

A
i
W
26



PRAKTIJKONDERZOEK
PLANT & OMGEVING

CO₂ opname bij Kalanchoe

M.G. Warmenhoven
N. Marissen
F.R. van Noort

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.
Sector Glas
juni 2003

PPO GT13301892

© 2003 Wageningen, Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, 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 Praktijkonderzoek Plant & Omgeving.

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V. is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.



Projectnummer: 41380116

Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.

Sector Glas

Adres : Linnaeuslaan 2a,
: 1431 JV Aalsmeer
Tel. : 0297 - 352525
Fax : 0297 - 352270
E-mail : info.ppo@wur.nl
Internet : www.ppo.dlo.nl

Inhoudsopgave

pagina

1	INLEIDING	4
2	METHODE	5
3	C ₃ -FOTOSYNTHESE, C ₄ -FOTOSYNTHESE EN CAM FOTOSYNTHESE, EEN INLEIDING.....	6
3.1	C ₃ - fotosynthese.....	6
3.2	C ₄ - fotosynthese.....	6
3.3	Crassulacean Acid Metabolism (CAM)	7
4	CO ₂ EN CAM BIJ KALANCHOE	12
4.1	Effecten van CO ₂ doseren op de groei en ontwikkeling van Kalanchoe.....	12
4.2	Parameters die invloed hebben op de opname van CO ₂	13
4.2.1	Temperatuur.....	13
4.2.2	Licht	13
4.2.3	Waterstress en voeding.....	14
5	TOEPASSING VOOR KALANCHOË	15
6	LITERATUUR	16

1 Inleiding

In de glastuinbouw wordt CO₂ toegediend om de groei van het gewas te verhogen. CO₂, licht en water zijn nodig voor de fotosynthese, en wanneer er voldoende licht en water is, is het belangrijk het CO₂-niveau hoog genoeg te houden, zodat dit niet de beperkende factor is. De CO₂ opname voor de fotosynthese kan op verschillende manieren plaatsvinden, zoals uitgelegd in Hoofdstuk 3. Eén van die manieren is volgens het 'Crassulacean Acid Metabolism', CAM genoemd. Van Kalanchoe is bekend dat het een CAM-plant is. CAM-planten nemen niet overdag maar 's nachts CO₂ op. Op dit moment is het onduidelijk op welk moment en hoeveel CO₂ toegediend moet worden om optimaal gebruik te maken van CO₂-bemesting. Veel CAM-planten zijn namelijk niet alléén maar aangewezen op het CAM-metabolisme, maar kunnen van systeem wisselen afhankelijk van omstandigheden, zoals de waterbeschikbaarheid of de daglengte.

Een normale Kalanchoe-teelt in de praktijk duurt gemiddeld 13 weken (11-15), 3-4 weken langedag (18 uur) en 8-11 weken kortedag (10 uur). In de langedag periode wordt belicht met assimilatiebelichting bij lichtintensiteit van 2600 – 3500 lux (31 – 41.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Onder de kortedag periode wordt er overdag pas belicht als buiten de lichtintensiteit < 50 W/m² is. Na de beworteling wordt een dag/nacht temperatuur van 19/21°C aangehouden (Negatieve DIF om de plant hoogte te reduceren).

Bij gesloten ramen wordt 700 – 800 ppm CO₂ gedoseerd. Sommige telers geven CO₂ overdag, andere alleen in de nacht. Er is behoefte aan kennis om de CO₂-bemesting te optimaliseren.

Doel:

Het doel van deze literatuurstudie om aan de hand van verschenen publicaties inzicht te krijgen in:

- Op welk moment heeft CO₂ doseren het meeste nut
- Welke andere mogelijk heden zijn er om de opname van CO₂ te optimaliseren

2 Methode

Voor de literatuurstudie zijn de volgende bestanden geraadpleegd:

- Agralin (Agrarisch Literatuur Informatiesysteem Nederland)
- C.A.B. (Commonwealth Agricultural Bureaux)

Voor het zoeken zijn de trefwoorden CO₂, Kalanchoe en de combinatie CO₂ en Kalanchoe gebruikt.

Verklarende woordenlijst

C ₃ , C ₄ , C ₅ suiker/zuren	- moleculen met koolstofketens van respectievelijk 3, 4 of 5 koolstof atomen
Malaat	- organisch zuur dat bestaat uit een keten van vier koolstof atomen (appelzuur)
Asparaat	- zie malaat
Rubisco	- het eiwit dat CO ₂ bindt voor de C ₃ -fotosynthese
PEP-carboxylase	- het eiwit dat CO ₂ bindt voor de C ₄ -fotosynthese en CAM-fotosynthese
Decarboxylatie	- afsplitsen van CO ₂ van malaat
Fotorespiratie	- opname van zuurstof in plaats van CO ₂ , dit leidt niet tot aanmaak van suikers, dus geeft energie verlies
Zuurflux	- toename en afname van malaat concentratie in de vacuole van de cel
Katalysator	- een eiwit (enzym) dat de chemische reactie activeert zonder zelf van chemische samenstelling te veranderen
PPF	- Photosynthetic Photon Flux (400 – 700 nm) in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ is een maat voor de lichtintensiteit, de hoeveelheid fotonen (lichtdeeltjes) die per seconde op een vierkante meter valt

3 C₃-fotosynthese, C₄-fotosynthese en CAM fotosynthese, een inleiding

Het omzetten van energie uit zonlicht naar chemische energie is voornamelijk voorbehouden aan groene planten. Door de opname van koolzuurgas en water worden m.b.v. van de zonne-energie suiker en zuurstof gevormd. De nettoreactie van de fotosynthese is als volgt:

koolzuurgas + water + energie \Rightarrow suiker + zuurstof

De absorptie van zonne-energie vindt plaats in de pigmenten. Bij hogere planten gaat het hier om chlorofyllen en carotenoiden. Door de absorptie van licht komt een keten van elektrontransport op gang. Tijdens het elektrontransport worden energierijke verbindingen gevormd als ATP en NADPH. Deze energierijke verbindingen zijn nodig om van CO₂ suikers te vormen.

