

# Actuele verspreiding en risico's van mannelijk fertiele *Fallopia japonica* (Polygonaceae) planten

H. Duistermaat<sup>1</sup>, D.M. Soes<sup>2</sup>, J. van Valkenburg<sup>3</sup>, B.J. van Heuven<sup>1</sup>, B. Zonneveld<sup>1</sup> & P.J.A. Kessler<sup>4</sup>

**Opdrachtgever:** Team Invasieve Exoten, NVWA, Wageningen

**Datum rapportage:** maart 2012



<sup>1</sup>NCB Naturalis, sectie NHN, Postbus 9514, 2300 RA Leiden;  
[duistermaat@nhn.leidenuniv.nl](mailto:duistermaat@nhn.leidenuniv.nl)

<sup>2</sup>Bureau Waardenburg, Postbus 365, 4100 AJ Culemborg;  
[d.m.soes@buwa.nl](mailto:d.m.soes@buwa.nl)

<sup>3</sup>NVWA, Nationaal Referentie Centrum, Postbus 9102, 6700 HC  
Wageningen; [j.l.c.h.van.valkenburg@minInv.nl](mailto:j.l.c.h.van.valkenburg@minInv.nl)

<sup>4</sup>Hortus botanicus Leiden, P.O. Box 9516, 2300 RA Leiden

**Titel:** Actuele verspreiding en risico's van mannelijk fertiele *Fallopia japonica* (Polygonaceae) planten

**Auteurs:** H. Duistermaat, D.M. Soes, J. van Valkenburg, B.J. van Heuven, B. Zonneveld

## 1 Inleiding

De uitheemse Japanse duizendknoop (*Fallopia japonica*) is in Nederland een probleem omdat ze inheemse vegetaties kan wegdrücken en zeer moeilijk is te bestrijden. Tot op heden waren van deze *Fallopia*-soort alleen vrouwelijke planten gevonden en plantte ze zich in Nederland alleen vegetatief voort. Hiermee is de snelheid van verspreiding nog enigszins geremd.

In 2008 zijn echter op twee plaatsen in Nederland mannelijk fertiele *Fallopia*-planten gevonden waarvan door experts wordt verondersteld dat het om een variant gaat van de Japanse duizendknoop. Met deze mannelijke variant zou bij succesvolle bestuiving en vruchtzetting het risico van generatieve voortplanting groter kunnen worden en daarmee de snelheid van verspreiding van Japanse duizendknoop kunnen toenemen. Bovendien kan hiermee de genetische variëteit van deze soort verder toenemen, waardoor de soort bijvoorbeeld een breder habitatspectrum kan verwerven.

## 2 Vraagstelling

Is het pollen van de "mannelijk fertiele" *F. japonica* in staat bloemen van var. *japonica* te bestuiven zodanig dat dit tot goede vruchtzetting leidt? Kunnen de gevormde zaden vervolgens tot ontkieming komen? Als dat het geval is zou de Japanse duizendknoop zich ook generatief en daardoor sterker en sneller kunnen gaan uitbreiden.

Waar in Nederland wordt de "mannelijk fertiele" *F. japonica* aangetroffen? Is de verspreiding nog erg lokaal, of komt de soort verspreid over het land voor?

## 3 Identificatie en voorkomen

### 3.1 Soortidentificatie


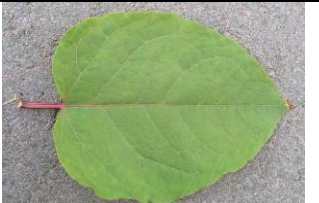

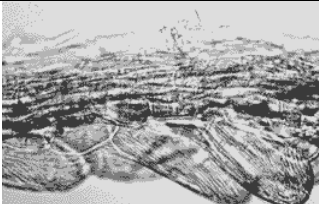
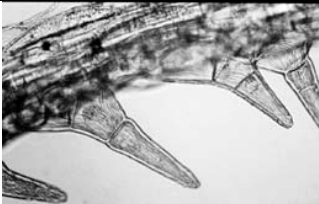

In Nederland komen, naast de twee inheemse windende *Fallopia*-soorten (*F. convolvulus* (Zwaluw tong) en *F. dumetorum* (Heggenduizendknoop)), drie niet-inheemse soorten uit het geslacht *Fallopia* voor (Polygonaceae, Duizendknoopfamilie; Van der Meijden, 2005). De uit Midden Azië afkomstige windende *F. baldschuanica* (Chinese bruidssluier) is inburgerend en de rechtopstaande *F. japonica* (Japanse duizendknoop) en *F. sachalinensis* (Sachalinse duizendknoop), beide afkomstig uit Oost Azië, zijn reeds ingeburgerd. De hybride tussen de laatste twee, *F. x bohémica*, is ook in Nederland in toenemende mate gevonden (Adolphi, 1999). De hybride tussen *F. baldschuanica* en *F. japonica* (*F. x conollyana*) is zeldzamer en wel uit Groot Brittannië bekend (Bailey, 2001) maar bij ons tot dusverre nog niet aangetoond.

Voor de determinatie van de twee rechtopstaande soorten en hun hybride is de afmeting en de vorm van het blad van belang. Daarnaast is de beharing op de onderzijde van de middennerf van het blad erg belangrijk, met name om de hybride te kunnen herkennen in het veld (Bailey *et al.* 1996, Bailey & Wisskirchen 2006; Tabel 1). Verder spelen chromosoomaantallen een grote rol bij de correcte identificatie omdat de groep een polyploid-complex is, waarbij ook verschillende ploïdie-niveaus (4x, 6x, 8x) binnen één taxon kunnen voorkomen. Voor uitgebreide informatie hierover verwijzen we naar Appendix 1. Bovendien kunnen planten tweeslachtig of functioneel vrouwelijk zijn. Pollen kan alleen geleverd worden door tweeslachtige planten.

