeenkomst tussen de vluchtige verbindingen in de kronen van de Crusch en Nolle-planten minder groot dan tussen de vluchtige verbindingen uit de kelken.

4.2. Gaschromatografisch onderzoek

De gaschromatogrammen van de onderzochte kronen en kelken van R.serotinus, R.minor en hybriden zijn aanwezig in het Laboratorium voor Plantenoecologie te Haren.

In de Fig. 19 en Fig. 20 zijn reprodukties van 4 gaschromato-

grammen opgenomen. Zoals ondermeer uit Fig. 19 blijkt worden in kelken meer vluchtige verbindingen aangetroffen dan in kronen. Uit vergelijking van de chromatogrammen van kronen van R.serotinus en R.minor (Fig. 20 a en b) blijkt dat R.minor minder vluchtige heeft.

In Tabel 13 zijn lage en hoge pieken aangegeven die in de chromatogrammen van kronen van R.serotinus, R.minor en hybriden werden onderscheiden. In de eerste 10 minuten en na ongeveer 40 minuten na inspuiting in de gaschromatograaf traden vrij veel onregelmatigheden op en pieken die in deze perioden vielen werden niet in Tabel 13 opgenomen.

In vrijwel alle chromatogrammen werden alkanen aangetroffen (Tabel 14). Bij R.minor werden in relatief hoge frequentie de alkanen $C_{14}H_{30}$, $C_{15}H_{32}$, $C_{17}H36$, $C_{21}H_{44}$, $C_{22}H_{46}$ en $C_{23}H_{48}$ gevonden, terwijl bij R.serotinus de alkanen $C_{16}H_{34}$, $C_{17}H_{36}$, $C_{19}H_{40}$ en $C_{21}H_{44}$ relatief vaak in de chromatogrammen voorkwamen. R.minor verschilt vooral van R.serotinus door het vrijwel afwezig zijn van de alkanen $C_{18}H_{38}$, $C_{19}H_{40}$ en $C_{20}H_{42}$. De hybriden vertonen een iets ander patroon dan de beide oudertypen; zij worden vooral gekenmerkt door het vrijwel ontbreken van $C_{17}H_{36}$ en de geringe frequentie waarmee de alkanen $C_{13}H_{28}$ en $C_{24}H_{50}$ werden aangetroffen (Tabel 14).

Teneinde een vergelijking tussen de vluchtige verbindingen van kronen van R.minor, R.serotinus en hun hybriden te kunnen maken werden de lage en hoge pieken in de chromatogrammen (Tabel 13) opgeteld. Daarbij werd een lage piek de waarde 2 toegekend en een hoge piek de waarde 5. Het aantal pieken in de chromatogrammen van de R.minor-,R.serotinus- en hybride-groep staat vermeld in Tabel 15. Vooral bij de hybriden komen veel (kleine) pieken voor. Door het weglaten van kleine pieken die slechts éénmaal voorkwamen in de chromatogrammen van één groep, ontstond Fig. 21. In deze figuur valt de geringe overeenkomst op van de hybriden met R. minor en met R.serotinus. Het aantal overeenkomstige pieken tussen de drie

onderscheiden groepen is vermeld in Tabel 16. Vooral een groot aantal van de vluchtige verbindingen in de kronen van R.minor zijn terug te vinden in kronen van R.serotinus of de hybriden.

4.3. Massaspectrometrisch onderzoek

Van een extract van Rhinanthus serotinus werden met behulp van de massapsectrometer chromatogrammen gemaakt, waarna van enkele stoffen, die als vrij scherpe pieken in de gaschromatogrammen voorkwamen, massaspectra werden opgenomen. De originele gaschromatogrammen met de bijbehorende massaspectra zijn in het bezit van de afdeling Plantenoecologie te Haren. Afbeeldingen van een aantal gaschromatogrammen en enkele massaspectra, waarvan de namen van de stoffen achterhaald konden worden, zijn in dit verslag opgenomen. Fig. 22 heeft het gaschromatogram van een monster van het extract van 1 μl, waarin veel vertontreiniging zit. In dit monster werden 4 (bekende) verbindingen gevonden. Hun massaspectra en namen zijn in Fig. 23 weergegeven.

Na herhaalde filtratie en extractie van de vloeistof werd opnieuw een monster, nu 0,2 μl, in de massaspectrometer ingespoten. Het resultaat hiervan wordt weergegeven in Fig. 24. Fig. 25 a en b geven de "staart" van het gaschromatogram van Fig. 24 weer. Op deze chromatogrammen (Fig. 25 a en b) is een zeer regelmatige opeenvolging van pieken te zien, een karakteristiek beeld voor een alkanenreeks. Met behulp van massaspectra werden deze alkanen ($C_{19}H_{40}$ t/m $C_{26}H_{54}$), met hun vertakte alkanen, met zekerheid vastgesteld.

IV. Diskussie

Het verloop van het suikergehalte gedurende de dag in Rhinanthus serotinus en in hybrideplanten vertoont een opvallende piek omstreeks 11 uur in de morgen. Deze stijging van het suikergehalte loopt parallel met een verhoogd nektaraanbod, zoals dat ook door Stockmann (1975) voor Rhinanthus sp. werd gevonden. De verhoogde aktiviteit van hommels die juist in de ochtenduren nektar verzamelen (Free, 1955 en Stockmann, 1975) kan beschouwd worden als een aanpassing aan dit verloop van concentratie en aanbod.

Een grote variatie in het suikergehalte werd zowel bij R.minor, R.serotinus als de hybriden gevonden. Deze variatie was te verwachten aangezien tijdens het aftappen van de nektar geen rekening werd gehouden met het verloop van de schommelingen in de suikerconcentratie. met andere woorden er werd niet op hetzelfde uur afgetapt. In de variaties die gevonden worden binnen een soort spelen, afgezien van eventuele populatieverschillen, factoren zoals bodemvochtigheid, luchtvochtigheid en temperatuurniveau ten tijde van het aftappen van de nektar een rol (Huber, 1956).

Wykes (1952) geeft aan dat hogere suikerconcentraties over het algemeen beter gewaardeerd worden door bijen. Bijen blijken zelfs suikerconcentraties lager dan 5% te mijden (Barker & Lehner, 1976). Gemiddeld heeft R.serotinus een iets hoger suikergehalte dan R.minor en dit leidt mogelijk tot de voorkeur van hommels voor R.serotinus (Kwak, 1978). Een hoger suikergehalte bij R.serotinus zou bovendien overeenstemmen met het idee dat een langere kroonbuislengte gepaard gaat met hogere suikergehalten (Macior, 1975). Alleen langtongige hommels kunnen deze nektar bereiken (afgezien van korttongige nektardieven, Brian, 1957; Kwak, 1977) en mogelijk gaat de voorkeur van deze hommelsoorten ook uit naar hoge suikerconcentraties.

Kwak (1978) wees reeds op het feit dat de voorkeur van hommels ook samen zou kunnen hangen met de samenstelling van de nektar.

R.serotinus en R.minor hebben wel dezelfde suikers in de nektar, maar de verhouding ligt anders. Wykes (1952) vindt voor bijen een voorkeur voor sucrose (S) > fructose (F) > glucose (G). In mengverhoudingen van deze drie suikers werd vooral GFS = 1 : 1 : 1 hoog gewaardeerd, terwijl GFS = 1 : 1 : 2 iets minder en GFS = 1 : 2 : 1 het minst gewaardeerd werd. De samenstelling van de R.minor-nektar komt overeen met juist die samenstelling welke, althans door bijen, het minst gewaardeerd wordt, terwijl R.serotinus vanwege zijn samenstelling en hoge sucrose-waarden beter in de markt zal liggen. In nektar van veel door hommels bezochte soorten zoals Trifolium pratense en Epilobium angustifolium werd een overeenkomstige verhouding van de drie belangrijkste suikers als aangetroffen in R.serotinus, aangetoond (Battaglini c.s., 1973). Hybriden-nektar zou op grond van zijn samenstelling ook weinig door hommels gewaardeerd moeten worden; anderzijds mag verwacht worden dat de hybriden vanwege het vrij hoge suikergehalte in de nektar toch wel graag door hommels bezocht worden.
Hieruit mogen we konkluderen dat R.minor, door èn het lagere suikergehalte èn de verhouding van de suikers in de nektar het minst gewaardeerd zal worden door nektar verzamelende hommels.

Mogelijk hangt de voorkeur van hommels voor sucrose (met daarnaast fructose als belangrijkste suiker) samen met hun vliegmethodiek. Loh & Heran (1970) vonden dat bijen met sucrose een kortere afstand vliegen dan met fructose en glucose (abdominaal geinjiceerd) maar dat zij desondanks met sucrose (gekombineerd met fructose) veel sneller kunnen vliegen en dat de pauzes tussen de vliegperioden relatief kort zijn. Als deze regel ook opgaat voor hommels betekent dit dat het verkiezen van R.serotinus-nektar een aanpassing zou kunnen zijn aan het "snelle-vluchten"-maken, waardoor meer vluchten of bezoeken per tijdseenheid mogelijk zijn. Voor R.serotinus zou dit een grotere kans op kruisbestuiving mogelijk maken.

Naast de drie belangrijkste suikers werden bij R.minor vaker dan bij R.serotinus suikers aangetroffen die een verminderde belangstelling voor R.minor kunnen rechtvaardigen. Vogel (1931) merkte op dat lactose smaakloos is, niet gegeten wordt en tot sterfte leidt. Barker & Lehner (1976) toonden aan dat lactose ook giftig is, hoewel de giftigheid teniet gedaan kan worden door een overmaat aan sucrose. Rhamnose, in een enkel geval in R.minor aangetoond, verkort het leven van een bij door òf zijn giftige werking òf door zijn sterische remming op de splitsing van sucrose (Vogel, 1931). Ook bij hybriden werden lactose en rhamnose gevonden. Slechts éénmaal werd lactose bij R.serotinus aangetoond, maar door de hoge sucrosegehalten bij deze soort zal het effekt van de giftige werking van geen betekenis zijn.

Hoewel niet onderzocht, kunnen ook aminozuren in de nektar de voorkeur voor een van beide Rhinanthus-soorten verhogen (Baker & Baker, 1976).

Oude bloemen zullen door het teruglopen van het sucrosegehalte minder bezocht worden. Bij oude bloemen van R.serotinus en P.palustris (Weidmoos) werden verminderde sucrosegehalten gekonstateerd en een dergelijk verschijnsel werd ook door Loper c.s. (1976) bij oude bloemen van citrussoorten opgemerkt.

Nektar van Melampyrum pratense te Huis ter Heide bevatte op 31-05 een hoger fructose dan sucrose gehalte maar de waarden die op 30-05 werden gevonden (GFS = 1 : 4,5 : 6) beantwoorden aan het beeld dat Percival (1961) vond. Ook voor P.palustris en P.sylvatica werden dezelfde waarden gevonden als vermeld door Percival (1961).

Het suikergehalte in de nektar van een aantal halfparasieten uit Midden-Europa varieert sterk en de gemiddelde suikerconcentratie per soort ligt over het algemeen hoger dan die welke bij de Nederlandse halfparasieten werd gevonden. Macior (1975) geeft voor P.verticillata uit de St.Elias Mountains van Canada een gemiddelde waarde van 29,9 % suiker met een spreiding van 24,7-37,5 %. De

uiterste waarden van het suikergehalte van P.verticillata uit de Alpen bedroeg 11,8-68,8, met een gemiddelde van 42,8 %, zodat gemiddeld een meer dan 10 % hoger suikergehalte werd gevonden. Een meer dan 10 % verhoging van het suikergehalte werd door mij ook gevonden voor R.alectorolophus uit de Alpen ten opzichte van het percentage suiker in de nektar van planten van dezelfde soort uit Nederland. Zowel de lange bewaartijd, waardoor water verdampt kan zijn en enzymatische reakties kunnen verlopen als de tijd waarop werd afgetapt kunnen mogelijk een verklaring zijn voor deze hogere suikergehalten in de nektar van de onderzochte halfparasieten uit Midden-Europa.

De buitenlandse soorten bevatten vrijwel allemaal glucose, fructose en sucrose. Het sucrosegehalte is over het algemeen vrij laag, in enkele gevallen ontbreekt deze suiker. Daarnaast werd in vrijwel alle nektar een aantal van de zes onbekende stoffen en soms lactose en rhamnose aangetoond. Het optreden van de onbekende stoffen, alsmede het lage sucrosegehalte, dat overigens niet werd gevonden bij dezelfde soorten die in Nederland werden afgetapt, doet vermoeden dat er inderdaad enzymatische reakties zijn verlopen waardoor a) het gehalte van fructose en glucose steeg en b) andere suikers en stoffen (bijprodukten) ontstonden.

Volgens Macior (1975) zou P.verticillata uit de St.Elias Mountains van Canada geen glucose bevatten. Bij P.verticillata uit de Alpen werd glucose echter wel aangetroffen. Percival (1961) vermeldt voor R.minor een hoog sucrosegehalte, terwijl fructose en glucose minder, maar in dezelfde mate voorkomen. Dit werd door mij niet bevestigd, noch voor de Nederlandse, noch voor de buitenlandse populaties.

Gegeven de onbetrouwbaarheid van de metingen van de suikergehalten en verhoudingen van de suikers is het niet verantwoord een voorspelling te doen omtrent het bezoekgedrag van hommels ten aanzien van de onderzochte buitenlandse soorten.

Het onderzoek naar de vluchtige verbindingen in Rhinanthus spp. leverde alleen stof op voor het taxonomisch onderscheid tussen de soorten. Ten aanzien van de discriminatie door hommels door een verschil in geurende verbindingen tussen Rhinanthus spp. werden noch met het TAS-, gaschromatografisch of massaspectrometrisch onderzoek verbindingen opgespoord waarvan de werking als geurstof voor het aantrekken van insecten in de literatuur bekend was.

Het TAS-onderzoek blijkt een vrij grove methode te zijn om de soorten te scheiden. Gilissen (1976) beschrijft dat de stijl van bestoven bloemen een rol zou spelen bij geuridentificatie door insecten tijdens het verwelken van de bloem, maar door mij werd voor het bestaan van vluchtige verbindingen in de stijl geen aanwijzingen gevonden.

Gaschromatografische scheiding van de vluchtige komponenten in de kronen leverde verschillen op tussen R.serotinus, R.minor en hun hybriden, zowel naar aard als naar aantal van de aanwezige verbindingen. Voor echter vergaande konklusies uit dit voorlopige onderzoek getrokken kunnen worden is het wenselijk gaschromatografisch onderzoek naar de vluchtige verbindingen voort te zetten om verschillen tussen soorten en hun hybriden zowel quantitatief als qualitatief vast te leggen. Daarbij zal eerst de variatie in populaties van dezelfde soort bepaald moeten worden voordat vruchtbaar onderzoek kan worden verricht aan de hybriden.

Ondanks het feit dat massaspectrometrie in de ogen van de plantenoecoloog veel (bloem)-materiaal vergt is het gebruik van deze methode voor de detectie van vluchtige verbindingen en het aantonen van taxonomische verschillen tussen de Rhinanthus-soorten zeer geschikt en voor het voortzetten van het onderzoek zal dan ook in de allereerste plaats van deze fraaie methode gebruik gemaakt moeten worden.

V. Samenvatting

In 1977 werd onderzoek verricht naar de concentratie en samenstelling van de suikers in de nektar en geurstoffen in de bloemen van Rhinanthus serotinus, R.minor en hun hybriden alsmede enkele halfparasieten uit Nederland en Midden-Europa. Het doel van het onderzoek was tweeledig: in de eerste plaats werd getracht verschillen in samenstelling van de nektar en geurstoffen in de bloemen van Rhinanthus spp. te vinden die het verschil in voorkeur bij hommels zou kunnen verklaren en in de tweede plaats werd onderzocht of de verschillen taxonomisch onderscheid tussen de soorten mogelijk maakten.

Het verloop van de suikerconcentratie over de dag werd bepaald bij hybriden van Rhinanthus serotinus en R.minor uit de proeftuin te Haren en van een populatie van R.serotinus uit Noord-Drente. Er werd gekonstateerd dat het suikergehalte steeg naarmate de temperatuur overdag opliep. Tevens werd een verhoogd suikergehalte en nektar-aanbod in de ochtenduren opgemerkt.

Het suikergehalte bij R.serotinus, R.minor en hun hybriden vertoonde een grote variatie mogelijk als gevolg van het afnemen van de nektar op verschillende tijdstippen van de dag.R.minor had gemiddeld een suikergehalte van 30 % in de nektar, R.serotinus 32 % en de F_1-(R.minor x R.serotinus)-hybriden 31 %.

In de onderzochte ratelaarsoorten werd glucose (G), fructose (F), en sucrose (S) aangetoond en in kleine hoeveelheden lactose, rhamnose en een zes-tal onbekende stoffen. De verhouding van de drie belangrijkste suikers bedroeg bij R.minor : G:F:S = 1 : 2,7 : 0,7; voor R.serotinus G:F:S = 1 : 4,8 : 4,2 en voor de F_1 G:F:S = 1:: 1,6 : 1,1. Bij R.minor en de hybriden werd regelamtig lactose, rhamnose en een aantal van de onbekende stoffen aangetroffen. Onderscheid tussen R.serotinus, R.minor en hun hybriden kon op grond van de verhouding van de suikers in de nektar niet gemaakt worden aangezien R.minor een grote overlapping met R.serotinus te zien gaf.

Drie andere in Nederland voorkomende halfparasieten , Melampyrum pratense, Pedicularis palustris en P.sylvatica vertoonden eveneens een grote variatie in suikerconcentratie. De drie meest voorkomende suikers waren (in volgorde van belangrijkheid) : sucrose, fructose en glucose.

De suikerconcentratie van enkele halfparasieten uit Midden-Europa varieerde van 12-94 %. De drie belangrijkste suikers (G,F en S) waren aanwezig in de 5 onderzochte Rhinanthus-soorten, in 5 van de 7 onderzochte Pedicularis-soorten, in Bartsia alpina en Melampyrum arvense. Tevens werden lactose en rhamnose en een aantal van de zes onbekende stoffen aangetroffen.

Het geurstoffenonderzoek leverde vooral verschillen op die bruikbaar kunnen zijn voor het taxonomisch onderscheid tussen de soorten. Er werden geen stoffen gevonden die geacht kunnen worden van belang te zijn voor de discriminatie van Rhinanthus spp. door hommels. Verder onderzoek met behulp van gaschromatografie is de aangewezen methode om zowel qualitatief als quantitatief verschillen tussen Rhinanthus spp. en hun hybriden vast te leggen.

Suggesties voor verder onderzoek

1) Suikerconcentratie van de nektar.

Vanwege de grote fluctuaties in de suikerconcentratie die gedurende dit onderzoek werden gevonden, is het aan te raden een onderzoek op te zetten waarbij suikerconcentraties in bloemen van Rhinanthus minor en R.serotinus bepaald worden zodanig dat:

a) uit omhulde bloemen in verschillende stadia van de bloei nektar wordt afgetapt;

b) deze bepalingen gedurende 24 uur plaatsvinden (bijv. om het uur);

Bij dit onderzoek zal de luchtvochtigheid en temperatuur bepaald moeten worden.

2) De samenstelling van de suikers in de nektar moet bepaald worden in bloemen van populaties van R.minor en R.serotinus. Het aantal planten waarvan de nektar afgenomen wordt moet zo groot mogelijk zijn terwijl het tijdstip waarop de nektar verzameld wordt bekend moet zijn. Onderzocht zal moeten worden of er gedurende de dag verschillen optreden in de samenstelling van de suikers in de nektar en of er verschillen zijn aan te geven in de samenstelling van de suikers in de nektar van net ontloken tot vrijwel uitgebloeide bloemen.

3) Het onderzoek naar de geurstoffen in bloemen van Rhinanthus spp. zal allereerst voortgezet moeten worden met de massaspectrometer. Voor dit onderzoek zal 10-20 g verse bloemen (liefst allen in hetzelfde stadium van de bloei) verzameld moeten worden. M.M.Kwak gaf aan dat hommels vooral de aanwezigheid van pollen kunnen konstateren en misschien is het aan te bevelen van iedere soort eerst de pollenkorrels op aanwezige vluchtige verbindingen te onderzoeken. Dit voorkomt mogelijk de enorme verontreiniging die ontstaat bij extractie van het bloemmateriaal.

Dankwoord

In de allereerste plaats wilde ik Dr.H.Hendriks van Farmacognosie te Groningen danken voor zijn medewerking die hij gaf voor het onderzoek naar vluchtige verbindingen in halfparasieten. Naast zijn steun was het ook zonder de vele adviezen van de Heren Bos, Smith en Batterman niet gelukt inzicht in de gebruikte methoden te krijgen.

Graag wilde ik de Heer van Hall van het Chemisch Laboratorium van Plantenoecologie te Haren danken voor zijn vele adviezen en hulp bij het aandragen van de chemicaliën.

Zeer veel dank ben ik verschuldigd aan Dr.S.J. ter Borg en Drs.M.M.Kwak die mij tijdens het onderwerp begeleiden en die mij een overgetelijke mooie en leerzame bloemenreis door de Alpen hebben bezorgd.

VI. Literatuur

Bailey, R.W. & E.J.Bourne. 1960. Colour reactions given by sugars and difenylamine-aniline spray reagents on paper chromatograms. J. Chromatogr. 4: 206 - 213.

Baker, I. & H.G.Baker. 1976. Analyses of amino-acids in flower nectars of hybrids en their parents, with phylogenetic implications. New Phytol. 76: 87 - 98.

Barker, R.J. & Y.Lehner. 1976. Galactose, a sugar toxic to honey bees, found in exudate of tulip flowers. Apidologie 7: 109 - 111.

Battaglini Bernardini, M. 1973. Considerazioni sulla frazione glucidica del nettare di 57 specie botaniche dell'Italia centrale. Estratto dagli Annali, F. Agr. Univ. Perugia 28: 233 - 242.

Borg, S.J. ter. 1972. Variability of Rhinanthus serotinus (Schönh.) Oborny in relation to the environment. Ph. D. thesis, R.U.Groningen.

Brantjes, N.B.M. 1976.

Brian, A.D. 1957. Differences in the flowers visited by four species of Bumble-bees and their causes. J.Anim. Ecol. 26: 303-311.

Damonte, A., A.Lombard, M.L.Tourn & M.C.Cassone. 1971. A modified solvent system and multiple detection technique for the seperation and identification of mono- and oligo-saccharides on cellulose thin layers. J. Chromatogr. 60: 203 - 211.

Drent, P.J. 1967. Onderzoek naar de systematiek van Rhinanthus glaber en R.minor. Doctoraal verslag Plantenoecologie, R.U. Groningen.

Faegri, K. & L.van der Pijl. 1966. The principles of pollination

Free, J.B. 1955. The collection of food by bumblebees. Insects Sociaux. 2: 303 - 311.