Het fotosynthese proces kan worden onderverdeeld in twee type reacties:

- 1) Processen die lichtafhankelijk zijn (lichtreacties) zoals het splitsen van water en de vorming van energierijke verbindingen ATP en NADPH.
- 2) Processen die niet lichtafhankelijk zijn (donkerreacties) zoals de reductie van CO₂ en de vorming van suikers. Hiervoor worden de energierijke verbindingen ATP en NADPH gebruikt.

Koolzuurgas (CO₂) wordt via de huidmondjes ingevangen. De manier waarop CO₂ wordt opgenomen en verder verwerkt tot suikers kan via drie verschillende paden verlopen; C₃, C₄, en CAM - fotosynthese. De belangrijkste factoren die bepalen welk van de paden gebruikt wordt is de beschikbaarheid van water en CO₂.

3.1 C₃ - fotosynthese

De C₃-fotosynthese is de meest voorkomende vorm. In C₃-fotosynthese wordt CO₂ in de mesofylcellen (deze bevinden zich direct achter de huidmondjes) door het enzym **Rubisco** gebonden aan **C₅ - suiker** (Ribulose 1,5 - bisphosphate) tot een instabiele C₆ verbinding die direct uiteen valt in twee C₃ stukjes (PGA – 3-Phosphoglycerate) waaruit het **C₃ - suiker** Triose wordt gevormd. Rubisco bindt ook vaak – per ongeluk – zuurstof (**fotorespiratie**). Door de veel hogere zuurstof concentratie (20%) dan koolzuurgas (0,035%) in de lucht komt dit nogal eens voor. Het binden van zuurstof resulteert niet tot de inbouw van koolstof en geeft dus energieverlies. C₃- fotosynthese, opname en verwerking van CO₂, vindt overdag plaats, dus de huidmondjes moeten overdag open staan.

Met name in een klimaat met veel licht, waar de verhouding CO₂/O₂ nog lager is (bijvoorbeeld in een gesloten kas met veel fotosynthetiserend gewas), zal fotorespiratie toenemen. Verder zijn in een klimaat met een hoog lichtniveau de belangen van de fotosynthese (huidmondjes open voor een goede uitwisseling van CO₂ met de omgeving) tegenstrijdig met die van de waterbalans (huidmondjes dicht om uitdroging te voorkomen). Om deze problemen op te vangen hebben planten een tweetal mechanismen ontwikkeld: C₄-fotosynthese en CAM-fotosynthese.

3.2 C₄ - fotosynthese

Doel: fotorespiratie vermijden.

In C₄- fotosynthese wordt CO₂ in de mesofylcellen door het enzym **PEP-carboxylase** gebonden aan een drager molecuul (fosfo-enolpyruvaat - PEP) waarna **malaat** of **asparaat (C₄-zuren)** ontstaat. Het C₄-molecuul malaat /asparaat wordt getransporteerd naar de vaatbundelschede (een krans met cellen rond de vaatbundels waarin Rubisco zit). In de vaatbundelschede wordt de CO₂ weer afgesplitst en nu gefixeerd met behulp van Rubisco als bij C₃- fotosynthese. Daar PEP-carboxylase CO₂-specifiek is wordt er geen zuurstof ingebouwd. De plaats van fixatie van CO₂ is dus ruimtelijk gescheiden van de plaats van verwerking. Op de plaats van verwerking wordt zo de CO₂ –concentratie hoog, en de O₂ –concentratie laag houden.

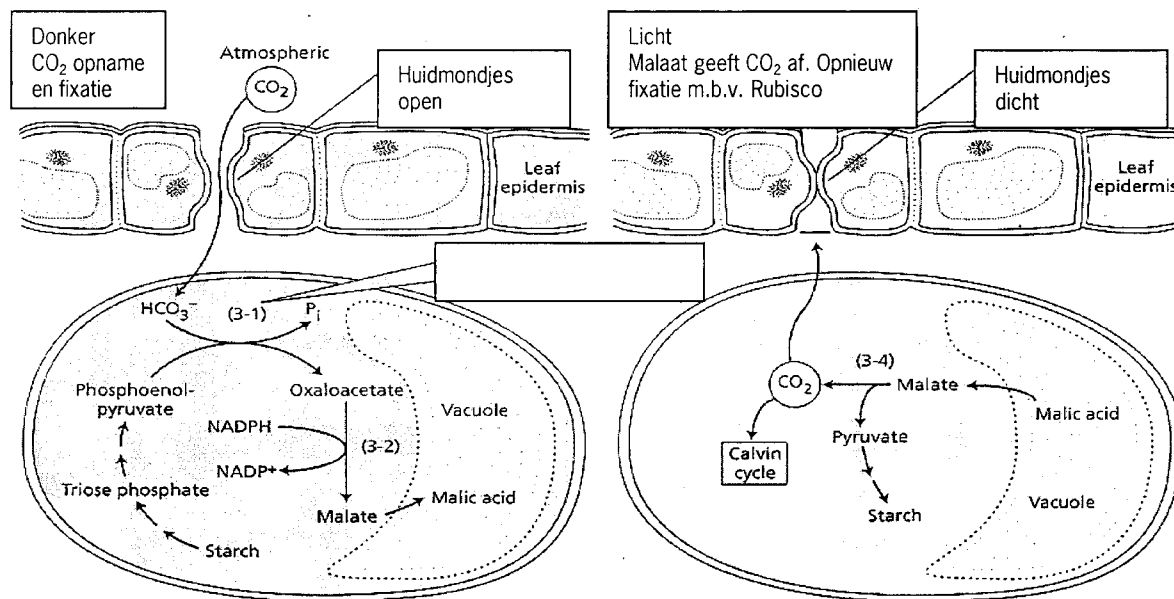
3.3 Crassulacean Acid Metabolism (CAM)

