

Proefstation voor de Bloemisterij
Linnaeuslaan 2a
1431 JV Aalsmeer
Tel: 02977 - 52525

ISSN 0921-710X

CO₂-OPNAME BIJ KALANCHOE

Proef 2206.02

Rapport 165 Prijs: f 10,-



Febr 1994

Aalsmeer, januari 1994
Ing. H. Verberkt

165 = 594043

Rapport nr. 165 wordt u toegezonden na storting van f 10,- op gironr. 174855 ten name van het Proefstation Aalsmeer, onder vermelding van Rapport 165: "CO₂-opname bij Kalanchoe"



INHOUD

	blz.
1. Inleiding en doel	3
2. Materiaal en methode	4
2.1. Proefopzet	4
2.2. Accomodatie	4
2.3. Teeltgegevens	4
2.4. Waarnemingen	5
3. Resultaten	7
3.1. Klimaatrealisatie	7
3.2. Vers- en drooggewicht	8
3.3. Huidmondjesweerstand	11
3.4. L-malic acid-bepalingen	11
3.5. Discussie	15
4. Conclusie en aanbevelingen	16
Literatuur	
Bijlagen	
1. Proefschema	
2. Beschrijving L-malic acid-bepalingen	
3. Gerealiseerde klimaatgegevens	
4. Overzicht vers- en drooggewichten	

CO₂-OPNAME BIJ KALANCHOE

1. INLEIDING EN DOEL

De meeste gewassen in onze kassen zijn C3-planten. Deze nemen overdag CO₂ op en gebruiken deze direct in de fotosynthese voor de produktie van koolhydraten. Een Kalanchoe is oorspronkelijk een CAM-plant (Crassulacean Acid Metabolism). Een CAM-plant neemt in de nacht CO₂ op en legt dit chemisch vast in malaat (malic acid). Overdag wordt onder invloed van licht de vastgelegde CO₂ gebruikt voor de fotosynthese. CAM komt veelal voor bij planten die in de natuur bij hoge dag- en lage nachttemperaturen en een beperkte watervoorziening groeien. Om de verdamping zoveel mogelijk te beperken blijven bij deze planten overdag de huidmondjes gesloten. Hierdoor kan overdag geen CO₂ opgenomen worden. Om toch de voor de fotosynthese benodigde CO₂ op te kunnen nemen worden in de nacht de huidmondjes geopend en wordt CO₂ opgenomen en vastgelegd. CAM wordt vooral aangetroffen in succulenten, waaronder Kalanchoe.

Onduidelijk is of een (produktie)Kalanchoe, na alle veredelingsactiviteiten en aangepaste teeltoomstandigheden nog als CAM-plant assimileert. Daarnaast kunnen factoren als daglengte, ontwikkelingsstadium en klimaat ook invloed hebben op de wijze waarop Kalanchoe assimileert. Afhankelijk van de wijze waarop Kalanchoe assimileert zal het tijdstip van CO₂-toediening verschillend moeten zijn. Bij een CAM-type zal 's nachts CO₂ gedoseerd moeten worden, terwijl bij het C3-schema overdag CO₂ gedoseerd moet worden. In de praktijk wordt, uit voorzorg, bij Kalanchoe veelal 24 uur per dag CO₂ gedoseerd.

Een Kalanchoe is een kortedag-plant. De moerplanten en de stekken worden onder langedag-omstandigheden geteeld. Voor de bloeiinductie en -aanleg is kortedag vereist. Voor een juiste toediening van CO₂ bij Kalanchoe is het van belang te weten, zowel onder lange- als onder kortedagomstandigheden, op welke wijze Kalanchoe assimileert.

Het doel van dit onderzoek was inzicht verkrijgen op de wijze waarop een Kalanchoe assimileert om aan de hand daarvan het optimale tijdstip van CO₂-toediening bij Kalanchoe vast te stellen.

2. MATERIAAL EN METHODE

2.1. Proefopzet

In tabel 1 is een overzicht weergegeven van de proeffactoren met de bijbehorende niveaus. Ter oriëntatie zijn ook een aantal botanische rassen in dit onderzoek opgenomen. De proef is in drievoud uitgevoerd. Per afdeling is één daglengte-behandeling en één CO₂-behandeling gegeven. In totaal waren 2 * 3 * 3 = 18 gelijke kassen beschikbaar voor dit onderzoek.

Tabel 1. Proeffactoren met bijbehorende niveaus

Factor	aantal niveaus	beschrijving
* daglengte	2	- kortedag (= KD) - langedag (= LD)
* tijdstip van toediening CO ₂	3	- geen - overdag 800 ppm - 's nachts 800 ppm
* cultivar	2	- 'Singapore' - 'Mistral'

2.2. Accomodatie

Deze proef is uitgevoerd in 18 afdelingen van het kassencomplex 210 A, 210 B en 210 C (afdelingen 1 t/m 3 en 5 t/m 7) op het PTG te Naaldwijk. Negen afdelingen waren voorzien van een belichtingsinstallatie met gloeilampen om langedag te realiseren. In de andere negen afdelingen werd korte dag aangehouden. In deze kassen werden de kassen handmatig afgeschermd voor stuurlicht met zwart folie. De langedag startte om 6.00 uur en eindigde om 21.00 uur. De kortedag ging in om 8.00 uur en eindigde om 17.00 uur. In elke kas was de CO₂-concentratie apart regelbaar. Het proefschema is weergegeven in bijlage 1.

2.3. Teeltgegevens

In dit onderzoek is uitgegaan van bewortelde, getopte stekken die vier tot vijf weken langedag hebben gehad. De planten zijn opgekweekt in de praktijk. De planten stonden in een 10,5 cm-pot. In week 7 (1992) zijn de behandelingen van start gegaan. In de kassen is een ruimtetemperatuur van 20°C aangehouden. Boven de 22°C is gestart met luchten. De planten zijn geteeld op goten met daarin een bevloeiingsmat. De planten zijn direct op eindafstand in de goten gezet. Afhankelijk van de behoefte werd door middel van druppelaars één tot drie maal per dag water gegeven op de matten. De planten konden hierdoor continu over voldoende water beschikken. Bij elke

gietbeurt is voeding meegegeven. In tabel 2 is een overzicht gegeven van de samenstelling van de voedingsoplossing. Gestart is met een EC in het gietwater van 1,6 mS/cm. Tussentijds is de EC verhoogd naar 2,0 mS/cm, waarna deze weer teruggebracht is naar 1,6 mS/cm. De helft van de planten is vier maal geremd met 4 g Alar-64 per liter water. De andere helft is niet geremd. Om de twee weken, vanaf start proef, is geremd. 'Singapore' is enkele dagen eerder geremd. Er is éénmaal met Pirimor gespoten tegen een luisaantasting.

Tabel 2. Samenstelling voedingsoplossing

NH_4^+ (mmol/l)	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	NO_3^-	SO_4^{--}	H_2PO_4^-
1,1	5,5	3,0	0,75	10,6	1,0	1,5
Fe ($\mu\text{mol/l}$)	Mn	Zn	B	Cu	Mo	
15	5	3	10	0,50	0,50	

2.4. Waarnemingen

Om na te gaan wat de gerealiseerde temperaturen zijn geweest en in hoeverre de CO_2 -behandelingen zijn gerealiseerd, zijn een groot aantal klimaatwaarnemingen verricht en opgeslagen. Om de 12 minuten zijn in elke kas de natte- en drogeboltemperatuur en de CO_2 -concentratie gemeten en geregistreerd. Uit deze gegevens zijn uur-, dagdeel- en etmaalgemiddelden berekend.

Om na te gaan in hoeverre de CO_2 -concentratie op de diverse tijdstippen invloed had op de groei van het gewas zijn aan het einde van de teelt (week 17) gewichtswaarnemingen verricht. Per behandeling en per ras zijn van 3 x 10 planten het vers- en drooggewicht bepaald. Het gewicht van bloemen en bloemstelen is apart bepaald. Deze waarnemingen zijn verricht aan de ongeremde planten. De waarnemingen zijn met behulp van variantie-analyse getoetst op significante verschillen tussen de behandelingen. Er is getoetst met een onbetrouwbaarheid van maximaal 5% ($p \leq 0,05$).

Aan het einde van de teelt is de huidmondjesweerstand gemeten door de diffusieweerstand van het blad voor water te meten met een porometer (LI-1600). De huidmondjesweerstand is een maat voor de openings-toestand van de huidmondjes. Bij een zeer hoge huidmondjesweerstand zijn de huidmondjes gesloten. Naarmate de huidmondjesweerstand lager is zijn de huidmondjes verder geopend. De diffusieweerstand van het blad voor water is gedurende 24 uur met een porometer gemeten. De metingen zijn gedaan aan jonge en oudere bladeren van volwassen

planten. De diffusieweerstand van het blad is gemeten aan planten uit de controle-kassen (geen extra CO₂ toediening). Dit is zowel gedaan in de langedag- als in de kortedagkassen. De weersomstandigheden buiten waren zonnig met af en toe wat bewolking.

