



Bladrandjes en Ca bij tomaat

Fysiologische achtergronden van cel- en weefselstevigheid in relatie tot het ontstaan van bladrandjes en infectie met *Botrytis cinerea* L.

M. IJdo, J. Janse, J. Zijlstra, W. Voogt



Referaat

Een studie is gedaan naar het voorkomen van bladrandjes bij tomaat. Telers zien bladrandjes vaak als teken dat het maximum uit de plant wordt gehaald, maar is een gemakkelijk invalspoort voor botrytis. Het verschijnsel is een fysiologische ziekte waarbij er door een lokaal tekort aan Ca verzwakte cellen ontstaan. Ca is namelijk essentieel voor de stevigheid van zowel celwanden als celmembraan. De zwakke cellen gaan niet direct dood, maar 'knappen' bij de minste stress, meestal een 'vochtschok'. Mogelijk berust dit op een mechanische schok door zwakke celwanden en membranen of doordat de interne Ca stabiliteit wordt ontregeld. Botrytis kan dan gemakkelijk zijn slag slaan door de zwakke celwanden en de lekke membranen die ontstaan zijn door laag Ca. Bij de Ca opname en transport vervullen hoge plantbelasting (weinig nieuwe jonge wortelpunten), EC en K/Ca mat en druppelwater, maar vooral ook verdamping en worteldruk hoofdrollen. Omdat deze factoren naast en soms onafhankelijk van elkaar spelen is het geheel zeer complex.

Bladrandjes voorkomen kan door bevorderen van de Ca opname, zoals het vermijden van hoge plantbelasting met name onder lage lichtintensiteiten. Daarnaast door de verdeling naar jonge groeiende delen te stimuleren via het bevorderen van de verdamping van de groeiende delen van het gewas. Tenslotte moeten klimaatschokken in perioden van een zwak gewas worden vermeden.

Abstract

Tip burn of tomato leaves is often seen by growers as indication for maximum crop performance, however grey mould (botrytis), can easily infect through the necrotic leaf edges. In this desk study factors that are influencing the occurrence of tip burn and calcium (Ca) deficiency were studied.

Cells formed during periods of Ca shortage have weaker membranes and walls and 'burst' after a climatic shock resulting in plasmolysis and disintegration of the membranes. Possibly the disruption of the Ca homeostasis in the cytoplasm. Botrytis uses dead tissue as an entrance to infect the plant. The weak cell walls and solute leaking caused by disruption of the membranes facilitates the infection process of the fungus. Ca uptake and transport are affected by high fruit load, EC and K/Ca in the root environment and transpiration and root pressure. These factors sometimes interact and sometimes are independently effective, resulting in a complex situation.

Thus preventing heavy fruit loads in susceptible periods and stimulating Ca uptake and distribution will alleviate the problem. This, in combination with the prevention of climate shocks will help to reduce the occurrence of tip burn in tomato.

© 2011 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Wageningen UR Glastuinbouw.

Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk
: Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk
Tel. : 0317 - 48 56 06
Fax : 010 - 522 51 93
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	Voorwoord	5
	Leeswijzer	7
	Samenvatting	9
1	Inleiding	11
	1.1 Aanleiding	11
	1.2 Problematiek van bladrandjes	11
	1.3 Het ontstaan van bladrandjes	12
	1.3.1 Wat is al bekend?	12
	1.3.2 Wat is nog onduidelijk?	13
2	Literatuurstudie	15
	2.1 Fysiologische oorzaken cel en weefselstevigheid	15
	2.1.1 Het celmembraan	15
	2.1.2 De celwand	16
	2.1.3 De celgroei (verdiepend stuk)	17
	2.2 Calcium	19
	2.2.1 Algemeen	19
	2.2.1.1 Functies in de cel	19
	2.2.2 Opname en transport van Ca	20
	2.2.3 Het wortelmilieu	21
	2.2.4 De voedingsoplossing	22
	2.2.5 Klimaat effecten op de opname en distributie van Ca	24
	2.2.5.1 Luchtvochtigheid en koolstofdioxide	24
	2.2.5.2 Licht en instraling	26
	2.2.6 Plantontwikkeling	27
	2.2.6.1 Betrokkenheid van hormonen	27
	2.2.7 Interacties tussen factoren	28
	2.3 Botrytis	29
	2.3.1 Algemeen	29
	2.3.2 Wanneer treedt infectie op?	29
	2.3.3 Relatie tussen Ca, bladrandjes en de afweer van de plant	30
3	Discussie	33
4	Vertaling naar de praktijk	37
5	Conclusie	43
6	Referenties	45

Voorwoord

Het verschijnsel 'Bladrandjes' bij tomaat is de laatste jaren een toenemend probleem, niet in de laatste plaats omdat dit vaak gepaard gaat of gevolgd wordt door infectie met de grauwe schimmel, *Botrytis cinerea* L., kortweg botrytis. Intacte bladeren zijn ongevoelig voor een botrytis infectie terwijl juist afgestorven weefsel zoals bladrandjes een ingangspoort vormen. Het probleem 'bladrandjes bij tomaat' is al bekend vanaf eind jaren '80 en heel vaak wordt het in verband gebracht met calcium (Ca) gebrek. Het lijkt namelijk qua ontstaan en uiterlijk op veel fysiologische problemen, zoals bolblad en broeikop bij komkommer, hartrot bij bleekselderij, rand bij sla, bladranden bij aardbei, et cetera. Deze hebben duidelijk aantoonbaar een relatie met de Ca-voeding. Ook al lijken deze symptomen erg verschillend, allen hebben te maken met het afsterven van de buitenste rand van het bladweefsel. Mogelijk is er dus sprake van dezelfde problematiek maar uit dit zich anders omdat de planten wat betreft de anatomie (opbouw) sterk van elkaar verschillen. Het bepalen van een plaatselijk tekort aan Ca (in de uitgroeiende randen van het blad) is moeilijk omdat het Ca-gehalte niet altijd veel verschilt van planten die geen last hebben van bladrandjes.

Omdat dit fenomeen samenhangt met de fysiologie van de plant is er een complex van factoren die een rol (kunnen) spelen, die bovendien ook nog onderling samenhangen. Ook de veranderde teeltmethoden (belichte teelt, vochtiger en hoger CO₂), waarbij men uiteraard het maximale uit de plant wil halen, maken het niet gemakkelijker een helder beeld te krijgen van de oorzaken en strategieën om de problematiek aan te pakken.

In dit rapport wordt een verkenning gedaan naar de bestaande kennis in de literatuur en bij deskundigen rondom het probleem van bladrandjes en de daaruit voortvloeiende botrytis problematiek. De nadruk ligt op de rol van Ca en daarbij de rol van dat element op celniveau. Een andere focus van de literatuurstudie is het verkrijgen van celstevigheid tijdens de vorming en ontwikkeling van het blad. Vervolgens wordt een analyse gemaakt van de situatie in de praktijk, waarbij een verbinding wordt gemaakt met de gegevens uit de literatuur over de fysiologische achtergronden. In de discussie wordt dan toegewerkt naar een mogelijke praktisch hanteerbare aanpak.

Leeswijzer

Het eerste deel van het rapport gaat over de rol van Ca in de plant, voornamelijk op het effect op weefsel en celstevigheid. Calcium is betrokken bij de celstevigheid door de functies die het vervult in de celwand en het celmembraan en het in stand houden van de turgor. Calcium kan echter niet verder door de plant worden herverdeeld nadat Ca is afgezet in de verschillende uitgroeiende delen.

Het tweede deel van het verslag zal daarom verder ingaan op de verschillende factoren die de opname en het transport van Ca dat met de waterstroom meekomt bepalen. Dit deel is opgedeeld in de stukken klimaat, voeding en plantontwikkeling. Het derde deel van het verslag behandelt de botrytis problematiek in samenhang met de bladrandjes. In het laatste deel volgt een uitgebreide discussie waarin de interacties besproken worden tussen de verschillende fysiologische processen en de omgevingsomstandigheden (klimaat, wortelmilieu). Zo wordt de opname en distributie van Ca gelinkt aan de rol van Ca in de cellen van het uitgroeiende blad. De interacties tussen de factoren die de opname en distributie van Ca via de waterstroom beïnvloeden worden ook besproken. Verder wordt het voorkomen van botrytis, een echte zwakteparasiet gerelateerd aan zwakke cellen die ontstaan zijn door een tekort aan Ca. Ook wordt zijdelings aandacht besteed aan hoe weefselstevigheid eventueel (non-destructief) gemeten kan worden.

Tenslotte wordt getracht praktijkervaringen met bladrandjes in tomaat fysiologisch te verklaren met behulp van de gevonden gegevens uit de literatuur.

Samenvatting

Necrotische bladrandjes bij tomaat komen geregeld voor, met name bij de belichte teelt. Het verschijnsel wordt door telers niet als een groot probleem gezien, ze beschouwen het eerder als een indicatie dat ze alles uit de plant gehaald hebben. Echter het blijkt een gemakkelijke invalspoort te zijn voor de zwakteparasiet *Botrytis cinerea* L., kortweg botrytis, en kan daardoor aanzienlijke schade veroorzaken. In dit literatuur onderzoek is nagegaan hoe en in welke omstandigheden bladrandjes ontstaan en in hoeverre Ca-tekort hierbij een rol speelt.

