



Vlaanderen  
is wetenschap

# Translocatie-experiment bij groenknolorchis (*Liparis loeselii*)

Wouter Van Landuyt, Filiep Tjollyn, Rein Brys, An Vanden Broeck

INSTITUUT  
NATUUR- EN BOSONDERZOEK

**Auteurs:**

Wouter Van Landuyt, Filiep T'jollyn, Rein Brys, An Vanden Broeck  
*Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek*

Het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek (INBO) is het Vlaams onderzoeks- en kenniscentrum voor natuur en het duurzame beheer en gebruik ervan. Het INBO verricht onderzoek en levert kennis aan al wie het beleid voorbereidt, uitvoert of erin geïnteresseerd is.

**Vestiging:**

INBO Brussel  
Kliniekstraat 25, 1070 Brussel  
www.inbo.be

**e-mail:**

wouter.vanlanduyt@inbo.be

**Wijze van citeren:**

Van Landuyt W., T'jollyn F., Brys R., Vanden Broeck A. (2015). Translocatie-experiment bij groenknolorchis (*Liparis loeselii*). Rapporten van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek 2015 (INBO.R.2015.10142746). Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek, Brussel.

**D/2015/3241/266**

**INBO.R.2015.10142746**

**ISSN: 1782-9054**

**Verantwoordelijke uitgever:**

Maurice Hoffmann

**Druk:**

Managementondersteunende Diensten van de Vlaamse overheid

**Foto cover:**

zaden van groenknolorchis



## Dankwoord

Voor dit onderzoek werden zaden van groenknolorchis verzameld in het natuurreserveaat Dune Dewulf in Leffrinckouke (Frankrijk) en op de groeiplaats van De Haasop in Beveren (deelgemeente Kallo). We danken de bevoegde instanties voor het verlenen van de nodige vergunningen; Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement, Service Milieux et Ressources Naturelles van de regio Nord-Pas-de-Calais in Frankrijk en het Agentschap Natuur en Bos (ANB) van de Vlaamse Gemeenschap.

We willen ook mevr. Bertille Valentin van de Conservatoire Botanique National de Bailleuil bedanken voor de hulp het leggen van contacten met de lokale beheerders en het regelen van de aanvraag voor de vergunning bij de administratie in Frankrijk.

Pieter Vershelde en Dirk Maes boden ondersteuning bij de statistische analyses.

## Samenvatting

*Groenknolorchis* (*Liparis loeselii* (L.) Rich.) is een in Vlaanderen met uitsterven bedreigde soort die nog slechts op drie groeiplaatsen in Vlaanderen aanwezig is. Bovendien geniet de soort een strikte bescherming via de Habitatrichtlijn en heeft de overheid de plicht om de populaties van *groenknolorchis* in goede staat van instandhouding te brengen of te houden. Op vraag van ANB onderzochten we de mogelijkheden voor herinroducties. Dit rapport geeft de opzet en de resultaten weer van een kiemingsexperiment met translocatie van zaden van *groenknolorchis*.

De zaden die gebruikt werden voor het kiemingsexperiment werden verzameld op twee locaties, één in de Waaslandhaven (Haasop, Beveren) en één in de duinen van Noord-Frankrijk (Dune Dewulf, Leffrinckouke). In 2013 (?), werden per locatie zaaddozen verzameld waaruit de zaden werden geoogsten waarvan vervolgens een mengstaal werd gemaakt. De zaden werden verpakt in 320 half-gesloten zaadpakketjes (de helft met zaden uit de Haasop, de helft met zaden uit Dune Dewulf) gemaakt door de zaden in te sluiten in phytplanktongaas en in te klemmen in diaraampjes. De zaadpakketjes werden vervolgens geïntroduceerd op 4 locaties waarvan twee met een *groenknolorchis*populatie en twee zonder een *groenknolorchis*populatie. Per locatie werden 10 deellocaties geselecteerd waar telkens 8 diaraampjes met zaden werden begraven. Na respectievelijke één en twee jaar werden de diaraampjes opgegraven en werd gecontroleerd of kiemstadia (protocormen) aanwezig waren.

Op alle vier de locaties werd kieming vastgesteld, en dit zowel na één jaar als na twee jaar. Het tweede jaar (2015) was de kiemsucces echter significant lager, waarschijnlijk omwille van een uitzonderlijk droog voorjaar. Er waren geen significante verschillen tussen de 4 hoofdlocaties en evenmin tussen de zaden afkomstig van Noord-Frankrijk of van de Waaslandhaven. Wel zeer significant waren de verschillen tussen de deellocaties waarbij op een beperkt aantal deellocaties grote aantallen protocormen gevonden werden maar op vele andere slechts enkele of helemaal geen.

Kieming lijkt erg gebonden te zijn aan zeer lokale verschillen tussen de microsites en bovendien erg afhankelijk van de grondwaterstanden in het voorjaar en vroege zomer, waarbij droogte het kiemsucces beperkt of ervoor zorgt dat er helemaal geen kieming is.

## Aanbevelingen voor beheer en/of beleid

De kiemexperimenten tonen aan dat herintroductie door middel van inzaaien mogelijk is, althans voor het bekomen van een eerste levensstadium, nl. de kiemstadia (protocormen) van *groenknolorchis*. Indien translocatie overwogen wordt, is het aangewezen om in de potentieel geschikte gebieden meerdere deellocaties uit te kiezen aangezien kiemsucces erg sterk varieert op plaatsen die ogenschijnlijk vrij vergelijkbaar zijn. Oogsten van de zaden dient in de winter (vanaf november) te gebeuren want de vruchten rijpen pas heel laat, dit in tegenstelling tot de meeste andere inheemse orchideeën.

Overigens is ook spontane kolonisatie van de geschikte locaties mogelijk aangezien de zaden van *groenknolorchis* stoffijn zijn en makkelijk met de wind verspreid worden. Binnen welke tijdspanne een spontane kolonisatie kan verwacht worden, is echter niet in te schatten.

De keuze tussen afwachten op een mogelijke spontane kolonisatie en translocatie is een beleidskeuze die we hier niet maken. In ieder geval moeten er voldoende groeiplaatsen met de juiste milieuomstandigheden gecreëerd worden om de kans op een succesvolle spontane kolonisatie voldoende groot te maken.