Van *F. sachalinensis* komen verschillende genetische lijnen voor, zowel tweeslachtige planten als functioneel vrouwelijke die geen fertiel pollen produceren. De soort is in Europa minder algemeen dan *F. japonica* en lijkt zich minder agressief te gedragen.

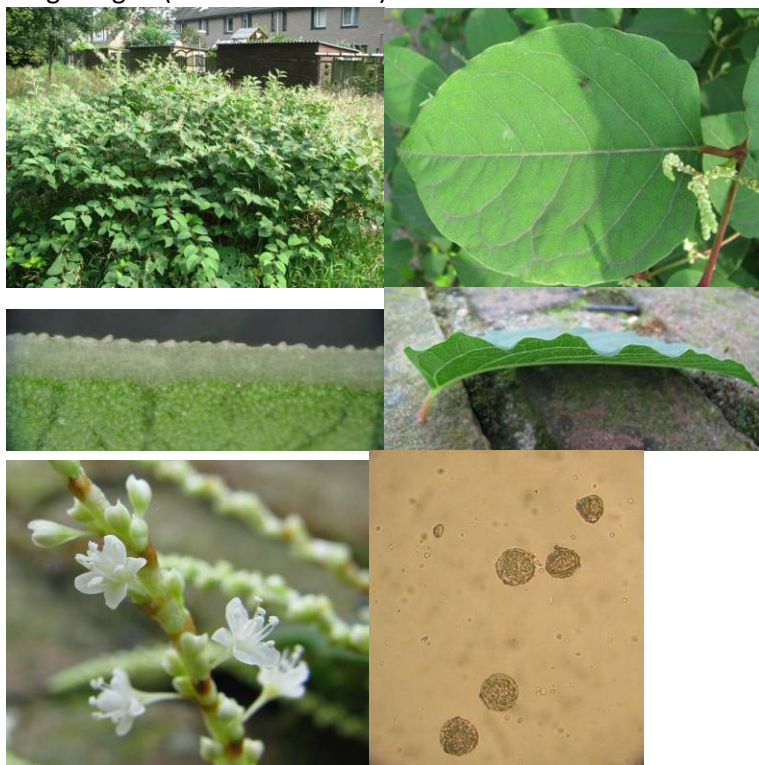
*F. x bohémica* is genetisch zeer divers, komt wijd verspreid in Europa voor en is recent ook in Japan aangetroffen (Bailey & Wisskirchen 2006). Deze hybride produceert fertiel pollen en kan terugkruisingen vormen met *F. japonica* (Bailey *et al.* 2009). De vruchten op *F. japonica* die uit de USA gemeld werden (Forman & Kesseli 2003) zijn zeer waarschijnlijk het gevolg van bestuiving door *F. x bohémica*.

**Tabel 1.** Overzicht belangrijkste vegetatieve kenmerken.

	<b>Japanse duizendknoop</b>	<b>Boheemse duizendknoop</b>	<b>Sachalinse duizendknoop</b>
hoogte (m)	1,5-2,5	2-5	3-6
stengel	veelvuldig vertakt	weinig tot veelvuldig vertakt	niet tot enkele vertakkingen
grootte blad (cm)	10-18	15-30	25-50
bladvoet	recht	recht tot zwak hartvormig	duidelijk hartvormig
Foto's D.M. Soes			
haren blad	schubvormig	korte, stijve, driehoekige haren	lange, buigzame haren
Foto's J. Bailey			

De in de zomer van 2008 in Wageningen en Vaassen gevonden planten (Fig. 1) moesten op grond van de beharing tot *Fallopia japonica* gerekend worden, maar weken van het bekende beeld af in grootte en bladvorm en omdat ze goed ontwikkelde meeldraden met fertiel ogende pollen droegen. Aan John Bailey (University of Leicester, UK; schriftelijke mededeling) zijn vervolgens rhizomen opgestuurd, die zijn gebruikt om planten op te kweken. Zowel op basis van de morfologie van de planten als de door hem uitgevoerde chromosoomtellingen is gebleken dat het hier gaat om de hybride tussen twee variëteiten van *F. japonica*. Deze hybride tussen twee variëteiten was nog niet uit Nederland bekend.

**Figuur 1.** De mannelijk fertiele Japanse duizendknoop die in 2008 werd aangetroffen in Wageningen (Foto's: D.M. Soes).



### 3.2 Variëteiten *F. japonica*

Van *F. japonica* worden in Europa twee variëteiten onderscheiden, die in het gebied van herkomst echter een continue variatie laten zien. *Fallopija japonica* var. *japonica* is in de 19<sup>e</sup> eeuw door Von Siebold (1796-1866; leefde zes jaar in Japan en kwam in 1830 naar Leiden) in de Hortus Botanicus Leiden (Nederland) geïntroduceerd, sindsdien op grote schaal aangeplant en geëxporteerd naar andere landen. Planten zijn vervolgens uit tuinen ontsnapt, verwilderd en woekereend gedrag gaan vertonen. De planten behoren waarschijnlijk tot één kloon (Hollingsworth & Bailey 2000) en zijn functioneel vrouwelijk: als zij al pollen produceren is dit steriel. Voortplanting is dan ook geheel vegetatief.

