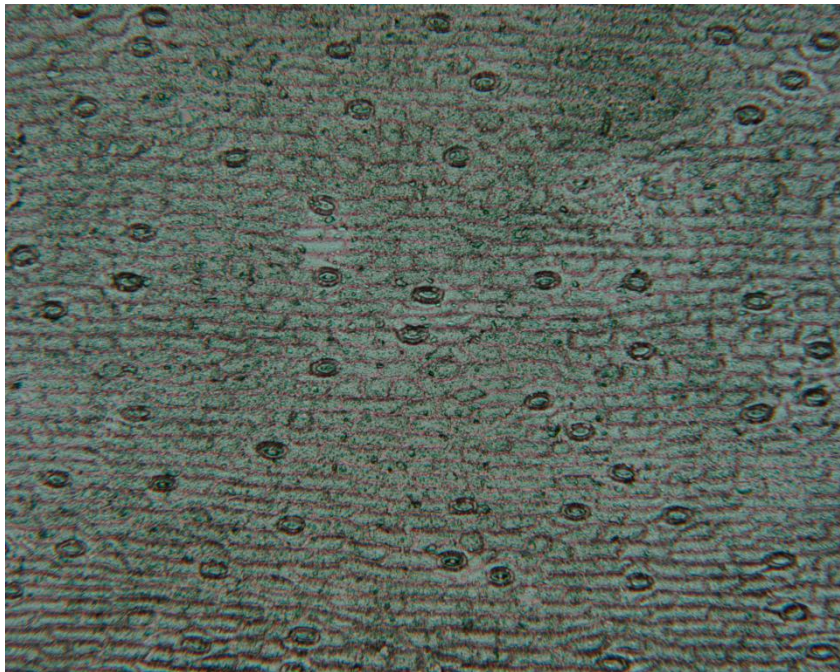


Huidmondjes in ontwikkeling:  
Invloed van omgevingsfactoren op de  
huidmondjesanatomie van bladeren,  
een literatuurstudie



Augustus 2010

G. Trouwborst, C.S. Pot, A.H.C.M. Schapendonk en D. Fanourakis

# Huidmondjes in ontwikkeling: Invloed van omgevingsfactoren op de huidmondjesanatomie van bladeren, een literatuurstudie

Augustus 2010

G. Trouwborst<sup>1</sup>, C.S. Pot<sup>1</sup>, A.H.C.M Schapendonk<sup>1</sup> en D. Fanourakis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Plant Dynamics B.V.

Englaan 8

6703 EW Wageningen

[www.plant-dynamics.nl](http://www.plant-dynamics.nl)

06-21983129

<sup>2</sup>Wageningen University

Horticultural Supply Chains group

Droevendaalsesteeg 1

6708 PD Wageningen

## REFERAAT

G. Trouwborst, C.S. Pot, A.H.C.M. Schapendonk en D. Fanourakis, 2010. Huidmondjes in ontwikkeling: Invloed van omgevingsfactoren op de huidmondjesanatomie van bladeren, een literatuurstudie. Plant Dynamics B.V., Wageningen. 29p.

Dit onderzoek is uitgevoerd op verzoek van de sector en is gefinancierd door het Productschap Tuinbouw (PT).

PT projectnummer: PT13834.31-32

© 2010 Wageningen, Plant Dynamics B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Dynamics B.V. of opdrachtgever.

Plant Dynamics B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave, noch bij eigen gebruik noch bij het gebruik door derden.

# Inhoudsopgave

INHOUDSOPGAVE .....	3
VOORWOORD .....	4
SAMENVATTING .....	5
1 INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING .....	6
2 FYSIOLOGIE EN ANATOMIE VAN HUIDMONDJES .....	8
2.1 Effect van huidmondjes op de fotosynthese .....	8
2.2 Anatomie .....	9
2.3 Fysiologie .....	11
3 BEÏNVLOEDING VAN DE HUIDMONDJES DOOR KLIMAATFACTOREN .....	13
3.1 Lichtniveau .....	13
3.2 Lichtspectrum .....	14
3.3 Temperatuur .....	15
3.4 CO <sub>2</sub> niveau .....	16
3.5 Waterstatus van de plant .....	17
3.6 VPD .....	19
3.7 Interacties tussen klimaatfactoren .....	20
4 MOGELIJK MECHANISME VAN AANSTURING EN TIMING .....	21
4.1 Tijdsperiode van aanleg van de huidmondjes .....	21
4.2 Werkingsmechanisme .....	21
5 METINGEN AAN EEN PILOTGEWAS .....	23
6 DISCUSSIE EN AANBEVELINGEN .....	24
6.1 Sturing op de huidmondjesanatomie .....	24
6.2 Lichtminnende (vrucht)groente gewassen .....	25
6.3 Lichtminnende siergewassen .....	26
6.4 Schaduwminnende siergewassen .....	26
6.5 Vervolgonderzoek .....	27
LITERATUUR .....	28

# Voorwoord

Dit rapport is geschreven naar aanleiding van een verzoek van studiegroep *Miltonia*, om kansen voor het beïnvloeden van de huidmondjesanatomie in kaart te brengen. Het project is gefinancierd door Productschap Tuinbouw in samenwerking met LNV. In deze literatuurstudie is gebruik gemaakt van de meest recente wetenschappelijke literatuur. Tevens zijn een select aantal deskundigen over dit onderwerp geïnterviewd. Unaniem wordt door hun het belang van de huidmondjesanatomie onderschreven:

Onderzoeker Hendrik-Jan Van Telgen bij Botany: Huidmondjes zijn een heel dynamisch gebeuren. De anatomie hiervan is een onderbelicht aspect, er wordt veel over aangenomen, maar we weten er nog heel weinig van. Dit terwijl huidmondjes voor planten de uitgelezen mogelijkheid zijn om zich dynamisch aan te passen aan hun omgeving.

Onderzoeker Rob Baas van Fytofocus: Kennis over voorkomen en gedrag van huidmondjes bij tuinbouwkundige gewassen is onontbeerlijk. Als de dichtheid en grootte van de huidmondjes beïnvloed kunnen worden - mogelijk door de waterstatus van de plant - zou hiervan gebruik gemaakt kunnen worden in de teelt.

PhD-student Dimitrios Fanourakis van Wageningen University, Horticultural Supply chains Group: Van de fysiologie van de huidmondjeswerking is al vrij veel bekend, terwijl aan de huidmondjesanatomie van bladeren veel minder onderzoek is verricht.

Onderzoeker Filip van Noort bij WUR glastuinbouw: Momenteel ben ik bezig aan een onderzoek om meer licht toe te laten bij potplanten waarbij in de praktijk veel geschermd wordt. Als de verdamping laag is van een gewas loopt de bladtemperatuur bij een verhoogde instraling snel op. Indicatieve metingen aan *Anthurium* en *Areca* laten een hogere huidmondjesdichtheid zien onder hoge RV dan onder een lage RV.

Martin van Noort van Rijnplant: Mijn ervaring en met mij die van veel andere telers is dat wij ook schermen om te voorkomen dat de bladtemperatuur te hard oploopt. Als de plant zich beter kon koelen dan hoeven wij minder te schermen.

Onze dank gaat uit naar PT die dit onderzoek mogelijk maakte. Tevens gaat onze dank uit naar alle bovenstaande geïnterviewden, in het bijzonder willen we Dimitrios Fanourakis noemen, die naast het interview ook bereid was om enkele metingen te doen aan *Miltonia* en ons tevens waardevolle literatuursuggesties gaf. Coauteur te zijn voor dit rapport was dan ook gerechtvaardigd.

Wageningen, augustus 2010,  
Govert Trouwborst

# Samenvatting

De huidmondjes van een plant spelen een leidende rol in enerzijds transpiratie en koeling en anderzijds opname van CO<sub>2</sub> voor de fotosynthese. Bij gewassen waarbij de huidmondjesopening sterk limiterend kan zijn (zoals bij potplanten met een tropische origine), neemt bij toenemende straling de planttemperatuur sterk toe. Hierdoor is het vochtdeficit (VPD) van blad naar kaslucht niet in de hand te houden en sluiten de huidmondjes. Dit betekent een limitatie op de CO<sub>2</sub> opname en daarmee enorme remming op de fotosynthese. Tevens neemt dan de kans op schade aan het fotosynthesesysteem sterk toe.

Van de fysiologie van de huidmondjeswerking is al vrij veel bekend, terwijl aan de huidmondjesanatomie van bladeren veel minder onderzoek is verricht. Deze huidmondjesanatomie bepaald echter wel wat de maximale koeling van een blad kan zijn. Als de huidmondjesanatomie positief te beïnvloeden is door omgevingsfactoren dan valt mogelijk de het koelend vermogen van planten te vergroten. Onderhavig literatuuronderzoek is in opdracht van het productschap Tuinbouw opgezet om de effecten van omgevingsfactoren op de huidmondjesanatomie in kaart te brengen.

De huidmondjesanatomie van jonge zich ontwikkelende bladeren blijkt door minimaal vier factoren bepaald te worden:

1. Signalen via volgroeide bladeren op omgevingsprikkelers
2. Signalen die door het ontwikkelende blad zelf worden opgevangen
3. Plant waterstatus
4. Sturing op bladmorphologie (bijv. zon/schaduwblad)

Deze signaalfunctie op oude (en jonge) bladeren houdt in dat over het algemeen een toename in lichtintensiteit en de luchtvochtigheid een positief effect op de huidmondjesanatomie hebben terwijl een toename in CO<sub>2</sub> niveau en een afname in plantwaterstatus een licht tot sterk negatief effect op de huidmondjesanatomie hebben. Meer blauw licht heeft in veel gevallen ook een positief effect, terwijl temperatuur-effecten niet eenduidig zijn. Wel kan temperatuur interacteren met de VPD. Een afname in plantwaterstatus geeft meestal kleinere bladeren en ook kleinere huidmondjes. Ontwikkeling van zonnebladeren geeft dikkere bladeren en een hogere huidmondjesdichtheid. Er zijn indicaties gevonden dat de signalen gereguleerd worden door de transpiratie en geleidbaarheid van de oudere bladeren. Dit heeft als consequentie dat alle maatregelen om de geleidbaarheid en transpiratie te verhogen voor de volgroeide bladeren automatisch positief uitwerkt op de onvolgroeide bladeren.

De grootste winst bij een vergroting van het aantal of de grootte van huidmondjes, is te behalen bij schaduwminnende C3 planten waarbij de huidmondjesopening vaak sterk limiterend voor de fotosynthese is. Het eindresultaat van bladeren met meer dan wel grotere huidmondjes is een hogere productie, minder lichtschade, betere gewaskoeling en bovendien een verminderde afhankelijkheid van de VPD.

# 1 Inleiding en probleemstelling

In de praktijk wordt veel gratis zonlicht weg geschermd bij potplantentelers. Intussen laten een aantal PT projecten (Teeltoptimalisatie *Miltonia* door Plant Dynamics en Het Nieuwe Telen: potplanten door WUR-glastuinbouw) zien dat in combinatie met het beheersen van andere klimaatfactoren zoals een laag dampdrukdeficit er toelating van meer zonlicht mogelijk is. Dit kan de fotosynthese en productie sterk verhogen. Echter, metingen laten zien dat de toelating van meer licht zelfs onder hoge relatieve vochtigheid van de kaslucht gelimiteerd wordt doordat de capaciteit van de plant om zichzelf via transpiratie te koelen overschreden wordt en dan de planttemperatuur snel oploopt.