Calcium (Ca) is zowel nodig voor de stevigheid van celwanden als voor het functioneren van celmembranen, maar er is ook voldoende Ca nodig om de concentratie binnen de cel in stand te houden. Is er onvoldoende Ca beschikbaar bij de aanmaak en groei van nieuwe cellen dan ontstaan gemakkelijk zwakke cellen. Dit kan zowel door zwakke celwanden als door slecht functionerende (lekkende) membranen worden veroorzaakt, maar mogelijk ook door een ontregelde verhouding tussen Ca binnen en buiten de cel. Tekorten aan Ca kunnen lokaal in de plant gemakkelijk ontstaan. Dit komt omdat Ca opname, transport en de verdeling over de verschillende delen van de plant volledig samenhangen met het watertransport; verdamping en worteldruk. Daarnaast zijn er voor de opname van Ca jonge, groeiende wortelpunten nodig. Tenslotte is het interne transport van Ca op celniveau uiterst moeilijk. Er is daarom een sterke samenhang met het kas- en buitenklimaat. Ook groeisnelheid en plantbalans (blad/vruchtverhouding) spelen een belangrijke rol in het geheel. In bepaalde situaties ontstaat lokaal een tekort aan Ca. Voor de uitgroei (strekking) van cellen, waarbij de celwanden en membranen sterk worden vergroot en opgerekt is van belang dat er in aanleg voldoende Ca voorhanden is. Als dit onvoldoende het geval is, ontstaan potentieel zwakke cellen. Vervolgens zijn er bepaalde klimaatsituaties die de zwakke cellen dusdanig belasten dat ze de spanning niet aankunnen en kapotgaan, waardoor de necrose ontstaat. Dat de necrose aan bladranden ontstaat en in jong blad komt doordat de randen het verst verwijderd liggen van de aanvoer via de houtvaten en na het ontplooien het meest blootstaan aan verdampingsdruk. Potentieel ontstaan bladrandjes het meest in een vochtig klimaat, er is dan onvoldoende aanvoer via verdamping naar de jonge delen. Plotselinge vochtschokken, die bijna altijd wel op enig moment voorkomen, zijn dan de omstandigheden die uiteindelijk de cellen doen knappen. Dat het verschijnsel bij belichte teelt meer voorkomt heeft twee oorzaken. In de eerste plaats doordat de teler uit efficiency oogpunt de maximale plantbelasting nastreeft, staat de wortelontwikkeling stil, zijn er onvoldoende groeiende wortelpuntjes en is de Ca opname beperkt. In de tweede plaats teelt men vrij vochtig (winter, zoveel mogelijk CO₂ binnen houden), als men dan toch moet luchten is de vochtschok groot. Ook de zeer hoge EC die men aanhoudt uit oogpunt van vruchtkwaliteit is niet bevorderlijk voor de Ca opname.

Het bevorderen van de Ca opname en verdeling kunnen bladrandjes helpen voorkomen. Dit betekent voorkomen van hoge plantbelasting, dit stimuleert de aanmaak van jonge wortelpunten, en het bevorderen van de verdamping in de groeiende delen van het gewas. Het verhogen van de Ca gift heeft slechts beperkt effect. Vervolgens is dan het zoveel mogelijk voorkomen van vochtschokken de remedie tegen het ontstaan van bladrandjes.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

In deze deskstudie gaan we verder in op de mogelijke oorzaken van het ontstaan van bladrandjes bij tomaat. In de belichte tomatenteelt waarbij men in het najaar plant en daarin sterk verschilt van de reguliere teelt lijken bladrandjes waarbij de buitenste rand van het blad afsterft vaker voor te komen. In discussies met telers en adviseurs worden allerlei factoren genoemd. Afgezien van de rasgebondenheid van het fenomeen, ontbreekt eenduidigheid en lopen hoofd- en bijzaken waarschijnlijk in alle discussies door elkaar heen. Hoogstwaarschijnlijk speelt de hoge plantbelasting een belangrijke rol, in combinatie met seizoenen en teeltfactoren. Maar ook de fysiologie en anatomie van de tomatenplant spelen een rol. Botrytis, een ziekteverwekkende schimmel die moeilijk in toom te houden is, kan via deze bladrandjes aanzienlijke schade veroorzaken.

Op verzoek van de landelijke tomatencommissie, onder aandrang van de werkgroep belichte tomaat is in opdracht van het Productschap Tuinbouw een project gestart, waarbij in de eerste fase literatuuronderzoek is gedaan naar de samenhang tussen bladrandjes, calcium (Ca) en botrytis. WUR glastuinbouw heeft jarenlang ervaring met gewasfysiologisch onderzoek. Het grootste deel hiervan is echter uitgevoerd in andere teeltomstandigheden waarbij er nog geen sprake was van het gebruik van assimilatielampen. Ook zijn klimaat en voedingsadviezen door de jaren heen aangepast aan nieuwe teeltpraktijken, waarbij de plantbelasting steeds opgevoerd is. De literatuurstudie is daarom breed opgezet en er is gezocht naar informatie wereldwijd.

De nieuwe omstandigheden vragen dus om een vernieuwd inzicht in de bladrandjesproblematiek. In deze studie wordt oude literatuur en nieuwe literatuur bestudeerd en worden ervaringen vanuit de praktijk, van zowel telers als onderzoekers, gestaafd aan de wetenschappelijke literatuur die er bestaat over bladrandjes. De rol van Ca in het bepalen van weefselstevigheid en de relatie met gewasbescherming wordt belicht. De hoofdvragen die we trachten te beantwoorden zijn de volgende. 1) Wat bepaald de weefselstevigheid van bladeren? 2) Onder welke omstandigheden kunnen bladrandjes zich (het makkelijkst) ontwikkelen? 3) Wat is de relatie tussen bladrandjes en botrytis?

1.2 Problematiek van bladrandjes

Bij tomaat, met name bij de belichte teelt heeft men geregeld last van necrotische bladrandjes, soms ook wel vochtblaadjes genoemd (Figuur 1). De problemen doen zich voor in het blad rondom de bloeiende tros of net daaronder. Uiteraard blijft een aangetast blad zichtbaar zolang het nog niet geplukt is. In eerste instantie ontstaan lichte gekleurde ofwel wat 'grijsachtige' randen aan de puntblaadjes en de aangrenzende blaadjes aan het einde van een samengesteld tomatenblad. In tweede instantie worden deze randen geel, krullen om en de geelkleuring trekt wat naar de binnenkant van het blad. Doordat de aangetaste randen niet meer verder uitgroeien en het binnenste van een blaadje nog wel, trekt het blaadje bol en scheurt aan de randen ook in. In het laatste stadium verdrogen sommige van de gele randen en worden necrotisch (bruin). In dit stadium ontstaat vaak botrytis.



Figuur 1. Bladrandjes bij tomaat vermoedelijk veroorzaakt door Ca-gebrek. Uit Sonneveld en Voogt, 2009.

De ervaring van de telers is dat dit veelal optreedt wanneer er geteeld wordt met een laag vochtdeficiet (vpd) (www.groentennieuws.nl). De benaming 'vochtblaadjes' is volgens sommigen (<http://www.hortinfo.nl/horti-index/>) dan ook een verzamelnaam voor fysiologische bladschade als gevolg een laag vochtdeficiet (vpd). Ook bolblad en broeikoppen bij komkommer en vochtblaadjes of bladrandjes bij alstroemeria en roos worden hieronder gerekend (Bangerth, 1979; Sonneveld & Voogt, 2009).

De aanwezigheid van bladrandjes wordt door telers niet altijd als een probleem voor de productie gezien. Het optreden van bladrandjes neemt toe naarmate een hogere plantbelasting wordt aangehouden, en dan vooral wanneer de teelt plaatsvindt bij relatief weinig licht. Het wordt dan als het ware gezien als een indicator voor een maximale productie. Zo kan ook op snelheid telen (vroeg oogsten) leiden tot bladrandjes. Bij de teelt onder assimilatielampen wordt het ontstaan van enkele bladrandjes eveneens geaccepteerd (Aulbers *et al.* 2010) omdat het idee leeft dat door het aan en uitschakelen van de belichting de luchtvochtigheid rond het blad sneller verandert. Echter, naarmate de hoeveelheid necrotische bladrandjes toeneemt, worden er meer ingangspoorten voor de schimmel *botrytis* gecreëerd. *Botrytis* is een zwakteparasiet die een levende plant binnendringt via een wond of via afgestorven weefsel om vervolgens de plant te parasiteren. Zodra een infectie heeft plaatsgevonden kan dit grote gevolgen hebben voor de hele teelt onder andere omdat de schimmel maar moeilijk te bestrijden is (Williamson *et al.* 2007). Maar ook de levensstrategie van *Botrytis cinerea* speelt een rol. Een spore kan wachten totdat de omgevingsfactoren en de fysiologie van de plant gunstig zijn en vervolgens razendsnel toeslaan. Na een uitbraak zal de sporendruk in de kas erg hoog zijn geworden en het verdere seizoen kan men last houden van infecties.

1.3 Het ontstaan van bladrandjes

1.3.1 Wat is al bekend?

Bladrandjes komen voor in snel uitgroeiende bladeren die maar weinig kunnen verdampen omdat het jonge weefsel vrij lang opgesloten zit. Het is een gevestigde mening dat het fenomeen bladrandjes samenhangt met Ca-gebrek. Lokaal Ca-gebrek of onvoldoende transport van Ca naar bepaalde organen wordt in ieder geval gezien als de primaire oorzaak van bladnecroses (Sonneveld & Voogt, 2009). Deze mening is niet zo zeer gestoeld op hard bewijs maar door een combinatie van feiten die zich voordoen. Sterker nog er zijn zelfs onderzoeksresultaten die het tegendeel lijken aan te tonen. Zo zijn er in het verleden onderzoek resultaten geweest waarbij een laag Ca-gehalte in het blad geen bladrandjes gaf (de Kreij, 1991), maar ook gewasanalyses van blad met bladrandjes blijken soms een normaal Ca-gehalte te hebben (de Kreij, 1996). Toch lijkt het aannemelijk de link te leggen tussen Ca en bladrandjes.

Blijkbaar ontstaat tijdens het ontvouwen van het blad een gebrek aan Ca in de randen en in de punt. Dit wordt mogelijk veroorzaakt door een te lage verdamping in deze bladeren ten opzichte van de rest van de plant. Calcium komt met de opgaande sapstroom mee via de houtvaten. Deze heeft twee drijvende krachten: opgewekt door de worteldruk en door de verdamping van water uit de huidmondjes.

De aangetroffen concentratie Ca bij tomaat verschilt per weefseltype en de waarden in het blad (~300-600 mmol kg⁻¹) zijn hoger dan in de vruchten (~10-30 mmol kg⁻¹). Dit hangt samen met het verschil in celgrootte tussen deze weefsels maar vooral met het feit dat een blad in vergelijking met een vrucht een groter verdampend oppervlakte heeft ten opzichte van de inhoud van het orgaan. Helaas zijn de gebruikelijke laboratoriummethoden om het Ca-gehalte in bladweefsel te bepalen niet toegesneden om Ca als oorzaak van bladrandjes te kunnen aantonen of te voorspellen. Reguliere gewasanalyses bepalen de hoeveelheid Ca in gewichtseenheden op de droge stof. Daarnaast heeft oud blad door verdamping langere tijd aanvoer van water en mineralen vanuit de wortels gehad en heeft daardoor meer Ca kunnen ophopen. Dit zorgt ervoor dat de hoeveelheid Ca in de bovengrondse delen sterk verschilt. Met andere woorden; hoe langer en meer een plantenorgaan heeft kunnen verdampen, des te hoger het Ca-gehalte. Het is ook mogelijk dat door strekking van het weefsel verdunning van het Ca-gehalte optreedt. Logischerwijs is door bovenstaande factoren het Ca-gehalte in jonge bladeren lager dan in oud blad.