Fuleki, T. & F.J.Francis. 1967. A new developing solvent for paper chromatography of various phenolic compounds, sugars and amino acids. J. Chromatogr. 26: 404 - 411.

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

Hegi, G. 1974. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Band VI, 1e Teil. 2e Auflage. Carl Hauser Verlag, München.

Hendriks, H. 1974. De vluchtige olie van enkele chemotypen van Mentha suaveolens (Ehrh.) en van hybriden met Mentha longifolia (L.) Hudson. Ph. D. thesis, R.U.Groningen.

Heukels, H. & S.J. van Ooststroom. 1970. Flora van Nederland. Wolters-Noordhof, N.V., Groningen.

Huber, H. 1956. Die Abhängigkeit der Nektarsekretion von Temperatur, Luft und Bodenfeuchtigkeit. Planta 48: 47 - 98.

Jeffrey, D. & J.Arditti. 1969. The seperation of sugars in orchid nectars by thin layer chromatography. Amer. Orchid. Soc. Bull. 1969: 866 - 868.

Kugler, H. 1943. Hummeln als Blütenbesucher. Ergebnisse der Biologie. Springer Verlag. p: 144 - 318.

Kuijer-Feitsma, W. 1977. Hybridisatie en isolatie bij enkele soorten uit het geslacht Rhinanthus. Doctoraal verslag Plantenoecologie, R.U.Groningen.

Kwak, M.M. 1977. Pollination ecology of five hemiparasitic, large-flowered Rhinanthoideae with special reference to the pollination behaviour of nectar-thieving, shorttongued bumblebees. Acta Bot. Neerl. 26: 97 - 107.

Kwak, M.M. 1978. Pollination, hybridization and ethological isolation of Rhinanthus minor and R.serotinus (Rhinanthoideae: Scrophulariaceae) by bumblebees (Bombus Latr.). Taxon 27: 145 - 158.

Loh, W. & H.Heran. 1970. Wie gut können Bienen Saccharose, Glucose, Fructose und Sorbit im Flugstoffwechsel verwerten ? Z. Vergl. Physiol. 67: 405 - 432.

Loper, G.M., D.W.Waller & R.L.Berdel. 1976. Effect of flower age on sucrose content in nectar of citrus. HortScience 11: 416 - 417.

Macior, L.W. 1975. The pollination ecology of Pedicularis (Scrophulariaceae) in the Yukon territory. Amer. J. Bot. 62: 1065 - 1072.

Manning, A. 1956. The effect of honeyguids. Behaviour 9: 114 - 139.

Němec, J., K.Kefurt & J.Jarý. 1966. Thin layer chromatography of aldonic acid lactones, aldoses and alditols. J.Chromatogr. 26: 116 - 120.

Pastuska, G. 1961. Untersuchungen über die qualitative und quantitative Bestimmung der Zucker mit Hilfe der Kieselgelschicht-Chromatographie. Z.Anal.Chem. 179:427-429.

Partridge, S.M. 1948. Filter-paper partition chromatography of sugars. Biochem. J. 42: 238 - 248.

Percival, M.S. 1961. Types of nectar in Angiosperms. New Phytol. 235 - 281.

Pifferi, P.G. 1965. Improved thin layer chromatographic seperation of hexoses and pentoses using Kieselgel-G. J. Chromatogr. 37: 925.

Sterneck, J. von. 1901. Monographie der Gattung Alectorolophus. Abhandlungen der Zool. Botan. Ges., Wien.

Stockmann, L. 1975. Bestuiving Rhinanthus sp. door hommels. Doctoraalverslag Plantenoecologie, R.U.Groningen.

Vogel, B. 1931. Über die Beziehungen zwischen Süssgeschmack und Näh-rwert von Zuckern bei der Honigbiene. Z. Vergl. Physiol. 14: 273 - 347.

Wykes, G.R. 1952. The preference of honeybees for solutions of various sugars which occur in nectar. J. Exp. Biol. 29: 511 - 518.

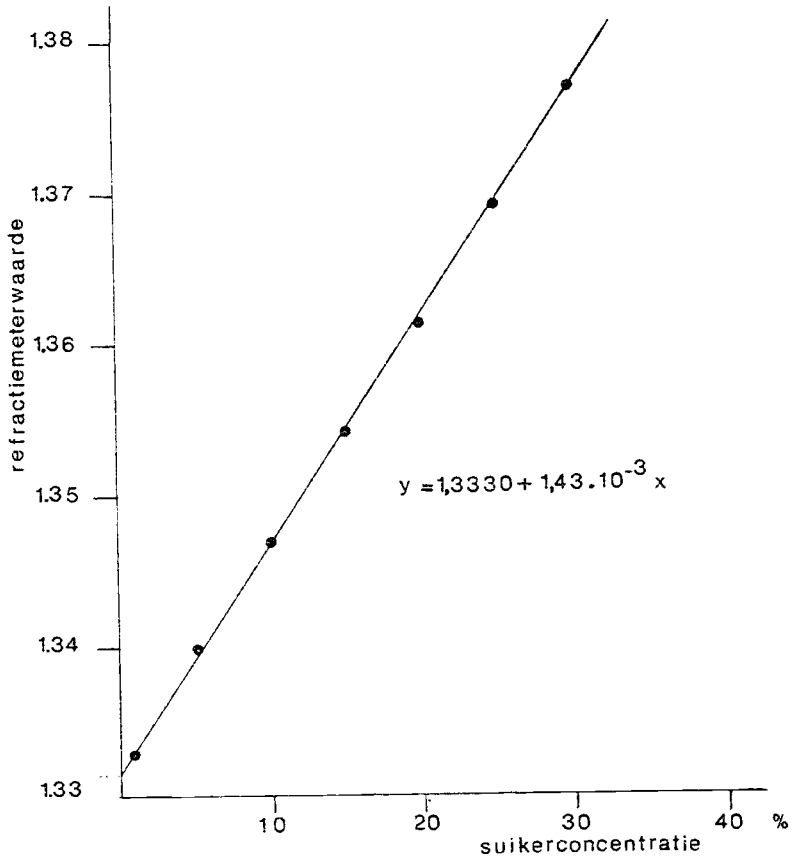


Fig. 1.
Relatie tussen suikerconcentratie (in %) van glucose (of fructose) en refractiemeterwaarde.

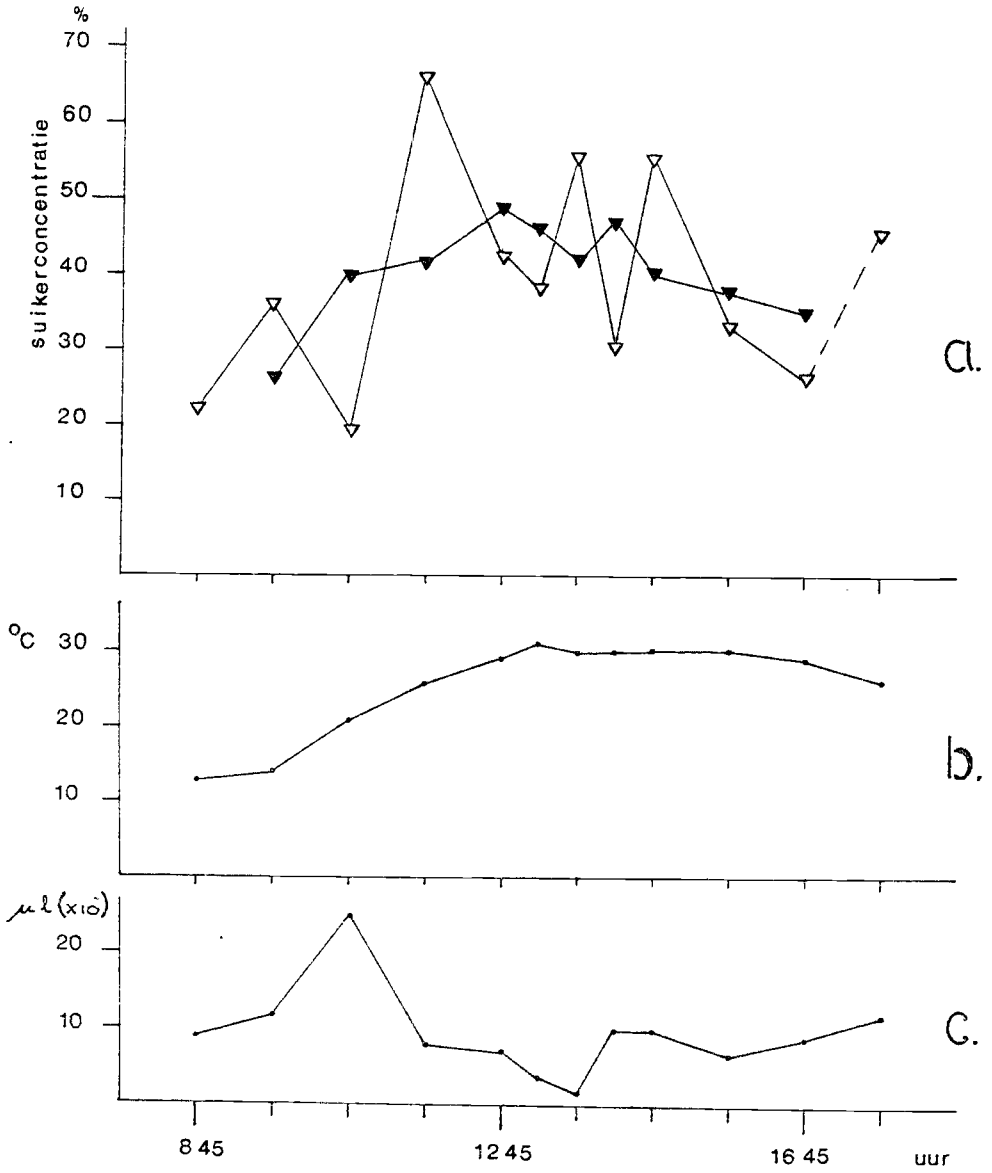


Fig. 2. Suikerconcentratie en nektaraanbod in een populatie van R.serotinus van de Kimmelsberg (Zeegse) en temperatuurverloop op 23 augustus 1977.

a. Gemiddeld verloop (▽) en glijdend gemiddelde (▼) van de suikerconcentratie (in %)

b. Temperatuurverloop (in °C)

c. Gemiddeld nektaraanbod (in µl x 10)(10-20 bloemen/bepaling)

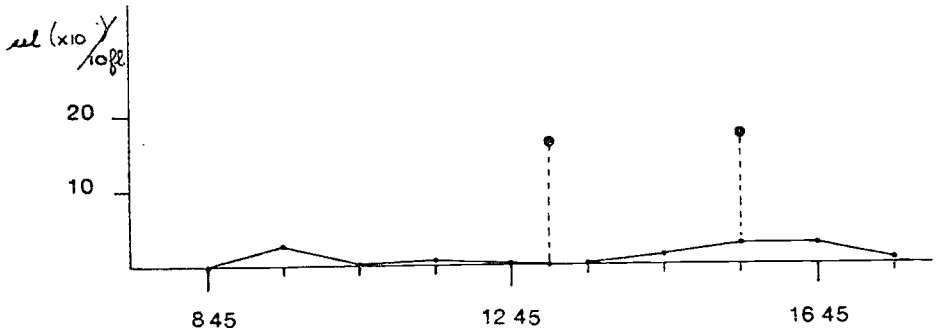


Fig. 3.
Gemiddeld nektaraanbod (in µl x 10; per 10 bloemen) om 18.45 uur, bij een tweede afname van de nektar van planten van een R.serotinus-populatie, die overdag (van 8.45 tot 17.45) werd afgetapt op de Kimmelsberg (Zeegse) op 23 augustus 1977.

- • nektaraanbod van door vitrage omhulde bloemen
- ● nektaraanbod van met plastic omhulde bloemen

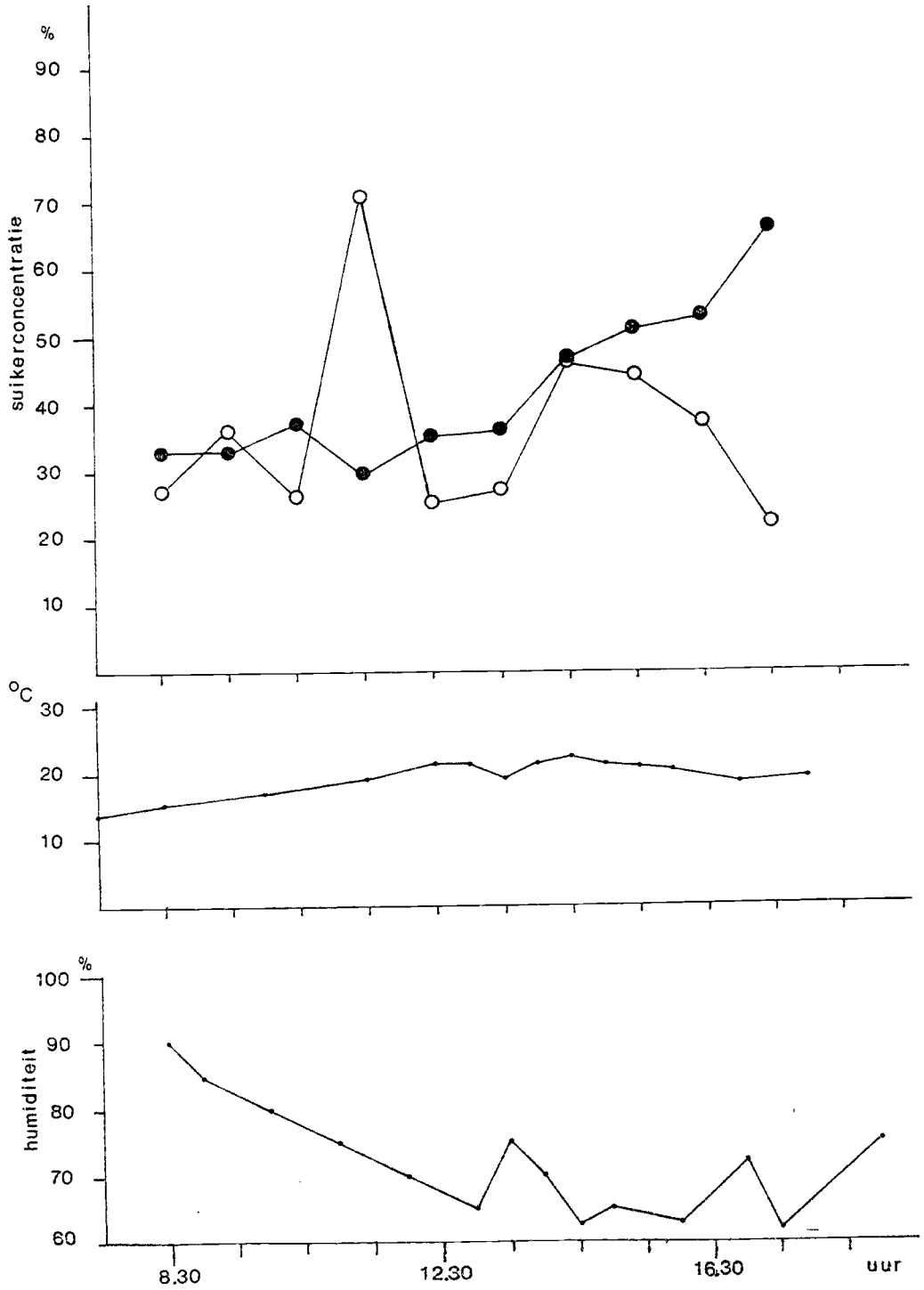


Fig. 4.

Verloop van de suikerconcentratie (in %) in de nektar van Rhinanthus-hybriden en temperatuur- en humiditeitsverloop in de proeftuin te Haren op 7 september 1977.

● F_1-hybride x R.serotinus (10-20 bloemen/bepaling)

○ F_1-hybride x onbekend (10 -20 bloemen/ bepaling)

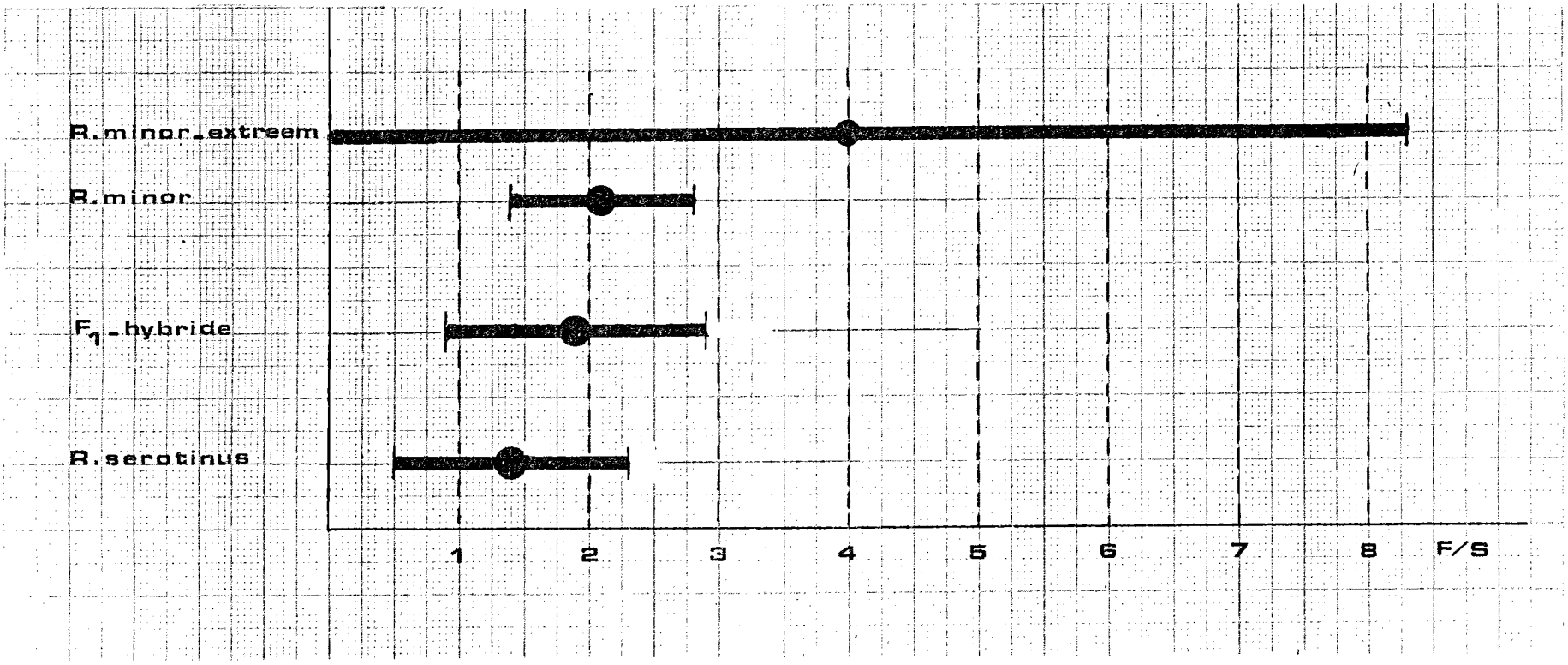


Fig. 5.

Gemiddelde en s.d. van de waarde fructose/sucrose (F/S) (waarbij de glucose waarde = 1) in de nektar van Rhinanthus serotinus, R.minor (R.minor-extreem, zie Tabel 12) en F_1-hybriden (R.minor x R.serotinus), afkomstig van populaties uit Noord-Nederland in 1977.

De waarden van R.minor extreem worden als cluster in Bijlage Fig. 5 teruggevonden en enkele "extreme" waarden verspreid (zie M_3K_4 en M_4A_4).

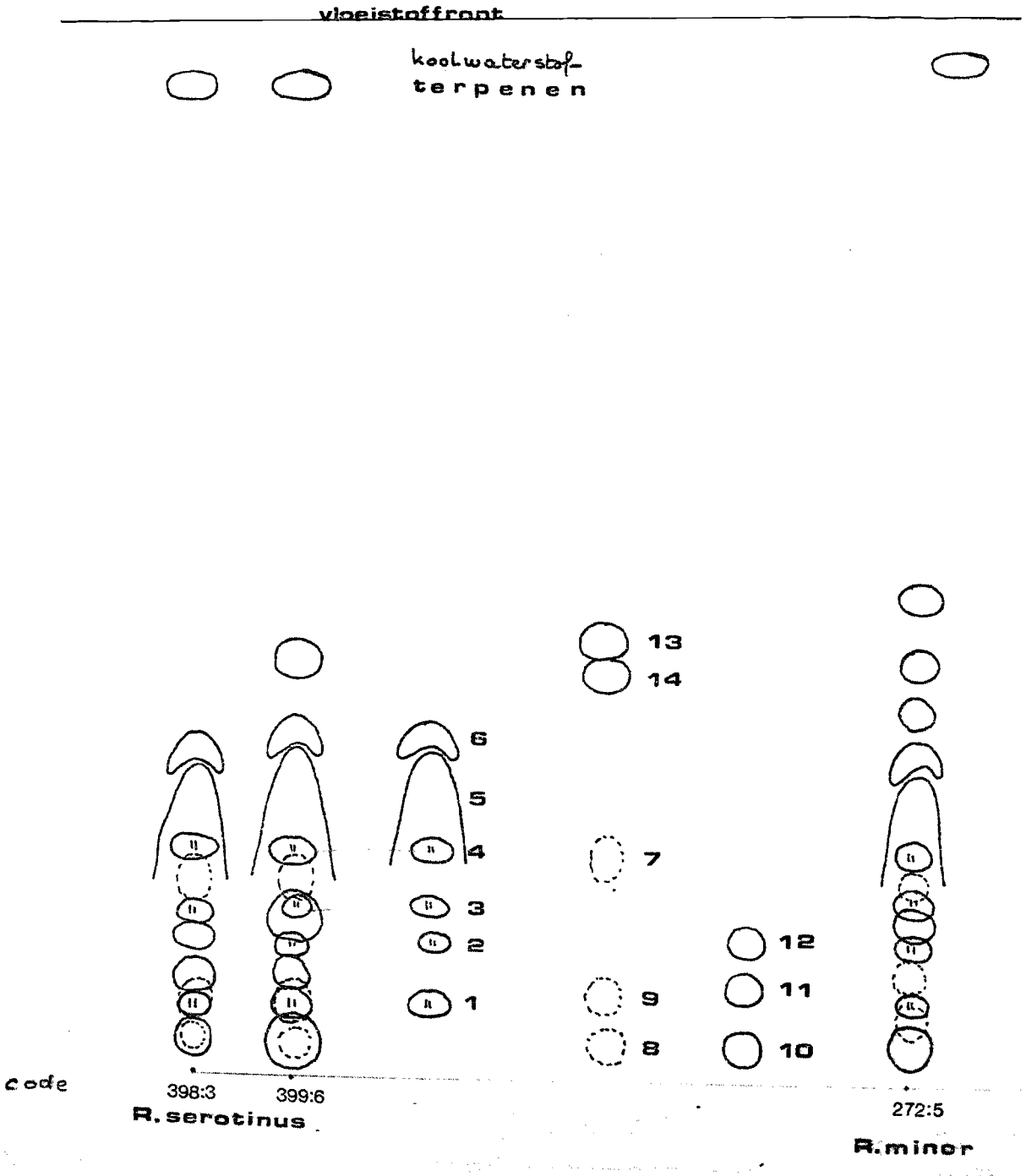


Fig. 6. Vluchtige verbindingen in kronen van R.serotinus en R.minor, afkomstig uit de proeftuin te Haren.