De koelcapaciteit van de plant (transpiratiecapaciteit) wordt vooral bepaald door de *capaciteit* van de huidmondjesgeleidbaarheid<sup>1</sup>. Deze capaciteit wordt vooral bepaald door het aantal en grootte van de huidmondjes in een blad. Diepte speelt ook een rol omdat dit een extra weerstand is, welke in serie staat met de regelbare weerstand (opening) van de huidmondjes. Vooral planten uit aride gebieden (vetplanten, cactussen) hebben dieper gelegen huidmondjes om zich te beschermen tegen uitdroging. Planten kunnen zelf de hoeveelheid transpiratie reguleren door de huidmondjes te openen of te sluiten. Een belangrijke factor hierin is het dampdrukdeficit van omgeving naar het blad (Vapour pressure deficit: VPD). Over het algemeen heeft een hogere VPD een negatief effect op de huidmondjesopening. Verschillen in gevoeligheid voor VPD zijn tussen plantsoorten echter enorm.

Bij planten waar de huidmondjesopening al snel limiterend is (Bijvoorbeeld bij *Anthurium* of *Miltonia*) zal als de koelcapaciteit van de plant overschreden wordt, de planttemperatuur sterk oplopen en dus ook de VPD tussen blad en kaslucht. Hierdoor zullen de huidmondjes sluiten. Dit bemoeilijkt de CO<sub>2</sub> opname en verlaagt het koelend vermogen van de plant. De verhoging van VPD creëert echter wel een hogere drijvende kracht voor de koeling, dit kan echter de afname van de geleidbaarheid niet compenseren. Zo belandt de plant in een negatieve spiraal: verhoging VPD → sluiting huidmondjes → verlaging transpiratie=verlaging koeling → verhoging bladtemperatuur → verhoging VPD. Zie Fig. 1. Deze vicieuze cirkel kan uitgesteld worden als de koelende capaciteit van de plant vergroot kan worden. Uit het voorgaande is duidelijk geworden dat dan de capaciteit van de huidmondjesgeleidbaarheid verhoogd moet worden.

Zoal al eerder opgemerkt wordt de capaciteit van de huidmondjesgeleidbaarheid vooral bepaald door het aantal huidmondjes per bladoppervlak en de grootte van de huidmondjes. Er zijn aanwijzingen vanuit de praktijk dat het vergroten van de capaciteit van de huidmondjesgeleidbaarheid mogelijk is. Uit metingen van Plant Dynamics blijkt dat bij *Anthurium* over een periode van vijf jaar tijd bij hetzelfde ras, de capaciteit van de huidmondjesgeleidbaarheid sterk is verhoogd. Dit betrof metingen op praktijkbedrijven, waar gedurende die tijd veel aanpassingen zijn geweest in klimaatbeheersing. Het mechanisme achter deze capaciteitsverhoging is echter niet bekend. Uit recent onderzoek bij

---

<sup>1</sup> Geleidbaarheid is een woord dat niet in het groene boekje der Nederlandse taal voorkomt, omdat dit woord al sterk ingeburgerd is, blijven we dit woord gebruiken. Het equivalent geleidingsvermogen komt wel voor.

Wageningen UR Tuinbouwketen zijn er voor het gewas roos aanwijzingen gevonden dat door lage VPD het aantal huidmondjes met 20% en de grootte van de huidmondjes nogmaals met 20% vergroot kan worden (Fanourakis, pers med. 2010). Tevens merkte Fanourakis op dat het huidige wetenschappelijke onderzoek zich voornamelijk richt op huidmondjesgedrag (*fysiologie*), terwijl aandacht voor aantal huidmondjes en de poriegrootte (*anatomie*) op de achtergrond is geraakt.

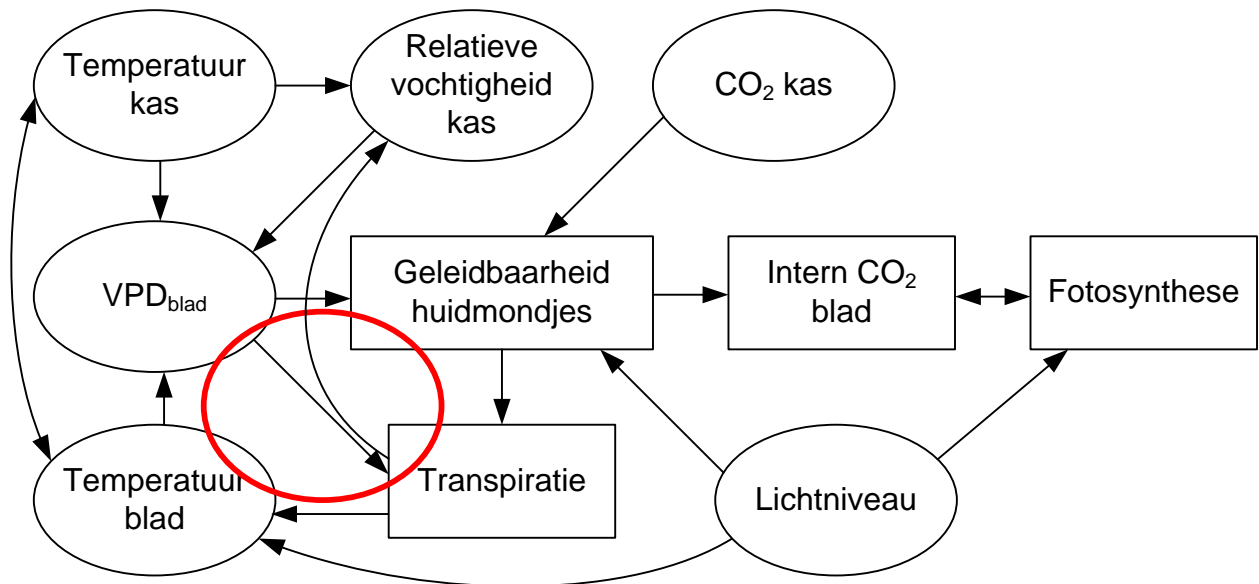


Fig. 1. Verband tussen enerzijds de huidmondjesgeleidbaarheid en het koelend vermogen door transpiratie en effect van omgevingsfactoren. De rode cirkel geeft de negatieve spiraal aan waarin een plant terecht kan komen als de koelcapaciteit wordt overschreden.

De doelstelling van dit onderzoek is via literatuurstudie na te gaan in hoeverre en door welke omgevingsfactoren de anatomie van de huidmondjes (aantal en grootte) kan worden beïnvloedt. In principe zal worden gezocht naar algemene processen, welke naar verwachting vertaald kunnen worden naar een breed scala aan gewassen waar een (sterke) huidmondjeslimitatie kan optreden.

Dit onderzoeksverslag beslaat voornamelijk literatuuronderzoek, maar tevens zijn er ook een select aantal interviews gehouden met telers en onderzoeker over de probleemherkenning en mogelijke oplossingen. Deze opmerkingen zijn vooral in de discussie verwerkt. Tevens zijn er enkele metingen gedaan naar aantal en grootte van de huidmondjes van een pilotgewas (*Miltonia*) om te toetsen of een traditionele methode van afdrukken maken en analyse via een microscoop kan worden gebruikt ter beoordeling van aantal en grootte van de huidmondjes. Er wordt afgesloten met een discussie voor kansen bij verschillende gewasgroepen.



## 2 Fysiologie en anatomie van huidmondjes

### 2.1 Effect van huidmondjes op de fotosynthese

De huidmondjes vervullen een sleutelrol voor de CO<sub>2</sub>-opname en verdamping van water (ofwel koeling door transpiratie) van de plant. De geleidbaarheid voor CO<sub>2</sub> naar binnen en voor H<sub>2</sub>O naar buiten zijn aan elkaar gekoppeld. Deze verhouding wordt bepaald door de verhouding van de diffusiecoëfficiënten van H<sub>2</sub>O/lucht en CO<sub>2</sub>/lucht en bedraagt ongeveer 1.6 (Farquhar and Sharkey, 1982). De snelheid van verdamping of van CO<sub>2</sub> opname is analoog aan de wet van Ohm:

Stroom (H<sub>2</sub>O of CO<sub>2</sub>)=potentiaalverschil\*geleidbaarheid.

Het potentiaalverschil voor de verdamping/transpiratie is het dampdrukdeficit tussen de lucht en het blad (VPD<sub>blad</sub>; Fig. 1). Het potentiaalverschil voor de CO<sub>2</sub>-opname wordt bepaald door het externe CO<sub>2</sub>-gehalte en het interne CO<sub>2</sub>-gehalte (C<sub>i</sub>). De C<sub>i</sub> wordt bepaald door de fotosynthesesnelheid maar dit is een wederkerige relatie (Fig. 1). Het verband tussen C<sub>i</sub> en geleidbaarheid (G<sub>s</sub>) bij een vaste fotosynthesesnelheid wordt in Fig. 2A weergegeven.

Als proces kan de fotosynthese verdeeld worden in twee deelprocessen: (1) de lichtreactie waarbij lichtenergie wordt omgezet in chemische energie en (2) de omzetting van chemische energie in suikers. Bij de omzetting van chemische energie naar suikers (Carboxylase) gebruikt de plant het enzym Rubisco. Rubisco is verantwoordelijke voor de binding van CO<sub>2</sub>, maar kan echter ook O<sub>2</sub> binden (Oxygenase), waarbij CO<sub>2</sub> vrijkomt. Als vuistregel wordt vaak een verlies van 30% aan oxygenase aangenomen. Rubisco is dus gevoelig voor de verhouding O<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub> in het blad. De hoogste omzettingsefficiëntie in suikers vindt plaats bij afwezigheid van zuurstof of bij zeer hoge CO<sub>2</sub>-niveaus. Dit kan echter alleen onder gecontroleerde laboratoriumomstandigheden. Hoe lager de interne CO<sub>2</sub> concentratie hoe lager de omzettingsefficiëntie. Als de huidmondjes limiterend zijn en de C<sub>i</sub> sterk daalt dan kan de omzettingsefficiëntie naar nul dalen (Fig. 2B). Tevens kan de sluiting van de huidmondjes remmend werken op de lichtreactie waardoor er sneller schade aan het fotosyntheseapparaat kan ontstaan (Trouwborst et al. 2010).

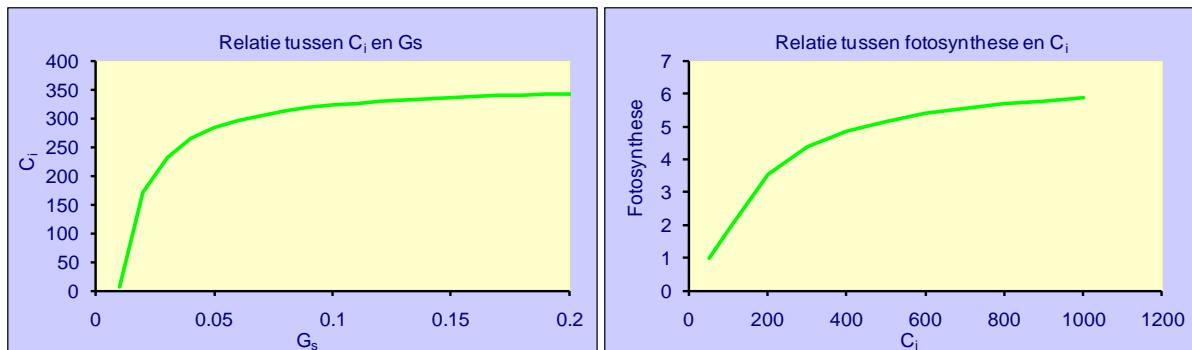


Fig. 2. Theoretisch verband tussen A: intern  $\text{CO}_2$ -gehalte ( $C_i$ ) en de geleidbaarheid ( $G_s$ ) bij een vaste fotosynthesesnelheid en B: fotosynthese en  $C_i$  bij een vast lichtniveau, waarbij de  $C_i$  de fotosynthesesnelheid bepaalt.