Niet enkel de opname van Ca is dus van belang maar nog belangrijker is waarschijnlijk het transport. Als de totale verdamping van de plant laag is (bv. bij donker weer, laag vpd) wordt er minder water opgenomen. Deze beperkte hoeveelheid water waarin zich mineralen zoals Ca bevinden moet dan verdeeld worden over de verschillende plantenorganen. Deze verdeling van de opwaartse sapstroom is echter vooral afhankelijk van de verdamping van de plantendelen waardoor calcium dus niet in alle gevallen op plekken komt waar het nodig is. Wanneer een bepaald plantendeel niet of weinig verdampt dan zal automatisch de aanvoer van water (en Ca) uit de wortels minder zijn. Weinig verdampende delen krijgen dan wel toevoer via de zeefvaten. De sinksterkte (mogelijke groei wanneer er geen concurrentie zou zijn) van de plantendelen bepaalt de verdeling van de assimilaten die door fotosynthese zijn gevormd. Het is het niet duidelijk hoe de afgifte van Ca op korte afstand wordt gereguleerd, bijvoorbeeld in een uitgroeiend blad.

Het symptoom bladrandjes lijkt vooral in de glastuinbouwbouw en meer specifiek in substraatteelt of hydrocultuur voor te komen. Het geven van een Ca-overmaat in de voeding lost het probleem niet of slechts gedeeltelijk op. Klimatologische schokken zoals grote verschillen in luchtvochtigheid en of temperatuur worden vaak als oorzaak aangeduid. Verder lijkt een hoge plantbelasting (grote sinksterkte van de vruchten) in combinatie met weinig licht en mogelijkheid tot verdamping het ontstaan van necrotische bladrandjes te bevorderen.

1.3.2 Wat is nog onduidelijk?

Onder welke voorwaarden kan men er zeker van zijn dat bladrandjes wel of juist niet optreden? Wat is de werkelijke fysiologische oorzaak waardoor er lokaal cellen afsterven?

Deze vragen zijn niet zo gemakkelijk en vooral niet eenduidig te beantwoorden. Wel is duidelijk dat uit de waarnemingen van telers de klimatologische omstandigheden het meest opvallen. Zo komt er het ene jaar aanzienlijk meer bladrandjes (en botrytis) voor dan in andere jaren. Maar ook bepaalde perioden in de ontwikkeling van de plant lijken een rol te spelen. Duidelijk is wel dat Ca een belangrijke factor bij het ontstaan van bladrandjes, maar het is momenteel niet mogelijk om een absoluut minimum gehalte aan te geven.

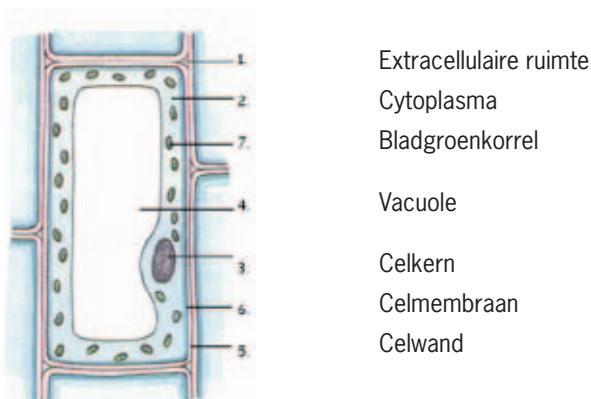
In dit literatuur onderzoek zullen we

1. De rol van Ca in cel en weefselstevigheid nader bekijken.
2. Factoren a) klimaat, b) voeding en c) ontwikkeling die Ca-opname en verdeling bepalen uiteenzetten. Hierbij wordt ook aandacht worden besteedt aan de interacties tussen de factoren.
3. De relatie tussen botrytis infectie, bladrandjes en Ca kort uiteen zetten.

2 Literatuurstudie

2.1 Fysiologische oorzaken cel en weefselstevigheid

Weefselstevigheid is van belang voor de afweer van de plant zowel tegen biotische stress in de vorm van ziekten en plagen als tegen abiotische stress zoals droogte. Celstevigheid ligt aan de basis van weefselstevigheid. Duidelijk is dat zowel de turgor druk, het celmembraan en de celwand een rol spelen bij het ontstaan en behouden van de stevigheid van een volwassen plantencel op spanning (Figuur 2.). Turgor is de druk die de cel uitoefent op de celwand doordat de vacuole door opname van water van binnenuit druk uitoefent. Water wordt opgenomen als gevolg van osmose waarbij de celwand volledig doorlaatbaar is en het celmembraan selectief doorlaatbaar (semipermeabel). Het celmembraan zal dus goed moeten functioneren en de celwand moet stevig genoeg zijn om de turgorspanning te verdragen. Weefselstevigheid wordt verder mogelijk gemaakt door de middenlamel van de celwanden die cellen aan elkaar lijmt.



Figuur 2. Schematische weergave van een volwassen plantencel.

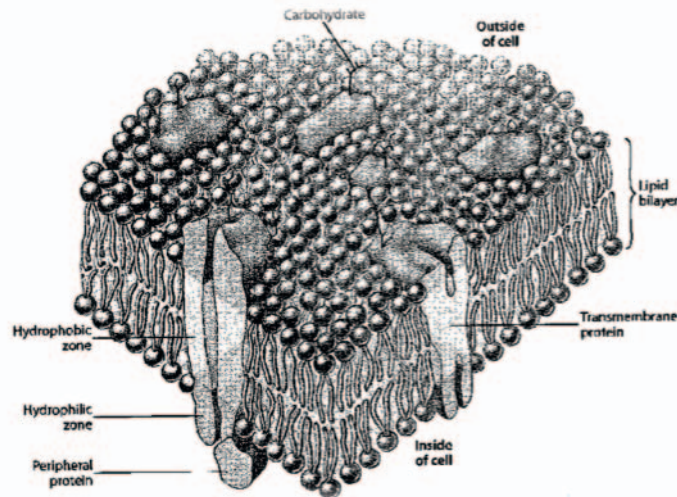
2.1.1 Het celmembraan

Het celmembraan is de scheiding tussen de binnenkant en de buitenkant van de cel. Een celmembraan bestaat voornamelijk uit een aaneengeschakelde dubbele laag fosfolipiden (fosforvetten met hydrofiele koppen en hydrofobe staarten). De opbouw van het celmembraan wordt beschreven door het fluid mosaic model (Figuur 3), vrij vertaalt het vloeibare mozaïek model. Dit model beschrijft membranen als een flexibele laag waarin allerlei eiwitten zijn verankerd (Raven *et al.* 1999). Calcium vormt bruggen tussen fosfaat en carboxyl groepen van de fosforvetten (Marschner, 1986). De exacte samenstelling in membranen verschilt tussen cellen. Er zijn meerdere vetzuren die in het membraan fosfolipiden kunnen maken en de samenstelling ervan is niet altijd gelijk.

Het waterpotentiaal gradiënt rond het celmembraan is grotendeels het gevolg van het osmotisch potentiaal gradiënt en is de drijvende kracht achter de wateropname van een cel. Transport door het membraan heen van kleine ongeladen of apolaire (negatieve en positieve lading zijn over het molecuul verdeeld) deeltjes zoals water, zuurstof en koolstofdioxide gebeurt door eenvoudige diffusie. Transport gebeurt ook via transmembraan eiwitten die dwars door het membraan heen gaan (Figuur 3). Geladen, iets grotere of polaire (negatieve en positieve ladingvallen samen) moleculen, bv. glucose, aminozuren of ionen passeren het celmembraan via gefaciliteerde diffusie met behulp van ionkanalen (porie eiwitten) of transporteiwitten. Door de binding aan het carrier-eiwit (transport eiwit) verandert de polariteit of structuur van het molecuul waardoor transport door het membraan mogelijk wordt. Bij actief transport is energie nodig (ATP). Daarnaast bestaan er speciale waterkanalen, de zgn. aquaporines, die ervoor kunnen zorgen dat water heel snel een cel in of uit kan. In strekkende of delende cellen is er een verhoogde aanwezigheid van actieve aquaporines (Teyerman *et al.* 2002).

4-2

Fluid-mosaic model of membrane structure.
The membrane is composed of a bilayer (double layer) of lipid molecules—with their hydrophobic “tails” facing inward—and large protein molecules. The proteins traversing the bilayer are a type of integral protein known as transmembrane proteins. Other proteins, called peripheral proteins, are attached to some of the transmembrane proteins. The portion of a transmembrane protein molecule embedded in the lipid bilayer is hydrophobic; the portion or portions exposed on either side of the membrane are hydrophilic. Short carbohydrate chains are attached to most of the protruding transmembrane proteins on the outer surface of the plasma membrane. The whole structure is quite fluid, and hence the proteins can be thought of as floating in a lipid “sea.”



Figuur 3. Het vloeibare mozaïek model van de membraanstructuur (uit Raven *et al.* 1999).

Het exacte doorlatingsmechanisme van deze waterkanalen is nog niet bekend maar interessant genoeg wordt de functionaliteit beïnvloedt door het Ca-gehalte dat zich in de ruimte buiten de cellen bevindt en met de houtvaten meegekomen is (Tyerman *et al.* 2002).

Celmembranen kunnen onder stress elektrolyten lekken, dit kan bijvoorbeeld gebeuren bij zoutstress of na schade ontstaan door vorst (Bastias *et al.* 2010). Zoutstress kan leiden tot een verlaagde wateropname doordat Ca aquaporines (water-selectieve kanalen) in celmembranen van wortelcellen blokkeert (Martinez-Ballesta *et al.* 2008). Ook kunnen andere kationen Ca vervangen en zo minder stevige verbindingen vormen waardoor het membraan lek raakt (Marschner, 1986).