De vluchtige verbindingen werden met behulp van de TAS-methode op dunnelaagplaten gebracht en gescheiden met hexaan/ether (80:20,v/v). De cijfers 1 t/m 14 corresponderen met vluchtige verbindingen op de dunnelaagplaat. De vluchtige verbindingen, aangegeven met de cijfers 5, 6, 7, 13, 14 en de terpenen werden met het sproeireagens (Tabel 4) aangetoond.

(11) vluchtige verbindingen aangetoond met UV 365

○ (overige) vluchtige verbindingen aangetoond met UV 254

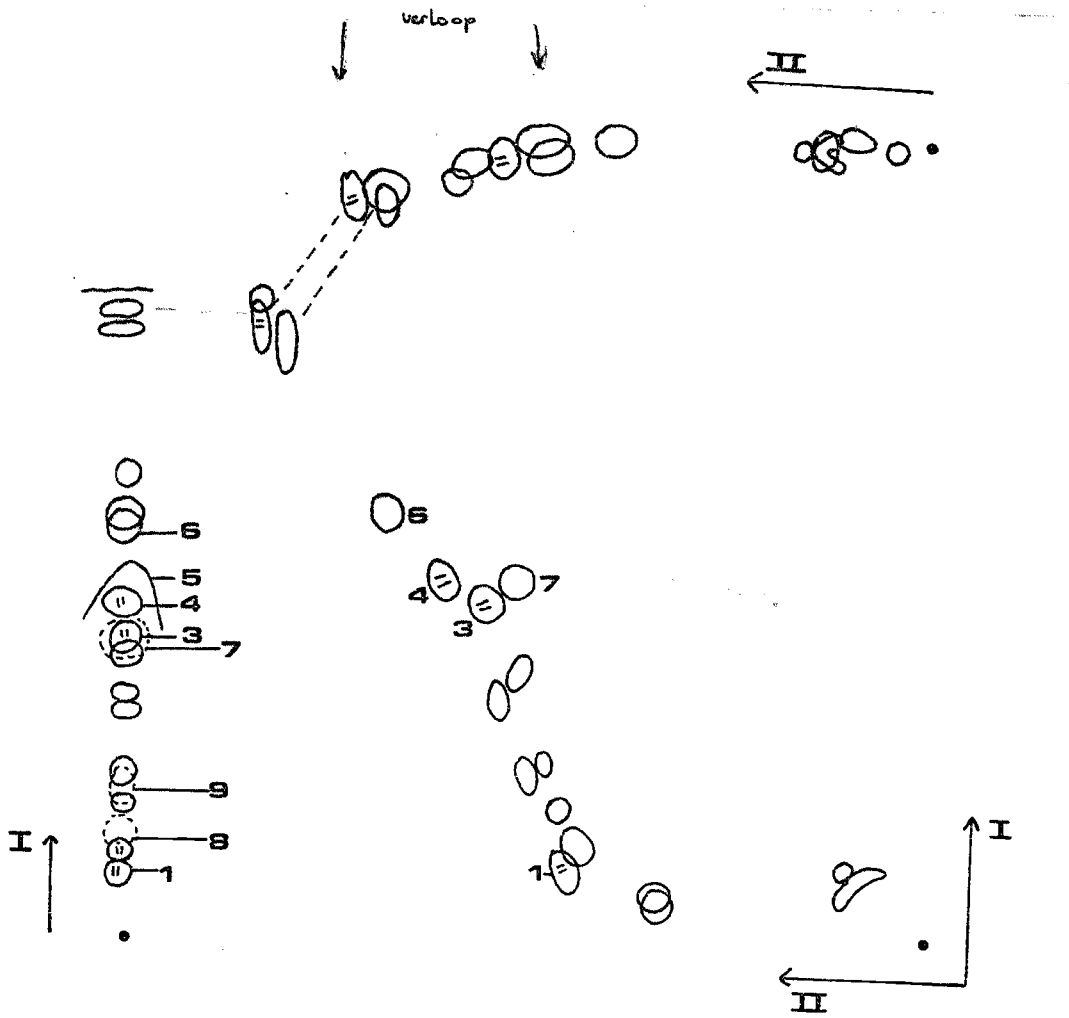
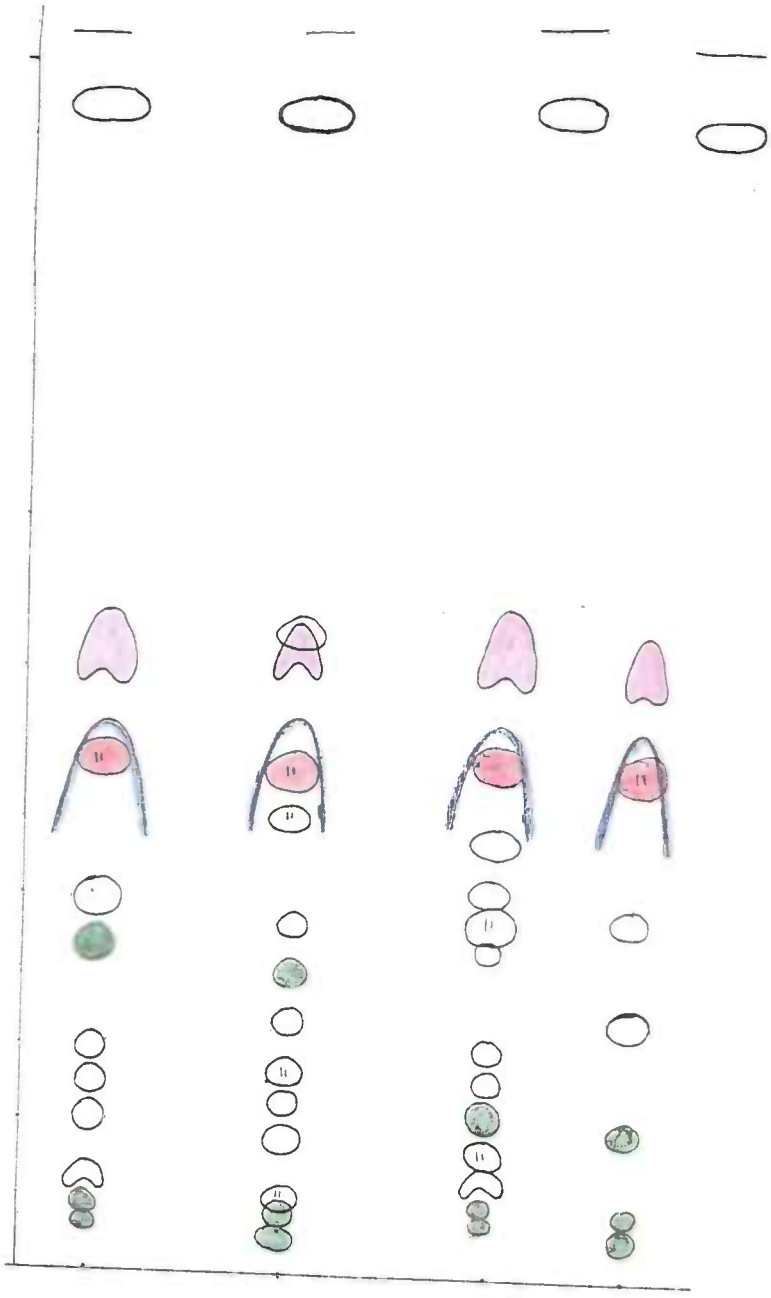


Fig. 7. Vluchtige verbindingen in kronen van R.serotinus, gescheiden met behulp van de TAS-methode en TLC.
I : 1e looprichting op de plaat met hexaan:ether(80:20,v/v)
II: 2e looprichting op de plaat met methanol
De cijfers geven vluchtige verbindingen aan,zoals in Fig. 6 aangegeven.

• opbrengpunt van de vluchtige verbindingen



proeftuinnr.: 398:2 kroon | 270:1 kroon | 398:2 kelk | 270:1 kelk

Fig. 8. Vluchtige verbindingen in kronen en kelken van R.serotinus (398:2) en R.minor (270:1), gescheiden met TLC, hexaan: ether:petroleumether. Vluchtige verbindingen die gekleurd zijn, zijn op ongeveer op dezelfde plaats in de overige chromatogrammen aan te treffen.

(II) met UV 365 aangetoond
(O) met UV 254 aangetoond
) behalve terpenen (met sproeireagens) (Tabel 4)

de chromatogrammen zijn overgenomen van verschillende platen

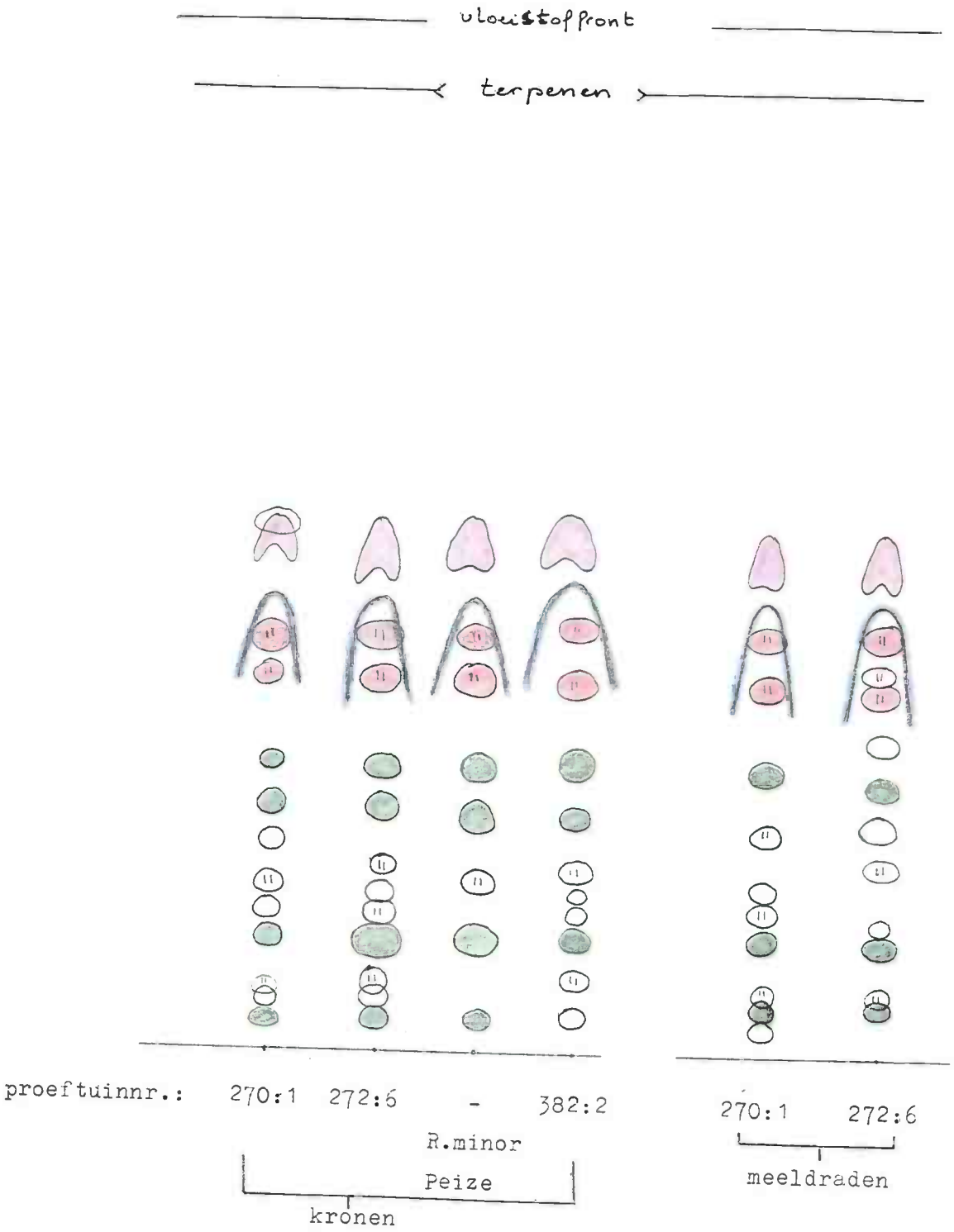


Fig. 9. Vluchtige verbindingen in kronen en meeldraden van R.minor. Gekleurde vluchtige verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

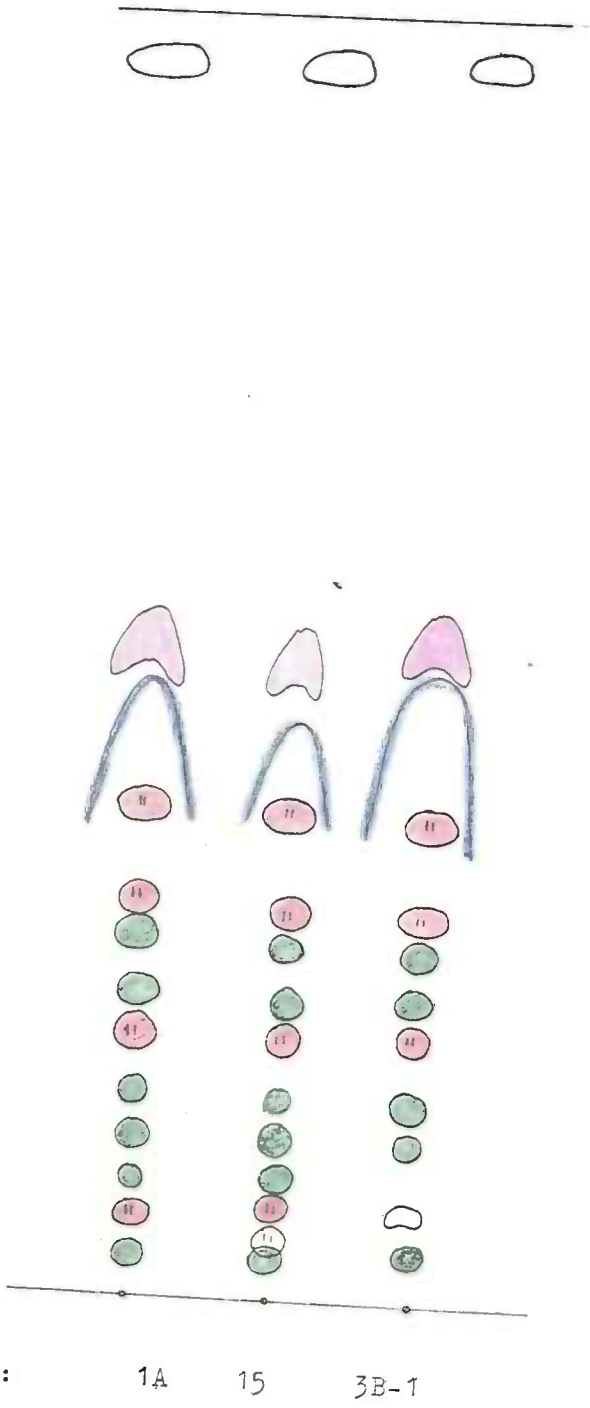


Fig. 10. Vluchtige verbindingen in kelken van R.minor x F_1. (F_1 R.minor x R.serotinus). Gekleurde vluchtige verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

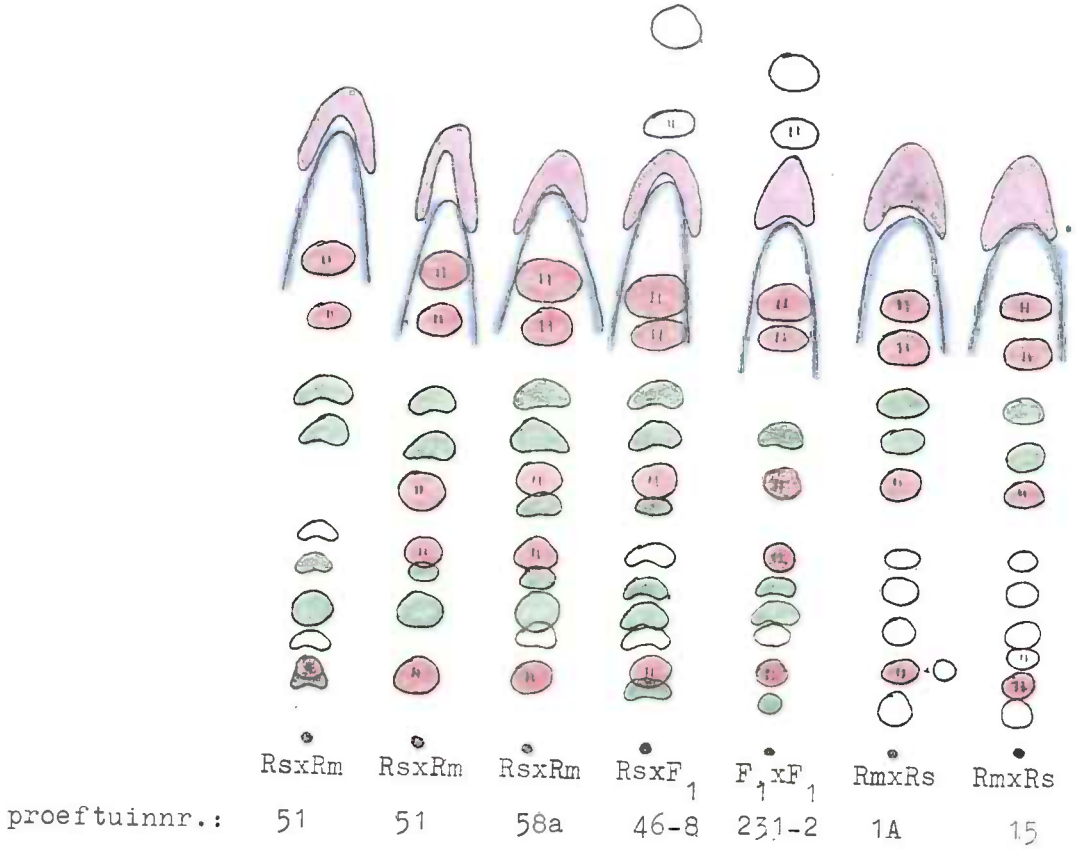


Fig. 11. Vluchtige verbindingen in kronen van hybriden van R.minor en R.serotinus uit de proeftuin te Haren. Gekleurde vluchtige verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

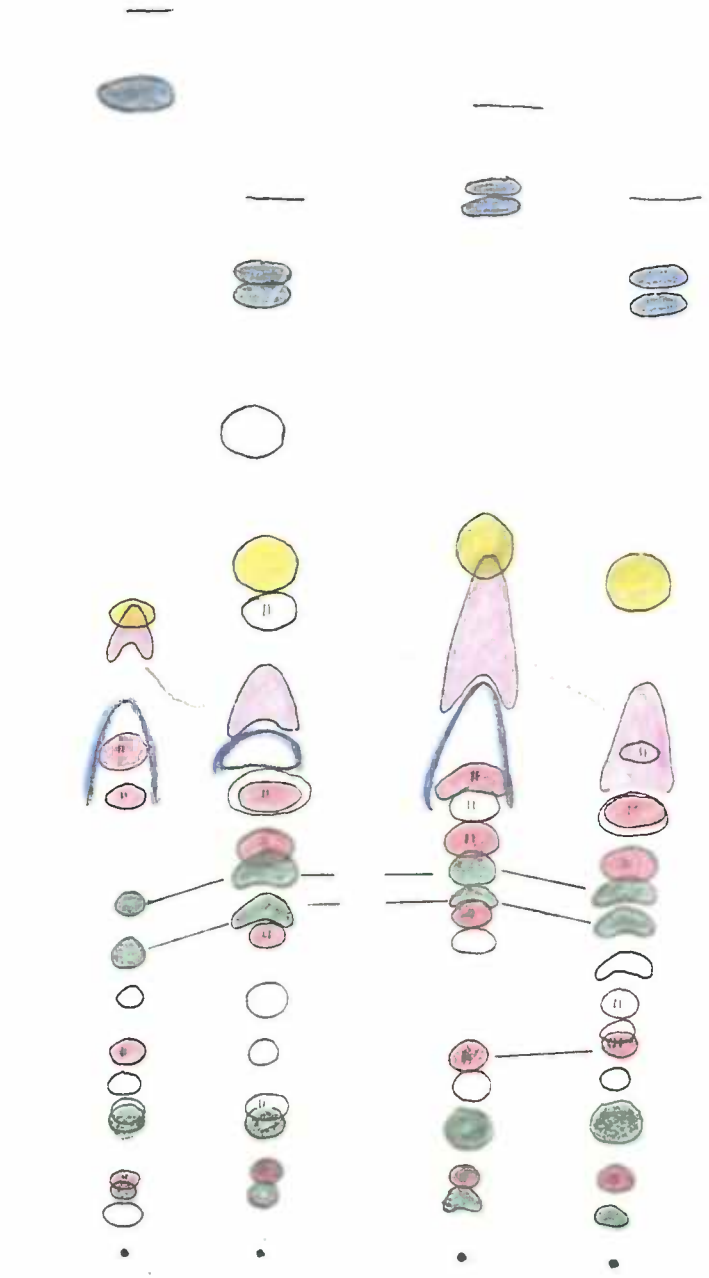
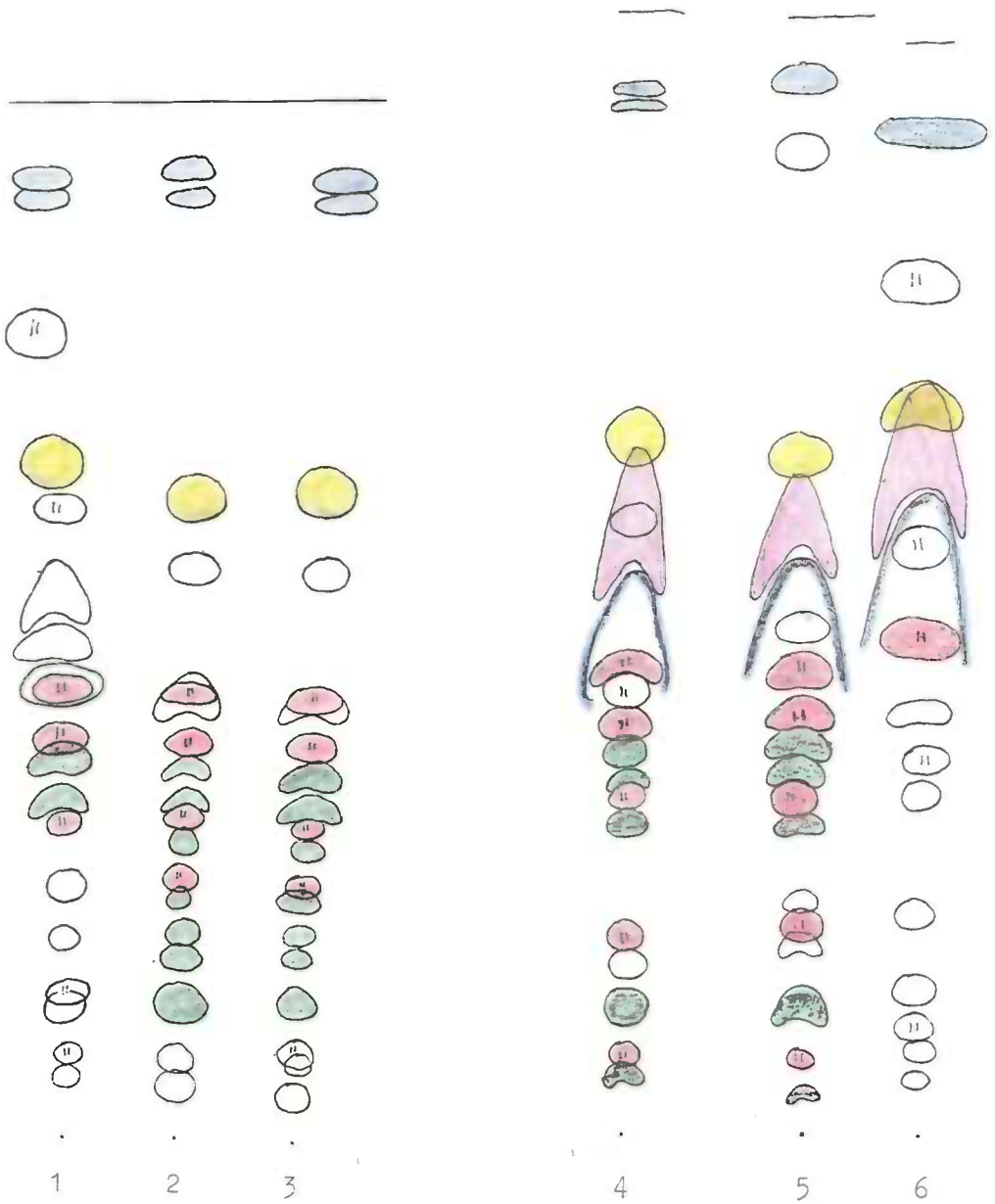