## 2.2 Anatomie

Als we de anatomie van de huidmondjes in relatie tot een blad nader onder de loep nemen moeten er eerst een aantal definities worden vastgesteld:

1. Huidmondjesdichtheid: aantal huidmondjes per  $\text{mm}^2$ .
2. Huidmondjesindex: ratio tussen aantal huidmondjes en totaal aantal cellen (inclusief de huidmondjes) van een blad.
3. Huidmondjesopening: het oppervlak van de opening van een huidmondje ofwel poriegrootte.

Soms wordt alleen de lengte of breedte van een huidmondje weergegeven.

De huidmondjesindex is een betere maat dan de huidmondjesdichtheid omdat de huidmondjesindex direct weergeeft of het proces van huidmondjesaanleg veranderd is. Een lagere huidmondjesdichtheid kan ook betekenen dat de afzonderlijke cellen (en mogelijk het gehele blad) groter zijn. Vooral als er verschillen optreden in bladmorphologie (bijvoorbeeld bladgrootte) is het van belang onderscheid te maken tussen dichtheid en index.

Hovenden (2001) rafelt deze processen mooi uiteen: "Drie onderscheidende factoren bepalen de huidmondjesdichtheid in een bepaalde plantsoort. Allereerst is dat het proces van initiatie, dit specifieke proces leidt tot de ontwikkeling van sluitcellen vanuit de nog niet gedifferentieerde epidermiscellen. Dit huidmondjesinitiatieproces wordt geschat door de berekening van de huidmondjesindex. Het tweede proces is bladexpansie. Bladexpansie heeft invloed op de grootte van de epidermiscel en daarom op het aantal epidermiscellen per oppervlakte en beïnvloedt zo de huidmondjesdichtheid. De derde factor is het aantal epidermiscellen in het hele blad. Zo hebben twee bladeren met dezelfde index die net zo groot worden maar verschillen in aantal epidermiscellen ook verschillende dichtheden. Daarom, dichtheden nemen toe als de initiatie toeneemt, als (1) het aantal huidmondjes per epidermiscel toenemen, of als (2) de bladexpansie gereduceerd wordt omdat dan het totale bladoppervlak kleiner wordt, of als (3) als het totaal aantal epidermiscellen op een blad toenemen."

Een huidmondje bestaat uit twee langwerpige cellen die aan beide uiteinden vast zitten. Doordat de

cellen vocht opnemen (de fysiologie wordt in H2.3 beschreven) wijken de cellen in het midden uiteen en ontstaat er een opening. In Fig. 3 worden er foto's en schematische tekeningen van huidmondjes weergegeven.

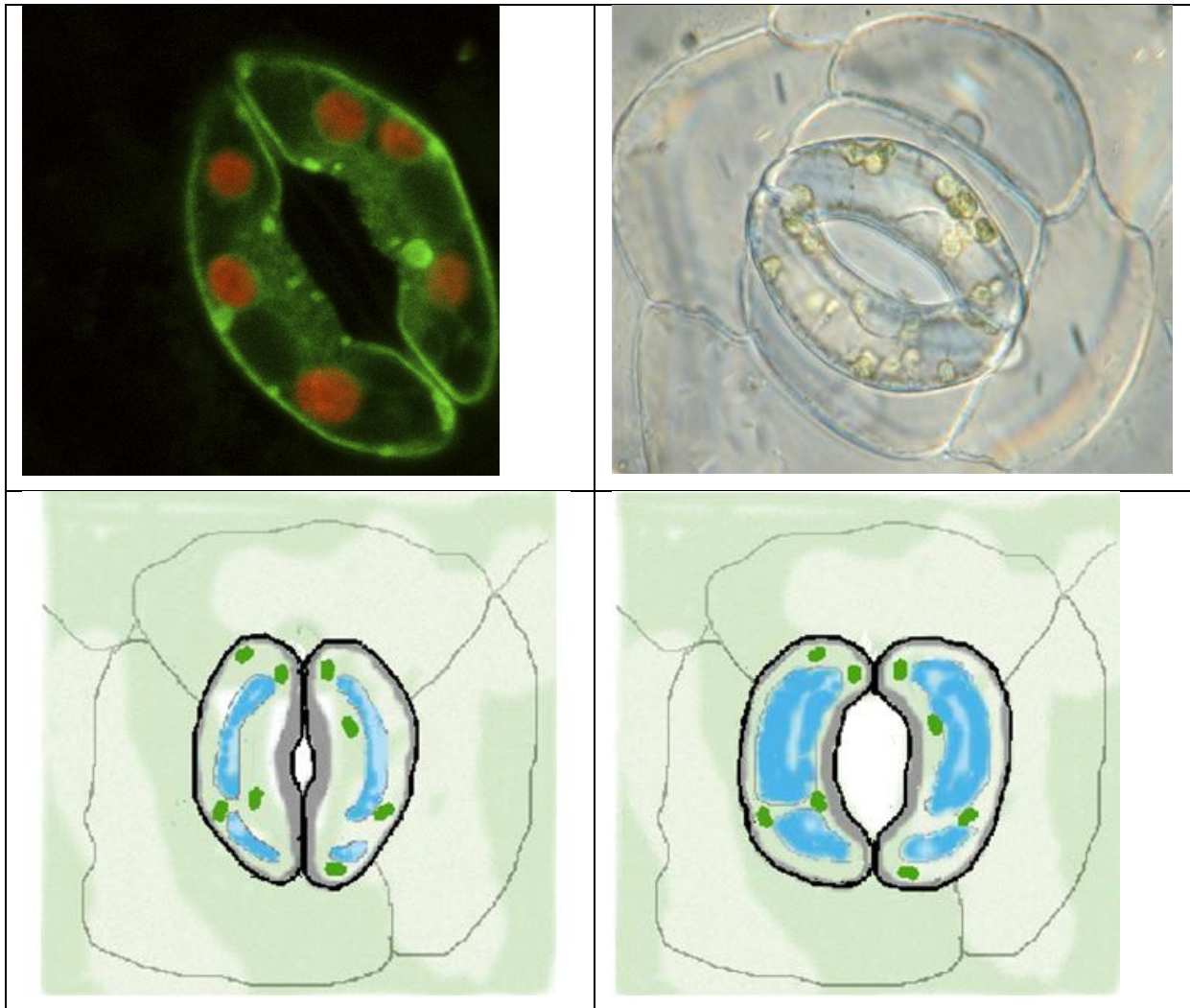


Fig. 3 (A en B) Microscopische foto van een huidmondje van Arabidopsis die twee sluitcellen laat zien (bron Wikipedia en (Hetherington and Woodward, 2003)); (C en D) Schematische weergave van een gesloten en een open huidmondje (Bron: Ecotree <http://www.bcb.uwc.ac.za/ecotree/index.htm>).

De vorm van de porie is elliptisch tot rond. Als een huidmondje verdubbeld in lengte zal de poriegrootte tot vier keer zo groot worden (oppervlak ellips= $\pi \cdot a \cdot b$  en als  $a=b$  is sprake van een cirkel en gaat de formule over in  $\pi r^2$ ). Uit deze eenvoudige berekening kunnen we concluderen dat het rendabeler kan zijn om de grootte van de huidmondjes in plaats van het aantal per blad te beïnvloeden. Zo werden er bij de eerste test bij *Miltonia* (zie H5) een twee keer zo hoge dichtheid van huidmondjes gevonden als bij roos (*Rosa hybrida* 'Prophyta') (Fanourakis, pers. med.) de porielengte van *Miltonia* was echter twee keer zo klein. Dit zou dan een twee keer zo hoge geleidbaarheid voor roos dan voor *Miltonia* betekenen. Dit is inderdaad ruwweg het geval: waar de geleidbaarheid in ideale omstandigheden voor *Miltonia* rond 70-100 mmol/m<sup>2</sup>/s kan zijn, ligt deze voor roos (*Rosa Hybrida* 'Prophyta') op de 175-225 mmol/m<sup>2</sup>/s.

Nerkar et al. (1981) vonden voor tuinboon (*Vicia Faba*) een sterke lineaire correlatie tussen de geleidbaarheid versus huidmondjesdichtheid en de poriegrootte. De geleidbaarheid verhoudt zich echter niet altijd lineair met de huidmondjesopening. Kaiser & Kappen (Kaiser and Kappen, 2000, 2001) laten voor Vlier (*Sambucus nigra*) een verzadigingscurve tussen de geleidbaarheid en de porieoppervlakte zien. Een recente studie van Kaiser (2009) die ook bij tuinboon is uitgevoerd laat zien dat bij zeer smalle openingen de geleidbaarheid sneller stijgt terwijl het daarna ongeveer lineair toeneemt met de poriegrootte.

Tussen plantsoorten worden er enorme verschillen in aantallen en porielengte van huidmondjes gevonden. In tabel 1 zijn deze voor enkele soorten ter illustratie weergegeven.

Tabel 1. Voorbeelden van soortafhankelijke huidmondjesanatomie van bladeren (bron: (Jones, 1987))

Soort	Aantal /mm <sup>2</sup>	Lengte (µm)
Appel	350-600	
Haver	39-96	40-56
Gras	48-129	21.1-36.1
Sojaboon	242-385	19.2-21.7

## 2.3 Fysiologie

De opening van de huidmondjes wordt sterk beïnvloed door het lichtspectrum. Sinds de jaren 80 van de vorige eeuw is bekend dat blauw licht sterk stimulerend werkt op de huidmondjesopening (Zeiger *et al.*, 1981). Ook een toename in lichtintensiteit stimuleert de huidmondjesopening (Shimazaki *et al.*, 2007). Recent werd ontdekt dat groen licht een antagonistische werking op blauw licht heeft waardoor de huidmondjes kunnen sluiten (Talbot *et al.*, 2006; Talbot *et al.*, 2002). Over het algemeen sluiten de huidmondjes zich als het waterverlies te hard oploopt (Buckley, 2005). Verder kan een verhoogd CO<sub>2</sub>-niveau of een verhoogde VPD een (licht tot sterk) negatief effect hebben op de huidmondjesopening (Ainsworth and Rogers, 2007; Farquhar and Sharkey, 1982).

Huidmondjes openen zich door de osmotische druk in de cellen te verhogen door Kalium ionen op te nemen (K<sup>+</sup> ionen). Hieronder staat puntsgewijze het proces dat door blauw licht ingang gezet wordt beschreven (Shimazaki *et al.*, 2007).

- Blauw licht wordt geabsorbeerd door fototropines
- De fototropines activeren een protonenpomp (H<sup>+</sup>-ATPase) in het plasmamembraan van het huidmondje
- ATP (chemische energie) vastgelegd in de lichtreactie van de fotosynthese drijft de pomp aan.
- Als de H<sup>+</sup>protonen de cel uit worden gepompt, dan wordt de inhoud in toenemende mate negatief
- Dit trekt K<sup>+</sup> ionen aan wat de osmotische druk doet toenemen en hierdoor stijgt de turgor en opent het huidmondje

Het positieve effect van lichtintensiteit werkt via de fotosynthese. Doordat de fotosynthese toeneemt, daalt de interne CO<sub>2</sub> concentratie hierdoor zal het huidmondje zich ook openen (Shimazaki *et al.*, 2007).