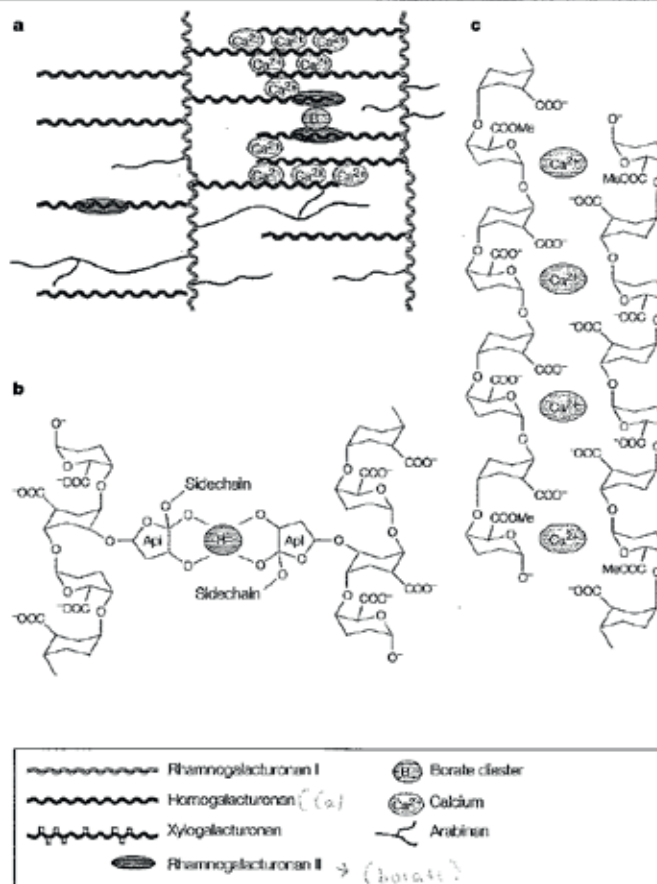
2.1.2 De celwand

Er bestaan twee typen primaire celwanden van bloeiende planten. Type I, gevonden in tweezaadlobbigen, niet grasachtige eenzaadlobbigen en naaktzadigen bestaan uit cellulose vezels die hangen in een netwerk van xyloglucanen (hemicellulose), pectines en structurele (ingebiede) eiwitten. Type II typisch voor grasachtige eenzaadlobbigen plaatsen cellulose in een netwerk dat minder pectine en structurele eiwitten bevat (Deepak *et al.* 2010). Tomatenplanten vallen dus in Type I en hebben celwanden die veel pectines en structurele eiwitten herbergen.

De celwand is een bijzonder complex netwerk dat bestaat uit cellulose, hemicellulose (xyloglucan), pectine en eiwitten (Cosgrove, 2005). Dit netwerk is opgebouwd uit een veelvoud van grote/ lange moleculen (polymeerketens). De kristallijne cellulosevezels vormen het skelet van de celwand dat ligt ingebed in een matrix van hemicellulose en pectine (Cosgrove, 2005). Hemicelluloses (o.a. xyloglucan en arabinoxylan) binden aan de cellulosevezels en vormen zo een veerkrachtig netwerk. Ongeveer 30% van de celwand bestaat uit een pectine netwerk dat een gehydrateerde gel vormt. De flexibiliteit en stevigheid van de gel kan variëren. Calcium vormt bruggen om pectine ketens in de celwand met elkaar te verbinden. Figuur 4. laat een schematische opbouw van pectine zien. Pectine bestaat uit complexe polymeren met als basisvormen rhamnogalacturan I en II (RGI en RGII), xylogalacturan (XG) en homogalacturan (HG). Pectine kan dus variëren in hoofd, zijketens en restgroepen, maar kan ook per cel of weefseltype verschillen. De opbouw van het pectinenetwerk is zeer complex, maar duidelijk is dat het aantal ‘crosslinks’ tussen de polymeren die door Ca en borium gevormd kunnen worden de rekbaarheid en de stugheid van de celwand bepalen (Figuur 4). De structuur van pectine en dan met name het aantal negatieve bindingsplaatsen bepaald waar Ca als tweewaardig positief geladen ion een brug kan tussen ketens om een netwerk te vormen. De mate van (methyl) verestering (binding aan COO-) wordt om die reden ook wel gebruikt als een maat voor de stevigheid van de celwand. Borium kan andere pectine polymeren met elkaar verbinden, namelijk de RG II polymeren waarvan er minder in de celwand voorkomen in vergelijking met HG. De aanwezigheid van Ca stimuleert ook de vorming van bruggen die borium slaat tussen pectineketens (Bastias *et al.* 2010).

The distinctive pectin domains are believed to be covalently crosslinked to each other (see figure, part a), but the nature of the crosslink has not been determined. In addition, two other types of linkage involving boron (part b) and calcium (part c) are important crosslinking mechanisms.

- Part a of the figure shows a model of how the pectin domains may be covalently linked together to form a massively large macromolecular pectin network. This is a simplified version of a recent model by Vincken *et al.*⁴, in which rhamnogalacturonan I serves as the backbone and the other pectin domains are attached as branches. Homogalacturonans are ionically crosslinked by calcium (part c) whereas boron crosslinked rhamnogalacturonan II through diester linkages (part b).
- Rhamnogalacturonan II forms dimers through a borate ester bond (part b). This crosslinking is important for normal wall formation as well as for the control of wall porosity and wall thickness.
- Homogalacturonan (also known as polygalacturonic acid) forms stiff gels through Ca^{2+} -mediated crosslinking of its carboxyl groups through ionic and COORDINATE BONDS (part c). Growing cells usually synthesize homogalacturonan in which ~75% of the carboxyl groups (COO^-) are methyl esterified (COOMe) — this modification removes the negative charge of the carboxylate ion and blocks its ability to undergo Ca^{2+} crosslinking. Highly esterified homogalacturonans do not form stiff gels and their secretion might help the expanding wall to remain pliant. Carboxyl-based crosslinking sites are unmasked later, as the cells cease growth, owing to the action of pectin methylsterases. These methylsterases, which are secreted by plant cells into their wall space, hydrolyse the methyl esters and free the carboxyl group for Ca^{2+} crosslink formation and gel formation.



Figuur 4. Calcium vormt bruggen om pectine ketens in de celwand met elkaar te verbinden. Uit Cosgrove, 2005.

Naast een structurele functie speelt de celwand een belangrijke rol in de communicatie tussen cellen onderling en met de omgeving. De vele eiwitten die kunnen binden aan de celwand zijn van cruciaal belang voor processen zoals het op gang brengen van afweermechanismen (Seifert & Blaukopf, 2010).

2.1.3 De celgroei (verdiepend stuk)

De aanvoer van Ca is van belang bij de vorming en strekking van nieuwe cellen. Net als bij zoveel andere celprocessen spelen schommelingen in het Ca -gehalte binnen de cel in het celvocht (cytoplasma) een rol in de celdeling. Dit is bijvoorbeeld het geval bij de vorming van het spoelfiguur waarlangs het genetisch materiaal (chromosomen) zich ordenen. Maar omdat binnen het celvocht het Ca -gehalte juist laag gehouden moet worden, heeft dit geen sterke Ca -vraag. Dit is anders voor Ca in de celwand en Ca in de centrale vacuole, waar veel ionen en andere stoffen worden opgeslagen (Figuur 2.). De middenlamel is het begin van de nieuwe celwand die wordt gevormd als scheiding tussen de nieuw gevormde cellen. De middenlamel bestaat namelijk uit pectine dat rijk is aan Ca . Na de deling strekken de cellen door het loslaten van de turgor (spanningsrelaxatie) waarna de centrale vacuole zich met water volpompt. Er is dan extra Ca aanvoer nodig om het Ca -gehalte in de vacuole hoger te houden dan in het cytoplasma (zie 2.2.1). Ongeveer gelijktijdig verandert de celwand van structuur en wordt eerst flexibeler om de celstrekking mogelijk te maken. De CWL (cell wall loosening) theorie beschrijft het algemene idee dat de uitbreiding van de celwand mogelijk wordt gemaakt na spanningsrelaxatie van de celwand (Cosgrove, 2001). Dit houdt in dat de celwand vervormt door (bio)chemische veranderingen waardoor de structuur losser wordt. Dit wordt gevolgd door een spanningsrelaxatie, het gedeeltelijk wegvallen van de spanningsdruk op de celwand die er is vanwege de turgordruk. Zo is er bekend dat er enzymatische hydrolyse plaatsvindt (Cosgrove, 2005) maar ook dat vrije radicalen betrokken zijn bij het losmaken van de celwanden, in elk geval bij de kieming van zaden en het uitgroeien van de kiem (Muller *et al.* 2009).

Ook 'expansins' spelen een rol bij het losmaken van de celwand (Cosgrove, 2001). De spanningsrelaxatie zorgt vervolgens via osmose voor de nodige wateropname door het celmembraan om de turgordruk weer op te bouwen tijdens de celstrekking. Hoewel de celstrekking en de invloed van veranderende drukken nog niet zijn opgehelderd is er voor de groei van cellen altijd een verlaging van het waterpotentiaal nodig. Dit kan gerealiseerd worden door een verlaging van de turgordruk of een verhoging van de osmotische druk. Jaren van onderzoek heeft inmiddels uitgewezen dat groei plaats kan vinden zonder extra opname van oplosbare stoffen. De conclusie die volgt is dat osmotische druk niet verantwoordelijk kan zijn voor de celgroei en dat dus de turgordruk een cruciale rol speelt. Studies met eencellige modellen vertellen echter dat voor groei een drempelwaarde van de turgor nodig is maar dat de groeisnelheid niet afhankelijk is van turgor (Zhu & Boyer, 1992).