Doel: waterverlies voorkomen

Wanneer planten onder nog extremere condities groeien is het efficiënter invangen van CO₂ via het C₄-pad niet meer voldoende. Om waterverlies zoveel mogelijk te beperken zullen de huidmondjes overdag gesloten moeten zijn. Deze planten gebruiken CAM - fotosynthese (figuur 1) die veel overeenkomst vertoont met C₄-fotosynthese. Nachts staan de huidmondjes open om CO₂ vast te leggen, m.b.v. PEP-carboxylase wordt een organisch zuur, n.l. malaat (appelzuur) gemaakt (**carboxylatie**) dat gedurende de nacht wordt opgeslagen in de vacuole van de cel. Hierdoor daalt de pH van de vacuole sterk gedurende de nacht. Overdag wordt het malaat weer uit de vacuole getransporteerd en wordt CO₂ weer afgesplitst (**decarboxylatie**) waarna het C₃-pad verder wordt gevolgd. Hier zijn de fixatie en de verwerking van koolzuurgas in de tijd gescheiden. De opslag van malaat in de vacuole is nodig omdat de energie die nodig is om CO₂ opnieuw te reduceren en fixeren (m.b.v. Rubisco) alleen overdag kan worden gevormd onder invloed van licht. Ook is aangetoond dat de snelheid waarmee CO₂ vrij komt van malaat lichtafhankelijk is.

In tabel 1 worden de algemene karakteristieken van C₃, C₄ en CAM -fotosynthese naast elkaar gezet. Uit de tabel wordt duidelijk dat met C₄ en CAM -fotosynthese de plant meer energie nodig heeft om 1 mol CO₂ te binden dan met C₃-fotosynthese. CAM- en C₃-fotosynthese stelt ze echter wel in staat om te groeien onder omstandigheden die voor C₃-planten niet mogelijk zijn.

Bij een aantal plantensoorten is het zo dat ze alleen via het CAM-metabolisme CO₂ kunnen opnemen, maar bij andere soorten worden ook varianten waargenomen, men spreekt dan wel van incomplete en facultatieve CAM: De planten kunnen dan afwisselen tussen C₃- en CAM-fotosynthese.



Figuur 1 - *Crassulacean acid metabolism in blad (Taiz et. all, 1998)*

Tabel 1 - Algemene karakteristieken C₃, C₄, en CAM – fotosynthese

Kenmerk	C ₃	C ₄	CAM
Blad anatomie	Fotosynthese cellen tonen geen bundeling	Fotosynthese cellen tonen bundeling tot vaatbundelschede	Fotosynthese cellen tonen geen bundeling, dikker blad, grote vacuole
Enzym Carboxylering	Rubisco	PEP carboxylase, daarna Rubisco	Nachts: PEP carboxylase Dag: voornamelijk Rubisco
Energie voor opname 1 mol CO ₂	3 ATP + 2 NADPH	4-5 ATP + 2 NADPH	5.5-6.5 ATP + 2 NADPH
CO ₂ compensatiepunt (μmol mol ⁻¹ CO ₂)	30 - 70	0 - 10	0 – 5 in donker
Optimale temperatuur voor fotosynthese	15 – 25°C	30 – 47°C	≅ 35°C
Droge stof productie (tonnen/hectare/jaar)	22 ± .3	39 ± 17	zeer variabel, meestal laag
Verdamping H ₂ O g per mol CO ₂	400-500	250-300	50-100
Behoefte aan Na ⁺ als sporen - element	nee	ja	ja
Huidmondjes open	dag	dag	nacht
Efficiëntie water gebruik (WUE)	laag	hoog	zeerhoog
CO ₂ opname en verwerking	Één 'ruimte'	ruimtelijk gescheiden	gescheiden in tijd

Net als alle andere planten zijn CAM planten onderworpen aan de dagelijkse afwisseling van licht en donker. In het dagelijks ritme van de CAM - fotosynthese worden 4 fasen onderscheiden (figuur 2):

- Fase I - De zuurfixatie (Acidification) door PEP – carboxylase die start aan het begin van de nacht. De malaat concentratie neemt toe gedurende de nacht.
- Fase II - Aan het begin van de dag zal naast CO₂ -fixatie met PEP ook CO₂ -fixatie met Rubisco plaats vinden. De PEP fixatie zal geleidelijk geheel over genomen door Rubisco-fixatie. Aan het einde van fase II overheerst de C₃ -fotosynthese.
- Fase III - De huidmondjes zijn volledig gesloten. CO₂ wordt afgesplitst (gedecarboxyleerd) van het malaat met als gevolg dat de malaat concentratie gaat dalen. Het eerder door PEP-carboxylase gebonden CO₂ wordt opnieuw gefixeerd, maar nu door Rubisco.
- Fase IV - Start wanneer de malaat concentratie is uitgeput, de huidmondjes gaan nu weer open. Geleidelijk aan zal minder CO₂ van buiten (via de huidmondjes) door Rubisco gebonden worden, en wordt de PEP fixatie weer gestart. In deze fase is het mogelijk dat er fotorespiratie optreed ("per ongeluk" binden van O₂ in plaats van CO₂ door Rubisco).

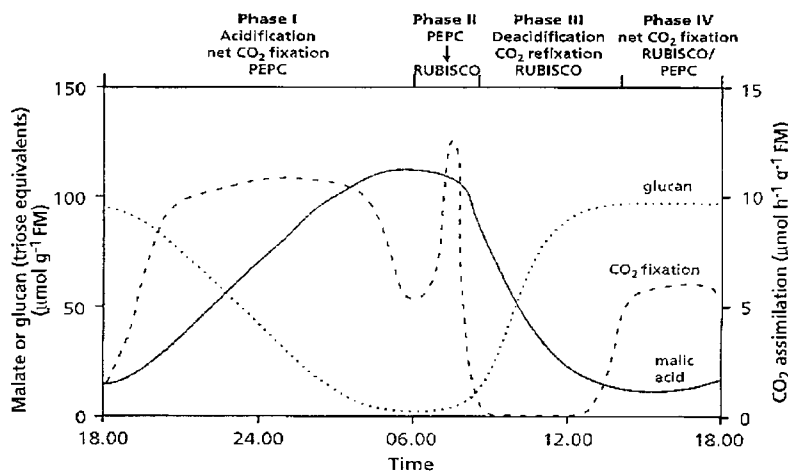


FIGURE 46. CO₂ fixation in CAM plants, showing diurnal patterns for stomatal conductance, net CO₂ assimilation, malic acid concentration, and carbohydrate concentrations; PEPC is PEP carboxylase (after Leegood & Osmond 1990, Osmond & Holtum 1981).

