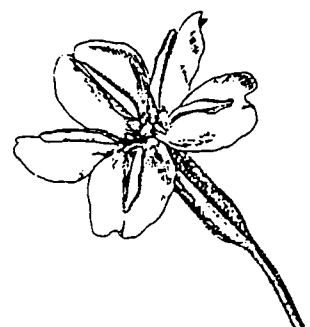


Limitatie van genetische uitwisseling en reproductie
in populaties van de zeldzame plantensoort *Primula vulgaris*



Simone van den Berg
Verslag van doctoraalonderwerp bij de vakgroep Plantenoecologie (R.U.G.) onder
begeleiding van Manja Kwak
Veldwerk maart t/m juni 1993



Inhoudsopgave

	<u>pag.</u>
Algemene Inleiding	2
Hoofdstuk A Pollenuitwisseling en Reproductie (Proeftuin)	
1. Afstand en pollenuitwisseling	6
2. Corridors en pollenuitwisseling	
a. <i>Primula vulgaris</i>	11
b. <i>Phyteuma nigrum</i>	15
3. Patchgrootte en zaadzetting	21
4. Bloeiduur	24
Hoofdstuk B Pollenuitwisseling en Reproductie (Veld)	
1. Vergelijking van een kleine en een grote populatie	26
2. Vergelijking van 5 Belgische populaties	32
Samenvatting	41
Literatuur	42

Algemene Inleiding

Populaties van planten kunnen kleiner en geïsoleerder raken door een versnippering van het landschap en het ontstaan van zogenaamde biologische eilanden.

Geïsoleerde populaties van zeldzame plantesoorten kunnen bedreigd worden door een gebrek aan genetische uitwisseling.

Een gebrek aan genetische uitwisseling in een kleine, geïsoleerde populatie kan er toe leiden dat processen van genetische drift en inteelt en grotere rol gaan spelen in de betreffende populatie. Genetische drift (Wright 1943) kan een afname van de polymorfiegraad in een populatie en een afname van het aantal allelen per locus veroorzaken en een toename van de homozygotie (Lande 1980, Karron 1987). In een kleine populatie zal op die manier minder genetische variatie aanwezig zijn dan in een grote populatie (van Treuren en Ouborg 1993 constateerden een verminderde genetische variatie (aantal aanwezige polymorfe loci en aantal allelen per locus) in kleine populaties van *Scabiosa pratensis*). Genetische uitwisseling tussen populaties (migratie) zou een toename van drift en inteelt in een kleine populatie kunnen compenseren (van Treuren 1993). Aangezien veel kleine populaties tevens geïsoleerd zijn treedt migratie niet of nauwelijks op en treedt er genetische verarming op. Bij een afname van de genetische variatie kunnen varianten verloren gaan die van belang kunnen zijn voor aanpassingen aan een veranderend milieu en daarmee van belang zijn voor de overleving van de populatie (Shaffer 1981). Genetische verarming kan in het extreme geval leiden tot uitsterven van de populatie. Ook inteelt kan tot genetische verarming en een grotere mate van homozygotie in de populatie leiden (Franklin 1980). Dit kan een verlaagde fitness van de populatie tot gevolg hebben indien op deze manier recessieve genen met negatieve eigenschappen tot expressie komen.

Genetische uitwisseling tussen en binnen populaties van entomofiele plantesoorten vindt plaats via bloembezoekende insecten (pollenuitwisseling) of via zaadverspreiding. Bestuivende insecten maken een afweging tussen de kosten en de baten van het fourageren op bepaalde bloemen (Pyke 1978, Waddington 1983). De kosten voor een bestuiver vloeien voort uit: het energiegebruik per afgelegde afstand, de gemiddelde afstand afgelegd per bloembezoek en de energie die nodig is om de lichaamstemperatuur constant te houden (dit is een functie van het verschil tussen de omgevings- en de lichaamstemperatuur, de windsnelheid en de bewegingssnelheid van de bestuiver). De baten voor de bestuiver vloeien voort uit: de energie die uit de bezochte bloem wordt gehaald in de vorm van nectar of pollen en uit bijvoorbeeld het niet zichtbaar zijn voor predatoren in bepaalde bloemvormen of uit de beschikbaarheid van ruimte voor de depositie van eitjes. De kosten en baten van het fourageren op bepaalde bloemen en daarmee het gedrag van bestuivers wordt beïnvloed door de geometrie (omvang, dichtheid, vorm) van een populatie (Handel 1983).

Om de problemen van kleine, geïsoleerde populaties op te lossen (weinig genetische uitwisseling, mogelijke toename van genetische drift en inteelt) wordt er o.a. gedacht aan de volgende oplossingen: -vergroten van de populatie, dit zal lang niet altijd mogelijk zijn, of het vergroten van het oppervlak waar insecten op af komen; het creeëren van een bloemrijke omgeving rond de bedreigde populatie, -het plaatsen van corridors, plantepopulaties zouden met elkaar verbonden kunnen worden via corridors en op die manier minder geïsoleerd zijn, analoog aan wat wordt gedacht over dierenpopulaties (Natuurbeleidsplan 1989, verbindingszones om migratie tussen populaties te handhaven bij b.v. das, otter en zalm).

Wat zijn limiterende factoren met betrekking tot genetische uitwisseling en hoe zou je een verandering in deze limiterende factoren teweeg kunnen brengen?

De algemene vraagstelling van dit onderzoek is:

Door welke factoren wordt pollenuitwisseling binnen en tussen populaties en reproductie in populaties van de zeldzame plantensoort *Primula vulgaris* gelimiteerd?

Primula vulgaris, Stengelloze sleutelbloem, is een rozetvormende, perenne soort uit de familie der *Primulaceae*. *Primula vulgaris* komt voor langs slootranden, in houtwallen en vochtige loofbossen (bosranden niet te veel schaduw). De plant is gevoelig voor wateroverlast en prefereert beter gedraineerde en goed doorluchte matig natte bodems (Hermy 1984). In de bloeiperiode van maart-mei vormt de plant lichtgele bloemen, de bloemen zijn heterostyl. Individuele planten kunnen zeer oud worden, meer dan 50 jaar (Tamm & Inghe 1988). De bloemen worden door insecten bestoven; er bestaat geen eensluidend oordeel over welke bestuivers het belangrijkste zijn (Woodell 1960, Christie 1921). Als mogelijke bestuivers worden genoemd: -nectarverzamelaars, grote insecten met voldoende lange probosces om nectar te bereiken (vlinders, motten, nachtmotten, hommels), -pollenverzamelaars (o.a. bijen), -zeer kleine insecten (thrips, kevers).

Figuur 1: *Primula vulgaris* (Heukels' , 1990)



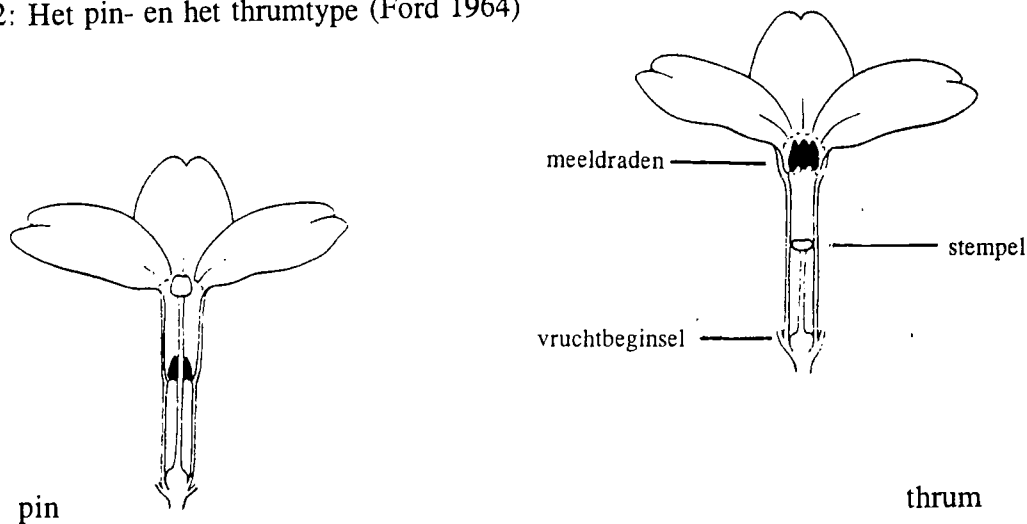
In Nederland is *Primula vulgaris* zeldzaam en beschermd. De soort staat vermeld op de Rode Lijst van de Nederlandse Flora in categorie 4 (Heukels' 1990) (dit houdt in dat de plant recent in 1-60 atlasblokken (voor *P. vulgaris* geldt 39) voorkomt en de verspreiding min of meer stabiel is, het huidige voorkomen is niet direct bedreigd. Echter doordat de documentatie voor 1950 gebrekkig was kan de achteruitgang wel eens groter zijn dan nu wordt aangenomen).

In Belgisch Vlaanderen staan onder andere een aantal populaties rond Brugge; dit zijn

restpopulaties die zijn overgebleven na kapping en rooing van bos en houtwallen. In deze populaties komen haast geen kiemplanten en juvenielen voor zodat deze populaties gedoemd zijn te verdwijnen bij het huidige bembheer (Hermv 1984). Lokaal zijn populaties aangeplant of verplant. Daarentegen komt de soort in Engeland algemeen voor (Woodell 1960).

Er bestaan twee verschillende bloemvormen van *Primula vulgaris* (heterostylie), de pin en de thrumvorm. In pinplanten is het stigma hoog in de bloem geplaatst en de meeldraden laag, onderin de bloem. In thrumplanten zijn juist de meeldraden hoog in de bloem geplaatst en het stigma laag.

Figuur 2: Het pin- en het thrumtype (Ford 1964)



Zaadzetting vindt vooral plaats indien er uitwisseling tussen de 2 types plaatsvindt dus indien pinpollen op een thrumstigma terechtkomen en omgekeerd (Ornduff 1979, Ford 1964, Darwin 1862, dit zou vooral voor thrums gelden). De pollen van de pin- en thrumplanten verschillen in morfologie. Pinpollen zijn kleiner (gemiddeld 20 μ meter) dan thrumpollen (gemiddeld 30 μ meter).

In dit onderzoek zal de nadruk liggen op genetische uitwisseling via bloembezoekende insecten. Pollenuitwisseling tussen kleine, geïsoleerde populaties wordt bemoeilijkt door aanwezige barrières voor bestuivers.

Het verslag is opgebouwd aan de hand van een aantal deelvragen die betrekking hebben op de algemene vraagstelling.

Met behulp van planten in de proeftuin is geprobeerd de volgende vragen te beantwoorden:

A Pollenuitwisseling en reproductie (Proeftuin)

1. Heeft afstand tussen patches invloed op de uitwisseling tussen deze patches? Met andere woorden vormt afstand een barrière voor bestuivers?
2. Aansluitend op bovenstaande vraag: Welke invloed heeft het plaatsen van een corridor tussen patches op de uitwisseling tussen deze patches?
3. Is er een relatie tussen patchgrootte en het aantal zaden dat een bloem produceert?
4. Heeft de bezoekdruk van bloembezoekende insecten invloed op de bloeiduur van de bloem?

Met behulp van natuurlijke populaties is geprobeerd de volgende vragen te beantwoorden:
B Pollenuitwisseling en reproductie (Veld)
Welke invloed heeft populatiegrootte op pollenuitwisseling, zaadproductie en kiemkracht?

1. Onderzoek naar zaadproductie en kiemkracht vond plaats in een kleine populatie in Gasteren (Drenthe) en een grote populatie in Kennemerduinen (Noord-Holland).
2. Onderzoek naar pollenuitwisseling, zaadproductie en kiemkracht vond plaats in vijf populaties in België in de omgeving van Brugge.

Hoofdstuk A Pollenuitwisseling en Reproductie (Proeftuin) De invloed van afstand en corridors tussen patches op de pollenuitwisseling

Inleiding

Geïsoleerde populaties van zeldzame plantesoorten kunnen bedreigd worden door een gebrek aan pollenuitwisseling (Handel 1983, Richards 1986). Een populatie kan geïsoleerd zijn doordat hij zich op een zodanige afstand van een populatie van dezelfde soort bevindt dat pollenuitwisseling tussen deze populaties beperkt is. Bestuivende insecten maken een afweging tussen de kosten en de baten van het fourageren op bepaalde bloemen (optimal foraging theory, Pyke 1978, Waddington 1983). Bestuivers zullen streven naar een situatie waarin de energie onttrokken aan de bloem (nectar, pollen) de hoeveelheid energie overtreft die het kost om op die bloem te fourageren. Deze energiekosten komen o.a. voort uit vliegafstanden, een langere afstand zal meer energie vergen dan een korte afstand, het aantal bloemen dat bij elkaar staat, meestal voordeliger om op een grote patch te vliegen dan op een kleine, de hoeveelheid nectar per bloem. Indien een populatie klein is en op grote afstand van andere populaties ligt kan het onvoordelig worden om op de betreffende populatie te fourageren (Handel 1983, Wright 1943, Cahalan & Gliddon 1985.) Deze geringe pollenuitwisseling met andere populaties kan een genetische verarming in de geïsoleerde populatie tot gevolg hebben (zie hoofdstuk B).

Vraagstelling:

1. Heeft afstand tussen populaties invloed op de pollenuitwisseling tussen deze populaties? Met andere woorden vormt een grote afstand een barrière voor bestuivende insecten waardoor uitwisseling beperkt wordt?
2. Welke invloed heeft het plaatsen van een soorteigen of een soortvreemde corridor tussen patches op de uitwisseling tussen deze patches?

A 1. Afstand en pollenuitwisseling

Materiaal en methoden

Een patch bestaande uit 25 pin-planten (eigenlijk 25 potten waarin pin-planten) wordt in de proeftuin op een bepaalde afstand van een patch bestaande uit 25 thrum-planten geplaatst. Bij het uitzetten van de proef wordt gebruik gemaakt van maagdelijke bloemen. Binnen een patch zijn de potten geplaatst op een onderlinge afstand van ongeveer 3 cm. De geteste afstanden tussen de pin- en de thrumpatch zijn 5, 10 en 25 meter. Er werd naar gestreefd dat het aantal bloeiende bloemen in ieder geval bij dezelfde geteste afstand in de twee patches ongeveer gelijk was. Indien in een van beide patches het aantal bloeiende bloemen veel minder was, werden bloemen in buisjes bijgeplaatst (bij afstand 5m in de pinpatch 81 bloemen in bloei, in de thrumpatch 94, 10m p:138, t:127, 25m p:116, t:117).

De planten bleven drie dagen in de proeftuin staan. De 5 meter opstelling is uitgezet op 8 maart 1993, de 10m opstelling op 20 maart en de 25m opstelling is uitgezet op 30 maart. De planten werden geplaatst wanneer droog en redelijk warm weer werd voorspeld (bestuivers zijn vooral actief bij dit weertype, zie o.a. Dallman 1921, Pyke 1978). Na drie dagen werden van 15 planten stigma's verzameld (ongeveer 3 stigma's van bloemen verzameld per plant) en hiervan worden preparaten gemaakt. Dit houdt in dat de aanwezige pollen van het stigma worden afgehaald met behulp van een kleverige gel (Beattie 1972). Het stukje gel met de eventueel daarop aanwezige pollen werd geplaatst op een objektglasje, van een dekglasje

voorzien en vervolgens verwarmd. De op deze manier verkregen preparaten kunnen onder een microscoop worden geanalyseerd op de hoeveelheid en het type aanwezige pollen. Indien er uitwisseling heeft plaatsgevonden tussen de twee patches, die elk bestaan uit of alleen thrums of alleen pins, bevinden zich op de stigma's pollen van het tegengestelde type (pins dan wel thrums). Pin- en thrumpollen kunnen van elkaar onderscheiden worden aangezien ze verschillen in grootte. De gemiddelde hoeveelheid pollen van het tegengestelde type per stigma wordt gebruikt als maat voor de uitwisseling tussen twee patches. De plaats van de plant in de patch kan invloed hebben op de verspreiding van de pollen, in de patches zijn daarom steeds planten afkomstig van dezelfde positie geanalyseerd. Aangezien in deze proefopzet pins en thrums van elkaar zijn gescheiden in 2 verschillende patches kan ook worden bekeken of er verschil in de uitwisselingsprocessen bestaat tussen pins en thrums.