Fig. 12. Vluchtige verbindingen in kronen van R.minor (Rm) en R.antiquus, uit Nederland en Midden-Europa.
Gekleurde vluchtige verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.
De chromatogrammen zijn overgenomen van verschillende platen.



a. 1.R.minor, Pardatsch
2.P.recutita, wei 1, Bernina
3.P.foliosa, Motta Naluns

b. 4.R.minor, Diavolezza
5.R.minor x R.aristatus, Diavolezza
6.R.aristatus, Diavolezza

Fig. 13 a en b. Vluchtige verbindingen in kronen van soorten en kruisingen van soorten van de geslachten Rhinanthus en Pedicularis uit Midden-Europa.
Gekleurde vluchtige verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

De chromatogrammen zijn overgenomen van verschillende platen(dit geldt ook voor alle volgende figuren)

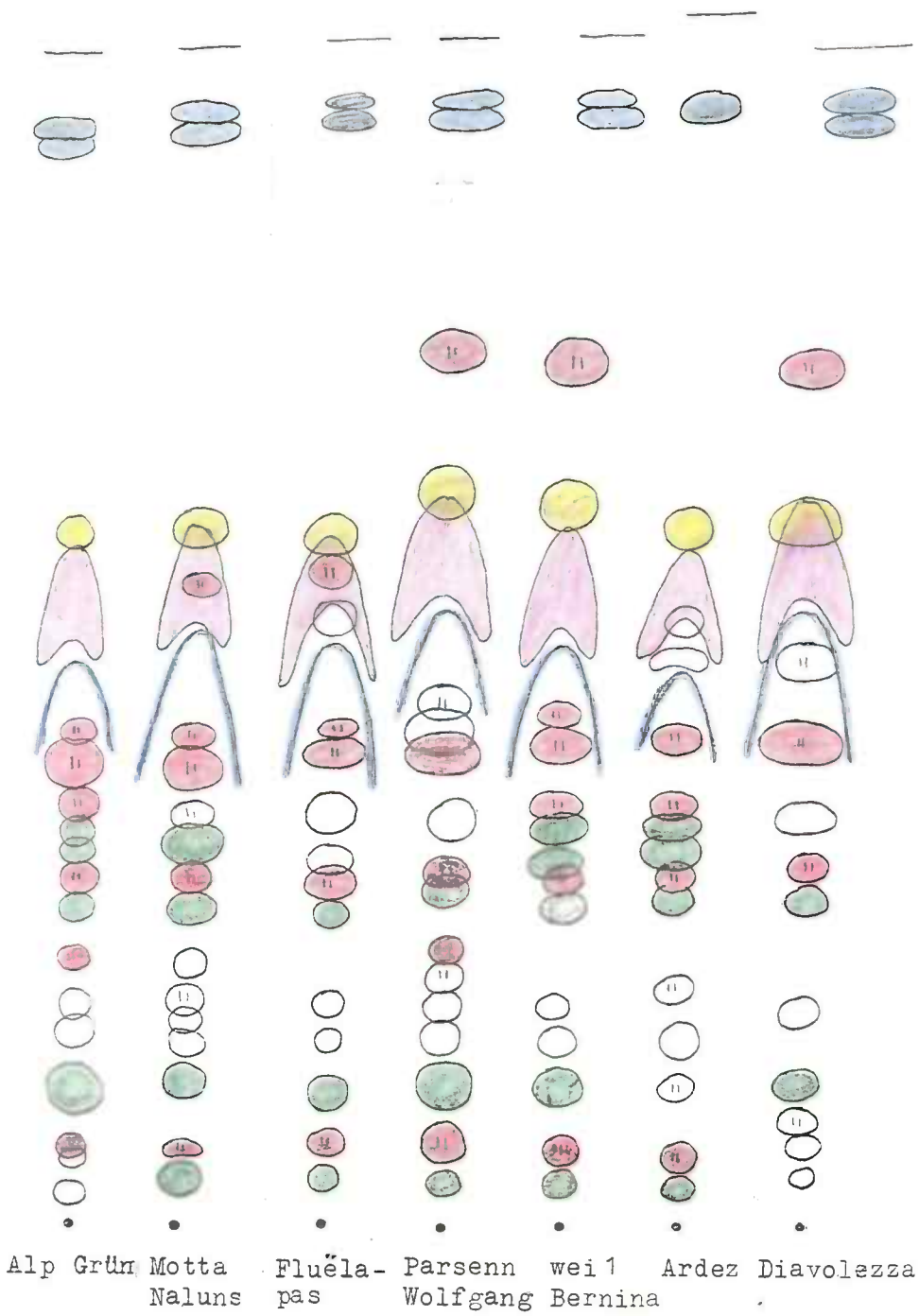


Fig. 14. Vluchtige verbindingen in kronen van planten van verschillende populaties van R.aristatus uit Midden-Europa (Zwitserland). Gekleurde verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

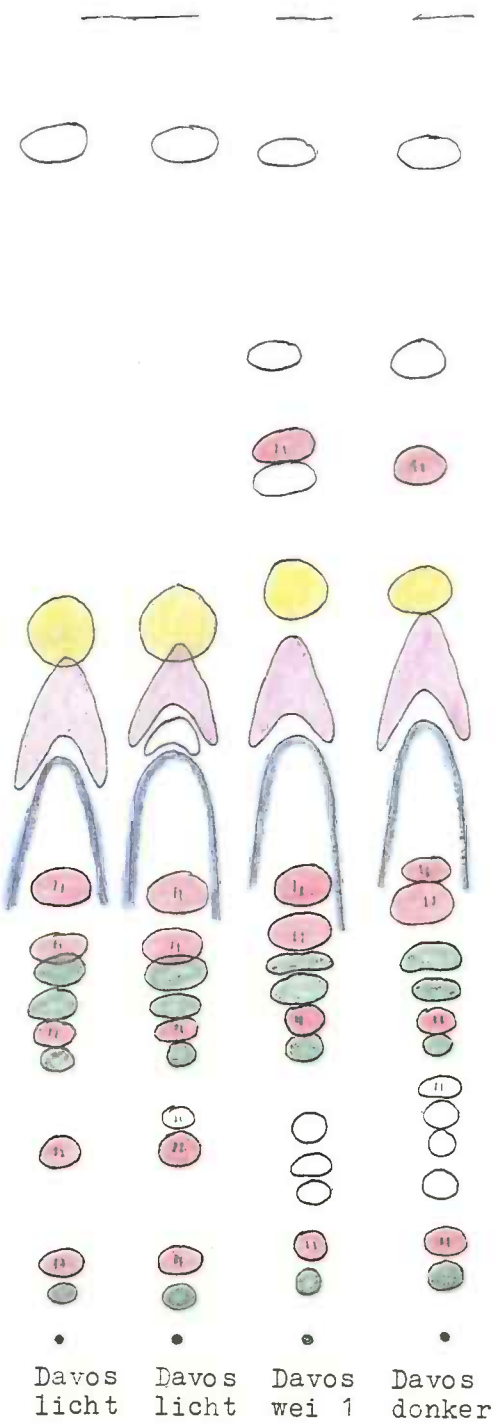


Fig. 15. Vluchtige verbindingen in kronen van R.alectorolophus uit Davos.

Davos-licht : niet afwijkend

Davos-donker: donkerpaars aan het uiteinde van boven- en onderlip.

Gekleurde verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

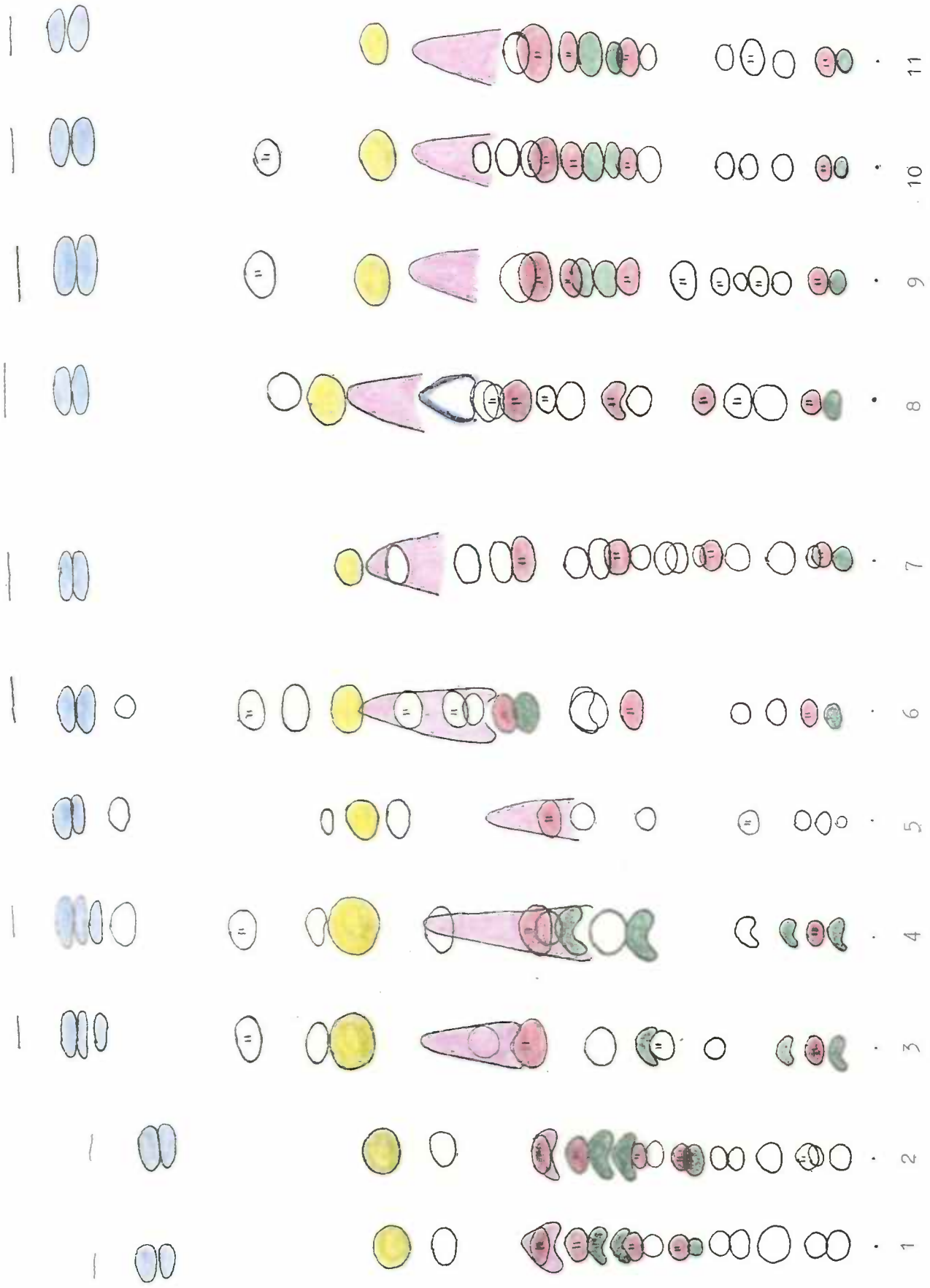
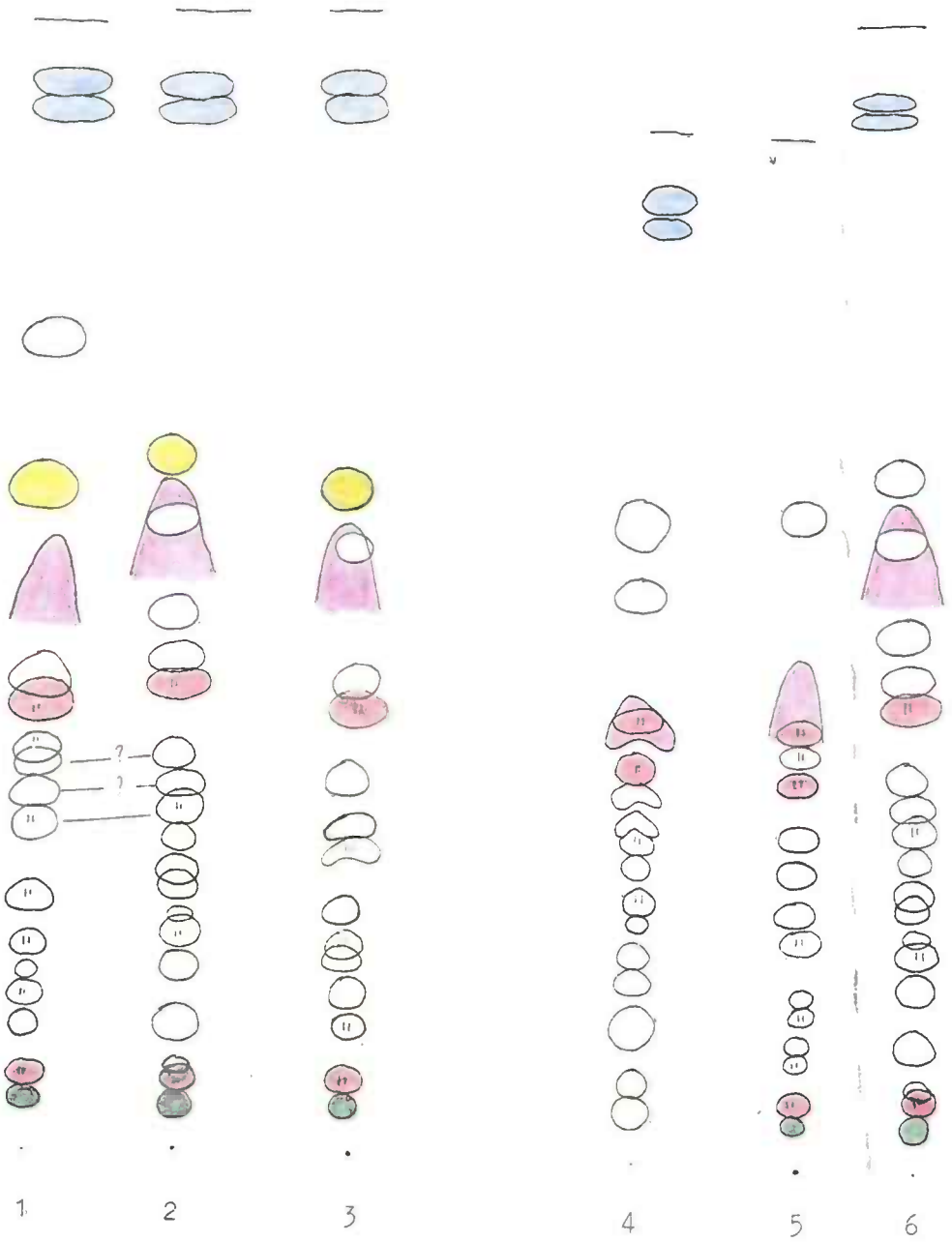

11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1

Fig. 16. Vluchtige verbindingen in kronen van soorten uit het geslacht Pedicularis van verschillende plaatsen uit Midden-Europa. Gekleurde verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

nummer	soort	plaats
1.	P.recutita	Bernina, wei 1
2.	P.foliosa	Motta Naluns
3.	P.kerneri	Fluëlapas
4.	P.kerneri	Alp Grüm
5.	P.palustris	Weidmoos
6.	P.sceptrum-carolinum	Weidmoos
7.	P.rostrato-spicata	Motta Naluns
8.	P.verticillata	Morteratsch
9.	P.tuberosa	Motta Naluns
10.	P.tuberosa	Lagalp
11.	P.tuberosa	Diavolezza

Fig. 17. Vluchtige verbindingen in kronen van soorten en kruisingen van soorten van het geslacht Pedicularis, afkomstig van vindplaatsen in Midden-Europa.
Gekleurde verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomsti plaatsen in de chromatogrammen.



1.P.tuberosa, Motta Naluns

2.P.rostrato-spicata, Motta Naluns

3.P.tuberosa x P.rostrato-spicata, Motta Naluns

4.P.recutita, Bernina, wei 1

5.P.recutita x P.rostrato-spicata (?), Motta Naluns

6.P.rostrato-spicata, Motta Naluns

De chromatogrammen zijn overgenomen van verschillende platen.

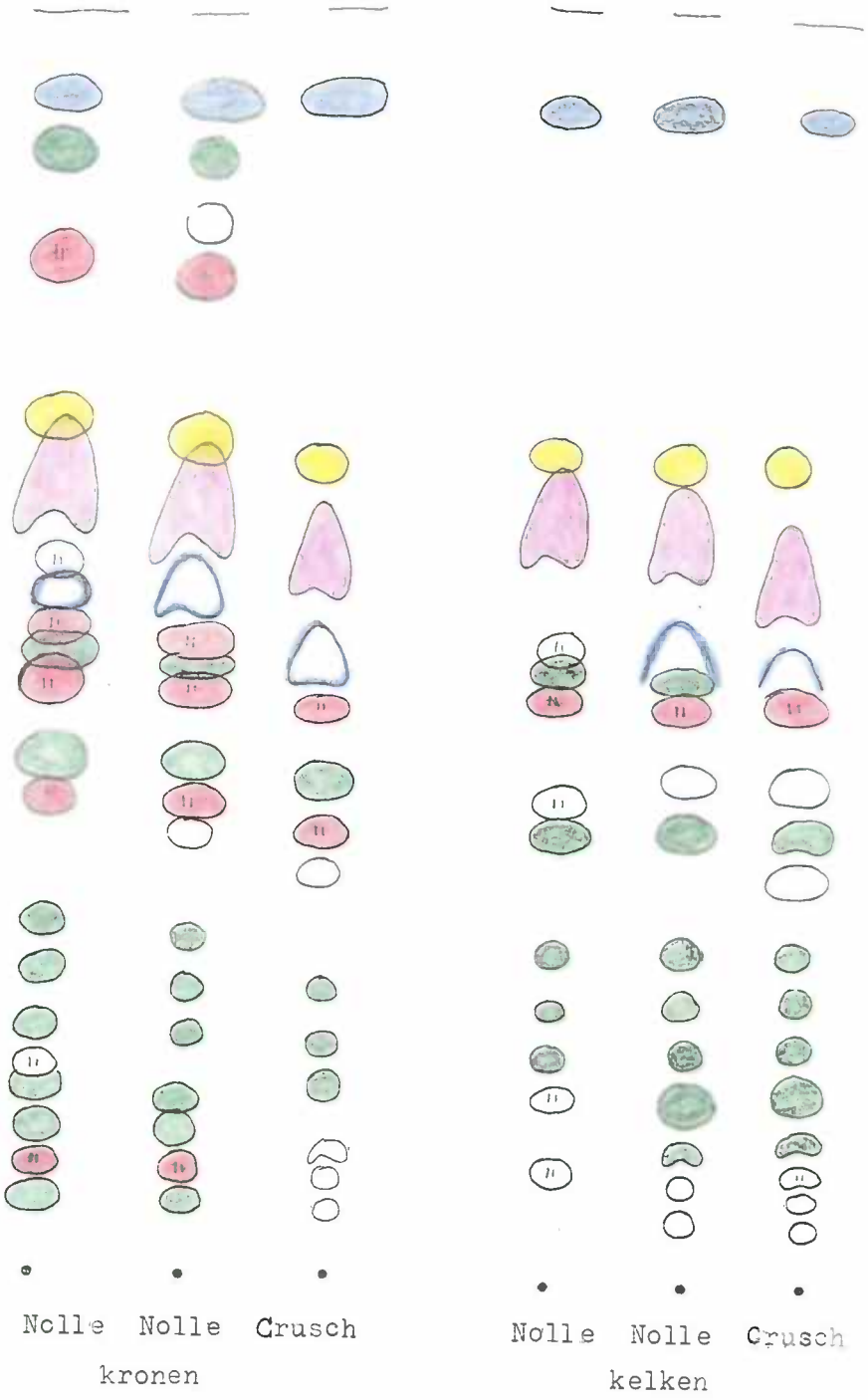
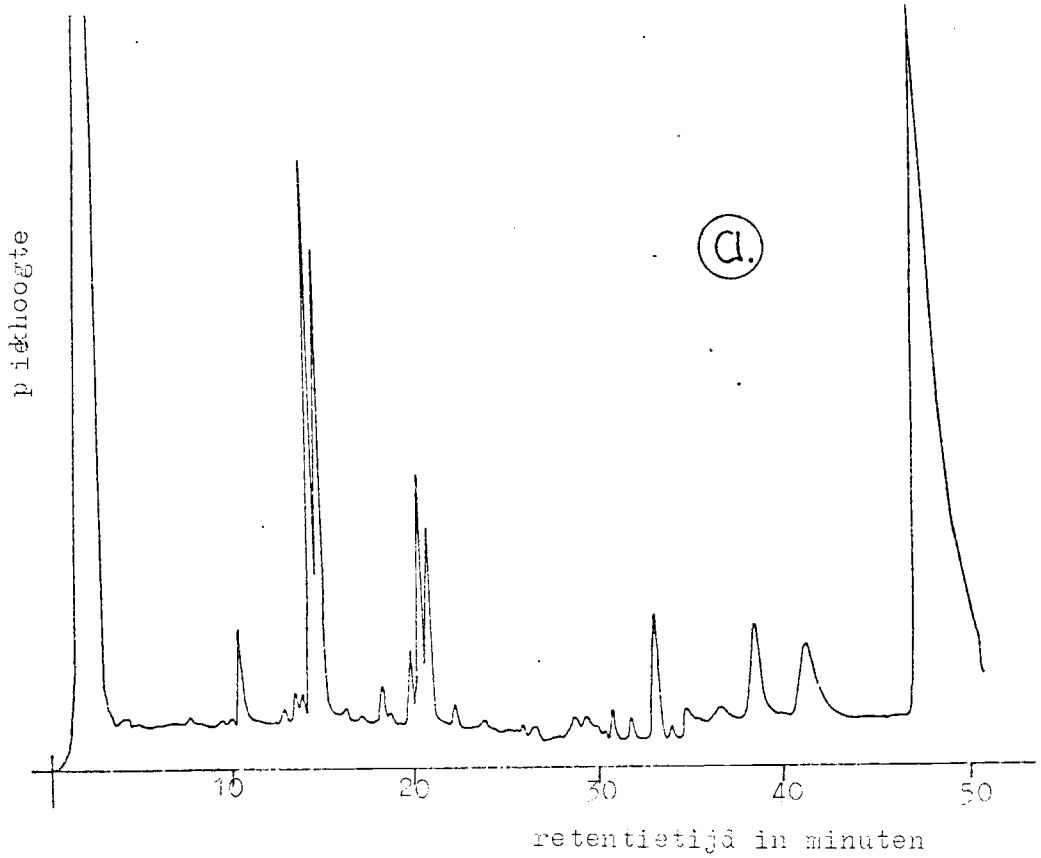


Fig. 18. Vluchtige verbindingen in kronen van Melampyrum arvense van vindplaatsen uit Duitsland (Nolle) en Oostenrijk (Crusch). Gekleurde vluchtige verbindingen bevinden zich op ongeveer overeenkomstige plaatsen in de chromatogrammen.