Om na te gaan in hoeverre de planten CO₂ vastleggen in L-malic acid, zijn gedurende 28 uur achter elkaar om het uur bladmonsters geplukt uit de controlekassen (geen extra CO₂-toediening). Dit is zowel gedaan in de langedag- als in de kortedagkassen. De monsters bestonden uit net uitgegroeide bladeren van volwassen planten. Deze monsters zijn direct na het verzamelen ingevroren. Later in het laboratorium zijn L-malic acid-metingen aan deze bladeren verricht. In bijlage 2 is een beschrijving van de L-malic-acid bepalingen weergegeven.

3. RESULTATEN

3.1. Klimaatrealisatie

In tabel 3 is de gemiddelde etmaaltemperatuur over de gehele proefperiode per behandeling weergegeven. In bijlage 3 zijn deze nog eens gemiddeld per afdeling, per week en gemiddeld per behandeling weergegeven. Tussen de behandelingen zijn geen grote verschillen in etmaaltemperatuur geconstateerd. Naarmate de proef verder vorderde, liep -onder invloed van de instraling- de gemiddelde etmaaltemperatuur iets op. In de kassen waar KD is aangehouden bleef de temperatuur in de nacht onder het folie iets hoger, wat resulteerde in een gemiddeld hogere etmaaltemperatuur ten opzichte van de kassen waarin LD is aangehouden.

Tabel 3. Gemiddelde etmaaltemperatuur ($^{\circ}\text{C}$) en gemiddelde CO_2 -concentraties (ppm) per behandeling.

dag- lengte	CO_2	etmaal temp. ($^{\circ}\text{C}$)	CO_2 -concentraties (ppm)		
			dag	nacht	etmaal
K.D.	-	21,0	411	486	463
K.D.	nacht	21,0	423	815	616
K.D.	dag	21,0	770	507	611
L.D.	-	20,6	398	460	436
L.D.	nacht	20,7	403	841	574
L.D.	dag	20,7	779	472	607

In tabel 3 en bijlage 3 staan de gerealiseerde gemiddelde CO_2 -concentraties weergegeven. Ten aanzien van de CO_2 -concentraties moeten een aantal opmerkingen geplaatst worden. Indien CO_2 gevraagd werd in de kassen is dit ook toegediend. Ook bij veel luchten is in dit onderzoek CO_2 gedoseerd. Met name in het begin van dit onderzoek weken de gerealiseerde CO_2 -concentraties af van de ingestelde concentraties (het buitenniveau bleek vrij hoog te zijn geweest, enkele dagen ± 450 ppm). Door een aantal aanpassingen aan de accommodatie en regeling zijn de grootste problemen na een aantal weken verholpen. De volgende aanpassingen zijn gedaan:

- In de corridors standaard de luchting op een kier gezet om een te hoge CO_2 -concentratie, veroorzaakt door een lekkende CO_2 -leiding, te voorkomen.
- Ruit laten plaatsen tussen een ruimte met hoge CO_2 -concentraties en de corridor.
- Extra afluchten in de kassen tussen overschakeling van dag naar nacht en andersom. Dit is gedaan om aanwezige hoge CO_2 -concentraties

terug te brengen naar het buitenniveau.

- Afluchten (5%) in de kassen waar niet gedoseerd werd maar waar de CO₂-concentraties te hoog opliepen (> 25 ppm boven buitenniveau).
- CO₂-scrubbers geplaatst in de afdelingen 1, 6, 13, 15, 18 en 23 om een teveel aan CO₂ uit de kassen te halen. In deze kassen werd KD gegeven en in de nacht werd geen CO₂ gedoseerd. Een teveel aan CO₂ kon, in verband met het dichtgetrokken folie, onvoldoende afgelucht worden in de nacht. De scrubbers werden in werking gezet boven een niveau van 375 ppm CO₂ en haalden de CO₂ uit de kaslucht.

Uit tabel 3 blijkt dat in de controlekassen (geen extra CO₂-toediening) de CO₂-concentratie ca. 450 ppm is geweest. Afhankelijk van de behandeling, overdag of in de nacht extra CO₂-dosereren, is het CO₂-niveau overdag of in de nacht hoger geweest.

3.2. Vers- en drooggewicht

Door het geven van LD in een aantal kassen bleven de planten in deze kassen vegetatief. Bij de planten in de kassen waar KD werd gegeven trad bloei op. Daar grote verschillen in plantvorm ontstonden (met en zonder bloeiende delen) zijn de LD-planten en de KD-planten apart statistisch geanalyseerd.

In figuur 1 en 2 zijn per ras de gemiddelde versgewichten per plant, per behandeling weergegeven aan het einde van dit onderzoek. Het betreft hier de planten die LD hebben gehad en dus geen bloemen hadden. Cijfermatig is dit nog eens in bijlage 4 weergegeven. Daarin staan eveneens de drooggewichten en drogestofpercentages. Het drogestofpercentage is berekend uit het vers- en drooggewicht. Er is een significant effect van het overdag toedienen van extra CO₂ geconstateerd op zowel het vers- als het drooggewicht. Dit nam duidelijk toe indien overdag extra CO₂ toegediend werd. 'Singapore' bleek sterker te reageren op CO₂-toediening overdag dan 'Mistral'. Het toedienen van CO₂ in de nacht had geen significant effect op deze planten. Het drogestofpercentage werd niet beïnvloed door het toedienen van extra CO₂.

Ook bij de planten die KD hebben gehad bleek het toedienen van extra CO₂ overdag effect te hebben. In figuur 3 en 4 is per ras het versgewicht in g per plant per behandeling weergegeven. De bijbehorende drooggewichten en drogestofpercentages staan vermeld in bijlage 4, alsmede de exacte cijfers behorende bij de figuren. Voor de beoordelingen zijn de vegetatieve delen en de generatieve delen (bloemen en bloemstelen) apart gewogen. Zowel het vers- als het drooggewicht van de vegetatieve delen nam significant toe door overdag extra CO₂ toe te dienen. Extra CO₂ toedienen in de nacht gaf gemiddeld wel een hoger gewicht van de vegetatieve delen, maar dit was niet significant. Het toedienen van CO₂ had geen effect op het drogestofpercentage van de vegetatieve delen.

Naast een significant effect op het vers- en drooggewicht van de vegetatieve delen gaf overdag extra CO₂ toedienen ook een significant

effect op de generatieve delen van de plant. Er zaten veel meer bloemstelen en bloemknoppen op de planten die overdag extra CO_2 toegediend hebben gekregen. Ook hier bleek het gewicht gemiddeld iets hoger te zijn door extra CO_2 toe te dienen in de nacht ten opzichte van geen extra CO_2 toedienen. Het effect was echter niet significant. CO_2 toedienen had geen effect op het drogestofpercentage van de bloemen en bloemstelen.

CO_2 --- = geen extra CO_2 -toediening
 CO_2 -N = 's nachts extra CO_2 -toediening tot 800 ppm
 CO_2 -D = overdag extra CO_2 -toediening tot 800 ppm

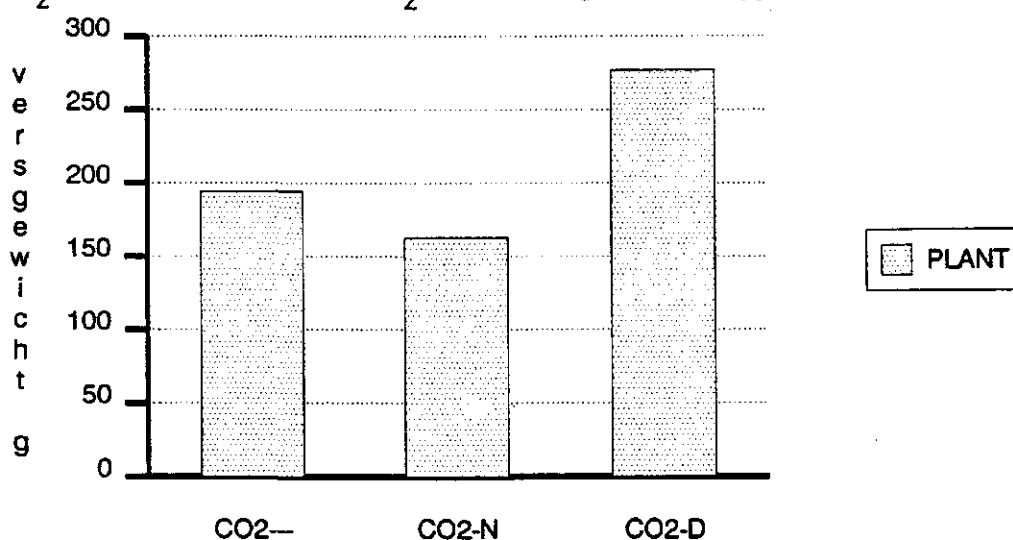


Fig 1. Gemiddeld versgewicht in g per plant Kalanchoe 'Mistral' LD-behandeling.