## English abstract

*Fen orchid (Liparis loeselii (L.) Rich.)* is a species that is protected by the European Habitats Directive and threatened with extinction in Flanders. It is only present in three locations in Flanders. The Flemish Agency for Nature and Forest (ANB) asked the Institute for Nature- and Forest Research (INBO) to prospect the possibility to create new populations by translocation. This study presents the results of a translocation and germination experiment with seeds of *Liparis loeselii*.

The seeds used in this translocation and germination experiment were collected on two sites with *Liparis* populations, one in the Antwerp portal area in Flanders (Haasop, Beveren) and one in a dune site in the North of France (Dune Dewulf, Leffrinckouke). At each location several ripe fruits were collected from which the seeds were harvested. For each location a mixed sample of the seeds was made. The seeds were packed in 320 (50% with seeds of the Flemish location and 50% with seeds of the location in France) in packets made of nylon plankton netting which were folded and mounted into glassless slide mounts. The seeds packets were then introduced in four locations of which two had *Liparis loeselii* populations and two had not. For each location we selected 10 microsites and on each microsite we buried 8 seed packets. After one and after two years the seed packets were exhumed and germination success was measured (as the number of protocorm stadia in each seed packet).

On all four locations protocorm stadia of *Liparis loeselii* were found. This was so one year after burial of the seeds as well as after two years. After two years the germination success was significantly lower, most likely because of the very dry spring and early summer that year. There were no significant differences between the four major introduction locations, neither was there any difference between the origin of the seeds (France or Flanders). However, differences between microsites were very significant with on some microsites a big number (up to more than 200) of protocorms were found while on other microsites only a few or no protocorms were found.

Germination seems very related to very local differences between microsites and also related to groundwater levels in spring and early summer. Low groundwater levels and drought seem to be very harmful for the development of protocorms.

## Inhoudstafel

Dankwoord .....	4
Samenvatting .....	5
Aanbevelingen voor beheer en/of beleid .....	6
English abstract.....	7
Lijst van figuren .....	9
Lijst van tabellen.....	9
<b>1 Inleiding .....</b>	<b>10</b>
<b>2 Materiaal en methode .....</b>	<b>13</b>
2.1 Inzameling en oorsprong zaden .....	13
2.2 Preparatie stalen voor introductie .....	13
2.3 Introductielocaties .....	13
2.4 Bepaling kiemsucces .....	17
2.5 Statistische verwerking .....	17
<b>3 Resultaten.....</b>	<b>18</b>
3.1 Tellingen.....	18
3.2 Resultaten statistische analyse .....	20
<b>4 Conclusies .....</b>	<b>22</b>
Referenties .....	23



## Lijst van figuren

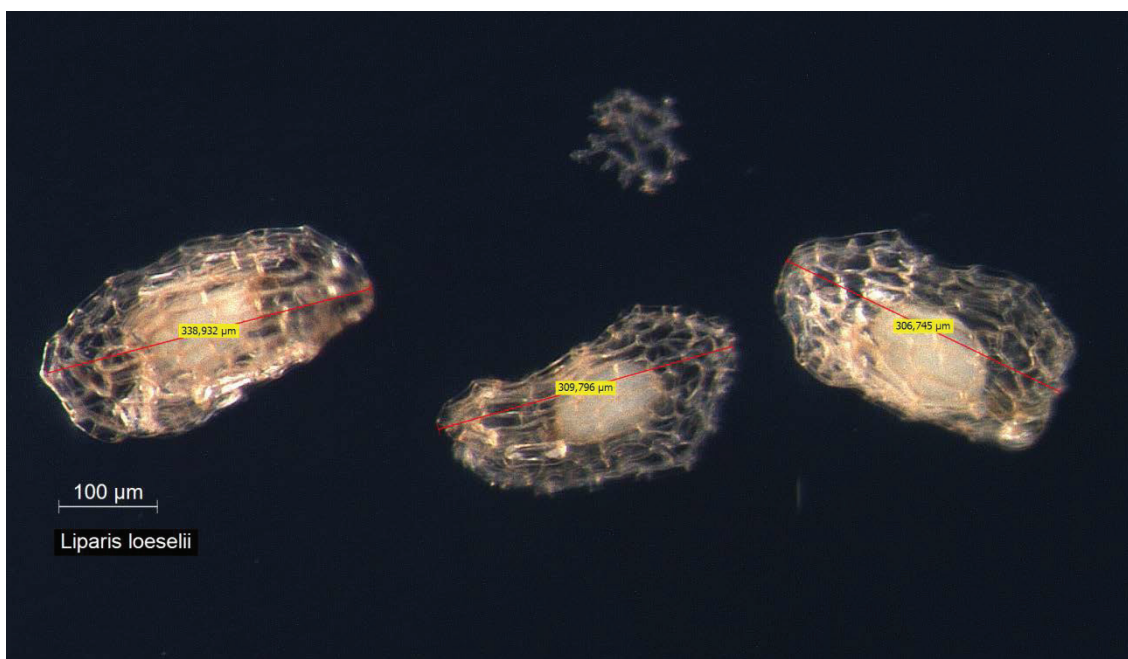
Figuur 1: <i>Groenknolorchis</i> zaden gefotografeerd met een binoculair. Binnen de netvormige zaadhuid is duidelijk de witte zaadkern te zien. ....	10
Figuur 2: Een voorbeeld van succesvolle kieming van <i>groenknolorchis</i> zaden, met duidelijke aanwezigheid van verschillende protocormen in één van de stalen zeven maanden na introductie in het terrein. ....	11
Figuur 3: Bloeistengels met rijpe maar nog gesloten zaaddozen van <i>groenknolorchis</i> (Haasop, 31 oktober 2013). ....	11
Figuur 4: Preparatiemethode voor de stalen met orchideeëenzaad vooraleer ze in het veld geïntroduceerd werden. De zaden worden op phytoplanktongaas gestrooid, het gaas wordt dubbel gevouwen en gemonteerd in open diaraampjes (Rasmussen & Whigham, 1993). ....	13
Figuur 5: Plaatsing van de diaraampjes met <i>groenknolorchis</i> -zaden in de bodem. ....	14
Figuur 6: Locaties waar diaraampjes met <i>groenknolorchis</i> zaden geïntroduceerd werden. Locaties waar de soort aanwezig is zijn aangeduid met een blauwe symbool (Dune Dewulf en Haasop), en locaties waar de soort afwezig is maar potentieel geschikt lijken zijn aangeduid met een rood symbool (Westhoekreservaat en Koeweg). ....	15
Figuur 7: Detailkaart van de verschillende introductielocaties in De Haasop (Beveren, Deelgemeente Kallo). ....	15
Figuur 8: Detailkaart van de verschillende introductielocaties aan de Koeweg (Beveren, Deelgemeente Kallo). ....	16
Figuur 9: Detailkaart van de verschillende introductielocaties in het natuurreservaat De Westhoek (De Panne). ....	16
Figuur 10: Detailkaart van de verschillende introductielocaties in het natuurreservaat Dune Dewulf (Leffrinckouke, departement Nord – Pas de Calais, Frankrijk). Locatie Dune Dwulf1 werd al van het eerste jaar niet teruggevonden en is niet weergegeven op de kaart. ....	17
Figuur 11: Boxplot van het aantal protocormen per staal per hoofdlocatie voor de stalen opgegraven zeven maanden na de introductie in het terrein (juli 2014) en negentien maanden na de introductie in het terrein (juli 2015). Dune Dewulf en Haasop zijn locaties met actuele <i>Liparis</i> populaties, Koeweg en Westhoek zijn locaties zonder actuele <i>Liparis</i> populaties. ....	20
Figuur 12: Aantal protocormen per staal per deellocatie en per jaar. 2014 = juli 2014 is zeven maand na de introductie van de stalen, 2015 = juli 2015 is negentien maand na de introductie van de stalen. ....	21

