HET MYCORRHIZA BIJ ORCHIDEEËN

MET NADRUK OP DE GEVOLGEN DAARVAN VOOR DE OECOLOGIE DER SOORTEN

EEUWE DIJK

MEI 1985

D 338

Doktoraalverslag

Vakgroep Vegetatiekunde,Plantenoecolgie en Onkruidkunde,
L.H.Wageningen
Vakgroep Plantenoecologie,R.U.G.

Doktoraalverslagen zijn interne rapporten, dus geen officiële publicaties.
De inhoud ervan varieert van een eenvoudige bespreking van onderzoeksresultaten tot een concluderende discussie van gegevens in wijder verband.
De konklusies, veelal slechts gesteund door kortlopend onderzoek, zijn meestal van voorlopige aard en komen voor rekening van de auteur(s).

Overname en gebruik van gegevens slechts toegestaan na overleg met auteur en/of bestuur der vakgroepen.

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

HET MYCORRHIZA BIJ ORCHIDEEËN -
met nadruk op de gevolgen daarvan
voor de oecologie der soorten

Eeuwe Dijk

---

doktoraalverslag vakgroep Vegetatiekunde,Plantenoecologie
en Onkruidkunde,L.H.Wageningen
vakgroep plantenoecologie,R.U.G.

begeleiding : mw.dr.S.J. ter Borg
L.F.M.Fresco

mei 1985

Groningen
Haren
Wageningen

omslag: reprografische ind. de Poel & co.,Groningen
foto: Cephalanthera rubra (foto:E.Dijk)

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

VOORWOORD

Het volgende is een verslag van een nominaal driemaands-onderwerp dat plaatsvond in de periode van september 1984 tot en met maart 1985.
Het vormt een studie over mycorrhiza's bij orchideeën;er is geprobeerd om een accent te leggen op de oecologische gevolgen van het bezit van een dergelijk type mycorrhiza.Vanwege dit laatste feit spitst het zich toe op de in Nederland inheemse soorten,hoewel ook dankbaar gebruik is gemaakt van studies over orchideeën uit andere streken.
Het onderwerp als geheel werd begeleid door mw.dr.S.J. ter Borg.
Er zijn in deze studie twee delen,die duidelijk te onderscheiden zijn.Het eerste deel bevat een literatuurstudie;dit gedeelte werd bewerkt aan de Landbouwhogeschool te Wageningen,vakgroep Vegetatiekunde,Plantenoecologie en Onkruidkunde; begeleidster van dit deel was mw.dr. S.J. ter Borg.Het tweede deel (hoofdstuk 6) is meer vegetatiekundig van aard;hieraan werd gewerkt aan de Rijksuniversiteit van Groningen,vakgroep plantenoecologie; dit onder begeleiding van L.F.M.Fresco.
Ook de afronding van het onderwerp was tweevoudig: naast deze scriptie vormde het ook de basis voor een colloquium aan de Rijksuniversiteit van Groningen.

De volgende mensen zou ik speciaal willen bedanken voor hulp op alle mogelijke terreinen,die het tot stand komen van deze scriptie uiteindelijk mogelijk heeft gemaakt.Dat zijn achtereenvolgens: mw.dr. S.J. ter Borg,L.F.M.Fresco,dr.Limonard (vakgr.fytopathologie,L.H.Wageningen),D.v.d.Laan sstt.(Biologisch Station Weeversduin),dhr.F.Adema sstt (Rijksherbarium Leiden),leden van de vakgroep V.P.O. van de L.H.Wageningen en de vakgroep Plantenoecologie van de R.U.Groningen;leden van de werkgroep Zaaien en Meristemen van de Nederlandse Orchideeën Vereniging,prof.dr. Perdok (Groninger Universiteitsfonds),B.v.d.Poel (de Poel & co, reprografische industrie) en niet in de laatste plaats de bewoners van Churchillweg 85 en Niemeyerstr.21 in Wageningen.

INHOUDSOPGAVE

1	inleidend	pag. 1
1.1	orchideeën,systematisch gezien	" 1
1.2	orchideeën,ecologisch gezien	" 1
1.3	levenscyclus	" 3
1.4	orchideeënmycorrhiza's in vergelijking tot andere typen van mycorrhiza's	" 8
1.5	vraagstelling van het onderzoek	" 10
2	de schimmels	" 12
2.1	classificatie van de mycorrhiza-vormende schimmels	" 12
2.2	specificiteit van de symbiose	" 13
2.3	ecologie en habitatbreedte van de schimmels	" 16
2.4	samenvatting hoofdstuk 2	" 17
3	fysiologische aspekten van de symbiose	" 18
3.1	aanwijzingen voor transport via uitzaaiexperimenten	" 18
3.2	experimenteel getoetst transport van schimmel naar protocorm	" 20
3.3	transport van de schimmel naar de adulte plant	" 22
4.1	de balans tussen de symbionten	" 24
4.2	herziening van de uitgangsstelling	" 26
5	de mate van mycotrofie der soorten	" 29
5.1	direkte schattingen in termen van groeisnelheid en nutriëntengehalten	" 29
5.2	indirekte schattingen; mate van infektie	" 30
6	habitatbreedte van enige soorten orchideeën	" 33
6.1	het voorkomen van enkele soorten gerelateerd aan enige abiotische milieufaktoren	" 33
6.2	bepaling van de habitatbreedte middels vegetatie-ordinatie	" 34
6.2.1	materiaal en methode	" 35
6.2.2	resultaten,conclusies en beknopte discussie	" 37
7	conclusies en samenvatting;discussie en suggesties voor verder onderzoek	" 44
7.1	conclusies en samenvatting	" 44
7.2	discussie en suggesties voor verder onderzoek	" 46
8	literatuur	" 47

(inhoudsopgave,vervolg)

bijlage 1 - enige aanvullende informatie over enkele West- en Middeneuropese orchideeën soorten
bijlage 2 - zeldzaamheid en achteruitgang van (ooit-) in Nederland inheemse orchideeën soorten
bijlage 3 - matrix van vegetatie-opnames (alleen aanwezig in de archiefexemplaren)
bijlage 4 - koördinaten van de opnames op de WCO-assen (alleen aanwezig in de archiefexemplaren)

1 - INLEIDEND

1.1 Orchideeën, systematisch gezien

De orchideeënfamilie vormt één der grootste plantenfamilies ter wereld en lijkt in grootte alleen te worden verslagen door de Compositae. Vertegenwoordigers van deze immense familie zijn over vrijwel de gehele aardbol verspreid; het zwaartepunt van de verspreiding lijkt echter in de tropen te liggen.
In tegenstelling tot de situatie in de tropen, waar veel soorten epifytisch leven, komen in de gematigde streken hoofdzakelijk terrestrische soorten voor. De in Europa voorkomende soorten zijn zonder uitzondering terrestrisch.
De familie wordt over het algemeen in 5 onderfamilies verdeeld, waarvan de Apostasioidae en de Vandoidae niet in onze streken voorkomen. De Cypripedoidae (twee fertiele meeldraden i.p.v. de gebruikelijke één) worden in Europa alleen vertegenwoordigd door het in Nederland niet inheemse geslacht Cypripedium. Deze onderfamilie wordt vaak tot familie verheven, zie P. Vermeulen in Landwehr (1978).
Met uitzondering van het geslacht Spiranthes worden alle in Nederland inheemse soorten met een echte knol ingedeeld bij de Orchidoidae: deze onderfamilie bevat o.a. de geslachten Aceras, Anacamptis, Coeloglossum, Dactylorhiza, Gymnadenia, Herminium, Himantoglossum, Ophrys, Orchis en Platanthera, terwijl de overige geslachten (meestal met een rhizoom) bv. Cephalanthera, Corallorhiza, Epipactis, Goodyera, Hammarbya, Liparis, Listera, Neottia en ook Spiranthes worden ingedeeld bij de Epidendroidae (zie ook voor overige informatie over de soorten bijlage 1).
Liparis en Hammarbya dragen, net als vele van hun tropische verwanten, opgezwollen stengeldelen (pseudobulben).

1.2 Orchideeën, ecologisch gezien

Orchideeën behoren - zeker in onze streken - niet tot de meest algemene plantensoorten. De meerderheid van de soorten is in ons land zeldzaam te noemen. Sinds 1950 is een zestal soorten in Nederland niet meer teruggevonden, terwijl de positie van een zevende (Dactylorhiza traunsteineri) i.v.m. nomenclatorische verwarring onzeker blijft (zie Mennema c.s., 1980); dit op een totaal aantal van circa 39 (al naar gelang het soortsbegrip).
Een groot aantal soorten gaat sterk achteruit in aantal uur-

hokken en/of komt nog maar in weinig uurhokken voor (zie fig.1). Tegenover deze ontwikkeling staat de vestiging van een viertal "nieuwe" soorten in een recent verleden.

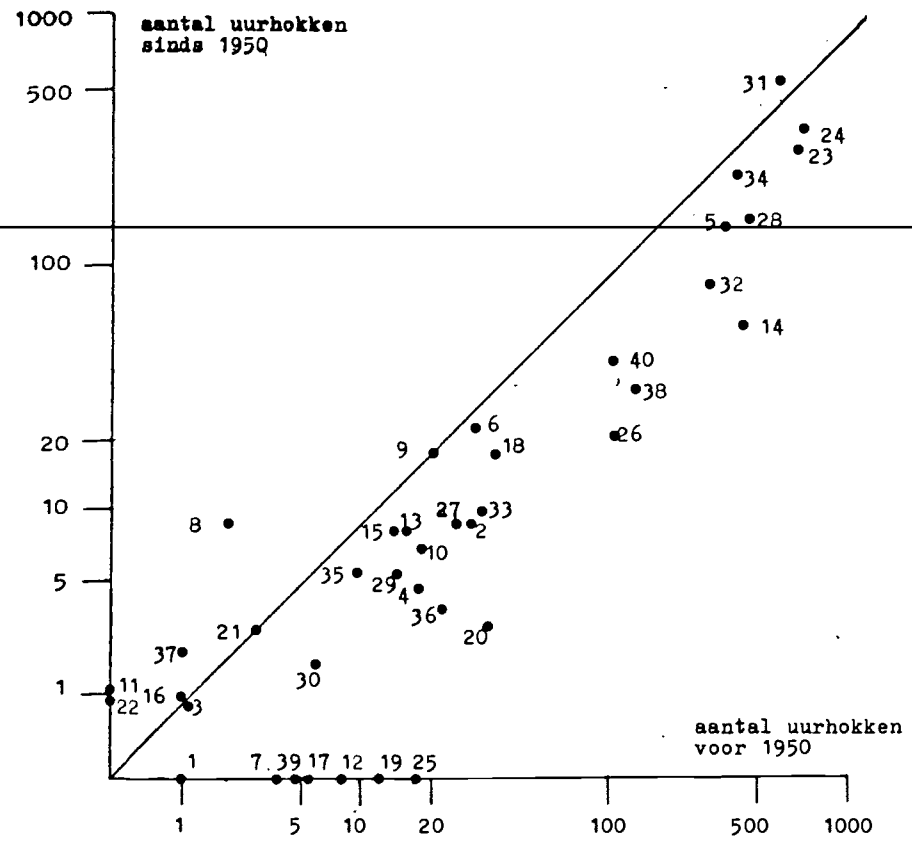


Fig 1 - Zeldzaamheid vóór en na 1950 der nederlandse orchideeënsoorten en hun resp. voor- of achteruitgang. Gebasserd op uurhokmeldingen voor de soorten als gegeven in Mennema c.s. (1980 e.v.).X- en Y-as beide logaritmisch.
Vooruitgaande soorten verschijnen linksboven de diagonaal,achteruitgaande er rechtsonder.Op de X-as de uitgestorven -,op de Y-as de nieuw verschenen soorten. Nummering corresponderend met die in bijlage 1 en 2 ; in de laatste bijlage zijn de exactere opgaven van aantallen uurhokken te vinden.

De zeldzaamheid en snelle achteruitgang van vele soorten (bv. Spiranthes spiralis,Anacamptis pyramidalis en Orchis morio) valt te begrijpen doordat ze gebonden lijken aan nauw-begrensde gradiënt-situaties (zie bv. Westhoff c.s.,1970).Verder lijken veel soorten geassocieerd met bepaalde halfnatuurlijke landschapselementen als bv. hooilanden en blauwgraslanden,die het gevolg waren van een minder intensief landgebruik.Daarnaast moeten de meeste soorten tot de freatofyten worden gerekend.Eén en ander

heeft tot gevolg gehad, dat vooral ontwatering,de introduktie van kunstmest gekombineerd met biotoopverlies,grote offers hebben gevraagd binnen deze groep,al moet hierbij direkt vermeld worden dat deze offers voor de ene soort aanmerkelijk groter zijn geweest dan voor de andere (zie fig.1).
Een verdere eigenaardigheid die niet onbesproken mag blijven is de neiging tot sterke jaarlijkse fluktuaties in aantallen individuen,die veel soorten tentoonspreiden.Voor een gedeelte zijn dit fluktuaties in het aantal bloeiende planten,die uiteraard meer opvallen.Een dergelijk effekt is o.a. gekonstateerd voor Limodorum abortivum (Landwehr,1978),Orchis morio,O.ustulata en Ophrys apifera (Summerhayes,1951),Orchis mascula (Summerhayes, 1951, ; Tamm,1972 ; Willems,1978),Dactylorhiza incarnata en D. sambucina (Tamm,1972) en Anacamptis pyramidalis (Sterk,1976).
Dergelijke fluktuaties zouden kunnen worden veroorzaakt door jaarlijkse klimatologische verschillen,die het wel of niet bloeien van adulte planten kunnen veroorzaken.Minder doorzichtig zijn deze invloeden op de ontwikkeling van zaad tot "kiemplant" tot juveniele plant.Gezien de lange ontwikkelingstijd van vele soorten (volgens Summerhayes minimaal 1 jaar voor Orchis morio tot maximaal 10 à 15 jaar voor O.ustulata,geldend voor de ontwikkeling van zaad totaan de vorming van het eerste bovengrondse blad) zal het enige jaren duren voordat wisselingen in klimatologische omstandigheden tot uitdrukking komen in wisselingen in het aantal bloeiende planten.
Merkwaardiger is echter het geheel ondergronds doorgroeien van sommige planten gedurende 1 of meer jaren,gemeld door meerdere auteurs.Deze situatie bereikt zijn meest curieuze hoogtepunt bij de mogelijkheid tot ondergrondse bloei van Neottia nidus-avis (Landwehr,1978) en het tot tientallen jaren toe ondergronds blijven van Epipogium aphyllum (Landwehr,1978 ; Summerhayes,1951).
De laatste heeft aan dit merkwaardige gedrag zijn Nederlandse naam "spookorchis" te danken.Daar dit ondergrondse bestaan veel te maken heeft met de relatie met de schimmels,zal het daar verder worden behandeld.

1.3 Levenscyclus

In de levenscyclus van alle orchideeënsoorten komt een opvallende afwijking van het "normale" patroon voor,die belangrijk is voor het verloop van de infektie door mycorrhiza-schimmels.
De zeer kleine zaden bestaan slechts uit een testa,waarin een

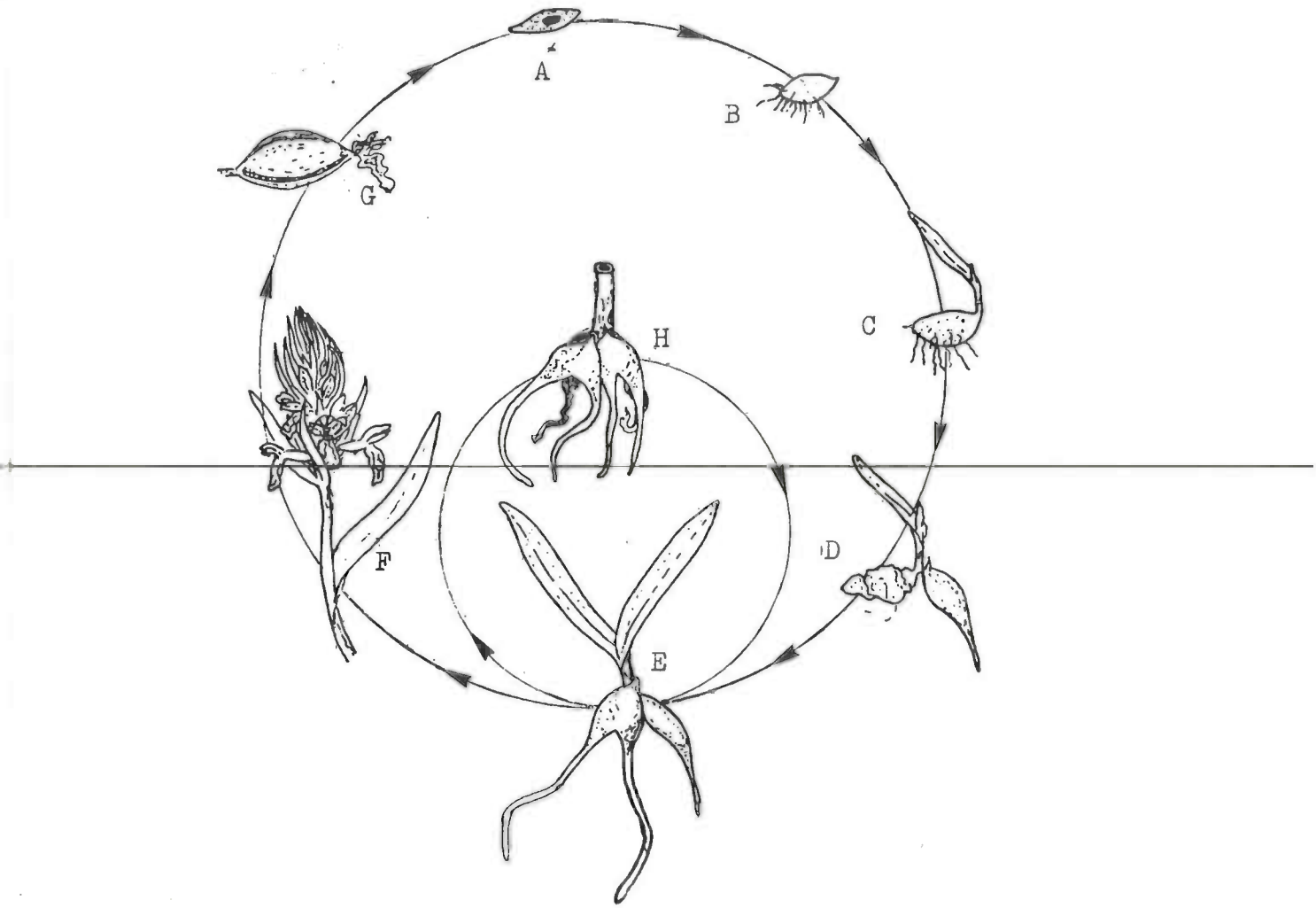


Fig.2 - Levenscyclus van de Vleeskleurige Orchis (Dactylorhiza incarnata).A : zaad met embryo ; B : protocorm ; C : protocorm met eerste blad (± 2 jaar) ; D : vorming eerste knol (eind tweede jaar) ; E : eerste knol met spruit en vorming van een nieuwe knol ; F : eerste bloei (vierde à vijfde jaar) ; G : vrucht ; H : vegetatieve voortplanting : oude knol vormt twee jonge.

weinig gedifferentiëerd embryo aanwezig is.Het zaad bevat maar weinig reservestoffen en wel in de vorm van lipiden (Arditti, 1967).In aanwezigheid van water zwelt het zaad en het embryo barst uit de testa; dit stadium wordt over het algemeen als de kieming gedefiniëerd.Het zo gevormde weefselklompje wordt vanaf dit moment het protocorm genoemd.Het lipide verdwijnt en korreltjes zetmeel worden zichtbaar (Hadley & Williamson,1971).Over het algemeen bezitten de protocormen der europese soorten een aantal epidermisharen (zie Stoutamire,1974).
Hoewel van vele epifytische soorten maar ook van bv. Spiranthes cernua en S.sinensis de protocormen bladgroen bevatten (Stoutamire,1974) stopt over het algemeen op dit punt de groei als er geen infektie volgt met een geschikte schimmel; de funktie van de schimmel kan veelal worden vervangen door een uitwendige

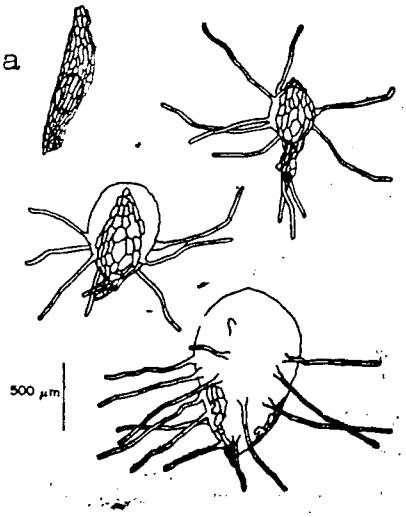
koolstof- en energiebron (zie Harley,1969).
De infektie van het protocorm vindt meestal plaats via de epidermisharen; vandaaruit breidt de infektie zich verder uit.De infektie blijft echter beperkt tot één zijde van het protocorm, waarbij de toekomstige vegetatiepunt blijft gevrijwaard van infektie.
Op dit moment treden er grote veranderingen op in het metabolisme van het protocorm.Blakeman c.s.(1976) konstateerden voor Dactylorhiza purpurella een verhoging van de respiratie en een toename van polyfenoloxidase-,ascorbinezuuroxidase-,peroxidase-, en katalase-aktiviteit.Door toegenomen DNA-synthese (Williamson,1970) blijkt het DNA-gehalte van geïnfekteerde cellen veel hoger te liggen dan dat van niet-geïnfekteerde (Williamson & Hadley,1969).Dit laatste staat in de oudere literatuur al bekend als de "hypertrofie" van de celkernen.Na de infektie worden de zetmeelreserve's gedeeltelijk gehydrolyseerd,gevolgd door een toename in grootte van het protocorm (Hadley & Williamson, 1971).
Gedurende enige tijd (minimaal 1 jaar) groeit het protocorm monopodiaal,d.w.z. steeds met dezelfde groeias.Na deze periode ontwikkelt de groeipunt zich verder en vormt het eerste blaadje (fig.2c);ongeveer tegelijkertijd worden op dezelfde groeipunt, maar meer onderaan,de eerste echte worteltjes gevormd.Het is al opgemerkt,dat de tijdsduur tot de vorming van het eerste blad aanzienlijk kan variëren : tabel 1 geeft hiervan een overzicht (gebaseerd op Fuchs & Ziegenspeck,1922,1924 ; Ziegenspeck,1936 ; Summerhayes,1951 ; voor Orchis simia Willems,1982).