Fig. 19.
Gaschromatogram van kroon (a) en kelk (b) van R.minor (272:5) gemaakt onder dezelfde omstandigheden.



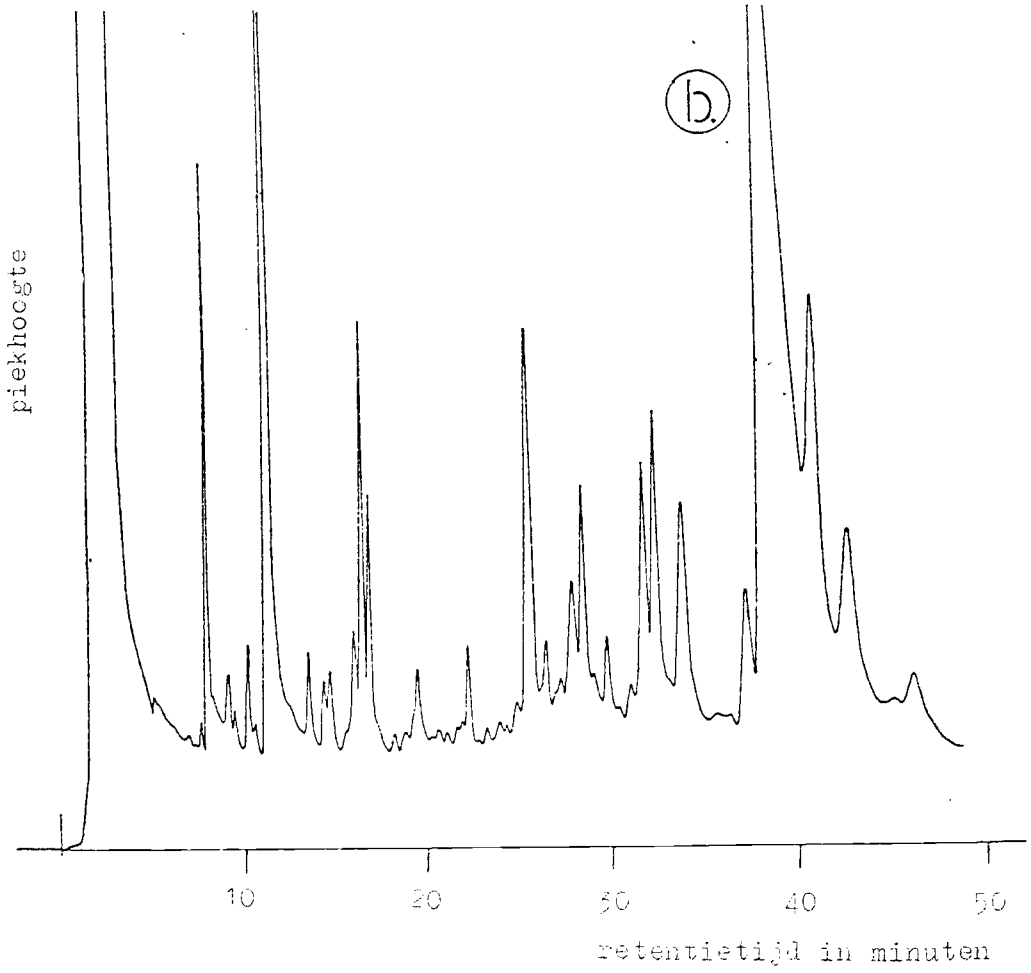
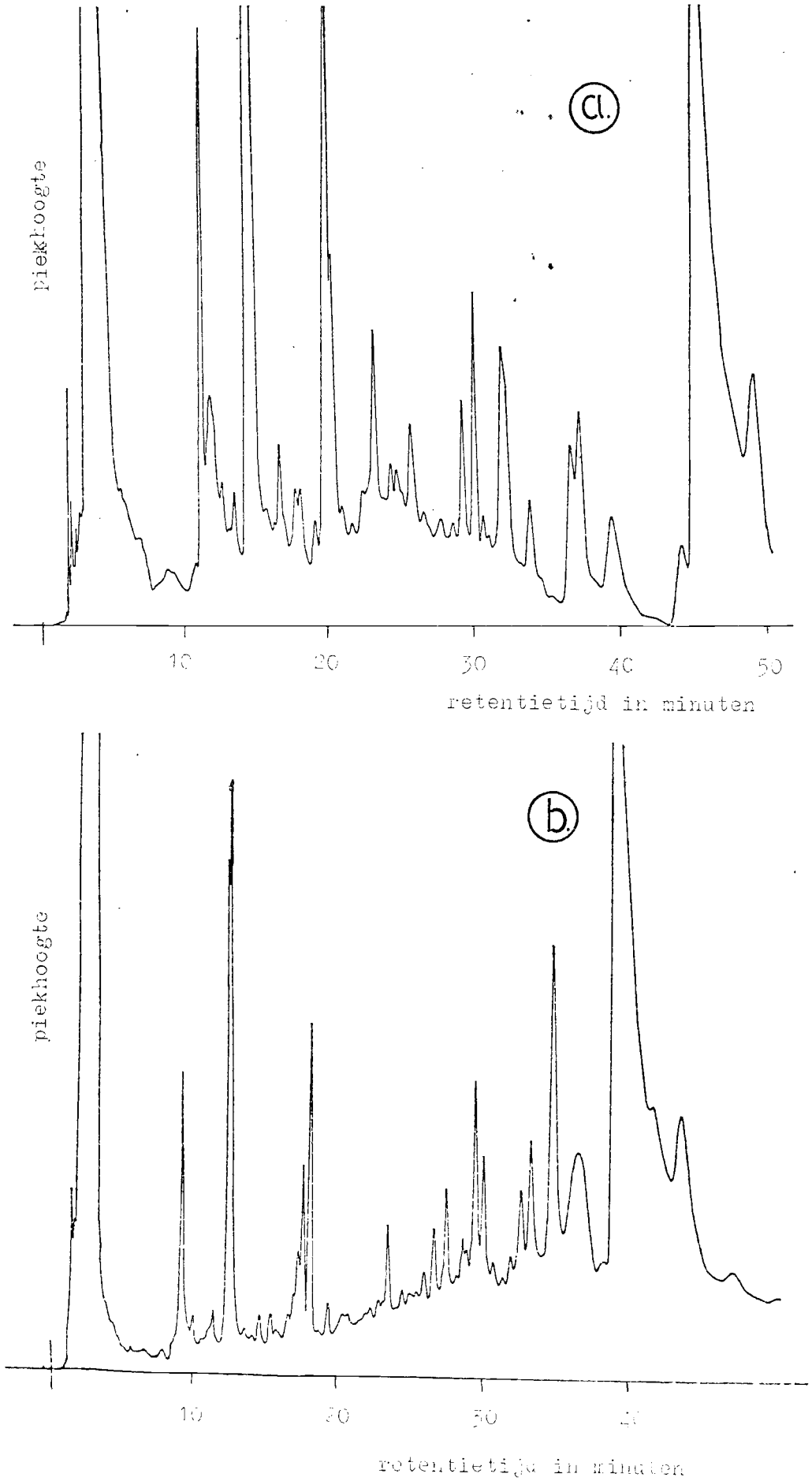


Fig. 20.

Gaschromatogrammen van kronen van R.serotinus,Peize (a) en R.minor,Peize (b).



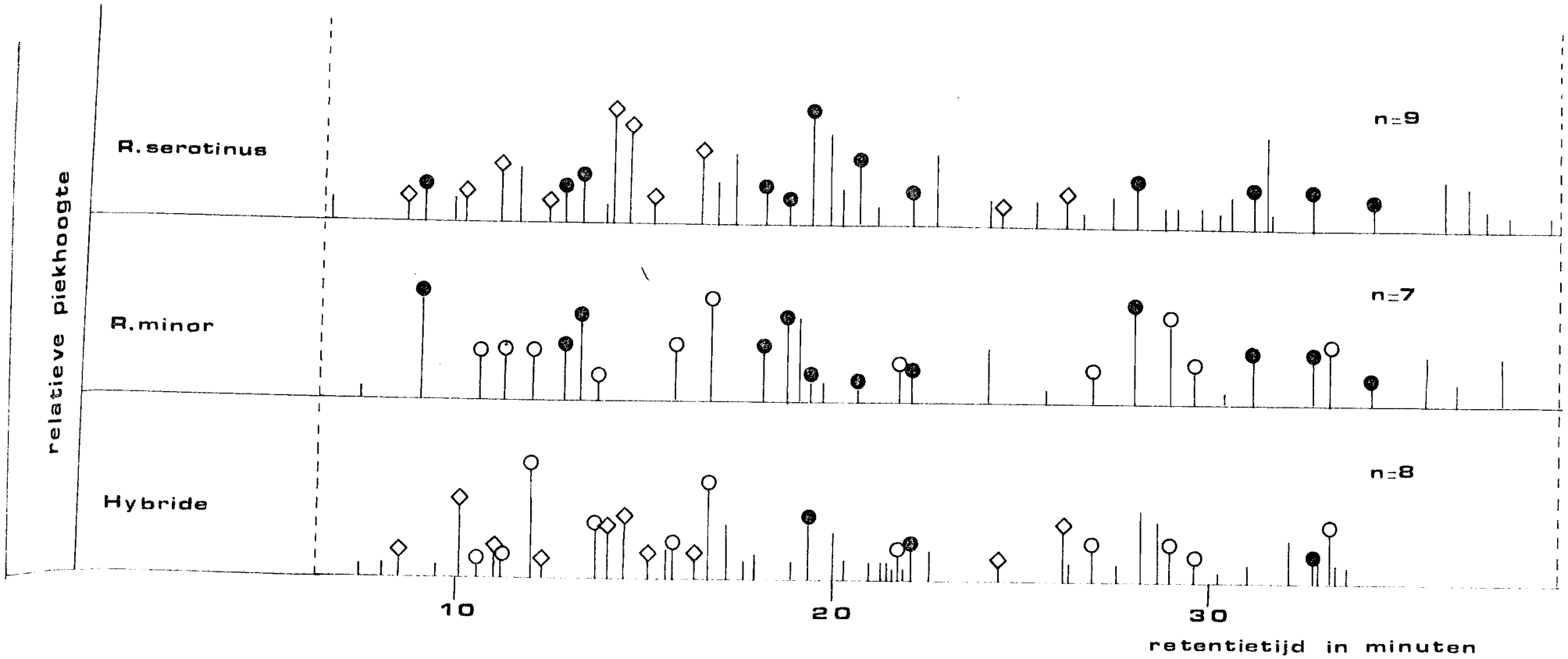


Fig. 21. Gekombineerd diagram van (lage en hoge) pieken in gaschromatogrammen van vluchtige verbindingen in kronen van R.minor, R.serotinus en hybriden van deze soorten.

◇ overeenkomstige vluchtige verbindingen in R.serotinus en hybride

○ ,, ,, in R.minor en hybride

● ,, ,, in R.serotinus, R.minor en hybride

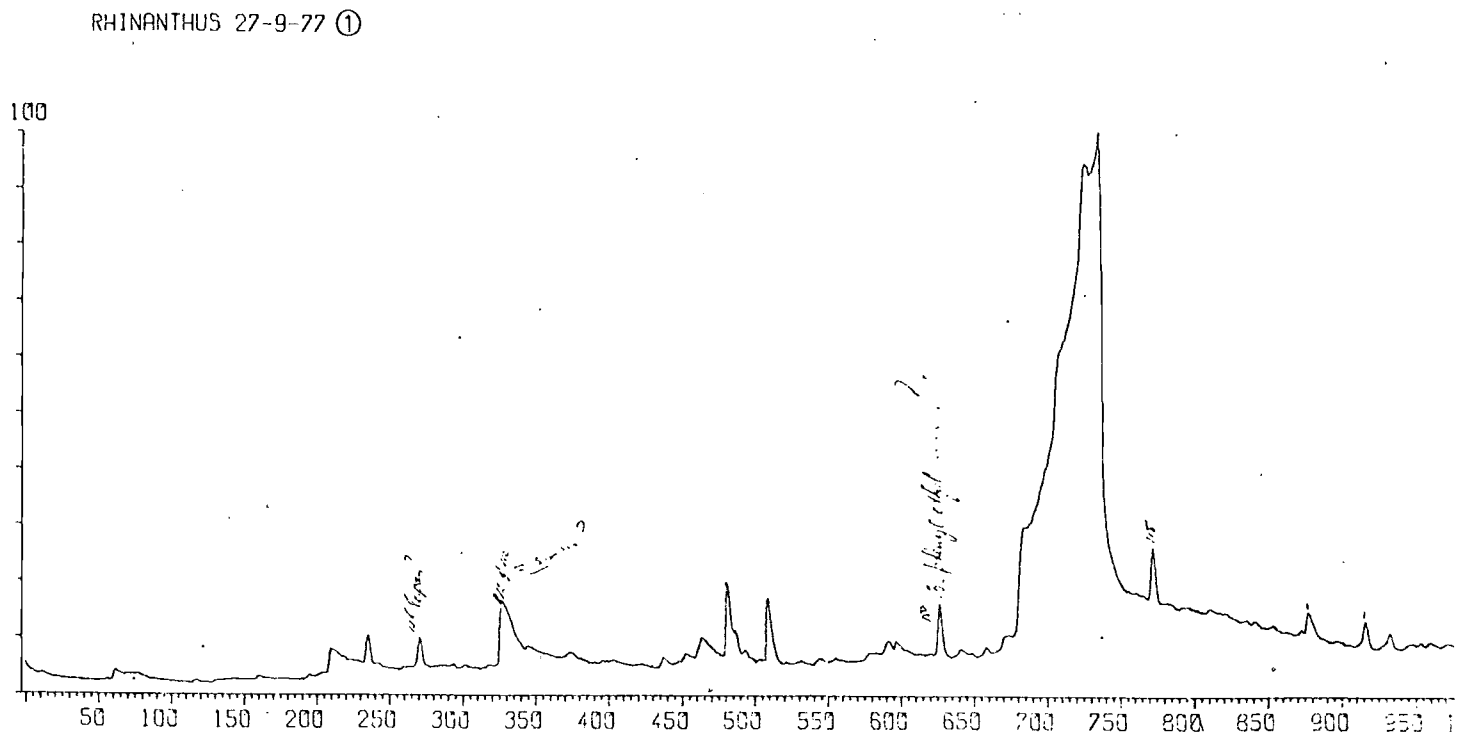


Fig. 22 . Gaschromatogram van 1 µl extract van Rhinanthus serotinus-bloemen, opgenomen met de massaspectrometer Finnigan 3300. Zie voor de werkomstandigheden Tabel 6.

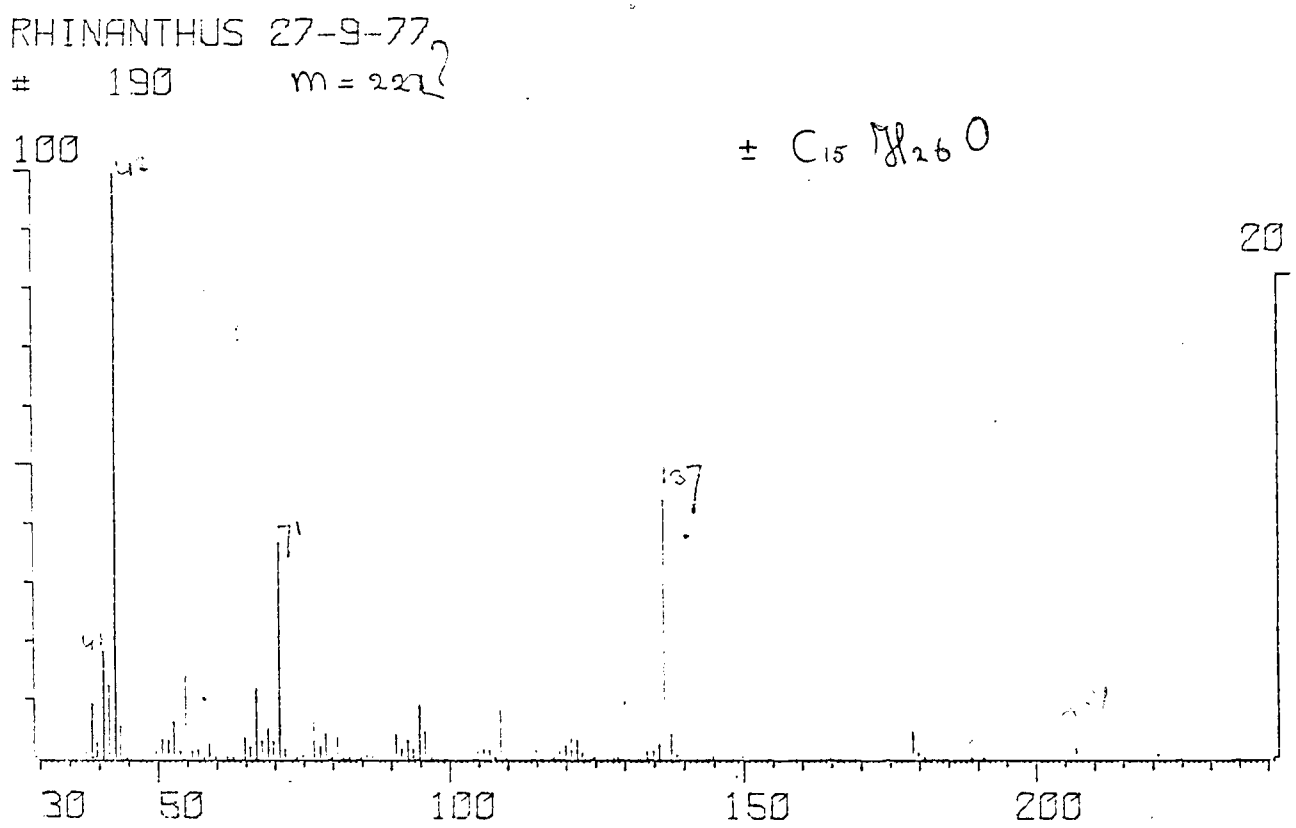
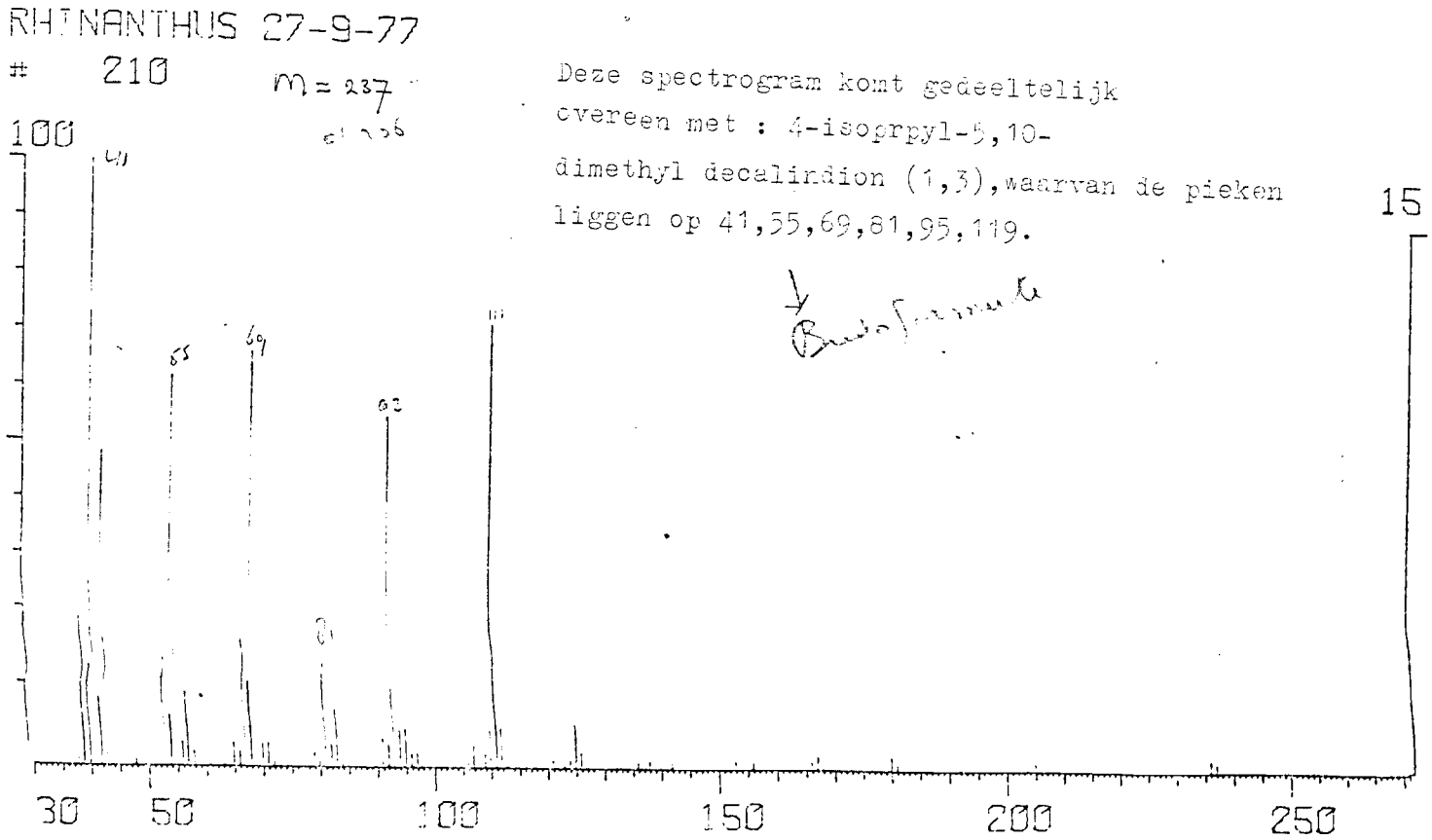


Fig. 23. Massaspectra van vluchtige verbindingen in kronen van Rhinanthus serotinus, opgenomen met de massaspectrometer Finnigan 3300 (Tabel6)



Deze spectrogram komt gedeeltelijk overeen met : 4-isoprpyl-5,10-dimethyl decalindion (1,3), waarvan de pieken liggen op 41,55,69,81,95,119.