Resultaten

Afstand tusen de patches en de effecten op de pollenuitwisseling.

Tabel 1: Het aantal intermorfe pollen aangetroffen op stigma's bij verschillende afstanden tussen de patches. n = aantal stigmapreparaten

afstand	thrum		pin		thrum & pin	
	gem. \pm SE	n	gem. \pm SE	n	gem. \pm SE	n
5m	39.05 \pm 12.38	40				
10m	48.61 \pm 10.70	28	6.65 \pm 1.31	32	26.23 \pm 5.69	60
25m	12.82 \pm 2.94	29	31.77 \pm 8.73	35	23.19 \pm 5.06	64

Voor de thrums geldt: er is een significant groter aantal uitgewisselde pollen van de pin- naar de thrumpatch bij een afstand van 10 m tussen de patches dan bij een onderlinge afstand van 5 m en 25 m (respectievelijk $p < 0.05$ en $p < 0.001$ T-test).

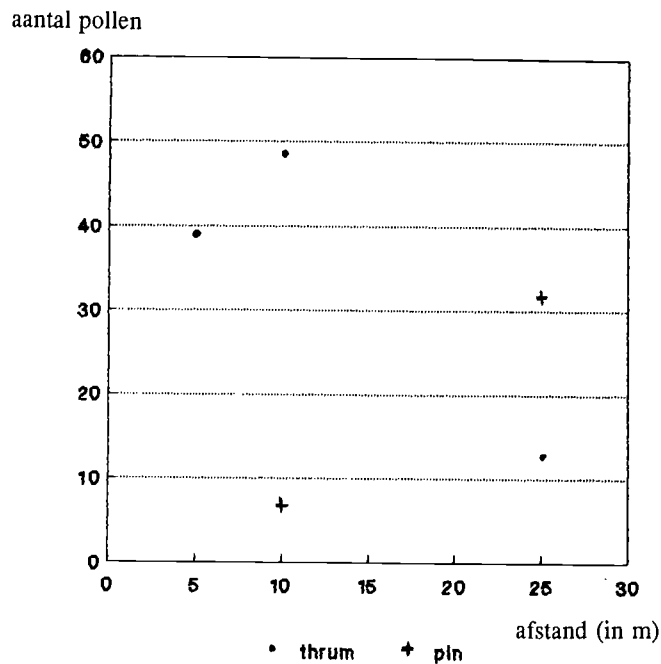
Voor de pins geldt: resultaten van afstand van 5 meter tussen de patches ontbreekt voor de pins aangezien een thrumplant in de pinpatch stond. Het aantal uitgewisselde pollen van de thrum- naar de pinpatch is significant groter bij een afstand van 25 m tussen de patches dan bij een afstand van 10 m ($p < 0.05$ T-test).

Voor pins & thrums samen geldt: het aantal uitgewisselde pollen tussen de patches verschilt niet significant voor de geteste afstanden (T-test).

Thrums bevatten bij een afstand van 10 m tussen de patches significant meer intermorfe pollen per stigma dan pins ($p < 0.001$ T-test), bij een afstand van 25 m bevatten pins significant meer intermorfe pollen dan thrums ($p < 0.05$ T-test). Wanneer de waardes voor de verschillende afstanden zijn samengevoegd bevatten thrums evenveel pollen als pins.

Ondanks het slechts sporadisch waarnemen van bloembezoekende insecten in de proeftuin is er wel degelijk sprake van uitwisseling tussen de twee patches. Bij een afstand van 5 m tussen de patches bevat 90% van de geanalyseerde stigma's intermorfe pollen, bij 10 m en 25 m bevat 92% van de stigma's intermorfe pollen.

Figuur 3: Aantal intermorfe pollen per stigma voor de bloemtypes thrum en pin bij verschillende afstanden tussen de patches.



Discussie

De hypothese dat een grotere afstand tussen de twee patches zal leiden tot een verminderde pollenuitwisseling is niet onverdeeld uitgekomen.

De pollenuitwisseling van de pin- naar de thrumpatch is bij een afstand van 10 meter tussen de beide patches significant groter dan bij een afstand van 5 en 25 meter (de uitwisseling bij de afstand 5 en 25m verschillen echter niet significant van elkaar). Hieruit zou je kunnen afleiden dat er voor de thrums sprake is van een soort optimale uitwisselingsafstand. Op een afstand van 10 meter van de pin- naar de thrumpatch komen er de meeste pin-pollen terecht per thrumstigma.

De pollenuitwisseling van de thrumpatch naar de pinpatch is bij een afstand tussen de beide patches van 25 meter significant groter dan bij een afstand van 10 meter. Dit zou je niet direct verwachten.

De resultaten met betrekking tot pollenuitwisseling zijn dus duidelijk verschillend voor pins en thrums. De thrums laten een beeld zien van een soort optimale uitwisselingsafstand bij een afstand van 10m. De pins komen hier niet mee overeen, juist een maximale uitwisseling met een naburige patch op de maximaal geteste afstand.

Er is geen verschil in het totaal aantal uitgewisselde pollen, dus pin- en thrumpollen samen, voor de afstanden van 10 en 25m tussen de patches (respectievelijk 26,2 en 23,2 pollen per stigma). Er treedt alleen een verschuiving op van de verdeling van het totaal aantal uitgewisselde pollen over pin- en thrumpollen. Wanneer de pollenuitwisseling bij een bepaalde afstand tussen pins en thrums wordt vergeleken blijkt het volgende; bij een onderlinge afstand van 10 meter tussen de patches is de uitwisseling van pollen van de pin-naar de thrumpatch groter dan omgekeerd. Bij een onderlinge afstand tussen de patches van 25 meter is juist de uitwisseling van de thrum- naar de pinpatch groter.

Uit het literatuurgegevens (verslag Atten & Zandt 1991, Woodell 1960) komt naar voren dat

in een veldsituatie het aantal intermorfe pollen op pinstigma's groter is dan het aantal intermorfe pollen op thrumstigma's. In het verslag van van Atten & Zandt zijn in 4 veldpopulaties (dus gemengde opstelling) het aantal intermorfe pollen per stigma gemeten. Uit een artikel van Ornduff (1979) volgt echter het tegengestelde. In deze Engelse populatie is de pollen flow van de pins naar de thrumstigma's juist groter.

De resultaten uit de proeftuin in '93 geven weer dat bij een afstand van 10 meter tussen de pin- en de thrumpatch het aantal intermorfe pollen op thrumstigma's het grootst is, bij een onderlinge afstand van 25m is het aantal intermorfe pollen op pinstigma's echter het grootst (Figuur 3). Deze resultaten geven dus geen eenduidig beeld.

De verhouding pin:thrum in de veldpopulaties van '92 (van Atten & Zandt) was ongeveer 53% : 47%. Een groter aantal intermorfe pollen op de pinstigma's is dus niet zonder meer te verklaren door een groter aandeel thrumplanten in de populaties (tenzij thrumplanten meer bloemen hebben dan pinplanten). Van Atten en Zandt zoeken een verklaring in het verschil in de bloemmorfologie tussen pins en thrums. Pinbloemen met hun hooggeplaatste stigma zouden gemakkelijker bedekt raken met pollen.

Het aantal pins en thrums was in de Engelse populatie nagenoeg gelijk. Ornduff constateerde echter dat pins meer pollen produceren dan thrums. Dit gegeven zou een verklaring kunnen geven voor het grotere aantal intermorfe pollen op thrumstigma's.

In de proeftuinopstellingen van '93 is de verhouding bloeiende bloemen van pins en thrums vrijwel 1:1 (5m opstelling p:t=81:94, 10m opstelling p:t=138:127, 25m opstelling p:t=116:117).

Er zijn een aantal gegevens die erop zouden kunnen duiden dat voor pollenuitwisseling tussen een thrum- en een pinpatch niet zozeer de afstand (althans in deze marge van 10 en 25m) van belang is maar dat andere factoren een grotere rol spelen.

Ten eerste het feit dat het aantal intermorfe pollen in de proeftuin niet steeds het grootst is op een van beide types wanneer de geteste afstanden afzonderlijk worden bekeken. Ten tweede het feit dat het maximale uitwisseling van pollen voor pins en thrums een verschillend beeld laat zien. Ten derde het feit dat het totaal aantal uitgewisselde pollen niet verschilt voor de geteste afstanden.

Een van de andere factoren die pollenuitwisseling tussen patches kan beïnvloeden zou kunnen zijn de positie van de patches ten opzichte van elkaar. Helaas zijn alle posities in de proeftuin niet gelijkwaardig. Een deel van de tuin bevindt zich een groter gedeelte van de dag in de schaduw dan een ander deel van de tuin. Bij de 10m opstelling bevindt de pinpatch zich eerder op de dag in de schaduw dan de thrumpatch. Bij de 25m opstelling was dit omgekeerd; de thrumpatch bevond zich eerder in de schaduw dan de pinpatch. Misschien heeft schaduw invloed op de bestuivers en geven deze voorkeur aan zonnige plekken. Dan zou je meer uitwisseling van de schaduw- naar de zonpatch verwachten dan het omgekeerde. Het tijdsverschil waarop de ene patch zich al in de schaduw bevindt en de andere patch nog niet is echter gering. Tevens zijn er bestuivers die vooral in een bepaalde richting vliegen (Real 1983). Indien dit type bestuivers actief is dan heeft de positie van de patches in de proeftuin invloed op de gevonden resultaten. De posities van de pin- en de thrumpatch in de proeftuin waren tijdens de 10m en de 25m opstelling net omgekeerd. Dit richting gedrag verwacht je vooral bij honingbijen. Er zijn een aantal bijenkasten net buiten de proeftuin opgesteld. Tijdens waarnemingen in de proeftuin met betrekking tot bloembezoekende insecten heb ik echter geen honingbijen waargenomen die de primula's bezochten (in '92 was dit echter wel het geval).

Een andere faktor die een rol kan spelen is de datum waarop de proef is uitgezet in de proeftuin. Op de verschillende data is de temperatuur, het aantal uren zon en de eventueel

gevallen neerslag namelijk niet hetzelfde (zo was het b.v. gemiddeld warmer in de periode van de 10 m proef dan in de periode van de 5 m proef). De activiteit van bestuivers wordt beïnvloed door de temperatuur, het aantal uren zon en de mate van eventueel gevallen neerslag. Deze factoren zijn op verschillende data nooit exact hetzelfde. Om de invloed van de datum, in dit geval wordt bedoeld de weersomstandigheden, op de proef uit te schakelen zouden de drie opstellingen op hetzelfde moment uitgezet moeten worden maar dat levert weer het probleem dat er dan ook uitwisseling tussen de drie opstellingen kan plaatsvinden. Er is ook sprake geweest van kunstmatige, lokale neerslag. Op een van de drie middagen heeft bij de 10m opstelling een sproeier ongeveer 2 uren op de pinplanten gesproeid. De volgende dag is nog een deel van de bloemen in de patch slap door deze besproeiing. Dit kan een nadelig effect hebben gehad op de uitwisseling wanneer thrumpollen die nog niet stevig verkleefd waren aan het pinstigma van het stigma zijn afgesproeid. Tevens is er in de loop van het seizoen een verschuiving te verwachten van het type bestuivers dat aanwezig is. Ondanks het vele onderzoek dat aan *P. vulgaris* is gedaan is het nog steeds niet geheel duidelijk wat nu de belangrijkste bestuivers zijn. Wel is het duidelijk geworden dat bepaalde bestuivers in verschillende mate van belang zijn voor de pins en de thrums. Deze bestuivers fourageren specifiek op thrums (pollenverzamelaars) of pins (nectar) (unilaterale pollenflow, Woodell 1960). Indien deze verschillende groepen bestuivers met hun verschillende voorkeuren voor de twee types een belangrijk deel uitmaakten van de bestuivers die actief waren op dat moment dan is de opstelling in de proeftuin wel erg kunstmatig. In de proeftuin zijn de twee types namelijk geheel van elkaar gescheiden in twee afzonderlijke patches. Deze ruimtelijke scheiding van de twee types is geheel anders dan de spreiding van pins en thrums in de meeste natuurlijke populaties. Het lijkt zeer onwaarschijnlijk dat afwegingen die in veldsituaties een rol spelen m.b.t. fourageren op een van beide types of op beide types tot hetzelfde resultaat zullen leiden indien de posities van de twee types ten opzichte van elkaar zo wezenlijk anders zijn.

Het blijft onduidelijk of zeer kleine insecten zoals thrips een rol spelen in de bestuiving van primula. De thrips worden veelvuldig aangetroffen in de bloemen. Indien ze pollen overbrengen tussen verschillende bloemen zal de afstand waarover deze uitwisseling plaatsvindt waarschijnlijk erg gering zijn. Om de eventuele invloed van deze kleine insecten zoveel mogelijk te beperken heb ik getracht pins en thrums ook in de kooien (afgeschermd voor grotere bestuivers) zoveel mogelijk van elkaar gescheiden te houden.

A 2. Corridors en pollenuitwisseling

Inleiding

Voor het in stand houden van genetische uitwisseling tussen dierenpopulaties wordt wel aan beheermaatregelen zoals het creëren van corridors gedacht (Natuurbeleidsplan 1989). Door het plaatsen van corridors tussen populaties hef je hun geïsoleerde positie op. Bestuivers worden via de corridor geleid naar de andere populatie, op die manier blijft er genetische uitwisseling plaatsvinden tussen twee eerder geïsoleerde populaties. Het in stand houden van deze genetische uitwisseling kan voordelig zijn aangezien op die manier de genetische verarming veroorzaakt door drift en inteelt kan worden gecompenseerd. Er is een eventueel nadeel ten gevolge van genetische uitwisseling tussen populaties indien op die manier nakomelingen ontstaan die een verlaagde fitness hebben aangezien ze minder goed zijn aangepast aan de lokale omstandigheden (outbreeding depression, van Treuren en Ouborg 1993).

Vraagstelling: Wat is de invloed van het plaatsen van een soorteigen of een soortvreemde corridor tussen patches op uitwisseling tussen deze patches?

De invloed van het plaatsen van een corridor is onderzocht aan de hand van:

- a. *Primula vulgaris*
- b. *Phyteuma nigrum*

A 2a.

Materiaal en methoden

In de proeftuin is een patch bestaande uit thrums omringd door 3 patches die uitsluitend pins bevatten. De afstand tussen de thrumpatch en ieder van de pinpatches is 20 meter. De thrumpatch bestaat uit 13 potjes met planten waarin 54 bloemen in bloei. De pinpatches bestaan elk uit 10 potjes met planten waarin iets meer dan 30 bloemen in bloei (slechts weinig bloeiende bloemen aangezien een groot deel van de bloemen inmiddels was uitgebloeid). De onderlinge afstand tussen de potjes bedraagt ongeveer 3 cm.. Halverwege tussen een van de pinpatches en de thrumpatch in is een corridor van primula's geplaatst. In de corridor staan 6 pinplanten waarin 21 bloemen in bloei (de planten staan op een afstand van 1,25m van elkaar dus over een lengte van 6,25m). Tussen een van de andere pinpatches en de thrumpatch is een corridor bestaande uit rapunzels en dovenetels geplaatst. Deze corridor bestaat uit 12 potjes met rapunzels en 6 vaasjes met dovenetels (deze corridor is ong. 6,5m lang).