Tabel 1 - Ontwikkelingsduur (in jaren) tot het eerste-bladstadium (eerste kolom) en tot de eerste bloei (tweede kolom) van enkele orchideeënsoorten

soort	1e groene blad	1e bloei
Anacamptis pyramidalis	5	7 à 8
Cephalanthera damasonium	8	10 à 11
Corallorhiza trifida	-	7
Cypripedium calceolus	2 à 3	16 of meer
Dactylorhiza-soorten	2	4 à 5
Listera ovata	4	13 à 15
Neottia nidus-avis	-	9 à 11
Ophrys apifera	2	5 à 8
Orchis mascula	4	6 à 8
Orchis militaris	4	6 à 9
Orchis simia	4	7 à 10
Orchis ustulata	10 à 15	13 à 16
Spiranthes spiralis	11	13 à 15

Na deze periode schakelen vrijwel alle Europese soorten over op de sympodiale groeiwijze : elk jaar vindt de zichtbare groei plaats aan een nieuw gevormde as,die zich naast die van een vorig jaar bevindt.Hierbij zijn er twee mogelijkheden : de meeste Epidendroidae vormen een rhizoom,dat zich ondergronds bevindt en vanwaaruit de groeistengels voor elk jaar zich aftakken (bv. Epipactis,Liparis,Cephalanthera maar ook Cypripedium); de Orchioidae verjongen zich elk jaar door zijdelings steeds een nieuwe knol te vormen (zie fig.2E),waarna de oude knol,na eventuele bloei,afsterft.In deze laatste groep bevinden zich o.a. Orchis, Dactylorhiza,Herminium en verwante soorten.
De plant bevindt zich nu in een zich jaarlijks herhalend ritme, wat onveranderd blijft tot de dood van het individu (zie fig.4). Daar alle soorten meerjarig zijn,kan dat in gunstige omstandigheden lang op zich laten wachten : Wells (1981) meldt 14 jaar oude planten van Aceras anthropophorum en Spiranthes spiralis, terwijl de langstlevenden op grond van demografische berekeningen zo'n 50 à 60 jaar oud zouden kunnen worden.Ter illustratie zijn hierna tekeningen opgenomen van de eerste groei van het protocorm van Dactylorhiza purpurella,de eerste twee jaren van de ontwikkeling van Dactylorhiza praetermissa (resp. fig.3a en 3b) en van het jaarlijkse ritme van Aceras anthropophorum (fig.4).

fig.3a



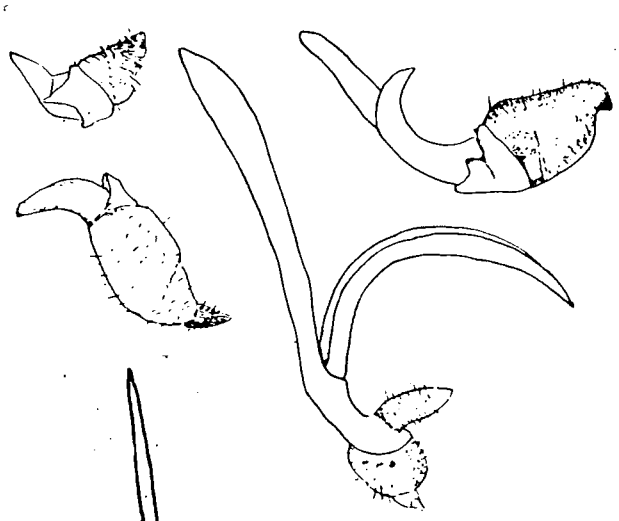


fig.3b

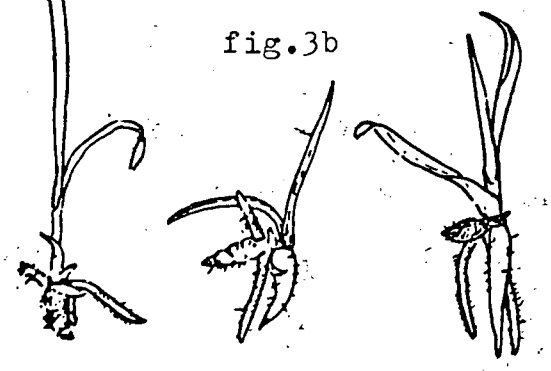


fig.3a:Ontwikkeling van het jonge protocorm van Dactylorhiza purpurella (uit Hadley & Williamson,1971);
fig.3b: groei tijdens de eerste twee jaar van Dactylorhiza praetermissa (uit Vermeulen,1947).

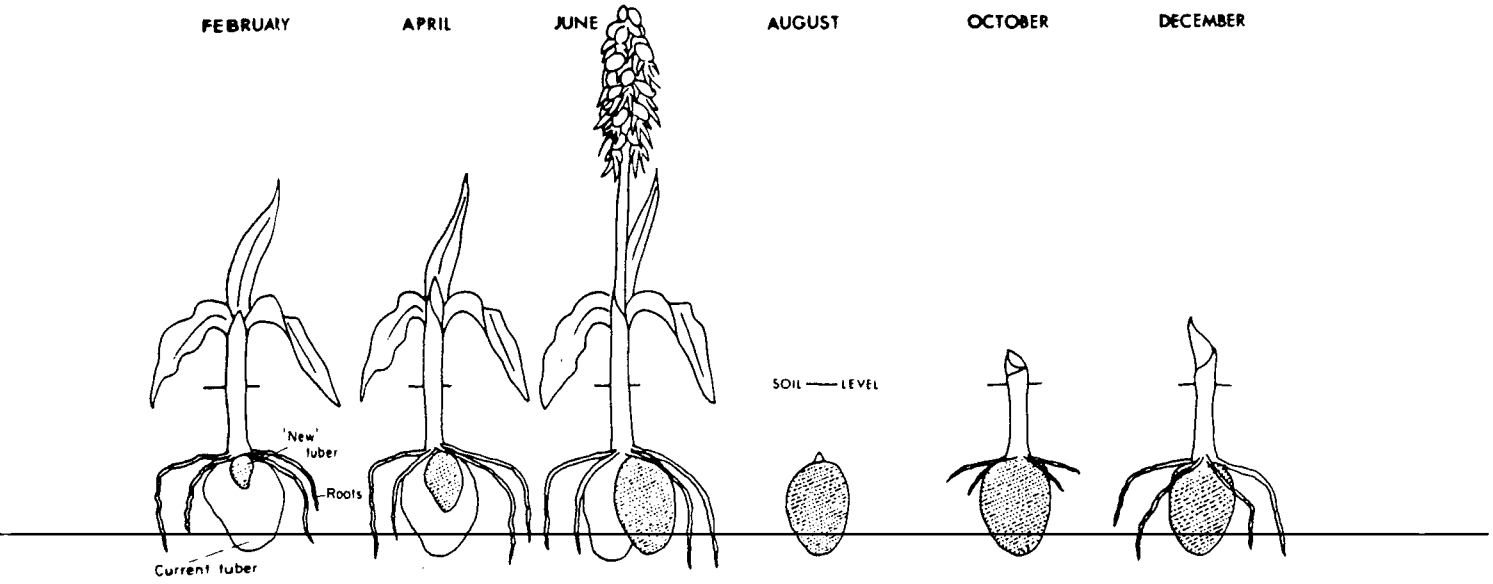


Fig.4 - Jaarlijkse cyclus van Aceras anthropophorum (uit: Wells, 1981).

Voor gedetailleerdere informatie over de ontwikkeling der jonge planten van verschillende soorten wordt verwezen naar Fuchs & Ziegenspeck (1922,1924,1927),Curtis (1943) voor rhizoomvormende soorten (Cypripedium-species) en Vermeulen (1947) voor knolvormende soorten.
Na de protocorm-fase begint niet alleen de groeivorm van de verschillende soorten uiteen te wijken: ook het verloop van de infektie begint op dit punt van soort tot soort grote verschillen te tonen (zie Harley,1969).De bladgroenloze soorten (de "saprofyten" of liever gezegd de volledige schimmelparasieten) als Neottia,Corallorhiza etc. blijven hun hele leven zwaar geïnfekteerd met schimmelhyfen,die in kontakt staan met de omringende bodem.Bij de overige soorten is de mate van infektie verschillend: sommige soorten blijven hun hele leven meer of minder zwaar geïnfekteerd,bij andere verdwijnt de schimmel uit de wortels na de vorming van het eerste blad.De bovengrondse delen blijven bij alle soorten schimmelvrij; bij de in Europa inheemse Orchioidae geldt dat ook voor de wortelknol.Bij de Epidendroidae kunnen zowel wortels als rhizoom geïnfekteerd zijn.Bij Spiranthes aestivalis en S.spiralis zijn ook de knollen bedekt met het mycelium (zie Fuchs & Ziegenspeck,1925 ; Burgeff,1936).

1.4 Orchideeënmycorrhiza's in vergelijking met andere typen van mycorrhiza's

Mycorrhiza's worden vaak in vier hoofdgroepen ingedeeld: ectomycorrhiza's,vesikulair-arbusculaire mycorrhiza's (VAM),mycorrhiza's van de Ericales en het orchideeën-type mycorrhiza.De overeenkomsten en verschillen tussen deze typen zullen hier slechts kort worden besproken; zie voor uitputtende overzichten Harley (1969); Cooke (1977) en Harley & Smith (1983).Op grond van deze literatuur is deze paragraaf ook tot stand gekomen.

De eerste tweedeling die vaak wordt gemaakt is die tussen ecto- en endomycorrhiza's.De indeling is echter gedeeltelijk kunstmatig (zie Harley & Smith,1983).Ectomycorrhiza's zijn het bekendst van bomen (bv.Pinus).De schimmel vormt hier een mantel om de wortel die via een netvormige konstruktie (het Hartig-net) in kontakt staat met de wortelkortex.De schimmelhyfen blijven altijd buiten de cellen,maar zijn wel in de intercellulairen te vinden.Bij de andere mycorrhiza's worden ook binnen de cellen schimmelhyfen gevonden; om deze reden worden ze samen endomycorrhiza's genoemd.

VA-mycorrhiza's zijn morfologisch duidelijk te onderscheiden door het voorkomen van bolvormige en bezem- of boomvormige strukturen,die door de schimmel worden gevormd binnen de cellen van de wortels van de waardplant.Deze strukturen worden resp. vesikels en arbuscules genoemd.VA-mycorrhiza's zijn aanwezig in de meerderheid der landplanten.Ook bij adulte orchideeën zijn als uitzondering wel eens VAM-schimmels in de wortels waargenomen (mondelinge mededeling dr.Limonard,1985).

Bij de Ericales zijn meerdere typen mycorrhiza te onderscheiden. Sommige typen vertonen morfologische en/of funktionele overeenkomsten met het orchideeën-type mycorrhiza.

Bij orchideeënmycorrhiza's lopen schimmelhyfen van cel tot cel in de wortelcortex zonder daarin vesikels te vormen.Wel vallen in de wortel vaak cellen op die bolvormig opeengepakte klompen schimmelhyfen bevatten (de zgn. pelotons of "hyphal coils"). Dit stadium gaat vooraf aan een gehele desintegratie van de hyfen in die cel,wat als vertering ("digestion","Pilzverdauung") bekend staat.Al sinds jaar en dag is er een diskussie gaande, of dit fenomeen dient ter "voeding" van de orchidee of moet worden gezien als een afweerreaktie van de plant.Harvais & Hadley (1967b) en Hadley & Williamson (1971) vonden al een groei-

stimulans bij protocormen van Dactylorhiza purpurella,als deze wel geïnfekteerd waren,maar er nog géén pelotons gevormd waren. Daarentegen vond Hadley (1984) meer recent bij geïnfekteerde protocormen van Dactylorhiza purpurella en Goodyera repens een ^{14}C-label uit glucose vóór deze vertering alleen terug als gelabelled trehalose,een typische "schimmelsuiker" die in hogere planten niet wordt gevonden (Purves & Hadley,1975,1976; Smith, 1967).Dit suggereert,dat de omzetting naar de typische "hogere-plant-suikers" pas na de vertering zou optreden.Daarmee is de diskussie weer opnieuw aangewakkerd.

Funktioneel onderscheiden orchideeënmycorrhiza's zich duidelijk van vrijwel alle andere typen mycorrhiza,wat het onderstaande tabelletje uit Mosse (1978) duidelijk moge maken (deze tabel is voor orchideeënmycorrhiza inmiddels al gedeeltelijk achterhaald; aanvullingen volgen in de loop van deze scriptie).

Tabel 2 - Funktionele verschillen tussen de vier hoofdgroepen mycorrhiza's.

mycorrhiza-type	effekt op groei	belangrijkste geleverde stoffen
ectomycorrhiza	verbeterde nutrientopname	P,K
VA-mycorrhiza	" "	P,Zn,Sr,S,K
mycorrhiza van de Ericales	" "	organische N,P
orchidaceeën-type	verbeterde kieming, bloeiinduktie bij sommige saprofyten	sucrose,andere koolhydraten

Hiermee tekent het grote verschil zich af: terwijl bij andere typen mycorrhiza de waardplant suikers "ruilt" voor een verbeterde nutriëntopname,betrekt het protocorm van orchideeën zowel suikers als nutriënten (hoewel die niet in dit schema staan vermeld) van de schimmel.De suikerstroom is in het geval van orchideeënmycorrhiza's omgekeerd gericht.Terwijl er bij de andere typen sprake is van een mutualistische symbiose,is een orchidee gedurende kortere of langere tijd te beschouwen als een schimmelparasiet.In volwassen staat zijn vele orchideeën halfparasieten op schimmels,vergelijkbaar met meerdere Scrophularia-

ceeën die halfparasiet zijn op grassen.
Hoewel de verschillen tussen orchideeën- en andere mycorrhiza's in schema nogal absoluut lijken,komen er in feite overgangen voor.Mycorrhiza's van bv. Pyrola en Gentianella en van vele bladgroenloze soorten als bv. Monotropa vertonen funktioneel overeenkomsten met de mycorrhiza's van orchideeën.
Voor de niet-mutualistische verhouding tussen orchidee en mycorrhiza-schimmel zal in het volgende de term "symbiose" worden gebruikt,hoewel deze in het algemeen wordt geassocieerd met mutualisme.

1.5 Vraagstelling van het onderzoek

Het bovenstaande mag het belang van mycorrhiza's voor orchideeën onderstrepen.
De aanleiding voor deze studie was het feit,dat zich onder de in Nederland algemenere soorten relatief veel soorten bevinden die in volwassen staat niet of nauwelijks zijn geïnfekteerd. Gezien het belang van de symbiose bij deze groep werd een verband vermoed.
Dit gaf aanleiding tot de volgende theorie: soorten die ook in volwassen staat geheel afhankelijk blijven van hun schimmelsymbiont (de sterk mycotrofe soorten) hebben een kleinere habitatbreedte dan soorten die in de volwassen fase helemaal autotroof zijn.Dit zou worden veroorzaakt doordat de amplitude van sterk afhankelijke soorten de resultante is van de amplitude van zowel schimmel als hogere plant.Als er zich na vestiging van de symbiontische eenheid bepaalde veranderingen zouden voordoen,die nog wel binnen de habitatbreedte van de hogere plant, maar niet binnen de amplitude van de schimmel zou vallen,zou een sterk mycotrofe soort gedoemd zijn te verdwijnen,voorafgegaan door de schimmel.Een onafhankelijke soort zou zich in deze omstandigheden kunnen handhaven,zij het dat de vestiging van jonge individuen dan onmogelijk is geworden.Deze kleinere habitatbreedte maakt sterk afhankelijke soorten zeldzamer en meer kwetsbaar voor veranderingen dan onafhankelijke soorten;door dat laatste zouden ze in Nederland sterker achteruit kunnen gaan dan hun meer zelfstandige verwanten.
De uitgangsstelling wordt daarmee: sterk afhankelijke soorten zijn zeldzamer omdat de verspreiding van de schimmelsymbiont

ook de verspreiding van de adulte plant plant bepaalt.Sterk afhankelijke soorten gaan sneller in aantal achteruit door het wegvallen van de schimmel in veranderende milieuomstandigheden.

Ter verificatie van deze stelling werd geprobeerd een overzicht te krijgen over de volgende gebieden:

1) welke schimmels zijn betrokken bij orchideeënmycorrhiza's?
2) hoe groot is de habitatbreedte van deze schimmels?
3) in welke mate zijn de verschillende orchideeënsoorten afhankelijk van deze schimmels?
4) waaruit bestaat deze afhankelijkheid fysiologisch?
5) hoe groot is de habitatbreedte van de verschillende orchideeënsoorten?
6) lijkt er een korrelatie te zijn tussen de mate van afhankelijkheid van de mycorrhiza-schimmels en habitat(breedte) van de verschillende soorten?

De vijfde vraag werd gedeeltelijk beantwoord door een vegetatiekundige bewerking van opname's waarin orchideeën aanwezig waren,terwijl op de andere vragen een antwoord werd gezocht via literatuurstudie.De gestelde vragen zullen alle,zij het in een andere volgorde,de revue passeren.

2 - DE SCHIMMELS

2.1 Classificatie van de mycorrhiza-vormende schimmels

De classificatie van de schimmels die in staat zijn tot effektieve mycorrhiza-vorming bij orchideeën wordt in ernstige mate bemoeilijkt door de omstandigheid dat van vele betrokken soorten alleen de imperfekte (ongeslachtelijke) stadia bekend zijn. Langzamerhand worden echter van steeds meer soorten ook de perfekte stadia bekend (zie Warcup,meerdere titels),waardoor de indeling minder onnatuurlijk kon worden gemaakt.
De schimmels lijken alle tot de Basidiomyceten te behoren; meldingen van Ascomyceten als mycorrhiza-vormers moeten onbetrouwbaar worden geacht (Warcup,1975).
Traditioneel worden twee hoofdgroepen onderscheiden (en een restkategorie): een groep met de karakteristieke gespen-mycelia (in de engelstalige literatuur het "clamp-bearing"-type genoemd; zie v.d.Hoek,1977) en schimmels met een zgn. Rhizoctonia-stadium.
Basidiomyceten met gespenmycelia komen alleen voor bij bladgroenloze soorten orchideeën.Hoewel de meeste orchideeën uit deze kategorie ook andersom een dergelijk type symbiont hebben (Burgeff,1932) zijn er op deze vuistregel uitzonderingen (Harley & Smith,1983).Burgeff meldde zelf al een Rhizoctonia-schimmel als endofyt van Neottia nidus-avis.
Van de schimmels die een effektieve symbiose opbouwen met in volwassen staat bladgroen bezittende orchideeën waren tot zeer recent louter de imperfekte stadia bekend.Deze werden op grond van morfologische overeenkomsten bijeengebracht in het vormgenus Rhizoctonia.In dit genus bevinden zich enkele duidelijke plantepathogenen,bv. Rhizoctonia solani.Dit is een ernstig pathogeen op oa. aardappel,tomaat,rijst en katoen.Bij orchideeën kan de schimmel voet- en zwartrot veroorzaken.
De eveneens tot de Basidiomyceten behorende Rhizoctonia's worden op grond van hun recent beschreven perfekte stadia ingedeeld bij de families Tullasnellaceae (Tulasnella),Ceratobasidiaceae (Ceratobasidium,Thanatephorus) en Tremallaceae (Sebacina); ook het geslacht Ypsilonidium blijkt effektieve mycorrhiza-vormers te bevatten (Warcup,1975; Warcup & Talbot,1967, 1971,1980).De meest bekende imperfekte mycorrhiza-schimmels Rhizoctonia solani,R.repens en R.goodyerae-repentis hebben als

perfekte stadia resp. Thanatephorus cucumeris,Tulasnella calospora en Ceratobasidium cornigerum.
Sommige orchideeën blijken echter ook in hun kieming te worden gestimuleerd door schimmels die geen Rhizoctonia-stadium kennen (Warcup & Nylund,geciteerd in Harley & Smith,1983).

2.2 Specificiteit van de symbiose

In de oudere literatuur wordt vaak de sugeestie gewekt als zou elke soort orchidee zijn eigen,specifieke wortelschimmel hebben.In sommige kringen is deze visie tot op heden nog populair.Waarschijnlijk vindt dit gedeeltelijke misverstand zijn oorsprong in het feit dat de schimmels vroeger werden aangeduid als bv. Mycelium Radicis (M.R.) goodyerae-repentis.Dit betekent gewoon,dat het hier om een niet nader gedetermineerd wortelisolaat van Goodyera repens gaat.Deze benoeming wekt echter wel de schijn dat het hier om meerdere schimmels zou gaan,elk behorend bij één bepaalde soort orchidee.
In het algemeen kan de relatie tussen hogere plant en schimmel niet of nauwelijks specifiek worden genoemd.
Ofschoon Burgeff (1932) nog uit leek te gaan van een specifieke relatie tussen schimmel en plant,gaf hij zelf de eerste tekenen van de onwarrschijnlijkheid daarvan aan.Hij nam waar,dat er in tropische importen vaak dezelfde schimmel voorkwam als in Europese orchideeën; hij weet dit echter aan herinfektie met Europese schimmelsoorten na het verlies van de originele endofyt.Bovendien meldde hij al,dat zaden van de Zuid-Amerikaanse Cattleya's kieming vertoonden na infektie met de schimmel van de mediterrane soort Serapias lingua.
Downie (1959a) demonstreerde dat Thanatephorus cucumeris (Rhizoctonia solani),geïsoleerd van Dactylorhiza purpurella en als pathogeen van andere planten,in staat was de groei van protocormen van verschillende Europese soorten te stimuleren. Andersom bleek D.purpurella zowel Thanatephorus cucumeris, Tulasnella calospora (Rhizoctonia repens) als een onbekende Rhizoctonia in zijn wortels te kunnen herbergen (Downie,1959b).
Harvais & Hadley (1967a) isoleerden zowel Tulasnella calospora als drie stammen van Thanatephorus cucumeris alsmede drie onbekende Rhizoctonia-soorten van meerdere soorten Europese orchideeën;dit bij een onderzoek van acht soorten planten.Bij terugoculatie van deze isolaten op protocormen van verschil-

lende Europese soorten bleek,dat endofyten van D.purpurella niet altijd een stimulering van de groei van protocormen van dezelfde soort bewerkstelligden.Iets dergelijks trad op bij Platanthera bifolia.Isolaten van Coeloglossum viride bleken kieming en groei van Dactylorhiza purpurella-protocormen te bevorderen,terwijl de endofyt van Platanthera chlorantha een grotere stimulerende invloed had op D.purpurella-protocormen dan op protocormen van de nauwere verwant P.bifolia.
Tulasnella calospora blijkt een symbiose aan te gaan met zowel Dactylorhiza purpurella en Coeloglossum viride als met enkele tropische epifytische soorten,een kunstmatige tropische hybride en een tropische terrestrische soort (Hadley,1970); alleen Goodyera repens werd niet door T.calospora op zo'n wijze geïnfekteerd dat er een goede symbiose ontstond.
Hadley & Williamson isoleerden T.calospora ook van de tropische terrestrische soort Spathoglottis plicata; deze schimmel bleek de protocormen van drie epifyten,waaronder een kunstmatige Vanda-hybride,te stimuleren (Hadley & Williamson,1972).
Aan de andere kant lijkt Goodyera repens in natuurlijke omstandigheden altijd te zijn geassocieërd met Ceratobasidium cornigerum (Rhizoctonia goodyerae-repentis),er lijkt hier dus sprake te zijn van een vrij specifieke relatie (Downie,1959;Hadley,1970, 1984;Purves & Hadley,1976;Alexander & Hadley,1984).Daartegen pleit echter weer dat Ceratobasidium cornigerum symbiotisch kan zijn met meer soorten orchideeën (Williamson & Hadley,1970) en tevens geïsoleerd is uit de tropische epifyt Thrixspermum amplexecaule (Hadley & Williamson,1972).
Voor Australische terrestrische soorten meldt Warcup (1971, 1981) een zekere mate van specificiteit van de symbiose.Caladenia-,Glossodia- en Elythranthera-soorten bleken hoofdzakelijk te zijn geïnfekteerd met Sebacina vermifera,terwijl Diurus-soorten louter Tulasnella calospora herbergden.Echter,daar Tulasnella al van veel meer soorten orchideeën is geïsoleerd,is er noch in dit geval,noch in dat van Goodyera repens sprake van een echte één op één-relatie; de meerderheid der orchideeën kan meer dan één symbiont benutten.
Voor een beknopt overzicht over deze materie wordt verwezen naar tabel 3 (stimulering van de groei van enige orchideeën-protocormen door drie Rhizoctonia-soorten) en tabel 4 (Rhizoctonia-isolaten van enkele Europese soorten) op pag.15.