## Lijst van tabellen

Tabel 1: Aantal protocormen van <i>groenknolorchis</i> per staal voor alle deellocaties. Niet teruggevonden stalen worden weergegeven met “-“ .....	19
---	----

# 1 Inleiding

*Groenknolorchis* (*Liparis loeselii* (L.) Rich.) is een kleine onopvallende orchideeënsoort van natte, zonnige tot licht beschaduwde vegetaties op plaatsen die onder invloed staan van basenrijk grondwater. Natuurlijke groeiplaatsen omvatten primaire en secundaire duinvalleien, en alkalische laagvenen en trilvenen. De groeiplaatsen zijn gekenmerkt door een permanent hoge grondwatertafel alhoewel vooral bij duinvallei ecosystemen de grondwatertafel in het najaar wel mag wegzakken (Van Landuyt et al., 2014). Dergelijke milieus zijn erg zeldzaam in Vlaanderen (Vriens et al., 2011) waardoor de kans op het ontstaan van nieuwe populaties eerder beperkt is. Daarentegen beschikt de soort over erg lichte en kleine zaden (Figuur 1) die door de wind verspreid worden wat lange afstands kolonisatie zeker niet uitsluit. Na kieming vormt groenknolorchis kleine bladgroenloze stadia (protocormen, zie Figuur 2) die dankzij een symbiose met schimmels (mycorrhiza's, Illyés et al., 2005; Rasmussen, 2002) aan hun koolstofbevoorrading komen. In tegenstelling met de meeste andere inheemse orchideeën, waar meerdere jaren verstrijken vooraleer de bovengrondse delen verschijnen na de kieming, zou *groenknolorchis* echter ook al in het eerste jaar bovengrondse blaadjes vormen (Weeda et al., 1994). Pas vanaf dat moment wordt ook de knol gevormd (een bladgroenhoudende, verdikte bladvoet) die de voedselreserve is om de winterperiode te overbruggen. In het daaropvolgende groeiseizoen vormt zich vanaf eind mei één of meerdere nieuwe scheuten naast de knol van het vorig jaar. In Vlaanderen bloeien de volwassen planten vanaf half juni tot half juli. Bevruchting van de bloemen zou nagenoeg uitsluitend gebeuren door zelfbestuiving (Catling, 1980; Claessens & Kleynen, 2011). De zaaddozen rijpen in tegenstelling tot de meeste andere orchideeën zeer langzaam en openen zich pas in de winter of het volgende vroege voorjaar (Figuur 3).



Figuur 1: *Groenknolorchis* zaden gefotografeerd met een binoculair. Binnen de netvormige zaadhuid is duidelijk de witte zaadkern te zien.



Figuur 2: Een voorbeeld van succesvolle kieming van *groenknolorchis* zaden, met duidelijke aanwezigheid van verschillende protocormen in één van de stalen zeven maanden na introductie in het terrein.



Figuur 3: Bloeistengels met rijpe maar nog gesloten zaaddozen van *groenknolorchis* (Haasop, 31 oktober 2013).

*Groenknolorchis* is één van de drie soorten vaatplanten die opgenomen zijn in de bijlage II en IV van de Europese habitatrichtlijn en die in Vlaanderen voorkomen. De soort is in Vlaanderen eveneens opgenomen in de Rode Lijst van de vaatplanten (Van Landuyt et al., 2006) in de categorie 'met uitsterven bedreigd' en komt nog slechts op drie locaties voor: nl. het gebied 'de Haasop' in de Waaslandhaven (Beveren, deelgemeente Kallo), het gebied 'Sluismeer' te Mol en het nabijgelegen natuurreservaat 'het Buitengoor', eveneens te Mol.

De totale populatie in Vlaanderen bedraagt maximaal ongeveer 3300 -3400 individuen, maar deze aantallen zijn zeer ongelijk verdeeld over over deze drie locaties. De populatie in de Haasop is veruit de grootste en in 2013 werden daar 3000 individuen geteld, maar de aantallen schommelen sterk van jaar tot jaar (Van Landuyt et al., 2014). Op de locatie in Sluismeer die sinds 1975 gekend is zijn nooit meer dan 10 individuen gevonden. Op de recent ontdekte groeiplaats in het natuurreservaat het Buitengoor (in 2014) werden in juli 2015 323 individuen geteld.