CO_2 --- = geen extra CO_2 -toediening
 CO_2 -N = 's nachts extra CO_2 -toediening tot 800 ppm
 CO_2 -D = overdag extra CO_2 -toediening tot 800 ppm

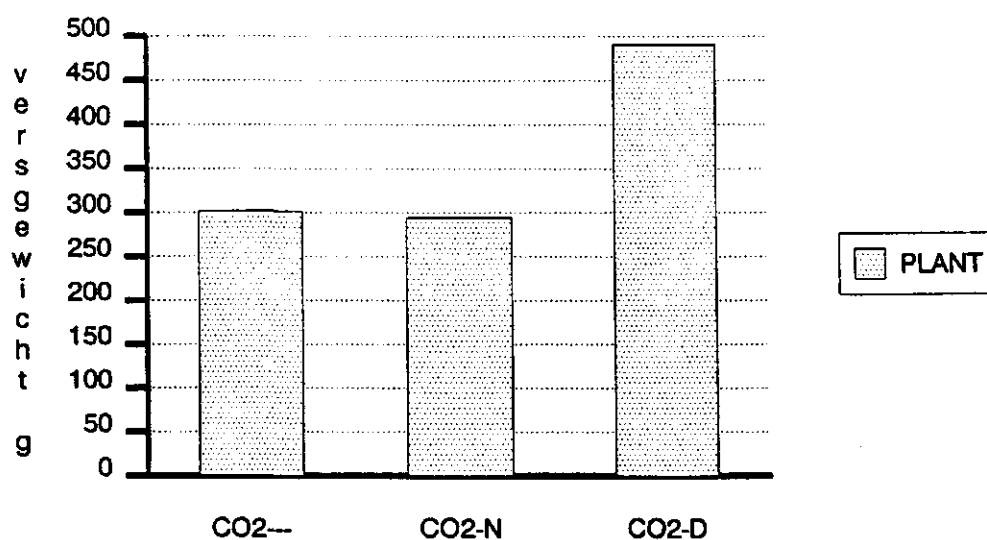


Fig 2. Gemiddeld versgewicht in g per plant Kalanchoe 'Singapore' LD-behandeling

CO₂--- = geen extra CO₂-toediening
 CO₂-N = 's nachts extra CO₂-toediening tot 800 ppm
 CO₂-D = overdag extra CO₂-toediening tot 800 ppm

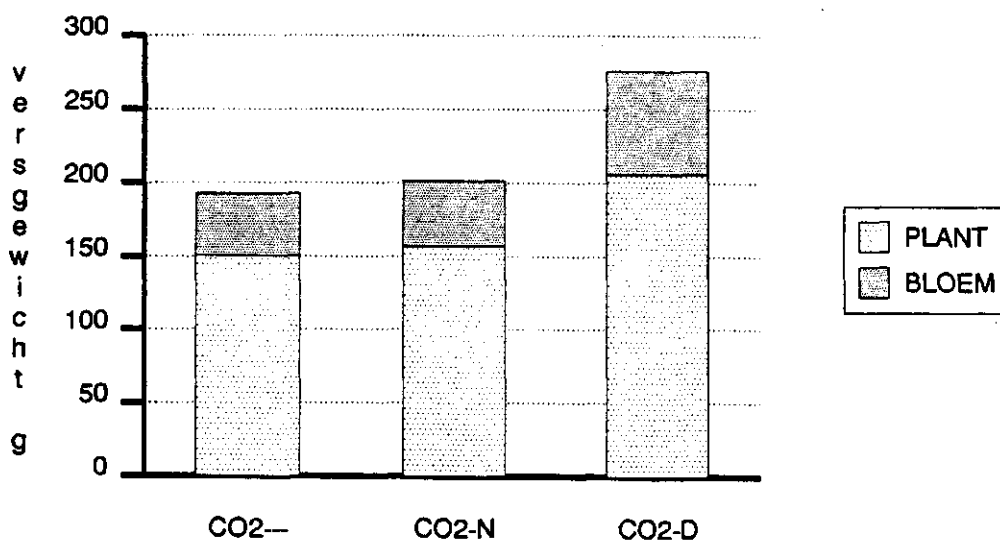


Fig 3. Gemiddeld versgewicht in g per plant Kalanchoe 'Mistral' KD-behandeling.

CO₂--- = geen extra CO₂-toediening
 CO₂-N = 's nachts extra CO₂-toediening tot 800 ppm
 CO₂-D = overdag extra CO₂-toediening tot 800 ppm

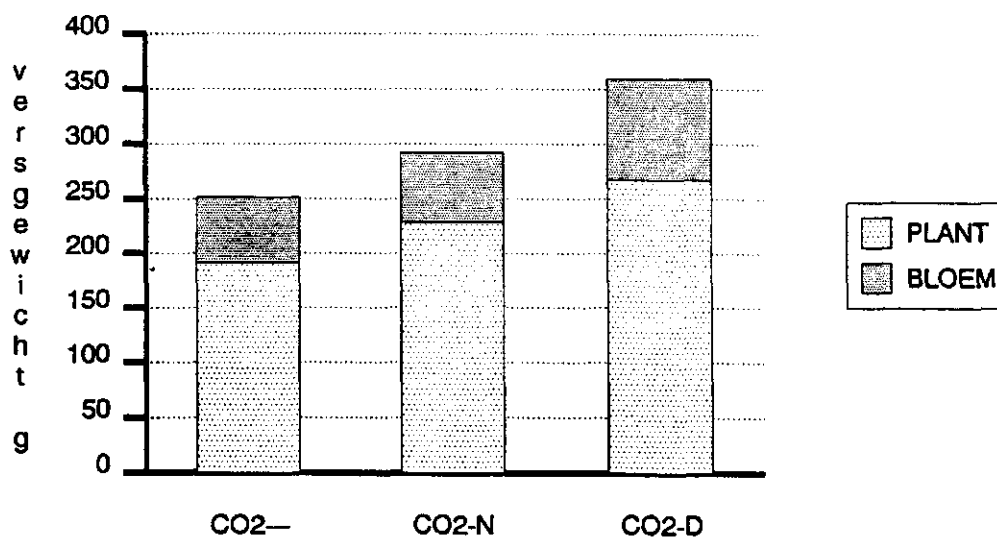


Fig 4. Gemiddeld versgewicht in g per plant Kalanchoe 'Singapore' KD-behandeling

3.3. Huidmondjesweerstand

Aan het einde van de teelt is de huidmondjesweerstand gemeten. Opgemerkt moet worden dat de huidmondjesweerstand vrij moeilijk te meten was, door het relatief dikke blad en snelle beschadiging van de bladeren. Daarnaast bleek er een grote variatie in de huidmondjesweerstand van de bladeren tussen de planten en binnen een plant te zijn.

In de langedag-kas zijn overdag, met name in het eerste gedeelte van de dag, aan de jonge bladeren vrij lage weerstanden gemeten (2 - 6 s/cm). Dat wil dus zeggen dat de huidmondjes geopend waren. In het tweede gedeelte van de dag zijn hogere weerstanden gemeten (± 10 s/cm). In de nacht was de weerstand zeer hoog (buiten het bereik) bij de jonge bladeren en waren de huidmondjes gesloten. Bij de oudere bladeren zijn zowel overdag als in de nacht hoge weerstanden gemeten (buiten het bereik).

Door het aanhouden van KD zijn 'Mistral' en 'Singapore' van vegetatief overgegaan in generatief. Hierdoor waren op het tijdstip dat de metingen met de porometer zijn verricht geen jonge bladeren aan deze planten. Zowel overdag als in de nacht zijn bij deze planten vrij hoge weerstanden aan de oude bladeren gemeten. Een van de botanische rassen ('Flammea') bleek nog vegetatief te zijn. Bij dit ras zijn aan de jonge bladeren in de KD-kassen overdag lage weerstanden gemeten (2 - 6 s/cm). In de avond zijn vrij hoge weerstanden gemeten. Midden in de nacht (2.00 uur) zijn weerstanden gemeten van (11 - 12,5 s/cm) waarna weer hogere weerstanden zijn gemeten tot aan de volgende ochtend. Aan de oudere bladeren zijn overdag vrij hoge weerstanden gemeten, evenals in de avond (20 s/cm - buiten bereik). In het tweede gedeelte van de nacht zijn iets lagere weerstanden gemeten tot ook heel hoge (buiten het bereik).

3.4. L-malic acid-bepalingen

Een CAM-plant legt in de nacht CO_2 vast in malaat (malic acid). In figuur 5 tot en met 10 is de hoeveelheid L-malic acid in het blad gedurende 28 uur weergegeven. Bij alle rassen en daglengten nam de hoeveelheid L-malic acid toe in de nacht. Overdag nam deze hoeveelheid weer af. Dit duidt erop dat de huidige geteelde Kalanchoe's het vermogen hebben behouden om CO_2 vast te leggen in L-malic acid. Bij de planten die KD hebben gehad werd een sterkere toename van L-malic acid geconstateerd dan bij planten die LD hebben gehad.