Tabel 3 - Stimulering van de groei van protocormen van verschillende soorten orchideeën door resp. Ceratobasidium cornigerum (= Rhizoctonia goodyerae-repentis; 1) , Thanatephorus cucumeris (R.solani; 2) en Tulasnella calospora (R.repens; 3).De afkortingen geven informatie over de orchideeën: epifytisch (E) of terrestrisch (T); Europees (EUR),Aziatisch (AZ),Zuid-Amerikaans (ZAM) of Australisch (AUS).

soort	1	2	3	auteur
Arundina graminifolia (E,AZ)			+	Hadley & Williamson,'72
Cattleya spec. (E,ZAM)			+	zie Harley,1969
Coeloglossum viride (T,EUR)		+	+	Downie,1959a
				Hadley,1970
Cymbidium caniculatum (AUS)			+	Hadley,1970
Cymbidium spec.			+	Vermeulen,1947
Dactylorhiza elata (T,EUR)			+	Vermeulen,1947
Dactylorhiza foliosa (T,Madeira)		+		Downie,1959a
Dactylorhiza maculata ssp.ericetorum (T,EUR)		+		Downie,1959a
Dactylorhiza purpurella (T,EUR)		+	+	Downie,1959a
				Smith,1966
				Hadley,1970
Dactylorhiza praetermissa (T,EUR)			+	Vermeulen,1947
				Smith,1966
Epidendrum ibaguense (E,ZAM)			+	Hadley,1970
Epidendrum nocturnum (E,ZAM)			+	Hadley,1970
Epidendrum radicans (E,ZAM)			+	Hadley,1970
Goodyera repens (T,EUR)	+	+		Downie,1959a
				Smith,1967
				Hadley,1934 eva.
Gymnadenia conopsea (T,EUR/AZ)		+		Downie,1959a
Spathoglottis plicata (T,AZ)			+	Hadley,1970
				Hadley & Williamson,'72

Tabel 4 - Rhizoctonia-isolaten bij adulte planten van enige Europese orchideeënsoorten.1=Ceratobasidium cornigerum, 2=Thanatephorus cucumeris,3=Tulasnella calospora, 4=Corticium (Thanatephorus ??) catonii,5=Thanatephorus orchidicola,6=Rhizoctonia versicolor.

soort	schimmel 1	2	3	4	5	6	auteur
Coeloglossum viride		+					Harvais & Hadley,'67a
Cypripedium calceolus				+			zie Harley,1969
Dactylorhiza elata					+		Hadley,1980
Dactylorhiza maculata			+				Vermeulen,1947
- ssp.ericetorum			+				Harvais & Hadley,'67a
Dactylorhiza majalis			+				Vermeulen,1947
Dactylorhiza praetermissa			+				Vermeulen,1947
Dactylorhiza purpurella		+	+				Downie,1959a
							Smith,1966
							Harvais & Hadley,'67a
							Hadley & Ong,1978
Goodyera repens	+						Hadley & Ong,1973
Gymnadenia conopsea			+				Harvais & Hadley,'67a
Hammarbya paludosa			+				Vermeulen,1947
Himantoglossum hircinum						+	zie Harley,1969
Liparis loeselii			+				Vermeulen,1947
Listera ovata			+				Harvais & Hadley,'67a
Ophrys lutea			+				Salomé,Pais & Barroso,1983
Orchis mascula					+		zie Harley,1969
Orchis militaris			+				Hadley,1980
Orchis morio			+				Vermeulen,1947
Platanthera bifolia			+				Harvais & Hadley,'67a
							Hadley & Ong,1978

2.3 Ecologie en habitatbreedte van de schimmels

Voor zover bekend zijn alle schimmels die effektieve mycorrhiza's kunnen vormen met orchideeën in staat tot een saprofytische levenswijze,terwijl Thanatephorus cucumeris zich als fytopathogeen kan gedragen.Ceratobasidium cornigerum,Tulasnella calospora en een onbekende Rhizoctonia bleken alle in staat om cellulose af te breken en daarmee in hun C-behoefte te voorzien (Smith,1966;Harley,1969).Hetzelfde geldt ook voor Thanatephorus cucumeris (Garrett,1962;Smith,1966).Verder blijken zowel Ceratobasidium cornigerum,Thanatephorus cucumeris als Tulasnella calospora een aantal pectine-afbrekende enzymen aan te maken (Hadley & Perombelon,1963).Hoewel deze soorten dus volledig zelfstandig door het leven kunnen gaan,vond Vermeulen (1947) een isolaat van Tulasnella calospora dat heterotroof was voor thiamine (=aneurine,vitamine B1) en biotine (vitamine H).Een niet gedetermineerd Rhizoctonia-isolaat van Cymbidium bleek op dezelfde wijze heterotroof voor PABA (paraamino benzoylzuur;Hijner & Arditti,1973).PABA is een bestanddeel van folinezuur,een vitamine uit het B2-komplex (Karlson, 1980).Rhizoctonia repens-isolaten bleken heterotroof te kunnen zijn voor zowel PABA als thiamine (Hadley & Ong,1978).
Ofschoon een aantal Rhizoctonia's zekere beperkingen aan hun habitat stelt,heeft in ieder geval een aantal anderen een habitatbreedte die die van de afzonderlijke orchideeën ruimschoots overtreft.Downie (1943,1959a) vond Ceratobasidium cornigerum op plaatsen waar de "bijbehorende" Goodyera repens niet meer voorkwam.Thanatephorus cucumeris vertoont een enorme verspreiding over vele habitats als bodemsaprofyt en plantenpathogeen (Downie,1959a;Garrett,1962;zie ook Harley,1969).Hoewel de laatste een enorme tolerantie aan de dag legt voor vochtigheidsgraad en temperatuur in gesteriliseerde grond,lijkt deze schimmel in al te vochtige bodems te worden weggekonkurreerd door andere bodemorganismen (Harvais & Hadley,1967).Harvais & Raitsakas (1975) bevestigden experimenteel een lagere opbrengst van T.cucumeris bij beperkte aëratie.Tulasnella calospora is uit een groot aantal orchideeën uit zeer verschillende habitats geïsoleerd,wat een grote tolerantie voor de verschillende bodemtypen suggereert (zie tabel 4); behalve van Europese soorten is de schimmel bv. ook van tropische en Australische terrestrische orchideeën, en van tropische epifyten verzameld (zie

bv.Hadley & Williamson,1972;Warcup,1971).Behalve voor T.calospora meldt Harley (1969) eveneens een grote tolerantie van Rhizoctonia lanuginosa en R.mucoroides.Rhizoctonia sclerotica en R.stahlii zouden meer beperkt zijn tot vochtige,basische en open situaties terwijl R.borealis voorkwam in zuurdere milieutypen als dennebossen (op grond van citaten van Curtis en Downie).
In hoeverre deze grote habitatbreedte wordt veroorzaakt door het bestaan van meerdere edafische rassen binnen een schimmelsoort is niet duidelijk.

2.4 Samenvatting hoofdstuk 2

Een aantal typische orchideeënendofyten heeft een habitatbreedte die vele malen groter is dan de tolerantie van de verschillende soorten orchideeën,waarmee ze kunnen zijn geassocieërd. Hoewel een aantal schimmels aanmerkelijk minder tolerant is m.b.t. de verkozen milieuomstandigheden en er wellicht geen sprake is van een tolerante soort,maar van een aantal minder tolerante stammen binnen een soort,is het voor een bepaalde plant,die in symbiose leeft met zo'n minder tolerante schimmel, altijd mogelijk om over te stappen op een andere,wellicht minder kieskeurige symbiont.Dit laatste omdat de gevonden relaties tussen hogere plant en schimmel nauwelijks enige specificiteit vertonen.
In feite is de uitgangsstelling hiermee al gefalsifiëerd: het moet uiterst onwaarschijnlijk worden geacht dat het wel of niet voorkomen van een bepaalde schimmelsoort een beperkende faktor kan zijn voor het voorkomen van een bepaalde soort orchidee.

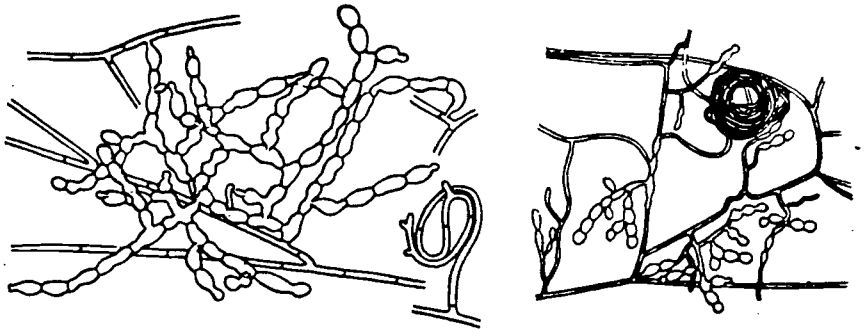


Fig.5 - Rhizoctonia mucoroides (links) en Rhizoctonia repens (rechts);x 160. Uit: Hadley (1983).

3 - FYSIOLOGISCHE ASPEKTEN VAN DE SYMBIOSE

3.1 Aanwijzingen voor transport via uitzaaiexperimenten

Zoals al werd vermeld groeien protocormen in afwezigheid van een geschikte mycorrhiza-schimmel nauwelijks voorbij het stadium van de kieming als er geen externe koolstof- en energiebron voorhanden is.De enige twee uitzonderingen hierop die tot nu toe zijn waargenomen vormen Sobralia macrantha en Bletilla hyacintha,twee tropische soorten met groene protocormen; deze bezitten blijkbaar genoeg fotosynthetiserend weefsel om enige groei mogelijk te maken zonder externe koolstofbron.
Ook in deze twee gevallen is de groei mét de schimmel vele malen beter (zie Harley,1969).
De groeistop die protocormen van veel soorten vertonen kan in vele gevallen worden opgeheven door uitzaai op een medium dat naast suikers de belangrijkste macro- en micronutriënten bevat. Hoewel in de vrije natuur het protocorm wellicht zelf een aantal van deze nutriënten zou kunnen opnemen via het bodemvocht (dit met uitzondering van het moeilijk beschikbare fosfaat), moet het uitgesloten worden geacht dat het ook de suikers direkt zou kunnen opnemen; dit in verband met de hevige kompetitie met micro-organismen.Waarschijnlijk betrekt het protocorm dus zijn suikers van zijn endofyt.
Bij toediening van een dergelijk medium blijkt een groot aantal orchideeën nog steeds een zeer gebrekkige groei te vertonen; onder deze is het merendeel van de Europese soorten.Door verdere toevoegingen van verschillende aard is het mogelijk de groei weer te laten doorzetten (voor een overzicht hierover zie Arditti,1967,1983; in het volgende zullen slechts enkele voorbeelden worden aangehaald).
Chemisch slecht gedefiniëerde substanties als bv. extracten van allerlei planten,pepton en caseïnehydrolysaat (mengsels van allerlei aminozuren) en gistextract (met vele vitamine's) geven vaak een opmerkelijke stimulatie van de groei (zie Fast,1978).Ofschoon op dergelijke wijze voor de uitzaai van de soorten zeer bevredigende resultaten zijn te verkrijgen,is het wetenschappelijk interessanter om na te gaan,wat de werkzame komponenten in deze mengsels zijn.
Toevoeging van caseïnehydrolysaat blijkt stimulerend voor de

groei van Dactylorhiza purpurella.Dit kan worden vervangen door hetzij glutaminezuur,dan wel arginine of ornithine (Harvais & Raitsakas,1975).Zodoende moet D.purpurella wel heterotroof zijn voor deze drie stoffen,die hij blijkbaar inelkaar kan omzetten.Glutaminezuur blijkt in ruime mate voorhanden in het geteste RS-10-isolaat van Thanatephorus cucumeris.
Andere groeistimulerende dan wel noodzakelijke toevoegingen zijn enkele vitamine's.Nicotinezuur (vitamine B2-komplex) en een gedeelte van thiamine (vitamine B1) kunnen door Rhizoctonia's worden afgescheiden (Hijner & Arditti,1973) terwijl een isolaat van Thanatephorus cucumeris zowel nicotinezuur als thiamine bleek aan te maken (Harvais & Pekkala,1975).
Ook groeistoffen kunnen soms essentiële toevoegingen vormen aan het medium.Opvallend zijn de verschillen in reaktie daarop tussen de verschillende orchideeën: kinetine en kinetineriboside blijken de vorming van goed gevormde scheuten aan D.purpurella-protocormen te stimuleren (Harvais,1971) maar deze stoffen lijken de protocormen van Cypripedium reginae geen goed te doen (Harvais,1973).Ook het ontwikkelingsstadium van het protocorm blijkt bepalend voor een al dan niet gunstige invloed van een bepaalde groeistof (Nakamura,1982).
Hoewel door deze toevoegingen een reëel betere groei kan worden verkregen is de ontwikkeling van de protocormen vaak nog inferieur aan die bij symbiotische uitzaai; behalve het waarschijnlijke transport van essentiële aminozuren,vitamine's en wellicht groeistoffen zal de lijst waarschijnlijk dan ook nog wel worden uitgebreid (Hadley & Harvais,1968).
Enkele voorbeelden van essentiële of groeibevorderende toevoegingen voor de ontwikkeling van enkele soorten staan opgesomd in onderstaande tabel 5.

Tabel 5 - Enige essentiële of groeibevorderende toevoegingen voor de ontwikkeling van enkele orchideeënprotocormen.

Cypripedium reginae (Harvais,1973)	thiamine (vit.B1) panthotheenzuur (vit.B2-kompl.) pyridoxine
Dactylorhiza purpurella (Harvais & Raitsakas,1975)	glutaminezuur arginine ornithine

(tabel 5,vervolg)

Dactylorhiza purpurella (Harvais,1971)	kinetine kinetineriboside nicotinezuur (vit.B2-kompl.)
idem (Hadley & Harvais,1968)	indolzaijnzuur (IAA) kinetine
Galeola septentrionalis (Nakamura,1982)	organische stikstof auxine cytokinine
Ophrys sphegodes (Mead & Bulard,1975)	thiamine nicotinezuur pyridoxine biotine (vit.H) glutamine
Orchis laxiflora (Mead & Bulard,1975,1979)	als onder Ophrys sphegodes riboflavine
Paphiopedilum spp. (Pierik c.s.,1983)	nicotinezuur pyridoxine biotine

3.2 Experimenteel getoetst transport van schimmel naar protocorm

Direkt bewijs voor transport van schimmel naar orchideeënprotocormen werd voor het eerst geleverd in enkele fraai uitgevoerde proeven door Smith (1966).
Zaden van Dactylorhiza purpurella,symbiotisch met Tulasnella calospora,werden op een plaat gebracht waarin in het midden een diffusiebarrière was uitgespaard.Op het moment dat de schimmel over deze barrière was heengegroeid,werd deze op die kant gevoed met resp. ^{14}C en ^{32}P; deze stoffen waren dus voor de protocormen niet direkt bereikbaar.Beide labels bleken na verloop van enkele dagen in D.purpurella terug te vinden.Op dezelfde manier werden protocormen van D.praetermissa en D. purpurella symbiotisch geënt op een plaat met diffusiebarrière, waarvan de ene helft geen C-bron bevatte.Nadat Tulasnella de barrière had overgroeid en de beschikking kreeg over cellulose als C-bron,nam de groei van de twee Dactylorhiza's enorm toe t.o.v. de niet geënte kontrôle's.
In een vervolgexperiment (Smith,1967) werd aan Rhizoctonia spec. ^{14}C-gelabelled glucose aangeboden.Terwijl in de eerste

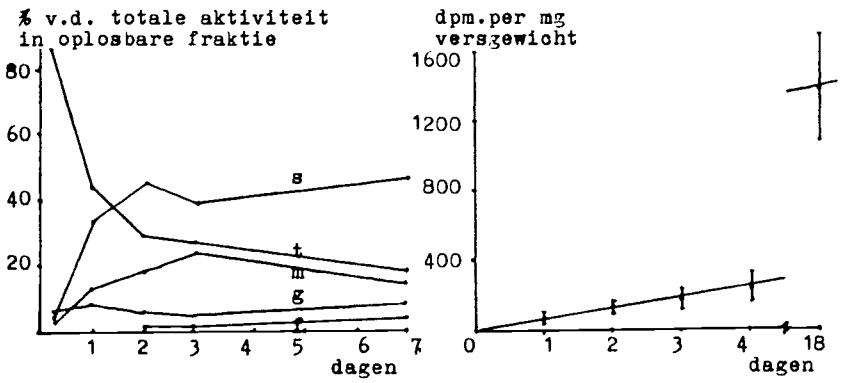


fig 6 (l) en 7 (r) : transport van ^{14}C van schimmel naar orchidee.

fig 6 (naar Smith,1967): procentsgewijze verschijning van het ^{14}C-label in verschillende suikers bij D.purpurella-protocormen na toediening van het label als ^{14}C-glucose aan Thanatephorus cucumeris; s=sucrose (saccharose),een in dit systeem typerende suiker voor D.purpurella; t=trehalose en m=mannitol, typerend voor T.cucumeris; g=glucose en f=fruktose.

fig 7 (Purves & Hadley,1975): verschijnen van radioaktiviteit in Goodyera repens na toediening van ^{14}C-glucose aan de symbiont Ceratobasidium cornigerum.

Overgenomen uit : Purves & Hadley,1975; nadere uitleg: zie tekst.

dagen het label hoofdzakelijk in trehalose (een typerende suiker voor fungi,die in hogere planten niet voorkomt) verscheen, werd het daarna in toenemende mate teruggevonden in sucrose, een disaccharide die door schimmels niet wordt gesynthetiseerd (zie fig.6).

Protocormen van D.purpurella en Bletilla hyacintha bleken voorts goed te groeien op de suikers glucose,sucrose en trehalose (Smith,1973),maar slecht op mannitol.B.hyacintha bleek zowel glucose en trehalose als mannitol,toegediend aan stukjes blad,goed op te nemen; echter alleen glucose en trehalose werden omgezet naar sucrose (Smith & Smith,1973).Uit deze proeven kan worden gekonkludeerd,dat in ieder geval D.purpurella ^{14}C en ^{32}P ontvangt van zijn symbiont; de suikers worden grotendeels overgedragen als trehalose en worden vervolgens door de orchidee omgezet tot sucrose.

Op vergelijkbare wijze dienden Purves & Hadley (1975) ^{14}C-gelabelled glucose toe aan Ceratobasidium cornigerum; het label was al na één dag terug te vinden in Goodyera repens als een verhoging in radioaktiviteit (zie fig.7).

Hadley (1984) diende ^{14}C-gelabelled glucose toe aan wel - en niet geïnfekteerde protocormen van D.purpurella en G.repens. Symbiotisch groeiende protocormen bleken aanmerkelijk meer van het label op te nemen dan asymbiotisch groeiende.Ook hier was het label gedurende de eerste tijd hoofdzakelijk terug te vin-

den als ^{14}C-trehalose; dit was zo vóórdat de eerste vertering van hyfen-pelotons was opgetreden.
Met deze serie gegevens mag de overdracht van suikers en fosfor van schimmel naar protocorm bewezen worden geacht; Hadley's waarnemingen in relatie tot de peloton-vertering is tevens van belang voor de discussie over de funktie hiervan.
Hadley & Purves (1974) dienden $^{14}CO_2$ toe aan Goodyera repensplantjes; ze vonden geen aanwijzingen dat er transport van ^{14}C van orchidee naar schimmel plaatsvond,bv. in de vorm van suikers.Wel bleek de schimmel in staat ^{14}C over te nemen van dode protocormen.Dit bevestigt het parasitaire karakter van de symbiose,gezien vanuit de hogere plant.Hierbij dient aangetekend dat het transport van vitamine B1-precursors tussen de twee komponenten van de symbiose niet kan worden uitgesloten (Hijner & Arditti,1973).