Gezien de kwetsbaarheid van de grootste populatie van Vlaanderen in de Waaslandhaven, en zijn impact op de trend van de totale populatie in Vlaanderen, werd door het Agentschap Natuur en Bos aan het INBO gevraagd de potenties van *groenknolorchis* in Vlaanderen na te gaan. Hierbij werd specifiek gevraagd onderzoek uit te voeren naar eventuele mogelijkheden voor translocaties van deze soort. De aspecten van lokale adaptatie en zaadverbreding (Vanden Broeck et al., 2014) en de ecologie, populatiedynamica en potenties (Van Landuyt et al., 2014) voor *groenknolorchis* kwamen reeds aan bod in eerdere INBO-rapporten. In dit rapport worden de resultaten behandeld van introductieexperimenten op verschillende locaties. Hiervoor werd gebruik gemaakt van kiemingsexperimenten op twee locaties met aanwezigheid van *groenknolorchis* en twee locaties die potentieel geschikt lijken maar waar *groenknolorchis* momenteel niet aanwezig is.



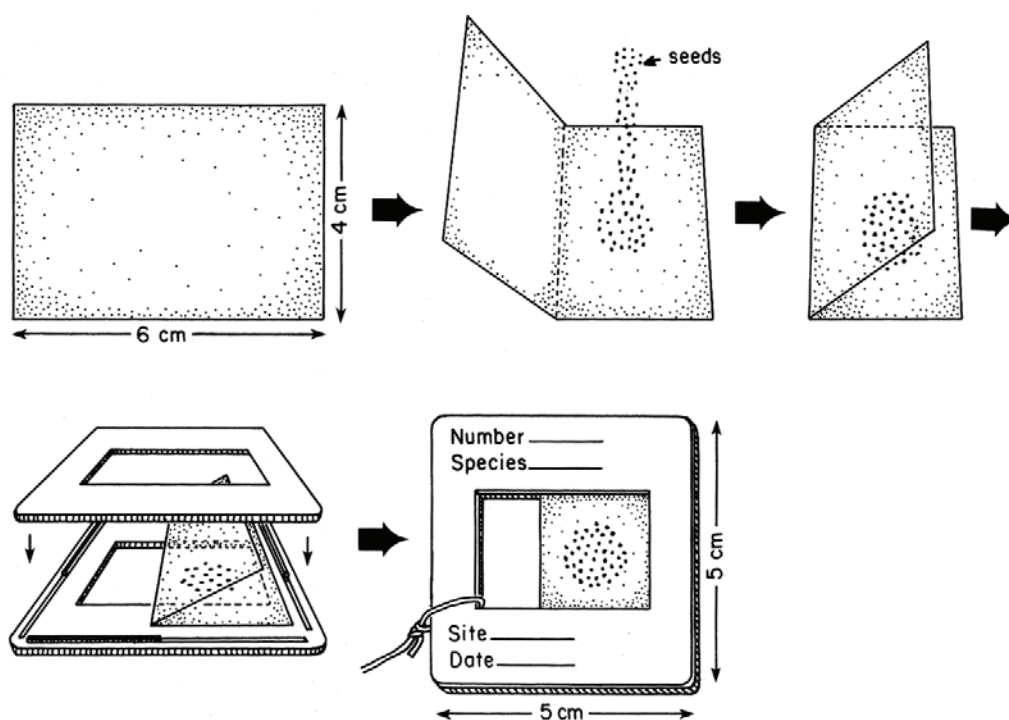
## 2 Materiaal en methode

### 2.1 Inzameling en oorsprong zaden

Eind oktober 2013 en begin november 2013 werden zaaddozen geoogst van 20 planten van 2 verschillende locaties (Figuur 6), nl. de locatie in de Haasop (België, Beveren, deelgemeente Kallo) en een locatie in Noord-Frankrijk (departement Nord-Pas de Calais, Leffrinkoucke, Dune Dewulf). Per locatie werden 10 zaaddozen ingezameld, één per plant. De zaaddozen werden eerst op kamertemperatuur gedroogd, om nadien een mengstaal te bekomen per locatie.

### 2.2 Preparatie stalen voor introductie

Zaden van groenknolorchis zijn erg klein (lengte 240-340  $\mu\text{m}$ , Figuur 1) en per vrucht worden een duizendtal zaden geproduceerd. Vooraleer de zaden te introduceren, werden ze daarom dan ook in zaadpakketjes verpakt, bestaande uit phytoplanktongas met een maaswijdte van 35 micrometer dat ingeklemd werd in een diaraampje (Rasmussen & Whigham, 1993). Per zaadpakket (verder staal genoemd) werden op deze manier een honderdtal zaden ingesloten (ongeveer 700-900). Er werd gepoogd om bij elk staal ongeveer een gelijke hoeveelheid zaden te gebruiken. Voor elk van de vier introductielocaties werden 80 dergelijke stalen voorbereid, waarvan telkens 40 met zaden afkomstig van de populatie in de Haasop en 40 met zaden van de populatie van Dune Dewulf.



Figuur 4: Preparatiemethode voor de stalen met orchideeëenzaad vooraleer ze in het veld geïntroduceerd werden. De zaden worden op phytoplanktongas gestrooid, het gas wordt dubbel gevouwen en gemonteerd in open diaraampjes (Rasmussen & Whigham, 1993).