Figuur 4: Proefopstelling

P3 Primula corridor T rapunzel/dovenetel corridor P2

P1

De proef is uitgezet op 10 mei 1993. Na 3 dagen in de proeftuin te hebben gestaan met redelijk mooi weer zijn er gelpreparaten van de stigma's gemaakt van pins in de 3 verschillende patches en van pins in de corridor. De preparaten zijn microscopisch geanalyseerd op het type en de hoeveelheid voorkomende pollen. De thrum-, rapunzel- en dovenetelpollen verschillen morfologisch van elkaar. De thrumpollen zijn rond en hebben gemiddeld een diameter van 30 μ meter, de rapunzelpollen zijn rond en hebben gemiddeld een diameter van 33 μ meter de structuur van de pollen is ook wat anders dan die van de thrumpollen. De dovenetelpollen zijn wat minder rond, wat afgeplat en hoekiger dan thrumpollen het breedste punt is gemiddeld 27 μ meter.

In de proeftuin is gekeken naar het bloembezoek door insecten in de verschillende patches en in de soortvreemde corridor. De observaties vonden plaats op 12 mei vanaf 15.00 h en duurden steeds 30 minuten. Genoteerd is welke en hoeveel insecten de bloemen bezochten en de duur van het bezoek.

Resultaten

Het plaatsen van corridors tussen patches en de effecten op pollenuitwisseling.

Tabel 2: Gemiddeld aantal thrum-, rapunzel-, dovenetelpollen getransporteerd naar stigma's in de verschillende pinpatches. n= aantal preparaten

patch	thrum gem. \pm SE	rapunzel gem. \pm SE	dovenetel gem. \pm SE	n
1	4.58 \pm 1.46	0.65 \pm 0.25	0.12 \pm 0.06	26
2	2.11 \pm 0.51	0.93 \pm 0.24	0.82 \pm 0.26	28
3	3.06 \pm 1.16	0.44 \pm 0.13	0.31 \pm 0.12	16

De patches verschillen niet significant van elkaar in het gemiddelde aantal thrumpollen (T-test) en rapunzelpollen per preparaat (T-test getransformeerde waarden). Het aantal dovenetelpollen in patch 2 is significant hoger dan het aantal in patch 1 ($p < 0.05$ Mann-Whitney).

Tabel 3: Het gemiddelde aantal pollen per preparaat in de Primula-corridor en in pinpatch 3. n=aantal preparaten

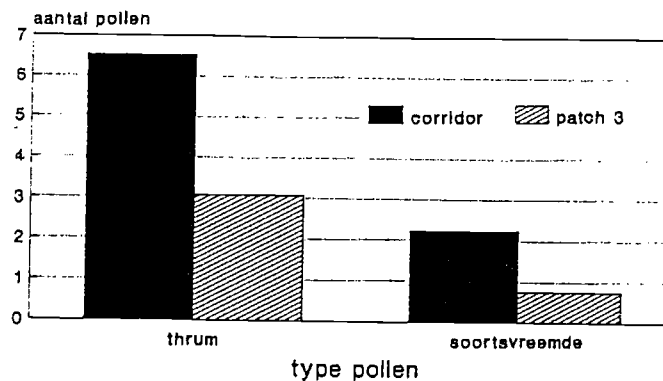
	thrum gem. \pm SE	rapunzel gem. \pm SE	dovenetel gem. \pm SE	n
patch 3	3.06 \pm 1.16	0.44 \pm 0.13	0.31 \pm 0.12	16
corridor	6.15 \pm 1.49	0.94 \pm 0.12	1.29 \pm 0.47	17

Het gemiddelde aantal thrumpollen in de soorteigen corridor is significant hoger dan het aantal in patch 3 ($p < 0.05$ Mann-Whitney).

(Het gemiddelde aantal thrumpollen in de corridor is ook significant groter dan het aantal in

patch 1 en 2 (p respectievelijk <0.05 en <0.001 Mann-Whitney)).
 (Het gemiddelde aantal dovenetelpollen in de soorteigen corridor is significant groter dan het aantal in patch 1 ($p < 0.05$ Mann-Whitney)).

Figuur 5: Aantal pollen op stigma's van planten in patch 3 en op planten in de soorteigen corridor.



Waarnemingen bloembezoek: In de pinpatches 1 t/m 3 zijn geen bloembezoekende insecten waargenomen. In de soortvreemde corridor zijn een weidehommel en een akkerhommel waargenomen die de bloemen bezochten. De weidehommel bezocht 14 bloeiaren van de rapunzel in 4 minuten, de aardhommel bezocht 19 bloeiaren van rapunzel in 5 minuten.

Discussie

Voor het pollentransport vanuit de thrumpatch naar de pinpatches lijkt het plaatsen van corridors bij deze onderlinge afstanden tussen de patches geen effect te hebben. Het plaatsen van een corridor lijkt tot het achterblijven van thrumpollen in de corridor te leiden.

Het gemiddelde aantal thrumpollen per stigma lijkt zelfs groter in patch 1 (4,6) die niet via een corridor is verbonden met de thrumpatch dan in de patches 2 en 3 (respectievelijk 2,1 en 3,1) die wel via een corridor met de thrumpatch zijn verbonden. Het aantal thrumpollen per stigma is echter niet significant verschillend in de patches.

Het aantal aangekomen soortvreemde pollen in de patches 1 en 3 verschilt niet. Het plaatsen van een soorteigen corridor lijkt niet te resulteren in een grotere pollenuitwisseling.

Bij de analyse van stigma's in de Primula-corridor valt op dat het aantal pollen per stigma steeds hoger ligt dan het aantal in patch 3 (zie figuur 5), dit geldt zowel voor de thrumpollen als voor de soortvreemde pollen. Het aantal thrumpollen per stigma ligt in de corridor significant hoger dan in patch 3 (gem. 6,5 in corridor en 3,1 in patch 3, $p < 0.05$). Het aantal soortvreemde pollen is niet significant verschillend in de corridor en patch 3. Ten opzichte van de corridor speelt een ander aantrekkingsmechanisme een rol dan ten opzichte van de patches. De situatie in de corridor is niet hetzelfde als in de patches. Er is sprake van een verschil in vorm, in aantal bloeiende bloemen, in afstand tot de thrumpatch en afstand tot de

soortvreemde corridor. Deze factoren zullen invloed hebben op de aantrekking van bezoekende insecten (Handel 1983). De resultaten met betrekking tot de soorteigen corridor en de patches zijn dan ook niet zonder meer te vergelijken. Wel is duidelijk dat een deel van de pollen die getransporteerd worden, vanuit de thrumpatch of vanuit de soortvreemde corridor richting pinpatch 3, achterblijft in de soorteigen corridor. Deze gegevens bieden niet zonder meer uitsluitsel over de vraag of de corridor er nu voor zorgt dat pollen die anders niet richting patch 3 getransporteerd zouden worden nu toch via de corridor in patch 3 aankomen, of dat in de corridor nu juist veel pollen achterblijven die anders in patch 3 zouden zijn aangekomen. Misschien zou een kortere corridor met minder bloemen tot gunstiger effecten wat betreft uitwisseling leiden. Over het verloop van de pollen in de soorteigen corridor is moeilijk iets te zeggen onder meer doordat het aantal bloemen per plant niet gelijk was en de aantrekkingskracht van de verschillende planten op de insecten niet gelijk geweest zal zijn.

De effecten van het plaatsen van een soorteigen en een soortvreemde corridor op de pollenuitwisseling lijken niet te verschillen. Het aantal thrumpollen aangekomen in patch 3 (3,1) verbonden via een soorteigen corridor is groter dan in patch 2 (2,1), verbonden via een soortvreemde corridor. Dit verschil is echter niet significant. Het aantal soortvreemde pollen in patch 2 (0,93+0,82) is groter dan in patch 3 (0,44+0,31). Dit is echter niet verwonderlijk daar de soortvreemde planten ook dicht bij patch 2 dan bij patch 3 staan. Het aantal soortvreemde pollen op de stigma's van de planten in de soorteigen corridor is vrijwel gelijk aan het aantal in pinpatch 2. Dit is verrassend aangezien de afstand van de soortvreemde corridor tot de soorteigen corridor groter is dan de afstand van de soortvreemde corridor tot pinpatch 2 en er tevens een thrumpath tussen de corridors in staat.

Aangezien een afstand van ongeveer 20m (10m van midden in de corridor tot aan thrumpatch en 10m tot aan het midden van de Primula-corridor) geen probleem oplevert wat betreft uitwisseling blijven er of niet veel soortvreemde pollen achter in de thrumpatch, of vindt er meer transport richting thrumpatch plaats dan richting patch 2. Deze richting in transport komt ook enigszins naar voren uit de aantallen thrumpollen per stigma in de verschillende patches (gem. 3,1 in patch 3 en 2,1 in patch 2). Het zou zo kunnen zijn dat er minder pollen in een thrumpatch achterblijven dan in een pinpatch omdat de stigma's lager in de thrumbloemen staan dan in de pinbloemen. Op een hooggeplaatst stigma blijven pollen die op een insect zitten makkelijker kleven.

Het aantal aangekomen soortvreemde pollen in de patches 1 en 3 verschilt niet. Het plaatsen van een soorteigen corridor lijkt niet te resulteren in een grotere pollenuitwisseling.

Er zijn een aantal dingen op te merken bij het interpreteren van de resultaten.

Ten eerste heeft de gekozen proefopzet van 1 thrumpatch omringd door 3 pinpatches het voordeel dat de uitwisseling tussen 2 patches waartussen geen, een soorteigen of een soortvreemde corridor gemeten konden worden onder dezelfde weersomstandigheden. Het weer heeft invloed op de bestuiversactiviteit (zie hoofdstuk A 1). Het nadeel is echter dat nooit met zekerheid gezegd kan worden in welke richting transport heeft plaatsgevonden. Ook zijn de plaatsen van de patches niet geheel gelijk. De proeftuin wordt omringd door tuinen van aangrenzende huizen die ook hun invloed zullen uitoefenen op de verschillende patches, de patches staan niet allemaal op gelijke afstand van deze tuinen. De ene patch zal zich vroeger op de dag in de schaduw bevinden dan de andere patch. Het transport in de verschillende richtingen zal waarschijnlijk nooit helemaal gelijk zijn. Het is dus moeilijk om een al bestaande voorkeur in richting van transport te onderscheiden van een voorkeur voor een richting van transport die wordt veroorzaakt door het plaatsen van wel of geen corridor en het type corridor.

Ten tweede treedt er een probleem op bij de microscopische analyse van de pollen. Alhoewel de pollen morfologisch verschillen is het onderscheid tussen de thrumpollen en de rapunzel- en dovenetelpollen soms lastig te zien.

Ten derde heb ik in de proeftuin enkele observaties gedaan m.b.t. insecten. Tijdens deze observaties is er geen enkel bloembezoekend insect in de verschillende patches waargenomen. In de soortvreemde corridor zijn echter een weidehommel en een aardhommel waargenomen die in totaal 9 minuten bloemen hebben bezocht. De aantrekkingskracht op bloembezoekende insecten van de planten in de soortvreemde corridor lijkt op het eerste gezicht groter te zijn dan van planten in Primula-patches. Dit kan voortkomen uit het feit dat de soort op zich aantrekkelijker wordt gevonden en/of de hoeveelheid bloemen in de soortvreemde corridor groter is. Door de hogere mate van aantrekkelijkheid van de soortvreemde corridor zullen insecten vrij lang in deze corridor verblijven en mochten ze eventueel daarna aankomen in patch 2 dan hebben ze waarschijnlijk al een groot deel van de thrumpollen verloren. Misschien zou een soortvreemde corridor met minder bloemen of met bloemen van een andere soort tot minder verlies van pollen in de corridor leiden.

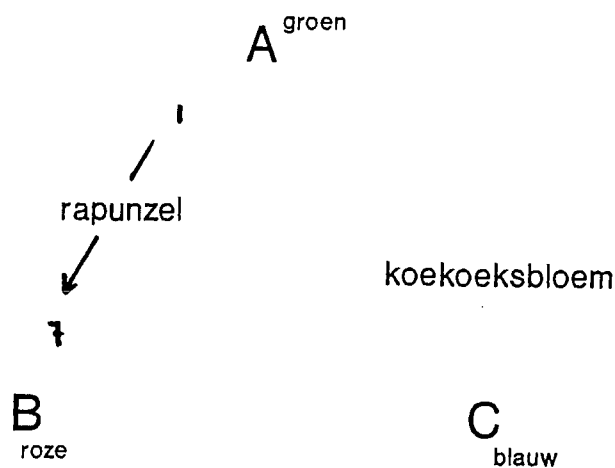
Jammer genoeg kon de proef niet met meer bloemen worden uitgezet doordat de bloeiperiode van de Primula's haast voorbij was.

A 2b.

Materiaal en methoden

De primula planten waren helaas uitgebloeid, daarom is voor deze proef gebruik gemaakt van een andere plantesoort. In de proeftuin zijn op 19 mei 1993 drie patches A, B en C van rapunzelplanten (*Phyteuma nigrum*) in een driehoek uitgezet.

Figuur 6: Proefopzet, 3 patches en de kleur fluorscerend poeder per patch



De zijden van deze driehoek zijn elk 15 meter lang. De planten staan in potten, elke patch bestaat uit negen planten, per patch staan ongeveer 20 bloei-aartjes in bloei. Tussen patch A en B is een corridor bestaande uit 7 rapunzelplanten geplaatst met ongeveer 2 bloeiaren per plant. De afstand tussen de afzonderlijke planten in de corridor is 1 meter. Tussen patch A en C is een corridor bestaande uit 7 vaasjes met koekoeksbloemen (*Silene dioica*) geplaatst.

De afstand tussen de afzonderlijke vaasjes is 1 meter. Tussen de patches B en C is geen corridor geplaatst.

Uitwisseling tussen patches komt tot stand door het transport van pollen door bestuivers. Fluorescerend poeder wordt gebruikt als pollen analoog. Door verschillende kleuren te gebruiken is het transport tussen de patches te traceren (Dafni 1992). In ieder van de drie patches wordt op een bloeiaar met een penseeltje fluorescerend poeder aangebracht. In patch A wordt groen, in patch B roze en in patch C blauw fluorescerend poeder aangebracht. Na een etmaal in de proeftuin te hebben gestaan zijn er in elke patch en in de rapunzelcorridor preparaten van stigma's gemaakt (geogst om 14.00h). Deze preparaten zijn vervolgens onder een fluorescentiemicroscoop geanalyseerd op het voorkomen van de drie verschillende kleuren fluorescerend poeder. Het aantal fluorescerende deeltjes is verdeeld in 4 klassen, klasse 0: geen fluorescerende deeltjes, klasse 1: in ieder geval 1 maar minder dan 25 plekje waarop fluorescerende deeltjes, klasse 2: tussen de 25 en 50, klasse 3: meer dan 50 plekje waarop fluorescerende deeltjes (een grote plek met fluorescerende deeltjes wordt gezien als meerdere kleine plekje).

Met behulp van de aanname dat secundair poedertransport (poeder wordt naar meer dan één bloem getransporteerd) slechts een kleine rol speelt kan aan de hand van kleur van het poeder afgeleid worden via welke route het verspreid is. Zo geeft de aanwezigheid van groene fluorescerende deeltjes in patch C aan dat er transport vanuit patch A naar patch C is geweest.

Resultaten

De verspreiding van fluorescerende deeltjes vanuit de patches A,B en C leveren de volgende gemiddeldes op voor de klassen van het aantal deeltjes per stigma in de verschillende patches.