3.3 Transport van de schimmel naar de adulte plant

Hoewel er relatief veel studie is gemaakt van het belang van mycorrhiza's voor orchideeën in de protocorm-fase,is de rol van de symbiose voor volwassen planten lange tijd een witte vlek geweest in dit onderzoek; deze is pas zeer recent gedeeltelijk opgevuld door studies van C.E.Alexander c.s.
Zij toonde aan voor Goodyera repens,geassocieerd met Ceratobasidium cornigerum,dat symbiotisch opgroeiende planten een aanmerkelijk hogere groeisnelheid,en een hoger N- en P-gehalte hadden dan asymbiotisch groeiende.Dit suggereert hulp van de schimmelsymbiont bij de opname van deze nutriënten,temeer daar de behandeling van geïnfekteerde planten met fungicide (waarna het externe mycelium geheel te gronde ging) een daling van zowel groeisnelheid als van N- en P-gehalte bewerkstelligde (Alexander & Hadley,1984).
In een vervolgstudie bleek dat de opname van P bij geïnfekteerde Goodyera's zo'n 100x groter was dan die van planten zonder mycorrhiza.Toedienen van fungicide liet de P-opname dalen.De groeisnelheid van symbiotische planten was beduidend hoger als er weinig fosfaat in het medium beschikbaar was; bij een hogere beschikbaarheid was de opname niet significane lager. Tevens bleek de schimmel fosfaat over afstanden tot zo'n 9 cm te transporteren (Alexander,Alexander & Hadley,1984).
Voor Goodyera lijkt dus het belang van de infektie ook voor

adulte planten aanzienlijk.Dat lijkt niet te gelden voor bv. Dactylorhiza purpurella en Spathoglottis plicata: Hadley & Williamson (1972) melden dat het wel of niet geïnfekteerd zijn voor deze soorten geen invloed lijkt te hebben op de groei. Gezien het feit,dat deze soorten in volwassen staat altijd veel minder sterk zijn geïnfekteerd dan Goodyera,lijkt het voor de hand liggend om te veronderstellen dat het belang van de infektie voor volwassen orchideeën van soort tot soort verschilt.

4 - DE BALANS TUSSEN DE SYMBIONTEN

In de uitgangsstelling werd een cruciale rol toebedeeld aan het wel of niet voorkomen van een geschikte symbiont voor het aanwezig zijn van volwassen individuen van ook in deze fase sterk afhankelijke orchideeësoorten.Deze stelling moest al vrij spoedig worden verlaten.In plaats hiervan lijkt de stelling waarschijnlijker,dat de balans tussen de twee symbionten een beslissende rol speelt.Deze balans lijkt direkt onder invloed te staan van de voedingstoestand van de omgeving waarin de symbiotische eenheid zich bevindt.
Al in Vermeulen (1947) en Burgeff (1959) is de visie terug te vinden,dat de verhouding tussen de twee symbionten afhangt van een vrij labiel evenwicht.In het volgende zal gepoogd worden om de feiten die hiermee in overeenstemming zijn,op een rij te zetten.
Orchideeën hebben twee manieren om de verspreiding van de schimmels binnen hun weefsels te beperken.Enerzijds bestaat die beperking uit het optreden van de al genoemde vertering van hyfenpelotons,anderzijds uit de vorming van antistoffen als orchinol, hircinol en loroglossol.De vorming van deze stoffen wordt geinduceerd door infektie met bakteriën of schimmels."Normale" bodemschimmels blijken deze afweer niet efficiënt op gang te brengen,maar mycorrhiza-schimmels wel (Withner,1974; Harley & Smith,1983).Genoemde afweerstoffen zijn polyfenolen,en worden gezamelijk fytoalexinen genoemd.Als mogelijke afweer tegen deze polyfenolen blijkt Tulasnella calospora als endofyt van Ophrys lutea polyfenoloxidasen te maken (Salomé,Pais & Barroso,1983).
Gedurende de vestiging van de symbiose in het protocorm kan de samenwerking tussen schimmel en hogere plant op vele manieren ontsporen (zie figuur 8,pag.25).Na een aanvankelijk goed verloop van de infektie kan de schimmel zo virulent worden,dat het protocorm wordt geparasiteerd,waarna het sterft.Aan de andere kant kan de orchidee door een te hevige afweer de schimmel elimineren,waarna de groeistimulans voor het protocorm wegvalt,met hetzelfde resultaat (zie Harley & Smith,1983).
Bij symbiotische uitzaai van Dactylorhiza purpurella vonden Harvais & Hadley (1967b) een snelle uitputting van zetmeelreserve's van het protocorm als de hoeveelheid dextrose in het medium laag was (0,1%,dit bij 10°C).Na bijdruppelen van dextroseoplossing verdween dit parasitisme en nam de groei toe.De

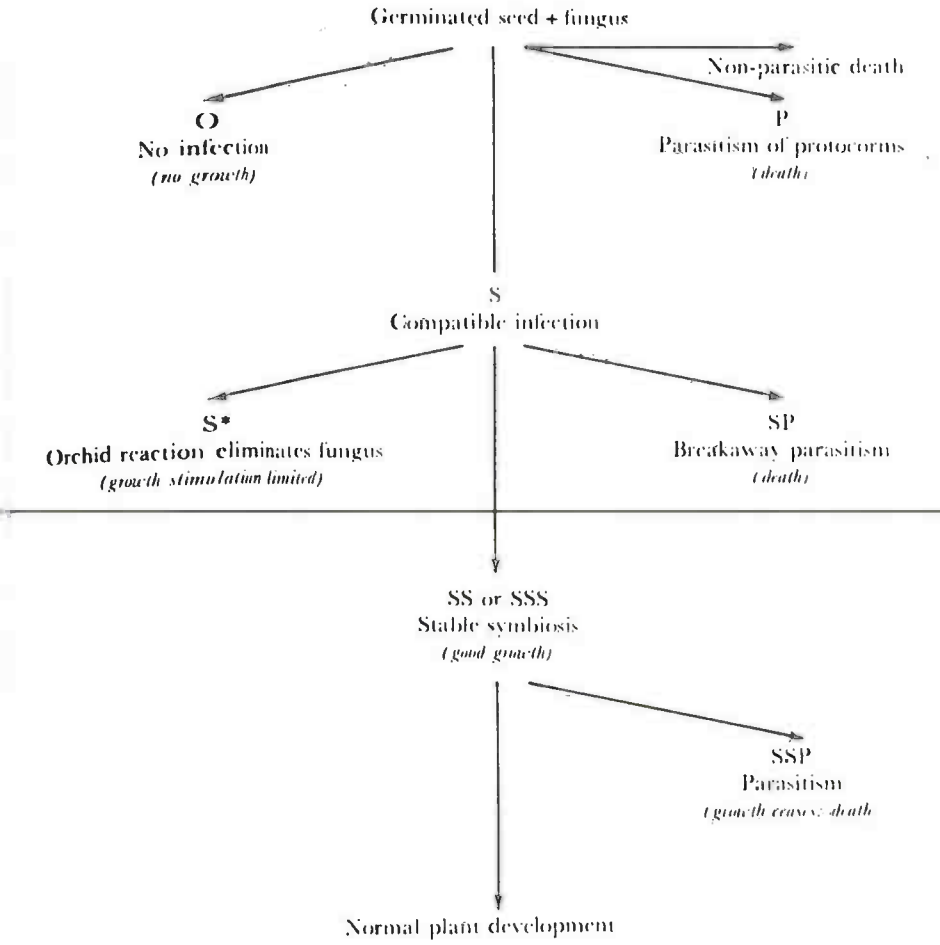


FIG. 8. Modified scheme of symbiotic development of orchids. O, Uninfected, no growth; S, SS, SSS, greater numbers of protocorms develop; S*, initial infection followed by hypersensitive reaction or complete fungal disintegration; P, fungus becomes an aggressive parasite killing cells; , no infection but protocorms die for other reasons. (After Hadley, 1970.)

Fig. 8 - overgenomen uit:Harley & Smith,1983

optimum suiker-concentratie voor de ontwikkeling van het protocorm lag bij 1 à 2% dextrose (afhankelijk van de temperatuur).Bij 4% trad een gehele overgroeiing op en dood van de protocormen.
Williamson & Hadley (1970) meldden een geringe mate van parasitisme van D. purpurella door Ceratobasidium cornigerum bij 0,1% dextrose; hetzelfde geldt voor Thanatephorus cucumeris en Tulasnella calospora.
Voor Dactylorhiza purpurella,geassociëerd met Rhizoctonia spec.,en Goodyera repens met Ceratobasidium cornigerum meldt Hadley (1969) de beste groei van de schimmel bij 1% dextrose,maar de beste groei van het protocorm bij 1% cellulose.Bijdruppelen van een 1% dextrose-oplossing bij een 1% cellulose leverde een intermediair resultaat.Protocormen op de dextrose-media werden vaak geparasiteerd,terwijl de spaarzame overlevenden erg groot werden.Bij cellulose groeide alles gelijkmatiger op,met een beter gemiddeld resultaat.
Hadley & Williamson (1971) konstateerden een verregaande vertering van hyfen bij lage C-beschikbaarheid.Toediening van een C-bron in de vorm van cellulose zorgde voor een ophoping van zetmeel in het protocorm en een goede groei,althans bij D.purpurella.Purves & Hadley (1976),werkend met de Goodyera/Ceratobasidium-associatie,stelden de beste groei van het protocorm vast bij 1% glucose of cellulose.Bij 0,1% glucose groeiden de symbiotische protocormen langzamer,bij 1% glucose plus een aard-

appelextract verstikte de schimmel de protocormen.In dit geval leidde de infektie echter tot het verdwijnen van de zetmeelvoorraden,gevolgd door een goede groei.Niet-geïnfekteerde protocormen hoopten zetmeel op zonder zelf te groeien.
Weinhold,Dodman & Bowman (1969,1972) vonden een lineair verband tussen de virulentie van Thanatephorus cucumeris als pathogeen (echter,ook pathogene stammen zijn effektieve mycorrhizavormers,zie Downie,1959a;Harvais & Hadley,1967) en zowel de hoeveelheid glucose als de hoeveelheid stikstof in het medium.Daarbij was er geen onderscheid in effekt tussen organisch gebonden -,nitraat- en ammoniak-stikstof.
Door al deze studies ontstaat het beeld,dat een effektieve symbiose bij orchideeën alleen kan ontstaan in een nauw trajekt wat nutriëntenaanbod betreft.Buiten dit nauwe trajekt valt het evenwicht tussen de twee antagonisten weg: één van beide partijen elimineert de andere,waarna door het wegvallen van de symbiose de orchidee zijn groeistimulans mist.Te hoge stikstofbeschikbaarheid of een te makkelijk toegankelijke C-bron leiden tot parasitisme van de schimmel op de hogere plant.Ook een te laag voedingsstoffenaanbod ontregelt de symbiose: dit leidt hetzij tot parasitisme van de schimmel op de plant,hetzij tot eliminatie van de schimmel uit de weefsels van de orchidee.
Dit proces zou een verklaring kunnen geven voor de extreme gevoeligheid van de meeste orchideeën voor bv.bemesting.Door een ontspoorde symbiose zouden de juveniele stadia van alle soorten,en de volwassen stadia van de meer mycotrofe soorten, hiervoor zeer kwetsbaar zijn.Een alternatieve verklaring zou zijn te zoeken in het optreden van zware konkurrentie bij hogere nutriëntenniveau's om ruimte en licht.Een dergelijk proces leidt echter tot het veel langzamer verdwijnen van de orchideeen,daar er eerst een verschuiving in vegetatiesamenstelling voor nodig is.De eerste verklaring zou het verdwijnen op zeer korte termijn kunnen verklaren.Uiteraard is ook een kombinatie van de twee processen niet ondenkbaar.

4.2 Herziening van de uitgangsstelling

Zolang een orchidee nog afhankelijk is van zijn symbiont mag verwacht worden dat de mileuomstandigheden vrij gelijkmatig binnen een nauw omschreven trajekt moeten blijven; zo niet dan bestaat het risico op een ontsporing van de symbiose,gevolgd

door de dood van het individu.Van soorten die hun hele leven van dit labiele evenwicht afhankelijk zijn kan dus worden verwacht,dat zij als volwassen plant een nauwere habitatbreedte hebben dan soorten die in volwassen staat geheel autotroof zijn.Bij deze laatste groep zullen veranderingen na de protocorm-fase weliswaar het einde van de symbiose kunnen inluiden, maar dit behoeft dan geen fataal effekt te hebben.
Deze nauwere amplitude gaat echter niet op voor resp. de N- en P-beschikbaarheid.Immers,daar deze elementen ook naar volwassen planten kunnen worden overgedragen en daar de fosfaat overdracht het grootst is bij een lage P-beschikbaarheid,mag verwacht worden dat de responscurve van meer afhankelijke soorten zich meer naar de nutriënt-arme zijde zal uitstrekken dan die van meer zelfstandige soorten.Aan de nutriëntrijke zijde mag verwacht worden dat de mycotrofe (sterk afhankelijke) soorten daar een risico oplopen op pathogeniteit van de schimmel.Daar dit voor autotrofe soorten niet opgaat mag voor deze worden verwacht dat de curve zich meer naar de nutriëntrijke zijde uitstrekt dan die van de meer mycotrofe verwanten.
Voor resp. stikstof en fosfaat zal er dan ook moeilijk een uitspraak kunnen worden gedaan over de habitatbreedte; wel mag worden verwacht dat meer mycotrofe soorten orchideeën zijn aangepast aan N- en P-armere omstandigheden dat hun minder mycotrofe verwanten.Levenslang van hun schimmel afhankelijke soorten hebben a.h.w. het nadeel van het risico op een ontspoorde symbiose,maar daarentegen het voordeel van een betere nutriëntenopname als kompensatie.Gezien echter de achteruitgang in juist nutriënt-armere milieu's in Nederland,zal het meer mycotrofe type ook bij beschouwing van de N- en de P-amplitude zeldzamer zijn en sneller in aantal achteruitgaan dan het minder mycotrofe type.
Samengevat luidt de nieuwe hypothese dan alsvolgt:
Door het risico op een ontspoorde symbiose hebben levenslang obligaat symbiontische soorten een nauwere amplitude tov. meerdere milieuvariabelen dan soorten die in volwassen staat niet meer verplicht zijn tot zo'n symbiose.Daardoor kunnen deze laatste soorten zich in veranderende milieuomstandigheden als volwassen plant langer handhaven,al is de vestiging van nieuwe individuen dan wel onmogelijk geworden.Verder zullen obligaat mycotrofe orchideeën zijn aangepast aan N- en P-arme-

re omstandigheden,terwijl in adulte staat onafhankelijke soorten aan de wat rijkere milieu's zullen zijn aangepast.Deze twee eigenschappen van obligate symbionten leiden tot een grotere zeldzaamheid en een grotere kwetsbaarheid voor veranderingen t.o.v. de andere groep.
Met deze hypothese werd in het vervolg van deze studie verder gewerkt; toetsing daarvan vindt plaats in hoofdstuk 6.

---

5 - DE MATE VAN MYCOTROFIE DER SOORTEN

5.1 Direkte schattingen in termen van groeisnelheid en nutrientengehalten

Een goede schatting van het belang van mycorrhiza's voor een bepaalde soort kan alleen worden verkregen door het vergelijken van symbiotisch- en asymbiotisch opgroeiende planten.Het belang kan dan worden afgemeten aan verschillen in opbrengst, groeisnelheid,het gehalte aan polysacchariden of nutriënten, of aan opnamesnelheid van nutriënten.Dergelijke studies zijn nog maar zeer zelden gedaan.Een gunstige uitzondering vormen de al eerder aangehaalde studies van Alexander & Hadley (1984) en Alexander,Alexander & Hadley (1984).Voor Goodyera repens kan zo een grote mate van afhankelijkheid van de schimmelsymbiont worden afgeleid,ofwel een sterke mate van mycotrofie. Eveneens werd een opmerking van Hadley & Williamson (1972) al eerder aangehaald; dezen maakten gewag van een geringe invloed van de schimmelinfektie op de groei van volwassen individuen van Dactylorhiza purpurella.
Fuchs & Ziegenspeck (1927) melden voor een niet nader benoemde "Dactylorchis" (Dactylorhiza) een toename van 10% in polysaccharidengehalte en één van 50% in stikstofgehalte gedurende herfst en winter.In deze periode bestaan de planten slechts uit een ondergrondse knol met wortels.De stikstof zouden de planten zelfstandig opgenomen kunnen hebben; de toename in polysaccharidegehalte is echter in afwezigheid van fotosynthese moeilijk te verklaren,zonder de mycorrhiza-schimmels daarvoor verantwoordelijk te stellen.Ziegenspeck's latere schattingen lagen nog hoger,n.l. 25% toename in polysaccharidengehalte gedurende hetzelfde seizoen (ziegenspeck,1936). Gezien de kontext van Fuchs & Ziegenspeck (1927) en de zeer nauwe verwantschap van D.majalis en D.praetermissa met de weinig mycotrofe soort D.purpurella,betreft dit waarschijnlijk Dactylorhiza incarnata.
Andere aanwijzingen voor de mate van mycotrofie der soorten moeten langs indirekte,en dus minder zekere weg worden verkregen; in dit gebied gaapt mijns inziens nog een groot gat dat vraagt om nader onderzoek.

5.2 Indirekte schattingen; mate van infektie

Indirekte aanwijzingen voor de mate van afhankelijkheid van de schimmelsymbiont zijn o.a. te vinden in de hoeveelheid blad en bladgroen van de verschillende soorten.Het is duidelijk,dat de geheel bladgroenloze soorten voor koolhydraten volledig zullen zijn aangewezen op hun endofyt.Sommige soorten bezitten zo weinig blad of bladgroen (bv. Epipactis microphylla) dat ook deze hun koolhydraten grotendeels van hun symbiont zullen betrekken.Deze redenering is echter wel gevaarlijk: E.microphylla is inderdaad in het algemeen ook zwaar geïnfekteerd, maar de weinig bladgroen bezittende en soms haast violetbladige E.purpurata blijkt in volwassen stadium nagenoeg fungus-vrij te zijn (Fuchs & Ziegenspeck,1925).
Wells (1967) konstateerde dat sommige exemplaren van Spiranthes spiralis enkele jaren ondergronds door kunnen groeien. Bij het weer bovengronds komen ontwikkelden enkele planten direkt een bloeias (bij deze soort verschijnt het bladrozet pas na de bloei),wat op een belangrijke rol van de schimmel wijst. De knollen van de soort zijn dan ook dicht bezet met mycelium (Summerhayes,1951).De meeste andere soorten die eveneens jarenlang ondergronds kunnen blijven,behoren tot de bladgroenloze soorten.Dit benadrukt de rol van de schimmelsymbiont nog eens. Echter ook de (weinig) bladgroen bezittende Limodorum abortivum en de geheel groene Cypripedium calceolus kunnen in ongunstige omstandigheden ondergronds doorleven,waarschijnlijk gevoed door de schimmel (Fuchs & Ziegenspeck,1925; Summerhayes, 1951; Landwehr,1977).Cypripedium is,als bijzonderheid hierbij, als adult in normale omstandigheden,zo goed als schimmelvrij (Fuchs & Ziegenspeck,1927; Summerhayes,1951).
Een verdere aanwijzing voor de mate van mycotrofie der soorten werd verkregen via opgaven van de mate van infektie van de wortels van volwassen planten,gegeven in Fuchs & Ziegenspeck (1922,1924,1927 en vooral 1925) en Summerhayes (1951).Summerhayes vermeldt de herkomst van zijn opgaven niet,terwijl dat ook in Fuchs & Ziegenspeck (1922,1924,1927) niet altijd even duidelijk is.Fuchs & Ziegenspeck (1925) is gebaseerd op zeer nauwkeurige waarnemingen.Voor Liparis loeselii spreken de opgaven van Fuchs & Ziegenspeck (1925;"sterk geïnfekteerd") en Summerhayes (1951;"als volwassen plant onafhankelijk") elkaar tegen.

Een waarschuwing tegen het gebruik van de mate van infektie van soorten als schatter voor de mycotrofie van een soort is op zijn plaats. De hevigheid van infektie kan onderworpen zijn aan een jaarlijks ritme (Vermeulen, 1947; Harley, 1969). Van grondsoort tot grondsoort kunnen er verschillen optreden in de hevigheid van infektie; zo blijkt bv. Epipactis helleborine op zandgrond vrijwel schimmelvrij, maar op veengrond redelijk geïnfekteerd te zijn (Fuchs & Ziegenspeck, 1924). Dactylorhiza maculata lijkt het sterkst geïnfekteerd op de armste bodems (Fuchs & Ziegenspeck, 1925). Toch werden deze gegevens gebruikt als schatter voor de mate van afhankelijkheid van de schimmels, omdat deze het gros van de aanwijzingen daarvoor vertegenwoordigen. Voor de indeling der soorten als vermeld in tabel 6, werd echter prioriteit gegeven aan andere gegevens.
Op grond van de literatuurverwijzingen in dit hoofdstuk werden enkele orchideeënsoorten ingedeeld in 3 klassen, van bijna of geheel autotroof tot sterk mycotroof (zie tabel 6). De tabel dient met voorzichtigheid gehanteerd te worden.

Tabel 6 - mate van mycotrofie van verschillende Europese orchideeënsoorten (zie tekst)

klasse 1: niet of zwak mycotroof; schimmelvrij of meermalen niet geïnfekteerd

Cephalanthera damasonia	Epipactis palustris
Cypripedium calceolus	Epipactis purpurata
Dactylorhiza purpurella	Herminium monorchis
Epipactis atrorubens	Listera ovata
Epipactis helleborine	Traunsteineria globosa

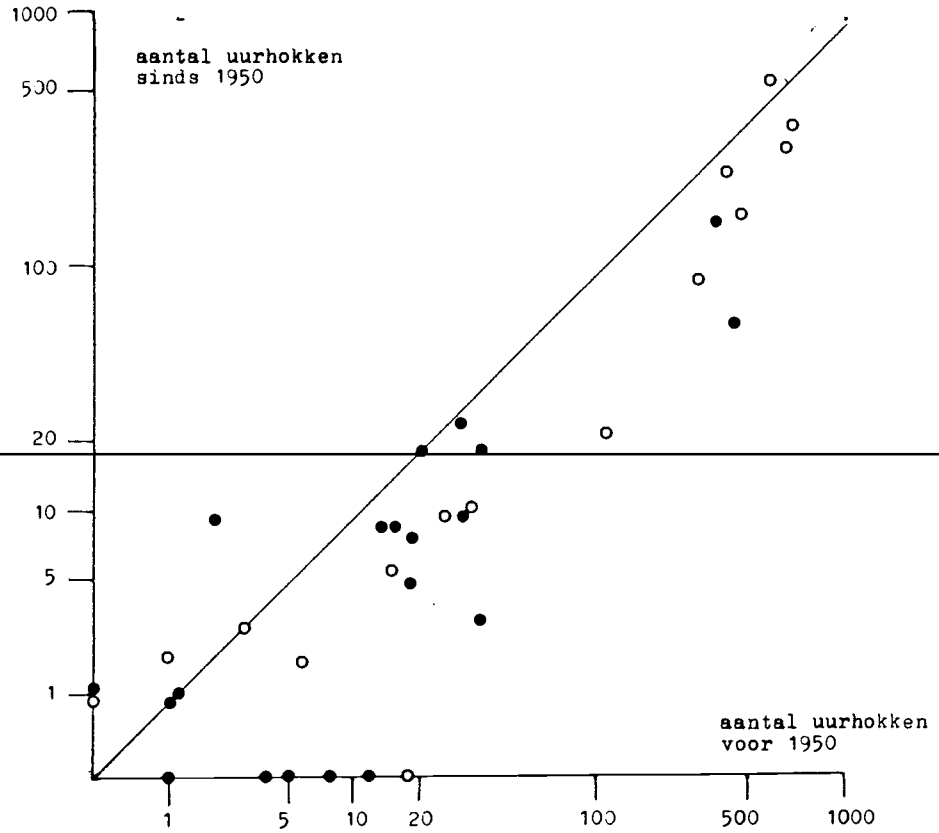
klasse 2: niet sterk mycotroof; meestal zwak geïnfekteerd

Cephalanthera longifolia	Dactylorhiza sambucina
Dactylorhiza maculata	Gymnadenia conopsea
Dactylorhiza majalis incl. D.praetermissa	Orchis mascula
	Platanthera bifolia

klasse 3: sterk mycotroof; zwaar geïnfekteerd

Cephalanthera rubra	Limodorum abortivum
Coeloglossum viride	Listera cordata
Corallorhiza trifida	Neottia nidus-avis
Dactylorhiza incarnata	Nigritella nigra
Epipactis microphylla	Nigritella rubra
Epipogium aphyllum	Ophrys spp.
Goodyera repens	Orchis spp. m.u.v. Orchis mascula
Gymnadenia odoratissima	
Leucorchis albida	Platanthera chlorantha

Fig. 9 - zeldzaamheid en achteruitgang van Nederlandse orchideeënsoorten in relatie tot de mate van hun mycotrofie.



o : niet sterk mycotrofe - ,of zwak - of niet geïnfekteerde soorten (klasse 1 en 2) ;

• : sterk mycotrofe - ,of zwaar geïnfekteerde soorten (klasse 3).