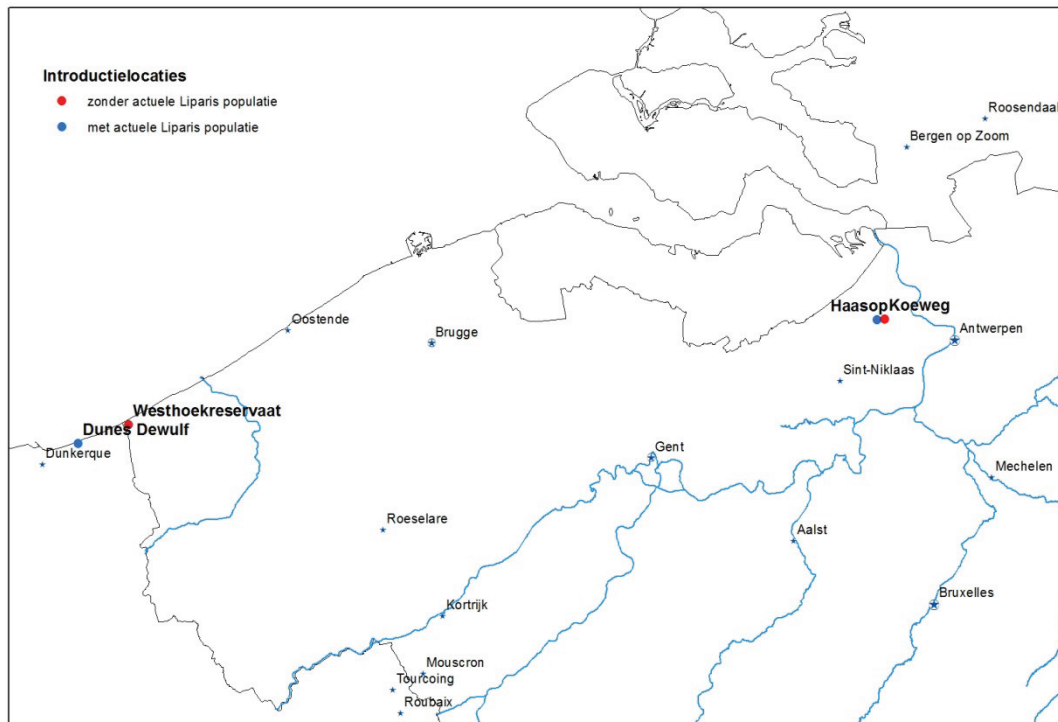
### 2.3 Introductielocaties

Bij aanvang van het experiment werden er vier introductielocaties geselecteerd. Twee ervan waren bestaande populaties waar het zaad geoogst werd (nl. de Haasop te Kallo en Dune Dewulf te Leffrinkoucke) en twee ervan waren locaties waar momenteel geen *Groenknolorchis* groeit maar die wat betreft de abiotische condities potentieel geschikt lijkt te zijn (nl. het Westhoekreservaat in De Panne en een terrein aan de Koeweg in Kallo). In

elke van deze terreinen werden op 10 verschillende plaatsen telkens 8 diaraampjes met *Groenknolorchis* zaden begraven, 4 ervan met zaden afkomstig uit de Haasop en 4 met zaden uit Dune Dewulf. De positie van de deellocaties werd ingemeten met een RTK-gps (Real Time Kinematic-gps) die zowel de geografische locatie als de hoogte in het terrein tot op de centimeter precies kan inmeten. Omwille van technische problemen bij het verbinden met het Vlaamse referentienetwerk Flepos, was het inmeten volgens deze methodiek echter niet mogelijk in de populatie van Dune Dewulf te Frankrijk. Hier werden alle deellocaties ingemeten met een handgps en gemarkeerd met een metalen pin zodat ze later met een metaaldetector konden worden teruggevonden. De stalen werden in het veld geïntroduceerd op 6 december 2013 (locaties Dune Dewulf en Westhoekreservaat) en op 17 december 2013 (locaties Haasop en Koeweg).



Figuur 5: Plaatsing van de diaraampjes met *groenknolorchis*-zaden in de bodem.



Figuur 6: Locaties waar diaraampjes met *groenknolorchis* zaden geïntroduceerd werden. Locaties waar de soort aanwezig is zijn aangeduid met een blauwe symbol (Dune Dewulf en Haasop), en locaties waar de soort afwezig is maar potentieel geschikt lijken zijn aangeduid met een rood symbol (Westhoekreservaat en Koeweg).

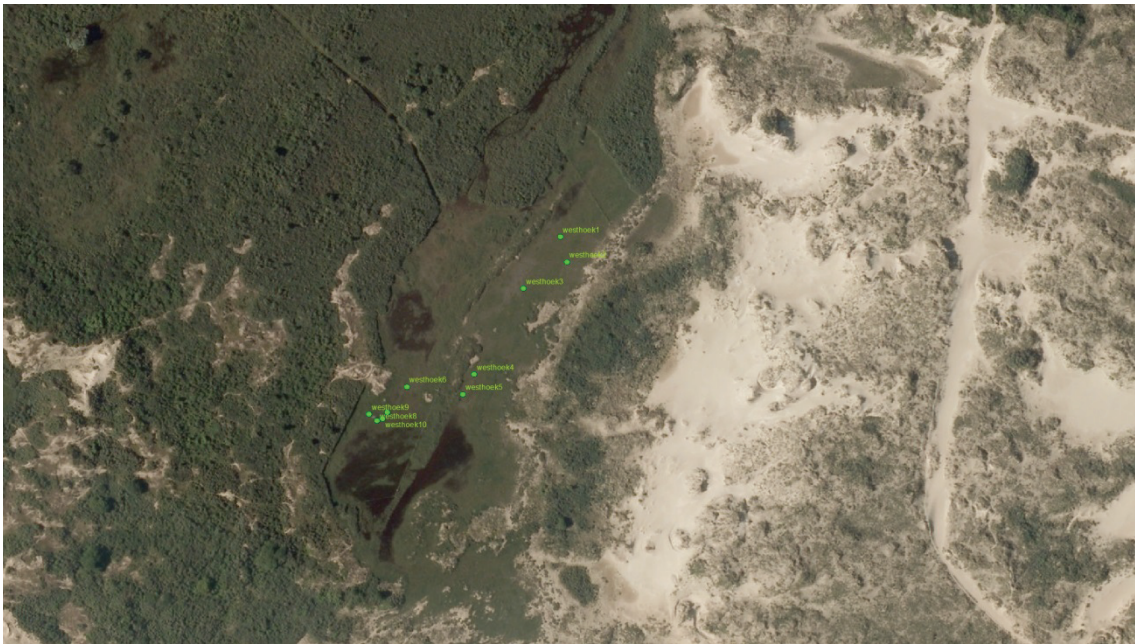


Figuur 7: Detailkaart van de verschillende introductielocaties in De Haasop (Beveren, Deelgemeente Kallo).





Figuur 8: Detailkaart van de verschillende introductielocaties aan de Koeweg (Beveren, Deelgemeente Kallo).