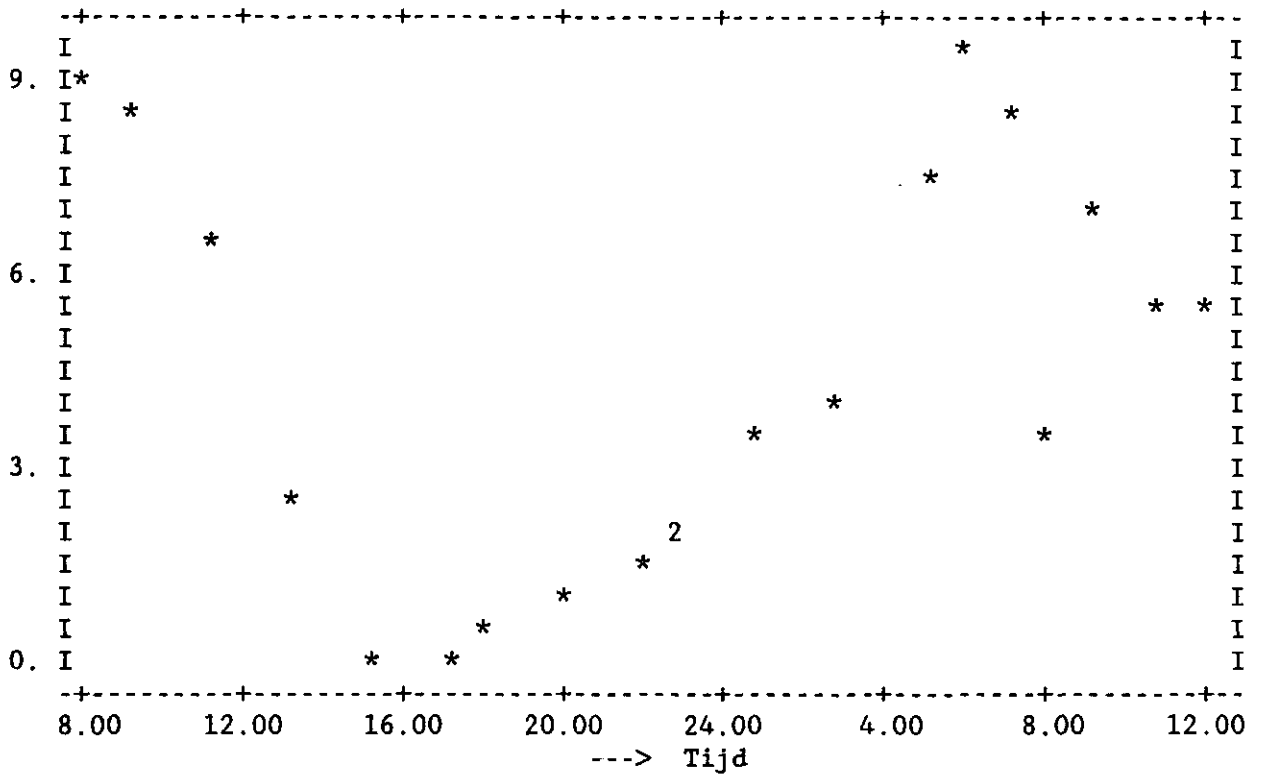


Fig 5. Gemeten hoeveelheid L-malic acid in mg/g blad Kalanchoe 'Mistral' KD-behandeling

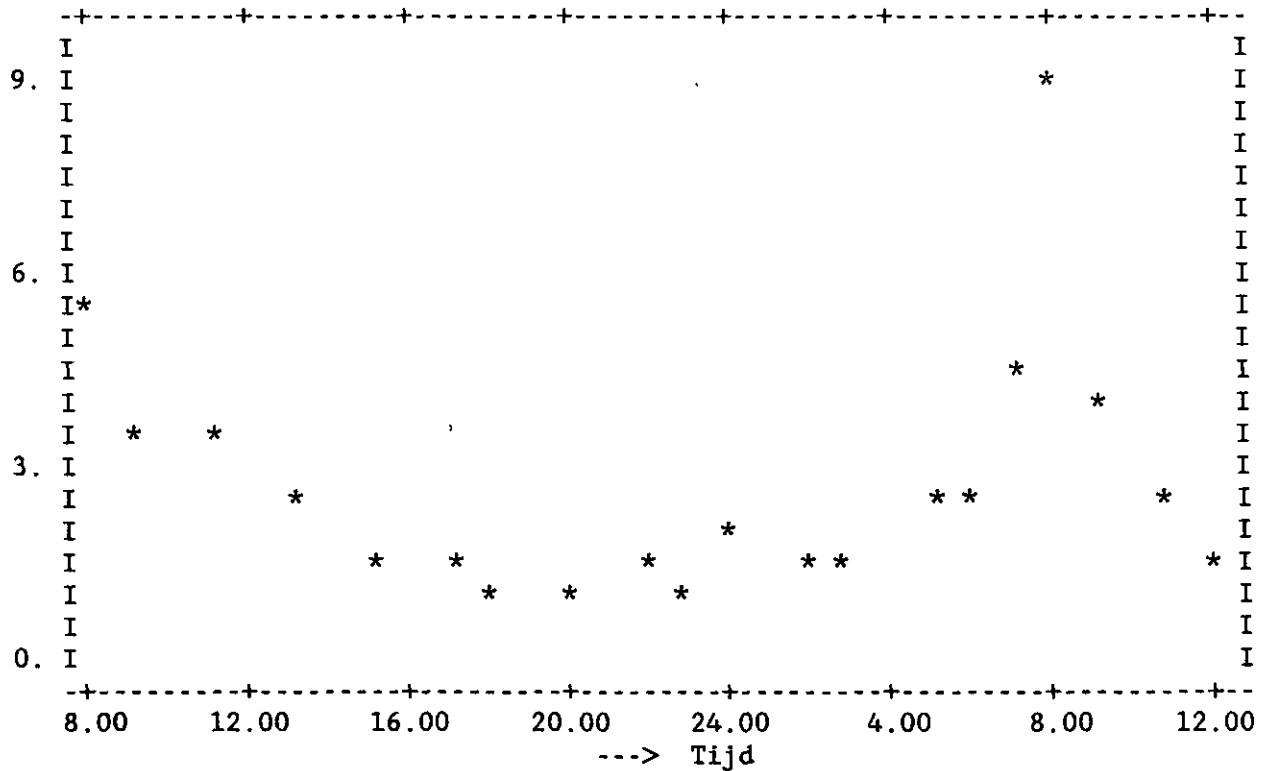


Fig 6. Gemeten hoeveelheid L-malic acid in mg/g blad Kalanchoe 'Mistral' LD-behandeling

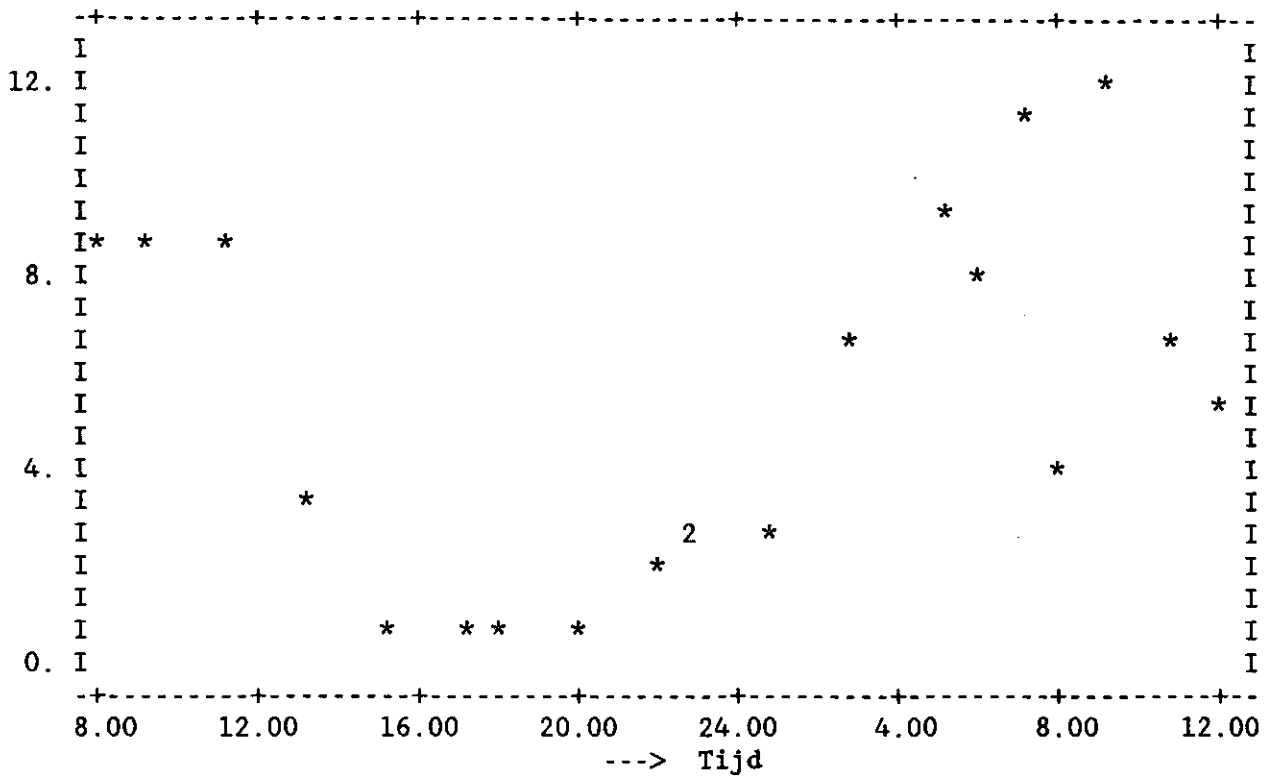


Fig 7. Gemeten hoeveelheid L-malic acid in mg/g blad Kalanchoe 'Singapore' KD-behandeling