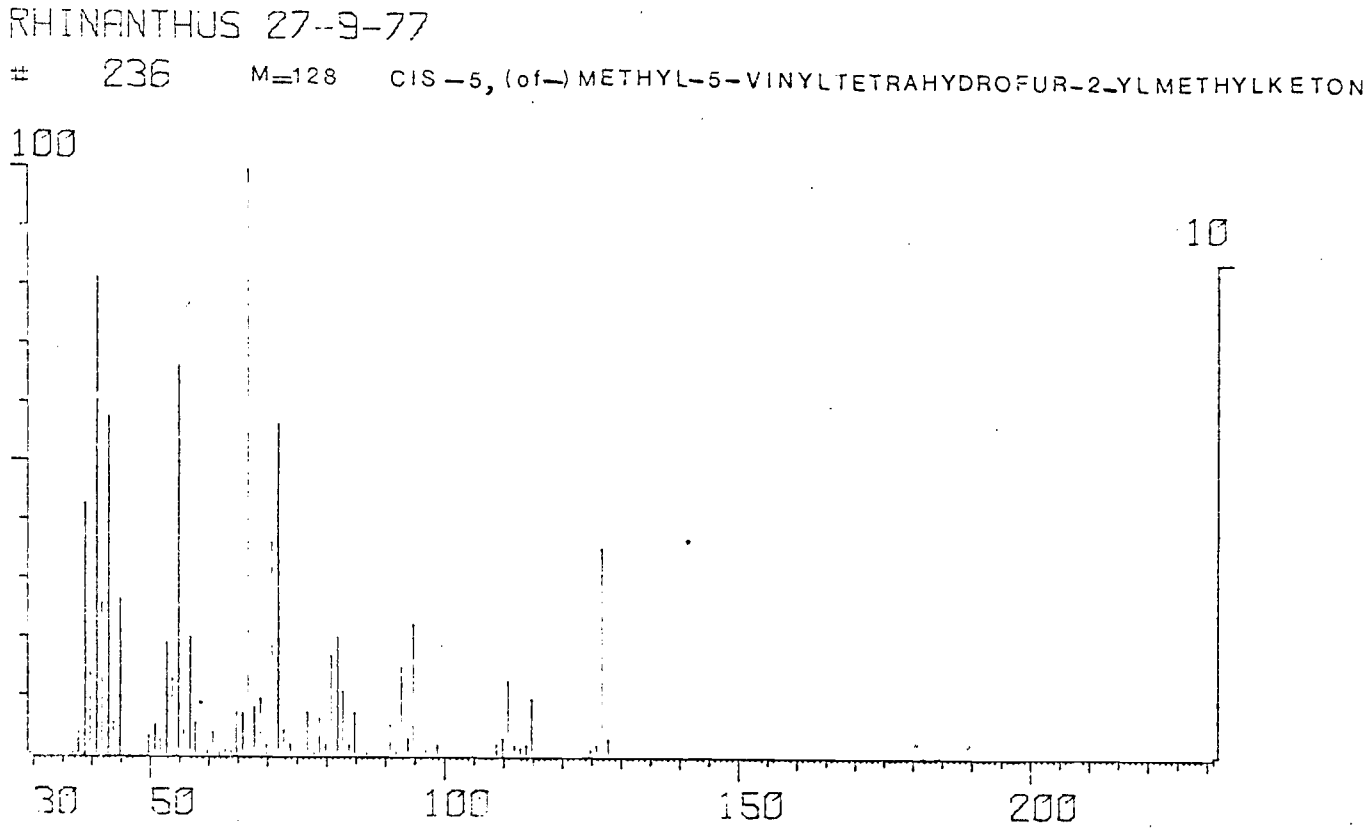
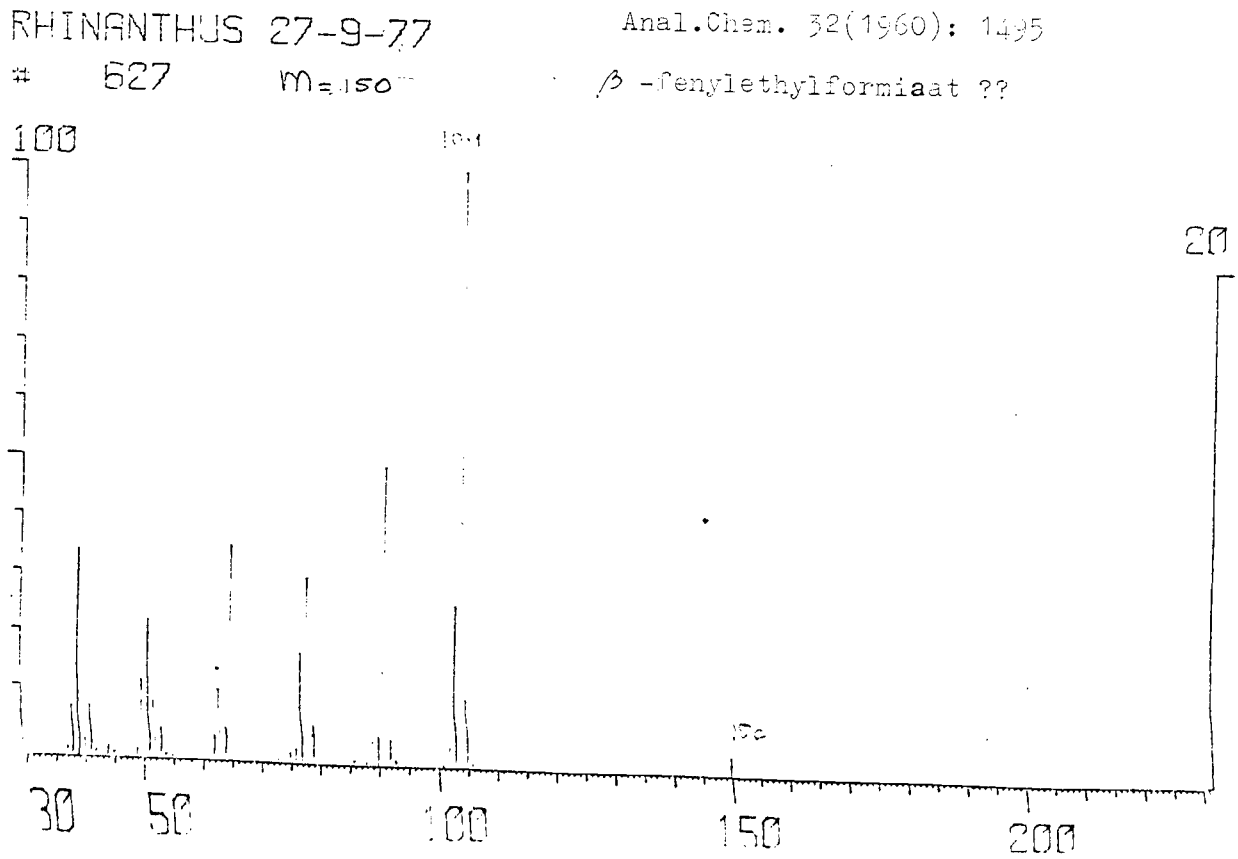
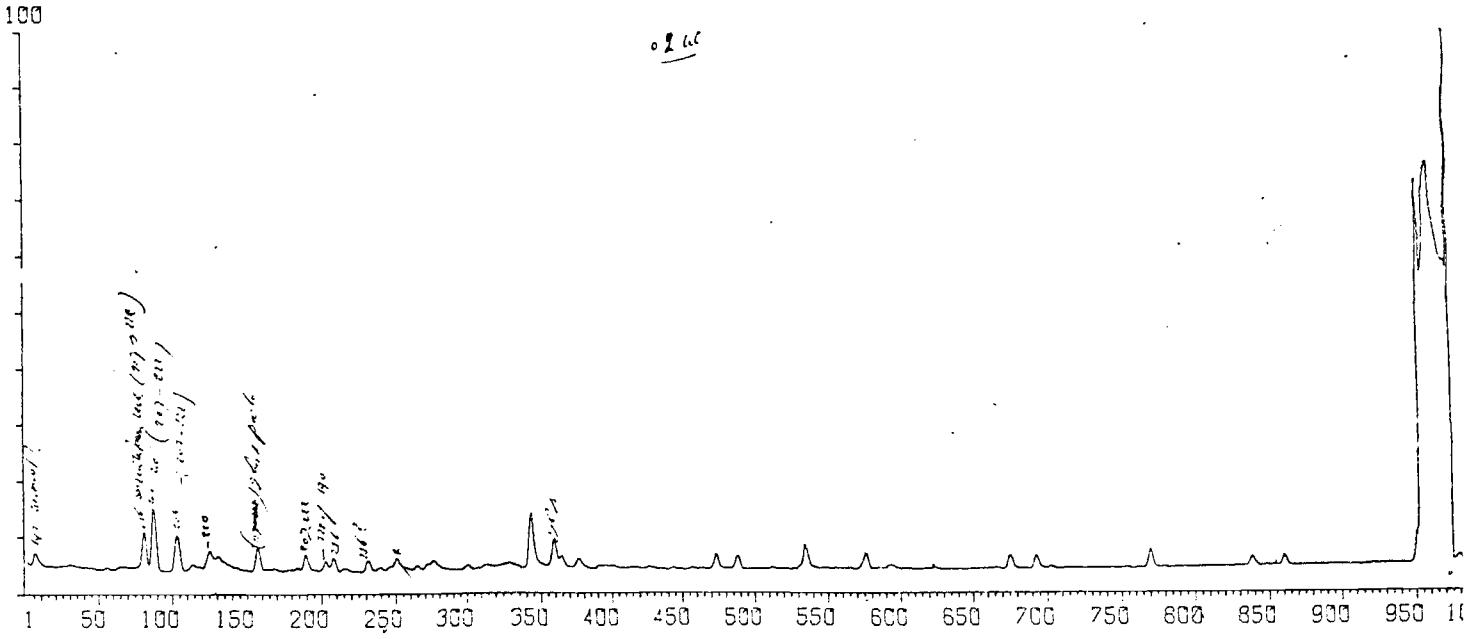

RHINANTHUS 27-9-77
236 M=128 CIS-5,(of-)METHYL-5-VINYLTETRAHYDROFUR-2-YLMETHYLKETON
100
10
30
50
100
150
200

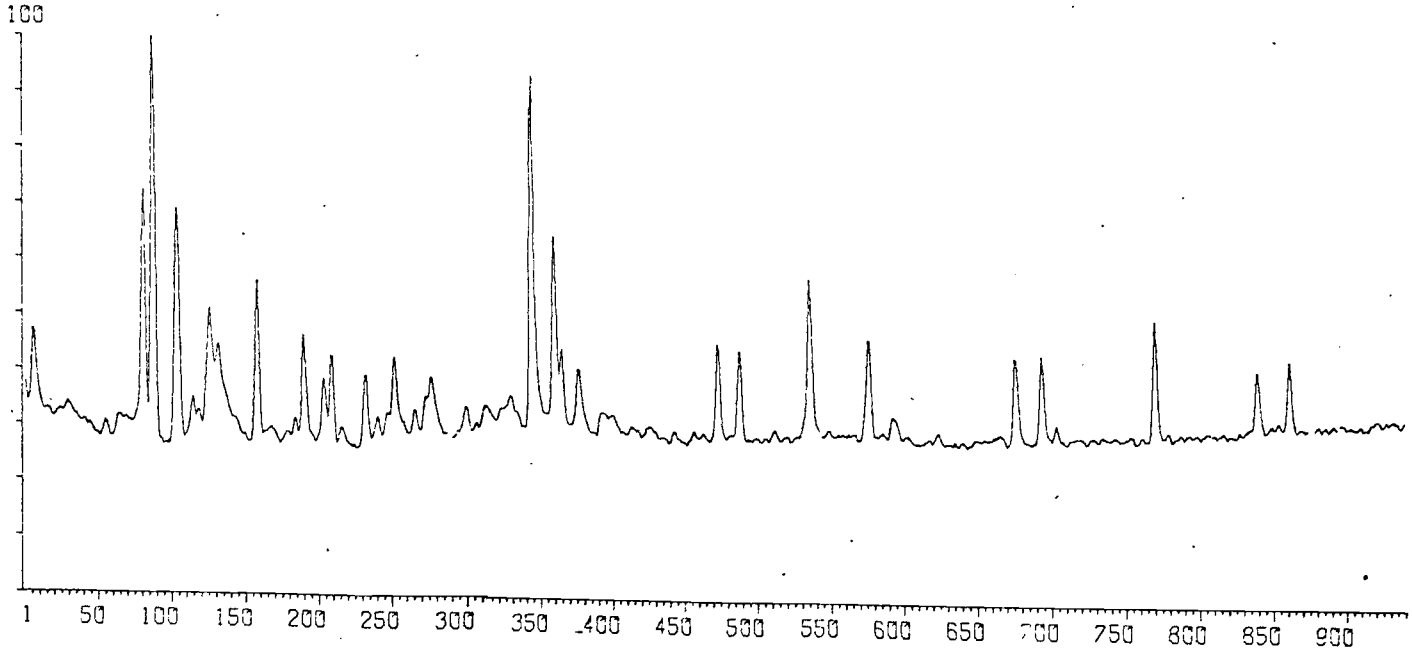
Fig. 23.


RHINANTHUS 27-9-77
Anal.Chem. 32(1960): 1495
627 M=150
β-fenylethylformiaat ??
100
20
30
50
100
150
200

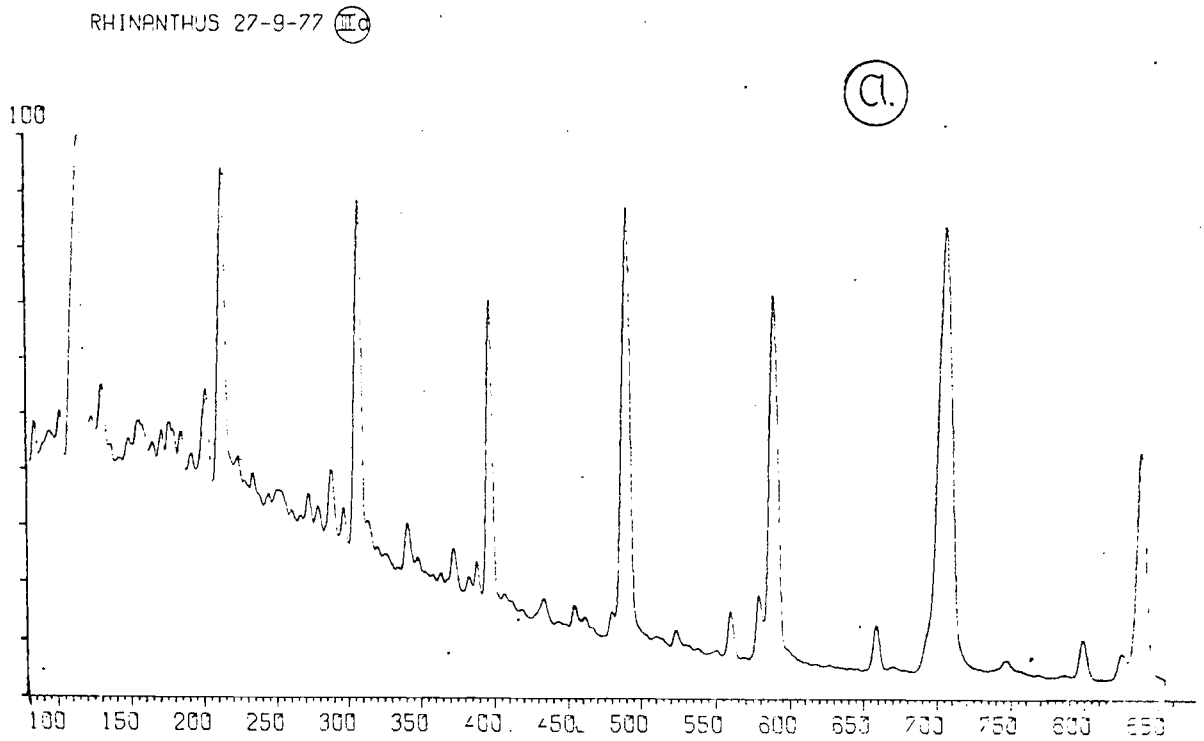
RHINANTHUS 27-9-77 ③



RHINANTHUS 27-9-77 ②



24. (boven) Gaschromatogram van 0,2 μl extract van Rhinanthus serotinus-bloemen, opgenomen met de massaspectrometer Finnigan 3300. Zie voor de werkomstandigheden Tabel 6. (onder) idem (boven), maar versterkt weergegeven.



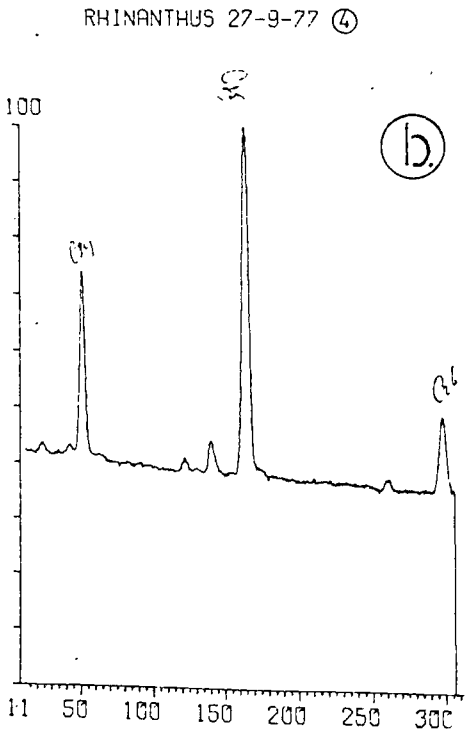


Fig. 25 a en b. (b sluit op a aan)"Staart" van het gaschromatogram van 0,2 l extract van Rhinanthus serotinus-bloemen (Fig. 24)

abel 1.

erkmethoden dunnelaagchromatografie (TLC)

erkomstandigheden:

laat			Kamer	Temp.	Loopafstand
pp.	drager	dikte			
0 x 20 cm^2	Kiezelgel F_{254}	0,25 mm	onverzadigd	20 °C	12-14 cm

bopmiddel	v/v	Looptijd	Literatuur
a. azijnzuur : methylethylketon : tert.butanol : water	15:25:35:25	3 uur	Damonte c.s., 1967
b. benzol : azijnzuur : methanol	3: 1: 1	45 min	Pastuska, 1961
c. methylethylketon : azijnzuur : methanol	3: 1: 1	45 min	Pastuska, 1961 en Nemèc c.s., 1967
d. aceton : water : chloroform : methanol	8:0,5:1: 1	40 min	Pifferi, 1965
e. methanol : chloroform : aceton : NH_3	5: 2: 3: 2	30 min	Pifferi, 1965
f. n-propanol : methylethylketon : water : ethylacetaat	40:20:20: 2	60 min	

Sproeireagentia

I. anilinephtalaat(spuitbus)

II. 1 g difenylamine en 0,98 ml (= 1 g) aniline in 100 ml ethanol, waarbij kort voor gebruik toegevoegd 20 ml 85 % H_3PO_4

Beoordeling: Sproeireagens I en II : direkt na verhitting gedurende 10 min bij 105-110 °C.

Tabel 2.

R_F- en R_G-waarden en kleuren van suikers en onbekende stoffen in nektar van halfparasieten in Nederland en Midden-Europa.

*- de suiker werd als referentiestof gebruikt, maar werd niet in de nektar aangetoond. 1) na bespuiting met reagens I en II(Tabel 1)

in tekst gebruikte afkorting	suiker of onbekende stof	kleur [1)]	R_F	N	R_G
R	rhamnose	paars-rood	0,57	5	1,46
G	glucose	blauwgrijs	0,40	142	1,00
X	*-xylose	blauw	0,37	1	0,93
dM	*-d-mannose	bruin	0,35	5	0,88
F	fructose	oranje-bruin	0,32	131	0,80
S	sucrose	grijsbruin	0,26	98	0,66
M	*-maltose	blauwgrijs	0,22	4	0,55
L	lactose	groengrijs	0,15	5	0,38
1	vlek 1	blauw	0,02		0,05
2	vlek 2	groenbruin	0,05		0,14
3	vlek 3	grijs	0,08		0,21
4	vlek 4	oranje	0,12		0,33
5	vlek 5	oranje	0,13		0,35
6	vlek 6	grijs	0,18		0,50

De R_f en R_g- waarden werden berekend voor het loopmiddel: methylethylketon : azijnzuur : methanol (3 : 1 : 1,v/v),Tabel 1, loopmiddel c.

Tabel 3.