Figuur 9: Detailkaart van de verschillende introductielocaties in het natuureservaat De Westhoek (De Panne).





Figuur 10: Detailkaart van de verschillende introductielocaties in het natuurreservaat Dune Dewulf (Leffrinckouke, departement Nord – Pas de Calais, Frankrijk). Locatie Dune Dwulf1 werd al van het eerste jaar niet teruggevonden en is niet weergegeven op de kaart.

## 2.4 Bepaling kiemsucces

Na 7 maanden (juli 2014) werden per deellocatie 2 van de 8 geïntroduceerde zaadstalen opgegraven, telkens één met zaden afkomstig van de populatie van De Haasop en één met zaden afkomstig van de populatie van Dune Dewulf. Een jaar later (juli 2015), werden alle overige stalen opgegraven. Om uitdrogen van de kiemende zaden (protocormen) tijdens het transport te voorkomen werden ze in afsluitbare plastic zakjes bewaard waarin vochtige tissue werd aangebracht. De volgende dag werd van elk van deze stalen het aantal kiemstadia geteld (protocormen, zie inleiding).

## 2.5 Statistische verwerking

Met behulp van een “generalized mixed model” in R (R Core Team, 2014) werd gekeken of het aantal protocormen per staal (“*aantal*”) afhankelijk was van het jaar waarin de stalen opgegraven werd (“*jaar*”), de oorsprong van de zaden (“*OorsprongZaden*”), de locatie van introductie (“*Hoofdlocatie*”), de interacties van van de oorsprong van de zaden met de plaats van introductie (“*OorsprongZaden:Hoofdlocatie*”) en de interactie van het jaar waarin de stalen opgegraven werden met de locatie van introductie (“*jaar:Hoofdlocatie*”). Aangezien per hoofdlocatie meerdere deellocaties bemonsterd werden en deze deellocatie afhankelijk zijn van de hoofdlocatie, werd een random factor in het model gestoken waarbij de deellocatie genest is in hoofdlocatie en waarbij jaar als random slope toegevoegd is (d.w.z. dat verwacht worden dat de effecten in de deellocaties afhankelijk zijn van de effecten in de hoofdlocatie en dat deze effecten jaar en locatie afhankelijk zijn).

$$\text{ModelKieming} <- \text{glmmadmb}(\text{aantal} \sim \text{jaar} + \text{hoofdlocatie} + \text{OorsprongZaden} + (\text{jaar}:\text{Hoofdlocatie}) + (\text{OorsprongZaden}:\text{Hoofdlocatie}), \text{random} = \sim \text{jaar} | \text{Hoofdlocatie}/\text{Deellocatie}, \text{family} = \text{"nbinom"}, \text{data} = \text{Kiemsucces})$$

Daarna werd per locatie van introductie (“*Hoofdlocatie*”) afzonderlijk gekeken of het aantal protocormen per staal (“*aantal*”) afhankelijk was van de locatie binnen het terrein (“*Deellocatie*”), de oorsprong van de zaden (“*OorsprongZaden*”), het jaar waarin de stalen opgegraven werd (“*jaar*”) en de interactie tussen de locatie binnen het terrein en het jaar van opgraven (“*Deellocatie:jaar*”). Hiervoor werd een “generalized linear model” gebruikt.

$$\text{ModelKiemingHaasop} <- \text{glm.nb}(\text{aantal} \sim \text{jaar} * \text{Deellocatie} + \text{OorsprongZaden}, \text{link} = \text{"log"}, \text{data} = \text{KiemsuccesHaasop})$$

Dit werd herhaald voor elke hoofdlocatie.

## **3 Resultaten**

### **3.1 Tellingen**

De tellingen van het kiemsucces (uitgedrukt als het aantal protocormen per staal) worden weergegeven in Tabel 1. Niet alle stalen konden worden teruggevonden. De reden hiervoor was verschillend. Op de introductielocatie in Frankrijk (Dune Dewulf) konden we geen gebruik maken van de RTK-gps en moesten de stalen terug gevonden worden met een metaaldetector. In 2014 werden de stalen van één deellocatie hier niet terug gevonden, in 2015 was dit het geval voor 4 deellocaties. Op de andere locaties werden ook een beperkt aantal stalen niet teruggevonden (zie Tabel 1).

Een eerste opmerkelijke bevinding is dat er op alle vier de introductielocaties (verder hoofdlocaties genoemd) kieming werd vastgesteld, en dit zowel in de stalen die na een half jaar (juli 2014) werden opgegraven als deze die na anderhalf jaar werden opgegraven (juli 2015).

Tabel 1: Aantal protocormen van *groenknolorchis* per staal voor alle deellocaties. Niet teruggevonden stalen worden weergegeven met "-".