De andere variëteit, *F. japonica* var. *compacta*, is een dwergvorm uit de bergen van oostelijk Azië en heeft rode bloemen en kleinere, leerachtige bladeren met een gegolfde bladrand. Deze variëteit is bij ons in cultuur als tuinplant. Deze planten zijn ofwel functioneel vrouwelijk of functioneel mannelijk.

**Figuur 2.** De *F. japonica* cf. var. *compacta* die in 2011 is aangetroffen in Wageningen. Het chromosoomaantal van deze plant moet nog worden bepaald t.b.v. een definitieve determinatie (Foto's D.M. Soes).



De in Nederland aangetroffen hybride (*F. japonica* var. *japonica* x var. *compacta*) tussen deze twee variëteiten heeft witte, functioneel mannelijke bloemen (Fig. 1). Voor de overige kenmerken, zoals planthoogte en bladvorm, is ze intermediair. In de praktijk is gebleken dat vooral wanneer deze hybride sterk uitgroeit ze alleen op basis van de mannelijke bloemen betrouwbaar te onderscheiden is van de variëteit *F. japonica* var. *japonica*.

Het onderscheid op basis van chromosoomaantallen is duidelijk. De variëteit *F. japonica* var. *japonica* heeft in Europa een chromosoomaantal van  $2n = 88$ , *F. japonica* var. *compacta* een aantal van  $2n = 44$  en de hybride het intermediaire aantal van  $2n = 66$ . Dit kenmerk is in de praktijk echter beperkt inzetbaar, aangezien dit alleen door gespecialiseerde laboratoria kan worden bepaald.

### 3.3 Voorkomen

Ten behoeve van de afbakening van het verspreidingsgebied van mannelijk fertiele *Fallopia japonica* planten in Nederland is het netwerk van de vrijwillige waarnemers van FLORON ingeschakeld. Op de Variadag (13 dec 2008) van FLORON/KNBV is een korte presentatie gegeven met een oproep aan de floristen om uit te kijken naar mannelijk fertiele planten van *Fallopia japonica*, de vindplaatsen door te geven en zo mogelijk ook alvast materiaal op te sturen. Deze oproep is ook op papier verspreid (Soes et al. 2009). In april 2010 is een herhaalde oproep gedaan (Soes et al. 2010).

De diverse oproepen hebben vrijwel geen respons opgeleverd (1 melding). De bekende verspreiding (Tab. 2 en Fig. 3) van *Fallopia japonica* var. *japonica* x var. *compacta* in Nederland schetst dan ook vrijwel zeker een (zeer) onvolledig beeld. Er zijn alleen mannelijk fertiele planten bekend van Pleistocene gebieden in Utrecht (Rhenen, Amersfoort) en Gelderland (Wageningen, Renkum, Arnhem, Apeldoorn, Vaassen, Doetinchem).

**Tabel 2.** Vindplaatsen mannelijk fertiele Japanse duizendknopen.

Vinder	datum	locatie	x	y	habitat	Omvang groeiplek (m x m)
D.M. Soes	27-7-2008	Wageningen, Haagsteeg	173.09	443.125	berm	circa 2 x 2
D.M. Soes	8-8-2008	Wageningen, Tarthorst	173.712	443.307	rand tuin	circa 10 x 3
D.M. Soes	8-10-2008	Vaassen	196.266	477.535	beekoever	circa 15 x 2
D.M. Soes	7-8-2009	Doetinchem	217.089	440.989	ruderaal terrein	circa 15 x 10
D.M. Soes	7-8-2009	Renkum	178.704	442.764	berm	circa 1,5 x 1,5
J.L.C.H. van Valkenburg	23-8-2009	Rhenen, Ouwehands Dierenpark	168.840	441.087	groen in dierentuin	circa 10 x 2
R. van Grunsven	16-9-2009	Amersfoort	153.011	463.229	geluidswal langs spoor	onbekend
D.M. Soes	30-5-2010	Wageningen, Julianastraat	173.842	442.588	verwaarloosde tuin	circa 4 x 10
D.M. Soes	19-9-2011	Arnhem, Knooppunt	191.966	447.561	berm	onbekend



		Waterberg				
D.M. Soes	19-9-2011	Apeldoorn, De Bouwhof	193.476	466.520	gemeentelijk groen	circa 2 x 2
D.M. Soes	19-9-2011	Vaassen	193.803	477.857	berm	circa 2 x 3
D.M. Soes	19-9-2011	Vaassen	193.765	477.788	parkrand	circa 4 x 4
D.M. Soes	19-9-2011	Vaassen	193.517	477.709	rand tuin	circa 3 x 2
D.M. Soes	19-9-2011	Vaassen	195.481	478.282	beekoever	circa 2 x 2

**Figuur 3:** Bekende verspreiding mannelijk fertiele Japanse duizendknopen.



Ze is tot op heden alleen aangetroffen in habitats die onder sterk antropogene invloeden staan, waaronder bermen, tuinen en een ruderaal terrein. Dit type vindplaatsen komt sterk overeen met die van *F. japonica* var. *japonica* en *F. japonica* var. *compacta*. Deze groeiplaatsen waren over het algemeen beperkt van omvang. Alleen in Doetinchem was een relatief grote groeiplaats aanwezig op een ruderaal terrein (Fig. 4).

**Figuur 4.** In Doetinchem was in 2009 een grote groeiplek aanwezig van mannelijk fertiele Japanse duizendknopen. Hier direct aangrenzend was een grote groeiplek van Sachalinse duizendknoop. De bloemen van de uitbundig bloeiende mannelijk fertiele Japanse duizendknoop werden vooral druk bezocht door diverse vliegensoorten (Foto's D.M. Soes).