De huidmondjes sluiten zich als het waterverlies te hard oploopt. Abscisinezuur (ABA) is een hormoon die de sluiting van een huidmondje teweegbrengt als er meer water wordt verdampt dan kan worden opgenomen door de plant. Hieronder staat puntsgewijze het proces weergegeven:

- ABA bind aan een receptor aan het oppervlak van het plasmamembraan.
- De receptor activeert verscheidene interacterende processen, deze processen veroorzaken
  - Een stijging van de pH in het cytosol
  - Een transfer van Calcium ionen Ca<sup>2+</sup> van de vacuole naar het cytosol
- De toename in Ca<sup>2+</sup> in het cytosol blokkeert de opname van K<sup>+</sup> ionen terwijl
- De toename in pH stimuleert het verlies van Cl<sup>-</sup> en organische zuren (zoals malate<sup>2-</sup>) uit de cel
- De afname in concentratie van deze deeltjes in het cytosol reduceert de osmotische druk en zo neem de turgor af en sluit het huidmondje

## 3 Beïnvloeding van de huidmondjes door klimaatfactoren

In onderstaande subhoofdstukken is nagegaan wat er in de wetenschappelijke literatuur bekend is over effecten van omgevingsfactoren op de huidmondjesanatomie. Effecten van de volgende omgevingsfactoren zijn gevonden en in kaart gebracht:

- Lichtniveau
- Lichtspectrum
- Temperatuur
- CO<sub>2</sub>
- VPD
- Plant waterstatus

Tevens is gespeurd naar een mogelijke interactie tussen deze factoren.

Zoals in H2.2 aangegeven kan de grootte van de huidmondjes meer effect hebben dan de huidmondjesdichtheid en zegt huidmondjesindex meer over het feitelijke proces dan de dichtheid. De samenhang van deze parameters is helaas niet altijd gerapporteerd.

### 3.1 Lichtniveau

Over het algemeen resulteert een toename in lichtniveau ook in een toename in de huidmondjesindex en dichtheid. Bij tabaksplanten werd er door een stijging van 90 naar 250  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  PAR een stijging van 24% in huidmondjesindex en dichtheid waargenomen, de poriënlengte verschilde echter niet (Thomas *et al.*, 2004). Dezelfde trend wordt vermeldt in onderzoek van Volenikova & Ticha (2001) bij jonge Tabaksplantjes, door een verhoging van het lichtniveau van 70 naar 230  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  steeg de huidmondjesdichtheid terwijl de poriënlengte niet verschilde. Bij Arabidopsis lag de stijging in dichtheid per lichtstap van 80-225  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  en 225-350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  op 23% (Schluter *et al.*, 2003). Ook bij populier lag de stijging in index in de orde van 20% en stijging in dichtheid in de orde van 35% bij een stijging van 50-150  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  PAR. In een onderzoek bij volgroeide eikenbomen nam de index van zwaar beschaduwde bladeren tot bladeren in de volle zon bijna lineair toe met een toename in de relatieve lichtintensiteit (van 0.14 tot 0.22) (Furukawa, 1997). Bij Indiase Ginseng werd er een toename van 24% met gelijkblijvende poriënlengte gevonden bij een stijging van 30-90  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  PAR (Lee *et al.*, 2007).

Specifieke effecten van diffuus licht op huidmondjesanatomie zijn niet gevonden in de literatuur.

Diffuus licht betekend niets anders dan een andere verdeling van licht en temperatuur over het gewas. De verwachting is dat de veranderde temperatuurverdeling vooral via de VPD van het blad zijn uitwerking zal hebben. Bij diffuus licht is dus sprake van een interactie van factoren.

In tabel 2 zijn de gevonden referenties voor effecten van lichtniveau op de huidmondjesanatomie weergegeven.

Tabel 2. Literatuurreferenties voor effect van lichtniveau op de huidmondjesanatomie.

Plant	Auteur(s)
Populier	Miyazawa et al. 2006
Tabak	Volenikova and Ticha 2001
Cowpea (Kadjang pandjang)	Schoch, 1980
Arabidopsis	Schluter, 2003
Appel (NB moeilijk te beoordelen door slecht gecontroleerde omstandigheden)	Warrit, 1980
Eik	Furukawa, 1997
Tabak	Thomas et al 2004
Withania Somniferia plantlets / Indische Ginseng	Lee et al 2007

## 3.2 Lichtspectrum

De onderzoeken naar effecten van lichtspectrum op de huidmondjesanatomie zijn schaars en minder eenduidig dan bij lichtniveau. In tabel 3 zijn de gevonden referenties weergegeven.

Kim et al. (2004) vonden bij Chrysanten plantjes die onder verscheidene combinaties LED-licht groeiden bij een rood/blauw spectrum de snelste groei, de grootste stomata (opp. 2 keer zo groot), maar wel 40% minder stomata. De index werd helaas niet vermeld. Lee et al. (2007) vond bij Indiase Ginseng plantjes een daling van de huidmondjesdichtheid van rond de 50% voor puur rood licht ten opzichte van rood/blauw of TL of rood/verrood licht echter bij puur blauw licht daalde de dichtheid ook naar het niveau bij rood licht. De lengte van de huidmondjes verschilde nauwelijks. Poudel et al. (2008) daarentegen laat de trend zien bij Druif dat er een hogere dichtheid onder puur blauw dan onder TI-licht was terwijl plantjes onder puur rood licht een gelijke dichtheid hadden als onder TI-licht, de huidmondjesgrootte verschilde niet. Saffides (2009) vond bij jonge komkommerplantjes een sterke afname van de huidmondjesdichtheid van 25% en index met 17% wanneer deze onder puur rood LED licht opgroeiden ten opzichte van puur blauw of gemengd rood/blauw.

Een specifiek effect van lichtspectrum werd gevonden door (Schoch *et al.*, 1984). Zij onderzochten spectrale effecten door middel van nachtonderbrekingen. Cowpea planten groeiden onder 9 uur licht en 15 uur donker. Als er een lage intensiteit blauw of verrood licht werd gegeven in plaats van donkerte verlaagde dit de huidmondjesindex met 15-30%, een lage intensiteit rood licht gedurende de nacht deed echter de huidmondjesindex met 15% toenemen. Dezelfde response werd gevonden als er maar 30 minuten verrood of rood werd gegeven aan het begin van de donkerperiode. Het effect van verrood op de huidmondjesindex kon teniet worden gedaan als er 30 minuten rood licht erachteraan

werd gegeven.

Tabel 3. Literatuurreferenties voor effect van lichtspectrum op de huidmondjesanatomie.

Plant	Auteur(s)
Cowpea (Kadjang Pandjang)	Schoch et al. 1984
Withania Somniferia plantlets / Indische Ginseng	lee et al 2007
Chrysant plantlets	Kim et al 2004
Druif plantlets	Poudel et al. 2008
Komkommer	Savvides 2009 afstudeerrapport WU

### 3.3 Temperatuur

Doordat de snelheid van celdeling sterk wordt gereguleerd door de temperatuur en het aantal celdelingen drastisch reduceert in een koud klimaat (Korner and Larcher, 1988) zal dit sterk de bladmorfolgie beïnvloeden en zo ook de huidmondjesanatomie. Planten die opgroeien in een koud klimaat hebben over het algemeen dikkere bladeren en dikkere celwanden en meer stomata dan hun tegenhangers die opgroeien in een warmer klimaat (Korner and Larcher, 1988). Zo vonden Luomala et al. (2005) dat bij een hogere temp (3-6 graden) dunnere naalden met minder stomata bij Schotse Pinus.

Onderzoek van Hovenden (2001) laat zien dat er bij 5 verschillende genotypen schijnbeuk er geen effect was van temperatuur (18 en 23 graden) op de huidmondjesindex en dichtheid. Tevens verschilde de grootte niet, omdat de bladeren even groot werden.

Beerling en Chaloner (1993) vonden voor eikenbladeren die gevormd waren onder zomertemperaturen, dat index en dichtheid afgenomen waren ten opzichte van bladeren die in de lente onder een lagere temperatuur waren gevormd. Morgan *et al.* (1994) vonden geen verschillen in de huidmondjesdichtheid bij een temperatuursverhoging van vier graden bij Steppegas terwijl Ferris et al. (1996) bij gras bij eenzelfde temperatuursverhoging in de lente en de zomer een hogere huidmondjesdichtheid vonden. Dit ging echter meestal samen met een lagere index en vertoonde interacties met positie op het blad (basis, midden, top).

Tabel 4. Literatuurreferenties voor effect van temperatuur op de huidmondjesanatomie.

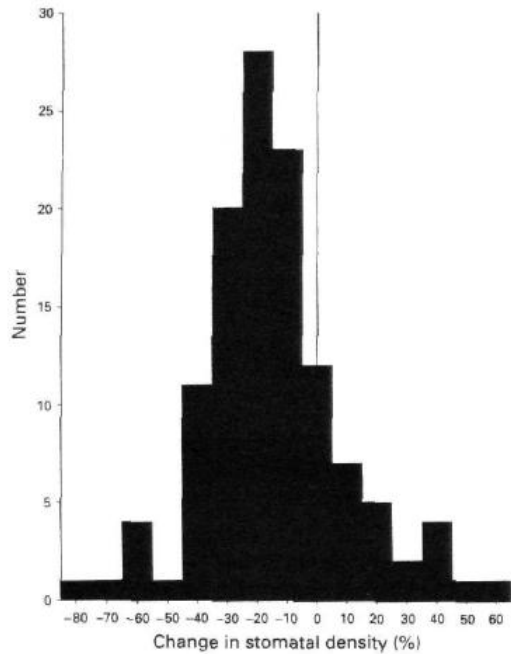
Plant	Auteur(s)
Schijnbeuk	Hovenden, 2001
Gras	Ferris, 1996
Schotse Pinus	Luomala et al., 2005
Steppegas	Morgan et al., 1994



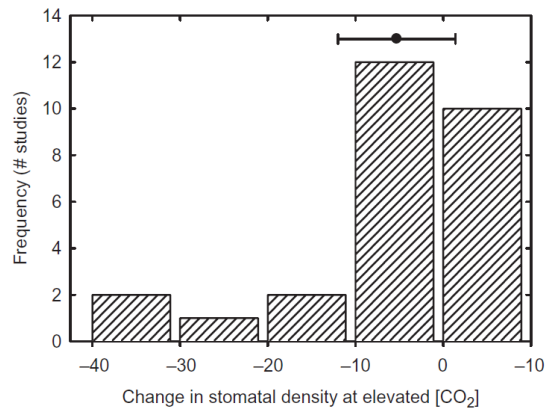
### 3.4 CO<sub>2</sub> niveau

De meeste studies naar de huidmondjesanatomie gaan over effecten van verhoging van CO<sub>2</sub> niveau. Door de veelheid aan studies is deze paragraaf gebaseerd op twee gepubliceerde literatuuroverzichten (reviews).