Figuur 2 - Dagelijkse netto CO₂ opname (---), malaat concentratie (—) en koolhydraten (····) concentratie (als glucaan, triose equivalenten) in CAM planten – Lambers et al. 1998.

Fotorespiratie aan het einde van de dag (fase IV) is aangetoond bij *Phalaenopsis* en *Kalanchoe daigremontiana* (13). De hoge fotorespiratie wordt veroorzaakt door de zeer lage interne CO₂ weerstand (bij *Kalanchoe daigremontiana*) welke vooral het gevolg is van de bladdikte.

Hoewel het CAM-ritme van nature aanwezig is bij *Kalanchoe* is de overgang van licht naar donker nodig om het ritme in stand te houden (starten/ resetten EOD (= End of Day) effect). Het resetten (opnieuw synchroniseren) is nodig omdat het natuurlijke etmaal-ritme niet precies gelijk is aan 24 uur. Soms kan een wisseling in temperatuur ook het reset effect geven.

De fotoreceptor (het pigment dat licht gewaar wordt) die een belangrijke rol speelt bij het in standhouden van het CAM - ritme is fytochroom. Er is rood/ver-rood omkeerbaarheid (kenmerk van fytochroom gestuurde reactie).

Bij CAM - fotosynthese worden ook varianten waargenomen, men spreekt wel van incomplete of facultatieve CAM (9).

CAM - cycling

Sommige planten vertonen toch de dagelijkse fluctuatie in malaat concentratie zonder CO₂ opname in de nacht. De malaat ophoping nachts ontstaat dan door hergebruik van CO₂ uit ademhaling ⇒ CAM – cycling. CAM-cycling komt onder andere voor bij subfamilies van Cactaceae en *Sedum telephium*.

CAM - idling

Andere CAM planten openen echter hun huidmondjes helemaal niet (dag of nacht) wanneer ze aan zeer grote waterstress worden blootgesteld. Ook hier vindt dan hergebruik van CO₂ uit de ademhaling plaats ⇒ CAM - idling. *Codonanthe crassifolia* (Gesneriaceae), die in optimale omstandigheden CAM - cycling toepast, schakelt bij droogte over op CAM - idling.

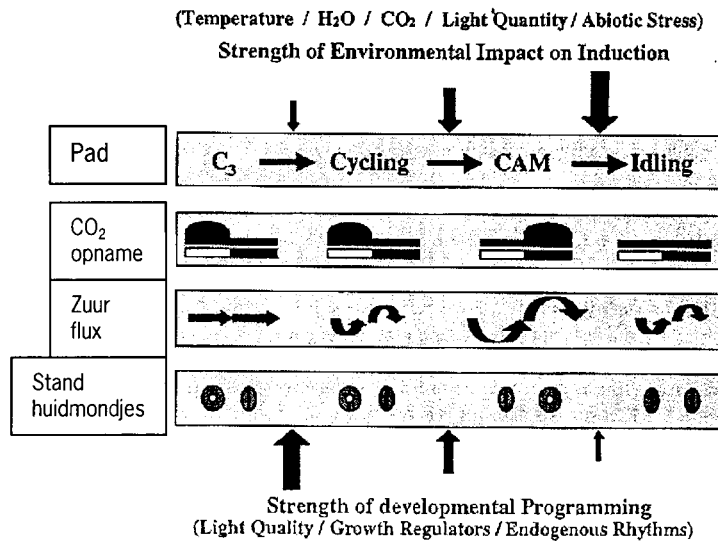
Daarnaast zijn er facultatieve CAM planten: deze planten vertonen onder optimale omstandigheden (bijvoorbeeld voldoende water beschikbaar) C₃ - of C₄ – fotosynthese, wanneer ze echter blootgesteld worden aan droogte wordt overgeschakeld op CAM fotosynthese.

Van *Kalanchoe petitiata* is bekend dat naast droogte ook de leeftijd van het blad bepalend is of naar CAM fotosynthese wordt omgeschakeld (7). Oud blad gaat CAM-metabolisme gebruiken.

Figuur 3 geeft een overzicht van de invloed die omgevings- en ontwikkelingsfactoren hebben op de belangrijkste CAM aanpassingen. Bij een toenemende lichtintensiteit, en/of een stijgende temperatuur en/of een afname van de waterbeschikbaarheid zullen de planten een andere methode gebruiken om CO₂ op te nemen. De CO₂opname verplaatst van overdag naar 's nachts (afhankelijk van de stand van de huidmondjes) en zal in extreme situaties stoppen (zie CO₂ opname en huidmondjes onder 'idling' in figuur 3). De **zuurflux** laat het verloop gedurende de dag van malaat concentratie in de vacuole zien. Als gevolg van deze aanpassingen (aan o.a. waterstress) zal de ontwikkeling (e.g. relatieve groei snelheid) trager gaan.

Meer recente literatuur laat meer van het mechanisme zien:

Het vrijgeven van malaat uit de vacuole is geen homogeen proces. Sommige cellen of groepen van cellen zullen 'smorgens eerder beginnen met het vrij geven van malaat dan andere. Het niet homogene verloop van dit proces komt met name naar voren tijdens de overgang van fase II naar fase III (nacht/dag) en de overgang van fase III naar fase IV (dag/nacht). Door de stijging van de interne CO₂-concentratie (C_{int}) in het blad als gevolg van decarboxylatie, sluiten van de huidmondjes overdag. Naast deze C_{int} stijgt ook de interne O₂-concentratie. Aan het einde van fase III, als ook de interne O₂-concentratie hoog is, neemt C_{int} af. In deze overgangsfase komen C₃-fotosynthese en CAM-fotosynthese naast elkaar voor. De kans op het optreden van fotorespiratie is in deze fase dus hoog (10, 13).