Samen met het volpompen van de centrale vacuole zal de celwand losser worden en geleidelijk en dus gecontroleerd meegroeien. De verschillende onderdelen waaruit de celwand matrix is opgebouwd worden toegevoegd terwijl de celwand zich strekt. De pectineketens (met weinig methyl-verestering, zie 2.1.2) worden aangemaakt in het Golgiapparaat binnen de cel en kunnen zich bij voldoende turgordruk enigszins bewegen in de celwand alvorens ze er in geïntegreerd worden. Een flexibele pectine matrix kan zo tijdens de celgroei cellulose vezels wegdrukken. Cellulose het hoofdbestanddeel van de celwand wordt aangemaakt door membraan complexen en wordt na uitscheiding direct geïntegreerd in de matrix (Cosgrove, 2005). Aan het eind van de strekking wordt het pectine in de celwand met Ca verstevigd. Wanneer de homogalacturan (HG) polymeren (pectine ketens) zijn gevormd en afgezet heeft ongeveer 70 a 80% van de carboxyl groepen (COO-) methyl verestering ondergaan (COOMe). Door het wegnemen van de negatieve bindingsplaats kan Ca geen crosslinks maken en blijft de celwand flexibel (Cosgrove, 2005). Uit cel onderzoek met zandraket is gebleken dat als minder dan 60% van het afgezette pectine, methyl-estergroepen bezit, er slechts beperkte cel strekking kan plaatsvinden (Derbyshire *et al.* 2007). Na de cel strekking kunnen pectine methylesterases (PMEs) de methyl groepen verwijderen. In de vrijgekomen groepen kan Ca bruggen aangaan (Figuur 4) waarbij een ei-doo's structuur wordt gevormd. Calcium remt zo als het ware de strekkende celwand af door pectine ketens met elkaar te verbinden tot een stevige eidoosstructuur. Wanneer pectine deze eidoos structuur niet heeft leidt dit tot snelle groei en uiteindelijk tot een verzwakte celwand. PME's spelen daarom een belangrijke rol in het verkrijgen van een stevige celwand en voorkomt dat ze doel worden van pectinases, pectine afbrekende enzymen die bijvoorbeeld door pathogene schimmels worden geproduceerd (Pelloux *et al.* 2007). Daarnaast binden belangrijke sensoren (bijvoorbeeld het eiwit WAK: wall associated kinase) aan pectine dat rijk is aan Ca (Decreux & Messiaen 2005). Een plant herkent door zulke sensoren een pathogeen aanval en kan vervolgens gepaste afweer mechanismen op gang brengen (Seifert & Blaukopf, 2010). Zo kan het eiwit WAK1 (wall-associated kinase 1) niet binden aan pectine (polygalacturonzuur) in omstandigheden die de vorming van Ca-bruggen tegengaan.

Het werkingsmechanisme van deze PME's is niet geheel duidelijk maar is onder andere afhankelijk van de pH van de celwand (Pelloux *et al.* 2007) en het patroon van de methyl-estergroepen (Wolf *et al.* 2009). Naast de uitscheiding van PME's door de cel en de aanwezigheid van vrij Ca zijn de osmotische waarde van het xyleem en (apolastische) ruimtes buiten cellen van belang voor de binding van Ca. Ook zijn er aanwijzingen van coöperatief en anti-coöperatief bindingsgedrag van Ca afhankelijk van de hoeveelheid aanwezige elektrolyten zoals NaCl. In recent onderzoek (Conn *et al.* 2011) met 3 mutanten van zandraket hadden onderzoekers 3 genen voor Ca-transport eiwitten in het vacuole membraan (tonoplast) uitgeschakeld. De keus voor deze genen was gemaakt omdat de hoeveelheid Ca in de vacuole erg verschilde tussen epidermis (< 10 mM Ca) en mesophyl cellen (> 60 mM Ca) en de hoeveelheid eiwitten daarmee samenhang. De verminderde werking van de transporteiwitten in de vacuole van mesophylcellen bij de mutant had veel gevolgen voor celgroei en strekking en was volgens de auteurs eigenlijk een gevolg van de hoge concentratie Ca in de apoplast (celwand en extracellulaire ruimten). Verhoging van de PME activiteit hing samen met dikkere celwanden en een lage groeisnelheid en een grote hoeveelheid beschikbaar Ca. Wanneer de gemuteerde cellen werden blootgesteld aan een oplossing met een lage Ca-concentratie was er minder activiteit van PME's, werden dunnere en rekbaarere celwanden gevormd wat leidde tot een hogere groeisnelheid. Hier valt uit af te leiden dat cellen sneller groeien wanneer er weinig Ca in de celwanden en ruimten buiten de cellen aanwezig is.

Voor het verkrijgen van een stevige eidoosstructuur om de celwanden sterk en weerbaar te maken zijn dus een aantal zaken van belang. Het losmaken van de celwand, het aanmaken van nieuwe celwandpolymeren, effectieve verwijdering van de methylgroepen van homogalacturan polymeren door PME's en de aanwezigheid van Ca in de apoplastische (extracellulaire) ruimte. Calcium speelt dus zowel een rol bij het flexibel maken van de celwand om strekking mogelijk te maken en bij het verstijven (vast zetten) en weerbaar maken.

2.2 Calcium

2.2.1 Algemeen

De Ca-behoefte van planten ligt volgens de gevonden literatuur tussen de 0.1-5% van het drooggewicht van de plant (Marschner, 1986; White, 2001), wat overeenkomt met 25 tot 1250 mmol kg⁻¹ droge stof. De waarden verschillen per weefseltype, zo heeft bij tomaat jong blad een Ca behoefte van minimaal 70 mmol kg⁻¹ droge stof terwijl men in oud blad meest waarden van 400 tot 600 mmol kg⁻¹ droge stof vindt. Het gehalte in het weefsel van vruchten, dat in vergelijking met bladweefsel uit meer water bestaat, bedraagt slechts 20 tot 25 mmol kg⁻¹ droge stof (de Kreij, 1991). Door de veel grotere cellen van vruchten en eventueel door snelle groei kan er ook sprake zijn van een verdunningseffect. Daarnaast kan Ca na het is afgezet niet worden herverdeeld. Dit kan het voorspellen van een gebrek in de uitgroeiende plantendelen bemoeilijken. Ouder blad heeft door verdamping lange tijd Ca aangevoerd gekregen en kunnen accumuleren (Gilliam *et al.* 2011). Naast verschil tussen weefseltypes is Ca ook binnen de cel niet gelijkmatig verdeeld. Omdat een te hoge concentratie Ca in het celvocht i.v.m de functie van Ca als boodschappenjongen toxisch is, wordt dit niveau sterk gereguleerd. Om dit Ca-gehalte in 'rust'toestand mogelijk te maken en daarmee adequate cel signalering mogelijk te maken moet de hoeveelheid Ca in de organellen, met name in de vacuole, groot zijn, namelijk tussen 1-10 mM Ca.

De Ca-concentratie buiten de cel, dus in de celwand en ruimtes tussen cellen moet minimaal 0.1 mM Ca zijn om de integriteit en doorlaatbaarheid van het membraan te behouden (de Freitas *et al.* 2011). Calcium verzorgt ook de stevigheid van de celwand en is bepalend voor de doorlaatbaarheid van het celmembraan. De concentratie van Ca in de celwand van planten bedraagt echter meestal 1-10 mM.

Een gebrek aan Ca kan zich daarom op verschillende plaatsen uiten; zowel in de cel, in de celwand of in het celmembraan. Daarnaast kan een gebrek aan Ca zich voordoen op het niveau van de cel of op een plantendeel.

2.2.1.1 Functies in de cel

Calcium is een belangrijk signaalmolecuul dat betrokken is bij uiteenlopende plantenprocessen, variërend van het uitgroeien van het kiemende pollen (Winship *et al.* 2010) tot de rijping van vruchten (Ferguson, 1984). In het cytoplasma speelt Ca een zeer belangrijke rol als intracellulaire boodschapper (Hepler, 2005; White & Broadley, 2003). Aangenomen wordt dat de reactie van de cel op de omgeving begint met een verandering van de Ca-concentratie in het cytoplasma. Calcium treedt dan op als tweede boodschapper om na een bepaald signaal celprocessen op gang te brengen. Er zijn tal van Ca-bindende eiwitten in de cel, de celwand en aan de celmembranen die door binding met calcium van structuur veranderen of processen katalyseren en daarmee een ketting van reacties binnen de cel op gang brengen. Het mag dus niet verbazen dat Ca voor vele levensprocessen inclusief de celdeling van groot belang is.

Calcium speelt in celwanden en celmembranen (Hepler, 2005; White & Broadley, 2003) zowel een structurele als een functionele rol (Cosgrove, 2005). Als tweewaardig ion kan Ca moleculen stevig aan elkaar verbinden door de vorming van 'bruggen' (zie 2.1.2). Deze bruggen die voorkomen in pectine zorgen ervoor dat celwanden beter bestand zijn tegen celwand afbrekende enzymen. Calcium maakt de celwand dus stevig en weerbaar. Tweezaadlobbigen zoals tomaat kunnen door de grotere kationen uitwisselingscapaciteit (cation exchange capacity, afgekort CEC) van de celwanden meer Ca aan de celwanden binden dan eenzaadlobbigen (Gilliam, 2011; White, 2001). In celmembranen vormt Ca eveneens verstevigende bruggen maar dan tussen de carboxyl en fosfaatgroepen van de fosfaatvetzuren waaruit membranen zijn opgebouwd.

Vanwege de rol van Ca als boodschapper is het van belang dat het Ca-gehalte in het cytoplasma in rust toestand gelijk gehouden wordt (homeostase). Het in stand houden van dit lage Ca-gehalte in het cytoplasma wordt mogelijk gemaakt door een batterij aan membraanpompen, kanalen en sensoren die Ca uit het cytoplasma kunnen verwijderen en afgeven aan de extracellulaire ruimtes of de celorganellen, zoals de vacuole (White & Broadley, 2003). Het Ca-gehalte in de vacuole moet daarom altijd groter dan het cytoplasma zijn en dit geldt ook in de fase van celstrekking. Zo is uit onderzoek dat gebruikt maakt van gemuteerde cellen gebleken dat wanneer tijdens de celstrekking, de opname van Ca door de vacuole groter is dan de aanvoer naar het cytoplasma er Ca-gebrek verschijnselen ontstaan ondanks een voldoende hoge Ca-concentratie (Ho & White, 2005).