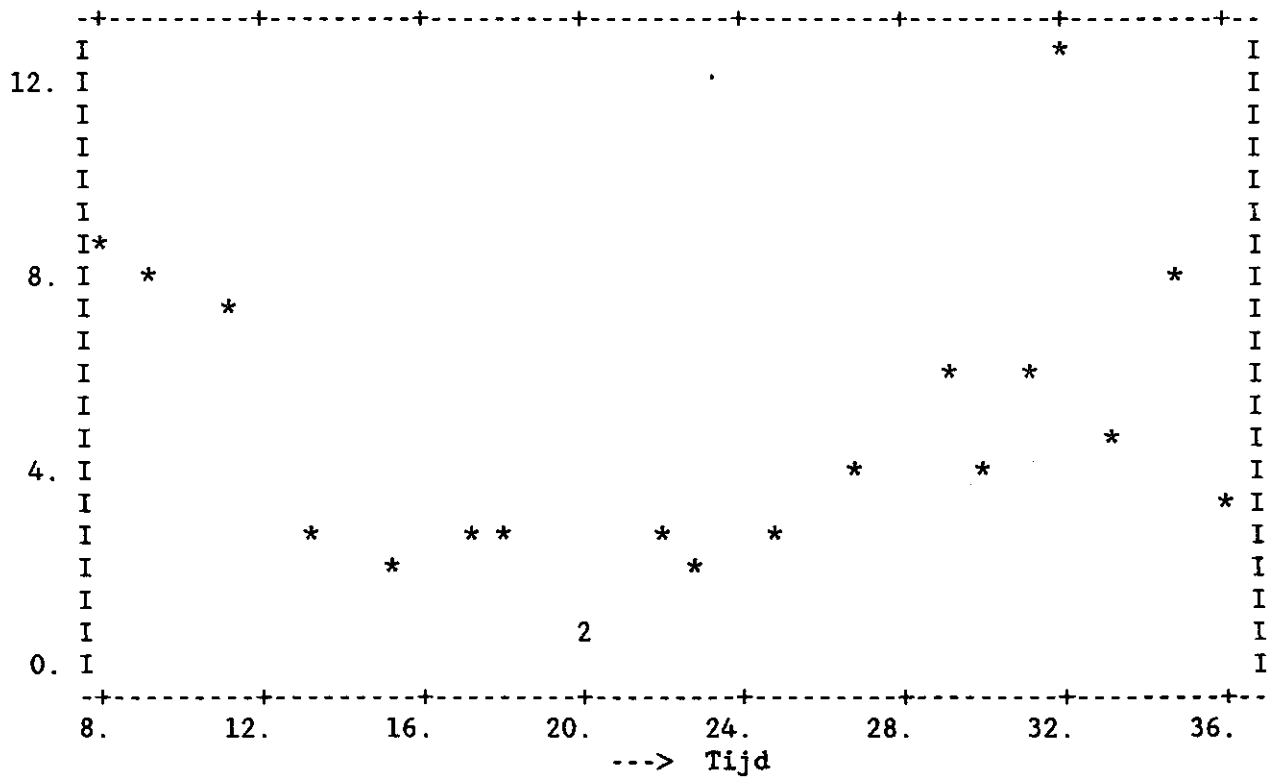


Fig 8. Gemeten hoeveelheid L-malic acid in mg/g blad Kalanchoe 'Singapore' LD-behandeling

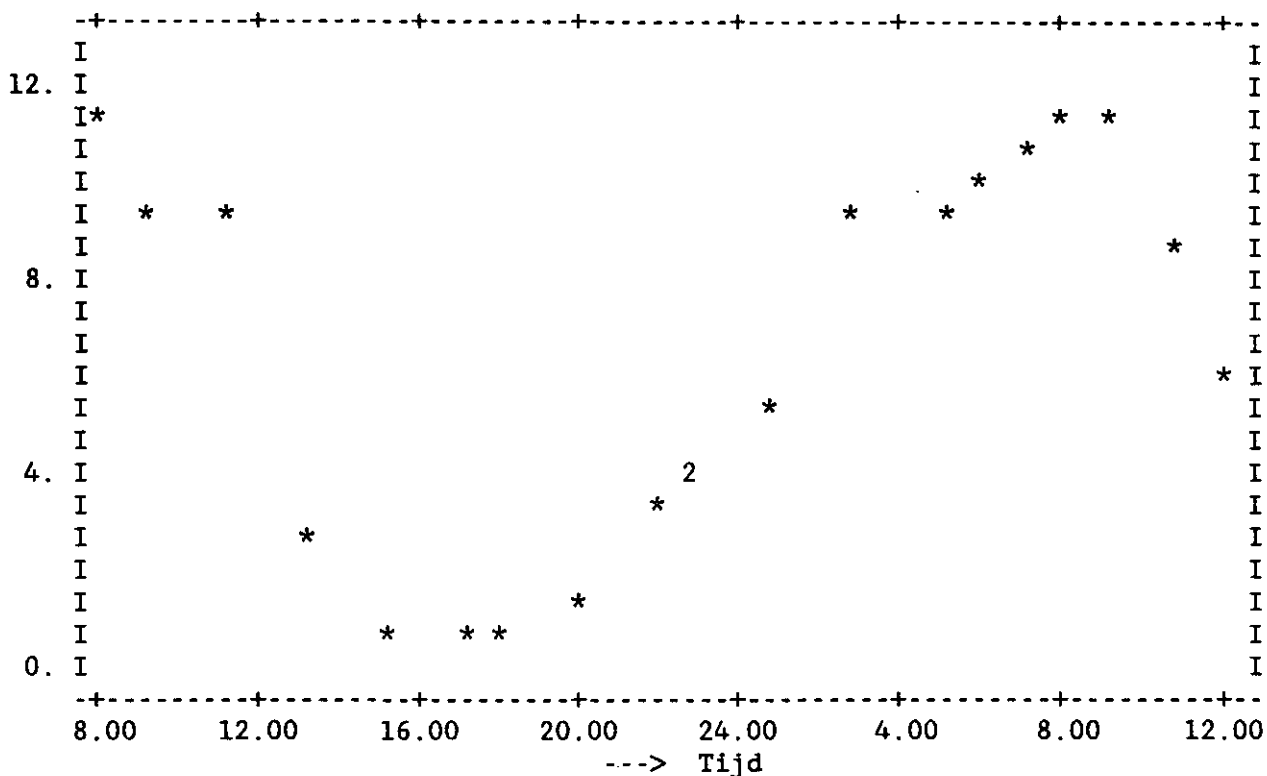


Fig 9. Gemeten hoeveelheid L-malic acid in mg/g blad Kalanchoe 'Flammea' KD-behandeling

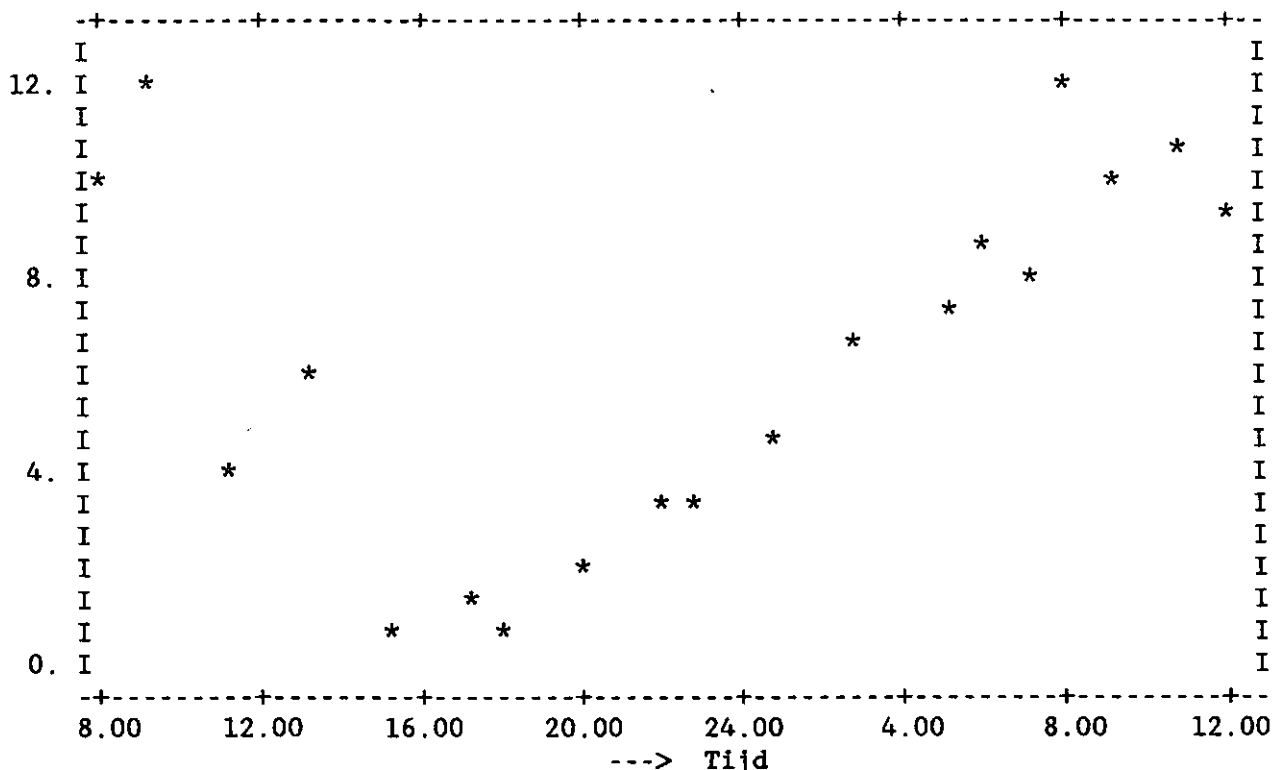


Fig 10. Gemeten hoeveelheid L-malic acid in mg/g blad Kalanchoe 'Flammea' LD-behandeling