## 4 kruisingsexperimenten

### 4.1 Inleiding

Om antwoord te kunnen geven op de vraag of het pollen van de "mannelijk fertiele" *F. japonica* in staat is bloemen van var. *japonica* te bestuiven zodanig dat dit tot goede vruchtzetting leidt is een kruisingsexperiment ingezet. We hebben getest of het pollen fertiel is, de vruchtzetting gescored en het gevormde zaad op uiterlijke kenmerken beoordeeld. Tenslotte hebben we getest of de gevormde zaden vervolgens tot ontkieming kunnen komen.

### 4.2 Uitvoering onderzoek

De kruisingproef tussen moederplant *F. japonica* var. *japonica* en de pollendonor *F. japonica* var. *japonica* x var. *compacta* is in 2009 in de oude Clusius tuin van de Hortus Botanicus in Leiden uitgezet (met medewerking van Theo Houthoff en Richard Schoenmaker). De proef is in tweevoud uitgevoerd. We hadden de beschikking over levend materiaal van mannelijk fertiele planten (♂ planten) van drie verschillende locaties, en van mannelijk steriele planten (♀ planten) van twee verschillende locaties (Tab. 3). De ♂ planten waren in 2008 uitgestoken en opgepot. De ♀ planten zijn in het voorjaar van 2009 uitgestoken en opgepot. Bij elke ♂ plant zijn steeds twee ♀ planten geplaatst, een van elke locatie (Fig. 5). Vervolgens is met gaas een kooiconstructie om elk vak gemaakt om insecten (potentiële bestuivers) buiten te houden en zo zeker te weten welke plant de pollendonor in het experiment is geweest (Fig. 6).

**Figuur 5.** Proefopstelling kruisingsexperiment in de Hortus Botanicus Leiden, vak A—F; collecties ♀1, ♀2, ♂1, ♂2 en ♂3 zie Tabel 3.

A	B	C	D	E	F
♀1 ♀2	♀1 ♀2	♀1 ♀2	♀1 ♀2	♀1 ♀2	♀1 ♀2
♂1	♂2	♂3	♂1	♂2	♂3
					7

**Tabel 3.** Collecties van diverse *Fallopia* taxa in Nederland, met bepaling pollen fertiliteit en flowcytometrische waarde en daaruit geconcludeerde niveau van ploïdie. (Planten met de aanduiding ♀ of ♂ zijn planten die gebruikt zijn in het kruisingsexperiment).

collector	WETENSNAAM	pollen non-aborted	C-value (average pg/kern)	ploidie(?)	JAAR1	MNDW1	OPMPL	VPLNAAM	VPL
R. Beringen 1	<i>Fallopia sachalinensis</i>		8.8	8x	2009	9		Middachten	in brede bomenrij
D.M. Soes	<i>Fallopia sachalinensis</i>		8.7	8x	2010	10	geen materiaal	Wageningen, Rijnsteeg	
D.M. Soes	<i>Fallopia sachalinensis</i>		8.7	8x	2010	10	geen materiaal	Wageningen, Duivendaal	
D.M. Soes	<i>Fallopia sachalinensis</i>		8.6	8x	2010	10	geen materiaal	Wageningen, Lawickse Allee	
R. Beringen	<i>Fallopia sachalinense</i>				2009	9		De Snippert	
R. Beringen 5	<i>Fallopia x bohemica</i>		7.3	6x	2009	10	met (weing) vruchtjes	Oosterbeek	langs spoor
R. Beringen 6	<i>Fallopia x bohemica</i>		7.6	6x	2009	8		Oosterbeek	langs paardenpad
R. Beringen 9	<i>Fallopia x bohemica</i>		7.4	6x	2009	10	met (weinig) vruchtjes	Wolfheze	langs spoor
R. Beringen	<i>Fallopia x bohemica</i>				2009	9		Leiden, tussen Bloedbank en spoor tot Plesmanlaan	
R. Beringen A	<i>Fallopia x bohemica</i>	46%			2009	8		tussen Bennekom en Oosterbeek	
R. Beringen B	<i>Fallopia x bohemica</i>	61%			2009	8		tussen Bennekom en Oosterbeek	
R. Beringen	<i>Fallopia x bohemica</i>				2009	9		Oosterbeek3	langs spoorlijn
H. Duistermaat 484	<i>Fallopia x bohemica</i>		7.4	6x			zonder vruchtzetting	Leiden, fietsviaduct over Oegstgeesterweg	langs t spoor
R. Beringen 10	<i>Fallopia x bohemica??</i>		7.3	6x	2009	10	F. sachalinense of F. x bohemica	Wageningen-hoog, Dassenboslaan	beboste berm villawijk
R. Beringen 2	<i>Fallopia japonica</i>	50%; 56%	7.2	6x	2009	9	meeldraden	Ellecom	bij spoorwegovergang
R. Beringen 3	<i>Fallopia japonica</i>		7.2	6x	2009	10	meeldraden	Posbank	nabij voormalig (afgebrand) restaurant
R. Beringen 4	<i>Fallopia japonica</i>		9.2	8x	2009	10		Oosterbeek	langs spoor
B. van Heuven	<i>Fallopia japonica</i> ♀ <sub>1</sub>	0% (+0% aborted)	9.3	8x				Leiden, Rijnzichtstraat	langs t spoor
H. Duistermaat	<i>Fallopia japonica</i>	0%	9.4; 9.2	8x			wel meeldraden, geen	Leiden, Sterrenwachtdaan	langs de singel