Sterk mycotrofe soorten waren vóór 1950 algemener dan zwak- of niet mycotrofe soorten (Wilcoxon twee-steekproeven-test; $P < 0,01$), zijn zeldzamer sinds 1950 ($P < 0,01$) maar gaan niet significant sneller achteruit in aantal uurhokken ($0,05 < P < 0,10$).

Wanneer deze gegevens worden ingevuld in fig. 1 blijkt dat soorten uit klasse 3 minder algemeen zijn en waren dan soorten uit de klassen 1 en 2.Tevens tonen ze een -niet significante- tendentie tot een sterkere achteruitgang in aantal uurhokken (zie fig. 9).In de figuur ontbreken vijf soorten wegens een tegenstrijdige opgave,of het ontbreken daarvan,van de mate van infektie.

Omdat relatief veel sterk geïnfekteerde soorten beperkt leken tot kalkrijke omstandigheden,werd een toets gedaan op het verband tussen sterke infektie en het beperkt zijn tot kalkgronden (op basis van Mennema c.s.,1980 e.v.).Het verband was verre van significant (X^2_3 ; $P > 0,25$).

6 - HABITATBREEDTE VAN ENIGE SOORTEN ORCHIDEEËN

6.1 Het voorkomen van enkele soorten gerelateerd aan enige abiotische milieufaktoren

Voor Epipactis palustris,Liparis loeselii en Dactylorhiza incarnata werd de oecologische amplitude bepaald ten opzichte van enkele abiotische milieufaktoren.Dat waren resp. het gehalte aan totaal N,totaal PO_4^{3-},$CaCO_3$,Cl^- en organische stof in de bodem en het geleidend vermogen en de pH_{KCl} daarvan, alsmede de gemiddelde grondwaterstand in de periode van april t/m september.Deze gegevens waren gebaseerd op vegetatie-opnames gemaakt op Voorne; genoemde variabelen waren daarbij gemeten.De opnames werden afgestaan door D.v.d.Laan.
Voor elke soort werd de amplitude ten opzichte van elke variabele gekarakteriseerd door berekening van de gemiddelde waarde ($\bar{x}$) en de standaarddeviatie (s) van de waarden die de variabele aannam in die opnames waarin de soort voorkwam.Bij deze berekening werd geen rekening gehouden met aantallen of bedekkingen waarmee de soort binnen de opnames voorkwam.Hoewel gemiddelden en standaarddeviaties eerst apart werden berekend voor resp. generatieve planten en voor alle planten van een soort samen,werd deze aanpak verlaten toen bleek dat er tussen beide kategorieën weinig verschillen optraden.
Voor de gemiddelde waarde werd per soort een 95%-betrouwbaarheidsinterval opgesteld.M.b.v. deze intervallen werd bekeken of er significante verschillen tussen de soorten optraden.Deze aanpak veronderstelt een normale verdeling van de opnames over de waarden van de betreffende milieufaktor.Standaarddeviaties werden per soort getoetst d.m.v. een F-test (niveau 0,05).De uitkomsten staan opgesomd in tabel 7 op de volgende pagina.
Voor dit onderzoek is het van belang de in volwassen staat onafhankelijke soort Epipactis palustris te vergelijken met de zwaarder geïnfekteerde Dactylorhiza incarnata.In tegenstelling met de verwachting heeft D.incarnata voor totaal N en totaal PO_4^{3-} een hogere gemiddelde waarde dan E.palustris.Voor vrijwel alle andere faktoren blijkt D.incarnata,weer in tegenstelling met de verwachting,een bredere oecologische amplitude te hebben dan E.palustris; dit met uitzondering van de faktor

"grondwaterstand".Liparis loeselii werd niet in de vergelijking betrokken vanwege tegenstrijdige opgaven over de mate van diens infektie.

Tabel 7 - gemiddelde waarde ($\bar{x}$) en standaarddeviatie (s) van waarden die enkele abiotische faktoren aannamen in opnames waarin één of meer der drie soorten orchideeën voorkwam; waarden waarachter een verschillende letter staat,verschillen significant van elkaar (NB: binnen één faktor!).

a) gemiddelde waarde ($\bar{x}$)

	D.incarnata	E.palustris	L.loeselii
totaal N (ppm x $10m^2$)	$53,6 \pm 4,8^a$	$35,2 \pm 2,3^b$	$37,7 \pm 3,6^b$
totaal PO_4^{3-} (ppm)	465 ± 41^a	348 ± 23^b	355 ± 43^b
$CaCO_3$ (% x 10^{-1})	$36,9 \pm 3,3^a$	$40,1 \pm 2,7^a$	$52,0 \pm 4,7^b$
org.stof (% gloeiverlies)	$16,9 \pm 1,4^a$	$11,1 \pm 0,7^b$	$11,5 \pm 1,2^b$
geleidend vermogen (µS/cm x10)	$49,9 \pm 3,6^a$	$31,9 \pm 2,1^b$	$40,9 \pm 4,4^c$
pH_{KCl} (x 10^{-1})	$72,9 \pm 0,5^a$	$74,3 \pm 0,4^b$	$75,0 \pm 0,6^b$
grondwaterstand (gemidd. van april t/m september;cm)	$-23,8 \pm 2,2^a$	$-32,6 \pm 2,1^b$	$-25,5 \pm 2,7^a$

b) standaarddeviatie (s)

totaal N	$41,3^a$	$25,2^b$	$25,5^b$
totaal PO_4^{3-}	351^a	258^b	304^c
$CaCO_3$	$28,0^a$	$30,3$	$32,8^b$
Cl^-	$14,1^a$	$10,8^b$	$14,8^a$
organische stof	$12,3^a$	$7,4^b$	$8,1^b$
geleidend vermogen	$30,8^a$	$23,0^b$	$30,6^a$
pH_{KCl}	$4,5^a$	$4,3^a$	$3,9^b$
grondwaterstand	$17,2^a$	$22,2^b$	$18,1^a$

6.2 Bepaling van de habitatbreedte middels vegetatie-ordinatie

Op grond van de opgestelde theorie wordt verwacht,dat sterk mycotrofe soorten t.o.v. een aantal milieufaktoren een smallere oecologische amplitude zullen hebben dan meer autotrofe soorten.Dit zal vooral gelden voor de beschikbaarheid van nutriënten.Het zal echter ook gelden voor alle faktoren,die in ongelijke mate de groei (of virulentie) van schimmel en orchidee beïnvloeden.Daarom mag verwacht worden,dat voor vrijwel al-

le faktoren sterk mycotrofe soorten een amplitude hebben,die smaller of gelijk is aan die der onafhankelijke soorten - mits uiteraard de balans tussen de symbionten dermate bepalend is voor de verspreiding van orchideeën dat het effekt daarvan dat van interspecifieke verschillen overstemt.In een dergelijke situatie zal in het volgende gesproken worden over een "kleinere habitatbreedte".De habitatbreedte van een soort in vergelijking tot een andere is dus alleen dan kleiner,als de ecologische amplitude t.o.v. alle faktoren smaller is als van een andere soort,of als de amplitude t.o.v. enkele faktoren smaller is en die t.o.v. andere faktoren ongeveer gelijk.

6.2.1 Materiaal en methode

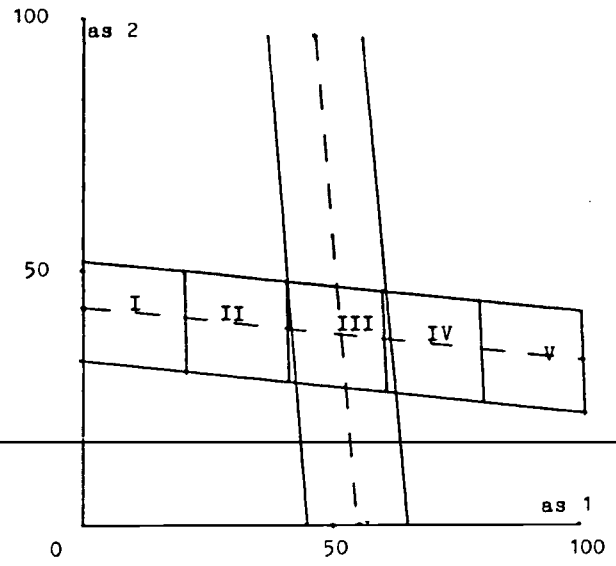
Om tot een uitspraak te komen over de habitatbreedte van verschillende orchideeënsoorten werd voorts nog een zgn. polar -,of Wisconsin comparative ordination (WCO) uitgevoerd (Gauch,1982).Hiervoor werden 98 opnames gebruikt, gemaakt in de vochtige duinvalleien van Schiermonnikoog;deze opnames bevatten in totaal 6 soorten orchideeën.De opnames werden hoofdzakelijk ontleend aan doktoraalverslagen en verslagen van jongerejaars cursussen.(Engelmoer & Hendriksma,1967/1969;Kooiker c.s.,19??;Blauw,1971;Vos & Schwab,19??;Bosma c.s., 1983;Alting c.s.,19??).Verder werd gebruik gemaakt van enkele opnames uit "Kruipnieuws":den Hartog (1959).Niet alle opnames waren in hetzelfde formaat: opnames van Bosma c.s. waren 50 x 50 cm;aan Vos & Schwab werden enkele opnames van 1 x 1 m ontleend,terwijl den Hartog en Blauw enkele opnames leverden groter dan de meest gangbare maat 2 x 2 m.Slechts die opnames werden gebruikt die één of meer soorten orchideeën bevatten.Een overzicht van de gebruikte opnames is te vinden in bijlage 3 (alleen aanwezig in de archiefexemplaren van de L.H.Wageningen,vakgroep V.P.O en R.U.G.,vakgroep plantenoecologie).Deze geeft de d.m.v. correspondence analysis best geordende matrix van opnames (programma's CORAN en SCHUIF,vakgroep plantenoecologie der R.U.G.).
Eerst werd een dissimilariteitsmatrix opgesteld in procenten,op basis van wortel-getransformeerde bedekkingen der soorten (programma DIMAT 3,idem). Na toepassing van de programma's SIMCLUS,DENDRO en ORDIN (idem) waren resp. een dendrogram van de opnames en de ordinatie beschikbaar.De ordinatie leverde drie assen,die in twee figuren werden uitgezet.De koördinaten die aan de opnames werden toegekend zijn gegeven in bijlage 4 (alleen aanwezig in de archiefexemplaren).Alle programma's werden uitgevoerd op de CYBER-komputer van de R.U.G.
Bij beschouwing van het resultaat van de ordinatie bleek,dat één eenheid distantie tussen twee opnames niet over de hele as werd vertaald met dezelfde (Euclidische) afstand,een probleem dat bij vele ordinatie-methoden optreedt (Gauch,1982).Aan de extremen van de assen werd 1% distantie weergegeven door een grotere afstand dan in het midden van de as.Daar dit zeer storend is bij vergelijking van de standaarddeviaties in de score's op de assen van de verschillende orchideeën,werd een korrektie ("detrending",Gauch,1982) toegepast.Daartoe werden,zowel in de figuur van de score's op as 1 en 2,als die van de score's op as 2 en 3,vijf maal vijf opnames geselecteerd;vijf in het midden van de figuur (koördinaten (50,50)) en vijf bij de extremen van elke as, zo dicht mogelijk bij de koördinaten (0,50),(50,0),(100,50) en (50,100).Voor elke groep van vijf opnames werden de gemiddelde onderlinge distantie en de gemiddelde onderlinge Euclidische afstand bepaald.Uitgaande van de score 50 op elke as werden vervolgens de koördinaten van elke as gekorrigeerd d.m.v.

een funktie met de volgende vorm: $x' = \sqrt{k.x + c}$, waarbij x de oorspronkelijke score op een bepaalde as voorstelt,en x' de gekorrigeerde waarde.De waarden voor k en c werden zo gekozen,dat in iedere groep van vijf opnames de gemiddelde onderlinge distantie en - Euclidische afstand in gelijke verhouding tot elkaar stonden; de ordinatie is dan meer equidistant.De waarden die de konstanten k en c hiertoe moesten aannemen,staan voor ieder asgedeelte getabelleerd in tabel 8.As 2 kon op twee manieren worden gekorrigeerd, resp. op grond van de Euclidische afstanden in de figuur met daarin as 1 en as 2,en die met as 2 en as 3.Hoewel afzonderlijke opnamen een verschillende as 2-score konden krijgen toegekend na korrektie met deze twee funkties,was het uiteindelijke resultaat -de gemiddelde score en de standdaarddeviatie daarvan- voor de verschillende orchideeënsoorten vrijwel identiek.De gegeven as 2-score's zijn dan ook tot stand gekomen op grond van de afstanden bij as 1 en as 2;de resultaten van de andere korrektie zijn in het vervolg weggelaten.Na de korrektie werd elk asgedeelte "herschaald" (rescaling;Gauch,1982) zodat deze weer ± 50 eenheden omvatten.Dit gebeurde door vermenigvuldiging van de x'-waarde met een -voor elk asdeel andere- konstante.Zowel de x'-waarde als de herschaalde x'-waarde (de x''-waarde) staan tevens vermeld in bijlage 4.
Op basis van deze x'' werden de gemiddelde score's van de verschillende orchideeënsoorten,en de standaarddeviaties van die gemiddelden berekend,analoog aan de methode vermeld op pag.33.

	k	c
AS 1 (x=0 t/m x=50)	5,767	-4,767
AS 1 (x=50 t/m x=100)	3,795	-2,795
AS 2 (x=0 t/m x=50,7)	13,943	-12,943
AS 2 (x=50,7 t/m x=100)	6,296	-5,296
AS 3 (x=0 t/m x=47,2)	3,936	-2,936
AS 3 (x=47,2 t/m x=100)	1,162	-0,162

Tabel 8 (boven) - Waarden voor de konstanten k en c in de formule ter korrektie van de oorspronkelijke x-waarden ($x' = \sqrt{k.x + c}$; zie tekst).

De intepretatie van de gevonden assen vond alsvolgt plaats (zie figuur 10 op pag.37).Voor elke as werden de extremen bepaald.Tussen deze extremen werd een (stippel-)lijn getrokken.Aan weerszijden van deze lijn werd een strook afgebakend,overeenkomend met 10 eenheden.Deze strook werd vervolgens opgedeeld in vijf "blokken" (getrokken lijnen;gekodeerd I t/m V).De grenzen tussen de blokken lag resp. op de waarden 0,20,40,60,80 en 100 van de betreffende as.In elk van deze blokken werd genoteerd welke opnames erbinnen lagen.D.m.v. het programma SPECT (vakgroep plantenoecologie,R.U.G.) werd voor elke opname berekend hoe groot het percentuele aandeel was van bepaalde ecologische groepen (volgens v.d.Meijden e.a.,"Standaardlijst van de Nederlandse flora",1983) of bepaalde verbonden (volgens Westhoff & den Held,"Plantengemeenschappen in Nederland",1975) binnen die opname.Het aandeel van een bepaald verbond werd berekend door de bedekkingen in procenten van kensoorten van dat verbond te delen door de bedekkingen van alle kensoorten van alle aanwezige verbonden.Daarbij werden kensoorten van associaties gerekend als kensoorten van het bijbehorende verbond,en werden kensoorten van hogere syn-



Figuur 10 -
De verdeling van opnames in "blokken" ten behoeve van de intepretatie der gevonden assen.Uitleg: zie pag.36 en 37.

taxa niet meegerekend.Zowel bij de berekening van het aandeel in een opname van een bepaalde ecologische groep als dat van een bepaald verbond werd uitgegaan van wortelgetransformeerde bedekkingen van de verschillende soorten. Het procentuele aandeel van een bepaalde ecologische groep werd vervolgens voor alle opnames,behorend tot één blok,gemiddeld.Hetzelfde gebeurde ook voor het aandeel van kensoorten van de verschillende aanwezige verbonden. Zo ontstond dus per blok een goede indruk van de mate waarin een bepaalde groep of verbond was vertegenwoordigd.Per as werd dit aandeel grafisch weergegeven voor die groepen en verbonden,die in minstens 1 van de blokken op die as een aandeel hadden van 10% of meer (zie figuren 11,12,13 en 14).
Aan de hand van het verloop van het aandeel van de verschillende ecologische groepen of bepaalde verbonden over de verschillende assen,werd een korrelatie gepostuleerd van de verschillende assen met bepaalde milieufaktoren.Bij deze intepretatie werd de voorkeur gegeven aan het verloop van de fytosociologische verbonden boven dat van de ecologische groepen; dit in verband met de grotere nauwkeurigheid van de eerste.Voor as 1 was dit echter gedeeltelijk onmogelijk omdat in blok V het aandeel van de verbonden binnen de ene opname in dat blok niet was gedefiniëerd.De intepretatie van deze as vond plaats zowel via de ecologische groepen (gedefiniëerd over 5 blokken) als via de fytocoenosen (gedefiniëerd voor blok I t/m blok IV).

6.2.2 Resultaten,conclusies en beknopte discussie

a) intepretatie der assen

As 1 is te intepreteren als een vocht-as.en gedeeltelijk als een zout-as.In fig.11 valt bij oplopende koördinaten een toename te zien van soorten van neutrale droge graslanden.Het nat-groeiende Magnocaricion en Junco-Molinion hebben hun optimum bij lage score's op as 1 (fig.12),terwijl het "minder natte" Violion caninae en Empetrion nigrae hun optimum hebben bij hogere koördinaten.Het grote aandeel van laagveenplanten in blok V (fig.11) wordt hoofdzakelijk veroorzaakt door een zeer hoge bedekking van Molinia caerulea in de enige opname (nr.96) daarin;volgens Westhoff &

Fig.11- percentueel aandeel der ecolgische groepen in de blokken,onderscheiden op as 1

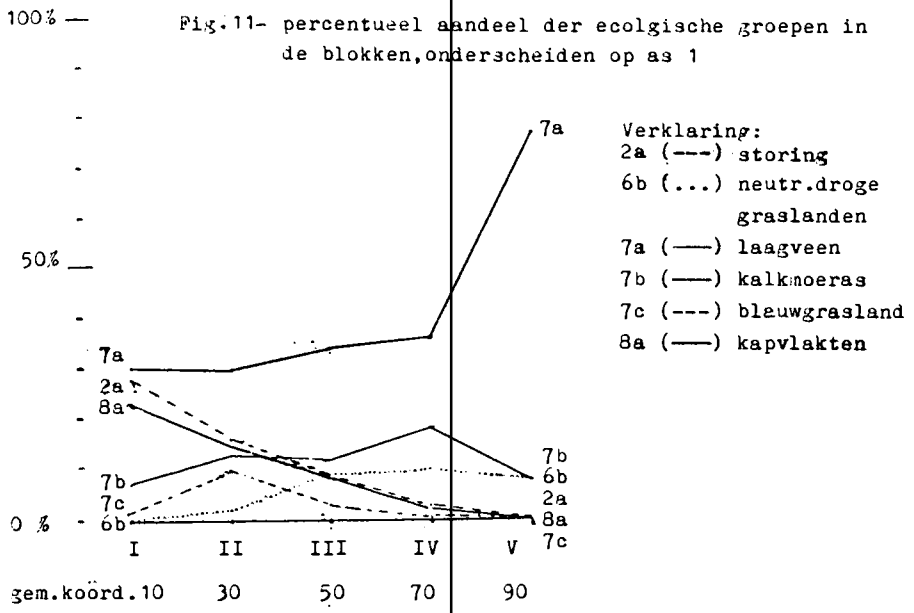


Fig.12- percentueel aandeel van enkele verbonden in de blokken,onderscheiden op as 1

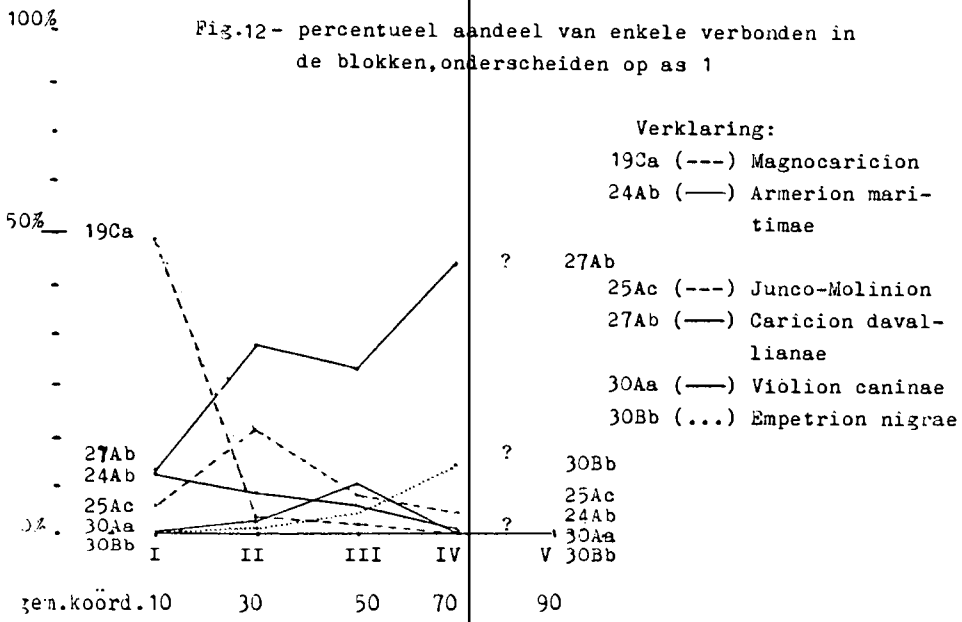


Fig. 13- percentueel aandeel van enkele verbonden in de blokken,onderscheiden op as 2