3.5 Discussie

Het vermogen van planten tot CAM is genetisch vastgelegd. Dit hoeft echter niet te betekenen dat CAM ook altijd optreedt. Jonge bladeren assimileren veelal volgens het C_3 -schema. Pas als de bladeren volgroeid zijn en de cellen voldoende groot zijn kunnen de bladeren CAM vertonen. Uit literatuur blijkt dat onder LD-omstandigheden *Kalanchoe blossfeldiana* assimileert volgens het C_3 -schema, met name de jonge niet succulente blaadjes. Dit houdt in dat ze overdag CO_2 opnemen en deze direct gebruikt voor de fotosynthese. Dit komt overeen met de resultaten van dit onderzoek. Verder blijkt uit de literatuur dat planten die geteeld zijn onder langedagomstandigheden, na ca. zeven dagen KD geleidelijk omschakelen van C_3 naar CAM. Ook oudere bladeren blijken meer CAM te vertonen. Planten die al enige tijd in de KD staan bevatten weinig tot geen jonge bladeren meer. Dit zou een verklaring kunnen zijn dat, onder KD-omstandigheden, extra CO_2 toedienen in de nacht een geringe toename gaf van het vers- en drooggewicht. Echter het overdag toedienen van CO_2 gedurende de gehele KD-periode had veel meer effect dan CO_2 toedienen in de nacht. Uit literatuur blijkt ook dat andere factoren, onder meer klimaat en watervoorziening, invloed hebben op de fotosynthese. Bij hoge dagtemperaturen en een slechte watervoorziening (waterstress) sluiten de huidmondjes overdag. CAM-planten hebben dan de mogelijkheid om in de nacht, bij geopende huidmondjes, CO_2 op te nemen en vast te leggen in malaat.

4. CONCLUSIE EN AANBEVELINGEN

In dit onderzoek is gebleken dat door extra CO₂-toediening overdag zowel het vers- als drooggewicht van Kalanchoe toeneemt ten opzichte van geen extra CO₂-toediening. Dit was zowel het geval onder LD- als onder KD-omstandigheden. Het toedienen van extra CO₂ in de nacht had in dit onderzoek weinig tot geen effect. Onder KD-omstandigheden gaf dit wel een toename, maar dit was niet significant.

Het meten van huidmondjesweerstand met een porometer is moeilijk bij Kalanchoe. Het blad is vrij dik en er treden makkelijk beschadigingen op aan het blad. De huidmondjesweerstand van oudere bladeren is vrij hoog. Aan de jonge bladeren zijn overdag, met name in het eerste gedeelte van de dag, lage huidmondjesweerstand gemeten. Dit is zowel gemeten in de LD- als in de KD-kas. In de nacht zijn hogere waarden gemeten. Dit duidt erop dat bij jonge bladeren, met name, overdag de huidmondjes open zijn.

Uit de L-malic acid-metingen in het blad blijkt dat deze in de nacht oploopt. Deze toename was groter bij de planten die KD hebben gehad dan bij de planten die LD hebben gehad. Het vermogen om in de nacht CO₂ vast te leggen in L-malic acid blijkt dus wel aanwezig.

In dit onderzoek is gebleken dat onder Nederlandse teeltoomstandigheden (temperatuur 20°C, voldoende vocht) in het voorjaar extra CO₂-toediening overdag bij Kalanchoe resulteert in een toename van zowel het vers- als drooggewicht ten opzichte van geen extra CO₂-toediening. Dit was zowel het geval onder LD- als onder KD-omstandigheden. Het toedienen van extra CO₂ in de nacht had in dit onderzoek weinig tot geen effect. Onder KD-omstandigheden gaf dit wel een toename, maar dit was niet betrouwbaar. Een Kalanchoe blijkt dus overdag CO₂ op te nemen en direct te gebruiken voor de fotosynthese. Een Kalanchoe heeft echter wel het vermogen als CAM-plant om, onder ongunstige omstandigheden, CO₂ in de nacht vast te leggen in malaat, om vervolgens deze overdag te gebruiken voor de fotosynthese.

Een belangrijke voorwaarde om goed CO₂-onderzoek te verrichten is de accommodatie. Dit betreft niet alleen de kassen waarin het onderzoek plaatsvindt, maar ook de directe omgeving van deze kassen (corridor, aangrenzende kassen, buitenomstandigheden).

LITERATUUR

- Bierhuizen, J.F., Bierhuizen, J.M. and Martakis G.F.P., 1984. The effect of light and CO₂ on photosynthesis of various pot plants. *Gartenbauwissenschaft* (1984) 49: 251-257
- Brulfert, J., Mricha, A., Sossountzov, L. and Queiroz, O., 1987. CAM induction by photoperiodism in green callus cultures from a CAM plant. *Plant, Cell and Environment* (1987) 10: 443-449
- Butt, J.A., 1986. The effect of carbon dioxide enrichment on growth and flowering of greenhouse Roses and kalanchoes. University of Guelph.
- Cheng, S.H. and Edwards, G.E., 1991. Influence of long photoperiods on plant development and expression of Crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant, Cell and Environment* (1991) 14: 271-278
- Enoch, H.Z. and Kimball, B.A., 1986. Carbon dioxide enrichment of greenhouse crops: Volume II. Physiology, yield and economics. CPR Press, Inc., Florida.
- Kluge, M., Hell, R., Pfeffer, A. and Kramer, D., 1987. Structural and metabolic properties of green tissue cultures from a CAM plant, *Kalanchoe blossfeldiana* hybr. *Montezuma*. *Plant, Cell and Environment* (1987) 10: 451-462
- Koehler, C.W., 1985. CO₂-Düngung bei Kalanchoe bei Fachleuten umstritten. *Deutscher Gartenbau* (1985) 8: 379-380
- Moe, R., 1984. CO₂ enrichment in Scandinavia. *Acta Horticulturae* (1984) 162: 217-225
- Mortensen, L.M., 1987. Review: CO₂ enrichment in greenhouses. Crop responses. *Scientia Horticulturae*, (1987) 33: 1-25
- Mortensen, L.M. and Moe, R., 1992. Effects of CO₂ enrichment and different day/night temperature combinations on growth and flowering of *Rosa L.* and *Kalanchoe blossfeldiana v. Poelln.* *Scientia Horticulturae*, (1992) 51: 145-153
- Ota, K., 1988. Stimulation of CAM photosynthesis in *Kalanchoe blossfeldiana* by transferring to Nitrogen-deficient conditions. *Plant Physiol.* (1988) 87: 454-457
- Ota, K., 1988. CAM photosynthesis under drought conditions in *Kalanchoe blossfeldiana* grown with Nitrate or Ammonium as the sole nitrogen source. *Plant Cell Physiol.* (1988) 5: 801-806
- Ota, K., Tezuka, T. and Yamamoto, Y., 1988. Changes in Crassulacean

- acid metabolism of *Kalanchoe blossfeldiana* by different nitrogen sources.
Plant Cell Physiol. (1988) 4: 533-537
- Pearcy, R.W., Ehleringer, J., Mooney, H.A. and Rundel, P.W., 1989.
Plant physiological ecology: Field methods and instrumentation.
Chapman and Hall, New York
- Quispel, A. en Stegwee, D., 1983. Plantenfysiologie.
Bohn, Scheltema & Holkema, Utrecht/Antwerpen.
- Schmidt, K. und Lauterbach, D., 1987. CO₂-düngung bei
Kalanchoe-Hybriden.
GB+GW (1987) 52: 1933-1934
- Thomas, D.A. and André, M., 1987. Oxygen and carbon dioxide exchanges
in crassulacean acid metabolism plants:I. Effect of water stress on
hourly and daily patterns.
Plant Physiol. Biochem. (1987) 2: 85-93
- Thomas, D.A., André, M. and Ganzin, A., 1987. Oxygen and carbon
dioxide exchanges in crassulacean acid metabolism plants:II Effects of
CO₂ concentration and irradiance.
Plant Physiol. Biochem. (1987) 2: 95-103
- Willert, D.J. von, Brinckmann, E., Scheitler, B. and Eller, B.M.,
1985. Availability of water controls Crassulacean acid metabolism in
succulents of the Richtersveld.
Planta (1985) 164: 44-55