Figuur 3 - Invloed van omgevings- en ontwikkelingsfactoren op de belangrijkste CAM varianten. De grootte van de pijlen geeft de relatieve kracht aan van de factoren. Bij CO₂ opname staat het witte balkje voor de licht periode en het zwarte balkje voor de donker periode – Cushman and Bohnert, 1999 (5)

CAM bij waterplanten

Ook bij waterplanten is CAM waargenomen (9). In dit geval niet vanwege waterstress maar omdat de CO₂ concentratie in water (vooral overdag, dan is het water warmer, en kan er minder CO₂ in opgelost zijn) erg laag is. Daarnaast zijn huidmondjes vaak niet aanwezig en is het transport van CO₂ in water langzaam. Van *Crassula helmsii* is bekend dat bladeren die omgeven worden door water gedurende de nacht CAM vertonen. Terwijl de bladeren die omgeven worden door lucht geen nachtelijke CO₂ opname kennen. In de lichtperiode nemen zowel de 'waterbladeren' als 'luchtbladeren' CO₂ volgens het C₃ pad op.

4 CO₂ en CAM bij Kalanchoe

4.1 Effecten van CO₂ doseren op de groei en ontwikkeling van Kalanchoe

De CO₂-concentratie heeft grote invloed op de fotorespiratie van C₃-planten. Door verhoging van de CO₂-concentratie kan de fotosynthesesnelheid en de groeisnelheid van C₃-planten vergroot worden. Bij verschillende CAM-planten heeft het verhogen van de CO₂-concentratie soms geen invloed op de fotosynthese- of groeisnelheid. Dit kan komen omdat het moment van toediening of de wijze van toediening geen rekening houden met het CAM-metabolisme.

Kalanchoe blossfeldiana wordt in de literatuur afwisselend met obligaat CAM of CAM-facultatief aangeduid. Uit de literatuur is bekend dat het verdubbelen van de CO₂-concentratie bij *Kalanchoe blossfeldiana* resulteerde in een toename van de biomassa met circa 20% (14, 27). Er werd niet alleen meer biomassa geproduceerd, omdat de planten hoger en breder werden, maar ook meer bloemen per plant (14, 15, met respectievelijk 700 en 900 ppm CO₂).

Bij *Kalanchoe pinnata* resulteerde CO₂-verhoging gedurende het hele etmaal in een hogere CO₂-opname overdag dan nachts (28, met CO₂-concentraties van 670 en 950 ppm). Verhogen van de CO₂ concentratie gedurende de nacht had minder effect op de CO₂-opname.

In ander onderzoek ook bij *Kalanchoe pinnata* werd door een verdubbeling van de CO₂-concentratie er meer biomassa geproduceerd (drooggewicht hoger 42 - 51%). Dit was niet het gevolg van de CAM-fotosynthese (nachtopname). Er zijn namelijk geen verschillen waargenomen in de concentraties aan malaat en zetmeel tussen hoog en laag CO₂. De extra opname van CO₂ werd voornamelijk overdag gerealiseerd bij hoog CO₂ (10, 27). Deze extra opname wordt vooral gerealiseerd bij de overgang van donker naar licht (eind fase III) en van licht naar donker (eind fase IV) waar de CAM-fotosynthese wordt overgenomen door C₃-fotosynthese of omgekeerd. Ook is bekend dat verhoogde CO₂-opname tijdens de dag door hoge externe CO₂-concentratie soms gepaard gaat met een afname van de CO₂-opname in de nacht (27).

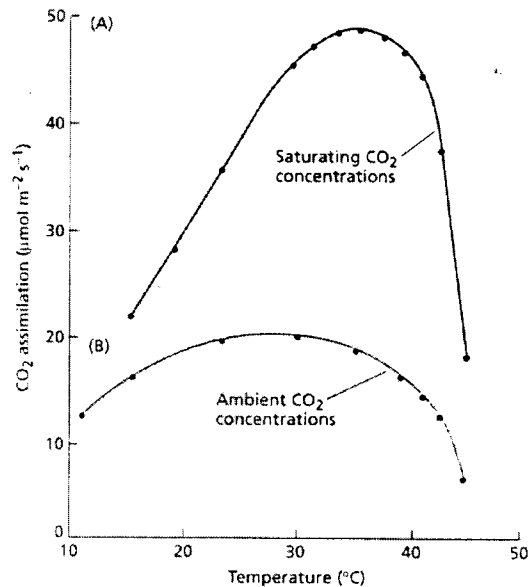
Bij een verlaging van de CO₂-concentratie beneden de natuurlijke concentratie gedurende de nacht zal de CO₂-opname in de nacht dalen. Aan de andere kant zal bij extreem lage CO₂-concentraties in de nacht de CO₂-opname in de vroege ochtend extra gestimuleerd worden (27). Onder een externe CO₂-concentratie van < 50 ppm wordt er geen CO₂ meer opgenomen door Kalanchoe (CO₂-compensatiepunt) (25).

Doordat de huidmondjes overdag sluiten loopt ook bij Kalanchoe de interne CO₂-concentratie (C_{int}) in het blad overdag op, dit kan afhankelijk van de soort. Bij Kalanchoe kan oplopen van 2 tot 12 maal de natuurlijke CO₂-concentratie. Naast deze C_{int} stijgt ook de interne O₂-concentratie. Midden op de dag (fase III) is de interne verhouding O₂/CO₂ bij Kalanchoe circa vijfmaal lager dan de natuurlijke O₂/CO₂-verhouding. Aan het einde van fase III, als ook de interne O₂-concentratie hoog is, neemt C_{int} af. In deze overgangsfase komen C₃-fotosynthese en CAM-fotosynthese naast elkaar voor. De kans op het optreden van fotorespiratie is in deze fase dus hoog (10, 13). Door het verhogen van de externe CO₂-concentratie zal de netto O₂-opname dalen (25) waardoor de fotorespiratie zal afnemen. Boven de 900 - 1000 ppm CO₂ is de afname van de O₂-opname nog maar gering.