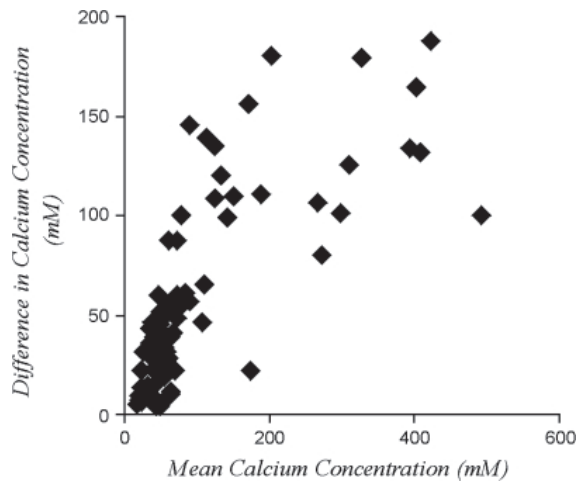
Het constant houden van dit Ca-gehalte (homeostase) binnenin de cel speelt een cruciale rol bij het reguleren van de celdeling (zie 2.1.3). De concentratie wordt o.a. verhoogd voor de vorming van het spoelfiguur en bij het verdelen van de chromatiden. Het element is ook betrokken bij het coördineren van de celstrekking (Ho & White, 2005) waarbij de vacuole groter wordt gemaakt. Aangenomen wordt dat water en Ca onafhankelijk van elkaar de cel binnenkomen (Gilliam *et al.* 2011), water via de waterkanalen, ook aquaporines genoemd (zie 2.1.1; Tyerman *et al.* 2002) en Ca via ion kanalen (White & Broadley, 2003). Er zijn verschillende van deze waterkanalen aanwezig in het cel en vacuole membraan, van sommigen (bv. PIP1) is bekend dat Ca betrokken is bij zowel het sluiten als het openen van het waterkanaal.

2.2.2 Opname en transport van Ca

De opname van water en Ca gebeurt via de jongste wortelpunten en is een passief proces (Heuvelink & Kierkels, 2010). De opname gebeurt enkel door het nieuwgevormde wortelpuntje (Figuur 5). Dit jonge weefsel is nog niet gedifferentieerd tot wortelweefsel en is eigenlijk 'lek'. In een later stadium heeft wortelweefsel het vaatstelsel ontwikkeld en kan het door de aanwezigheid van een volledig 'bandje van Caspari' geen Ca meer doorlaten (White, 2001).

Bij de opname door deze jonge wortelpuntjes is niet alleen de concentratie van Ca maar ook de verhouding met andere positief geladen deeltjes van belang. Bij de opname concurreert Ca namelijk met andere kationen in het wortelmilieu, met name veel kalium en in mindere mate magnesium of ammonium kan de Ca opname verminderen.

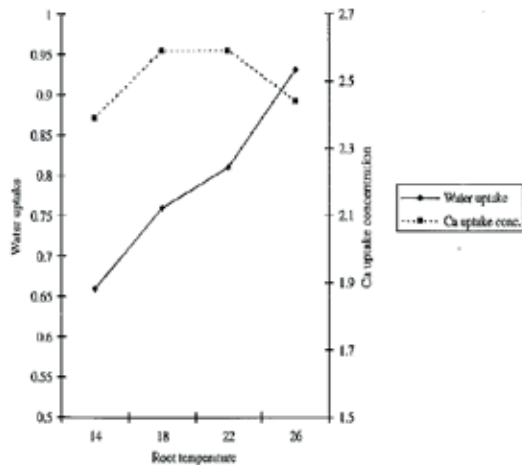
Na de opname door de wortels en afgifte aan de houtvaten zorgt de transpiratiestroom (of de worteldruk) vervolgens voor het transport omhoog. Calcium verplaatst zich met de waterstroom mee door de houtvaten, celwanden en extracellulaire ruimtes. Het transport van Ca in de plant is daarom afhankelijk van factoren die de verdamping en daarmee de waterstroom beïnvloeden. De verdeling van Ca binnen de bladeren is echter afhankelijk van de structuur van de celwand (Gilliam *et al.* 2011) en bij koriander van de afstand van de cellen tot de nerven (Kerton *et al.* 2009). Bij koriander zaailingen is aangetoond dat Ca-verdeling in (de vacuole van) het blad niet altijd gelijk is. Er was meer Ca in het midden van het blad dicht bij de nerven gevonden bij een gelijke verdeling van de huidmondjes en verdamping (Kerton *et al.* 2009). Omdat daarmee aangenomen kan worden dat de verdeling van water niet verschilde tussen het binnenste en buitenste van het blad lijkt het er dus op dat Ca en watertransport in het blad van elkaar losgekoppeld worden. In dit onderzoek was er bovendien een relatie gevonden tussen het Ca-gehalte van het gehele blad en de verschillen tussen het binnenste en buitenste deel van het blad (Figuur 6.). Met andere woorden, bij een gemiddeld hoog Ca niveau in het gehele blad was ook het verschil tussen het midden van het blad en de rand groot. Of dit ook geldt voor de verdeling van calcium in tomaat en meer specifiek de verdeling in strekkend weefsel is niet bekend. Recent WUR onderzoek (Dieleman *et al.* 2011) waarbij werd geteeld onder verschillende beluchtingsregimes laat geen grote verschillen in Ca-gehaltes in de rand en binnenkant van jong volledig gestrekte tomaten blad zien. Mogelijk zijn deze verschillen echter wel te vinden wanneer Ca in andere hoeveelheid het blad intreedt.



Figuur 6. Relatie tussen de Ca-verdeling (binnenste en buitenste delen) in het blad en de totale Ca-concentratie van korianderblad (Kerton et al. 2009).

2.2.3 Het wortelmilieu

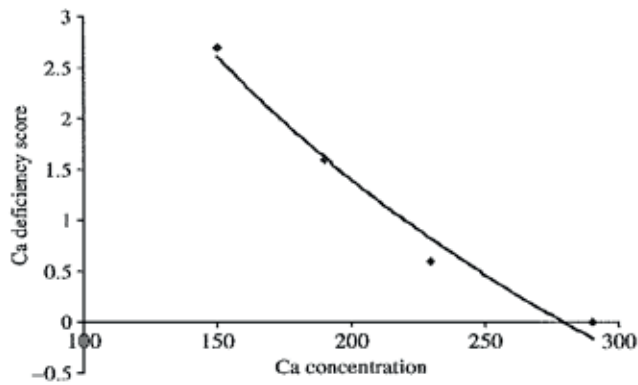
Voldoende water is uiteraard nodig om opname en transport van water en opgeloste stoffen mogelijk te maken. Adams & Ho (1993) laten in hun hydrocultuur onderzoek met tomaten een verband zien tussen de water en Ca opname (Figuur 7.). De wateropname is met name een gevolg van instraling en daarmee een verhoogde verdamping wat de sapstroom bevordert. De concentratie Ca die door de plant wordt opgenomen neemt echter af naarmate de wateropname toeneemt. Een gebrek aan zuurstof (hypoxia) kan de wortelgroei remmen waardoor de opname van ionen in gevaar kan komen (Adams, 1999). Een regelmatige aanvoer van vers water en een goede drainage kan in steenwol problemen met zuurstoftekorten voorkomen. Daarnaast speelt ook de temperatuur een rol. Enerzijds kan men verwachten dat verhoging van de mattemperatuur het voor de plant makkelijker maakt om water en voedingsstoffen op te nemen doordat diffusie sneller kan verlopen. Anderzijds is het zuurstofgehalte van water afhankelijk van de temperatuur, zo is er bij een hoge mattemperatuur sneller sprake van zuurstof tekort. Uit onderzoek van Ho & White (1993) is gebleken dat het optimum voor de opname van Ca, rekening houdend met zowel het watervolume als met de concentratie Ca tussen 18 en 22 °C ligt (Figuur 7.).



Figuur 7. Water absorptie ($L\ plant^{-1}\ dag^{-1}$) en Ca opname ($mmol\ L^{-1}$) uitgezet tegen de wortel temperatuur ($^{\circ}C$). Uit Sonneveld & Voogt, 2009, naar Adams & Ho, 1993.

2.2.4 De voedingsoplossing

Het lastige aan de Ca-problematiek is dat er veel meer factoren spelen dan alleen het aanbod van Ca aan de wortel. Naast voldoende aanbod moet de plant de mogelijkheid krijgen om het Ca op te nemen en te distribueren. In een studie van de Kreij (1991) uitgevoerd met het tomatenras ras 'Calypso' was geen relatie gevonden tussen het Ca aanbod en gebrek in het blad. Wel was er een duidelijke samenhang gevonden tussen Ca-concentratie in de voedingsoplossing en in de concentratie Ca in het blad. Dit was namelijk $261\ mmol\ kg^{-1}$ droge stof (d.s.) bij een laag Ca aanbod en $606\ mmol\ kg^{-1}$ d.s. bij hoog Ca aanbod. Het lage gehalte aan Ca had toch maar weinig bladrandjes tot gevolg. Enkel in een kas met hoge RV waren er bij een laag Ca-gehalte enkele bladrandjes te zien. Er ontbreekt dan ook van een duidelijke relatie tussen het Ca-gehalte in de voedingsoplossing en het optreden van bladrandjes (de Kreij, 1991). Onderzoek aan bladrandjes bij het tomatenras 'Trust' gaf eveneens geen relatie met het Ca-gehalte in het blad. In de grafiek getoond in Figuur 8. is er wel een duidelijk verband te zien tussen de Ca-concentratie in het hele blad en het ontstaan van bladrandjes. Het is niet te zeggen bij welke waarden gebrek optreedt omdat dit afhankelijk is van het plantendeel. De Kreij (1993) heeft de streefwaarden voor de vrucht op 20-25 de jonge bladeren 70 en oude bladeren 400-600 $mmol\ kg^{-1}$ droog gewicht gesteld.

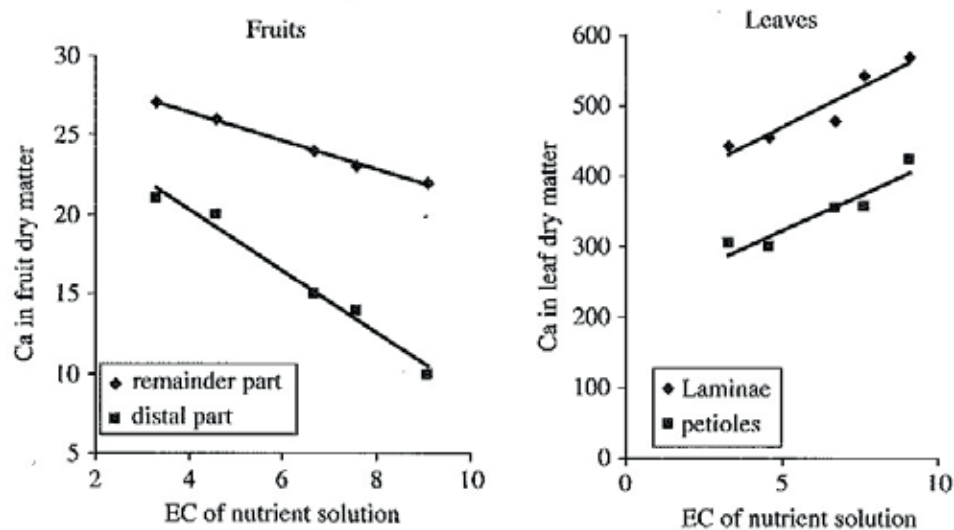


Figuur 8. Gebreks index gegeven van 1 tot 3 uitgezet tegen de concentratie (mmol kg^{-1}) in de bladeren van tomaat (Sonneveld & Voogt, 2009).