BIJLAGE 1. PROEFSHEMA

KAS 211

ZUID

	210 C						210 B						210 A								
BLOK III	K 24	K 20					K 16	K 12								K 8	K 4				
	K 23	K 19					K 15	K 11								K 7	K 3				
	KD - D	LD ---					KD ---	LD - D								KD - N	LD - N				
BLOK II	K 22	K 18					K 14	K 10								K 6	K 2				
	LD - D	KD ---					KD - N	LD - N								KD - D	LD ---				
BLOK I	K 21	K 17					K 13	K 9								K 5	K 1				
	KD - N	LD - D					KD - D	LD ---								LD - N	KD ---				

KD = KORTEDAG

--- = GEEN EXTRA CO2

LD = LANGEDAG

N = EXTRA CO2 IN DE NACHT

D = EXTRA CO2 OVERDAG

BIJLAGE 2. BESCHRIJVING L-MALIC ACID BEPALINGEN
(M. Warmenhoven)

Testkid

Boehringer Mannheim GmbH, W-Germany
L-Malic acid UV-method
Cat. No. 139 068

Deze bestaat uit:

- oplossing 1 = 30 ml glycylglycine buffer, pH 10,0; L-glutamic acid, 440 mg; stabilizers.
- oplossing 2 = 210 mg NAD lyophilisate.
Inhoud oplossen in 6 ml gedestilleerd water.
- oplossing 3 = 0,4 ml glutamate-oxaloacetate transaminase suspension, 160 U.
- oplossing 4 = 0,4 ml L-malate dehydrogenase solution, 2400 U.
- oplossing 5 = L-Malic acid standard solution (0,197 g L-Malic acid/l)

Voorbehandeling monster

- Weeg ca. 1,000 g monster (m) af, noteer gewicht (g).
- Monster in mortier leggen met 2,5 ml gedestilleerd water en een spatelpuntje zand. Maak monster fijn met stamper en breng mengsel over in centrifugebuis. Spoel mortier na met 2,5 ml gedestilleerd water en breng dit ook over in de centrifugebuis.
- Centrifugeer 5 minuten bij 13000 rpm.

Werkwijze

- Neem microcuvet (1 cm lichtweg)
- Pipetteer hierin: 0,500 ml oplossing 1
0,100 ml oplossing 2
0,4875 ml aquadest.
0,005 ml oplossing 3
0,0125 ml monster
- Meng en meten in spectrofotometer bij 340 nm (A_{m1}).
- Toevoegen 0,005 ml oplossing 4
- Meng en na 5 minuten meten in spectrofotometer bij 340 nm (A_{m2}).
- Bij elke serie een standaard (s) en een blanco (b) meenemen.
- Neem microcuvet (1 cm lichtweg).
- Pipetteer hierin: 0,500 ml oplossing 1
0,100 ml oplossing 2
0,450 ml aquadest.
0,005 ml oplossing 3
- standaard 0,050 ml oplossing 5
- blanco 0,050 ml aquadest.
- Meng en meten in spectrofotometer bij 340 nm (A_{s1} en A_{b1}).
- Toevoegen 0,005 ml oplossing 4
- Meng en na 5 minuten meten in spectrofotometer bij 340 nm (A_{s2} en A_{b2}).

Berekening

$$\hat{A}_m = A_{m2} - A_{m1}$$

$$\hat{A}_s = A_{s2} - A_{s1}$$

$$\hat{A}_b = A_{b2} - A_{b1}$$

$$C = \frac{V \times MW}{e \times d \times v \times 1000} \times \frac{1}{g} \hat{A} = [\text{g/l}]$$

C = concentratie L-malic acid [g/l]

C^b = concentratie L-malic acid blanco [g/l]

C^s = concentratie L-malic acid standaard [g/l]

C^m = concentratie L-malic acid monster [g/l]

V^m = eindvolume [ml]

v = monster volume [ml]

MW = molekuulgewicht = 134,09 g/mol

d = lichtweg [cm]

e = absorptie coëfficiënt van NADH

$$340 \text{ nm} = 6,3 [1 \times \text{mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}]$$

g = gewicht monster (g)

$$C_s = \frac{1,11 \times 134,09}{6,3 \times 1 \times 0,05 \times 1000} \times \frac{1}{1} \times (\hat{A}_s - \hat{A}_b) =$$

$$= 0,4725 \times 1 \times (\hat{A}_s - \hat{A}_b) \quad [\text{g L-malic acid/l}]$$

$$C_m = \frac{1,11 \times 134,09}{6,3 \times 1 \times 0,0125 \times 1000} \times \frac{1}{g} \times (\hat{A}_m - \hat{A}_b) =$$

$$= 1,89 \times \frac{1}{g} \times (\hat{A}_m - \hat{A}_b) \quad [\text{g L-malic acid/l opl}]$$

$$C_m = \frac{[\text{g/l opl.}]}{[\text{g blad / l opl.}]} \quad [\text{g L-malic acid/g blad}]$$

Er is 1 g blad opgelost in 5 ml gedestilleerd water d.w.z. 200 g blad in 1 l.

$$C_m = \frac{[\text{g/l opl.}]}{[200 \text{ g blad / l opl.}]} \quad [\text{g L-malic acid/g blad}]$$

BIJLAGE 3. GEREALISEERDE KLIMAATGEGEVENS

Gerealiseerde etmaaltemperaturen per week

blok	afd.	beh.		weeknummer (donderdag-donderdag)											
				7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	gem.	
I	1.	K.D.	-CO ₂	20,2	20,5	20,7	20,7	20,4	20,6	20,6	21,3	21,7	21,7	20,9	
	21.	K.D.	N-CO ₂	20,2	20,4	20,7	20,8	20,3	20,5	20,6	21,4	21,8	21,9	20,8	
	13.	K.D.	D-CO ₂	20,2	20,5	20,8	20,8	20,5	20,7	20,7	21,4	21,8	21,9	20,9	
	9.	L.D.	-CO ₂	20,1	20,4	20,5	20,6	20,3	20,4	20,5	20,9	21,2	21,2	20,6	
	5.	L.D.	N-CO ₂	20,3	20,5	21,1	20,6	20,2	20,4	20,4	21,0	21,2	21,3	20,7	
	17.	L.D.	D-CO ₂	20,1	20,3	20,5	20,6	20,3	20,4	20,4	21,0	21,3	21,2	20,6	
	II	18.	K.D.	-CO ₂	20,2	20,5	20,8	20,8	20,4	20,6	20,7	21,6	22,3	22,3	21,0
		14.	K.D.	N-CO ₂	20,3	20,5	20,8	20,9	20,6	20,8	20,9	21,6	22,7	24,0	21,3
		6.	K.D.	D-CO ₂	20,3	20,5	20,8	20,8	20,4	20,6	20,7	21,6	22,2	22,4	21,0
2.		L.D.	-CO ₂	20,1	20,4	20,6	20,6	20,3	20,3	20,4	20,9	21,3	21,2	20,6	
10.		L.D.	N-CO ₂	20,1	20,4	20,5	20,6	20,2	20,5	20,6	21,0	21,3	21,3	20,7	
22.		L.D.	D-CO ₂	20,2	20,4	20,7	20,7	20,3	20,5	20,5	21,0	21,5	21,4	20,7	
III	15.	K.D.	-CO ₂	20,2	20,5	20,8	20,8	20,4	20,6	20,7	21,6	22,2	22,4	21,0	
	7.	K.D.	N-CO ₂	20,2	20,5	20,8	20,8	20,4	20,6	20,7	21,6	22,2	22,3	21,0	
	23.	K.D.	D-CO ₂	20,3	20,6	20,9	20,9	20,5	20,7	20,8	21,7	22,4	22,6	21,1	
	19.	L.D.	-CO ₂	20,2	20,5	20,7	20,7	20,3	20,4	20,4	21,1	21,6	21,5	20,7	
	3.	L.D.	N-CO ₂	20,1	20,4	20,6	20,6	20,2	20,4	20,4	21,0	21,4	21,3	20,6	
	11.	L.D.	D-CO ₂	20,1	20,4	20,6	20,6	20,3	20,5	20,6	21,0	21,4	21,4	20,7	

daglengte	CO ₂	weeknummer (donderdag-donderdag)										
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	gem.
K.D.	-	20,2	20,5	20,8	20,8	20,4	20,6	20,7	21,5	22,1	22,1	21,0
K.D.	nacht	20,2	20,5	20,8	20,8	20,4	20,6	20,7	21,5	22,2	22,7	21,0
K.D.	dag	20,3	20,5	20,8	20,8	20,5	20,7	20,7	21,6	22,1	22,3	21,0
L.D.	-	20,1	20,4	20,6	20,6	20,3	20,4	20,4	21,0	21,4	21,3	20,6
L.D.	nacht	20,2	20,4	20,7	20,6	20,2	20,4	20,5	21,0	21,3	21,3	20,7
L.D.	dag	20,1	20,4	20,6	20,6	20,3	20,5	20,5	21,0	21,4	21,3	20,7