4.2 Parameters die invloed hebben op de opname van CO₂

4.2.1 Temperatuur

Temperatuur heeft een groot effect op de activiteit van enzymen. Omdat veel enzymen als katalysator dienen in het fotosynthesep proces heeft temperatuur invloed op de fotosynthese. Een hoge temperatuur verhoogt de fotorespiratie, daar waar bij CAM planten ook CO₂ opname overdag plaatsvindt zal dit dus een negatief effect hebben op de opname van CO₂. Bij een hoge CO₂ concentratie is de opname van CO₂ sterker afhankelijk van de temperatuur (figuur 4 (24)). Wanneer bij een hoog CO₂ niveau de temperatuur gewijzigd wordt zal dit dus een groter effect op de CO₂ opname hebben dan bij normaal CO₂ niveau.



Figuur 4 – Het veranderen van de fotosynthese als functie van de temperatuur bij hoge en lage CO₂-concentraties (naar Berry en Björkman 1980 uit 24)

In verschillend onderzoek is aangetoond dat wanneer de bladtemperatuur boven of onder bepaalde kritische waarden komt terwijl er continu belicht wordt het dagelijkse opnamepatroon van CO₂ wordt verstoord. Als bovengrens wordt een bladtemperatuur van 27 - 30°C genoemd, voor de ondergrens een bladtemperatuur van 8°C (onder deze temperatuur is er geen transport van malaat meer mogelijk binnen de cel). Bij *Kalanchoe pinnata* is bekend dat temperatuur condities, die effect hebben op de CO₂ opname, van invloed zijn op de opname in de volgende lichtperiode (8, 20, 28).

In het algemeen vindt optimale CAM - fotosynthese plaats bij een warme dagtemperatuur en een koele nachttemperatuur. Verschillende onderzoeksresultaten laten zien dat ook bij *Kalanchoe blossfeldiana*, teelttemperaturen van 23/26 °C overdag en 14°C nacht (14, 25) een positief effect hebben op groei en ontwikkeling. Negatieve DIF (overdag lagere temperatuur dan nachts) geeft onder natuurlijke CO₂-concentraties kortere planten en latere bloei. Wanneer echter de CO₂-concentratie verhoogd werd naar 900 ppm werd een vroegere bloei gerealiseerd (15). Bij *Kalanchoe pinnata* nam de CO₂-opname overdag toe wanneer het verschil tussen dag- en nachttemperatuur (dag temperatuur hoger dan nacht temperatuur) negen of meer graden was. Deze toename ging ten koste van de nachtelijke CO₂ opname (29). Een lage nacht temperatuur t.o.v. de dag temperatuur (positieve DIF) versnelde ook de ontwikkeling waardoor de planten eerder veiling rijp waren (14, 25). Soortgelijke resultaten zijn ook bij andere CAM-planten gevonden als b.v. *Phalaenopsis*

Extreme dagtemperaturen zullen de nachtelijke CO₂ opname sterk reduceren (28).

4.2.2 Licht

4.2.2.1 Daglengte

Er zijn in de literatuur aanwijzingen dat afhankelijk van de daglengte *Kalanchoe blossfeldiana* kan reageren als CAM of als C₃-plant.

Onder lange dag en met voldoende water beschikbaar, lieten de bladeren van *K. blossfeldiana* en *K. pinnata* C₃-fotosynthese zien (3, 27), terwijl onder korte dag CAM fotosynthese werd geïnduceerd. Vooral jonge bladeren vertonen onder langedag C₃-fotosynthese (18, 7, 4, 27). Naarmate de bladeren ouder worden zullen ze meer CAM-fotosynthese vertonen onder langedag condities.

Een langere daglengte (18 uur t.o.v. 12 uur) na bloeminductie bevorderde de ontwikkeling waardoor de planten eerder veiling rijp waren (15). Dit zou te verklaard kunnen worden doordat deze planten C₃-fotosynthese bedrijven hetgeen samen met een langere fotosynthese periode per etmaal tot betere groei leidt.

4.2.2.2 Lichtintensiteit

Een hogere CO₂-concentratie geeft bij een hogere lichtintensiteit de optimale fotosynthesesnelheid. Het verhogen van de lichtintensiteit naar dit optimum kan resulteren in een afname van de CO₂ opname. In Noors onderzoek uit 1997 leidde verhoging van CO₂-concentratie naar 800 ppm tot een toename van het versgewicht afhankelijk van de lichtintensiteit, zie tabel 2. Er is waarschijnlijk een optimum voor de lichtintensiteit (1). Deze planten werden geteeld bij een d/n temperatuur van 20°C en een daglengte van 20 uur (1).

Tabel 2- Toename versgewicht onder invloed van lichtintensiteit bij CO₂ dosering met 800 ppm.

Licht in lux ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	% toename versgewicht
4 800 (85)	27
8 000 (143)	54
11 200 (200)	38

Bij een ander onderzoek bevorderde een hogere lichtintensiteit ($130 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ t.o.v. $85 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) na bloeminductie de ontwikkeling waardoor de planten ongeveer 4 dagen eerder veiling rijp waren (15). Onder een constante concentratie van 330 ppm CO₂ en bij een dag temperatuur van 26°C ligt de verzadiging van de CO₂-opname bij $230 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bij *Kalanchoe blossfeldiana* (25).

Onderzoek bij *Kalanchoe daigremontiana* heeft laten zien dat het CAM-ritme stopte bij een hoge lichtintensiteit ($>220 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) of een bladtemperatuur boven de 27 °C (waarbij de CO₂ opname sterk gereduceerd wordt). Hoog licht en een hoge bladtemperatuur zijn vaak gecorreleerd. Het ritme komt weer terug als het lichtniveau wordt teruggebracht naar 90 -120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ of wanneer de bladtemperatuur daalt met 3.5 tot 11 °C (8).