In een review geschreven door Woodward & Kelly (1995) worden 100 soorten geanalyseerd. Driekwart van de soorten had een gemiddelde afname in huidmondjesdichtheid van 14.3% door een verhoogd CO<sub>2</sub> niveau. Onder gecontroleerde omstandigheden bij een verdubbeling van CO<sub>2</sub> niveau van 350 naar 700 was er bij 60% van de soorten een afname van gemiddeld 9% (Fig. 4A). Soorten met stomata aan beide kanten van het blad namen meer af dan soorten die maar aan een kant stomata hebben (Woodward and Kelly, 1995). Echter recente studies van FACE-projecten (Free air CO<sub>2</sub> enrichment) laten zien dat de afname in huidmondjesgeleidbaarheid bij een toegenomen CO<sub>2</sub> niveau (22% afname in geleidbaarheid door een toename van 370 naar 570 ppm; 267 toetsen) niet verklaard kan worden door afname in dichtheid (Ainsworth and Rogers, 2007). Zij laten via een meta-analyse van 27 studies zien dat de gemiddelde afname 5% was, maar dit was statistisch gezien niet significant (zie Fig. 4B). De frequentie histogram laat zien dat er enkele studies zijn met een groot effect naar dat het merendeel van de studies tussen de -10 en +10 % zit. Ainsworth & Rogers (2007) vinden dan ook dat het waarschijnlijker is dat de afname in geleidbaarheid wordt veroorzaakt door de (gereguleerd afgenomen) openingsgrootte (fysiologie) en niet door het aantal (anatomie). Een positief effect van CO<sub>2</sub> op huidmondjesanatomie geldt eerder bij lage dan hoge concentraties. De invloed is echter gering en laag CO<sub>2</sub> gaat bovendien ten koste van productie. Manipuleren met CO<sub>2</sub> zien we dan ook niet als kans voor een verbetering van de huidmondjesanatomie. Uiteraard is CO<sub>2</sub> wel belangrijk voor de fotosynthese (groei)! Indien de grootte en/of aantal van de huidmondjes kan worden vergroot, betekend dat CO<sub>2</sub> gemakkelijker het blad in kan diffunderen. Vooral bij planten waarbij in de praktijk de CO<sub>2</sub> opname vaak gelimiteerd wordt door huidmondjes, kan dit dus een enorme impact hebben op de effectiviteit van CO<sub>2</sub> en licht op de fotosynthese.



**Figure 1.** Stomatal density responses to CO<sub>2</sub> enrichment, measured as percentage changes relative to the lowest CO<sub>2</sub> concentration studied.



**Figure 2.** Histogram of observations from free-air CO<sub>2</sub> enrichment experiments of the change in stomatal density at elevated [CO<sub>2</sub>]. The ambient and elevated [CO<sub>2</sub>] for all studies averaged 363 and 571 μmol mol<sup>-1</sup>, respectively. The mean response calculated by meta-analysis (± 95% confidence interval) is indicated above the histogram. A list of primary references used in this analysis is provided in Supplementary Appendix S2.

Fig. 4. (A) studie van Woodward & Kelly (1995) bestaande uit 100 soorten; (B) studie van Ainsworth & Rogers (2007) bestaande uit 27 studies met FACE experimenten (Free air CO<sub>2</sub> enrichment).

Tabel 5. Selectie van studies over effecten van CO<sub>2</sub> niveau op de huidmondjesanatomie

Plant	Auteur(s)	effect
Arabidopsis	Lake & Woodward, 2008	-
Populier	Miyazawa et al. 2006	-
Review (27 studies)	Ainsworth & Rogers, 2007	=
Review 100 soorten	Woodward&Kelly 1995	-
Populier	Ceulemans et al, 1995	-=
Rijst	Uprety, 1996	+
Gras	Ferris, 1996	-+=
Onderzoek van 15 soorten	Reid et al, 2003	=
Populier	Tricker et al 2005	=
Schijnbeuk (CO <sub>2</sub> verlaging)	Hovenden 2000	-=

### 3.5 Waterstatus van de plant

De waterstatus van de plant kan beïnvloed worden door de watgift, de EC van het gietwater (droogtestress / zoutstress) en de verdamping. Effecten van een hoge verdamping door een hoge VPD worden in paragraaf 3.6 besproken.

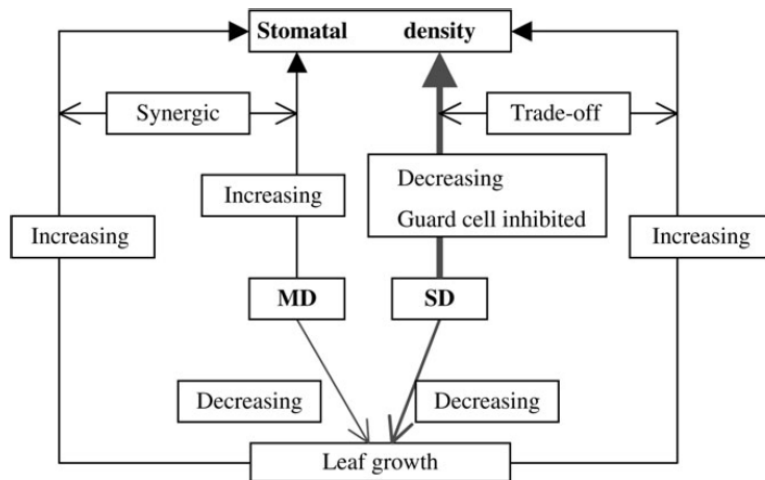
Plantwaterstatus kan een groot effect op plantmorfologie hebben, over het algemeen strekken de bladcellen minder bij een lage plantwaterstatus en blijven dus kleiner (Lecoeur *et al.*, 1995), bij een

gelijkblijvende index zal dan de dichtheid hoger zijn. Een lage plantwaterstatus heeft ook een negatief effect op de geleidbaarheid (Buckley, 2005).

De algemene lijn is dat bij droogtestress de huidmondjesdichtheid toeneemt en de grootte afneemt (Buttery *et al.*, 1993; Cutler *et al.*, 1977; McCree and Davis, 1974; Spence *et al.*, 1986). Soms neemt echter ook de index af als de droogtestress erg oploopt (McCree and Davis, 1974; Nerkar *et al.*, 1981). Zo vonden recent Xu & Zhou (2008) een parabolisch verband in dichtheid bij oplopende droogtestress in grassen. Mogelijk wordt dit veroorzaakt dat eerst de cellen kleiner worden en dat daarna pas de index omlaag gaat (Zie ook Fig. 5). Ook vonden zij een lineair verband met de grootte. Tevens verergerden hoge nachttemperaturen de effecten van waterstress (Xu *et al.*, 2009). Galmes *et al.* (2007) onderzochten 10 mediterrane soorten en vonden ook een significante relatie tussen lengte en dichtheid, dit lijkt zelfs een algemeen verband tussen soorten te zijn (Hetherington and Woodward, 2003; Pearce *et al.*, 2006). Bepaalde vormen van de huidmondjes lijken bij droogte het waterverlies te beperken (Spence *et al.*, 1986).

Tabel 6. Literatuurreferenties voor effect van Plantwaterstatus op de huidmondjesanatomie

Plant	Auteur(s)
Gras	Xu & Zhou, 2008
Tuinboon ( <i>Vicia faba</i> )	Nerkar, 1981
Populier	Pearce 2006
10 mediterrane soorten	Galmes <i>et al</i> 2007
Sojaboon	Buttery <i>et al</i> 1993
Sorghum	McCree 1974



**Fig. 6.** A diagrammatic representation of the effects of water deficit on stomatal density under the regulations by leaf growth (MD, moderate drought; SD, severe drought). MD may lead to an acclimated increase in stomatal density, but SD may reduce it partly because of guard cell inhibition. This synergy balance or trade-off may occur between the effects of both leaf growth and changes in stomatal density towards the variations in water status.

Fig. 5. Mogelijk regelmechanische voor huidmondjesdichtheid in grassen (Xu & Zhu, 2008)

### 3.6 VPD

Bij een toenemende VPD sluiten de huidmondjes (El-Sharkawy *et al.*, 1985). Voor huidmondjesdichtheid en index zijn er enkele tegenstrijdige resultaten gevonden. Salisbury (1927; zoals geciteerd door Casson & Gray, 2008) vond een reductie van index voor Hyacintbladeren. Arabidopsis liet een toename in huidmondjesdichtheid zien maar index was niet vermeld (Serna and Fenoll, 1997). Bakker (1991) vond onder lage VPD hogere dichtheden voor de gewassen paprika, tomaat, komkommer en aubergine, de index verschilde niet altijd en de lengte was meestal wel groter. Recent onderzoek door Miyazawa *et al.* (2006) laten een hogere index zien bij populierbladeren bij lagere VPD. Lake & Woodward (2008) daarentegen laten een lagere dichtheid zien bij hogere RV. Dit gaat schijnbaar in tegen Miyazawa *et al.* (2006) maar Lake & Woodward (2008) konden de dichtheid koppelen aan de transpiratiesnelheid. In hun behandelingen gaf een hogere RV juist een lagere transpiratiesnelheid. Voor traag verdampende planten zoals Anthurium en Miltonia is het omgekeerde het geval, een hogere RV geeft meer verdamping omdat de huidmondjesgeleidbaarheid sterker bepalend is dan de VPD. Voor het gewas Roos nam dichtheid, index en grootte met 20% toe als er onder een hogere RV geteeld werd (Fanourakis, pers med). Geleidbaarheidsmetingen in de praktijk bij Anthurium wijzen uit dat de geleidbaarheid met 50% is toegenomen doordat er onder een hogere RV geteeld wordt. De fysiologische verklaring hiervoor is nog niet uitgezocht.

Tabel 7. Literatuurreferenties voor VPD-effect op de huidmondjesanatomie.

Plant	Auteur(s)
Tomaat, Paprika, Komkommer, Aubergine	Bakker, 1991

---

Arabidopsis	Lake & Woodward, 2008
Arabidopsis	Serna & Fenoll, 1997
Populier	Miyazawa et al. 2006
19 soorten	El sharkawy 1985
Roos	Fanourakis et al. (nog niet gepubliceerd)

---

### 3.7 Interacties tussen klimaatfactoren

In de praktijk zullen klimaatfactoren altijd interacteren. Een hoger lichtniveau betekent bij een beperkt koelend vermogen van de plant ook een hogere planttemperatuur. De hogere planttemperatuur genereert weer een verhoging in de VPD. Een hoge VPD kan de plantwaterstatus weer ongunstig beïnvloeden. De temperatuur interacteert ook met processen in bladopbouw die de celgrootte en dus huidmondjesdichtheid beïnvloeden. Lichtniveau kan ook interacteren met CO<sub>2</sub> niveau. Miyazawa et al. (2006) laten zien dat onder laag lichtniveau een verhoging van CO<sub>2</sub> niveau geen reducerend effect had op de huidmondjesdichtheid maar wel effect had onder een hoger lichtniveau.

In praktijkproeven is er vaak sprake van interacties, wat een vertroebeld beeld geeft van oorzaak en gevolg op huidmondjesanatomie. Voor inzicht in de effecten en welke factor hiervoor verantwoordelijk is, is een systematische aanpak vereist.

## 4 Mogelijk mechanisme van aansturing en timing

Uit bovenstaande hoofdstuk is gebleken dat verschillende klimaatfactoren invloed op aantal, index en grootte hebben. De volgende vraag is dan hoe het mechanische hierachter werkt en wanneer in het bladstadium van groeipunt tot volwassen blad er gestuurd kan worden om een beoogd effect te verkrijgen. Deze twee vragen worden in dit hoofdstuk verder uitgewerkt.