Tabel 4: Verspreiding van fluorescerend poeder afkomstig uit patches A,B en C. n=aantal geanalyseerde stigma's

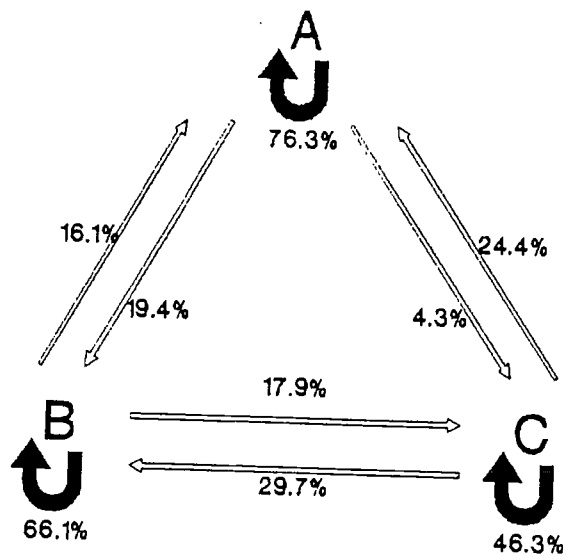
	uit patch A gem. \pm SE n	uit patch B gem. \pm SE n	uit patch C gem. \pm SE n
binnen de patch	1.14 \pm 0.13 62	0.68 \pm 0.14 54	0.34 \pm 0.09 56
eigen corridor	0.33 \pm 0.07 54	0.15 \pm 0.05 62	-----
vreemde corridor	0.07 \pm 0.03 56	-----	0.16 \pm 0.06
zonder corridor	-----	0.18 \pm 0.06 56	0.22 \pm 0.06 54

Er zijn significant meer groene deeltjes in patch A gebleven dan in patch B of C aangekomen ($p < 0.001$ Mann-Whitney). Er zijn significant meer groene deeltjes in patch B via de soorteigen corridor aangekomen dan in patch C via de soortvreemde corridor ($p < 0.001$ Mann-Whitney).

Er zijn significant meer roze deeltjes in patch B gebleven dan in patch A of C aangekomen ($p < 0.05$ Mann-Whitney).

Het gemiddelde aantal blauwe deeltjes per stigma verschilt niet significant tussen de patches.

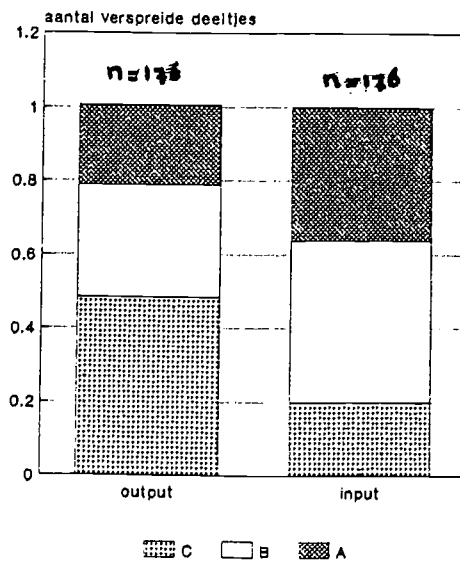
Figuur 7: Verspreiding, in percentages, van de fluorescerende deeltjes tussen de patches. *Phyteuma*



Het percentage aangekomen deeltjes in de patches A en B via de soorteigen corridor is niet significant verschillend. Het percentage aangekomen deeltjes in de patches A en C via de soortvreemde corridor is niet significant verschillend. Het percentage aangekomen deeltjes in de patches B en C via de route zonder corridor is niet significant verschillend.

Van alle deeltjes die getransporteerd zijn tussen de patches is een verschillend aandeel afkomstig uit de verschillende patches (output). Aangezien niet in iedere patch een even groot percentage van de opgebrachte deeltjes binnen de patch blijft zullen ook verschillende percentages vanuit de patches naar de andere patches worden verspreid. In de verschillende patches komen ook verschillende percentages van het totaal aantal getransporteerde deeltjes tussen alle patches aan (input).

Figuur 8: Afkomst van getransporteerde deeltjes die naar andere patches toegaan (output) en verspreiding van getransporteerde deeltjes over de patches (input). n= aantal preparaten *Phyteuma*



Bij de berekening van de verspreiding van getransporteerde deeltjes naar de patches is als volgt te werk gegaan. Van het totaal aantal getransporteerde deeltjes wordt x% naar patch A verspreid: (van patch B naar A + van C naar A) / totaal aantal getransporteerde deeltjes tussen alle patches = $(16,1+24,4) / (23,7+33,9+54,1) = 0,362$ (36,2%).

Planten in de rapunzel-corridor.

In de corridor waren 7 planten geplaatst, de bloemen van de planten 5 t/m 7 zijn echter omgeknaagd/opgegeten door konijnen. Er zijn dus alleen resultaten van de planten 1 t/m 4.

Tabel 5: De gemiddelde klasse van de fluorescerende deeltjes per stigmapreparaat per plant in de corridor. n= aantal preparaten

plnr	groen gem. \pm SE	roze gem. \pm SE	blauw gem. \pm SE	n
1	0.14 \pm 0.14	0.71 \pm 0.18	0.00 \pm 0.00	7
2	1.67 \pm 1.5	0.17 \pm 0.17	0.00 \pm 0.00	6
3	0.00 \pm 0.00	0.50 \pm 0.29	0.00 \pm 0.00	4
4	0.00 \pm 0.00	0.14 \pm 0.14	0.14 \pm 0.14	7

De verschillen in de gemiddeldes van de groene en de blauwe fluorescerende deeltjes tussen de verschillende planten zijn niet significant (Mann-Whitney).

De gemiddelde klasse van de roze fluorescerende deeltjes is alleen significant verschillend voor de planten 1 en 4 ($P < 0.05$ mann-Whitney).

Discussie

Het plaatsen van een soorteigen corridor tussen patches lijkt niet tot meer uitwisseling te leiden dan wanneer geen corridor geplaatst wordt. Een soorteigen corridor leidt tot meer uitwisseling tussen de patches dan een soortvreemde corridor.

Er komt meer poeder aan in de patches na een route met een soorteigen corridor dan na een route met een soortvreemde corridor (verspreiding van patch A naar B groter dan verspreiding van A naar C) en meer na een route zonder corridor dan na een route met soortvreemde corridor (verspreiding van patch C naar A groter dan van C naar B, alhoewel dit verschil niet significant is). Het zou zo kunnen zijn dat veel poeder achterblijft in de soortvreemde corridor of dat er een zekere afkeer voor de soortvreemde corridor bestaat onder de belangrijkste rapunzelbestuivers. Er blijkt geen verschil in hoeveelheid aangekomen poeder te bestaan na een route met een soorteigen of zonder corridor.

Er is geen significante voorkeur voor transport in een bepaalde richting tussen de patches. Wat opvalt aan de resultaten m.b.t. de verpreiding van fluorescerende deeltjes is dat een groot gedeelte van het poeder binnen de patch blijft. Dit geldt voor alle patches. Tevens valt op dat in de patch die via twee corridors met beide andere patches is verbonden het grootste percentage van de aangebrachte deeltjes in de patch zelf blijft. Binnen patch A is 76.3% van de deeltjes in de patch gebleven voor de patches B en C zijn de percentages respectievelijk 66.1% en 46.3% . Alleen de percentages voor de patches A en C zijn significant verschillend

($p < 0.05$).

Het aantal binnenkomende en uitgaande deeltjes is per patch verschillend (figuur 8). Voor patch A en B is er een grotere aanvoer dan uitvoer van verspreide deeltjes, voor patch C is er juist een grotere uitvoer dan aanvoer. Er gaat relatief een matig aantal deeltjes naar patch A toe (36.2%) en weinig er vandaan (21.2%), naar patch B gaan relatief veel deeltjes (43.9%) en een matig aantal er vandaan (30.4%), naar patch C gaan relatief weinig deeltjes (19.9%) en gaan er veel vandaan (48.4%).

Er blijven in de soorteigen maar waarschijnlijk ook in de soortvreemde corridor fluorescerende deeltjes achter. Het aantal verspreide deeltjes via de corridors zal dus voor alle patches in werkelijkheid iets hoger zijn wanneer ook de in de corridor achtergebleven deeltjes worden meegeteld en niet alleen die deeltjes die in een naburige patch aankomen. De hierboven genoemde percentages van verspreide deeltjes zullen iets hoger liggen en daardoor zullen de percentages deeltjes die in de patch zijn achtergebleven iets lager liggen.

Wanneer wordt gekeken naar de verspreiding van de verschillende kleuren fluorescerend poeder afkomstig vanuit de verschillende patches naar de planten in de soorteigen corridor valt het volgende op.

Ondanks dat geen van planten in de corridor significant van een andere plant verschilt in het aantal aanwezige deeltjes vanuit patch A zijn er wel een paar dingen op te merken. Het groene fluorescerende poeder vanuit patch A is slechts aanwezig op de planten 1 en 2. Dus vooral verspreiding dicht in de buurt van patch A waar de donorplant staat. Alhoewel er in de preparaten van plant 3 en 4 geen poeder is waargenomen is er wel groen poeder aanwezig in patch B. Er vindt dus wel uitwisseling plaats van patch A naar patch B. Er kan niet met zekerheid worden gezegd of de bestuivers plant 3 en 4 in de corridor op hun weg naar patch B overslaan of dat het toeval is dat uitgerekend in de preparaten helemaal geen groen poeder aanwezig is.

De verspreiding van het roze fluorescerende poeder vanuit patch B laat een iets ander beeld zien. Op alle planten in de corridor is roze poeder aanwezig. Op de planten 1 t/m 4 die dicht bij patch A staan dan bij patch B is poeder aanwezig afkomstig uit patch B en het meeste poeder op de plant het verst van de bron af (plant 2). Dit alles wijst erop dat er transport van patch B naar A plaatsvindt en dat een deel van het poeder in de corridor achterblijft. Insekten zouden het begin van de corridor kunnen overslaan en pas achterin de corridor bloemen gaan bezoeken.

De planten verschillen niet significant van elkaar in de hoeveelheid deeltjes afkomstig uit patch C. Opvallend is echter wel dat het blauwe fluorescerende poeder afkomstig uit patch C alleen op plant 4 van de corridor aanwezig is. De aanname dat het poeder bij verspreiding vooral in de naburige patch terechtkomt en er weinig secundair poedertransport plaatsvindt lijkt dus waarschijnlijk.

Omstreeks 17.00h op dag 1 waren alle planten in de corridor nog aanwezig. Om 14.00h op dag 2 waren de planten 5 t/m 7 verdwenen, vermoedelijk door konijnen omgeknaagd of opgegeten. Op dag 2 was er meer zon en was het warmer dan op dag 1, vermoedelijk dan ook vooral activiteit van bestuivers. Aangezien er op dag 2 's ochtends mensen in de proeftuin aan het werk zijn geweest, die de konijnen zullen hebben verjaagd, zijn de planten waarschijnlijk uitgevallen voor de periode met de meeste bestuiversactiviteit. Ik neem dus aan dat het beeld dat door overgebleven planten in de corridor wordt weergegeven niet al te erg afwijkt van het beeld dat verkregen zou zijn wanneer ik alle corridorplanten had kunnen analyseren.

Aangezien het zeer moeilijk is de totale hoeveelheden opgebracht poeder in de patches

precies gelijk te laten zijn, zijn de gedeponeerde hoeveelheden op 100% gesteld. Dit heeft als voordeel dat daarna de percentages verspreid poeder per patch onderling vergeleken kunnen worden. Een nadeel is echter dat deze percentages niet overeen hoeven te komen met de mate van bestuivers activiteit. De klassen fluorescerende deeltjes zijn gerelateerd aan aantallen deeltjes. Indien de klassen van de verschillende kleuren in de patches worden opgeteld, kom je tot verschillende waarden voor de klasse per kleur. Wanneer het aantal gedeponeerde deeltjes in de patches gelijk zou zijn dan zou je voor alle patches dezelfde waarde verwachten. Zo blijkt het aantal gedeponeerde deeltjes vanuit patch A groter te zijn dan in patch C. Van patch A wordt 4.3% van de deeltjes verspreid naar patch C in de omgekeerde richting wordt 24.4% getransporteerd. De hoeveelheid van 4.3% komt in patch A echter met meer deeltjes overeen dan 4.3% in patch C aangezien in patch A meer poeder is gedeponeerd dan in patch C. Een bepaalde bestuiver zal een bepaalde hoeveelheid deeltjes per keer verspreiden en een hoger percentage verspreide deeltjes van C naar A dan omgekeerd hoeft niet overeen te komen met een groter aantal bestuivers van C naar A.

Wanneer je alle gegevens combineert zou je het beeld kunnen opstellen dat er een overwegende transportrichting van patch C af is naar patch B en A (veel deeltjes verspreid vanuit patch C, percentages verspreiding van C naar A en B hoger dan in omgekeerde richting alhoewel niet significant, figuur 7).

De geteste afstand in de proeftuin van 20 meter tussen de patches en de hoeveelheid planten en bloeiaartjes zijn misschien te klein om een duidelijk effect van de corridors op de verspreiding van deeltjes door bestuivers waar te nemen. De afstand tussen de patches is misschien nog geen belemmering voor de rapunzelbestuivers. Toch blijkt een groot deel van het poeder binnen de patch zelf te blijven daaruit zou je kunnen afleiden dat de bestuiver voorkeur geeft aan het fourageren binnen de patch waar veel bloemen bijelkaar staan ten opzichte van het opzoeken van een nieuwe patch. Het hoge percentage van poeder dat binnen patch A en B blijft kan behalve op het liever niet overbruggen van de routes naar de andere patches ook duiden op een hoge mate van aantrekkelijkheid van de bloei-aartjes in deze patch; er vindt ook veel transport van patch C naar A en B plaats. Misschien bevatten de bloemen in patch A en B gemiddeld meer nectar dan de bloemen in patch C.

A 3. Patchgrootte en zaadzetting

Inleiding

De grootte van een populatie heeft invloed op de aantrekking van insecten (Handel 1983). Indien er onvoldoende planten met bloeiende bloemen in een populatie staan zullen er te weinig bestuivende insecten kunnen worden aangetrokken voor een optimale reproductie. In '92 is er in de proeftuin een onderzoek uitgevoerd door Coen van Atten en Alje Zandt waarbij is gekeken naar de invloed van patchgrootte op aantrekking van bezoekende insecten. In mijn onderzoek is de vraagstelling: Is er relatie tussen patchgrootte en het gemiddelde aantal zaden dat per zaaddoos wordt geproduceerd (als gevolg van een verschil in bezoekdruk) ?

Materiaal en methoden

In de proeftuin te Haren waren patches opgesteld waarin een gelijk aantal thrums en pins stonden (van Atten en Zandt 1992). Nadat van Atten en Zandt hun proef hadden beëindigd zijn de planten onder kooien geplaatst zodat de zaaddozen zich konden ontwikkelen zonder verder bezoek. Ontwikkelde zaaddozen werden verzameld en de zaden zijn door mij geteld.

Resultaten

Hier volgen eerst gegevens afkomstig van experimenten in '92 in de proeftuin waarbij de patchgrootte gevarieerd werd.

Tabel 6: (uit verslag van Atten & Zandt) Pins; Percentage bezochte bloemen in patches van verschillende grootte. n= aantal geanalyseerde stigma's

patch-grootte	% bezochte bloemen	n
18	42%	34
50	48%	66
148	60%	161

Tabel 7: Pins; Gemiddeld aantal zaden per zaaddoos in patches van verschillende grootte. n= aantal getelde zaaddozen

patch-grootte	# zaden per zaaddoos gem. ± SE	n
18	42.81 ±6.99	7
50	52.44 ±3.10	19
148	50.89 ±2.10	41

Het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos verschilt niet significant tussen de verschillende patchgroottes.