4.2.3 Waterstress en voeding

Droogtestress bevordert CAM-fotosynthese en dit gaat vaak samen met een afname van de netto fotosynthese (2, 26)

Wanneer zware droogtestress werd aangelegd bij planten onder lange dag vertoonden C₃ bladeren al na twee dagen de eerst CAM patronen na 7 dagen droogte waren de bladeren volledig CAM. Als daarna weer voldoende water beschikbaar was duurde het 9 dagen voordat de bladeren weer C₃-fotosynthese vertoonden. Lange dagen droegen niet bij tot CAM-fotosynthese maar bevorderden juist de C₃-fotosynthese (27).

Vijf dagen waterstress leidt bij *Kalanchoe blossfeldiana* tot een afname van de fotosynthese (26). Na het hervatten van de watergift was het herstel moeizaam, twee weken na de stress behandeling werd pas weer groei waargenomen.

In de stekfase is de kans op waterstress aanwezig zolang de stekken nog onbeworteld zijn. Het stek is opgegroeid onder langedag en zal C₃-fotosynthese bedrijven op het moment van plukken. Waarschijnlijk zal het in de eerste dagen na plukken overschakelen op CAM-fotosynthese. Als dit zo is, dan is CO₂ doseren aan het eind van de dag en in de nacht nodig. Of deze overschakeling van C₃ naar CAM daadwerkelijk gebeurt, is nooit onderzocht.

In enkele proeven heeft men het effect van de vorm waarin stikstof wordt aangeboden aan de plant op de CO₂-opname bekeken (11,16,17). Wanneer stikstof in de vorm van nitraat werd aangeboden werd er een hogere CO₂-opname gerealiseerd t.o.v. de ammonium vorm.

5 Toepassing voor Kalanchoë

Het verhogen van de CO₂-concentratie resulteerde bij *Kalanchoe blossfeldiana* in hogere biomassa en meer bloemen per plant. Resultaten werden al gevonden wanneer de CO₂-concentratie werd verdubbeld. Op het moment dat de huidmondjes open zijn overdag zal er C₃-fotosynthese worden bedreven. De huidmondjes zijn in ieder geval open bij de overgang van fase II naar fase III (ochtend) en de overgang van fase III naar fase IV (nacht). Vooral bij de overgang naar de nacht zal CO₂-doseran het meest effectief zijn (10, 13) doordat de fotorespiratie wordt verlaagd. Staan de huidmondjes echter ook overdag open, als gevolg van langere daglengte (waarschijnlijk voornamelijk in het jonge blad), dan heeft het doseren van CO₂ gedurende de dag ook zin (4, 7, 18, 27). Ook doseren van CO₂ nachts resulteerde in een hogere CO₂-opname (28). Het grootste effect van CO₂ verhoging werd overdag waargenomen (14, 22, 23).

De optimale CO₂-dosering zal afhankelijk van de **temperatuur** en **lichtintensiteit** liggen tussen de 700 en 900 ppm CO₂.

Daarnaast zal het hanteren van een hogere dagtemperatuur t.o.v. de nachttemperatuur de nachtelijke opname van CO₂ bevorderen. Dit zal echter leiden tot langere planten, hetgeen meestal ongewenst is. Ook een langere daglengte of een hogere lichtintensiteit zullen de lengtegroei verhogen (15). Momenteel is niet duidelijk hoe groot bij de huidige teeltwijze het aan deel CAM-fotosynthese in de plant is. Tevens is onderzoek naar de optimale condities voor de opname van CO₂ in relatie tot plantkwaliteit (planthoogte, aantal bloemen) is gewenst.

Samenvattend voor de verschillende teeltfactoren:

- Daglengte**
- Onder kortedag zal voornamelijk CAM-fotosynthese plaatsvinden, dus CO₂ doseren vanaf einde van de dag tot begin van de dag.
 - Onder langedag wordt C₃-fotosynthese gestimuleerd, dus overdag CO₂ doseren is het meest effectief.
- Temperatuur**
- Daggemiddelde: lagere temperatuur geeft betere CO₂-opname
 - Dag/nacht – wanneer het CAM-fotosynthese wordt gebruikt, dan geeft lage nachttemperatuur t.o.v. dagtemperatuur een betere CO₂-opname. Let op bij negatieve DIF!
- Plantleeftijd**
- Jong blad zal onder langedag C₃-fotosynthese tonen terwijl naarmate het blad ouder wordt dit meer CAM-fotosynthese zal vertonen onder langedag condities.
 - Binnen één plant kunnen beide fotosynthese systemen aanwezig zijn.
- Watergift**
- Wanneer er voldoende water beschikbaar is voor de plant kan C₃-fotosynthese worden gehandhaafd
 - Bij watergebrek zal van C₃-fotosynthese worden overgeschakeld op CAM-fotosynthese.
 - Mogelijk treedt er ook waterstress op in de stekfase, vooral in de periode dat de stekken nog geen wortels hebben. Dit kan gevolgen hebben voor de CO₂ behoefte van het stek.