486 (B. van Heuven)	♀2	(+0% aborted)						pollen; wel vruchtzetting		
R. Beringen 7	Fallopia japonica	0% (+0% aborted)	9.4	8x	2009	8	geen pollen	Oosterbeek	ten zuiden van spoorlijn	
R. Beringen 8	Fallopia japonica		7.4	6x	2009	10	meeldraden	Grijsoord	berm bij viaduct over A12	
G. de Vries	Fallopia jap. var. compacta	0	9.5	8x	2009	10	blad 7-8cm breed	Burgh	rand Zeepeduinen, niet direct aan tuin gerelateerd	
D.M. Soes	Fallopia jap. var. compacta				2011	9	blad 7-8cm breed	Wageningen, Bovenste Polder		
D.M. Soes (B. van Heuven)	Fallopia jap. x compacta ♂1	21%; 29%; 45%	7.6	6x	2009			Wageningen, Tarthorst 20098032		
D.M. Soes (B. van Heuven)	Fallopia jap. x compacta ♂2	48%; 51%; 63%	7.6	6x	2009			Wageningen, Haagsteeg 20088114		
D.M. Soes (B. van Heuven)	Fallopia jap. x compacta ♂3	31%; 55%	7.8	6x	2009			Vaassen 20098031		
J. van Valkenburg 3435	Fallopia jap. (x compacta)				2008	10		Wageningen, Leeuweriksweide	N51 58.47, E5 39.12; ruderal site garden waste	
D.M. Soes	Fallopia jap. x compacta				2011	9		Apeldoorn	berm	
D.M. Soes	Fallopia jap. x compacta				2011	9		Arnhem, knooppunt Waterberg	berm	
R. Glas	Fallopia jap. x compacta	43%			2010	7		Vaassen	langs de oude spoorlijn	
B. van Heuven	Fallopia aubertii	75%			2009	8		Leiden, Rijndijk		
H. Duistermaat 489	Fallopia baldschuanica				2009	10		Noordwijk aan Zee		
H. Duistermaat 490	Fallopia dumetorum				2009	10		Leiden, Einsteinweg 2	klimmend in Miscanthus in voortuin Van Steenisgebouw	

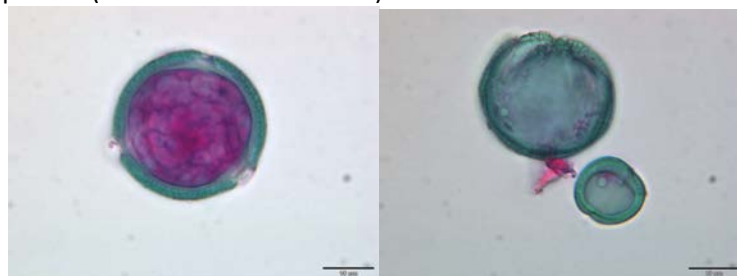
**Figuur 6.** Proefopstelling kruisingsexperiment in de Hortus Botanicus: kooiconstructie met koolvliegengaas (Foto: H. Duistermaat).



De planten kwamen in de zomer van 2009 geheel niet in bloei. Gedacht werd toen dat dit met de dikte van gaas (zogenaamde 'shade netting') te maken had. Planten in Nederland en Duitsland die in de schaduw staan (bijv. in het bos) komen niet tot bloei (pers. obs. H. Duistermaat). In 2010 is koolvliegengaas gebruikt, helaas weer met onvoldoende bloei. Licht leek nog steeds de beperkende factor. De planten stonden tegen een Noord-muur en vingen gedurende de dag wel zon, maar met het gaas over de kooien mogelijk toch nog te weinig om in bloei te komen. De planten en kooiconstructie zijn begin november 2010 verplaatst naar een Zuid-expositie in een ander deel van de tuin.

Zodra de planten in bloei kwamen is van zowel de ♂ als de ♀ planten de fertiliteit van het pollen getest. Hiervoor zijn twee verschillende methoden toegepast. In 2009 is gekleurd met een kleuring volgens Alexander (1969). Bij deze kleuring kleurt de celinhoud roze bij fertiel pollen. Bij niet fertiel pollen is de celinhoud niet roze gekleurd. De pollenwanden zijn in beide gevallen blauwgroen (Fig. 7).

**Figuur 7.** Pollen gekleurd volgens de methode Alexander (1969). A. fertiel pollen. B. steriel pollen. (Foto's: B.J. van Heuven).



A.

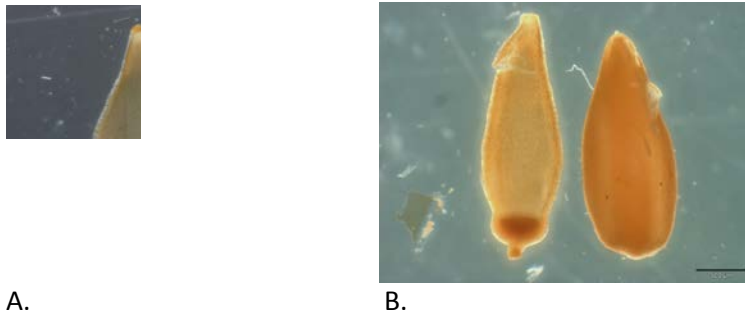
B.

In 2011 ( en één monster in 2009) is het pollen gekleurd met Katoenblauw volgens een recept van Ben Zonneveld (mond. meded.). Bij deze methode kleurt de celinhoud donkerblauw bij fertiel pollen en blijft ongekleurd bij niet fertiel pollen.