Ook concurrentie met andere kationen kan de Ca-opname verlagen. De plant kan afhankelijk van het wortelmilieu maar een beperkte hoeveelheid kationen opnemen waardoor er competitie bestaat tussen magnesium (Mg^{2+}), kalium (K^+), calcium (Ca^{2+}) en in mindere mate ammonium (NH_4^+). De opname van Ca wordt dus beïnvloed door het aanbod van de andere kationen, ofwel de verhoudingen van kationen in de voedingsoplossing (Sonneveld & Voogt, 2009). Omdat Ca in tegenstelling tot bijvoorbeeld kalium alleen passief wordt opgenomen is de opname sterk afhankelijk van het aanbod aan de wortel. Voor een adequate opname is het daarom van belang een relatief hoge concentratie aan het worteloppervlak te realiseren. Onderzoek in de jaren '80 en '90 heeft aangetoond dat een K:Ca verhouding veelal rond de 1 moet zijn. De K:Ca verhouding is ook van belang ten behoeve van de vruchtkwaliteit (Bos *et al.* 1989). De EC druppelwater zal in de periode dat bladrandjes potentieel voorkomen als regel vrij hoog zijn, vanwege beheersing van de groei en met het oog op de vruchtkwaliteit. Daarmee zal ook de EC in de mat oplopen. Een hoge EC kan de opname van Ca echter verstoren (Sonneveld & Voogt, 2009; Bos *et al.* 1989).

Over het algemeen wordt water makkelijk opgenomen bij een lage EC en voeding bij een hoge EC. Voor Ca is dit verband minder duidelijk. Een aantal studies vinden een negatief verband tussen de EC waarde van de voedingsoplossing en Ca opname. Adams & Ho (1993) vermelden dat de Ca opname lineair afnam, van 143 tot 88 mg d^{-1} bij toename van de EC van 3 tot 15 mS cm^{-1} . Uit onderzoek van Sonneveld & Welles (2005) blijkt eveneens dat de opname van Ca afneemt bij oplopende EC. Dit kan een gevolg zijn van een verlaagde wateropname van de plant waarmee ook de Ca-opname afneemt (Adams & Ho, 1993). Aan de andere kant is er geen eenduidig effect van EC (door verhoging van macronutriënten) op de accumulatie van Ca in verschillende plantenorganen (Figuur 9.). Het EC effect is alleen niet gelijk voor alle plantendelen en heeft op blad en vrucht soms een tegenovergesteld effect. Dit is bijvoorbeeld te zien in Figuur 9.

Sonneveld & Voogt (1990) laten zien dat jong blad minder Ca aangevoerd krijgt bij een hoge EC (5 mS cm^{-1}). Dit resultaat lijkt op het eerste gezicht niet in overeenstemming met de grafiek van Adams (1999; zie Figuur 9.). Ten minste, als men geen rekening houdt met de leeftijd van het bemonsterde blad. De hoeveelheid Ca in de vrucht nam in het onderzoek van Sonneveld & Voogt (1990) ook af bij toenemende EC, net als het geval was in het jonge blad. Weinig verdampende organen krijgen minder Ca aangeleverd te krijgen naarmate de EC van de voedingsgift stijgt. Een verhoging van de EC kan dus tot zowel accumulatie in oude bladeren als tot een tekort in jong blad leiden.



Figuur 9. Relatie tussen de EC van de voedingsgift en de Ca-concentratie (mmol kg⁻¹ droge stof). Uit Sonneveld & Voogt (2009), naar Adams (1990).

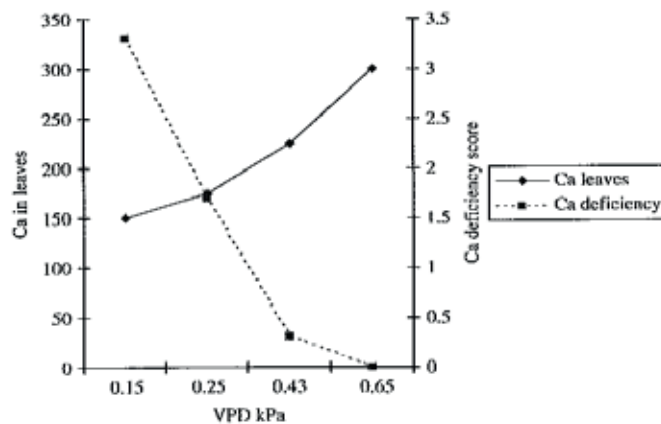
2.2.5 Klimaateffecten op de opname en distributie van Ca

2.2.5.1 Luchtvochtigheid en koolstofdioxide

In een kas wordt de verdamping bepaald door de samenhang van kasklimaatfactoren als temperatuur, vochtdeficiet, straling etc, die van invloed zijn op de energiebalans van een blad. Omdat Ca-transport vrijwel uitsluitend via de houtvaten verloopt en transport plaatsvindt door het verschil in waterpotentiaal (verdamping) of de osmotische potentiaal (worteldruk) is het evident dat het Ca-transport in de plant sterk samenhangt met het kasklimaat.

Er is in het verleden zowel in binnen als buitenland onderzoek gedaan naar effecten van kasklimaat op gewasgroei en productie en daarbij is in een aantal studies ook aandacht besteed aan de distributie van Ca. Het transport naar de verschillende plantendelen is afhankelijk van de verschillen in verdamping. O.a. de anatomie van de plant bepaalt deze verschillen in verdamping. Zo heeft blad een veel grotere dichtheid aan huidmondjes, maar heeft ook een veel groter verdampend oppervlakte in vergelijking met de vruchten.

Naast het vermogen van de plant om te kunnen verdampen is de luchtvochtigheid binnen de kas een factor die de verdamping van de plant beïnvloedt. Hoe droger de lucht, des te gemakkelijker een plant water kan afstaan. Verdamping wordt daardoor sterk beïnvloed door relatieve vochtigheid (RV) of het vochtdeficiet (vpd). Figuur 10. laat het verband tussen vpd en Ca-gebrek zien bij tomaat. Het Ca-gehalte nam toe van 150 tot 300 mmol kg⁻¹ bij een toenemend vpd van 0.15 tot 0.65 kPa.



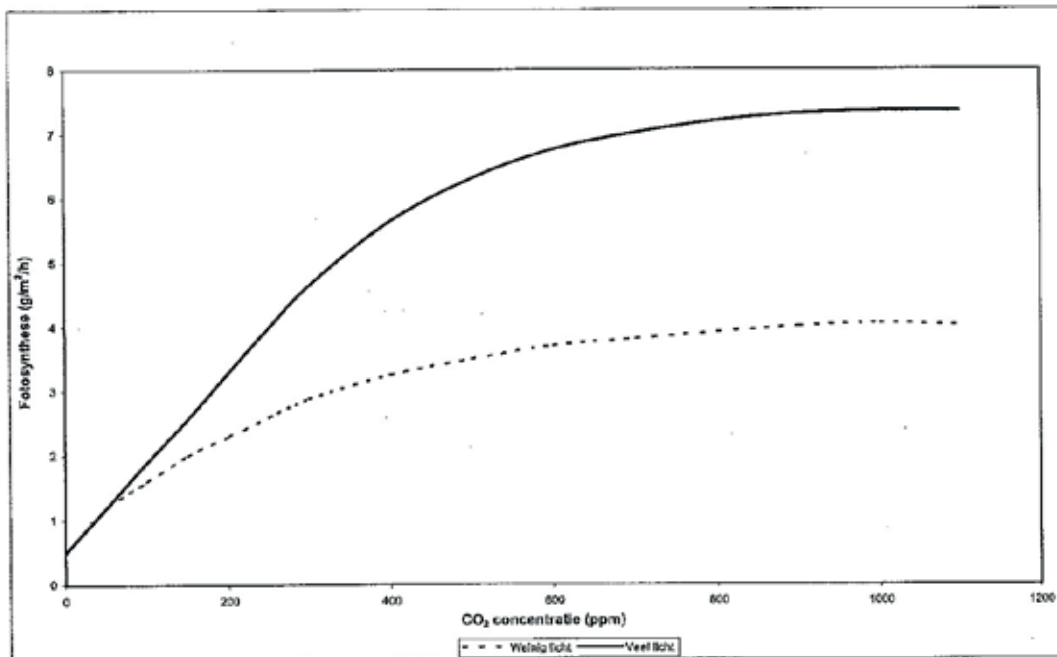
Figuur 10. Ca-gebrek score en de Ca-concentratie in bladeren van tomaat (mmol kg^{-1} droog gewicht) uitgezet tegen het vochtdeficiet (Sonneveld & Voogt, 2009).

Als de plant veel water verdampt ontstaat er een groter verschil tussen het water in blad en de rest van plant, waardoor een zuigkracht (waterpotentiaal) ontstaat. Bij veel verdamping zullen de wortels van de plant meer water opnemen, en naar de bovenste delen sneller transporteren door het potentiaalverschil en de capillaire werking van de houtvaten. Het zijn echter de verdampende delen die hiermee Ca krijgen aangevoerd. Strekkend blad en vruchten krijgen bij het langdurig aanhouden van een laag vpd juist minder Ca. Het Ca-gehalte in de vrucht neemt toe bij hogere luchtvochtigheid gedurende de dag (Adams & Ho, 1995). Kortweg kan men dus stellen dat hoe groter het vpd (bij voldoende hoge Ca-concentratie, zie ook 2.2.7), hoe meer Ca wordt aangevoerd naar (jong) blad.