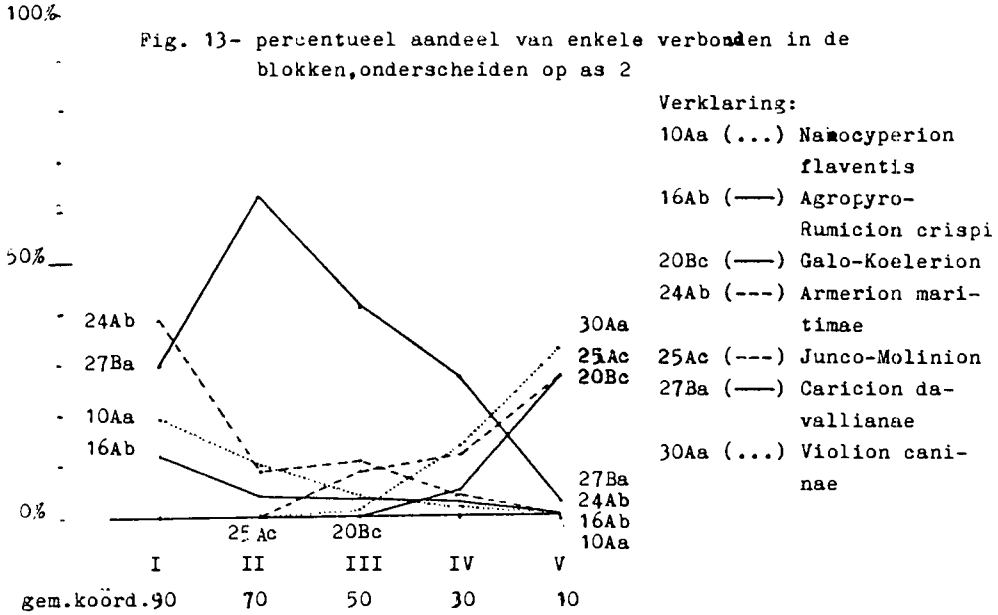
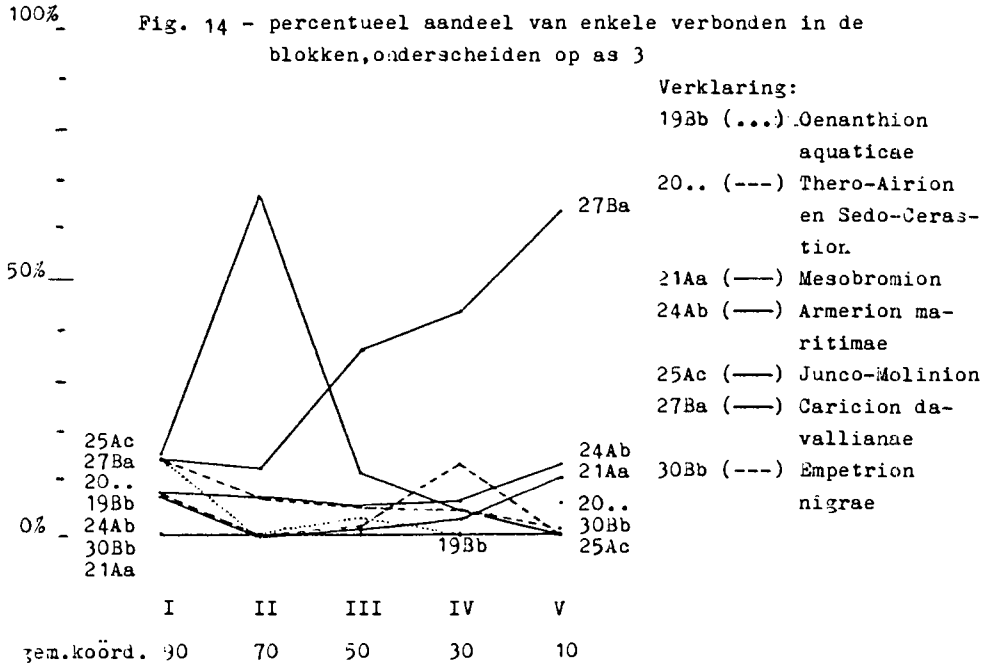


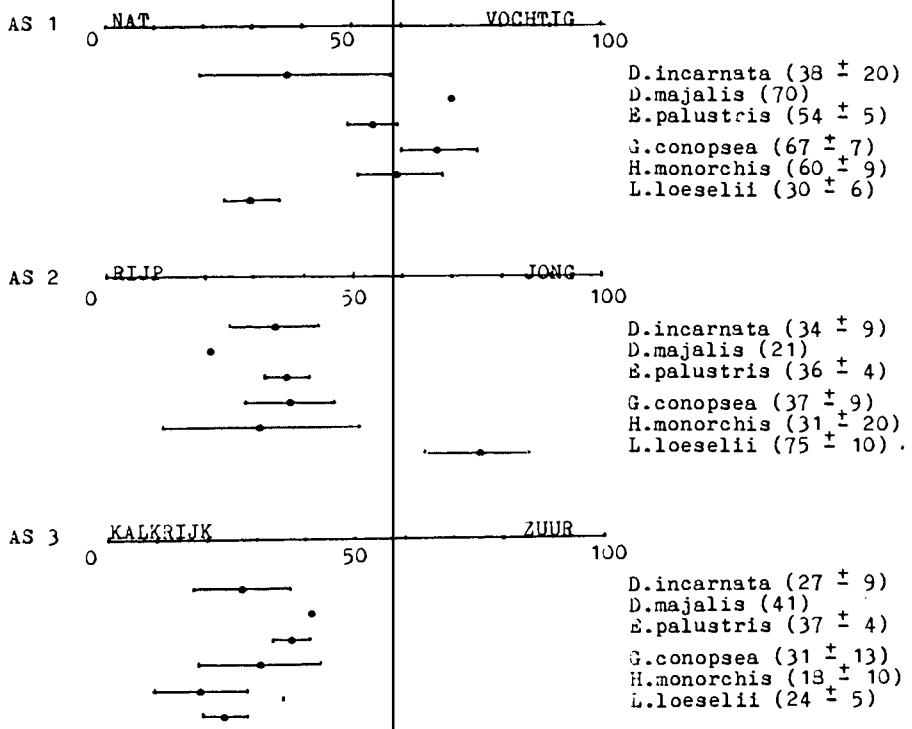
Fig. 14 - percentueel aandeel van enkele verbonden in de blokken,onderscheiden op as 3



den Held (1975) kan verdroging tot dergelijke Molinia-facies aanleiding geven.Lagere score's op as 1 geven tevens een hogere presentie van soorten uit het zout-tolerante Armerion maritimae. Doordat deze zoute omstandigheden worden veroorzaakt door overspoeling met zeewater,is het voorkomen van het Armerion tevens gekoppeld aan de nattere omstandigheden.Zoet-zout-storingen (hoofdzakelijk te bespeuren als een hoge bedekking van Potentilla anserina) zullen zich dan ook alleen voordoen bij lage score's op as 1,wat het verloop van de ecologische groep "storingsplanten" mag verklaren.De afname in presentie van de ecologische groep "planten van kapvlakten" bij één toenemende as-1-score wordt volledig veroorzaakt door Calamagrostis epigejos.
As 2 koppelt hogere score's hierop aan jongere -,en de lagere score's aan rijpere ecosystemen.Bij afnemende as-2-score's zakt het aandeel van de pioniers uit het Nanocyperion,terwijl het zout-tolerante Armerion maritimae en het op (zoet-zout-)storing wijzende Agropyro-Rumicion crispi eveneens afnemen.Het vroeg in de successie verschijnende Caricion davallianae (knopbiesverbond) heeft zijn grootste aandeel bij de hogere koördinaten.De duidelijk zuurder groeiende verbonden Violion caninae en Junco-Molinion vergroten hun aandeel bij lagere score's op as 2.Ook het later in de successie optredende Galo-Koelerion bereikt zijn hoogste aandeel in blok V,dus bij lage score's voor as 2 (zie fig.13).Samengevat hebben hoge score's op as 2 een korrelatie met vegetaties uit jonge ecosystemen groeiend in zoute- of zoet-zout-gestoorde kalkrijke en dichtslempende bodems;lagere score's hebben een samenhang met vegetaties van rijpere,minder gestoorde,niet zilte en aanmerkelijk zuurdere bodems.
As 3 lijkt hoofdzakelijk de zuurdere van de meer kalkrijke opnames af te splitsen,en is dus een gedeeltelijke herhaling van as 2; het beeld voor de hoeveelheid kalk is echter meer uitgesproken (zie fig.14).Bij hogere score's worden opnames geplaatst met een groot aandeel van soorten uit het zure blauwgrasland (Junco-Molinion);bij lage score's is het aandeel van soorten uit het knopbiesverbond zeer hoog.
Op plaatsen op Schiermonnikoog waar orchideeën groeien (immers, daarop waren de opnames geselekteerd) worden blijkbaar de grootste verschillen in vegetatie veroorzaakt door de hoeveelheid water,die gedeeltelijk is gekoppeld aan de faktor zout.Pas daarna zijn het successie-stadium en de zuurgraad van de bodem bepalend.

b) de amplituden der soorten op de drie WCO-assen
In fig.15 zijn per soort de 95%-betrouwbaarheidsintervallen gegeven voor de gemiddelde score van de soorten op de drie assen. Daar het aantal waarnemingen niet voor elke soort gelijk was,is de breedte van het interval niet gelijk aan de standaarddeviatie. Deze staat dan ook apart gegeven in tabel 9,samen met het aantal waarnemingen voor de soort.
Op as 1 ("vocht") is te zien dat Liparis loeselii op nattere plaatsen lijkt te groeien dan het drietal Gymnadenia conopsea, Herminium monorchis en Epipactis palustris.Dactylorhiza incarnata en Epipactis palustris komen voor op iets nattere standplaatsen dan Gymnadenia conopsea.
Op as 2 tekent zich duidelijk de aparte positie af van Liparis loeselii t.o.v. de andere soorten; deze soort lijkt in aanmerkelijk jongere systemen te groeien.Dit laatste is vooral interessant in relatie tot het feit,dat zowel D.incarnata,E.palustris als L.loeselii door Westhoff & den Held kensoorten worden genoemd van het Caricion davallianae.Binnen dit verbond worden door de auteurs drie associaties onderscheiden die de hier behandelde vegetaties bestrijken: het Junco baltici-Schoenetum nigricantis (knopbies-associatie met als differentiërende soort Gymnadenia conopsea var.friesica), het daaraan in de successie voorafgaande Parnassio-Juncetum atricapilli (met een optimaal voorkomen van Juncus anceps) en het uit de eerste associatie door overstuiving ontstane Ophioglosso-Calamagrostietum epigeji.Het lijkt zinnig om voor de Waddeneilanden Liparis loeselii kensoort te maken van het Parnassio-Juncetum atricapilli,wellicht samen met Juncus arcticus ssp.balticus.Deze associatie zou dan tevens worden gekenmerkt door een hoge presentie van Juncus gerardii en Parnassia palustris.Juncus arcticus dient dan als differentiërende soort van het Junco baltici-Schoenetum nigricantis te vervallen. Behalve het verschil tussen Liparis loeselii en de overige soorten treden op deze as geen verdere verschillen tussen de soorten op.
As 3 (gekorreleerd met kalkrijkdom of zuurgraad) kent aan Epipactis palustris een significant hogere score toe dan aan Herminium monorchis en Liparis loeselii; deze laatste lijken dus in wat kalkrijkere omstandigheden voor te komen.
Aangezien bij deze ordinatie geen as werd gevonden die gekorrelleerd zou kunnen zijn met voedselrijkdom o.i.d.,zijn de verschillen tussen de soorten niet relevant voor de hypothese als geformu-

Fig. 15 - 95%-betrouwbaarheidsintervallen voor de gemiddelde score van de soorten orchideeën op de verschillende WCO-assen



Tabel 8 - Standaarddeviaties in de score's op de drie WCO-assen van de verschillende orchideeënsoorten. Waarden, waarachter een verschillende letter staat, verschillen significant van elkaar (F-test op niveau 0,05).

	s	n
WCO-as 1 ("vocht")		
Dactylorhiza incarnata	29,2[a]	11
Epipactis palustris	22,1[a]	72
Gymnadenia conopsea	12,1[b]	13
Herminium monorchis	10,4[b]	8
Liparis loeselii	11,4[b]	19
WCO-as 2 ("rijpheid")		
Dactylorhiza incarnata	13,7[a]	11
Epipactis palustris	18,1	72
Gymnadenia conopsea	14,6[a]	13
Herminium monorchis	24,2	8
Liparis loeselii	21,6[b]	19
WCO-as 3 ("zuurgraad")		
Dactylorhiza incarnata	13,7	11
Epipactis palustris	17,7[a]	72
Gymnadenia conopsea	21,1[a]	13
Herminium monorchis	11,4[b]	8
Liparis loeselii	9,8[b]	19

leerd op pag.27 en 28.De gevonden standaardeviaties,die een relatie zullen hebben met de habitatbreedte der soorten,zijn dat echter wel; deze staan vermeld in tabel 8.In deze tabel dient de zwaarst geïnfekteerde soort D.incarnata te worden vergeleken met de in volwassen staat niet geïnfekteerde E.palustris,de soms schimmelvrije Herminium monorchis en de meestal zwak geïnfekteerde soort Gymnadenia conopsea.
Op as 1 hebben D.incarnata en E.palustris een vergelijkbare s-waarde,terwijl Gymnadenia en Herminium beide een smalle amplitude hebben.Op as 2 tekenen zich binnen het viertal soorten geen significante verschillen af.Ook op as 3 is er geen significant verschil tussen D.incarnata en de zwakker geïnfekteerde soorten. Wel treden verschillen op binnen de groep van de zwakker geïnfekteerde soorten.
Dactylorhiza majalis werd in de vergelijkingen niet betrokken,omdat deze soort maar éénmaal in de opnames voorkwam;het was dan ook niet mogelijk om voor deze soort een betrouwbaarheidsinterval voor de gemiddelde score op te stellen en een standaarddeviatie te berekenen.
Konkuderend kan gesteld worden,dat de WCO-ordinatie geen resultaten leverde,die de hypothese steunen dat de zwaarder geïnfekteerde soorten een smallere amplitude zouden hebben dan de minder geïnfekteerde soorten.Voor de onderzochte groep lijken andere faktoren meer invloed te hebben op het tot stand komen van de ligging en de breedte van de verschillende amplituden dan de hevigheid van infektie met mycorrhiza-schimmels van de volwassen plant.Hierbij moet echter direkt worden aangetekend,dat het aantal onderzochte soorten waarvan een betrouwbare opgave van de mate van infektie klein was (4); de enige zwaarder geïnfekteerde soort D.incarnata zou binnen zijn groep een uitzonderingspositie kunnen innemen met een grote habitatbreedte.
Verder zij opgemerkt,dat de via de WCO verkregen amplituden soms in tegenspraak zijn met diegene die berekend zijn op grond van het voorkomen der soorten bij bepaalde waarden van zekere abiotische faktoren.Echt storend is dat alleen bij D.incarnata : de WCO-methode geeft de soort de grootste standaarddeviatie t.o.v. Epipactis en Liparis voor as 1 ("vocht"),terwijl de abiotische gegevens wijzen op de kleinste standaarddeviatie van het drietal voor de faktor "grondwaterstand".Dit wordt wellicht veroorzaakt door het feit,dat de WCO-assen gebaseerd zijn op verschillen in de vegetatie;deze verschillen hebben waarschijnlijk niet een li-

neair verband met de bijbehorende abiotische milieufaktoren.Zo veroorzaakt een klein verschil in bv. zoutgehalte in niet door zout beïnvloede milieu's een groot verschil in vegetatiesamenstelling (vervanging van glycofyten door zouttolerante soorten). Een evengroot absoluut verschil in zoutconcentratie in door NaCl beïnvloede milieu's zal echter veel minder grote verschillen in de vegetatie tot gevolg hebben.Om deze reden lijken de amplituden op basis van de abiotische gegevens aanmerkelijk beter reproduceerbaar.Het zou aanbeveling verdienen,om dit onderzoek uit te breiden,waarbij ook andere soorten orchideeën onderzocht zouden moeten worden in genoemde,meer reproduceerbare omstandigheden.

7 - CONCLUSIES EN SAMENVATTING; DISCUSSIE EN SUGGESTIES VOOR VERDER ONDERZOEK

7.1 Conclusies en samenvatting

In de levenscyclus van elke orchideeësoort zijn twee duidelijk verschillende stadia aan te wijzen.Infektie met bepaalde,mycorrhizavormende schimmels is in natuurlijke omstandigheden een noodzakelijke voorwaarde voor de groei van het niet-autotrofe juveniele stadium van alle orchideeësoorten.In dit stadium worden suikers en fosfaat overgedragen aan de hogere plant.In volwassen staat vertonen de soorten een wisselende graad van zelfstandigheid: voor sommige soorten lijkt,ook in deze fase,infektie met de genoemde schimmels essentiëel,terwijl dat voor andere soorten in mindere mate lijkt te gelden.In deze fase lijken door de schimmels fosfaat en stikstof te kunnen worden overgedragen.
Als de Nederlandse orchideeësoorten worden ingedeeld in een groep met in volwassen staat zwaar geïnfekteerde soorten (waarbij wordt aangenomen dat deze grotendeels van hun schimmel afhankelijk zijn) en één met niet- of zwak-geïnfekteerde soorten,blijken soorten uit de laatste groep in Nederland significant algemener te zijn.Ook vertonen deze soorten een tendens tot een minder sterke achteruitgang in aantal uurhokken.
In eerste instantie werd ter verklaring van dit verschijnsel een theorie opgesteld,die het voorkomen van de mycorrhiza-schimmels in veranderende milieu-omstandigheden centraal stelde.Bepaalde veranderingen in omstandigheden,die het wel of niet voorkomen van deze schimmels veroorzaken,zouden na het doorlopen van het juveniele stadium voor planten uit de twee kategorieën een verschillend effekt hebben.In volwassen staat nog sterk van de schimmels afhankelijke soorten zouden verdwijnen,terwijl de meer onafhankelijke verwanten zouden blijven voortbestaan.Wel zou bij beide groepen de vestiging van nieuwe individuen onmogelijk zijn geworden.Deze theorie zou het verschil in algemeenheid tussen soorten uit beide groepen kunnen verklaren.
Deze theorie lijkt echter onwaarschijnlijk.Meerdere fungi,die in staat zijn tot effektieve mycorrhiza-vorming bij orchideeën,blijken een habitatbreedte te hebben die die der orchideeësoorten ruimschoots overtreft.Verder blijkt de relatie tussen schimmel en hogere plant niet specifiek te zijn;dit betekent dat na het verlies van de oorspronkelijke endofyt door veranderende milieu-omstandigheden herinfektie kan optreden met andere,meer tole-

rante mycorrhiza-vormers.Deze twee feiten houden in,dat het wel of niet voorkomen van een bepaalde schimmelsoort nooit een beperkende faktor kan zijn voor het voorkomen van adulte individuen van een zekere orchideeësoort.
Het blijkt echter,dat de relatie tussen plant en schimmel gezien kan worden als een gebalanceerd antagonisme.Elk van beide partijen is in staat tot parasitisme op de andere partij.In normale omstandigheden ligt het evenwicht tussen de twee komponenten ten gunste van de orchidee,maar de precieze ligging ervan lijkt te worden beïnvloed door zowel de genetische eigenschappen van schimmel en hogere plant als door externe omstandigheden.Voor orchideeën in de juveniele stadia zijn er aanwijzingen dat een effektieve symbiose alleen mogelijk is binnen een nauw trajekt;dit lijkt dan speciaal te gelden voor de koolstof- en de stikstofvoorziening.Buiten dit nauwe trajekt treedt een ontsporing van de relatie op,die tot uiting komt in een ongebreideld parasitisme van de ene komponent ten koste van de andere.Als dit gegeven wordt geëxtrapoleerd naar adulte planten, biedt het een mogelijkheid om de gevonden verschillen in algemeenheid tussen beide kategoriën te verklaren.
Soorten,die voor hun voortbestaan in hoge mate zijn aangewezen op hun schimmels,zullen een verstoring van de balans tussen de twee organismen nimmer overleven.Onafhankelijke soorten zullen in volwassen staat minder nadeel ondervinden van zo'n verstoord evenwicht.Dit maakt de onafhankelijke soorten algemener en minder kwetsbaar voor veranderingen dan de sterk afhankelijke soorten,wat in de algemeenheid van soorten uit beide groepen tot uiting komt.
Op grond hiervan mag dus verwacht worden,dat zwaar geïnfekteerde soorten t.o.v. minstens enkele faktoren een nauwere responscurve zullen hebben dan de zwak- of niet geïnfekteerde soorten.Daar door de mycorrhiza-schimmels stikstof en fosfaat lijkt te worden getransporteerd naar de adulte plant,mag verwacht worden dat zwaar geïnfekteerde soorten zullen voorkomen bij lagere stikstof- en fosfaat-beschikbaarheden in vergelijking tot de meer autotrofe soorten.
Bij vergelijking van de gemiddelde standplaats van de zwaar geïnfekteerde Dactylorhiza incarnata met de als volwassen plant geheel schimmelvrije Epipactis palustris blijkt echter,dat de eerstgenoemde bij significant hogere N- en P-gehalten voorkomt.Met uitzondering van de faktor "grondwaterstand" is de spreiding in

waarden van enkele milieufaktoren van groeiplaatsen van D.incarnata juist groter dan van die van E.palustris.
Ook een vegetatie-ordinatie van 98 opnames,waarbij vier soorten orchideeën goed met elkaar konden worden vergeleken,leverde geen aanwijzing dat de zwaarder geïnfekteerde soort Dactylorhiza incarnata een kleinere habitatbreedte zou hebben dan de overige,zwak- tot niet geïnfekteerde soorten Epipactis palustris, Gymnadenia conopsea en Herminium monorchis.Op grond van deze gegevens kan ook de tweede theorie dus niet worden aanvaard.