### 4.1 Tijdsperiode van aanleg van de huidmondjes

Eén van de eerste die de tijdsperiode van beïnvloeding van de huidmondjes anatomie onderzocht was Schoch et al. (1980) Deze vonden dat de lichtintensiteit die volgroeide bladeren kregen in de 6 dagen voor ontvouwing van het jonge blad (*Vigna sinensis*; Cowpea) de index voor het nieuwe blad bepaalden. Miyazawa et al. (2006) vonden dat het aantal stomata bepaald was net voordat het bladoppervlak de helft van zijn maximale grootte kreeg. Dit patroon is ook bevestigd voor roos (Fanourakis, pers. med.). Voor populier duurde deze periode ook ongeveer 6 dagen (Miyazawa et al., 2006). Het onderzoek aan rozenbladeren liet zien dat hoe vroeger er ingegrepen werd, hoe hoger het resultaat was (Fanourakis, pers. med.).

### 4.2 Werkingsmechanisme

Het ontrafelen van het werkingsmechanisme dat de huidmondjesanatomie bepaald staat momenteel volop in de belangstelling (Casson and Gray, 2008; Casson et al., 2009; Casson and Hetherington, 2010; Coupe et al., 2006; Hunt et al., 2010; Lake and Woodward, 2008; Lampard, 2009; Miyazawa et al., 2006; Nadeau, 2009).

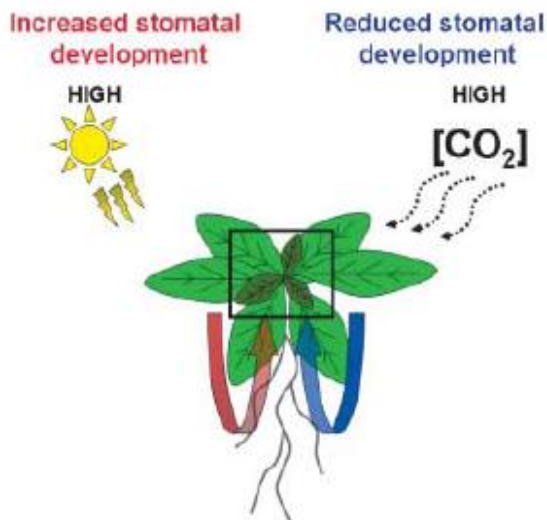
Onderzoek wijst uit dat de volgroeide bladeren hierbij een belangrijke rol spelen als signaalfunctie naar de jongere bladeren (Lake et al., 2001; Miyazawa et al., 2006; Schoch et al., 1980; Thomas et al., 2004). Jonge zich nog ontwikkelende bladeren die geen behandeling (licht of CO<sub>2</sub>) kregen terwijl de oudere bladeren van dezelfde plant die wel kregen, groeiden uit met een huidmondjesdichtheid alsof ze net als de volgroeide bladeren wel waren blootgesteld aan de behandeling (Fig. 6). Voor reacties op lichtniveau, luchtvochtigheid en CO<sub>2</sub> speelt de geleidbaarheid of de totale transpiratie van de oudere bladeren een belangrijke rol (Lake and Woodward, 2008; Miyazawa et al., 2006). Daarnaast is er een aparte aansturingroute gevonden waarbij een verhoogd lichtniveau via fytochroom B een hogere huidmondjesindex teweegbrengt (Casson et al., 2009).

De plantwaterstatus van dat moment is ook een regulerende factor. Een verlaagde plantwaterstatus geeft over het algemeen kleinere bladcellen en zo een hogere huidmondjesdichtheid. De regulatie van de bladdikte door de plant zelf op basis van temperatuur of lichtniveau (hoe kouder hoe dikker, hoe lager lichtniveau hoe dunner) speelt hier ook nog doorheen, dikkere bladeren ontwikkelen gemiddeld

een hogere huidmondjesdichtheid. Dit signaal kan overigens ook weer door de volwassen bladeren zijn aangestuurd (Yano and Terashima, 2001, 2004).

Er kunnen dus vier sturingsprocessen onderscheiden worden:

1. Sturing via een signaal van oudere bladeren via licht, luchtvochtigheid en CO<sub>2</sub>
2. Omgevingsignalen die door het ontwikkelende blad zelf worden opgevangen.
3. Sturing via de plantwaterstatus
4. Sturing op bladdikte door de plant



**Fig. 4** A schematic representation of the regulation of stomatal development by systemic signalling. Mature leaves are essential for sensing the environmental conditions and influence the generation of an unknown long-distance signal(s) (arrows). This signal(s) is perceived by young leaf primordia (boxed) and directs the frequency with which stomata develop in their epidermis. Conditions such as high light intensity result in an increased stomatal index, whereas high CO<sub>2</sub> concentrations or low humidity can result in a reduction in stomatal index.

Fig. 6. Signaalfunctie van de oudere bladeren naar de jong ontwikkelende bladeren. (Bron: Casson & Gray, 2008).

## 5 Metingen aan een pilotgewas

Recent is de standaard “stempel” techniek (rubber impression technique (Smith *et al.*, 1989) getoetst voor de gewassen Anthurium, Paprika, Tomaat en Phalaenopsis (van Telgen *et al.*, 2009). Om te toetsen of deze techniek ook werkt voor *Miltonia* zijn in april 2010 de huidmondjesanatomie van enkele *Miltonia* rassen in beeld gebracht. Er werden afdrukken van gedeeltes van net volgroeide bladeren genomen. Om de huidmondjesdichtheid te berekenen werd een vergroting van 100x gebruikt terwijl voor de bepaling van de grootte een vergroting van 1000x werd gebruikt. *Miltonia* is een soort dat alleen huidmondjes heeft aan de onderkant van een blad (hypostomatisch). Voor de gemeten soorten zijn de verschillen in geleidbaarheid gering, dit komt terug in gemeten aantal en lengte en breedte (tabel 8). Ter vergelijking: Voor *Rosa hybrida* ‘Prophyta’ zijn de dichtheden gemiddeld twee keer zo laag en de lengtes twee keer zo hoog (Fanourakis, pers. med.).

Tabel 8. Huidmondjesanatomie van de onderkant van een blad van drie *Miltonia* cultivars.

	Dichtheid (stomata mm <sup>-2</sup> )	lengte (µm)	breedte (µm)
‘Red Tide’	57.0±1.4	25.1±0.6	12.5±0.1
‘Herralexandre’	69.5±2.7	22.3±0.3	12.6±0.3
‘Isle Red’	63.2±2.4	24.5±0.2	12.0±0.2

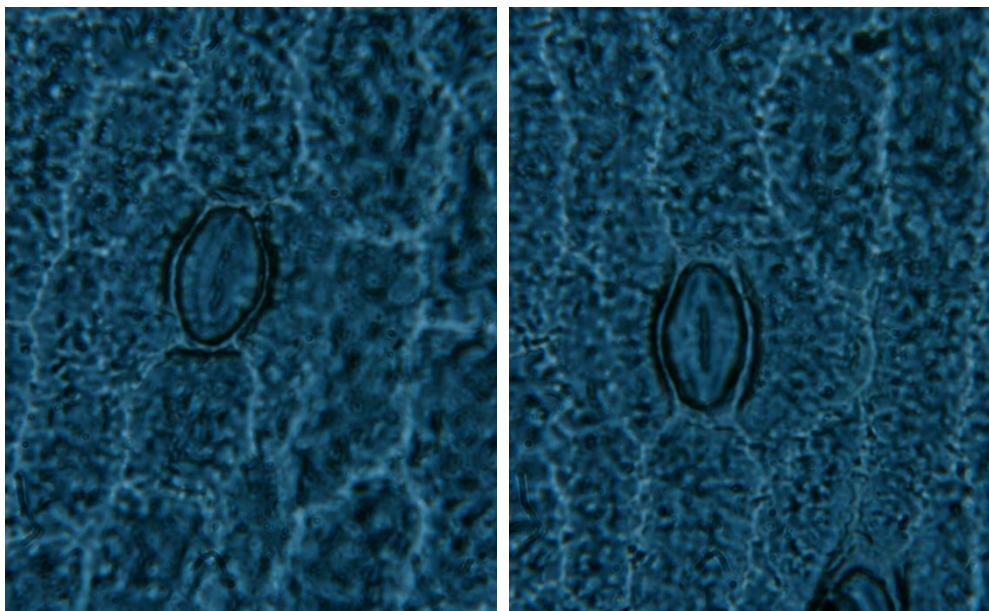


Fig. 7. Voorbeeldfoto van huidmondjes aan de onderkant van het blad van *Miltonia* ‘Herralexandre’ genomen met een vergroting 1000x (0.07 µm/pixel). Let op dat deze huidmondjes helemaal dicht zitten.



## 6 Discussie en aanbevelingen

### 6.1 Sturing op de huidmondjesanatomie

Het is inmiddels duidelijk geworden dat omgevingsfactoren een grote impact op de huidmondjesanatomie kunnen hebben: Een toename in lichtintensiteit werkt positief op de huidmondjesanatomie, een kanttekening hierbij is dat de onderzochte range lichtintensiteiten wel laag is vergeleken met zomerse condities. Over spectrale effecten op de anatomie is bekend dat puur rood licht negatief werkt terwijl blauw licht een positief effect heeft. Temperatuur heeft weinig directe effecten maar kan indirect via de VPD van het blad en de waterstatus van de plant tot aanpassingen in de huidmondjesanatomie leiden. Een verlaging in de plant waterstatus leidt in eerste instantie tot een hogere huidmondjesdichtheid waarbij de huidmondjes wel kleiner zijn. Beide worden veroorzaakt doordat de bladgrootte negatief wordt beïnvloed. Pas bij hoge waterstress neemt de huidmondjesindex af. Bij een toename van de VPD neemt de grootte van de huidmondjes evenals de huidmondjesindex toe. Verhoging van CO<sub>2</sub> heeft een gering negatief effect tot geen effect op de huidmondjesdichtheid.

In geval van een negatief effect van de CO<sub>2</sub> concentratie op de huidmondjesanatomie zoals bij *Arabidopsis* is de CO<sub>2</sub> concentratie in de omgeving van de volgroeide bladeren daarbij van groter belang dan de CO<sub>2</sub> concentratie bij de nieuw ontwikkelde bladeren. Ook voor licht geldt dat de condities van de oudere bladeren bepalend zijn voor de effecten op de jonge, zich ontwikkelende bladeren. Hoge lichtintensiteiten op de oudere bladeren leiden tot een verhoogde huidmondjesindex van de jonge bladeren. Er vindt dus signaaloverdracht plaats van de oude bladeren naar de jonge bladeren met informatie over de omgevingscondities (Lake et al., 2001; Lake and Woodward, 2008; Miyazawa *et al.*, 2006). Deze signaaloverdracht is in verband gebracht met de geleidbaarheid en transpiratie van de oudere bladeren (Lake and Woodward, 2008; Miyazawa *et al.*, 2006). Daarnaast is er een aparte aansturingroute gevonden waarbij een verhoogd lichtniveau via fytochroom B een hogere huidmondjesindex teweegbrengt (Casson *et al.*, 2009). Deze route lijkt los te staan van de geleidbaarheid of transpiratie.