Vervolgens moesten de planten bestoven worden. Na overleg met Koos Biesmeijer (NCB Naturalis) en Fred Weber (imker van de Hortus) is besloten hier een hommelvek (firma Koppert) voor in te zetten. Vanwege de natte zomer in 2011 werd dit geen succes, de hommels vlogen te weinig om in alle zes hokken hun werk te kunnen doen. Uiteindelijk is besloten de bestuiving handmatig door Bertie Joan van Heuven uit te laten voeren. Dit werkte het beste door met een tak bloemen van de ♂ plant langs bloeiende takken van de twee ♀ planten te strijken.

De bloeiwijzen van de ♀ planten zijn geoogst in oktober, op het moment dat de vruchten maximaal uitontwikkeld waren en de bloeiwijzen verdroogd waren. Vervolgens is de ontwikkeling van de vrucht (het nootje) beoordeeld op uiterlijk: al dan niet ingedeukt. Voor de beoordeling van de zaadzetting zijn een aantal nootjes opengemaakt en het eruit vrijkomende zaad is gedurende drie dagen in een afgesloten potje in 50% melkzuur te weken gelegd voor opheldering, zoals beschreven in Moccia *et al.* (2007). Daarna zijn de zaden met een binoculair beoordeeld op aanwezigheid van een embryo met kiemworteltje (Fig. 8). Tenslotte zijn van alle planten die zaden hebben opgeleverd 15 zaden in potjes ingezet om te laten kiemen. Deze zaden zijn op 10 november 2011 binnenshuis ingezet (Fig. 9).

**Figuur 8.** Zaden opgehelderd in melkzuur volgens Moccia *et al.* (2007). A. goed ontwikkelde kiem. B. slecht ontwikkelde kiem. (Foto's: B.J. van Heuven).



**Figuur 9.** Zaden uit het kruisingsexperiment ingezet om te testen op kieming. (Foto: H. Duistermaat).



## 5 Resultaten

### 5.1 Stuifmeelproductie

Uit de analyse van het pollen (Tab. 3) van de drie beschikbare planten blijkt dat *F. japonica* var. *japonica* x var. *compacta* fertiel pollen produceert. De gebruikte planten van de variëteit *F. japonica* var. *japonica* waren inderdaad mannelijk steriel en produceerde in het geheel geen pollen.

### 5.2 Bevruchting functioneel vrouwelijke *F. japonica* var. *japonica*

In het kruisingsexperiment zijn alle 6 mannelijke en 9 van de 12 vrouwelijke planten in bloei gekomen. Door het verplaatsen van de proefopstelling en de lange looptijd van het onderzoek was binnen elk vak niet meer duidelijk welke moederplant 1 of 2 was. Echter, in drie vakken zijn beide moederplanten in bloei gekomen en op alle bloeiende vrouwelijke planten zijn vruchten tot ontwikkeling gekomen, zowel door pollen van mannelijke plant 1 als van plant 2 en van plant 3 (Tab. 4). Vrijwel alle vruchten waren goed gevuld, niet ingedeukt of loos. Na ophelderen in melkzuur was in de meeste zaden steeds een embryo met kiemwortel te zien. Alle vruchtdragende planten produceerden goed ontwikkelde zaden naast soms slecht ontwikkelde zaden.

**Tabel 4.** Bloei en vruchtzetting in *Fallopia japonica*: twee moederplanten, bestoven door drie verschillende mannelijk fertiele planten (voor herkomst collecties zie Tabel 3).

Moederplant	bloei	gewicht 50 vruchtjes	totaal gewicht vruchtjes	omgerekend aantal vruchtjes	vruchtjes eerder gebruikt	totaal aantal vruchtjes	♂
Vak A Achter	geen bloei					0	1
Vak A Rechtsvoor	+	0,1175 g	2,6809 g	1141	30	1171	1
Vak B Achter	geen bloei					0	2
Vak B Rechtsvoor	+	0,1127 g	0,3732 g	166	15	181	2
Vak C Achter	+	0,1029 g	0,3666 g	178	15	193	3
Vak C Linksvoor	+	0,1240 g	2,1189 g	854	44	898	3
Vak D Achter	+	0,1016 g	0,1266 g	62	15	77	1
Vak D Rechtsvoor	+	0,1025 g	0,3485 g	170	15	185	1
Vak E Achter	+	0,1155 g	0,1340 g	58	15	73	2

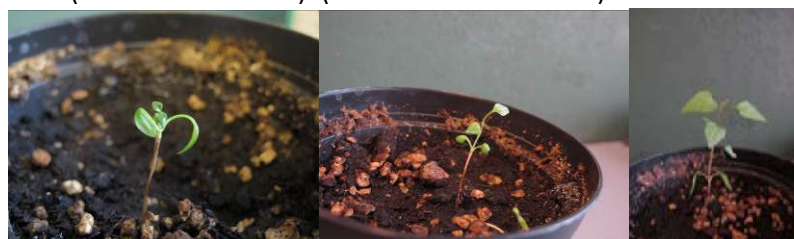
Vak E Rechtsvoor	+	0,1268 g	1,1143 g	439	19	458	2
Vak F Achter	geen bloei					0	3
Vak F Rechtsvoor	+	0,1216 g	0,8928 g	367	19	386	3

Van alle vruchtdragende planten zijn elk 15 zaden in een potje met aarde uitgezet. Er zijn 15 zaden opgekomen, van zeven moederplanten, van zowel moeder 1 als moeder 2 en met pollen van zowel vader 1, 2, als 3 (Tab. 5). Van de 15 kiemplanten zijn er drie dood gegaan. Bij tien planten is inmiddels (1-3-2012) een tweede set bladeren gevormd (Fig.10). Daarnaast heeft Menno Soes in 2011 zaden verzameld van *F. japonica* var. *japonica* in Wageningen die mogelijk bestoven is door de ouderplant van ♂2. Van de 15 gevormde zaden is er één opgekomen.