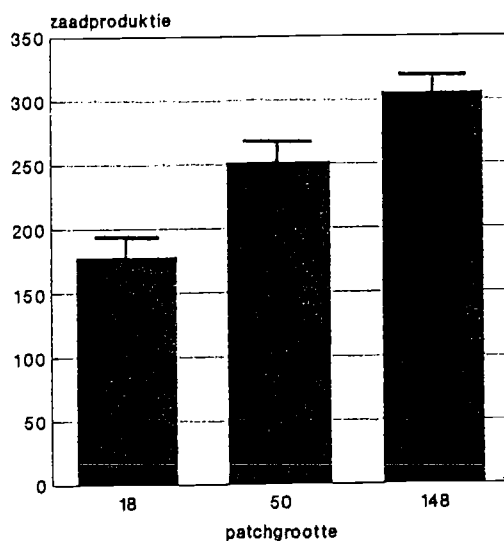
Tabel 8: Thrums; Gemiddeld aantal zaden per zaaddoos in patches van verschillende grootte. n=aantal getelde zaaddozen

patch-grootte	# zaden per zaaddoos gem. \pm SE	n
18	53.38 \pm 3.05	7
50	53.60 \pm 3.46	22
148	51.40 \pm 2.26	29

Het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos verschilt niet significant tussen de verschillende patchgroottes.

Pins en thrums verschillen niet significant van elkaar in het aantal zaden per zaaddoos in patches van een bepaalde grootte.

Figuur 9: De zaadproductie per plant bij verschillende patchgrootte. (\pm SE)



Berekening van de totale zaadproductie per plant; v.b. patchgrootte 18, 18 planten met ieder 10 bloemen waarvan wordt 42% bezocht, dat geeft 75,6 bezochte bloemen. Per bloem (geen rekening gehouden met bloemen die ondanks bestuiversbezoek geen zaden produceren) gemiddeld 42,8 zaden geproduceerd, in de totale patch 3207,7 zaden. Per plant is dan de zaadproductie $3207,7 / 18 = 178$ zaden. Ik heb de productie aan de hand van de pins berekend aangezien uit van Atten & Zandt ('92) alleen het percentage bezochte pinbloemen bekend is.

Discussie

Uit de resultaten van van Atten & Zandt (verslag 1992) volgt dat bij gelijke dichtheid een grote patch een grotere kans op pollentransport heeft. In de grootste geteste patch is het aantal bezochte pinbloemen het grootst; in deze patch verschilt het aantal zaden per pinzaaddoos echter niet significant van de waardes in de kleinere patches.

Fluorescerend poeder van de donorplant kan afgezet worden op meerdere bloemen. Ook kan eenmaal verspreid poeder weer worden opgepikt door een insect en vervolgens verder worden verspreid. Binnen de patch vindt dus niet alleen transport plaats vanaf de donorplant naar andere bloemen maar worden ook bloemen via omwegen bereikt. Niet alle pollen op de pinstigma's zullen tot zaadzetting leiden o.a. omdat ongeveer de helft van de patch uit pins bestaat en een deel van de pollen op een pinstigma zal uit pinpollen bestaan. Deze resulteren minder vaak in zaad dan intermorfe pollen (o.a. Ford 1964).

Bij een vergroting van de patch van 18 naar 50 planten neemt het percentage bezochte bloemen toe van 42 naar 48% tevens neemt het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos toe van 42,9 naar 52,4 (geen significante toename). Dus bij deze toename in patchgrootte worden er meer bloemen bezocht en de bloemen die worden bezocht lijken meer zaden te produceren. Bij een vergroting van de patch van 50 naar 148 planten neemt het percentage bezochte bloemen toe van 48 naar 60% , het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos neemt echter af van 52,4 naar 50,9 (geen significante afname).

Het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos zou een goede maat voor reproductieve capaciteit kunnen zijn indien alle zaaddozen zouden zijn verzameld en indien ook bloemen die niet bevrucht zijn altijd zaaddozen maken. Helaas zijn lege zaaddozen niet verzameld en is dus niet bekend welk aandeel van de bloemen in de verschillende patchgroottes geen zaden produceren. De waardes voor het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos in tabel 7 zijn waarschijnlijk niet gelijk aan de produktie per bloem (produktie per bloem waarschijnlijk lager). Het gemiddelde van het totaal aantal zaden per plant is een andere maat. Een grotere patch leidt tot een hoger percentage bezochte bloemen en daardoor tot een hogere zaadproduktie per plant (per plant evenveel bloemen in bloei, figuur 9).

A 4. Bloeduur

Inleiding

Plantepopulaties kunnen in hun zaadsetting zijn gelimiteerd door een gebrek aan bestuivers (Syrjänen & Lehtilä 1993, Ornduff 1979). Misschien zouden planten in populaties die gelimiteerd zijn door bestuivers zich kunnen aanpassen door te investeren in een langere bloeduur om op die manier toch nog voldoende bestuivers aan te trekken (Ford 1964).

Vraagstelling: Bestaat er een verschil in bloeduur tussen bloemen die bezocht worden door bestuivers en bloemen die niet bezocht worden door bestuivers?

Materiaal en methoden

In de proeftuin zijn bloemen niet bestoven of handbestoven op 7 maart '93. De bloemen zijn onder een kooi in de proeftuin afgeschermd van (grotere) bestuivers geplaatst. De bloeduur van de handbestoven en de niet-bestoven bloemen is gemeten. Onder bloeduur is verstaan de tijd vanaf het moment dat de bloem bijna geheel geopend is tot het moment dat de bloem is uitgebloeid.

De bloemen zijn met de hand bestoven op het moment dat het stigma hoogst waarschijnlijk receptief was en opgebrachte pollen tot zaadsetting zullen leiden. Het moment van de receptiviteit van het stigma is bekeken aan de hand van het opbrengen van H₂O₂, indien belletjes ontstaan is het stigma receptief (peroxidase aanwezig, Dafni 1992). Het stigma van de Primula's blijkt receptief te zijn vanaf het moment dat de bloem bijna geheel geopend is (eigen waarneming).

Aanvankelijk was het plan om ook in de Belgische populaties metingen te verrichten aan de bloeduur van handbestoven en niet-bestoven bloemen (bestuiving voorkomen door kroonblaadjes af te knippen, op die manier bloem niet meer aantrekkelijk voor bestuivers). Wegens praktische problemen (het kost veel reistijd om de bloeduur regelmatig bij te houden) is dit echter niet doorgegaan.

Resultaten

Uiteindelijk zijn slechts zeer weinig bloemen voor dit experiment gebruikt aangezien ik het liefst bloemen gebruikte waarvan op hetzelfde moment de gele blaadjes in de knop zichtbaar werden en vervolgens allemaal op hetzelfde moment hun bloem geheel openden. Tevens had ik mijn prioriteiten voor het gebruik van de bloemen gelegd bij de afstandsproef (hoofdstuk A1).

Bloemen zonder handbestuiving (8 thrums en 4 pins) bloeien van 7 maart tot 26 maart, bloeduur van 19 dagen. Bloemen met handbestuiving hebben ook een bloeiperiode van 19 dagen (3 pins, waarvan 1 pin met een stigma dat na 13 dagen was verschrompeld) of korter (1 pinbloem op dag 19 al geheel verdwenen).

Discussie

Het aantal gebruikte bloemen in deze proef is veel te klein om iets te kunnen zeggen over het al dan niet verlengen van de bloeiperiode indien geen bestuiving optreedt. Tevens is de bloeiperiode niet iedere dag bijgehouden wat wel had moeten. De bloeiperiode van de bloemen wijkt niet af van de waardes voor de bloeiperiodes in '92 in de proeftuin (van Atten & Zandt). De gemiddelde bloeduur van *P. vulgaris* is 19 dagen.

Het aanbrengen van pollen heeft mogelijk effect op de toestand van het stigma. Onder invloed van opgebrachte pollen zal het stigma verschrompelen. De mogelijke verlenging van de bloeiperiode van niet-bestoven bloemen zou je misschien eerder als een genetische aanpassing in bestuivers gelimiteerde populaties kunnen waarnemen (Ford 1964, transplantatie proeven met stigma's).

Hoofdstuk B Pollenuitwisseling en Reproductie (Veld)

B 1. Vergelijking van een kleine en een grote populatie

Inleiding

Het reproductieve vermogen van een soort wordt beïnvloed door de zaadproductie, de kiemkracht van de zaden en de overleving van kiemplantjes tot volwassen planten.

Bestuivers zorgen voor pollendepositie en dit leidt tot zaadproductie. Het gedrag van bestuivers, en dus het aantal door hen getransporteerde pollen, wordt beïnvloed door de geometrie (omvang, dichtheid, vorm) van een populatie (Handel 1983). Door de bestudering van de bestuiving kan inzicht worden verkregen in de effecten van versnippering, het kleiner en geïsoleerder worden, van populaties. Kleine, geïsoleerde populaties kunnen gelimiteerd zijn in het aantal bestuivers wat leidt tot een gelimiteerde pollenuitwisseling. Hierdoor kunnen kleine, geïsoleerde populaties een lagere zaadproductie hebben dan grote, niet geïsoleerde populaties (Spears 1987). Extra handbestuiving in versnipperde populaties die gelimiteerd zijn door bestuivers leidt tot verhoging van de zaadzetting (bij *Dianthus deltoides*, Jennertsen 1988).

P. vulgaris produceert veel ovula en de meeste ovula worden ook bevrucht. Veel zaden rotten in de natuurlijke situatie echter weg of worden opgegeten doordat ze terechtkomen op ongunstige plaatsen. Een aantal zaden kan mede door het transport door mieren terechtkomen op gunstiger plaatsen en deze zaden kiemen goed. De overleving van gekiemde zaden is echter slecht. In feite heeft *P. vulgaris* een laag reproductief vermogen (Crosby 1966).

In Engelse populaties van *P. vulgaris* komt een homostyle bloemvorm voor. In deze bloem zijn zowel het stigma als de meeldraden hoog in de bloem geplaatst. In deze bloem vindt zelfbevruchting plaats. Dit wordt geïnterpreteerd als een aanpassing aan nieuw gekoloniseerde gebieden waar nog weinig individuen van dezelfde soort aanwezig zijn (Piper & Charlesworth 1986, Crosby 1965). Het is niet bekend of in populaties die gelimiteerd zijn door bestuivers homostyle bloemen voorkomen om bevruchting te garanderen.

In deze proef is slechts gekeken naar een onderdeel van de factoren die er toe kunnen leiden dat een kleine populatie klein blijft of zelfs kleiner wordt. Vraagstelling: Is een kleine populatie van *P. vulgaris* gelimiteerd in zaadproductie en/of fitness van de geproduceerde zaden? Is er verschil in zaadzetting en kiemkracht tussen zaden afkomstig van pins en thrums?

Materiaal en methoden

Een kleine en een grote populatie van *P. vulgaris* in Nederland zijn met elkaar vergeleken wat betreft zaadproductie en kiemkracht van de zaden. Als maat voor de zaadproductie is alleen het aantal zaden per verzamelde zaaddoos genomen; het zaadgewicht is buiten beschouwing gelaten.

In 1991 zijn zaden verzameld door Els Boerrigter van populaties in Gasteren en Kennemerduinen. De populatie in Gasteren (Drenthe) bestond uit 9 planten, waarvan 8 pins en 1 thrum. De populatie lag in een houtwal. De populatie in Kennemerduinen bij Haarlem bestond uit ongeveer 1000 planten en is gelegen in een duinstruweel. Na telling zijn de zaden geplaatst in plastic petrischalen op een filtreerpapiertje dat bevochtigd is met een 50 ppm oplossing van gibberellinezuur (methode van Els Boerrigter gevolgd), onder het filtreerpapiertje ligt een laagje hydrofoob steenwol. De petrischalen met 50 zaden (zoveel mogelijk afkomstig van dezelfde plant), zijn geplaatst in kiemkasten met een dagtemperatuur

van 25 °C en een nachttemperatuur van 15 °C (beste kiemtemperatuur volgens Els Boerrigter). Eventueel werden de zaden bevochtigd met demiwater wanneer het filtreerpapierje te droog werd. Het aantal gekiemde zaden werd in de loop van de tijd gevolgd (dag 16 t/m dag 63). Voor beide populaties zijn 2000 zaden te kiemen gezet. Alleen van de populatie in Gasteren is van de verzamelde zaden bekend of ze afkomstig zijn van pins of thrums. Dus is ook alleen van deze populatie bekeken of de zaadzetting en de kiemkracht tussen deze twee types verschillen. De zaadproductie in Gasteren is in de loop van de tijd gevolgd. Vanaf 28-3-'91 zijn 5 keer zaden verzameld, de laatste keer op 2-7-'91. De duur van de tussenliggende periodes zijn niet geheel bekend. Ik heb aangenomen dat de tijd tussen 2 periodes steeds evenlang was te weten van 28 maart t/m 2 juli is 96 dagen, de tijd tussen 2 periodes bestaat dan uit 24 dagen.

Resultaten

Tabel 9: Het aantal zaden per zaaddoos in een kleine (Gasteren) en een grote populatie (Kennemerduinen). n= aantal planten waarvan het aantal zaden per zaaddoos is geteld (van Gasteren zijn meer zaaddozen per plant (alle zaaddozen per plant) geteld dan van Kennemerduinen (2 zaaddozen per plant)).

populatie	# zaden per zaaddoos gem. ± SE	n
Gasteren	53.67 ±9.60	9
Kennemerduinen	35.58 ±2.71	57

Het aantal zaden per zaaddoos is niet significant verschillend tussen de 2 populaties van verschillende grootte (Mann-Whitney).

Alleen m.b.t. Gasteren (kleine populatie).

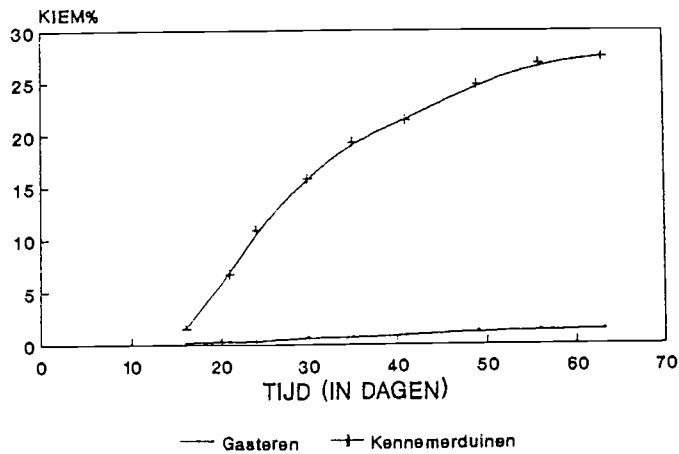
Tabel 10: Het aantal zaden per zaaddoos voor pin en thrum. n= aantal planten
Pins produceerden in totaal 95 zaaddozen, de thrum 17.

type	# zaden per zaaddoos gem. ± SE	n
thrum	58.00 ±0.00	1
pin	54.13 ±9.54	8

Het aantal zaden per zaaddoos is niet significant verschillend tussen pin en thrum (Mann-Whitney).

Q,

Figuur 10: Het kiemingspercentage tegen de tijd (in dagen na inzet) in een kleine en een grote populatie.



Van beide populaties zijn 2000 zaden geanalyseerd (40 petrischalen). Het uiteindelijk kiemingspercentage (op dag 63) is significant hoger voor Kennemerduinen dan voor Gasteren (Mann-Whitney).

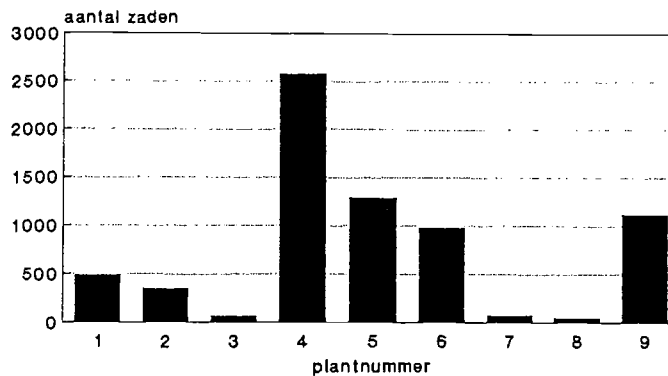
Alleen m.b.t. Gasteren.