Gerealiseerde CO₂-concentraties van 10.00 - 16.00 uur per week

blok	afd.	beh.		weeknummer (donderdag-donderdag)										
				7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	gem.
I	1.	K.D.	-CO ₂	487	477	424	384	430	391	394	380	375	387	413
	21.	K.D.	N-CO ₂	515	529	387	737	393	367	359	351	350	363	435
	13.	K.D.	D-CO ₂	832	879	808	765	815	801	813	739	665	643	776
	9.	L.D.	-CO ₂	492	495	389	372	373	365	361	366	364	365	394
	5.	L.D.	N-CO ₂	530	510	406	396	391	386	392	400	410	395	422
	17.	L.D.	D-CO ₂	753	804	801	802	819	805	823	763	701	682	775
	II	18.	K.D.	-CO ₂	460	505	426	372	423	368	391	371	372	401
14.		K.D.	N-CO ₂	600	594	407	345	389	373	372	373	369	371	419
6.		K.D.	D-CO ₂	832	827	799	780	812	798	823	747	728	675	782
2.		L.D.	-CO ₂	482	508	423	384	400	372	372	374	366	370	405
10.		L.D.	N-CO ₂	427	435	390	372	369	362	359	364	362	364	381
22.		L.D.	D-CO ₂	785	796	763	755	815	798	824	717	645	618	752
III		15.	K.D.	-CO ₂	527	523	405	343	422	375	383	378	379	390
	7.	K.D.	N-CO ₂	539	482	397	388	385	378	391	400	412	393	416
	23.	K.D.	D-CO ₂	785	808	792	746	820	801	811	691	641	614	751
	19.	L.D.	-CO ₂	436	510	419	369	398	370	364	361	357	365	395
	3.	L.D.	N-CO ₂	552	496	401	386	380	371	368	371	364	368	406
	11.	L.D.	D-CO ₂	811	809	806	801	813	810	819	818	811	794	809

daglengte	CO ₂	weeknummer (donderdag-donderdag)										
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	gem.
K.D.	-	491	502	418	366	425	378	389	376	375	393	411
K.D.	nacht	551	535	397	490	389	373	374	375	377	376	423
K.D.	dag	816	838	800	764	816	800	816	726	678	644	770
L.D.	-	470	504	410	375	390	369	366	367	362	367	398
L.D.	nacht	503	480	399	385	380	373	373	378	379	376	403
L.D.	dag	783	803	790	786	816	804	822	766	719	698	779

Gerealiseerde CO₂-concentraties van 22.00 - 4.00 uur per week

blok	afd.	beh.		weeknummer (donderdag-donderdag)										gem.
				7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
I	1.	K.D.	-CO ₂	550	646	510	443	489	476	485	452	414	438	490
	21.	K.D.	N-CO ₂	757	860	816	459	764	805	804	799	801	793	766
	13.	K.D.	D-CO ₂	641	820	536	465	512	414	522	515	466	487	528
	9.	L.D.	-CO ₂	570	676	447	418	385	390	392	414	437	405	453
	5.	L.D.	N-CO ₂	833	854	840	842	833	835	922	960	949	867	873
	17.	L.D.	D-CO ₂	543	729	523	455	410	418	400	418	438	441	478
	18.	K.D.	-CO ₂	498	702	532	438	442	392	437	418	396	411	467
	14.	K.D.	N-CO ₂	893	1066	915	855	819	820	824	811	809	750	856
	6.	K.D.	D-CO ₂	595	669	559	484	501	414	589	486	452	432	518
II	2.	L.D.	-CO ₂	539	639	536	428	423	394	411	410	432	425	464
	10.	L.D.	N-CO ₂	822	825	830	830	822	829	833	839	840	804	827
	22.	L.D.	D-CO ₂	549	720	557	447	404	415	391	403	446	413	475
	15.	K.D.	-CO ₂	631	783	544	467	466	402	442	449	411	422	502
III	7.	K.D.	N-CO ₂	818	811	814	809	811	812	857	844	857	810	824
	23.	K.D.	D-CO ₂	556	709	530	444	407	391	497	425	396	406	476
	19.	L.D.	-CO ₂	488	694	551	438	438	384	386	407	433	414	463
	3.	L.D.	N-CO ₂	824	835	836	828	816	818	818	822	825	818	824
	11.	L.D.	D-CO ₂	585	677	527	440	386	386	397	409	432	406	464

daglengte	CO ₂	weeknummer (donderdag-donderdag)										gem.
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
K.D.	-	560	710	529	449	466	423	455	440	407	424	486
K.D.	nacht	823	912	848	708	798	812	828	818	822	784	815
K.D.	dag	597	733	542	464	473	406	536	475	438	442	507
L.D.	-	532	670	511	428	415	389	396	410	434	415	460
L.D.	nacht	826	838	835	833	824	827	858	874	871	830	841
L.D.	dag	559	709	536	447	400	406	396	410	439	420	472

Gerealiseerde etmaal CO₂-concentraties per week

blok	afd.	beh.	weeknummer (donderdag-donderdag)												
			7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	gem.		
I	1.	K.D.	-CO ₂	529	579	483	422	464	444	449	425	407	421	462	
	21.	K.D.	N-CO ₂	679	751	672	659	540	533	533	528	540	534	597	
	13.	K.D.	D-CO ₂	699	835	649	586	556	559	615	593	560	561	621	
	9.	L.D.	-CO ₂	544	604	432	402	380	378	381	391	406	386	431	
	5.	L.D.	N-CO ₂	670	660	595	584	554	550	596	619	621	569	602	
	17.	L.D.	D-CO ₂	678	803	719	656	553	554	550	536	530	522	610	
	II	18.	K.D.	-CO ₂	497	633	500	419	437	387	424	406	398	417	452
		14.	K.D.	N-CO ₂	784	905	735	638	557	550	556	554	559	530	637
		6.	K.D.	D-CO ₂	676	722	652	592	611	566	688	597	581	547	623
2.		L.D.	-CO ₂	515	582	493	412	413	386	395	391	405	399	439	
10.		L.D.	N-CO ₂	607	622	573	545	528	527	531	535	539	520	553	
22.		L.D.	D-CO ₂	698	809	746	643	547	547	548	513	512	487	605	
III	15.	K.D.	-CO ₂	595	687	505	427	451	393	425	428	409	417	474	
	7.	K.D.	N-CO ₂	722	701	667	623	551	549	585	589	602	561	615	
	23.	K.D.	D-CO ₂	646	746	634	558	556	554	621	539	522	512	589	
	19.	L.D.	-CO ₂	475	625	507	415	424	379	380	387	403	393	439	
	3.	L.D.	N-CO ₂	667	645	590	565	539	533	536	536	539	533	568	
	11.	L.D.	D-CO ₂	721	770	706	625	536	532	547	546	551	533	607	

daglengte	CO ₂	weeknummer (donderdag-donderdag)										
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	gem.
K.D.	-	540	633	496	423	451	408	433	420	405	418	463
K.D.	nacht	728	786	691	640	549	544	558	557	567	542	616
K.D.	dag	674	768	645	579	574	560	641	576	554	540	611
L.D.	-	511	604	477	410	406	381	385	390	405	393	436
L.D.	nacht	648	642	586	565	540	537	554	563	566	541	574
L.D.	dag	699	794	724	641	545	544	548	532	531	514	607

BIJLAGE 4. OVERZICHT VERS- EN DROOGGEWICHTEN

Tabel. Versgewicht (g), drooggewicht (g) en drogestofpercentage vegetatieve gedeelte van de plant, per behandeling, per plant.

dag lengte	CO ₂	'Mistral'			'Singapore'		
		versgew. (g)	drooggew. (g)	droge stof %	versgew. (g)	drooggew. (g)	droge stof %
K.D.	-	150,5	6,40	4,28	191,6	9,13	4,77
K.D.	nacht	157,0	6,83	4,36	228,8	10,16	4,44
K.D.	dag	206,1	10,17	4,93	268,0	12,24	4,57

Tabel. Versgewicht (g), drooggewicht (g) en drogestofpercentage bloemen en bloemstelen, per behandeling, per plant.

dag lengte	CO ₂	'Mistral'			'Singapore'		
		versgew. (g)	drooggew. (g)	droge stof %	versgew. (g)	drooggew. (g)	droge stof %
K.D.	-	42,4	3,60	8,49	60,0	5,16	8,64
K.D.	nacht	44,5	3,66	8,22	64,0	5,47	8,54
K.D.	dag	69,9	5,86	8,38	91,9	8,25	9,03

Tabel. Versgewicht (g), drooggewicht (g) en drogestofpercentage totale plant, per behandeling, per plant.

dag lengte	CO ₂	'Mistral'			'Singapore'		
		versgew. (g)	drooggew. (g)	droge stof %	versgew. (g)	drooggew. (g)	droge stof %
K.D.	-	192,9	10,00	5,21	251,6	14,28	5,69
K.D.	nacht	201,4	10,49	5,22	292,8	15,63	5,34
K.D.	dag	276,0	16,02	5,81	359,9	20,48	5,69
L.D.	-	194,5	13,26	6,87	301,3	19,88	6,64
L.D.	nacht	163,1	11,59	7,21	294,3	20,01	6,79
L.D.	dag	276,6	20,13	7,30	491,3	34,70	7,07