**Tabel 5.** Resultaten (aantal kiemplanten) van de kiemingsproef met zaden uit het kruisingsexperiment (stand van zaken op 1-3-2012).

Moederplant	kieming	inmiddels afgestorven	inmiddels met 2 <sup>e</sup> set blad of meer	♂
Vak A Rechtsvoor	0			1
Vak B Rechtsvoor	0			2
Vak C Achter	2	1		3
Vak C Linksvoor	4		3	3
Vak D Achter	1	1		1
Vak D Rechtsvoor	2		2	1
Vak E Achter	1		1	2
Vak E Rechtsvoor	3	1	2	2
Vak F Rechtsvoor	1		1	3
Menno Soes, Wageningen - Haagsteeg, 27 sep 2011 kruising <i>F. japonica</i> var <i>jap.</i> waarschijnlijk bestoven door <i>F. jap.jap.</i> x <i>F. jap. comp</i>	1		1	(2)

**Figuur 10.** Kiemplanten uit het kruisingsexperiment. A. van moederplant uit vak F linksvoor. B. van moederplant uit vak D rechtsvoor. C. van zaden van *F. japonica* var. *japonica*, collectie Soes (verzameld in 2011). (Foto's: H. Duistermaat).



A.

B.

C.



## 6 Conclusie

Mannelijk fertiele planten van *F. japonica* zijn in Nederland tot op heden alleen vastgesteld in een vrij beperkt gebied. De zeer lage respons op de verschillende oproepen betekent echter dat we nog geen uitspraken kunnen doen over het voorkomen van mannelijke fertiele planten buiten dit gebied. Het is met name te verwachten dat er in ieder geval meer locaties zullen worden gevonden in de Pleistocene gebieden.

Uit de hier beschreven experimenten blijkt dat kiemkrachtige zaden worden gevormd wanneer de mannelijke fertiele *F. japonica* planten de vrouwelijk fertiele *F. japonica* planten bestuiven. De hieruit voorkomende kiemplanten bleken zich bovendien voorbij het kiemlobstadium ontwikkelen. De mate waarin deze planten daadwerkelijk groeikrachtig zijn in de vrije natuur is nog onbekend.

Zaden worden makkelijker verspreid dan wortelstokken of stukken stengel. Dit betekent dat de verspreiding van *F. japonica* mogelijk sneller kan gaan.

Het pollen van de mannelijk fertiele planten lijkt daadwerkelijk te kunnen bijdragen aan een grotere genetische variatie van in ieder geval *F. japonica*, met als gevolg dat de concurrentiekracht nog verder kan toenemen. In hoeverre dergelijke planten functioneel vrouwelijke planten van *F. sachalinensis* en *F. x bohémica* kunnen bevruchten is in onderhavig onderzoek in het geheel niet onderzocht. Echter, gezien de diversiteit aan hybriden binnen deze groep van *Fallopia*-soorten behoort dit zeker wel tot de mogelijkheden.

Op grond van bovenstaande kruisingsmogelijkheden, de constatering van intermediaire kenmerktoestanden van blad die gebruikt worden voor het formele onderscheid van variëteiten buiten het inheemse verspreidingsgebied en afwijkende ploïdie niveaus van *F. japonica* en *F. sachalinensis* (zie appendix 1) kunnen we verwachten dat we binnen afzienbare tijd nog slechts kunnen spreken van een polyploid soortencomplex.

## 7 Aanbevelingen

Bij de bestrijding van de Japanse duizenknoop is het aan te bevelen het bestrijden van mannelijke fertiele planten prioriteit te geven, zodat zoveel mogelijk voorkomen wordt dat de genetische diversiteit van de diverse uitheemse *Fallopia*- taxa verder toeneemt. Dit geldt overigens ook voor andere taxa met mannelijk fertiele planten, zoals *F. japonica* var. *compacta* en *F. sachalinensis*;

## 8 Dankwoord

Ruud Beringen (FLORON) heeft veel materiaal verzameld en bijgedragen aan diverse discussies.

De Hortus Botanicus Leiden, met name Paul Kessler, Theo Houthoff en Richard Schoenmaker, voor de geboden faciliteiten in hun kweektuin.

Ben Zonneveld voor de flow-cytometrische bepalingen.

Koos Biesmeijer (NCB Naturalis) voor zijn bestuivingsadvies en Fred Weber (Hortus Botanicus Leiden) voor zijn hulp met het verkrijgen en verzorgen van het bijenvolk.

John Bailey voor het identificeren van de variëteit-hybride.

## 8 Literatuur

Adolphi, K. 1999. De eerste vondst van *Fallopia x bohémica* (Chrtek & Chrtkova) J. Bailey in Nederland. *Gorteria* 25: 140—142.