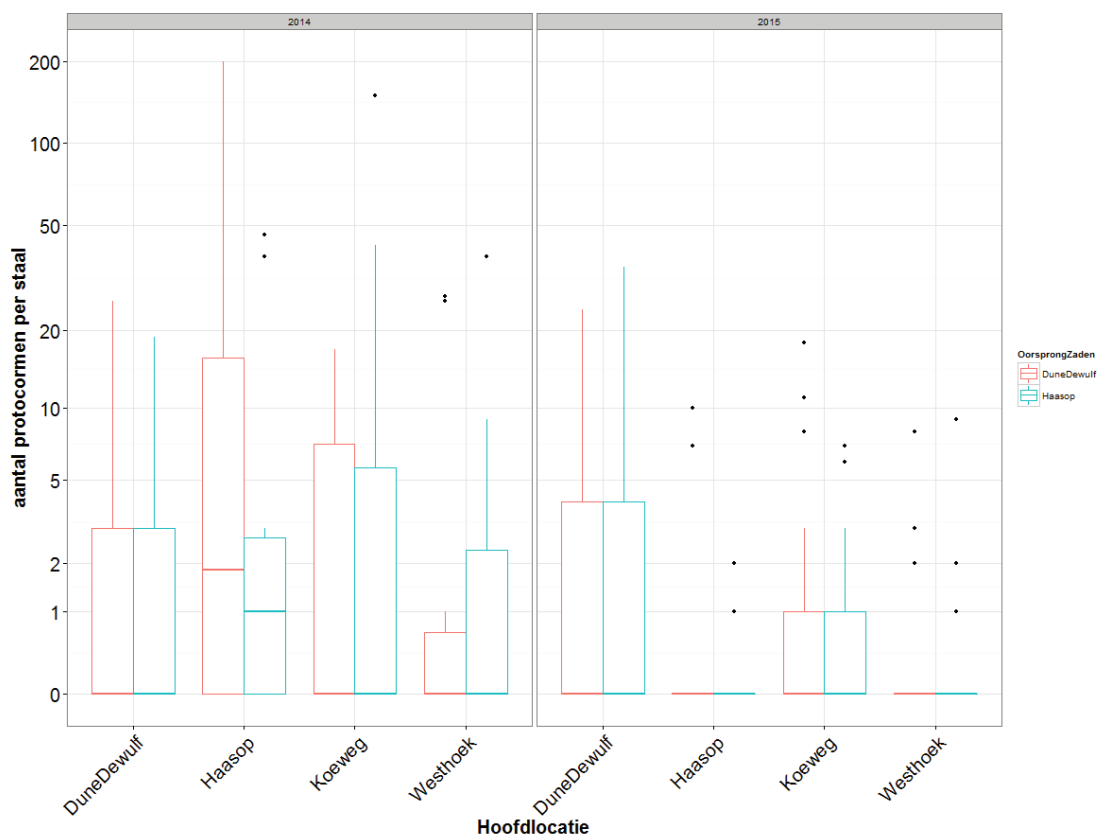
Site	2014	2015			2014	2015				
	Oorsprong zaden Haasop	Oorsprong zaden Haasop			Oorsprong zaden Dune Dewulf	Oorsprong zaden Dune Dewulf				
Koeweg	H1	H2	H3	H4	D1	D2	D3	D4	Total 2014	Total 2015
1	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0
2	0	2	0	0	0	1	0	0	0	3
3	150	6	6	1	17	18	11	8	167	50
4	42	7	2	0	17	1	1	0	59	11
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	9	1	0	0	12	1	0	0	21	2
8	0	3	1	0	0	2	0	0	0	6
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	-	0	8	3	0	0	11
Haasop	H1	H2	H3	H4	D1	D2	D3	D4	Total 2014	Total 2015
1	1	0	0	0	3	0	0	0	4	0
2	2	0	0	0	3	0	0	-	5	0
3	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0
4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
5	46	2	1	0	200	10	7	0	246	20
6	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
7	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	1	0	0	0	2	0	0	0	3	0
10	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Westhoekreservaat	H1	H2	H3	H4	D1	D2	D3	D4	Total 2014	Total 2015
1	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	9	0	0	0	0	3	0	0	9	3
5	4	9	2	0	0	8	2	0	4	21
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0
8	38	1	0	0	27	0	0	0	65	1
9	0	0	0	0	26	-	-	-	26	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dune Dewulf	H1	H2	H3	H4	D1	D2	D3	D4	Total 2014	Total 2015
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3	-	-	-	0	-	-	-	3	-
3	1	-	-	-	3	-	-	-	4	-
4	0	-	-	-	0	-	-	-	0	-
5	0	17	4	2	0	24	9	6	0	62
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	8	0	0	0	9	0	0	0	17	0
8	19	35	8	0	26	10	4	3	45	60
9	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0
10	0	13	4	0	1	0	0	0	1	17

### 3.2 Resultaten statistische analyse

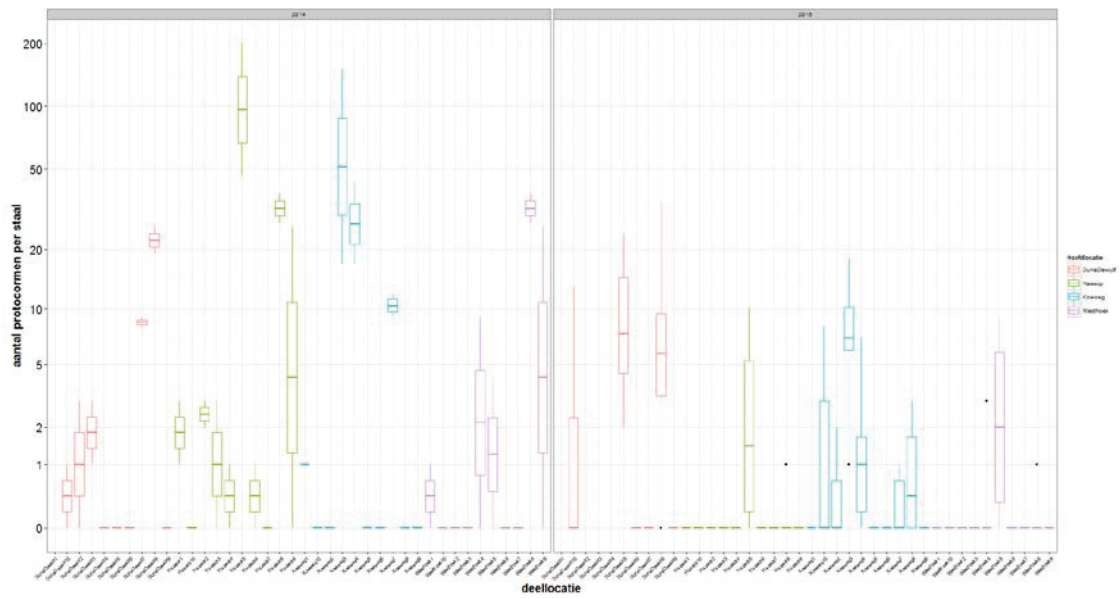
Er werd geen significant effect van de oorsprong van de zaden gevonden. De zaden afkomstig van Dune Dewulf kiemen niet beter of niet slechter dan die afkomstig van de Haasop (Figuur 11).

Er zijn wel significante verschillen tussen het jaar 2014 en 2015 (Figuur 11), maar dit is enkel het geval op de introductielocatie Haasop waar de kieming in 2015 significant lager ( $p < 0,001$ ) was. In het Westhoekreservaat was de kieming in 2015 niet significant lager ( $p = 0,0367$ ). Op overige introductieplaatsen zijn nauwelijks verschillen gedetecteerd (Koeweg, Dune Dewulf).