Tabel 11: Het kiemingspercentage (op dag 63) voor de types thrum en pin. n = aantal zaden

type	kiemingspercentage		n
	gem.	\pm SE	
thrum	0.000	± 0.000	250
pin	0.016	± 0.008	1750

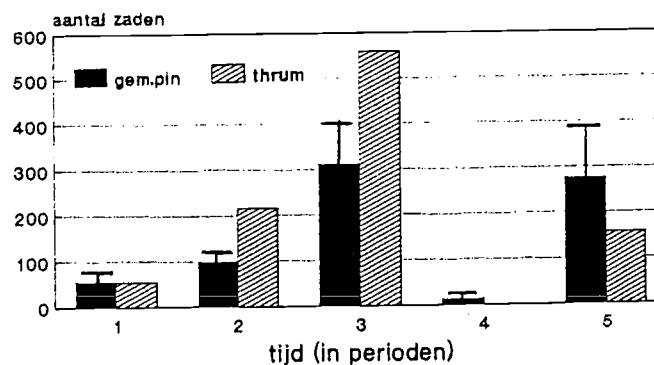
In de Gasterense populatie bleken zaden van de ene thrum niet te kiemen, zaden van de pins (slechts bestoven door 1 thrum) kiemden wel. Door het zeer geringe aantal is er geen significant verschil tussen pin en thrum (Mann-Whitney).

Figuur 11: Zaadproductie per plant in Gasteren. plant 1 t/m 4 en plant 6 t/m 9 = pin, plant 5 = thrum.



Er is een grote spreiding in de zaadproductie van de verschillende pins. Plant 5 werd omringd door plant 4 en 6.

Figuur 12: Zaadproductie voor pin en thrum in Gasteren in de loop van de tijd. Vijf oogstperiodes te weten periode 1: tot 28-3-'91, periode 2: 28-3 tot 21-4, periode 3: 21-4 tot 15-5, periode 4: 15-5 tot 8-6, periode 5: 8-6 tot 2-7-'91.



Discussie

Alhoewel de populaties Gasteren en Kennemerduinen enorm verschillen in grootte, verschillen de populaties niet in het gemiddeld aantal zaden per zaaddoos (dit komt overeen met de resultaten van hoofdstuk A3). De kleine populatie in Gasteren is dus niet gelimiteerd wat zijn bestuiving betreft (of in iedergeval niet meer gelimiteerd dan de betreffende grote populatie). Hierover bestaat echter pas zekerheid indien in de populatie enkele bloemen een

extra handbestuiving krijgen en andere niet. Bij een dergelijk experiment is het probleem in hoeverre je wilt ingrijpen in een toch al zo kleine populatie en zijn er voldoende bloemen aanwezig om het experiment statistisch te onderbouwen. Effekten van ingrijpen in een populatie van *Primula veris* zijn b.v. beschreven in een artikel van Syrjänen & Lehtilä uit 1993. Zij voerden experimenten uit waarbij o.a. bloemen werden verwijderd. Dit kan zelfs in het daarop volgende jaar nog invloed hebben op het aantal bloemen en de zaadproduktie. De effecten op lange termijn van extra handbestuiving zijn niet bekend.

De reproductieve capaciteit van een soort hangt af van zijn genetische omgeving (Crosby 1966). Crosby doelt op de mogelijke hybridisatie met verwante plantesoorten, als mogelijk voor- of nadeel voor de overleving van een plantesoort. Dit is ook uit te leggen als de invloed van soortvreemde pollen op het stigma op de bevruchting. Aangezien in versnipperde populaties algemene plant-bestuiver relaties gespecialiseerde plant-bestuivers relaties overheersen (Linhart & Feinsinger 1980) is de kans groot dat er veel soortvreemde pollen op het stigma voorkomen in versnipperde populaties. De verschillen in genetische omgeving van de populaties Gasteren en Kennemerduinen (in Kennemerduinen meer planten van de eigen soort aanwezig dan in Gasteren) hebben blijkbaar geen invloed op de zaadproduktie. Er treedt echter een zeer groot verschil op in kiemingspercentages van de zaden uit de twee populaties. Het kiemingspercentage van de zaden uit Kennemerduinen ligt beduidend hoger (26.8%) dan dat van de zaden uit Gasteren (1.4%). In enkele petrischalen van Kennemerduinen komt het kiemingspercentage tot ruim 70 % (in de petrischalen van Gasteren is het hoogste kiemingspercentage 14 %). Het kiemingspercentage tussen de afzonderlijke planten binnen een populatie verschilt. Individuele planten zouden zaden kunnen produceren met een betere of slechtere kiemkracht. Ondanks dat de zaden al in '91 zijn verzameld en sindsdien waren opgeslagen (de zaden uit Gasteren en Kennemerduinen waren op dezelfde manier opgeslagen), werden er nog redelijke kiemingspercentages bereikt. Vergelijk deze na opslag bijvoorbeeld met die in artikel van Helliwell (1980) en de daarin aangehaalde artikelen van Keith-Lucas (1968) en Mellanby (1974). Helliwell neemt slechts 3% kieming waar van zaden die 6-9 maanden zijn opgeslagen (2°C) waarvan onder dezelfde kiemingsomstandigheden voor opslag 50% kiemde. Keith-Lucas (1968) neemt geen enkele kieming waar van zaden die 9 maanden zijn opgeslagen bij kamertemperatuur. Zij voegden echter geen van allen gibberillinezuur toe. De kiemingspercentages zijn echter wel beduidend lager dan in '92 toen nog zo'n 60-80% van deze zaden kiemde (gegevens Els Boerrigter). Een andere maatstaf voor de kwaliteit van zaden kan zijn of zaden gaan schimmelen in de kiemkast. In 90% van de petrischalen met zaden uit Gasteren komt schimmel voor, in 81% van deze petrischalen komt geen van de zaden tot kieming (75% van de petrischalen zonder schimmel komen niet tot kieming, dit zijn slechts 3 petrischalen). In 58% van de petrischalen met zaden uit Kennemerduinen komt schimmel voor, in 13% van deze petrischalen komt geen van de zaden tot kieming (6% van de petrischalen zonder schimmel waar geen van de zaden tot kieming komt). Het verband tussen schimmel en geen kieming lijkt sterker voor zaden uit Gasteren dan voor zaden uit Kennemerduinen. Niet alleen onder laboratoriumomstandigheden komt schimmel op de zaden voor, ook in natuurlijke situaties treedt schimmel regelmatig op (zie artikel Whale 1983 en Crosby 1966). Een verklaring voor de slechtere kwaliteit van de zaden uit de kleine populatie kan liggen in het feit dat de populatie in Gasteren slechts zeer beperkte mogelijkheden heeft om tot pollenuitwisseling te komen met andere populaties (populatie Ekehaar maar op zo'n afstand dat regelmatige pollenuitwisseling uitgesloten lijkt). Geografisch afgelegen soorten kunnen een afname in genetisch polymorfisme ondergaan (Lande 1980, Karron 1987) en een verhoging van inteelt (Franklin 1980). Dit zou tot uiting kunnen komen in een verminderde kiemkracht van de

zaden.

Misschien is er geen gebrek aan pollen in absolute zin (in populatie Gasteren zaadproductie per zaaddoos gelijk aan die van populatie Kennemerduinen) maar wel in relatieve zin. Sutherland (1986) beschrijft dat in het algemeen onvoldoende competitie tussen de pollen leidt tot een verhoogde abortus van ovula en zaden. Dit effect wordt niet waargenomen in de kleine populatie van Gasteren. Verminderde competitie tussen pollen zou kunnen leiden tot zaden met een verminderde fitness, niet wat betreft een te vroeg loslaten van de zaden (zaadgewicht) maar wat betreft de kiemkracht van de zaden. Zwakke pollen die in een grote populatie niet tot bevruchting leiden aangezien ze weg worden geconcurrerd door sterkere pollen krijgen in een kleine populatie wel de kans een bevruchting tot stand te brengen.

De populatie in Gasteren kan behalve wat betreft zijn geïsoleerde positie ook wat betreft andere factoren op een ongunstige plaats liggen. De habitat in Gasteren kan een gebrek aan nutriënten voor *P. vulgaris* hebben (lijkt onwaarschijnlijk aangezien veel brandnetels en ridderzuring aanwezig zijn). Dit gebrek kan tot uiting komen in de slechte kwaliteit van de zaden (omgevingsfactoren zouden beperkend kunnen zijn voor reproductie mogelijkheden, Syrjänen & Lehtilä 1993).

De totale zaadproductie per plant (17 bloemen) in de loop van het seizoen van de thrum in Gasteren is 984 zaden, het gemiddelde aantal zaden dat een pin in de loop van het seizoen produceert is 716 (gemiddeld 11.9 bloemen per plant). Het totaal aantal zaden ligt hoger voor de thrum; dit is vrij logisch aangezien de thrum meer kans heeft om bestoven te worden door pinpollen want er staan meer pins dan thrums in de populatie en de thrum meer bloemen heeft dan de gemiddelde pin. De 2 pins (plant 4 en 6, samen 40 bloemen) die het dichtst bij de thrum staan hebben een zaadproductie van 2580 en 1291 zaden (figuur 11) dit is aanzienlijk hoger dan dat van de thrum (984). In de eerste periode is de zaadproductie voor pins en thrums gelijk (figuur 12). Vervolgens overtreft de zaadproductie van de thrum de gemiddelde zaadproductie van de pins in de tweede en derde periode. In de vierde en vijfde periode is de gemiddelde zaadproductie van de pins hoger dan die van de thrum. De verschillen tussen de pins zijn echter groot (kleinste zaadproductie 45 zaden en de grootste 2500 zaden). Het is dan ook moeilijk te zeggen of dit een algemeen beeld is.

Ondanks dat in de populatie van Gasteren slechts 1 thrum voorkomt en 8 pins is het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos voor de pinplanten niet lager dan voor de planten in Kennemerduinen. Het gemiddelde aantal zaden per zaaddoos voor de pins in Gasteren is 54.1, voor de planten in Kennemerduinen 35.6.

De kiemingspercentages voor de thrum en de pins verschillen niet significant van elkaar voor de populatie in Gasteren. Omdat er slechts 1 thrum aanwezig is zijn er geen algemene conclusies uit dit gegeven te trekken.

B 2. Vergelijking van 5 Belgische populaties

Inleiding

Zoals al beschreven in het hoofdstuk B 1 over reproductie in een kleine en een grote veldpopulatie van *P. vulgaris* wordt het gedrag van bestuivende insecten beïnvloed door de geometrie van een populatie. Omvang, dichtheid, vorm van een populatie kunnen invloed hebben op het aantal pollen dat binnen de populatie en met andere populaties wordt uitgewisseld.

Uit onderzoek aan populaties van *Primula veris* (Syrjänen & Lehtilä 1993) en *Primula vulgaris* (Ornduff 1979) volgt dat verminderde zaadzetting in een populatie het gevolg kan zijn van onvoldoende bestuiving. Volgens Richards (1986) die *P. vulgaris*, *veris* en *elator* onderzocht zou gebrek aan bestuiving vrijwel nooit tot verminderde zaadproductie leiden. Verminderde zaadzetting kan ook het gevolg zijn van een verhoogde bestuiving binnen de populatie (te weinig uitwisseling met andere populaties) wat tot inteelt kan leiden. Inteelt kan een genetische verarming tot gevolg hebben en eventueel aanwezige negatieve recessieve eigenschappen hebben een grotere kans om tot expressie te komen. (van Treuren vond nog geen toename van het inteelniveau in kleine populaties van *Salvia pratensis* en *Scabiosa columbaria*. De effecten van inteelt zijn pas na lange tijd zichtbaar indien de planten een lange generatietijd hebben).

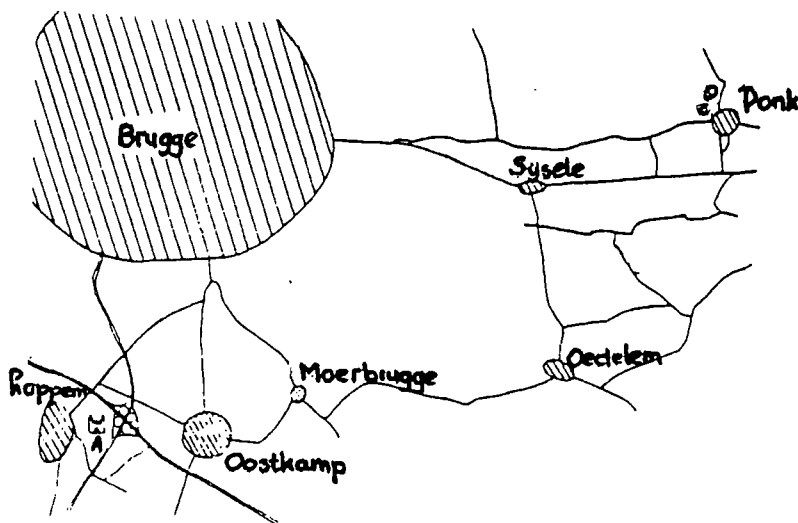
In deze proef zijn een aantal populaties met elkaar vergeleken waarbij de vraagstelling was:

- Verschillen populaties van verschillende grootte in het gemiddelde aantal intermorfe pollen aangetroffen op de stigma's? Verschilt het aantal intermorfe pollen op de pin- en thymstigma's?
- Zijn populaties gelimiteerd in hun zaadzetting door een gebrek aan bestuivers?
- Is er sprake van verminderde reproductie (zaadproductie, kieming) als gevolg van inteelt in populaties?

Materiaal en methoden

Vijf populaties van *P. vulgaris* in België in de buurt van Brugge zijn met elkaar vergeleken wat betreft zaadzetting door pollentransport van bestuivers.

Figuur 13: Ligging van 5 *P. vulgaris* populaties in de omgeving van Brugge



In de buurt van Oedelem staat een zeer kleine lijnvormige populatie (populatie Oedelemberg = populatie 1 in tabel 12) in een berm. De 6 planten bestaan uit 2 thrums, 2 pins (waarvan 1 misvormde bloemen heeft) en 1 niet-bloeiende plant en 1 plant waar het type niet van bekend is (maar die wel gebloeid heeft).

Bij Loppem staan in een kasteeltuin zowel exemplaren van *P. vulgaris* als van een hybride type met *P. elatior*. In het gehele park staan primula's op plaatsen waar ze goed zichtbaar zijn. Waarschijnlijk zijn de planten aangeplant of verplant door mensen. In de kasteeltuin zijn 2 plekken uitgekozen voor nadere bestudering. Ten eerste "populatie" Loppem A. In deze populatie staan 16 planten lijnvormig langs een berm/slootrand tussen een wandelpad en een weiland. Er zijn 11 thrums en 5 pins. Op een afstand van ongeveer 100 meter gescheiden door een bosje ligt de "populatie" Loppem B. Op een open plek in een bosje tussen een weiland en een wandelpad staan ruim 200 planten (de verhouding pin/thrum is ongeveer gelijk, bovendien staan er ook niet-bloeiende planten).