De observatie dat regulatie van de huidmondjesanatomie van jonge zich ontwikkelende bladeren wordt beïnvloed door één overkoepelend fenomeen: de transpiratie of geleidbaarheid van de oudere bladeren (Lake and Woodward, 2008; Miyazawa *et al.*, 2006), opent perspectieven om via een gerichte sturing van die factor een langdurige positieve beïnvloeding van de verdampingseigenschappen van de betreffende soort te bewerkstelligen. Alle factoren die de geleidbaarheid van oudere bladeren positief beïnvloeden zoals toename in licht en luchtvochtigheid verhogen de huidmondjesindex en of huidmondjesgrootte van de nieuw ontwikkelende bladeren. Een verlaagde plant waterstatus, een hoge VPD of een verhoging in CO<sub>2</sub> niveau doen het omgekeerde (Casson and Gray, 2008; Miyazawa *et al.*, 2006). Waterstress heeft op die manier een dubbel negatief

effect op de huidmondjesanatomie: een verlaging van de bladstrekking met kleinere huidmondjes en een hogere dichtheid als gevolg van een verlaging van de huidmondjesindex door de signaalfunctie via de geleidbaarheid en transpiratie.

Omdat er in de literatuur weinig bekend is voor individuele tuinbouwgewassen, beperken we ons in de volgende paragrafen tot kansen per gewasgroep. De volgende onderverdeling is gemaakt: Lichtminnende (vrucht)groentegewassen, lichtminnende siergewassen en schaduwminnende siergewassen.

## 6.2 Lichtminnende (vrucht)groente gewassen

Zoals eerder vermeld, vond Bakker (1991) een positief effect van VPD op de huidmondjes dichtheid en grootte terwijl dit geen meetbaar positief effect had op de verdamping van tomaat, paprika, aubergine en komkommer. Bij deze gewassen blijkt de geleidbaarheid zelden limiterend te zijn voor de fotosynthese (zie Fig. 2; Pot & Trouwborst, 2010; Schapendonk, 2008; Hogewoning et al. 2010). Ook bij het gewas aardbei werden hoge geleidbaarheden gemeten (Pot et al. 2010). Dit is in mindere mate het geval voor paprika (Schapendonk et al. 2009). Hoge geleidbaarheden wijzen er wel op dat de huidmondjesanatomie niet beperkend is voor de fotosynthese. Een momentopname waarbij een hoge geleidbaarheid wordt geconstateerd bij een soort is dus erg waardevol omdat tenminste is vastgelegd dat de potentie voor een snelle CO<sub>2</sub> opname en een goede gewascooling aanwezig is. Het blijft echter een momentopname en de manier waarop de huidmondjes reageren op omgevingsfactoren (huidmondjesfysiologie) blijft naast de anatomische eigenschappen van groot belang. Een tweede factor die van belang is bij het vaststellen van aanknopingspunten voor verbetering van de gewasfotosynthese, c.q. het koelend vermogen van een soort is de snelheid waarmee bladeren verouderen of de turn-over van bladeren door bladknippen. Vruchtgroente gewassen zoals tomaat en komkommer hebben een snelle bladafplitsingssnelheid van 3 to 7 bladeren per week. Beïnvloeding van de huidmondjesanatomie op een bepaald moment zal dan al snel geen effect meer hebben op een later moment omdat er dan alweer nieuwe bladeren zijn aangelegd. De conclusie is dan ook dat de huidmondjesanatomie voor vruchtgroente gewassen weinig aanknopingspunten biedt voor verdere verbetering.

Er zijn ook onderzoeken geweest om de transpiratie te verminderen door bijvoorbeeld het toepassen van verdampingsremmers (Marcelis *et al.*, 2005). Bij een verminderde transpiratie hoeft er minder drooggestookt te worden, wat een energiebesparing kan opleveren. Hiervoor zou de huidmondjesanatomie juist negatief beïnvloed kunnen worden. Echter zoals eerder aangegeven hebben kortdurende maatregelen door de hoge bladafplitsingssnelheid weinig zin. Maatregelen die sturen op huidmondjessluiting, dus sturing op de fysiologie in plaats van op de anatomie zijn dan effectiever. Een mogelijk sturing om de verdamping te verlagen kan via het gebruik van groen assimilatielicht plaatsvinden (Talbot *et al.*, 2006; Talbot *et al.*, 2002). Doordat groen licht op bladniveau slechter geabsorbeerd wordt, wordt groen licht ook beter verdeeld over het hele gewas wat de lichtbenutting verhoogd (Schapendonk *et al.* 2010).

## 6.3 Lichtminnende siergewassen

Plantenpaspoort roos liet zien dat de groei van rozen gewassen, onder bepaalde omstandigheden, gelimiteerd worden door de huidmondjesopening (Schapendonk *et al.*, 2010). Dit gebeurt op dagen met hoge instraling als de bladtemperatuur in de middag boven 28-32 C oploopt of als er veel gelucht moest worden terwijl het buiten relatief koud is en zo de VPD in de kas sterk oploopt. De fotosynthese is op die momenten laag door sluiting van de huidmondjes en er kan makkelijk lichtstress en lichtschade ontstaan doordat de CO<sub>2</sub> concentratie in het blad te laag wordt. Bij een aantal hoogverdampende cultivars zoals *Rosa hybrida* 'Avalanche' blijft de fotosynthese echter op een hoog niveau en is de kans op lichtstress en schade veel kleiner. Hier zou dus beïnvloeding van de huidmondjesanatomie een positief effect kunnen hebben. Doordat de genetische variatie binnen roos zo groot en ook bekend is, ligt het voor de hand om via veredeling de gewenste eigenschappen in te kruisen. Dit is effectiever dan een methode waarbij door aanpassing wordt geprobeerd om meer, dan wel grotere huidmondjes te induceren.

Chrysant is een gewas waar doorlopend hele hoge geleidbaarheden worden gemeten (Schapendonk en Pot, 2008b). Bij Gerbera zijn de huidmondjes gevoeliger maar in potentie is er een hoge geleidbaarheid aanwezig. (Schapendonk en Pot, 2007). Voor beide gewassen kan de conclusie getrokken worden dat de huidmondjesanatomie niet de beperkende factor is.

## 6.4 Schaduwminnende siergewassen

De grootste winst bij een vergroting van het aantal of de grootte van huidmondjes, is te behalen bij schaduwminnende C3 planten waarbij de huidmondjesopening vaak sterk limiterend voor de CO<sub>2</sub> opname en daarmee op de fotosynthese is; planten zoals *Anthurium*, *Areca*, *Alstroemeria*, *Cymbidium*, *Cambria*, *Kentia*, *Miltonia*, *Spathyphillum* etc. (Schapendonk en Pot, 2008a; Pot en Schapendonk, 2009ab; Trouwborst et al. 2010ab; van Telgen et al. 2006). De praktijk is dat er voor deze planten veel 'gratis' zonlicht wordt weggeschermd om opwarming en foto-inhibitie te voorkomen. Bijna al deze planten zouden beter groeien en minder kans op lichtschade hebben, als de koelcapaciteit en het interne CO<sub>2</sub> in het blad kan worden opgevijseld. De enige mogelijkheid om dit te realiseren (op lichtvermindering na) is een hogere geleidbaarheid van de huidmondjes of een hogere externe CO<sub>2</sub> concentratie. Het laatste is in de praktijk al een gangbare maatregel maar verhoging van de geleidbaarheid is momenteel alleen via sturing op de RV toegepast. Er is echter een bijzonder aantrekkelijk alternatief: een langdurige verhoging van de geleidbaarheid door een ophoging van het totale geleidbaarheidsniveau via een toename van het aantal en/of de grootte van huidmondjes. Dit heeft het bijkomend voordeel dat de teelt minder afhankelijk wordt van de fysiologische sturing door VPD. Het koelend vermogen van de bladeren zal toenemen waardoor een kritische waarde van de VPD die huidmondjessluiting induceert minder snel bereikt worden. Het eindresultaat van bladeren met meer dan wel grotere huidmondjes is een verbeterde CO<sub>2</sub> opname, hogere lichtbenutting met minder lichtschade, betere gewaskoeling en bovendien een verminderde afhankelijkheid van de VPD. Dit betekent een stabielere teelt met sterk verminderde risico's, zoals we hebben laten zien voor

Anthurium. Door het toelaten van meer 'gratis' daglicht kan de fotosynthese met 30-60% toenemen zonder dat er blijvende lichtstress of lichtschade optreed (Trouwborst et al. 2010b).

## 6.5 Vervolgonderzoek

Vervolgonderzoek zal dus bij voorkeur gericht moeten worden op de schaduwminnende C3 planten met huidmondjeslimitatie. Doordat er in de literatuur weinig tot niets bekend is over aanpassingen in de huidmondjesanatomie voor dit type gewassen is een 'proof of principle' nodig om kansen voor een aantal belangrijke gewassen in kaart te brengen. Deze 'proof of principle' zal onder gecontroleerde klimaatcondities moeten plaats vinden waarbij de plantwaterstatus en temperatuur optimaal zijn. Als positieve sturing kan er gekozen worden voor een lage VPD, een verhoging in lichtintensiteit of een verandering in lichtspectrum. De stuurfactoren die het dichtst bij de praktijk staan zijn VPD en lichtintensiteit. Bij planten zoals *Miltonia* die een duidelijke voorkweekfase kennen waarin eigenlijk alle bladeren worden aangelegd, zou ook gezocht kunnen worden naar een optimaal lichtspectrum die de koelcapaciteit gedurende deze fase sterk kan vergroten. Dit levert waarschijnlijk extra voordeel in latere fases van de teelt (inductiefase en afkweekfase).

# Literatuur

- Ainsworth EA, Rogers A.** 2007. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO<sub>2</sub>]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* **30**, 258-270.
- Bakker JC.** 1991. Effects of humidity on stomatal density and its relation to leaf conductance. *Scientia Horticulturae* **48**, 205-212.
- Beerling DJ, Chaloner WG.** 1993. The impact of atmospheric CO<sub>2</sub> and temperature -change on stomatal density- observations from *Quercus-Robur* Lammas leaves. *Annals of Botany* **71**, 231-235.
- Buckley TN.** 2005. The control of stomata by water balance. *New Phytologist* **168**, 275-292.
- Buttery BR, Tan CS, Buzzell RI, Gaynor JD, Mactavish DC.** 1993. Stomatal numbers of soybean and response to water-stress. *Plant and Soil* **149**, 283-288.
- Casson S, Gray JE.** 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist* **178**, 9-23.
- Casson SA, Franklin KA, Gray JE, Grierson CS, Whitelam GC, Hetherington AM.** 2009. phytochrome B and PIF4 Regulate Stomatal Development in Response to Light Quantity. *Current Biology* **19**, 229-234.
- Casson SA, Hetherington AM.** 2010. Environmental regulation of stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology* **13**, 90-95.
- Coupe SA, Palmer BG, Lake JA, Overy SA, Oxborough K, Woodward FI, Gray JE, Quick WP.** 2006. Systemic signalling of environmental cues in Arabidopsis leaves. *J. Exp. Bot.* **57**, 329-341.
- Cutler JM, Rains DW, Loomis RS.** 1977. The Importance of Cell Size in the Water Relations of Plants. *Physiologia Plantarum* **40**, 255-260.
- El-Sharkawy M, Cock J, Hernandez A.** 1985. Stomatal response to air humidity and its relation to stomatal density in a wide range of warm climate species. *Photosynthesis Research* **7**, 137-149.
- Farquhar GD, Sharkey TD.** 1982. Stomatal Conductance and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* **33**, 317-345.
- Ferris R, Nijs I, Behaeghe T, Impens I.** 1996. Elevated CO<sub>2</sub> and Temperature have Different Effects on Leaf Anatomy of Perennial Ryegrass in Spring and Summer. *Ann Bot* **78**, 489-497.
- Furukawa A.** 1997. Stomatal frequency of *Quercus myrsinaefolia* grown under different irradiances. *Photosynthetica* **34**, 195-199.
- Galmés J, Flexas J, Savé R, Medrano H.** 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil* **290**, 139-155.
- Hetherington AM, Woodward FI.** 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* **424**, 901-908.
- Hogewoning SW, Trouwborst G, Maljaars H, Poorter H, van Ieperen W, Harbinson J.** 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *J. Exp. Bot.* **61**, 3107-3117.
- Hovenden MJ.** 2001. The influence of temperature and genotype on the growth and stomatal morphology of southern beech, *Nothofagus cunninghamii* (Nothofagaceae). *Australian Journal of Botany* **49**, 427-434.
- Hunt L, Bailey K, Gray J.** 2010. The signalling peptide EPFL9 is a positive regulator of stomatal development. *The New phytologist*.
- Jones H.** 1987. Breeding for stomatal characters. *Stomatal function*, 431-443.
- KAISER H.** 2009. The relation between stomatal aperture and gas exchange under consideration of pore geometry and diffusional resistance in the mesophyll. *Plant, Cell & Environment* **32**, 1091-1098.
- Kaiser H, Kappen L.** 2000. In situ observation of stomatal movements and gas exchange of *Aegopodium podagraria* L. in the understory. *J. Exp. Bot.* **51**, 1741-1749.
- Kaiser H, Kappen L.** 2001. Stomatal oscillations at small apertures: indications for a fundamental insufficiency of stomatal feedback-control inherent in the stomatal turgor mechanism. *J. Exp. Bot.* **52**, 1303-1313.
- Kim SJ, Hahn EJ, Heo JW, Paek KY.** 2004. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets in vitro. *Scientia Horticulturae* **101**, 143-151.
- Korner C, Larcher W.** 1988. Plant life in cold climates. In: Long SP, Woodward FI, eds. *Plants and temperature*. Cambridge, UK: Society for Experimental Biology, 25-57.
- Lake JA, Quick WP, Beerling DJ, Woodward FI.** 2001. Plant development: Signals from mature to new leaves. *Nature* **411**, 154-154.