Voor alle hoofdlocaties zijn er bepaalde deellocaties die een significant hogere kiemsucces hebben (Figuur 12). Voor de aparte deellocaties konden geen significante verschillen tussen de jaren waarin de stalen opgegraven werden aangetoond worden. Voor de hoofdlocatie Haasop werd een significant verschil in kieming tussen de oorsprong van de zaden vastgesteld waarbij merkwaardig genoeg de zaden afkomstig van de Haasop zelf een lager kiemsucces hadden ( $p < 0,05$ ). Mogelijk is dit echter te wijten aan één staal met een uitzonderlijk hoog aantal protocormen.



Figuur 11: Boxplot van het aantal protocormen per staal per hoofdlocatie voor de stalen opgegraven zeven maanden na de introductie in het terrein (juli 2014) en negentien maanden na de introductie in het terrein (juli 2015). Dune Dewulf en Haasop zijn locaties met actuele Liparis populaties, Koeweg en Westhoek zijn locaties zonder actuele Liparis populaties.



Figuur 12: Aantal protocormen per staal per deellocatie en per jaar. 2014 = juli 2014 is zeven maand na de introductie van de stalen, 2015 = juli 2015 is negentien maand na de introductie van de stalen.

## 4 Conclusies

Uit dit beperkte translocatie-experiment blijkt dat zaden van *groenknolorchis* die overgebracht worden naar locaties waar de soort niet aanwezig is maar die op basis van physico-chemische karakteristieken van het grondwater, een geschikt grondwaterregime en typische indicatorsoorten voor vegetaties met *groenknolorchis* geschikt lijken, wel degelijk kunnen kiemen. Het lage kiemsucces op een aantal hoofdlocaties in 2015 is zeer waarschijnlijk te wijten aan het erg droge voorjaar in dat jaar. Uit de langdurige monitoring van de *groenknolorchis* populatie in de Haasop blijkt dat bij vergelijkbare droge jaren waarbij de grondwatertafel sterk daalt de populatiegrootte erg sterk kan terugvallen en dat er weinig kiemplanten aanwezig zijn (Van Landuyt et al., 2014).

Er zijn ook erg grote verschillen in kiemsucces op lokale schaal binnen de sites waar de zaden werden geïntroduceerd. Dit kan samenhangen met de aanwezigheid van mycorrhiza fungi die de kieming faciliteren. De vroege ontwikkelingsstadia van veel orchideeën (protocormen genaamd) hebben immers geen chlorofyl en zijn afhankelijk van deze mycorrhiza fungi voor hun koolstofvoorziening in deze vroege ontwikkelingsstadia en vaak ook nog in volwassen stadia (Rasmussen, 2002). Dit kan de lokale verschillen in kiemsucces verklaren alhoewel dit zeker niet steeds het geval is (Jacquemyn et al., 2015). In deze studie hebben we daar geen indicatie van gezien er in het kader van dit project geen DNA-analyses zijn gebeurd op de aanwezigheid van dergelijke fungi in de bodem of in de protocormen.

Hoewel kieming en aanwezigheid van protocormen op de locaties kon worden aangetoond garandeert dit niet noodzakelijk overleving op lange termijn. Hiervoor moeten de groeiplaatsomstandigheden op lange termijn geschikt zijn voor de overleving van latere stadia van de planten (jonge en volwassen planten).

## Referenties

- Catling P.M. (1980). Rain-Assisted Autogamy in *Liparis-Loeselii* (L.) L.C. Rich. (Orchidaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 107(4):525-529.
- Claessens J., Kleynen J. (2011). *Liparis* Rich. 1817. In: Claessens J., Kleynen J. (editors). *The flower of European orchids Form and function*. Voerendaal / Stein: Schrijen-Lipertz. p 121-127.
- Illyés Z., Rudnóy S., Bratek Z. (2005). Aspects of in situ, in vitro germination and mycorrhizal partners of *Liparis loeselii*. *Acta Biologica Szegediensis* 49(1-2):137-139.
- Jacquemyn H., Waud M., Merckx V.S.F.T., Lievens B., Brys R. (2015). Mycorrhizal diversity, seed germination and long-term changes in population size across nine populations of the terrestrial orchid *Neottia ovata*. *Molecular Ecology* 24(13):3269-3280.
- R Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing. URL <http://www.R-project.org/>. Vienna, Austria.: R Foundation for Statistical Computing.
- Rasmussen H.N. (2002). Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant and Soil* 244(1-2):149-163.
- Rasmussen H.N., Whigham D.F. (1993). Seed ecology of dust seeds in-situ. A new study technique and its application in terrestrial orchids. *American Journal of Botany*:1374-1378.
- Van Landuyt W., Gyselincx R., T'Jollyn F., Vanden Broeck A. (2014). Groenknolorchis (*Liparis loeselii*) in Vlaanderen: ecologie, populatiedynamica en potenties. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. 54 p.
- Van Landuyt W., Vanhecke L., Hoste I. (2006). Rode Lijst van de vaatplanten van Vlaanderen en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest. In: Van Landuyt W., Hoste I., Vanhecke L., Van den Bremt P., Verduyck E., De Beer D. (editors). *Atlas van de Flora van Vlaanderen en het Brussels Gewest*. Brussel: Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek & Nationale Plantentuin van België. p 69-81.
- Vanden Broeck A., Van Landuyt W., Cox K., Gyselings R., De Bruyn L., Mergaey J. (2014). De groenknolorchis (*Liparis loeselii* L.). Zaadverbreiding en lokale adaptatie. Brussel: Instituut voor natuur- en bosonderzoek. 34 p.
- Vriens L., Bosch H., De Knijf G., De Saeger S., Guelinckx R., Oosterlynck P., Van Hove M., Paelinckx D. (2011). De Biologische Waarderingskaart. Biotopen en hun verspreiding in Vlaanderen en het Brussels Hoofdstedelijk Gewest. Brussel: Mededelingen van het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek. INBO.M.2011.1. 416 p.
- Weeda E.J., Westra R., Westra C., Westra T. (1994). *Nederlandse oecologische flora: wilde planten en hun relaties* 5. Amsterdam: IVN.