Werkmethoden papierchromatografie

Werkomstandigheden:

Papier	Kamer	Temp.
Whatman no. 1	verzadigd	20 °C

Loopmiddel	v/v	Looptijd	Literatuur
g. 1-butanol : benzeen : mierezuur : water	100:19:10:25	48 uur	Fuleki & Francis, 1967
h. methylethylketon : azijnzuur : methanol	3 : 1: 1	16 uur	
i. methanol : chloroform : aceton : water	5 : 3: 3: 2	3 uur	

Sproeireagens: II

Beoordeling: direkt na bespuiting

Tabel 4.

Loopmiddelen gebruikt bij het dunnelaagchromatografische onderzoek van vluchtige verbindingen in bloemmateriaal van enkele halfparasieten in Nederland en Midden-Europa. Onderstreept zijn die volumeverhoudingen van loopmiddelen die een redelijke (hexaan:ether, 80:20, v/v) tot goede (hexaan:ether:petr.ether, 10:20:5, v/v) scheiding van de vluchtige verbindingen opleverden.

loopmiddel	volumeverhouding (v/v)
hexaan : ether	80 : 20
	80 : 30
	70 : 30
	30 : 60
	10 : 20
hexaan : ether : methanol	10 : 10 : 5
hexaan : ether : petroleum ether	10 : 20 : 5
	10 : 10 : 10
	10 : 20 : 20
ether : petroleum ether	80 : 20
benzol : ethylacetaat : azijnzuur	90 : 5 : 5

Sproeireagens gebruikt bij het dunnelaagchromatografische onderzoek:

0,5 ml anijsaldehyde in een mengsel van 5 ml zwavelzuur, 10 ml ijsazijn en 85 ml methanol

Beoordeling: direkt na verhitting gedurende 10 min bij 105-110 °C.

Tabel 5.

Werkomstandigheden van de Perkin Elmer Gaschromatograaf F_{30} bij de analyse van bloemmateriaal van Rhinanthus spp.

Kolom	
- lengte	: 1,5 m
- diameter	: 2 mm inwendig
- vloeibare fase	: Carbowax 20 M, 10 %
Dragermateriaal	: Chromosorb W-H P
- korrelgrootte	: 100 - 120 mesh
Draaggas	: N_2
- draaggasflow	: 25 ml/min
Kaartsnelheid	: $\frac{1}{4}$ inch/min
Detector	: FID- Flame Ionization Detection
- gevoeligheid	: 10 x 8
Temperatuur	
- detector	: 250 °C
- injector	: 200 °C
Kolomtemperatuur	
- begin kolom	: 80 °C
- einde kolom	: 200 °C
- snelheid	: 4 °C/min

Tabel 6.

Werkomstandiheden van de Massaspectrometer Finnigan 3300 Comp. System bij analyse van een extract van bloemkroon-materiaal van Rhinanthus

E.M.V. (Electron Multiplier Voltage)	: 70 E.V.
(I.S.C. (Ion Source Controller)) Temp.	: 80 - 250 °C, 6 °C/min
Scan Control	: 2 scan/sec
Capillair	: SE 30, 50 meter

Tabel 7.

Gemiddelde suikerconcentratie (in %) van de nektar van R.serotinus en R.minor en van kruisingen tussen R.serotinus, R.minor en F_1-hybriden(F_1 R.minor x R.serotinus).

plaats	suikerconcentratie (in %) in nektar			
	R.serotinus		R.minor	
	%	n	%	n
proeftuin	47	6	27	2
Hornbulten;4 A en K4	27	9	38	6
Hornbulten,plant 1 t/m 5	22	5	25	5
Hornbulten, A en B	32	3	22	3
Peize	26	6	30	1
(Kantens			64	3)
Smalbroek	86	1	11	1
gemiddeld:	33	30	30	18

♀ \ ♂	R.minor		R.serotinus		F_1		onbekend	
	%	n	%	n	%	n	%	n
R.minor	30	18	31	11	25	8	33	5
R.serotinus	?		33	30	26	6	34	3
F_1	31	12	32	8	34	8	46	14

Tabel 8.

Suikerconcentratie (in %) en suikersamenstelling van de nektar van enkele soorten halfparasieten uit Nederland.

Zie voor de afkortingen van de suikers en de betekenis van de cijfers Tabel

soort	herkomst	verzamel-datum	verhouding suikers				overige suikers		% suiker
			G	F	S	F/S	N	nr.	
<u>Pedicularis</u>									
P. palustris	Zuidlaardermeer	01-06	1	1,1	1,5	0,7	-		53,8
	,,	01-06	1	3,0	6,5	0,5	-		24,5
	,,	20-06	1	3,5	4,0	0,9	-		22,1
	,,	20-06	1	5,0	13,0	0,4	-		56,1
	,,	01-06	1	5,0	18,0	0,3	-		27,1
P.sylvatica	Peest,1976	26-05	1	1,0	2,3	0,4	-		41,2
	Eenerbrug	30-05	1	1,9	3,2	0,6	-		43,8
	Peest,1976	26-05	1	2,0	10,0	0,2	-		40,3
	Peest	22-05		4,0	8,0	0,5	-		36,7
	Peest	13-06	1	4,0	13,0	0,3	1	3	35,1
	Peest 3	03-06	1	7,0	16,0	0,4	-		25,4
	Peest	14-05	1	9,0	20,0	0,5	-		45,1
<u>Melampyrum</u>									
M. pratense	Huis ter Heide	31-05	1	2,6	1,7	1,5	2	3,4	33,2
	Huis ter Heide	30-05	1	3,0	5,0	0,6	2	3,4	21,0
	Huis ter Heide	30-05	1	6,0	7,0	0,9	3	1,3,4	57,8

Tabel 9.

Gemiddeld suikergehalte (in % suiker, w/v) en gemiddelde verhouding van de drie belangrijkste suikers in de nektar van enkele soorten halfparasieten uit Midden-Europa in 1977.
G is glucose, F is fructose en S is sucrose
* -als zaad meegenomen uit de Alpen in 1976 en in 1976 uitgezaaid in de proeftuin.

soort	verhouding suikers					% suiker	
	G	F	S	F/S	n	%	n
Rhinanthus							
R. antiquus	1	1,6	1,1	1,5	2	65	2
R. minor	1	1,7	1,2	1,8	3	44	2
R. minor x R. aristatus	1	2,4	2,9	0,8	1	94	1
R. aristatus	1	3,4	1,5	2,0	5	50	5
R. aristatus*	1	6,5	5,0	1,3	3	?	0
R. alectorolophus	1	2,7	0,4	2,2	2	41	4
R. alectorolophus*	1	3,6	3,8	1,0	3	31	2
Pedicularis							
P.verticillata	1	2,7	3,3	0,6	2	43	3
P. foliosa	1	6,7	1,3	5,2	1	?	0
P. tuberosa	1	2,0	-		-	?	
P. tuberosa x P. rostrato-spicata	1	1,5	-		-	12	1
P. rostato-spicata	1	0,8	3,3	0,2	1	72	1
P. recutita	1	3,3	2,2	1,7	4	54	2
P. sceptrum-carolinum	1	2,0	0,5	4,0	1	18	1
Bartsia							
B. alpina	1	1,6	0,8	2,5	1	83	1
Melampyrum							
M. arvense	1	1,3	7,1	0,8	1	?	

n : aantal keren dat de verhouding van F/S bepaald kon worden

n : aantal keren dat het suikerpercentage berekend kon worden

Tabel 10.

Gemiddelde verhouding van de suikers in de nektar van Rhinanthus-planten uit de proeftuin en van enkele populaties uit Drente en Groningen.

G is glucose; F is fructose en S is sucrose

n : aantal keren dat de verhouding van de suikers bepaald kon worden.

R. serotinus

plaats	gem. verhouding suikers			
	G	F	S	n
proeftuin	1	4,3	3,4	6
Hornbulten, A4 en K4	1	4,8	5,0	9
Hornbulten, plant 1 t/m 5	1	5,5	5,3	5
Peize, plant 1 t/m 3	1	4,1	1,0	3
Peize, 31 en 32	1	7,0	5,5	2
Smalbroek	1	2,0	3,5	1
gemiddeld:	1	4,8	4,2	26

R.minor

plaats	gem. verhouding suikers			
	G	F	S	n
proeftuin	1	3,0	0,6	4
Hornbulten, A4 en K4	1	3,0	0,6	6
Hornbulten,min.1,2;pl.2,3	1	2,9	0,9	5
Peize	1	1,8	0	1
Kantens	1	1,5	1,1	2
Smalbroek	1	2,3	1,0	1
gemiddeld:	1	2,7	0,7	19

Tabel 11.
Gemiddelde verhouding van de suikers in de nektar van enkele afwijkende planten van R.serotinus en R.minor en van planten van kruisingen tussen R.minor, R.serotinus en F_1-hybriden.
G is glucose, F is fructose en S is sucrose

R.serotinus

plaats	gem. verhouding suikers			
	G	F	S	n
Hornbulten, A en B, p/bl	1	1,9	0,3	2
Hornbulten, A, wit	1	2,3	1,5	1
Peize, B wit	1	2,0	0,5	1

R.minor

plaats	gem. verhouding suikers			
	G	F	S	n
Hornbulten, A en B, wit	1	1,3	0,5	2
Hornbulten, A en B, blauw	1	1,4	1,0	2
Kantens, blauw	1	1,3	0,5	1

Hybriden (proeftuin)

kruising	gem. verhouding suikers			
	G	F	S	n
R.minor x R.serotinus(F_1)	1	1,6	1,1	11
R.minor x F_1	1	3,0	0,3	8
R.minor x onbekend	1	2,4	1,3	6
R.serotinus x R.minor	1	1,0	0,8	1
R.serotinus x F_1	1	1,5	0,7	9
R.serotinus x onbekend	1	3,5	0,4	5
F_1 x R.minor	1	2,1	1,5	13
F_1 x R.serotinus	1	1,9	0,4	10
F_1 x F_1	1	2,3	1,8	9
F_1 x onbekend	1	2,2	1,6	15

n: aantal keren dat de verhouding van de suikers bepaald kon worden

Tabel 12.

Gemiddelde waarde en s.d. van de fructose/sucrose verhouding in de nektar van R.minor, R.serotinus en de F_1-hybriden.

Voor de berekening werden de waarden van F/S uit Bijlage 1, Tabel 16 gebruikt.

De waarden van F/S van de volgende planten werden niet gebruikt:

R.serotinus: Hornbulten, p/bl en wit, A en B

R.minor-extreem:Hornbulten A en B, wit en blauw ;Kantens blauw

R.minor:Hornbulten A en B,wit en blauw ; Kantens blauw

34a:27:4 ; Hornbulten min.3 ,K4 en min.4, A4

	R.serotinus			R.minor-extr.			R.minor			F_1-hybride		
	x.	s.d.	n	x.	s.d.	n	x.	s.d.	n	x.	s.d.	n
F/S:	1,4	0,9	25	4,0	4,3	15	2,1	0,7	12	1,9	1,0	11

Er is geen significant verschil tussen de gemiddelde F/S waarde van R.serotinus en R.minor (T-toets, $t_{35}=0,221$, $P > 0,5$).

Tabel 13.

Retentietijden van pieken in gaschromatogrammen van corollae van Rhinanthus-bloemen. De retentietijd is gegeven in mm, waarbij 63,5 mm 10 min.

soort	aantal mg[1]	bloem-kenmerk	Retentietijd in mm																				
			41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	101-110	111-120	121-130	131-140	141-150	151-160	161-170	171-180	181-190	191-200	201-210	211-220	221-230	231-240	241-250
R. serotinus																							
Peize	12,7						89*		110*		126		144		164			200	206		223		
Peize 31 A	11,7				70*	73	84		104	112	123		144*	153	161	174	183	200*		212		230	248
						78	89*		110		126			155		178	189	201		213		234	
Peize, 32, wit	12,3		41		62		81				123*				169	174*				218*		234*	
							88*				126*												
							89*																
Hornhulten	7,0			59	62			92*	107		128*	134*	144*	153	167			192	204	212		234	248
																		198*					
398:1	7,0	15	41	57	70*	73		92	104*		126*		144		161	178		192	200*			230	
									110						166				208			237*	
398:1	9,1	15	41	52	62	73*			104*			140		153	161	178		198	200*	210		232	241
									107*						166				201				
53:10	11,5	15		54*		72		92*	107		128	140	144	155	169	178							
									110*														
44:1	7,3	14-15			63*	79	84	92*		114	124*	139						192	208*				242
							89*				127*												
											130*												
55	10,0	14		57*			81*			115*	123*	131					185		200*				244
							84*			119*													

1) Het aantal mg. b materiaal, dat in de vastestofinjector werd gebracht.

* Een * is een relatief hoge piek in het gaschromatogram

verolg Tabel 13.

soort	aantal mg	bloem-kenmerk	Retentietijd in mm.																				
			41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	101-110	111-120	121-130	131-140	141-150	151-160	161-170	171-180	181-190	191-200	201-210	211-220	221-230	231-240	241-250
R. minor																							
Pelle	12,6			57*	67	71		91	103*	113	121		147		163	171	184*		204	218*			
						76*		96	108						166	178	188		208				
								100*	110														
34c:20:7	9,2	9	41	57*		76	81*		106	115*	121*	131		158		171	184*	191			227*		242
							84*			119*		140						198					
38:4:5	8,4	5	47	57	67*			100*	106*			135		153	163	171		198*		218*		240	
												138*				178*							
32b:39:2	8,5	7	47	57	67	71			106*			138		153*		178*	181	193		211*		240*	
				59								140											
33:29:4	10,5	8-9		57*		76	81*	98	106	115*	121*	131		153			184*	198			228*		243
							84*			119*		140		155									
27a:2,1	13,2	7					84*		108	119*	121*	134			160		188*		202			232*	248
							87*				123*												
											125*												
300:7	9,0	8				71*			102			133				178*		193		211*			
									104									200					
									106*														

verolg Tabel 13.

soort	aantal mg	bloem - kenmerk	Retentietijd in mm																					
			41- 50	51- 60	61- 70	71- 80	81- 90	91-100	101-110	111-120	121-130	131-140	141-150	151-160	161-170	171-180	181-190	191-200	201-210	211-220	221-230	231-240	241-250
Hybiden																								
46:8	12,0	11			64	78	87*	99	106	114		134	149	/155		171	182	192	204		223		
					67					118*		139				177		196	209				
272:5	10,1	9	45		64*		82	92*		114	123	139				179		193	208*				242
							89*				127*												
											129*												
385	9,2	10	47	51		76*		92	101	116		138	142	151	166*			192		213			243
									106*					154									
														157									
220:1	10,0	8-9	47	60	67	71*			106*			137		153		179*			201	211*			
												141											
15b:1	12,3	9		53	70	76*		92	101	112*	123	132	143	160	165	175*	184*		209*	212*	222		
									109*	114			147		167*		188*						
93:28:5	17,5	8		57	64	76*	89	95	106*		123	135	143	155	161	171*	182*	191	204*	214*			
				60	70			97			128	138			166*	179*		198					
300:5	?	12		51		76*	89	95	104*	117	127*	138	143*		163		182*	195		211*	230		
								99*			130	140*											
46:8	?	11			64	78	87*	92		120*	123*	135				179	184	197*	207		226	240	
					70			100				137											
												140											

Tabel 14.

Voorkomen en relatieve frequentie (in %) van gespecificeerde alkanen in gaschromatogrammen van kronen van Rhinanthus serotinus, R.minor en F_1(R.minor x R.serotinus)-hybriden.Het bloemkenmerkno. (M.M.Kwak) geeft aan in welke mate een bloem voldoet aan R.minorkenmerken (5) aan R.serotinuskenmerken (15) of aan F_1-kenmerken (10).

soort	bloem kenmerk	C_nH_{2n+2} n: 13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
R.serotinus													
Peize		x	-	?	?	x	?	x	?	?	x	-	?
Peize 31 A, wit		?	x	x	?	x	-	x	x	x	-	x	?
Peize, 32, berm		-	-	-	-	x	x	x	x	x	-	?	x
Hornbulten		-	?	-	x	x	x	x	-	-	x	-	-
398:1	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
398:1	15	x	x	x	x	-	?	-	x	x	?	x	x
53:10	15	-	-	-	x	-	x	-	-	x	-	x	x
44:1	14-15	?	?	x	x	x	x	x	x	x	?	?	?
55	14	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	-
	rel.freq.(%)	44	44	56	67	78	56	67	56	67	44	56	44
R.minor	n:	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Peize		?	x	x	x	x	x	?	?	x	x	x	?
34c:20:7	9	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	x	-
384:5	5	?	x	x	-	x	-	?	x	x	x	x	x
32b:39:2	7	?	x	x	-	-	-	-	-	x	x	-	x
83:28:4	8-9	x	x	x	x	x	?	-	-	x	x	x	-
27a:2	7	x	x	x	-	x	-	-	-	x	-	x	-
300:7	8	-	-	x	?	-	-	-	x	x	-	?	x
	rel.freq.(%)	43	86	100	43	71	14	0	29	100	71	71	43
F_1-hybriden		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
46:8	11	-	?	x	x	-	x	?	x	x	x	-	-
272:5	9	-	?	-	x	-	x	-	x	?	-	x	x
385	10	-	-	?	x	-	?	-	?	?	x	?	?
220:1	8-9	?	x	-	-	-	-	-	-	x	-	?	x
15b:1	9	-	x	-	x	x	x	x	-	x	-	-	-
83:28:5	8	x	x	x	x	?	x	x	x	-	x	x	-
300:5	12	-	-	x	-	-	x	x	x	-	x	x	?
46:8	11	x	-	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
	rel.freq.(%)	25	38	50	75	13	63	38	50	50	50	38	25

Tabel 15.

Aantal pieken in gaschromatogrammen van corollae van R.serotinus, R.minor en hun hybriden.Pieken in verschillende gaschromatogrammen met dezelfde retentietijd werden éénmaal geteld.

soort	aantal gaschr.grn.	aantal pieken
R.serotinus	9	60
R.minor	7	55
Hybriden	8	99

Aantal pieken die meer dan éénmaal voorkomen in de beschouwde gaschromatogrammen van een kruising:

soort	aantal gaschr.grn.	aantal pieken
R.serotinus	9	49
R.minor	7	32
Hybriden	8	48

Aantal pieken met dezelfde retentietijd (en die meer dan éénmaal voorkomen in de beschouwde gaschromatogrammen van een kruising)

		aantal pieken
in:	R.serotinus en R.minor	12
	R.minor en Hybriden	14
	R.serotinus en Hybriden	10
	R.minor,R.serotinus en Hybriden	3

Bijlage 1, Tabel 16[1]. Suikerconcentratie, verhouding van de suikers in de nektar van R.serotinus, R.minor en hun hybriden.

Rhinanthus serotinus

kruisingnr.	bloemkenmerk	verhouding suikers				overige suikers		% suiker
		G	F	S	F/S	N	nr.	
399:1	14-15	1	1,9	1,6	1,2	-		61,2
398:1	15	1	3,0	2,3	1,3	-		39,9
399:5	13-14	1	3,5	3,0	1,2	?		27,1
399:6	14	1	4,3	3,3	1,3	1	4	30,8
398:5	13-14	1	6,0	7,0	0,9	-		82,8
399:4	14-15	1	7,0	3,0	2,3	-		39,9
Hornbulten								
ser.1 ; 4A			1,0	2,0	0,5	-		19,0
ser.2 ; K4		1	3,0	2,0	1,5	2	1,4	41,5
ser.4 ; 4A		1	1,8	1,3	1,4	-		39,2
ser.2 ; 4A		1	4,0	2,0	2,0	-		28,7
ser.5 ; 4A		1	4,0	5,0	0,8	?		27,0
ser.3 ; 4A		1	5,0	6,0	0,8	1	L	28,0
ser.4 ; K4		1	6,0	13,0	0,5	-		26,0
ser.5 ; K4		1	8,0	11,0	0,7	-		32,9
ser.3 ; K4		1	10,0	3,0	3,3	-		29,9
Hornbulten								
ser. plant 1		1	7,0	6,0	1,2	-		26,7
ser. plant 2		1	3,0	3,0	1,0	-		18,8
ser. plant 3		1	6,0	4,0	1,5	-		17,1
ser. plant 4		1	6,5	5,5	1,2	-		25,9
ser. plant 5		1	5,0	8,0	0,6	-		20,3
Hornbulten								
ser. p/bl A		1	2,0	0,3	6,7	-		36,4
ser. p/bl B		1	1,7	0,3	5,7	-		26,6
ser. wit A		1	2,3	1,5	1,6	-		33,6
Peize								
ser. plant 1		1	5,5	1,5	3,7	2	2,4	27,9
ser. plant 2		1	5,0	<1,0		2	2,4	27,9
ser. plant 3		1	1,8	0,5	3,6	2	2,4	15,1
ser. 31		1	11,0	7,0	1,6	1	4	24,8
ser. 32		<1	3,0	4,0	0,8	?		28,7
ser. wit B		1	2,0	0,5	4,0	-		33,2

vervolg Tabel 16[2]

Rhinanthus serotinus

kruisingnr.	bloemkenmerk	verhouding suikers G	F	S	F/S	overige suikers N	nr.	% suiker
Smalbroek								
R.serotinus		1	2,0	3,5	0,6	-		85,9
Hybriden								
Hornbulten								
hybride R.serotinus blauw/paars A		1	2,5	3,0	0,8	-		34,3
R.serotinus x R. minor								
58a : 41		1	1,0	0,8	1,3	-		?
R.serotinus x F_1-hybride								
44:22:1,12;knop	15	1	0,6	-		-		?
44:22:1,12;fl.	15	1	1,0	-				4,5
40 1	10-11	1	0,8	-		?		14,3
40 1	10-11	1	2,0	-				?
44:1	14-15	1	1,8	1,8	1,0	-		25,6
44:22:2,12	11-12	1	1,4	1,2	1,2	3	2,4,5	61,4
46:8	14-15	1	1,9	-		-		23,0
46:8	14-15	1	1,2	0,7	1,7	-		?
36	11	1	2,5	3,0	0,8	-		25,5
F_1- hybride x R.serotinus								
99:1	9	1	1,1	0,4	2,8	-		?
100:2	13	1	1,3	-				?
100:4, 1	14	1	1,4	0,4	3,5	-		34,3
105:4, 12	12-14	1	1,5	0,5	3,0	3.	3,4,L	67,9
98:29, 12	14	1	1,6	0,1	16,0	2	3,L	52,7
100:6	12	1	1,7	1,3	1,3	-		10,0
100:3	13	1	2,0	1,3	1,5	-		20,1
106:4, 1	?	1	2,3	-		2	3,R	34,4
98:4	11	1	2,6	-		1	4	19,2
99:1	9	1	3,6	-		-		19,9