In de buurt van Donk staan 2 "populaties", Donk C en Donk D. De planten in Donk C staan verspreid over een aantal plekken langs sloten rond een weiland en een akker. In totaal staan er ongeveer 250 planten, de verhouding pin/thrum is ongeveer gelijk, ook hier komen niet-bloeiende exemplaren voor. Op een plek langs een slootrand waar ook veel brandnetels en braam voorkomt staat het merendeel van de planten. Op een afstand van ongeveer 250 meter gescheiden door een weg en een boerderij staat de populatie Donk D. De ongeveer 300 planten staan lijnvormig in een berm (vermoedelijk een voormalige houtwal) ook hier is het aantal pins en thrums nagenoeg gelijk en komen ook niet-bloeiende exemplaren voor.

Tabel 12: Populatiegrootte en aantal pin- en thrum- en niet bloeiende planten van 5 Belgische populaties in 1993.

populatie	pop. nr.	# planten	pin	thrum	n. flor.
Oedelemberg	1	6	2	2	1
Loppem A	2	16	5	11	
Loppem B	3	250	110	90	50
Donk C	4	250	120	102	28
Donk D	5	300	120	108	72

a. De populaties Loppem A en Donk C zijn voor proef a gebruikt. In de populaties zijn op 14 en 15 april 1993 gelpreparaten van stigma's gemaakt. Deze preparaten zijn microscopisch geanalyseerd op het aantal aanwezige intermorfe pollen.

b. In de 5 populaties is de zaadzetting van bloemen die een extra handbestuiving hebben gekregen vergeleken met bloemen die geen handbestuiving hebben gehad (handbestuivingen uitgevoerd op 15 en 28 april). Indien de zaadzetting (zaden verzameld op 7 juni) voor bloemen met een extra handbestuiving hoger ligt dan voor de bloemen met alleen natuurlijke bestuiving kun je concluderen dat de planten door een gebrek aan bestuivers gelimiteerd zijn in hun zaadzetting. Na het verzamelen van het zaad zijn de zaden te kiemen gezet (zie voor methode hoofdstuk B 1).

c. Om er achter te komen of in de populaties sprake is van een verminderde fertiliteit ten gevolge van inteelt wordt de zaadzetting van kruisingen binnen de populatie vergeleken met de zaadzetting van kruisingen tussen populaties. Hierbij is aangenomen dat planten die dicht bij elkaar staan meer familie banden zullen hebben. Indien kruisingen tussen populaties tot meer zaden per zaaddoos leiden dan kruisingen binnen populaties dan lijkt het erop dat er een verminderde zaadzetting optreedt ten gevolge van inteelt. Er zijn slechts weinig kruisingen uitgevoerd omdat in het veld bleek dat er niet voldoende bloemen tegelijkertijd in bloei stonden om beide proeven uit te voeren.

a. Resultaten

Analyses van gelstigma preparaten.

Tabel 13: Aantal intermorfe pollen aangetroffen op stigma's van populaties met een verschillende grootte. n= aantal preparaten

populatie nr.	# intermorfe pollen gem. ± SE	n
2	27.20 ± 6.24	10
4	65.96 ± 21.01	25

Het aantal intermorfe pollen per stigma verschilt niet significant tussen de populaties (T-test met getransformeerde waardes).

Tabel 14: Aantal intermorfe pollen op pin- en thrumstigma's. type 1 = thrum, type 2 = pin
n= aantal preparaten

populatie nr.	type	# intermorfe pollen gem. ± SE	n
2	1	13.80 ± 5.20	5
2	2	40.60 ± 7.65	5
4	1	51.67 ± 27.35	9
4	2	74.00 ± 29.44	16

Het aantal intermorfe pollen op pinstigma's in populatie Loppem A is significant hoger dan op thrumstigma's ($p < 0.05$ T-test) dit geldt niet voor populatie Donk C.
Het aantal intermorfe pollen op de pinstigma's is niet significant verschillend tussen de populaties, hetzelfde geldt voor de thrums (T-test).

a. Discussie

De twee populaties verschillen niet significant van elkaar in het aantal intermorfe pollen op de stigma's. De gemiddeldes voor de beide populaties liggen wel ver uitelkaar. Het gemiddelde aantal intermorfe pollen in Donk C is twee maal zo groot als het gemiddelde voor de populatie Loppem A. Dit verschil is echter niet significant doordat er sprake is van een grote spreiding van het aantal intermorfe pollen per stigma en doordat met name het aantal gemaakte preparaten in Loppem A klein is.

Het is niet te voorkomen dat de steekproef uit Loppem A klein is aangezien de populatie slechts uit weinig planten bestaat. Wanneer er meer preparaten gemaakt zouden zijn zouden er ten eerste geen bloemen meer over zijn voor andere experimenten en zou ten tweede de invloed van het ingrijpen in de populatie wel erg groot zijn (zie ook hoofdstuk B 1). Dit probleem speelt steeds een rol in de experimenten uitgevoerd in de kleine populaties. Enerzijds is het nodig voor een statistische verantwoording dat de steekproeven niet te klein zijn, anderzijds wil je met de experimenten de oorspronkelijke situatie in de populatie niet te veel beïnvloeden. Door het maken van een stigmapreparaat verwijder je bijvoorbeeld de op dat moment eventueel aanwezige intermorfe pollen die tot bevruchting hadden kunnen leiden. Na deze verwijdering is er misschien wel kans dat er opnieuw bestuiving plaatsvindt maar de verwijdering bouwt altijd een extra risicofactor in. Het kan bijvoorbeeld zo zijn dat het stigma receptief was op het moment dat het preparaat gemaakt wordt, het is dan maar de vraag of het stigma nog wel receptief is op het moment dat een eventuele latere bestuiving plaatsvindt (het zou echter ook zo kunnen zijn dat het stigma op het moment dat het preparaat wordt gemaakt nog niet receptief is, verwijdering van pollen kan dan misschien tot een voordeel leiden voor de latere pollen). Ook is niet bekend of de gebruikte gel, waarin phenol zit, eventueel nadelige gevolgen heeft voor de zaadzetting. De analyse van gelpreparaten lijkt in iedergeval minder ingrijpend dan het plukken van stigma's.

De grootte van een populatie heeft invloed op de aantrekking van bloembezoekende insecten. Waarschijnlijk is er een soort optimale populatiegrootte waarbij het grootste aantal intermorfe pollen op de stigma's terechtkomt (zie van Atten & Zandt 1992). De populatie Loppem A is veel kleiner dan de populatie Donk C, respectievelijk 16 en 250 planten. Het is echter niet duidelijk of bij de aantrekking van bloembezoekende insecten populatie Loppem A niet profiteert van het feit dat 100 meter verderop een grotere populatie (Loppem B) staat. Het is niet duidelijk te zeggen of de populaties Loppem A en Donk C verschillen in grootte. Bij deze vraag komt het probleem op wat je beschouwt als zijnde een populatie en hoe je deze herkent in het veld (effectieve populatiegrootte; Richards 1986, neighbourhood; Calahan & Gliddon 1985, neighbourhood area; Crawford 1984). Ook blijkt uit de gegevens van hoofdstuk B 1 dat de zaadproductie (aantal zaden per zaaddoos) in een kleine populatie niet lager is dan in een grote populatie. Een kleine populatie hoeft dus geen problemen te hebben om bestuivende insecten aan te trekken.

De populaties Loppem A en Donk C verschillen van elkaar wat betreft de groeiplaats. De populatie Loppem A ligt in een kasteeltuin, de populatie Donk C ligt in een agrarisch gebied (omgeven door weiland en akkerland). Dit verschil leidt echter niet tot een verschil in aantal intermorfe pollen op de stigma's.

Het aantal intermorfe pollen per stigma verschilt alleen in Loppem A significant tussen de types thrum en pin. Het aantal intermorfe pollen is op de pinstigma's significant hoger dan op de thrumstigma's. In populatie Donk C ligt het gemiddelde aantal intermorfe pollen op pinstigma's wel hoger dan op thrumstigma's maar dit verschil is niet significant. In de 2 populaties kunnen verschillende types bestuivers overheersen. In de populatie Loppem A kunnen bijvoorbeeld naar verhouding meer pinbestuivers actief zijn dan in populatie Donk

C. Uit het verslag van van Atten & Zandt komt naar voren dat het gemiddelde aantal intermorfe pollen voor pinstigma's hoger ligt dan voor thrumstigma's. Zij zoeken een verklaring in het verschil in morfologie tussen pin- en thrubloemen. In de populatie Loppem A zou echter ook een verklaring voor het hogere aantal intermorfe pollen op pinstigma's gezocht kunnen worden in het feit dat er in deze populatie meer thrums staan dan pins (11 thrums en 5 pins). Dan zou je in populatie Loppem A minder pollen op de thrumstigma's verwachten dan op de thrumstigma's van populatie Donk C; dit is inderdaad het geval (gem. Loppem A 13,8 en Donk C 51,7) maar dit verschil is niet significant. Bovendien ligt het gemiddelde voor het totaal aantal intermorfe pollen ook hoger in populatie Donk C dan in Loppem A (ook geen significant verschil).

Een verklaring voor het feit dat deze resultaten niet geheel overeenkomen met resultaten uit '92 kan zijn dat de datum (weersomstandigheden tot dan toe) waarop de stigmapreparaten zijn gemaakt niet gelijk is geweest. Dit kan tot een verschil in bestuiversactiviteiten leiden. Dit verschil blijkt bijvoorbeeld ook al uit het gemiddelde aantal intermorfe pollen dat in '92 en in '93 op de stigma's in de populaties wordt aangetroffen, in '92 lag dit lager dan in '93. Tevens is er een verschil in methode van analyse van aanwezige intermorfe pollen. In '92 zijn de stigma's verzameld, in '93 zijn er gelpreparaten gemaakt van de stigma's.

b. Resultaten

Zaadzetting in natuurlijke populaties

Tabel 15: Zaadzetting (aantal zaden per zaaddoos) van bloemen met natuurlijke bestuiving of met een extra handbestuiving in de verschillende populaties. n= aantal planten

populatie	bestuiving	pin			thrum			pin & thrum		
		gem.	±SE	(n)	gem.	±SE	(n)	gem.	±SE	(n)
1	natuurlijk	0.00	±0.00	(2)	0.67	± 0.38	(3)	2.17	±1.80	(6)
1	hand	-----			9.57		(1)	9.57		(1)
2	natuurlijk	23.00		(1)	-----			13.35	±3.93	(6)
2	hand	17.72	±5.47	(3)	28.00		(1)	16.93	±4.92	(5)
3	natuurlijk	8.58	±1.31	(5)	5.65	± 2.67	(5)	7.12	±1.49	(10)
3	hand	4.60	±2.36	(5)	16.92	± 8.02	(4)	10.07	±4.12	(9)
4	natuurlijk	11.03	±4.50	(6)	12.36	± 1.36	(2)	14.47	±4.59	(9)
4	hand	25.93	±4.83	(8)	33.77	± 2.99	(4)	28.55	±3.46	(12)
5	natuurlijk	20.54	±4.21	(2)	23.42	±10.10	(4)	16.48	±2.62	(46)
5	hand	24.33		(1)	19.70	± 9.86	(4)	20.63	±7.70	(5)

De zaadzetting in populatie 4 is voor bloemen met handbestuiving significant groter dan voor bloemen met natuurlijke bestuiving ($p < 0.05$ Mann-Whitney) wanneer pins en thrums samen worden genomen.

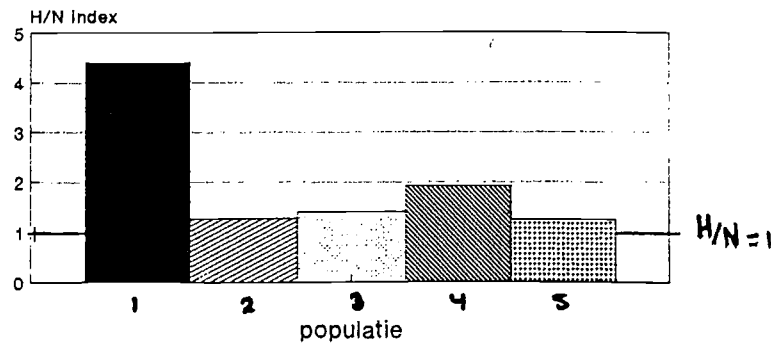
In deze tabel wijken de waardes voor pin en thrum soms af van het gemiddelde van de waardes voor pin en thrum doordat in de categorie pin & thrum ook zaaddozen zijn

opgenomen van planten waarvan het type niet bekend was.

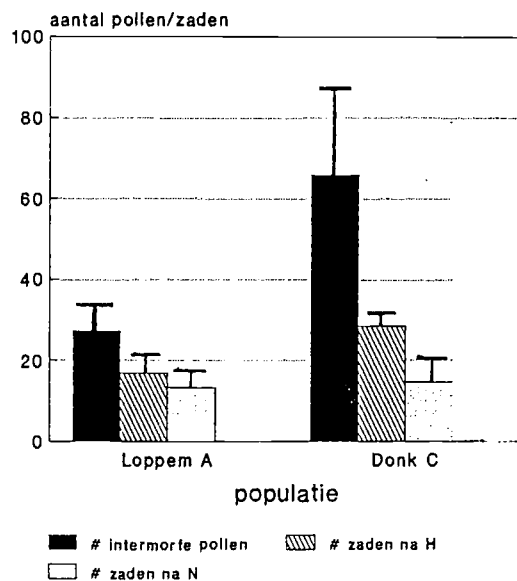
In populatie Oedelemberg produceerden bloemen met natuurlijke bestuiving veelal lege zaaddozen.

Figuur 14: De verhouding van zaadzetting na hand- of natuurlijke bestuiving. Populaties gerangschikt op populatienummer hetgeen tevens een rangschikking op grootte inhoudt. Index: het aantal zaden per zaaddoos voor handbestoven bloemen gedeeld door het aantal zaden per zaaddoos in natuurlijk bestoven bloemen. Deze index zal verder worden aangeduid als H/N index.

Indien de waarde van de index groter is dan 1 betekent dat, dat de zaadproductie in bloemen met een handbestuiving hoger ligt dan in bloemen met alleen natuurlijke bestuiving. De zaadproductie wordt dan dus gelimiteerd door een gebrek aan bestuivers.



Figuur 15: Aantal intermorfie pollen op de stigma's en het aantal zaden gevormd zonder en met handbestuiving in populaties Loppem A en Donk C. H= handbestuiving N= natuurlijke bestuiving



b. Discussie

Voor alle populaties is de H/N index groter dan 1. Bloemen met een handbestuiving zetten meer zaad dan bloemen met alleen natuurlijke bestuiving.

Het verschil tussen zaadzetting na natuurlijke bestuiving of handbestuiving is in vrijwel geen van de populaties significant. Dit komt doordat je steeds slechts een beperkt aantal bloemen gebruikt voor analyse omdat er gewoonweg niet meer bloemen aanwezig zijn en/of omdat je niet de gehele populatie wilt beïnvloeden.

Al deze populaties zijn gelimiteerd in hun zaadzetting door een gebrek aan bestuivers.