6 Literatuur

- 1 Anoniem, 1998. CO₂ werkt goed bij Kalanchoe. Vakblad voor de Bloemisterij 4, pp. 50
- 2 Brulfert J., D. Ravelomanana, S. Guclu and M. Kluge, 1996. Ecophysiological studies
in *Kalanchoe porphyrocalyx* (Baker) and *Kalanchoe miniata* (Hils et Bojer), two species
performing highly flexible CAM. Photosynthesis Research 49: 29 – 36
- 3 Brulfert J., M. Kluge, S. Guclu and O. Queiroz, 1988. Interaction of photoperiod and drought as CAM
inducing factors in *Kalanchoe blossfeldiana* Poeln., cv. Tom Thumb. J. Plant Physiol. Vol. 133
pp. 222 - 227.
- 4 Brulfert, J., D. Guerrier and O. Queiroz, 1982. Photoperiodism and Crassulacean acid metabolism.
Planta 154: 332 - 338
- 5 Cushman J.C. and H.J. Bohnert, 1999. Crassulacean acid metabolism: Molecular genetics.
Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 305 – 332
- 6 Drennan P.M. & P.S. Nobel, 2000. Responses of CAM species to increasing
atmospheric CO₂ concentration. Plant Cell and Environment 23, 767 – 781
- 7 Fetene M., U. Lüttge and H. Ziegler, 1991. Flexibility in CO₂ fixation pathway of a highland kalanchoë,
Kalanchoe petitiiana a.rich. Bot. Acta 104: 374 - 378
- 8 Grams T.E.E., F. Beck and U. Lüttge, 1996. Generation of rhythmic and arrhythmic behaviour
of crassulacean acid metabolism in *Kalanchoe daigremontiana* under continuous light by
varying the irradiance or temperature: measurements in vivo and model simulations. Planta
198: 110 - 117.
- 9 Lambers, H., F.S., Chapin III and T.L. Pons, 1998. Plant Physiological Ecology. Springer,
New York
- 10 Lüttge U., 2002. CO₂-concentrating: consequences in crassulacean acid metabolism. Journal of
Experimental Botany, Vol. 53, No. 378, pp. 2131-2142
- 11 Makobe, M.N., J.N. Macharia and A.K. Misra, 1998. The effect of ammonium sulphate sodium nitrate on
crassulacean acid metabolism (CAM) in Kalanchoe species II: phosphoenol pyruvate
carboxylase activity, soluble protein content and CO₂ exchange. Discovery – and – Innovation
10: 3-4, 217 - 224
- 12 Mansfield T.A. & P.J. Snaith, 1984. Circadian rhythms. In: M.B. Wilkins (Ed.)
Advanced Plant Physiology. pp. 201 - 218. Longman Scientific & Technical.
- 13 Maxwell K., S. von Caemmerer and J. R. Evans, 1997. Is a Low internal
conductance to CO₂ diffusion a consequence of succulence in plants with Crassulacean Acid
Metabolism? Aust. J. Plant Physiol., 24, 777 - 786
- 14 Mortensen L.M. and R. Moe, 1992. Effect of CO₂ enrichment and different day/night temperature
combinations on growth and flowering of Rosa L. and *Kalanchoe blossfeldiana* v. Poelln.
Scientia Horticulturae, 51, 145 -153
- 15 Mortensen L.M., 1994. Effect of day/night temperature variations on growth, morphogenesis and
flowering of *Kalanchoe blossfeldiana* v. Poelln. at different CO₂ concentrations, daylengths and
photo flux densities. Scientia Horticulturae, 59, 233 - 241
- 16 Ota K., T. Tezuka and Y. Yamamoto, 1988. Changes in Crassulacean acid metabolism of *Kalanchoe*
blossfeldiana by different nitrogen sources. Plant Cell Physiol. 29 (4): 533 - 537
- 17 Ota K. and Y. Yamamoto, 1991, Effect of different nitrogen sources and concentrations on CAM
photosynthesis in *Kalanchoe blossfeldiana*. Journal of Experimental Botany Vol.42, No.243.pp.
1271 – 1277
- 18 Ota K., 1988. Stimulation of CAM photosynthesis in *Kalanchoe blossfeldiana* by
transferring to nitrogen-deficient conditions. Plant Physiol. 87, 454 – 457
- 19 Ota K., K. Morioka and Y. Yamamoto, 1991. Effects of leaf age, inflorescence temperature, light
intensity and moisture conditions on CAM photosynthesis in *Phalaenopsis*. J.Japan Soc. Hort.
Sc. 60(1): 125 - 132
- 20 Rascher U., B. Blasius, F. Beck and U. Lüttge, 1998. Temperature profiles for the expression of
endogenous rhythmicity and arrhythmicity of CO₂ exchange in the CAM plant *Kalanchoe*
daigremontiana can be shifted by slow temperature changes. Planta 207:76 - 82

- 21 Salisbury, F.B. & C.W. Ross, 1992. Plant Physiology, 4th Edition. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.
- 22 Schmidt, K. und D. Lauterbach, 1987. CO₂ fertilization of Kalanchoe hybrids. Gb + Gw, 87: 52, 1933 – 1934
- 23 Schmidt, K. und D. Lauterbach, 1985. Hydrokultur und CO₂ dungung bei Kalanchoe hybriden. Deutscher Gartenbau, 39: 37, 1740 – 1741
- 24 Taiz L. & E. Zeiger, 1998. Plant Physiology. 2nd edition. pp. 216 - 219; 242 - 247.
- 25 Thomas, D.A., M. Andre and A-M. Ganzin, 1987. Oxygen and carbon dioxide exchanges in crassulacean acid metabolism plants: II. Effect of CO₂ concentration and irradiance. Plant Physiol. Biochem., 25, (2), 95 - 103
- 26 Thomas D.A. and M. Andre, 1987. Oxygen and carbon dioxide exchanges in Crassulacean Acid Metabolism plants: I Effect of water stress on hourly and daily patterns. Plant Physiol biochem 25(2), 85 - 93.
- 27 Winter K, A. Richter, B. Engelbrecht, J. Posada, A. Virgo and M. Popp, 1997. Effect of elevated CO₂ on growth and crassulacean acid metabolism activity of *Kalanchoe pinnata* under tropical conditions. Planta 201: 389 – 396
- 28 Winter K. and B. Engelbrecht, 1994. Short-Term CO₂ response of light and dark CO₂ fixation in the crassulacean acid metabolism plant *Kalanchoe pinnata*. J.Plant Physiol. Vol. 144. pp. 462 - 467
- 29 Winter K. and J.A.M. Holtum, 2002. How Closely Do δ¹³C values of crassulacean acid metabolism plants reflect the proportion of CO₂ fixing during day and night?