Rhinanthus minor

kruisingnr.	bloemkenmerk	verhouding suikers				overige suikers		% suiker
		G	F	S	F/S	N	nr.	
32b:39:3	6	1	1,3	0,7	1,9	2	4,R	?
34a:27:5	6	1	1,4	0,8	1,8	-		34,7
34a:27:4	5	1	8,0	0,5	16,0	-		19,9
14	5	1	1,2	0,5	2,4	2	4,L	?
Hornbulten								
min.3 ; K4		1	1,1	0,1	11,0	-		23,9
min.4 ; A4		1	1,8	0,2	9,0	1	4	32,8
min.4 ; K4		1	1,8	0,5	3,6	1	4	30,3
min.2 ; K4		?	3,0	2,0	1,5	?		57,2
min.5 ; K4		+	1,0	1,0	1,0	-		28,7
min.1 ; A4		1	9,0	-		-		57,1
Hornbulten								
min.		1	6,0	3,0	2,0	1	4	32,6
min.2		1	1,8	0,8	2,3	-		13,6
min. plant 2		1	2,0	-		-		14,4
min. plant 3		1	1,8	0,6	3,0	1	4	33,6
min.4		+	3,0	-		-		32,6
Hornbulten								
min. wit B		1	1,2	0,3	4,0	-		19,3
min. blauw B		1	1,0	2,0	0,5	-		12,6
min. wit A		1	1,3	0,7	1,9	-		34,4
min. blauw A		1	1,8	-		3	3,4,5	?
Peize								
min. berm		1	1,8	-		2	4,L	29,9
Kantens								
min.		1	1,7	1,1	1,5	-		86,5
min. wit		1	1,3	1,0	1,3	-		57,4
min. blauw		1	1,3	0,5	2,6	-		59,0
Smalbroek								
min.		1	2,3	1,0	2,3	1	4	11,1

vervolg Tabel 16[4]

Rhinanthus minor

kruisingnr.	bloemkenmerk	verhouding suikers G	F	S	F/S	overige suikers N	nr.	% suikers
Hybriden								
R.minor x R.serotinus								
15C:4	10	1	0,8	0,6	1,3	-		32,0
1A:6	11	1	1,1	1,0	1,1	-		11,5
18:4 r	?	1	1,1	0,5	2,2	-		27,4
6,7,8,9 r	10	1	1,3	0,3	4,3	-		57,8
13	11	1	1,3	1,0	1,3	-		31,2
15B:1	9	1	1,6	1,0	1,6	2	4,L	10,1
16	10	1	1,6	1,1	1,5	-		50,3
16	10	1	1,8	1,3	1,4	-		44,1
1A:9	11	1	2,0	1,7	1,2	-		30,9
1A:7	10	1	2,3	0,7	3,3	3	3,4,L	25,5
15C:1	12	1	3,0	2,5	1,2	-		23,0
R.minor x F_1-hybride								
29:1	9	1	1,0	0,5	2,0	1	4	22,5
29:2	7	1	1,3	0,2	6,5	1	L	16,1
25:1 11	8	1	1,3	-		-		38,3
25:7 r	5	1	2,0	2,0	1,0	-		51,1
27a:1 1	5	1	2,3	-		-		25,5
27b:1 1	6	1	2,3	-		-		12,4
27a:2 1	7	1	5,0	?		-		20,3
27a:2 1	7	1	9,0	?		-		12,7
F_1-hybride x R.minor								
82b:8:4	8	1	0,3	1,1	0,3	-		25,1
82A:6:5	8	1	0,5	1,3	0,4	-		32,9
88:27:3	12	1	1,0	0,3	3,3	-		28,8
88:24:4	12	1	1,3	2,0	0,7	-		41,1
83:28:7	7	1	1,4	1,4	1,0	-		15,7
81:2	8	1	1,6	0,8	2,0	2	3,4	40,2
81:2	8	1	1,7	0,6	2,8	-		?
88:27:4 r	7	1	1,7	1,0	1,7	-		27,5
72:80:7 1	7	1	2,0	-		-		25,4
83:28:6	9	1	2,3	1,0	2,3	-		19,7
72:80:5	11	1	3,0	-		-		49,0
72:80:6	8	1	3,0	1,6	1,9	3	2,4,L	33,1
88:27:2	10	1	7,0	9,0	0,8	-		35,2

vervolg Tabel 16[5]

kruisingnr.	bloemkenmerk	verhouding suikers G	F	S	F/S	overige suikers N	nr.	% suiker
R.serotinus x onbekend								
286:2	12	1	0,4	?		-		?
287:2	14	1	2,3	1,9	1,2	-		?
286:1 r	15	?	0,3	0,2	1,5	-		56,8
65:16 12	14	1	6,6	-		1	4	29,2
53:10	15	1	8,0	-		-		15,6
R.minor x onbekend								
377	12	1	1,1	0,3	3,7	-		34,8
377	12	1	2,8	1,0	2,8	-		?
377	12	1	4,0	3,5	1,1	-		46,0
382:8	6	1	1,6	0,8	2,0	-		50,7
385	10	1	2,4	-		-		18,0
382:3	5	1	2,5	2,0	1,3	-		16,0
F_1-hybride x F_1-hybride								
225:2 r	7	1	1,0	-		-		29,8
230:2 r	7	1	1,3	0,7	1,9	-		23,7
223:10	13	1	1,3	0,4	3,3	-		46,2
223:10	13	1	2,3	1,3	1,8	1	4	?
221:2	5-6	1	1,5	2,0	0,8	-		12,0
223:13	14	1	2,0	1,0	2,0	-		41,3
230:1	9	1	2,0	1,7	1,2	-		34,2
249:1	11	1	4,0	2,5	1,6	-		39,8
223:4	13	1	5,0	6,6	0,8	-		44,4
F_1-hybride x onbekend								
317 of 320-1 13	10	1	1,1	0,4	2,8	2	3,4	68,8
229:7	11	1	1,3	0,5	2,6	-		61,4
229:2	8	1	1,3	0,8	1,6	1	4	14,2
229:10 r	8	1	1,5	0,5	3,0	-		107,4
304:5	8	1	1,5	1,1	1,4	-		42,4
300:8	10	1	1,7	1,7	1,0	-		38,0
305:4 13	15	1	1,8	0,8	2,3	2	4,L	58,0
229:2	8	1	2,0	0,2	10,0	3	3,4,L	33,5
300:4	14	1	2,0	2,5	0,8	1	4	37,6
229:7	11	1	2,1	1,0	2,1	-		51,3
299:9	12	1	2,5	1,5	1,7	-		31,0
300:8	10	1	2,5	2,0	1,3	-		22,3

vervolg Tabel 16[6]

kruisingnr.	bloemkenmerk	verhouding suikers				overige suikers		% suikers
		G	F	S	F/S	N	nr.	
vervolg F_1-hybride x onbekend								
299:9	12	1	4,0	2,0	2,0	1	4	?
229:5	14	1	4,0	6,0	0,7	-		35,6
300:4	14	1	4,3	2,5	1,7	-		40,4

Bijlage 2.

Tabel 17.

Suikerconcentratie (in %) en suikersamenstelling van de nektar van enkele soorten halfparasieten in Midden-Europa. Zie voor de afkortingen van de suikers en de betekenis van de cijfers Tabel 7

*-In juni en juli '76 als zaad uit de Alpen meegenomen; in '76 uitgezaaid in de proeftuin in Haren.

soort	herkomst land	plaats	verzamel-datum	verhouding suikers G	F	S	F/S	overige suikers N	nr	% suiker
Rhinanthus										
R. antiquus	CH	Alp Grün	18-07	1	1,4	1,0	1,4	1	5	68,3
,,	CH	Alp Grün	18-07	1	1,7	1,1	1,6	3	2,4,5	57,0
R. minor	CH	Davos,dorp	16-07	1	1,8	0,6	3,0	1	4	?
,,	CH	Bernina, wei 1	17-07	1	2,0	1,8	1,1	2	3,4	34,9
,,	CH	Diavolezza	17-07	1	1,4	1,2	1,2	1	3	53,1
R. minor x R.aristatus	CH	Diavolezza	17-07	1	2,4	2,9	0,8	-		94,4
R.aristatus	CH	Bernina, wei 1	17-07	1	1,0	0,5	2,0	2	3,4	50,1
,,	CH	Flüelapas	16-07	1	1,1	0,3	3,7	2	3,4	?
,,	CH	Alp Grün	18-07	1	2,2	1,1	2,0	1	4	42,8
,,	CH	Davos Parsenn	15/16-07	1	2,3	-		3	3,4,6	30,3
,,	CH	Diavolezza	17-07	1	2,4	1,8	1,3	2	3,4	61,1
,,	CH	Ardez	20-07	1	4,0	4,0	1,0	2	3,4	64,9
,,	CH	Motta Naluns	20-07	1	11,0	-		-		?
R.aristatus *	CH	Pardatsch	10-06	1	3,5	3,0	1,2	-		?
,,	CH	rest.Bodenalp	17-05	1	6,0	5,0	1,2	1	4	?
,,	A	Silvretta	17-05	1	10,0	7,0	1,4	-		?

vervolg Tabel 17.

soort	herkomst land	plaats	verzamel datum	verhouding suikers G	F	S	F/S	overige suikers N	r.r.	% suiker
R. alectorolophus	A	Pontresina	24-07		1,0	1,0	1,0	?		?
,,	CH	Davos, wei 1	15-07	1	2,0	-		2	4,R	35,6
,, ,licht	CH	Davos,kliniek	15-07	1	3,0	-		2	5,6	27,7
,, ,licht	CH	Davos,kliniek	15-07	1	4,0	-		2	5,6	34,2
,, ,donker	CH	Davos,kliniek	15-07	1	3,3	1,0	3,3	2	3,4	67,6
R. alectorolophus *	A	Brail		1	2,3	2,6	0,9	-		27,9
,,	A	Partenen		1	4,0	3,0	1,3	-		?
,,	A	Ischgl		1	4,5	6,0	0,8	2	3,4	33,8
<u>Pedicularis</u>										
P. verticillata	CH	Bernina, wei 1	17-07		1,0	1,4	0,7	3	4,6,L	68,8
,,	CH	Motta Naluns	20-07	1	3,0	-		1	4	11,8
,,	CH	Morteratsch,omg.	17-07	1	4,0	8,6	0,5	2	4,L	47,7
P. foliosa	CH	Motta Naluns	20-07	1	6,7	1,3	5,2	2	3,6	?
P. tuberosa	CH	Motta Naluns	20-07	1	2,0	-		-		?
P. tuberosa x P. rostrato-spicata	CH	Motta Naluns	20-07	1	1,5	-		2	4,L	12,0
P. rostrato-spicata	CH	Motta Naluns	20-07	1	0,8	3,3	0,2	2	3,6	72,4
P. recutita	CH	Davos-Parsenn	15/16-07	1	1,9	1,0	1,9	3	3,4,6	?
,,	CH	Motta Naluns	20-07	1	2,8	2,4	1,2	2	4,6	58,0
,,	CH	Bernina, wei 1	17-07	1	4,0	3,6	1,1	1	3, ?	49,4
,,	CH	Diavolezza	17-07	1	4,4	1,6	2,8	2	4,6	?

vervolg Tabel 17.

soort	herkomst land	plaats	verzamel-datum	verhouding suikers G	F	S	F/S	overige suikers N	nr.	% suiker
P. sceptrum-carolinum	D	Weidmoos	24-07	1	2,0	0,5	4,0	-		17,6
P. palustris, oude bloemen	D	Weidmoos	24-07	?		?				
Bartsia										
B. alpina	CH	Bernina, wei 1	17-07	1	0,9	0,8	1,1	1	4	39,8
,,	CH	Alp Grün	18-07	1	1,2	0,6	2,0	1	3	90,5
,,	CH	Diavolezza	17-07	1	1,5	0,3	5,0	3	2,3,6	68,8
,,	CH	Motta Naluns	20-07	1	2,8	1,5	1,9	2	3,6	133,4
Melampyrum										
M. arvense	D	Nolle	15-07	1	1,0	13,0	0,1	?		?
,,	~~D~~ CH	Grusch	20-07	1	1,5	1,1	1,4	1	3	?

Bijlage 3

Tabel 18.

Onderzochte bloemen of onderdelen van bloemen van halfparasieten uit Nederland en Midden-Europa met behulp van de TAS-methode en dunnelaagchromatografie. Enkele chromatogrammen, aangegeven met * zijn elders opgenomen in dit verslag.

Rhinanthus serotinus

				bijzonderheden
R. serotinus,	Kimmelsberg	stuifmeelhok	2x	
,,		stuifmeelhok	1x	vlek 1, half
,,		stuifmeelhok	-	vlek 1, afwezig
,,	,Hornbulten	kroon,meeldr.	6x	
,,		kelk	6x	
,,	,Kimmelsberg	hele bloem	2x	
,,		bloem-kelk	2x	
,,		kelk	2x	
,,		vr.beg. kelk	2x	
398:5		hele bloem	5x	
398:3		hele bloem	4x	
399:1		hele bloem	4X	
399:6		hele bloem	4x	
398:2		kroon	6x	
,,		kelk,vrb,st	6x	
,,		meeldr.	10x	

Rhinanthus serotinus,vrijbloeiend

281		kroon	4x
		kelk,vrb,st	4x
		meeldr.	6x
286:1		kroon	4x
		kelk,vrb,st	4x
		meeldr.	10x
286:2		kroon	4x
		kelk,vrb,st	4x
		meeldr.	10x
286:2		kroon	4x
287:1		kroon	4x
		kelk,vrb,st	4x
		meeldr.	10x

Tabel 18[2]

Rhinanthus serotinus

Zeegserloopje, vak 6c, plant 1	hele bloem	1x
, plant 2	,,	1x
, plant 3	,,	1x
, vak 13d, plant 1	,,	1x
, plant 2	,,	1x
, plant 3	,,	1x
, plant 4	,,	1x
, plant 5	,,	1x
, plant 6	,,	1x
Peize 32	hele bloem	3x
Peize, berm	,,	3x
Peize 31 A	,,	3x
Peize 36	,,	3x
Peize 32	,,	3x
Peize 31, witte tand	,,	3x
Peize 31	,,	3x

Rhinanthus minor

34a:27:2	kroon	3x
	kelk,vrb,st	3x
272:5	meeldr.	6x
	kroon	3x
	kelk,vrb,st	3x
34a:27:5	meeldr.	6x
270:2	hele bloem	1x
270:1	kelk,vrb,st	4x
	kroon	6x
	kelk,vrb,st	6x
272:6	meeldr	10x
	kroon	6x
	kelk,vrb,st	6x
272:4	meeldr.	10x
	kroon	6x
	kelk,vrb,st	6x
270:2	meeldr.	10x
	kroon	6x
Peize, berm	meeldr.	10x
	kelk	3x) samen
Fluelapas	kroon	7x
	kroon	6x
	kelk	6x
	meeldr.	6x
	stamper	6x
Davos, dorp	vr.beg.	6x
	kroon	6x
	kelk	6x
	meeldr.	6x
	stamper	6x
Bernina, wei 1	vr.beg.	6x
	kroon	10x
	vr.beg.	10x

Rhinanthus minor, vrijbloeiend

382:1	kroon	4x
	kelk,vrb,st	4x
377	meeldr.	4x
382:8	hele bloem	4x
382:17	hele bloem	4x
	kroon	6x
	kelk,vrb,st	6x
	meeldr.	10x

Rhinanthus minor, vrijbloeiend

382:9	kroon	6x
	kelk,vrb,st	6x
	meeldr.	10x
382:2	kroon	5x
	kelk	4x
	meeldr.	5x

F_1-hybride x R.serotinus

99:1	hele bloem	2x
105:7	kroon	3x
	kelk,vrb,st	3x
	meeldr.	6x
105:6	kroon	5x
	kelk,vrb,st	5x
	meeldr.	10x
99:1	kroon	5x
	kelk,vrb,st	5x
	meeldr.	10x
117:6	kroon	5x
	kelk,vrb,st	5x
	meeldr.	10x
105:2	kroon	5x
	kelk,vrb,st	5x
	meeldr.	10x
99:1	kroon,meeldr.	5x
117:9	kroon	5x
	kelk,vrb,st	5x
	meeldr.	10x

R.serotinus x F_1-hybride

44:22:1	kroon	5x
	kelk,vrb,st	5x
	meeldr.	10x

F_1-hybride x F_1-hybride, F_1 vrijbloeiend

299, knop		kroon	4x
		kelk,vrb,st	4x)dit geldt voor
		meeldr.	8x alle onderstaande nummers
234:2	299:9	,,	
299:5	229	,,	
299:2	234:1	,,	
299:1,1	295:4	,,	
236:6		,,	
300:1		,,	
296:2		,,	
295:2		,,	
299:4		,,	
299		,,	
300:2		,,	
223:3		,,	
230:1		,,	
223:6		,,	
223:2		,,	
299:12		,,	
300:4		,,	
300:5		,,	
229:8		,,	
300:8		,,	
299:9		,,	
		,,	

Tabel 18[4]

F_1- hybride x F_1- hybride, F_1 vrijbloeiend

299:9	hele bloem	2x
229:2	hele bloem	2x
299, knop	meeldr.	4x
299,bloem	stamper	10x
	vr.beg.	4x
299, knop	vr.beg.	4x
223:10	kelk,vrb,st	4x
229:10	kelk,vrb,st	4x
234:1	kelk,vrb,st	4x
229:2	kroon	4x
229:7	kroon	4x
229:10	kroon	4x
223:10	kroon	4x
229:2	kelk	4x
229:7	kelk	4x

F_1-hybride x R.minor

88:27:4	hele bloem	2x
83:28:6	hele bloem	2x
97:36:1	kroon,st	3x
	kelk,vrb	3x
	meeldr.	10x
92:13:2	kroon	3x
	kelk,vrb	3x
	meeldr.	6x
83:28:3	kroon	3x
	kelk,vrb	3x
	meeldr.	6x
82b:84	kroon,meeldr.	5x
88:27:2	kroon	3x
81:2	kroon	4x
83:28:6	hele bloem	4x
81:2	kelk,vrb,st	4x
82b:8:4	kelk,vrb,st	4x
88:27:3	kroon	4x
88:27:4	kroon	4x
88:27:2	kelk	4x
88:27:3	kelk	4x
88:27:4	kelk	4x

R.minor x F_1-hybride

29:1	kroon	4x
29:1	kelk,vrb,st	4x
29:2	kelk,vrb,st	4x
25:3	kelk,vrb,st	4x
25:5	kelk,vrb,st	2x
25:3	kroon	4x
25:5	kroon	2x
25:4	kroon in knop	6x
	kelk in knop	6x
	kroon,flow.	4x
	kelk,flow.	4x
	vr beg.,flow.	4x
	kroon,uitgebl.	4x
	kelk,uitgebl.	4x
	vr.beg.,uitgebl.	4x

Tabel 18[5]

R.minor x R.serotinus ("F_1-hybride")

18:5	hele bloem	2x
16	hele bloem	2x
6,7,8,9:5	kroon,knop	4x
	kelk,vrb,st	4x
15C:3	meeldr.	4x
15C:4	hele bloem	2x
15C:1	hele bloem	2x
13	hele bloem	2x
1A:4	kroon,meeldr.	3x
1A:6	hele bloem	2x
16	hele bloem	2x
18:5	hele bloem	4x
13	hele bloem	4x
15B:1	kelk,vrb,st	3x
16:3	kelk,vrb,st	4x
	kroon	4x
	kelk,vrb.,st.	4x
15B:1	meeldr.	8x
12:80:9	kroon	4x
	kroon	4x
	kelk,vrb,st	4x
12:2	meeldr.	8x
	kroon	4x
	kelk,vrb,st	4x
1A:4	meeldr.	10x
1A:6	kelk	4x
15C:1	kelk	4x
15C:3	kelk	4x
15C:4	kelk	4x
3B:1	kelk	4x
	kroon	6x
	kelk,vrb,st	6x
	meeldr.	10x

Tabel 18[6]

Rhinanthus

R.antiquus	Alp Grün	kroon	6x
		kelk	6x
		vr.beg.	6x
		stamper	20x
		meeldr.	10x
R.minor	Diavolezza	idem R.antiquus	
	Silvretta	,,	
	Pardatsch	,,	
R.minor x R.aristatus			
	Diavolezza	idem R.antiquus	
	Pardatsch	,,	
R.aristatus	Bernina, wei 1	kroon	6x
		meeldr.	10x
		stamper	10x
	Alp Grün	idem R.antiquus	10x
	Diavolezza	,,	10x
	Motta Naluns	,,	10x
	Parsenn-Wolfgang	,,	10x
	Ardez	,,	6x
	Silvretta	meeldr.	10x
	Davos,wei 1	meeldr.	10x
		stamper	10x
	Fluelapas	kroon	10x
		kelk	10x
		meeldr.	10x
		vr.beg.	10x
		stamper	10x
	Bernina, wei 1	kroon	6x
		kelk	6x
		vr.beg.	6x
R.alectorolophus			
	Davos, kliniek,paars	kroon	3x
		kelk	3x
		vr.beg.	3x
		stamper	10x
		meeldr.	10x
	Davos, kliniek,licht	idem paars	
	Davos, wei 1	kroon,meeldr.	3x
		kelk,vrb,st	3x

Pedicularis

P.verticillata			
	Bernina, wei 1	kroon,meeldr.	10x
		kelk,vrb,st	10x
	Motta Naluns	idem Bernina	
	Morteratsch	idem Bernina	
P.foliosa	Motta Naluns	idem P.verticillata,Bernina	
P.tuberosa	Motta Naluns	,,	
	Lagalp	,,	
	station Diavolezza	,,	
P.tuberosa x P.rostrato-spicata			
	Motta Naluns	,,	
P.rostrato-spicata			
	Motta Naluns	,,	
[illegible]	Lagalp	,,	
	Diavolezza	,,	
	Motta Naluns	,,	
	Bernina, wei 1	,,	

Tabel 18[7]

P.sceptrum-carolinum	Weidmoos	kroon,meeldr.	2x,	niet
		kelk,vrb,st	2x	aangebeten
		kroon,meeldr.	2x	aangebeten
		kelk,vrb,st	2x	aangebeten
		kroon	2x	aangebeten en
		kelk,vrb,st	2x	open
P.recutita x P.rostrato-spicata?		kroon,meeldr.	4x	
	Motta Naluns	kelk,vrb,st	4x	
P.palustris	Weidmoos	kroon	6x	
		kelk	6x	
		vr.beg.	6x	
		stamper	10x	
		meeldr.	10x	
P.kerneri	Alp Grüm	kroon	6x	
		kelk	6x	
	Fluelapas	kroon,meeldr.	6x	
		kelk,vrb,st	6x	
Bartsia alpina	Motta Naluns	kroon,meeldr.	6x	
		kelk,vrb,st	6x	
	Diavolezza	idem Motta Naluns		
	Alp Grüm	,,		
	Bernina, wei 1	,,		
Melampyrum				
M.arvense	Nolle	kroon	10x	
		kelk	10x	
		vr.beg.	10x	
		stamper	10x	
		meeldr.	10x	
	Grusch	idem Nolle		
M.sylvatica	Pardatsch	kroon,meeldr.	10x	
		kelk,st,vrb	10x	