Het grootste verschil in zaadzetting tussen natuurlijke en handbestuiving treedt op in de kleinste populatie in Oedelemberg. Handbestuiving leidt tot meer dan 4 keer zoveel zaden per bloem. In de populatie van Oedelemberg produceerden de bloemen met natuurlijke bestuiving veelal lege zaaddozen. Voor de 4 andere populaties zijn de verschillen tussen natuurlijke zaadzetting en gemanipuleerde zaadzetting minder extreem maar toch nog 10 tot 200 % extra zaadzetting. Voor de populaties geldt dus dat de omstandigheden om bestuivers aan te trekken en tot uitwisseling te komen niet optimaal zijn. In de populaties Oedelemberg en Loppem A zou dit te verklaren kunnen zijn uit het geringe aantal planten dat aanwezig is. Voor de grotere populatie Donk C zou het zo kunnen zijn dat het aantal bloemen eigenlijk al te groot is voor een optimale verhouding tussen het aantal bezoekende insecten en het aantal bloemen. In deze populatie komen ook niet-bloeiende planten voor, deze planten spelen geen rol bij de aantrekking van bestuivers en zullen de uitwisseling van pollen dan ook niet bevorderen (onderscheid populatiegrootte en effectieve populatiegrootte; Richards 1986). In de populatie Donk C stond het merendeel van de bloemen die gebruikt zijn in deze proef in een slootrand die in de loop van het bloeiseizoen van de primula overwoekerd werd door bramen en brandnetels wat de bestuiving van de primula's zal bemoeilijken. In de populatie Loppem B leken de omstandigheden voor bestuiving op het eerste gezicht vrij gunstig. Een redelijke hoeveelheid planten bijelkaar (n=250) en in de omgeving van deze groep door de gehele kasteeltuin waren primula's aanwezig. Toch had deze populatie een zeer geringe natuurlijke zaadzetting van gemiddeld slechts 7,1 zaden per bloem wat lager is dan de zaadproductie in Loppem A. Opmerkelijk is dat de bloemen ook na handbestuiving weinig zaden produceerden (gem. 10,1), vooral de pins hebben een lage zaadzetting met 4,6 zaden per zaaddoos na handbestuiving. De hoeveelheid geanalyseerde pin- en thrumzaaddozen is nagenoeg gelijk.

De natuurlijke zaadproducties in de verschillende populaties varieert van 2,2 zaden per bloem in Oedelemberg tot 16,5 in Donk C. Deze variaties kunnen veroorzaakt worden door verschillen in natuurlijke omstandigheden; bestuiversactiviteit, aanwezigheid van nutriënten in de bodem, grootte van de populatie en dergelijke. Ook kunnen genetische eigenschappen van de planten in de populaties met betrekking tot zaadzetting enigzins verschillend zijn. Indien de invloed van bestuivers op de zaadzetting wordt uitgeschakeld door bloemen met de hand te bestuiven blijft er een verschil bestaan tussen de populaties in de hoeveelheid zaden per bloem, gemiddeld 9,6 zaden per bloem in Oedelemberg en 28,6 in Donk C. Andere factoren dan bestuiversactiviteit zoals genetische of abiotische factoren zijn dus ook van invloed op de zaadproductie.

In Loppem A en Donk C waren vroeger in het seizoen stigmareparaten gemaakt (zie hoofdstuk B 2a). Daaruit bleek dat het aantal intermorfe op de stigma's op dat moment groter was in populatie Donk C dan in Loppem A (respectievelijk 66,0 en 27,2). De uiteindelijke natuurlijke zaadzetting is in Donk C ook hoger dan in Loppem A alhoewel dan het verschil tussen de populaties veel minder groot is (respectievelijk 14,8 en 13,4 zaden per bloem) (figuur 15). Na langere periode blijkt de populatie in Loppem A ongeveer evenveel bestuivers

per bloem te kunnen aantrekken als populatie Donk C. De zaadzetting na handbestuiving ligt in Donk C echter wel veel hoger dan in Loppem A (resp. 28,6 en 16,9 zaden per bloem) de potenties in de bloemen tot hogere zaadzetting zijn groter in Donk C dan in Loppem A, daardoor zijn de bloemen in Donk C als het ware sterker gelimiteerd in hun zaadzetting door bestuivers dan de bloemen in Loppem A (H/N index voor Donk C 1,95 en voor Loppem A 1,27). De variaties tussen de bloemen zijn echter groot en in Loppem A is slechts een beperkt aantal bloemen geanalyseerd, de zaadzetting na handbestuiving is misschien in een ander jaar nagenoeg gelijk. De bloemen krijgen een handbestuiving op het moment dat de bloem open in bloei staat. Er wordt vanuit gegaan dat het stigma dan receptief is (zie hoofdstuk A4). De bloemen in de verschillende populaties zullen niet allemaal gelijk bloeien en dus niet allemaal op hetzelfde moment receptief zijn toch zijn alle handbestuivingen op hetzelfde moment uitgevoerd. Dit kan resulteren in verschillende hoeveelheden pollen die tot bevruchting leiden.

Indien zaadzetting per plant per populatie zou zijn bekeken i.p.v. zaadzetting per bloem zouden de verschillen tussen kleine en grote populaties misschien groter zijn. Ik heb echter in het veld niet van iedere plant genoteerd hoeveel bloemen per plant geproduceerd zijn. Dit is wel nodig om de gegevens voor zaadzetting per bloem (gemeten bij een aantal bloemen per plant) te kunnen extrapoleren naar zaadzetting per plant.

c. Resultaten

Uiteindelijk zijn wegens praktische problemen slechts op zeer weinig bloemen kruisingen uitgevoerd die specifiek waren bedoeld om kruisingen binnen een populatie te vergelijken met kruisingen tussen populaties. Er bleken in het veld niet voldoende bloemen in bloei te staan om zowel experiment b als c uit te voeren.

Tabel 16: Aantal zaden gevormd na bestuiving binnen en tussen populaties

* = gemiddelde waarde van het aantal zaden per bloem indien kruising is uitgevoerd tussen populaties of met plant uit dezelfde populatie op enige afstand (zie tabel 15).

populatie	binnen gem. (n)	tussen gem. (n)	* gem.
Loppem A	24.5 (5)	3.5 (2)	16.9
Donk C	15.4 (16)	19.9 (9)	28.6

In populaties Oedelemberg, Loppem B en Donk D zijn helemaal geen kruisingen voor proef c uitgevoerd of zijn de betreffende bloemen niet teruggevonden.

Slechts zeer weinig zaden zijn gekiemd. Van de zaden uit de populatie Loppem A zijn geen zaden gekiemd, van Loppem B is 0,9% van de zaden gekiemd, van Donk C 0,6% en van Donk D 2,7%.

c. Discussie

Aangezien er slechts zeer weinig kruisingen zijn uitgevoerd om zaadzetting van kruisingen binnen en tussen populaties te vergelijken is het moeilijk iets te zeggen over de vraag of er sprake is van inteelt in de populaties. De gegevens ten aanzien van de gemiddelde hoeveelheden zaden per bloem voor de populaties na handbestuiving kunnen waarschijnlijk wel min of meer worden geïnterpreteerd als zijnde zaadzetting na kruising tussen populaties. Deze handbestuivingen waren echter (uit praktische overwegingen) ook uitgevoerd met pollen uit de eigen populatie van planten die op enige afstand stonden van de handbestoven plant. Opmerkelijk is dat in de kleine populatie in Oedelemberg een pin voorkwam met misvormde bloemen. Deze bloemen maakten wel zaaddozen deze waren echter nagenoeg leeg. Misschien kwam deze afwijking voort uit een gebrek aan genetische uitwisseling.

De zaden zijn waarschijnlijk te vroeg in het veld verzameld (8 weken na bestuiving) en waren daardoor nog niet geheel tot ontwikkeling gekomen. Slechts zeer weinig zaden kiemden dan ook. Het blijft op deze manier erg moeilijk om zaden en ovula van elkaar te onderscheiden. Zelfs handbestoven bloemen, waarvan je dus zeker weet dat er bestuiving heeft plaatsgevonden komen nauwelijks tot kieming.

Samenvatting

Kleine, geïsoleerde populaties van zeldzame plantesoorten kunnen bedreigd worden door een gebrek aan genetische uitwisseling. In dit onderzoek is de nadruk gelegd op genetische uitwisseling die tot stand komt via bloembezoekende insecten. Aan de hand van de in Nederland zeldzame plantesoort *Primula vulgaris* is gekeken naar de factoren die van invloed zijn op de limitatie van genetische uitwisseling en reproductie.

Populaties in Nederland en België die verschillen in grootte zijn met elkaar vergeleken met betrekking tot pollenuitwisseling, zaadproductie en kiemkracht.

Het aantal intermorfe pollen dat op de stigma's van bloemen in een kleine Belgische populatie wordt aangetroffen is lager, hoewel niet significant, dan het aantal dat wordt aangetroffen op stigma's in een grote Belgische populatie. Het aantal intermorfe pollen op de pinstigma's is hoger dan op de thrumstigma's (verschil niet altijd significant). Verklaringen hiervoor kunnen zijn: verschil in bloemmorfolgie tussen pin en thrum, pin/thrum verhouding in de populatie en de aanwezige types bestuivers (pollen-/nectarverzamelaars).

Vijf, zowel kleine als grote, onderzochte Belgische populaties zijn allen gelimiteerd in hun zaadzetting door een gebrek aan bestuivers. Behalve natuurlijke omstandigheden hebben ook genetische eigenschappen (potentie voor zaadzetting) van de verschillende populaties invloed op de zaadzetting. Er zijn in dit onderzoek te weinig experimenten uitgevoerd om te achterhalen of er sprake is van inteelt in kleine populaties. Misschien is dit ook makkelijker te achterhalen door gebruik te maken van genetische screening methodes.

Twee Nederlandse populaties die verschillen in grootte verschillen niet in hun zaadproductie per zaaddoos. De kleine populatie is niet direct gelimiteerd (of in iedergeval niet meer dan de grote populatie) in zaadproductie door een gebrek aan bestuivers. De zaden uit de grote populatie hebben echter wel een hogere fitness (kiemkracht) dan de zaden uit de kleine populatie.

Zowel het aantal intermorfe pollen per stigma als de zaadproductie zijn geen voldoende maat voor de reproductieve capaciteit van een populatie aangezien er tussen pollen en zaden uit verschillende populaties een kwaliteitsverschil kan bestaan.

In de proeftuin (Biologisch Centrum te Haren) zijn de volgende factoren met mogelijke gevolgen voor genetische uitwisseling en reproductie onderzocht: patchgrootte, de afstand tussen patches, het plaatsen van een corridor tussen patches, en bloeiduur.

In een grote patch is het percentage bezochte pinbloemen het grootst, het aantal zaden per ontwikkelde zaaddoos in een grote patch verschilt echter niet significant van het aantal in kleinere patches. De zaadproductie per plant is echter wel groter in grote dan in kleine patches.

De geteste afstanden (5, 10 en 25m) tussen de patches wijzen niet op een afname van de pollenuitwisseling bij een toename van de afstand tussen de patches. Het plaatsen van corridor (soortegen/soortvreemd) tussen primula-patches in de proeftuin leidt tot het achterblijven van pollen in de corridor. Misschien heeft het plaatsen van een kortere corridor, of een corridor met minder bloemen een positiever effect op de pollenuitwisseling. Het plaatsen van corridors (soortegen/soortvreemd) tussen rapunzel-patches lijkt ook niet tot meer uitwisseling tussen de patches te leiden. Een soortegen corridor leverde in dit geval meer uitwisseling op dan een soortvreemde corridor.

Het is onduidelijk gebleven (doordat een te kleine steekproef is genomen) of *P. vulgaris* mogelijkheid heeft de bloeiduur aan te passen aan het feit of er al dan niet bestuiving heeft plaatsgevonden.

Literatuur

- Atten van C. & Zandt A., 1991, Pollenproblemen bij *Primula vulgaris*, verslag bij de vakgroep Plantenoecologie (RUG).
- Beattie A.J., 1972, Scientific note, The Pan-Pacific Entobiologist vol.47 no 1: 82.
- Calahan C.M & Gliddon C., 1985, Genetic neighbourhood sizes in *Primula vulgaris*, Heredity 54: 65-70.
- Christie F.L.S., 1921, Pollination of British Primulas, Journal of Linnean Society vol.46: 105-139.
- Crosby J.L., 1966, Reproductive capacity in the study of the evolutionary process, Report of the Conference 'Reproductive Biology and Taxonomy of vascular Plants', Birmingham University.
- Dafni A., 1992, Pollination Ecology-A practical approach, Oxford University Press.
- Dallman A.A., 1921, The pollination of the primrose, Journal of Botany 59: 316-322, 331-345.
- Darwin C., 1862, On the two forms, or dimorphic condition, in the species of *Primula* and their remarkable sexual relations, Proceeding of the Linnean Society (Botany).
- Ford E.B., 1964, Ecological Genetics, Methuen and Co Ltd, New York.
- Franklin I.R., 1980, Evolutionary change in small populations, Conservation Biology: 134-150.
- Handel S.N., 1983, Pollination Ecology, plant population structure, and gene flow, in Real L., Pollination Biology, Chapter 8: 163-211.
- Helliwell D.R., 1980, Germination and growth of *Primula vulgaris* Huds., Watsonia 13: 41-47.
- Hermijne M., 1984, Ecologie en fyto-sociologie van oude en jonge bossen in binnen-Vlaanderen, proefschrift, Rijks Universiteit van Gent.
- Jennertsen O., 1988, Pollination in *Dianthus deltoides* (Caryophyllaceae): Effects of habitat fragmentation on visitation and seed set, Conservation Biology, Volume 2, No.4: 359-366.
- Karron J.D., 1987, A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners, Evolutionary Ecology 1: 47-58.
- Keith-Lucas D.M., 1968, Shade tolerance in *Primula*, Ph.D. Thesis, University of Cambridge.
- Lande R., 1980, Genetic variation and phenotypic evolution during allopatric speciation, American naturalist 116: 463-479.
- Linhart Y.B. & Feinsinger P., 1980, Plant-hummingbird interaction effect of island size and degree of specialization on pollination, Journal of Ecology 68: 745-760.
- Meijden van der R., 1990, Heukels' Flora van Nederland, 21ste druk.
- Mellanby K., 1974, personal communication with Helliwell D.R. (1980), in Helliwell, 1980, Germination and growth of *Primula vulgaris* Huds., Watsonia 13: 41-47.
- Ministerie van Landbouw en Visserij, 1989, Natuurbeleidsplan H5: 65 verbindingszones, SDU, Den Haag.
- Ornduff R., 1979, Pollen flow in a population of *Primula vulgaris* Huds., Botanical Journal of the Linnean Society 78: 1-10.
- Ouborg N.J., 1993, On the relative contribution of genetic erosion to the chance of population extinction, Ph.D. Thesis, University of Groningen.

- Piper B. & Charlesworth D., 1986, Breeding system evolution in *Primula vulgaris* and the role of reproductive assurance, *Heredity* 56: 207-217.
- Pyke G.H., 1978, Movement patterns of bumblebees between inflorescences, *Theor. Population Biology* 13: 72-98.
- Richards A.J., 1986, *Plant Breeding Systems*, Allen and Unwin, London.
- Shaffer M.L., 1981, Minimum population sizes for species conservation, *Bioscience* 31: 131-134.
- Spears E.E.Jr., 1987, Island and mainland pollination ecology of *Centrosema virginianum* and *Opuntia stricta*, *Journal of Ecology* 75: 351-362.
- Sutherland S., 1986, Patterns of fruit-set: what controls fruit-flower ratios in plants?, *Evolution* 40: 117-128.
- Syrjänen K. & Lehtilä K., 1993, The costs of reproduction in *Primula veris*: differences in two adjacent populations, *Oikos* 67: 465-472.
- Tamm C.O. and Inghe O., 1988, Survival and flowering of perennial herbs.5.Patterns of flowering, *Oikos* 51: 203-219.
- Treuren van R., 1993, The significance of genetic erosion for the extinction of locally endangered plant populations, Ph.D.Thesis, University of Groningen.
- Waddington C.H., 1983, in Real L., *Pollination Biology*, Chapter 9: 213-219.
- Whale D.M., 1983, The response of *Primula* species to soil waterlogging and soil drought, *Oecologia (Berlin)* 58: 272-277.
- Weeda E.J., R. van der Meijden en P.A. Bakker, 1990, *Floron-Rode Lijst van de in Nederland verdwenen en bedreigde planten (Pteridophyta en Spermatophyta) over de periode 1.1.1980-1.1.1990*, *Gorteria* 16: 2-26.
- Woodell S.R.J., 1960, What pollinates *Primulas*?, *New Scientist* 8: 568-571.
- Wright S., 1943, Isolation by distance, *Genetics* 28: 114-38.