7.2 Discussie en suggesties voor verder onderzoek

Het verdient m.i. aanbeveling om de laatste theorie verder te toetsen,maar op een andere,beter reproduceerbare wijze.Hierbij moeten een aantal onzorgvuldigheden,die in dit onderzoek noodgedwongen zijn binnengeslopen i.v.m. de beschikbaarheid van gegevens,worden vermeden.Hoofdzaak daarbij is,dat het belang van de infektie voor de adulte plant niet zou moeten worden afgemeten aan de hevigheid van infektie van de wortels,maar aan een verschil in opbrengst (of een verschil in gehaltes aan bepaalde nutriënten) tussen symbiotisch opgroeiende -,en met fungicide behandelde planten van een soort.Een tweede bezwaar van het gebruik van de hevigheid van infektie als gegeven is dat deze onderworpen kan zijn aan seizoensfluktuaties en aan variatie ten gevolge van de standplaats van de waardplant. Zo zou de heviger infektie van Dactylorhiza incarnata kunnen vinden juist in het feit,dat deze soort in nutriëntrijkere habitats groeit;het feitelijke belang van de infektie voor de soort zou gering kunnen zijn.Studies naar dit belang voor de adulte plant zijn nog vrijwel niet uitgevoerd en vormen een witte vlek in het onderzoek naar orchideeënmycorrhiza's.
Een tweede punt is het feit,dat in de toetsing van de tweede hypothese een veel te kleine steekproef aan soorten is gebruikt.Vooral de zwaarder geïnfekteerde soorten waren ondervertegenwoordigd (alleen D.incarnata).
Ten derde werd breedte van de ecologische responscurven der soorten niet ideaal vastgesteld.Zo werd bij de "abiotische benadering" de parameter "totaal fosfaat" gebruikt i.p.v. beschikbaar fosfaat.Een dergelijk bezwaar geldt voor stikstof. Bepalingen via vegetatie-ordinatie zijn indirekt en dus niet ideaal.

Een vierde,eveneens principiëel bezwaar van deze opzet is het feit,dat geprobeerd werd een uitspraak te doen over een evenwicht tussen twee organismen,die werd gekontroleerd door gegevens te verzamelen over één komponent van de symbiose.De opgestelde verwachting was,dat de hebitatbreedte van zwaar van mycorrhiza-schimmels afhankelijke soorten beperkt zou worden door interferentie met de schimmel.In nutriëntrijke omstandigheden zou het risico aanwezig zijn op parasitisme door de schimmel;dit zou de verspreiding van deze groep orchideeën beperken. Om dit te verifiëren werd gekeken naar het voorkomen van de soort in verschillende milieutypen,zonder dat hierbij werd gelet op de groei,cq. de virulentie van de schimmel.
Om toch de hypothese (beter) te toetsen stel ik de volgende opzet voor,waarbij de genoemde bezwaren voor een groot deel worden ondervangen.Volwassen planten van zowel sterk- als van zwak geïnfekteerde soorten zouden moeten worden onderworpen aan een serie groeiproeven,waarbij de concentratie van één bepaald nutriënt wordt gevariëerd,waarbij vooral aan stikstof en fosfaat valt te denken.Van deze soorten wordt een gedeelte periodiek behandeld met fungicide,het andere gedeelte niet.Voor beide behandelingen wordt per soort een groeicurve gemaakt.
Op deze manier kan het effekt van de symbiose getoetst worden per soort,zonder dat er vergelijkingen nodig zijn tussen ongelijksoortige organismen.De verwachting is,dat bij zwak geïnfekteerde soorten de responscurves voor de twee behandelingen zullen samenvallen.Sterk geïnfekteerde soorten zouden in ieder geval op een deel van het getoetste trajekt een significant hogere opbrengst moeten tonen van onbehandelde planten t.o.v. met fungicide behandelde;dit zou een grotere afhankelijkheid aannemelijk maken.Als de hypothese op basis van het gebalanceerd antagonisme steek houdt,mag verwacht worden dat zich zowel aan de nutriëntarme -,als aan de nutriëntrijke zijde van de groeicurve interessante effekten voordoen bij de meer afhankelijke soorten.Zo zullen aan de nutriëntarme zijde onbehandelde planten een hogere opbrengst moeten tonen.Aan de nutriëntrijke zijde van de curve zouden juist met fungicide behandelde planten een hogere opbrengst moeten geven,dit omdat er bij deze behandeling geen risico is op parasitisme door de schimmel.Bij zwak afhankelijke soorten zou dit effekt zich niet moeten voordoen.
Om vervolgens de rol van de schimmel op de vorm van de groei-

curve van de orchidee te schatten,zou periodiek bepaald moeten worden in welke mate schimmelhyfen in de wortels aanwezig zijn. Ingeval van parasitisme door de schimmel mag verwacht worden, dat de wortels excessief door hyfen zijn bezet in vergelijking tot andere individuen van de soort.In deze opzet is variatie in de mate van infektie,veroorzaakt door standplaatsverschillen,al uitgesloten; temporele variatie hierin zou kunnen worden geminimaliseerd door soorten te gebruiken met een zoveel mogelijk samenvallende groeicyclus en door de mate van infektie steeds op vaststaande punten in de jaarlijkse cyclus te bepalen.

De relevantie in het veld van deze kasproeven zou aannemelijk kunnen worden gemaakt via populatiestudies naar de voorbeelden van Tamm (1972) en Wells (1931); zwaarder en minder zwaar geïnfekteerde soorten zouden moeten worden vergeleken.De verwachting is,dat bij afhankelijke soorten een verstoring in de balans tussen de symbionten het verdwijnen tot gevolg zal hebben van zowel de juveniele als de adulte planten,Bij meer onafhankelijke soorten zal zo'n verstoring alleen gevolgen hebben voor de juveniele stadia.Mocht dit waar zijn,dan mag verwacht worden dat er populaties zullen bestaan van onafhankelijke soorten,die een onevenredige populatieopbouw zullen hebben: zaailingen zullen ontbreken in de voor symbiose ongunstige omstandigheden.Voor meer afhankelijke soorten zal dit effekt in mindere mate optreden.Het lijkt interessant om de populatieopbouw van soorten te volgen in terreinen die onderhavig zijn aan grote veranderingen.Te denken valt aan populaties van D.majalis op de hooilanden langs de Drentsche Aa,waarop een verschralend beheer wordt toegepast,of aan populaties in duingebieden waar de successie nog in volle gang is, met name de Strandvlakte op Schiermonnikoog.In enkele populaties van D.majalis in deze gebieden blijken inderdaad zaailingen vrijwel te ontbreken (pop.Gasselte/Schipborg;Kooiweg en Reddingsweg Schiermonnikoog).

Zeker gezien de slechte positie,waarin de orchideeën als groep in Nederland verkeren,lijkt het bepaald geen overbodige luxe om meer kennis over de oecologie van deze groep te verzamelen.

8 - LITERATUUR

Alexander,C.E. & G.Hadley - 1984
"The effect of mycorrhizal infection of Goodyera repens and its control by fungicide"; New Phytol.97 pag.391-400.

Alexander,C.E.,I.J.Alexander & G.Hadley - 1984
"Phosphate uptake by Goodyera repens in relation to mycorrhizal infection"; New Phytol.97 pag.401-411.

Alting,D.,W.Kooistra,L.Soldaat & G.Vossebelt - 1983
"Vegetatieontwikkeling in secundaire duinvalleien"; verslag cursus plantenoecologie II,vakgr.plantenoecologie,R.U.G.

Arditti,J. - 1967
"Factors affecting the germination of orchid seed"; Bot.Rev.33 pag.1-97

Arditti,J. & R.Ernst - 1983 (?)
"Physiology of germinating orchid seeds"; in "Orchid Biology - reviews and perspectives",ed.J.Arditti,dl. III hfdst.4.

Blakeman,J.P.,M.A.Mokahel & G.Hadley - 1976
"Effect of mycorrhizal infection on respiration and activity of some oxidase enzymes of orchid protocorms"; New Phytol.77 pag.697 ev.

Blauw,F.J. - 1971
"Een oecologische verkenning van Schiermonnikoog"; doktoraalverslag vakgroep plantenoecologie,R.U.G.

Bosma,W.,M.Dietz,R.Dijkstra & M.Prins - 1983
"Enkele zeldzame soorten op Schiermonnikoog"; verslag cursus plantenoecologie II,vakgr.plantenoecologie,R.U.G.

Burgeff,H. - 1932
"Saprophytismus und Symbiose - Studien an tropischen Orchideen"; Verlag von Gustav Fischer,Jena.

Burgeff,H. - 1936
"Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen"; Verlag von Gustav Fischer,Jena.

Burgeff,H. - 1959
"Mycorrhiza of orchids" in "The orchids,a scientific survey",ed.C.L.Withner,Ronald Press Co.,New York.

Burges,N.A. - 1939
"The defence mechanism in orchid mycorrhiza"; New Phytol.38 pag.273-283.

Cooke,R. - 1977
"The biology of symbiotic fungi"; John Wiley & Sons, London,New York,Sydney,Toronto.

Curtis,J.T. - 1943
"Germination and seedling development in five species of Cypripedium L."; Amer.J.Bot.30 pag.199-205.

Downie,D.G. - 1943
"Source of the symbiont of Goodyera repens"; Trans. Proc.Bot.Soc.Edinb.33 pag.383 ev.

Downie,D.G. - 1951
"The germination of Listera ovata (L.)R.Br."; Trans. Proc.Bot.Soc.Edinb.25 pag.126-130.

Downie,D.G. - 1959a
"Rhizoctonia solani and orchid seed"; Trans.Proc.Bot. Soc.Edinb.37 pag.279-285.

Downie,D.G. - 1959b
"The mycorrhiza in Orchis purpurella"; Trans.Proc. Bot.Soc.Edinb.38 pag.16-29.

Engelmoer,M. & P.Hendriksma - 1967/'69
"Grondwaterstandsdaling en vegetatie in een vochtige duinvallei"; doktoraalverslag vakgr.plantenoecologie, R.U.G.

Fast,G. - 1978
"Ueber das Keimverhalten europäischer Erdorchideen bei asymbiotischer Aussaat"; Die Orchidee 29 pag.270-274.

Fuchs,A. & H.Ziegenspeck - 1922
"Entwickelungsgeschichte von Dactylorchis"; Bot.Archiv 2 pag.238-248.

Fuchs,A. & H.Ziegenspeck - 1924
"Entwicklungsgeschichte einiger deutschen Orchideen"; Bot.Archiv 5 pag.120-132.

Fuchs,A. & H.Ziegenspeck - 1925
"Bau und Form der Wurzeln der einheimischer Orchideen in Hinblick auf ihre Aufgaben"; Bot.Archiv 12 pag 290-379.

Fuchs,A. & H.Ziegenspeck - 1927
"Die Dactylorchisgruppe der Ophrydineen"; Bot.Archiv 19 pag.163-274.

Garrett,S.D. - 1962
"Decomposition of cellulose in soil by Rhizoctonia solani Kühn"; Trans.Brit.Mycol.Soc.45 (1) pag.115-120.

Hauch,H.H.jr. - 1982
"Multivariate analysis in community ecology"; Cambridge,London,New York,New Rochelle,Melbourne,Sydney.
Hadley,G. - 1969
"Cellulose as a carbon source for orchid mycorrhiza"; New Phytol.68 pag.933-939.
Hadley,G. - 1970
"Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza"; New Phytol.69 pag. 1015-1023.
Hadley,G. - 1975
"Organisation of fine structure of orchid mycorrhiza"; in "Endomycorrhiza",ed.F.E.Sanders,B.Mosse & P.B.Tinker;Academic Press,London,New York,San Francisco.
Hadley,G. - 1983 (?)
"Orchid mycorrhiza"
in "Orchid Biology - reviews and perspektives",ed. J.Arditti,dl.III hfdst.
Hadley,G. - 1984
"Uptake of ^{14}C glucose by asymbiotic and mycorrhizal orchid protocorms"; New Phytol.96.pag.263-273.
Hadley,G. & G.Harvais - 1968
"The effect of certain growth substances on asymbiotic germination and development of Orchis purpurella"; New Phytol.67 pag.441-445.
Hadley,G. & S.H.Ong - 1978
"Nutritional requirements of orchid endophytes"; New Phytol.81 pag.561-569.
Hadley,G. & M.Perombelon - 1963
"Production of pectic enzymes by Rhizoctonia solani and orchid endophytes"; Nature pag.1337.
Hadley,G. & S.Purves - 1974
"Movement of carbon compounds from host to fungus in orchid mycorrhiza"; New Phytol.73 pag.475-482.
Hadley,G. & B.Williamson - 1971
"Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza"; New Phytol.70 pag.217-230.
Hadley,G. & B.Williamson - 1972
"Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids"; New Phytol.71 pag.1111-1118.
Harley,J.L. - 1969
"The biology of mycorrhiza",2e druk; Leonard Hill, London.
Harley,J.L. & S.E.Smith - 1983
"Mycorrhizal symbiosis";Academic Press,London,New York, Paris etc.
Hartog,K. den - 1959
"Plantensociologische waarnemingen op Schiermonnikoog" in "Plantengroei in enkele nederlandse landschappen (Kruipnieuws 1937-1959)"; Bondsuitgeverij van de jeugdbonden voor natuurstudie ism. de vereniging tot behoud van natuurmonumenten.
Harvais,G. - 1971
"The development and growth requirements of Dactylorhiza purpurella in asymbiotic cultures"; Can.J.Bot. 50 pag.1223-1229.
Harvais,G. - 1973
"Growth requirements of Cypripedium reginae in axenic cultures"; Can.J.Bot.51 pag.327-332.
Harvais,G. & G.Hadley - 1967a
"The relation between host and endophyte in orchid mycorrhiza"; New Phytol.66 pag.205-215.
Harvais,G. & G.Hadley - 1967b
"The development of Orchis purpurella in symbiotic and inoculated cultures"; New Phytol.66 pag.217-230.
Harvais,G. & D.Pekkala - 1975
"Vitamin production by a fungus symbiotic with orchids"; Can.J.Bot.53 pag.156-163.
Harvais,G. & A.Raitsakas - 1975
"On the physiology of a fungus symbiotic with orchids"; Can.J.Bot.53 pag.144-155.
Hoek,C.v.d. - 1977
"Mycologie - een introduktie tot het systeem van de fungi"; collegediktaat R.U.G.
Hijner,J.A. & J.Arditti - 1973
"Orchid mycorrhiza: vitamin production and requirements by the symbionts"; Amer.J.Bot.60 (8) pag.829-835.
Karlson,P. - 1980
"Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediciner und Naturwissenschaftler"; Georg Thieme Verlag,Stuttgart, New York.
Kooiker,J.,B.Habekotté & M.Pas - 19
"Successie van primaire en secundaire duinvalleien op Schiermonnikoog"; verslag derdejaarscursus,vakgr.plantenoecologie,R.U.G.

Landwehr,J. - 1978
"Wilde orchideeën van Europa",dl.1 en 2; uitg.Vereniging tot behoud van natuurmonumenten,'s Gravenland.
Mead,J.W. & C.Bulard - 1979
"Effects of vitamins and nitrogen sources on asymbiotic germination and development of Orchis laxiflora and Ophrys sphegodes"; New Phytol.74 pag.33-40.
Mead,J.W. & C.Bulard - 1979
"Vitamin and nitrogen requirements of Orchis laxiflora Lamk."; New Phytol.83 pag.129-136.
Mennema,J.,A.J.Quené-Boterenbrood & C.L.Plate - 1980
"Atlas van de Nederlandse flora",deel 1: uitgestorven en zeer zeldzame planten; Kosmos,Amsterdam.
Mennema,J.,A.J.Quené-Boterenbrood & C.L.Plate - in prep.
"Atlas van de Nederlandse flora",deel 2.
Mennema,J.,A.J.Quené-Boterenbrood & C.L.Plate - in voorbereiding
"Atlas van de Nederlandse flora",deel 3.
Mosse,B. - 1978
"Mycorrhiza and plant growth" in "Structure and functioning of plant populations",ed.A.H.J.Freysen & J.W. Woldendorp,pag.269-278; North Holland Publishing Company,Amsterdam,Oxford,New York.
Nakamura,S.J. - 1982
"Nutritional conditions required for the non-symbiotic culture of an achlorophyllous orchid Galeola septentrionalis"; New Phytol.90 pag.701-715.
Pierik,R.L.M.,P.A.Sprenkels,D.W.v.d.Spek & T.A.Vrind - 1983
"De zaai en ontwikkeling van Paphiopedilum in vitro"; Orchideeën 45 (3) pag.91-95.
Purves,S. & G.Hadley - 1975
"Movement of C-compounds in orchid mycorrhizas" in "Endomycorrhizas",ed.F.E.Sanders,B.Mosse & P.B.Tinker; Academic Press,London,New York,San Francisco.
Purves,S. & G.Hadley - 1976
"The physiology of symbiosis in Goodyera repens"; New Phytol.77 pag.689 ev.
Salomé,S.,S.Pais & J.Barroso - 1983
"Localisation of polyphenoloxidases during the establishment of Ophrys lutea endomycorrhizas"; New Phytol. 95 pag.219-222.
Smith,S.E. - 1966
"Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition"; New Phytol. 65 pag.488-499.
Smith,S.E. - 1967
'Carbohydrate translocation in orchid mycorrhizas"; New Phytol.66 pag.371-378.
Smith,S.E. - 1973
"Asymbiotic germination of orchid seeds on carbohydrates of fungal origin"; New Phytol.72 pag.497-499.
Smith,S.E. & F.A.Smith - 1973
"Uptake of glucose,trehalose and mannitol by leaf slices of the orchid Bletilla hyacintha"; New Phytol. 72 pag.957-964.
Sterk,A.A. - 1976
"Jaarlijkse registratie van aantallen individuen van zeer zeldzame Nederlandse plantensoorten en de populatiedynamica"; Gorteria 8 (1) pag.1-11.
Stoutamire,W. - 1974
"Terrestrial orchid seedlings" in "The orchids,scientific studies",ed.C.L.Withner; John Wiley & Sons,New York,London,Sydney,Toronto.
Summerhayes,V.S. - 1951
"Wild orchids of Britain"; Collins,London.
Tamm,C.O. - 1972
"Survival and flowering of some perennial herbs - II The behaviour of some orchids om permanent plots"; Oikos 23 pag.23-28.
Vermeulen,P. - 1947
"Studies on Dactylorchids"; proefschrift U.v.A.; Schotanus & Jens,Utrecht.
Vos,T. & R.Schwab - 19
"Verslag derdejaars cursus vegetatiekunde (Linda-vallei)" R.U.G.
Warcup,J.H. - 1971
"Specificity of mycorrhizal association in some Australian terrestrial orchids"; New Phytol.70 pag.41-46.
Warcup,J.H. - 1975
"Factors affecting symbiotic germination of orchid seed" in "Endomycorrhizas",ed.F.E.Sanders,B.Mosse & P.B.Tinker; Academic Press,London,New York,San Francisco.

Warcup,J.H. - 1981
"The mycorrhizal relationships of Australian orchids"; New Phytol.87 pag.371-381.

Warcup,J.H. & P.H.B.Talbot - 1967
"Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids"; New Phytol.66 pag.631-641.

Warcup,J.H. & P.H.B.Talbot - 1971
"Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids" II; New Phytol.70 pag.35-40.

Warcup,J.H. & P.H.B.Talbot - 1980
"Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids" III; New Phytol.86 pag.267-272.

Weinhold,A.R.,T.Bowman & R.L.Dodman - 1969
"Virulence of Rhizoctonia solani as affected by nutrition of the pathogen"; Phytopathology 59 pag.1601-1605.

Weinhold,A.R.,R.L.Dodman & T.Bowman - 1972
"Influence of exogenous nutrition on virulence of Rhizoctonia solani"; Phytopathology 62 pag.278-281.

Wells,T.C.E. - 1967
"Changes in a population of Spiranthes spiralis (L.) Chevall. at Knocking Hoe Nature Reserve,1962-65"; J.Ecol.55 pag.83-99.

Wells,T.C.E. - 1981
"Population ecology of terrestrial orchids" in : "The biological aspects of rare plant conservation", ed.H.Synge; John Wiley & Sons Ltd.

Westhoff,V. e.a. - 1970
"Wilde planten"; uitg. Vereniging tot behoud van natuurmonumenten,'s Gravenland.

Westhoff,V. & A.J.den Held - 1975
"Plantengemeenschappen in Nederland",tweede druk; Thieme & cie,Zutphen.

Willems,J.H. - 1978
"Populatiebiologisch onderzoek aan Orchis mascula (L.) op enkele plaatsen in Zuid Limburg"; Gorteria 9 (5) pag.71-80

Willems,J.H. - 1982
"Establishment and development of a population of Orchis simia Lamk. in the Netherlands,1972 to 1981"; New Phytol.91 pag.757-765.

Williamson,B. - 1970
"Induced DNA-synthesis in orchid mycorrhiza"; Planta 92 pag.347-354.

Williamson,B. & G.Hadley - 1969
"DNA-content of nuclei in orchid protocorms symbiotically infected with Rhizoctonia"; Nature 222 pag. 582-583

Williamson,B. & G.Hadley - 1970
"Penetration and infection of orchid protocorms by Thanatephorus cucumeris and other Rhizoctonia isolates"; Phytopathology 60 pag.1092-1096.

Withner,C.L. - 1974
"Developments in orchid physiology" in "The orchids, scientific studies",ed.C.L.Withner; John Wiley & Sons, New York,London,Sydney,Toronto.

Ziegenspeck,H. - 1936
"Orchidaceae" in "Lebensgeschichte der Blutenpflanzen Mitteleuropas",vol.1 no.4; Stuttgart.

Bijlage 1 - Enige aanvullende informatie over enkele West- en Middeneuropese orchideeënsoorten. Eerste kolom : soort, met tussen haakjes de onderfamilie: Epidendroidae (E) of Orchidoidae (O). Tweede kolom: syntaxon waarvan de soort in Nederland kensoort is (volgens Westhoff & den Held, 1975). Derde kolom: syntaxon waarvan de soort kensoort is volgens Ellenberg (1978) "Vegetation Mitteleuropas mit de Alpen in ökologischer Sicht". Vierde en verdere kolommen: Indikator-waarden volgens Ellenberg (1979); "Zeigerwerte der Gefäszpflanzen Mitteleuropas", 2e druk; in volgorde licht (L), temperatuur (T), mate van kontinentaliteit (K), vocht (F), pH (R) en stikstof (N). Een lage indikatorwaarde hangt samen met een lage waarde van de betreffende faktor, bv K1=euoceanisch, K9=eukontinentaal etc. De nummers der soorten korresponderen met die in fig. 1 op pag.2. Niet genummerde soorten zijn niet in fig.1 opgenomen.