- Alexander, M.P. 1969. Differential staining for aborted and non aborted pollen. *Stain Technology*, 44, 3: 117-122.
- Bailey, J.P. 2001. *Fallopia x conollyana* The Railway-yard Knotweed. *Watsonia* 23: 539—541.
- Bailey, J.P., L.E. Child & A.P. Conolly, 1996. A survey of the distribution of *Fallopia x bohemica* (Chrtek & Chrtková) J. Bailey (Polygonaceae) in the British Isles. *Watsonia* 21: 187—198.
- Bailey, J. & R. Wisskirchen. 2006. The distribution and origins of *Fallopia x bohemica* (Polygonaceae) in Europe. *Nordic Journal of Botany* 24, 2: 173—199.
- Bailey, J.P., K. Bímová & B. Mandák. 2007. The potential role of polyploidy and hybridisation in the further evolution of the highly invasive *Fallopia* taxa in Europe. *Ecological Research* 22 : 920—928.
- Bailey, J.P., K. Bímová & B. Mandák, 2009. Asexual spread versus sexual reproduction and evolution in Japanese Knotweed *s.l.* sets the stage for the "Battle of the Clones". *Biological Invasions* 11: 1189—1203.
- Forman, J. & R.V.Kesseli, 2003. Sexual reproduction in the invasive species *Fallopia japonica* (Polygonaceae). *American Journal of Botany* 90, 4: 586—592.
- Hollingsworth, M.L. & J.P. Bailey, 2000. Evidence for massive clonal growth in the invasive weed *Fallopia japonica* (Japanese Knotweed). *Botanical Journal of the Linnean Society* 133: 463—472.
- Moccia, M.D., A. Widmer & S. Cozzolino, 2007. The strength of reproductive isolation in two hybridizing food-deceptive orchid species. *Molecular Ecology* 16: 2855-2866.
- Soes, M., J.L.C.H. van Valkenburg & H. Duistermaat, 2009. Gezocht: Mannelijke Japanse duizendknopen. *FLORON nieuwsbrief* 16: 15-16. De tekst, met in tabelvorm een overzicht van de belangrijkste vegetatieve kenmerken voor de determinatie van de soorten *Fallopia japonica*, *F. sachalinense* en de hybride tussen beiden (*F. x bohemica*) is ook terug te vinden op de FLORON website, onder Exoten: <http://www.floron.nl/Nieuws/tabid/61/articleType/CategoryView/categoryId/33/Exoten.aspx>
- Soes, D.M., J.L.C.H. van Valkenburg & H. Duistermaat, 2010. Gezocht: Japanse duizendknopen! *Gorteria* 34, 5: 144—145.
- Van der Meijden, R. 2005. *Heukels' Flora van Nederland*, ed. 23. Wolters-Noordhoff bv, Groningen/Houten, Nederland.

## Appendix 1. Niet-inheemse Fallopia soorten in Nederland: een polyploid complex

In Tabel 6 geven we een overzicht van de ploïdie-niveaus zoals ze in de literatuur volgens Bailey *et al.* (2007) bekend zijn voor de verschillende niet-inheemse rechtopstaande *Fallopia* taxa. Omdat voor Nederland nog geen gegevens bekend waren over de aanwezige ploïdie-niveaus is van een aantal collecties die in 2008 en 2009 zijn verzameld een flowcytometrische bepaling gedaan volgens de methode als beschreven in Zonneveld & Van Iren (2001). Het DNA in de geïsoleerde kernen van een monster en de standaard worden gekleurd met Propidium iodide. De fluorescentie van het DNA wordt vervolgens gemeten aan 5000 kernen en omgerekend in picogram DNA per kern. Hieruit is het ploïdie-niveau af te leiden.

**Tabel 6.** Ploïdie-niveaus van *Fallopia* taxa (naar Bailey *et al.* 2007).

Taxa	Inheemse regio	Geïntroduceerde gebieden	NL (uit dit onderzoek)
F. japonica var. japonica	44, 66, 88 (4x, 6x, 8x)	88 (8x)	6x, 8x
F. japonica var. compacta	44 (4x)	44 (4x)	8x(?)
F. japonica var. japonica x var. compacta			6x
F. sachalinensis	44 (...) (4x)	44, 66, 88 (4x, 6x, 8x)	8x
F. x bohémica	66 (6x)	44, 66, 88 (4x, 6x, 8x)	6x

De ploïdie-bepalingen (Tab. 3) geven enerzijds bevestiging van wat reeds uit de literatuur bekend was over de diverse niveaus van ploïdie (Tab. 6). Anderzijds geeft het ook nieuwe resultaten. Alle collecties van *F. sachalinensis* die gemeten zijn blijken octoploid te zijn, terwijl volgens Bailey *et al.* (2007) dit slechts zelden voorkomt. Twee collecties (de Vries, Soes) die binnengebracht zijn als *F. japonica* var. *compacta* hebben bladeren die 7–8 cm breed zijn, groter dan de maximaal 6 cm die in Lousley & Kent (1983) beschreven is. Het ploïdieniveau van een van deze collecties (de Vries), octoploid, wijst op *F. japonica* var. *japonica*.

Hexaploïde planten van *F. japonica* var. *japonica* buiten het inheemse verspreidingsgebied zijn nog niet bekend. Eén plant die is binnengebracht als *F. japonica* var. *japonica* (Beringen 2), bleek weldegelijk fertiel pollen te produceren en dit is bovendien een hexaploïde plant. Dit zou betekenen dat op zijn minst dus meerdere klonen van *F. japonica* var. *japonica* in NL aanwezig zijn. Het onderscheid met de hybride tussen de twee variëteiten van *F. japonica* is echter problematisch en is in dit stadium niet met zekerheid te stellen.

Bovengenoemde resultaten zijn een duidelijke indicatie dat de variatie binnen de exotische *Fallopia*-soorten toeneemt.

Lousley, J.E. & D.H. Kent. 1983. *Docks and Knotweeds of the British Isles*. B.S.B.I Handbook No. 3. Botanical Society of the British Isles, London, U.K.

Zonneveld, B.J.M. & F. van Iren. 2001. Genome size and pollen viability as taxonomic criteria: Application to the genus *Hosta*. *Plant Biology* 3: 176-185.