- Lake JA, Woodward FI.** 2008. Response of stomatal numbers to CO<sub>2</sub> and humidity: control by transpiration rate and abscisic acid. *New Phytologist* **179**, 397-404.
- Lampard G.** 2009. The missing link?: Arabidopsis SPCH is a MAPK specificity factor that controls entry into the stomatal lineage. *Plant signaling & behavior* **4**, 425.
- Lecoœur J, Wery J, Turc O, Tardieu F.** 1995. Expansion of pea leaves subjected to short water deficit: cell number and cell size are sensitive to stress at different periods of leaf development. *J. Exp. Bot.* **46**, 1093-1101.
- Lee S-H, Tewari R, Hahn E-J, Paek K-Y.** 2007. Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania Somnifera* (L.) Dunal. plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **90**, 141-151.
- Luomala EM, Laitinen K, Sutinen S, Kellomaki S, Vapaavuori E.** 2005. Stomatal density, anatomy and nutrient concentrations of Scots pine needles are affected by elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Plant, Cell & Environment* **28**, 733-749.
- Marcelis L, Grashoff K, van der Zweerde W, Kempkes F, Stanghellini C.** 2005. *Reductie van verdamping door verhoging van bladweerstand middels anti-transpiranten : haalbaarheidsstudie*. Wageningen: Plant Research International.
- McCree KJ, Davis SD.** 1974. Effect of Water Stress and Temperature on Leaf Size and on Size and Number of Epidermal Cells in Grain Sorghum. *Crop Sci* **14**, 751-755.
- Miyazawa S-I, Livingston NJ, Turpin DH.** 2006. Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpax*P. deltoides). *J. Exp. Bot.* **57**, 373-380.
- Morgan JA, Hunt HW, Monz CA, Lecain DR.** 1994. Consequences of growth at two carbon dioxide concentrations and two temperatures for leaf gas exchange in *Pascopyrum smithii* (C3) and *Bouteloua gracilis* (C4)\*. *Plant, Cell and Environment* **17**, 1023-1033.
- Nadeau JA.** 2009. Stomatal development: new signals and fate determinants. *Current Opinion in Plant Biology* **12**, 29-35.
- Nerkar YS, Wilson D, Lawes DA.** 1981. Genetic variation in stomatal characteristics and behaviour, water use and growth of five *Vicia faba* L. genotypes under contrasting soil moisture regimes. *Euphytica* **30**, 335-345.
- Pearce DW, Millard S, Bray DF, Rood SB.** 2006. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiol* **26**, 211-218.
- Pot CS, Schapendonk AHCM.** 2009a. Belichtingsproef Alstroemeria, deelonderzoek fotosynthese, Plant Dynamics B.V., Wageningen. p10. *vertrouwelijk rapport*.
- Pot CS, Schapendonk AHCM.** 2009b. Fotosynthese response bij Palmen, Dieffenbachia en Medinilla bij extra CO<sub>2</sub> en licht, Plant Dynamics B.V., Wageningen. p18. *vertrouwelijk rapport*.
- Pot CS, Trouwborst G.** 2010. Chlorofyl fluorescentiemetingen bij vijf tomatenrassen, Plant Dynamics B.V., Wageningen. 12p. *vertrouwelijk rapport*.
- Pot CS, Schapendonk AHCM, Trouwborst G.** 2010. Fotosynthesekarakteristieken Elsanta, Plant Dynamics B.V., Wageningen. p30, *vertrouwelijk rapport*.
- Poudel P, Kataoka I, Mochioka R.** 2008. Effect of red- and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **92**, 147-153.
- Savvides A.** 2009. Impacts of LED light on leaf hydraulic architecture, sensitivity to water stress, and photosynthesis, Wageningen University, Wageningen, 85p.
- Schapendonk AHCM, Pot CS.** 2008a. Fotosynthese onderzoek Miltonia (deel 4). Plant Dynamics B.V., Wageningen. p19. *vertrouwelijk rapport*.
- Schapendonk AHCM, Pot CS.** 2008b. Plantenpaspoort Chrysant. Plant Dynamics B.V., Wageningen. p19. *vertrouwelijk rapport*.
- Schapendonk AHCM, Pot CS, Trouwborst G, Rappoldt C.** 2010. Optimale hybride belichting bij tomaat: Perspectieven voor het nieuwe telen. Plant-Dynamics B.V. en EcoCurves, Wageningen. 39p.
- Schapendonk AHCM, Pot CS, Rappoldt C, Nederhoff E.** 2009. Assimilatiebelichting Paprika ; Scenario analyse LED en SON-t, Plant-Dynamics B.V. en EcoCurves, Wageningen. 38p.
- Schapendonk AHCM.** 2008. Prominent, Modelanalyse Optomaat explorer 2007-2008. Plant Dynamics B.V., Wageningen. 23p.
- Schapendonk AHCM, Pot SC, Rappoldt C.** 2010. Plantenpaspoort roos: Sleutel voor optimale productie. Wageningen: Plant Dynamics B.V., 109p.
- Schluter U, Muschak M, Berger D, Altmann T.** 2003. Photosynthetic performance of an Arabidopsis mutant with elevated stomatal density (sdd1-1) under different light regimes. *J. Exp. Bot.* **54**, 867-874.
- Schoch PG, Jacques R, Lecharyn A, Sibi M.** 1984. Dependence of the stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna-Sinensis* L. 2. effect of different light quality. *Journal Of Experimental Botany* **35**, 1405-1409.

- Schoch PG, Zinsou C, Sibi M.** 1980. Dependence of the stomatal index on environmental-factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna-Sinensis* L. 1. Effect of light-intensity. *Journal Of Experimental Botany* **31**, 1211-1216.
- Serna L, Fenoll C.** 1997. Tracing the ontogeny of stomatal clusters in *Arabidopsis* with molecular markers. *The Plant Journal* **12**, 747-755.
- Shimazaki K-i, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T.** 2007. Light Regulation of Stomatal Movement. *Annual Review of Plant Biology* **58**, 219-247.
- Smith S, Weyers JDB, Berry WG.** 1989. Variation in stomatal characteristics over the lower surface of *Commelina-Cummunis* leaves. *Plant Cell And Environment* **12**, 653-659.
- Spence RD, Wu H, Sharpe PJH, Clarck KG.** 1986. Water stress effects on guard cell anatomy and the mechanical advantage of the epidermal cells. *Plant, Cell and Environment* **9**, 197-202.
- Talbott LD, Hammad JW, Harn LC, Nguyen VH, Patel J, Zeiger E.** 2006. Reversal by green light of blue light-stimulated stomatal opening in intact, attached leaves of *Arabidopsis* operates only in the potassium-dependent, morning phase of movement. *Plant And Cell Physiology* **47**, 332-339.
- Talbott LD, Nikolova G, Ortiz A, Shmayevich I, Zeiger E.** 2002. Green light reversal of blue-light-stimulated stomatal opening is found in a diversity of plant species. *American Journal of Botany* **89**, 366-368.
- Thomas PW, Woodward FI, Quick WP.** 2004. Systemic irradiance signalling in tobacco. *New Phytologist* **161**, 193-198.
- Trouwborst G, Pot CS, Schapendonk AHCM.** 2010a. Tussenrapportage Growsense 2 fase 2, Plant Dynamics B.V., Wageningen. p15, *vertrouwelijk rapport*.
- Trouwborst G, Pot CS, Schapendonk AHCM.** 2010b. Teeltoptimalisatie *Miltonia* onderzoek naar grenswaarden voor lichtintensiteit en VPD, Plant Dynamics B.V., Wageningen. p42.
- van Telgen HJ, Voogt JO, Warmenhoven M, van Weel PA.** 2009. *Huidmondjesopening : onderzoek naar het meetbaar maken van de huidmondjesopening met als doel om de klimaatregeling mede daarop te baseren*. Bleiswijk: Wageningen UR Glastuinbouw.
- Van Telgen HJ, Van Noort F, Schapendonk AHCM.** 2006. Optimalisatie lichtomstandigheden Palmen, onderzoek naar de hoeveelheid toelaatbaar licht in een palmenteelt. Praktijkonderzoek Plant en Omgeving B.V. Glastuinbouw, Naaldwijk. p31.
- Volenikova M, Ticha I.** 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiana tabacum* L. plantlets. *Biologia Plantarum* **44**, 161-165.
- Woodward F, Kelly C.** 1995. The influence of CO<sub>2</sub> concentration on stomatal density. *New Phytologist* **131**, 311-327.
- Xu Z, Zhou G.** 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *J. Exp. Bot.* **59**, 3317-3325.
- Xu ZZ, Zhou GS, Shimizu H.** 2009. Effects of Soil Drought with Nocturnal Warming on Leaf Stomatal Traits and Mesophyll Cell Ultrastructure of a Perennial Grass. *Crop Sci* **49**, 1843-1851.
- Yano S, Terashima I.** 2001. Separate localization of light signal perception for sun or shade type chloroplast and palisade tissue differentiation in *Chenopodium album*. *Plant And Cell Physiology* **42**, 1303-1310.
- Yano S, Terashima I.** 2004. Developmental process of sun and shade leaves in *Chenopodium album* L. *Plant Cell And Environment* **27**, 781-793.
- Zeiger E, Field C, Mooney H.** 1981. Stomatal opening at dawn: possible roles of the blue-light response in nature. In: Smith H, ed. *Plants and the daylight spectrum*. London: Academic Press, 508.