			L	T	K	F	R	N
1e groep: bladgroenloze, sterk geïnfekteerde soorten								
1)	Corallorhiza trifida (E)	-	Vaccinio-Piceetea	2	x	7	5	3	x
	Epipogium aphyllum (E)	-	Vaccinio-Piceetea	2	4	6	5	5	?
2)	Neottia nidus-avis (E)	Fagetalia sylvaticae	-	2	5	3	5	7	5
2e groep: bladgroenbezittende, sterk geïnfekteerde soorten									
3)	Cephalanthera rubra (E)	-	Querco-Fagetea	3	5	4	4	8	3
4)	Coeloglossum viride (O)	Violion caninae	-	8	x	x	4	5	?
5)	Dactylorhiza incarnata (O)	Caricion davallianae	Molinio-Arrhenatheretea	8	x	3	8	7	2
	Epipactis microphylla (E)	-	Fagetalia	2	6	4	5	8	4
6)	Goodyera repens (E)	Vaccinio-Piceetea	Dicrano-Pinion	5	x	7	4	x	2
	Gymnadenia odoratissima (O)	-	Erico-Pinetea	7	x	4	4	9	2
7)	Leucorchis albida (O)	-	-						
	Limodorum abortivum (E)	-	-	x	7	3	4	8	?
8)	Listera cordata (E)	Vaccinio-Piceetea	-	3	x	3	7	2	2
	Nigritella nigra (O)	-	-	8	2	4	4	7	2
9)	Ophrys apifera (O)	Koelerio-Gentianetum	Mesobromion	7	6	2	4	9	2
	Ophrys holoserica (O)	-	Mesobromion	8	7	4	4	9	2
10)	Ophrys insectifera (O)	Koelerio-Gentianetum	Mesobromion	6	6	4	4	9	3
11)	Ophrys sphegodes (O)	-	Mesobromion	8	8	4	4	9	3
12)	Orchis coriophora (O)	-	-						
13)	Orchis militaris (O)	Koelerio-Gentianetum	Mesobromion	7	6	5	3	9	2
14)	Orchis morio (O)	Koelerio-Gentianetum Cirsio-Molinietum Empetro-Genistetum tinct.	-	7	5	3	4	7	3
	Orchis pallens (O)	-	Fagion sylvaticae	4	5	4	5	8	4
15)	Orchis purpurea (O)	Koelerio-Gentianetum	Quercetalia pubescenti-petraeae	5	7	4	4	8	x
16)	Orchis simia (O)	-	Mesobromion	8	8	2	3	8	?
	Orchis tridentata (O)	-	Mesobromion						

(bijlage 1, groep 2; vervolg)

17) Orchis ustulata (O)	-	Mesobromion	7	5	5	4	x	3
18) Platanthera chlorantha (O)	Fagetalia sylvaticae	Molinietalia	6	x	3	7	7	x
19) Spiranthes aestivalis (E)	-	-						
20) Spiranthes spiralis (E)	-	Mesobromion	8	6	2	3	x	2

3e groep: bladgroenbezittende, zwak geïnfekteerde soorten

21) Cephalanthera longifolia (E)	Stellario-Carpinetum	-	4	5	3	3	8	3
22) Dactylorhiza elata (O)	-	-						
23) Dactylorhiza maculata (O)	Oxycocco-Sphagnetea Violion caninae	Molinietalia						
24a) Dactylorhiza majalis (O)	Calthion palustris	Molinietalia	8	5	3	8	7	2
24b) Dactylorhiza praetermissa (O)	Molinietalia	-	8	5	3	8	7	2
25) Dactylorhiza traunsteineri (O)	-	Scheuzerio-Caricetea nigrae	8	x	4	9	4	?
26) Gymnadenia conopsea (O)	Koelerio-Gentianetum Cirsio-Molinietum Pyrolo-Salicetum	Molinietalia	x	x	2	7	8	?
27) Orchis mascula (O)	Orchio-Cornetum	-	7	x	3	4	8	3
28) Platanthera bifolia (O)	Violion caninae	-	6	x	3	5	7	x

4e groep: nauwelijks geïnfekteerde, bladgroenbezittende soorten

29) Cephalanthera damasonium (E)	Stellario-Carpinetum	Cephalanthera-Fagion	2	5	2	4	7	4
30) Epipactis atrorubens (E)	Orchio-Cornetum	Erico-Pinetea	6	x	3	3	8	2
31) Epipactis helleborine (E)	Querco-Fagetea	Fagetalia	3	5	3	5	7	5
32) Epipactis palustris (E)	Caricion davallianae	Caricion davallianae	8	5	3	8	7	2
Epipactis purpurata (E)	-	Fagetalia	3	6	4	6	8	6
33) Herminium monorchis (O)	Festuco-Brometea	Mesobromion	7	5	7	x	8	?
34) Listera ovata (E)	-	-	x	x	3	6	7	7
Traunsteineria globosa (O)	-	-	7	3	4	5	8	x

5e groep: bladgroenbezittende soorten; infektiegraad onbekend

35) Aceras anthropophorum (O)	Orchio-Cornetum	Mesobromion	7	7	2	4	8	3
36) Anacamptis pyramidalis (O)	Anthillido-Silenetum nutant.	-	8	7	2	3	9	2
Cypripedium calceolus (C)	-	Querco-Fagetalia	5	x	5	4	8	?
Chamorchis alpina (O)	-	-	9	1	2	4	9	?
37) Epipactis muelleri (E)	-	-						
38) Hammarbya paludosa (E)	-	-						
39) Himantoglossum hircinum (O)	Galio-Koelerion	Mesobromion	7	7	2	3	9	2
40) Liparis loeselii (E)	Caricion davallianae	Caricion davallianae	7	6	4	9	9	2

Bijlage 2 - Zeldzaamheid en achteruitgang van (ooit -) in Nederland inheemse orchideeënsoorten. In de kolommen achtereenvolgens: aantal uurhokken vóór 1950 (U50); aantal uurhokken na 1950 (U80); verandering in aantal uurhokken (dU); relatieve voor- of achteruitgang (%) in procenten. Gebaseerd op Mennema c.s. "Atlas van de Nederlandse flora" dl.1 (1980), dl.2 (in prep.) en dl.3 (te verschijnen). De nummers korresponderen met die in fig.1, pag.2.

soort	U50	U80	dU	%
1) Corallorhiza trifida	1	0	-1	-100
2) Neottia nidus-avis	28	10	-18	-64
3) Cephalanthera rubra	1	1	0	0
4) Coeloglossum viride	17	5	-12	-71
5) Dactylorhiza incarnata	283	155	-128	-45
6) Goodyera repens	27	25	-2	-7
7) Leucorchis albida	4	0	-4	-100
8) Listera cordata	2	9	+7	+350
9) Ophrys apifera	19	19	0	0
10) Ophrys insectifera	17	8	-9	-53
11) Ophrys sphegodes	0	1	+1	-neofyt
12) Orchis coriophora	8	0	-8	-100
13) Orchis militaris	14	9	-5	-36
14) Orchis morio	329	68	-261	-79
15) Orchis purpurea	13	9	-4	-31
16) Orchis simia	1	1	0	0
17) Orchis ustulata	5	0	-5	-100
18) Platanthera chlorantha	34	19	-15	-44
19) Spiranthes aestivalis	12	0	-12	-100
20) Spiranthes spiralis	35	3	-32	-91
21) Cephalanthera longifolia	3	3	0	0
22) Dactylorhiza elata	0	1	+1	-neofyt
23) Dactylorhiza maculata s.l.	559	328	-231	-41
24) Dactylorhiza majalis incl. D.praetermissa	578	403	-175	-30
25) Dactylorhiza traunsteineri	18	0	-18	-100
26) Gymnadenia conopsea	107	21	-86	-80
27) Orchis mascula	24	10	-14	-58
28) Platanthera bifolia	359	174	-185	-52
29) Cephalanthera damasonium	14	6	-3	-33
30) Epipactis atrorubens	6	2	-4	-67
31) Epipactis helleborine	476	625	+149	+31
32) Epipactis palustris	249	96	-153	-61
33) Herminium monorchis	30	11	-19	-63
34) Listera ovata	312	273	-39	-13
35) Aceras anthropophorum	9	6	-3	-33
36) Anacamptis pyramidalis	21	4	-17	-81
37) Epipactis muelleri	1	2	+1	+50
38) Hammarbya paludosa	122	33	-89	-73
39) Himantoglossum hircinum	5	0	-5	-100
40) Liparis loeselii	102	46	-56	-55

BIJLAGE 4.

Koördinaten van de 98 opname's van de vochtige duinvalleien op Schiermonnikoog op de drie verschillende WCO-assen. Verklaring: x : ongecorrigeerde koördinaat op de betreffende as ; x' : x-waarde na correctie dmv. een wortel-funktie (zie pag.36) en x'': herschaalde x'-waarde. De drie assen zijn niet sterk gecorrelleerd (correlatie as 1- as 2 : -0,201 ; as 1 - as 3 : -0,262 ; as 2 - as 3 : -0,178). Eerste drie kolommen : correctie op basis van euclidische afstanden als berekend op grond van as 1 en 2 ; tweede serie op grond van as 2 en as 3.

AS 1

opname	x	x'	x''	x	x'	x''
1	29,46	40,08	19,02			
2	51,78	51,78	56,97			
3	58,33	54,71	68,39			
4	60,56	55,41	71,11			
5	41,12	43,77	30,56			
6	54,80	53,38	63,21			
7	59,40	55,06	69,73			
8	36,88	42,24	25,78			
9	41,72	44,02	31,32			
10	47,64	47,17	41,19			
11	45,38	45,74	36,70			
12	66,24	56,91	76,99			
13	65,66	56,77	76,44			
14	58,40	54,73	68,48			
15	62,80	56,04	73,58			
16	70,37	57,35	80,63			
17	57,36	54,38	67,09			
18	66,43	56,96	77,16			
19	60,98	55,53	71,59			
20	61,12	55,57	71,75			
21	56,19	53,95	65,41			
22	67,20	57,14	77,87			
23	57,24	54,34	66,92			
24	46,80	46,59	39,35			
25	49,25	48,69	45,92			
26	53,36	52,71	60,57			
27	62,37	55,92	73,12			
28	61,48	55,63	72,15			
29	53,36	52,71	60,57			
30	72,62	58,32	82,47			
31	51,68	51,72	56,70			
32	57,42	54,40	67,17			
33	55,63	53,73	64,56			
34	45,14	45,61	36,30			
35	43,60	44,84	33,89			
36	54,56	53,28	62,80			
37	69,44	57,65	79,85			
38	54,53	53,27	62,74			
39	71,87	58,16	81,87			
40	74,08	58,61	83,61			
41	74,80	58,75	84,16			
42	60,98	55,53	71,59			
43	46,08	46,14	37,95			
44	37,04	42,30	25,94			
45	41,36	43,87	30,86			
46	46,64	46,49	39,03			
47	56,40	54,03	65,72			
48	39,50	43,15	28,62			
49	49,18	48,60	45,65			
50	34,20	41,40	23,15			
51	35,78	41,89	24,67			
52	42,31	44,27	32,09			
53	35,12	41,68	24,02			
54	29,84	40,17	19,30			
55	37,02	42,29	25,92			
56	42,58	44,38	32,46			
57	32,04	40,77	21,19			
58	39,20	43,04	28,28			
59	32,04	40,77	21,19			
60	35,29	41,74	24,19			
61	42,80	44,48	32,76			
62	34,44	41,47	23,37			
63	46,28	46,26	38,32			
64	36,87	42,24	25,77			
65	48,66	48,05	43,90			
66	14,00	36,56	8,02			
67	22,80	38,44	13,88			
68	29,08	39,97	18,68			
69	67,00	57,09	77,69			
70	61,76	55,75	72,46			
71	55,10	53,51	63,71			

opname	x	x'	x''	x	x'	x''
72	54,17	53,10	62,11			
73	55,98	53,87	65,10			
74	56,06	53,90	65,22			
75	67,95	57,31	78,55			
76	55,85	53,82	64,90			
77	58,80	54,86	68,99			
78	63,92	56,34	74,73			
79	0,00	33,99	0,00			
80	20,98	38,02	12,06			
81	38,30	42,73	27,28			
82	24,80	38,90	15,35			
83	21,10	38,15	12,68			
84	36,22	42,03	25,11			
85	45,50	45,81	36,91			
86	47,59	47,14	41,07			
87	50,78	50,99	53,86			
88	50,74	50,95	53,71			
89	52,47	52,22	58,67			
90	55,63	53,73	64,56			
91	57,34	54,37	67,07			
92	38,52	42,80	27,52			
93	27,22	39,49	17,19			
94	27,62	39,60	17,51			
95	61,82	55,77	72,53			
96	100,00	62,81	100,00			
97	40,34	43,47	29,61			
98	49,31	48,77	46,15			

AS: 2

opname	x	x'	x''	x	x'	x''
1	50,03	48,48	46,31	50,03	49,39	43,82
2	30,36	34,83	19,28	30,36	41,47	19,46
3	42,31	40,84	31,17	42,31	45,26	31,11
4	22,13	31,72	13,11	22,13	39,46	13,28
5	26,37	33,25	16,16	26,37	40,46	16,34
6	0,00	25,09	0,00	0,00	35,15	0,00
7	21,08	31,35	12,39	21,08	39,23	12,56
8	39,60	39,22	27,97	39,60	44,26	28,03
9	38,80	38,78	27,10	38,80	43,98	27,18
10	44,61	42,43	34,33	44,61	46,22	34,08
11	54,52	54,69	62,66	54,52	54,69	60,78
12	44,61	42,43	34,33	44,61	46,22	34,03
13	42,07	40,69	30,87	42,07	45,16	30,82
14	47,73	45,19	39,79	45,73	47,81	38,96
15	44,56	42,39	34,25	44,56	46,20	34,01
16	49,30	47,17	43,17	49,30	48,82	42,08
17	48,50	46,07	41,54	48,50	48,25	40,40
18	47,77	45,23	39,87	47,77	47,83	39,03
19	34,57	36,67	22,92	34,57	42,65	23,08
20	41,12	40,10	29,71	41,12	44,80	29,71
21	44,40	42,27	34,02	44,40	46,13	33,79
22	46,93	44,38	38,19	46,93	47,36	37,58
23	42,73	41,11	31,71	42,73	45,43	31,62
24	66,41	59,67	77,34	66,41	59,54	76,92
25	41,77	40,50	30,50	41,77	45,05	30,46
26	50,80	50,98	51,52	50,80	50,10	46,01
27	72,49	61,43	82,55	72,49	61,15	82,29
28	59,02	56,99	69,37	59,02	57,01	68,50
29	65,93	59,52	76,88	65,93	59,39	76,45
30	44,51	42,36	34,18	44,51	46,18	33,04
31	59,71	57,28	70,23	59,71	57,29	69,43
32	59.87	57,35	70,43	59,87	57,35	69,64
33	46,32	43,82	37,08	46,32	47,04	36,59
34	66,73	59,77	77,63	66,73	59,63	77,22
35	69,22	60,52	79,85	69,22	60,32	79,52
36	44,45	42,31	34,09	44,45	46,15	33,86
37	29,45	34,46	18,54	29,45	41,23	18,72
38	61,20	57,87	71,99	61,20	57,85	71,31
39	54,85	54,90	63,16	54,85	54,90	61,50
40	55,41	55,23	64,13	55,41	55,25	62,65
41	52,95	53,59	59,27	52,95	53,38	56,43
42	34,57	36,67	22,92	34,57	42,65	23,03
43	65,28	59,31	76,26	65,28	59,20	75,80
44	65,45	59,37	76,43	65,45	59,25	75,97
45	46,10	43,63	36,70	46,10	46,93	36,25
46	59,18	57,06	69,57	59,18	57,07	68,72
47	55,60	55,33	64,45	55,60	55,36	63,02
48	44,71	42,51	34,48	44,71	46,27	34,22
49	56,03	55,57	65,14	56,03	55,60	63,82
50	49,27	47,12	43,62	49,27	48,80	42,01
51	56,27	55,69	65,52	56,27	55,73	64,24
52	72,79	61,65	82,78	72,79	61,22	82,54
53	52,70	53,38	58,65	52,70	53,10	55,48
54	34,97	36,86	23,29	34,97	42,77	23,44

opname	x	x'	x''	x	x'	x''
55	68,37	60,42	79,55	68,37	60,22	79,21
56	64,38	59,01	75,38	64,38	58,92	74,83
57	83,37	64,05	90,31	83,37	63,53	90,21
58	85,61	64,53	91,74	85,61	63,97	91,66
59	84,87	64,37	91,27	84,87	63,82	91,18
60	76,44	62,44	85,35	76,44	62,07	85,36
61	84,51	64,29	91,04	84,51	63,75	90,95
62	95,09	66,41	97,33	95,09	65,66	97,31
63	97,00	66,77	98,38	97,00	65,98	98,37
64	91,04	65,63	95,02	91,04	64,96	94,98
65	34,57	36,67	22,92	34,57	42,65	23,08
66	53,82	54,23	61,19	53,82	54,17	59,07
67	40,87	39,95	29,42	40,87	44,71	29,43
68	27,47	33,68	16,99	27,47	40,73	17,18
69	40,94	39,99	29,50	40,94	44,74	29,50
70	33,10	36,00	21,60	33,10	42,22	21,77
71	32,91	35,92	21,43	32,91	42,17	21,60
72	47,66	45,11	39,64	47,66	47,77	38,83
73	46,99	44,44	38,30	46,99	47,39	37,68
74	36,95	37,82	25,19	36,95	43,38	25,32
75	39,22	39,01	27,55	39,22	44,12	27,62
76	20,81	31,26	12,21	20,81	39,17	12,37
77	48,50	46,07	41,54	48,50	48,28	40,40
78	44,35	42,24	33,94	44,35	46,11	33,72
79	41,32	40,22	29,95	41,32	44,88	29,94
80	40,28	39,61	28,73	40,28	44,50	28,77
81	39,47	39,15	27,82	39,47	44,21	27,89
82	40,77	39,89	29,30	40,77	44,67	29,31
83	39,10	38,94	27,42	39,10	44,08	27,49
84	36,32	37,75	25,06	36,32	43,33	25,19
85	23,04	32,04	13,75	23,04	39,67	13,92
86	31,55	35,33	20,27	31,55	41,79	20,44
87	34,69	36,73	23,03	34,69	42,68	23,19
88	28,29	34,00	17,62	28,29	40,04	17,81
89	24,69	32,63	14,92	24,69	40,06	15,10
90	33,91	36,37	22,32	33,91	42,45	22,48
91	33,71	36,23	22,14	33,71	42,40	22,31
92	29,18	34,35	18,33	29,18	41,16	18,51
93	51,02	51,43	52,38	51,02	50,34	46,74
94	40,87	39,95	29,42	40,87	44,71	29,43
95	30,60	34,93	19,47	30,60	41,54	19,66

opname	x	x'	x''	x	x'	x''
96	32,54	35,76	21,11	32,54	42,07	21,28
97	36,67	37,68	24,92	36,67	43,29	25,04
98	27,21	33,57	16,97	27,21	40,66	16,98

<u>AS 3</u>

1				37,00	41,76	27,03
2				47,77	47,47	49,49
3				38,82	42,35	29,22
4				30,00	39,89	20,05
5				37,91	42,05	28,10
6				39,54	42,60	30,14
7				45,64	45,52	41,02
8				46,71	46,49	44,65
9				55,85	49,50	65,01
10				24,79	38,73	15,74
11				32,99	40,63	22,82
12				22,86	38,34	14,27
13				28,50	39,54	18,75
14				27,36	39,28	17,79
15				34,45	41,02	24,28
16				47,49	47,34	48,48
17				43,24	44,11	35,78
18				29,23	39,71	19,37
19				23,97	38,56	15,10
20				22,74	38,31	14,18
21				25,18	38,81	16,04
22				37,51	41,92	27,63
23				15,82	37,02	9,35
24				23,94	38,56	15,08
25				14,93	36,86	8,77
26				0,00	34,51	0,00
27				23,29	38,42	14,59
28				11,98	36,36	6,90
29				42,48	43,76	34,46
30				19,80	37,74	12,05
31				16,88	37,21	10,05
32				18,98	37,59	11,48
33				13,50	36,61	7,85
34				28,50	39,54	18,75
35				40,62	42,99	31,62
36				33,09	40,66	22,92
37				25,68	38,92	16,43

opname	x	x'	x''
38	25,51	38,88	16,30
39	32,12	40,41	21,98
40	40,39	42,91	31,29
41	35,00	41,18	24,85
42	30,51	40,01	20,50
43	16,00	37,05	9,47
44	39,99	42,76	30,75
45	58,32	49,91	68,12
46	56,46	49,60	65,81
47	63,36	50,65	73,83
48	40,73	43,04	31,77
49	43,28	44,13	35,85
50	39,37	42,54	29,92
51	31,91	40,36	21,79
52	27,18	39,24	17,04
53	52,35	48,93	60,62
54	38,20	42,14	28,45
55	41,60	43,38	33,06
56	32,70	40,56	22,54
57	31,09	40,15	21,03
58	25,31	38,84	16,14
59	27,91	39,41	18,25
60	30,73	40,06	20,70
61	27,18	39,24	17,64
62	33,09	40,66	22,92
63	36,07	41,48	25,99
64	34,91	41,15	24,75
65	46,51	46,27	43,83
66	48,97	47,93	52,93
67	46,68	46,46	44,52
68	36,82	41,71	26,33
69	37,30	41,86	27,38
70	27,89	39,40	18,23
71	31,47	40,25	21,38
72	38,00	53,13	92,81
73	31,45	40,24	21,36
74	29,21	39,70	19,36
75	35,51	41,32	25,39
76	27,70	39,36	18,07
77	34,59	41,06	24,42
78	32,49	40,50	22,34
79	44,00	44,50	37,22

opname	x	x'	x''
80	50,24	48,31	55,83
81	46,27	46,04	42,96
82	48,57	47,79	51,92
83	55,74	49,48	64,86
84	53,81	49,12	62,12
85	38,95	42,39	29,38
86	45,70	45,57	41,19
87	31,27	40,20	21,19
88	31,98	40,37	21,85
89	38,95	42,39	29,38
90	31,47	40,25	21,38
91	40,64	43,00	31,65
92	37,45	41,90	27,56
93	36,38	41,58	26,34
94	37,55	41,94	27,67
95	45,77	45,62	41,39
96	44,93	45,04	39,22
97	41,56	43,37	33,00
98	40,68	43,02	31,70