Niet enkel de gemiddelde luchtvochtigheid over een etmaal is van belang is bij het ontstaan van bladrandjes maar ook verschil in de dag en nacht regimes spelen een rol (Adams & Ho, 1995; Sonneveld & Voogt, 2009). In de bladeren in de top wordt een hoger gehalte aan Ca gevonden wanneer de luchtvochtigheid s 'nachts laag gehouden wordt. Het vochtiger telen kan de kans op bladrandjes dus verhogen omdat een verminderde verdamping voor minder Ca-aanvoer zorgt. Wanneer de verdamping in de nacht wordt gestimuleerd door een verlaging van de RV kan dit de toevoer van Ca naar uitgroeiend blad verbeteren.

In de kas zal er meestal een sterk verband zijn tussen de luchtvochtigheid en de CO_2 concentratie. Wanneer men vochtiger teelt gebeurt dat namelijk vaak bij een hogere CO_2 concentratie simpelweg omdat er minder gelucht wordt. De gasuitwisseling tussen plant en omgeving wordt onder andere bepaald door de dichtheid en geleidbaarheid van de huidmondjes. Dit is sterk afhankelijk van de CO_2 concentratie, die in hoge mate de huidmondjesopening bepaalt (Raven *et al.* 1999). De instraling bepaald voor het grootste deel de verdamping en de opening van de huidmondjes (Kierkels *et al.* 2011). Ten behoeve van de fotosynthese wordt via de huidmondjes CO_2 opgenomen en gaat water 'verloren'. De algemene trend is een afname in het totale aantal huidmondjes bij een toenemende CO_2 concentratie (Beerling & Franks 2010; de Boer *et al.* 2011). Bij een toename in CO_2 sluiten veel plantensoorten de huidmondjes (Raven *et al.* 1999). Er zijn echter veel verschillen per plantensoort (Woodward & Kelly, 1995) waardoor niet met zekerheid te voorspellen is hoe tomatenplanten hun verdampingsstrategie aanpassen aan de CO_2 concentratie. Onderzoek aan populier laat zien dat de dichtheid van de huidmondjes in nieuw blad wordt bepaald door de gasuitwisseling en CO_2 concentraties in oudere bladeren (Miyazawa *et al.* 2005). Mogelijk is ook de dichtheid van huidmondjes op tomatenblad afhankelijk van zowel de CO_2 concentratie als van de planthoogte van het bemonsterde blad. Bij een hogere CO_2 concentratie kan een plant met minder gasuitwisseling, en dus minder waterverlies, voldoende CO_2 voor de fotosynthese opnemen. Kortom hoog CO_2 zal ook tot lager Ca-transport en aanvoer naar het blad leiden, met name in de nacht.

In Figuur 11., is de relatie tussen de fotosynthese (waaraan de productie uiteraard gelinkt is), CO_2 en licht uiteengezet. Bij een belichte teelt zal er altijd minder licht zijn in vergelijking met de teelt in de zomermaanden. Bij weinig licht wordt eerder een maximum bereikt, en kan er dus bij gelijke CO_2 doseringen sprake zijn van een overmaat aan CO_2 . Een onnodig hoge CO_2 kan echter de verdamping en daarmee dus de calcium opname verminderen.



Figuur 11. Bij verhoging van de CO_2 -concentratie neemt de fotosynthese toe. Bij veel licht kan de fotosynthese meer toenemen dan bij weinig licht. Uit Berg *et al.* 1999.

2.2.5.2 Licht en instraling

In de eerste plaats wordt de verdamping van een plant bepaald door instraling, waarbij geldt dat huidmondjes openen in het licht en sluiten in het donker. Door toevoer van licht en CO_2 kan de plant de assimilatie op gang houden. Ook de temperatuur in het blad loopt op. Een hogere bladtemperatuur zet de plant aan tot het openen van de huidmondjes, zodat door verdamping (onttrekt energie) de bladtemperatuur onder controle blijft. Daarnaast beïnvloedt de temperatuur van het blad en de kaslucht de snelheid van gasuitwisseling en door de relatie met de luchtvochtigheid ook in welke mate een plant vocht kan afstaan aan de omgeving. Een hogere instraling zorgt dus voor snellere ademhaling en een hogere bladtemperatuur. Pas wanneer de temperatuur boven de 30 graden komt zal dit de sluiting van de huidmondjes leiden. Naast de hoeveelheid licht, kan ook het aangeboden spectrum (kwaliteit van het licht), dus hoeveelheid groen licht (PAR), rood licht, blauw licht en UV straling van invloed zijn. Huidmondjes reageren op de verdeling van licht, waar rood licht een fotosynthese afhankelijke reactie en blauw licht een fotosynthese onafhankelijke reactie geeft (Raven *et al.* 1999). Dit houdt in dat het spectrum van het licht invloed kan hebben op de geleidbaarheid van de huidmondjes (Wang *et al.* 2011) en mede de gasuitwisseling tussen de plant en de omgeving bepaalt.

2.2.6 Plantontwikkeling

In het begin van een teelt zullen zelden of nooit bladrandjes voorkomen. Het langdurig aanhouden van een hoge plantbelasting bij een lage licht inval draagt echter bij aan het ontstaan van bladrandjes. Wanneer er weinig assimilatie producten beschikbaar zijn (gevolg van weinig instraling) en de sink-sterkte voor de productie van de vruchten erg groot is kunnen weinig assimilaten naar de wortels getransporteerd worden. De wortelontwikkeling, vooral het aantal jonge wortelpunten is bepalend voor de opname van Ca (zie 2.2.2). Dit is waarschijnlijk een belangrijke reden waarom er bij een hoge plantbelasting sneller bladrandjes optreden. Wanneer de wortelgroei sterk geremd wordt of misschien zelfs stopt worden er geen nieuwe wortelpuntjes meer gevormd die Ca op kunnen nemen. Logischerwijs vermindert zo de opname van Ca bij het aanhouden van een hoge plantbelasting tijdens perioden met weinig instraling.

Naast de opname van Ca is het transport binnen de plant van belang, vooral de verdeling tussen vruchten en blad, maar ook de verdeling tussen jong en oud blad. De watertoevoer naar de vruchten en het blad verschilt nogal. Het blad krijgt voornamelijk via de houtvaten (opgaande sapstroom) water aangeleverd. Dit geldt niet voor de vruchten van de plant. Onder 'normale' omstandigheden wordt 70 tot 85% van het water in de vrucht aangeleverd via de zeefvaten (het floëem). In omstandigheden waarbij de plant weinig tot niet kan verdampen, kan dit de enige bron van watertoevoer zijn. De rest van het water in de vrucht komt via de houtvaten (het xyleem) mee en bevat dus Ca. Xyleem is de enige toevoer van Ca naar het fruit (Ho *et al.* 1987; Ho & White, 2005). De proportie die de vrucht via de houtvaten (het xyleem) krijgt neemt af met de vruchtgroei, (Ho *et al.* 1987; Ho & White, 2005). Desondanks is er dus met name tijdens het uitgroeien van de vruchten aanvoer van water uit de houtvaten nodig, en treden ook de vruchten op als Ca-sink. Deze hoeveelheid zal echter veel minder zijn dan de aanvoer naar verdampend blad.

2.2.6.1 Betrokkenheid van hormonen

Er zijn uiteraard relaties te vinden tussen hormonen en Ca-gebrekziektes en botrytis (zie ook 2.3). Hormonen spelen een rol bij groeiregulatie, waterhuishouding, afweer tegen ziekten en plagen en het omgaan met niet-biologische stress zoals droogte, kou etc. Hormoonproductie is dus vaak een reactie op veranderde omstandigheden en daarom lijkt het niet voor de hand liggend om de hormoonhuishouding van de plant als (primaire) oorzaak van bladrandjes aan te wijzen.

Hormonen sturen de groei en ontwikkeling van verschillende plantendelen (Raven *et al.* 1999). Zo zijn hormonen vermoedelijk ook betrokken bij de aanmaak van huidmondjes (Miyazawa *et al.* 2006). De vorming van zijwortels is afhankelijk van auxine dat in de bladeren wordt geproduceerd en naar de wortels wordt getransporteerd (Reed *et al.* 1998). Variatie in auxine productie en transport kan een gevolg zijn van verandering in het milieu, bijvoorbeeld in lichtintensiteit en de mate van ethyleenproductie. Wanneer auxine niet naar de wortels wordt getransporteerd kan dit zowel snelle groei van jong uitlopend blad veroorzaken als ook de productie van zijwortels remmen. Het is echter onbekend of dit een rol speelt bij de vorming van bladrandjes.

Volgens Saure (1998) is een te snelle groei van de bladpunt de oorzaak van bladranden bij sla en koolsoorten. Deze symptomen worden ook aan Ca-gebrek geweten. Doordat de planten onder zeer gunstige stressloze omstandigheden groeien is er sprake van een verhoogde gibberelline en verlaagde abscisinezuur (ABA) aanmaak en dus versnelde groei. Gibberelline stimuleert op celniveau de celdeling en strekking, vooral in de lengterichting (Raven *et al.* 1999) en is betrokken bij het flexibel maken van de celwand door de verbinding van hemicellulose tussen cellulose strengen te verminderen. Auxine speelt ook een rol bij het flexibel maken van de celwand terwijl abscisine (ABA) en ethyleen de rekbaarheid juist verminderen (Raven *et al.* 1999). De celstrekking is echter een zeer complex proces waarbij tal van eiwitten en vijf hormonen (auxine, cytokinine, ethyleen, abscisine, gibberelline) betrokken zijn. Het literatuur onderzoek naar Ca en de celgroei (zie 2.1.3) wijst er echter op dat de snelle groei een gevolg kan zijn van Ca-tekort. Het hormoon ABA speelt mogelijk wel een belangrijke rol in het totaal plaatje bladrandjes en botrytis omdat ABA zowel een relatie heeft met de waterhuishouding (dus indirect met Ca) als de plantafweer (zie ook 2.3.3). Elke plantencel kan ABA produceren, ook wel synchroniserend hormoon genoemd omdat het de werking van groeibevorderende plantenhormonen remt. Het hormoon regelt daarom de verouderingsprocessen. Hoge concentraties van ABA in blad zet ethyleenproductie in gang waardoor het blad afsterft. Daarnaast is ABA als hormoon betrokken bij door het openen (of sluiten) van de huidmondjes. Van de laatste eigenschap hebben onderzoekers (de Freitas *et al.* 2011) recent gebruik gemaakt.

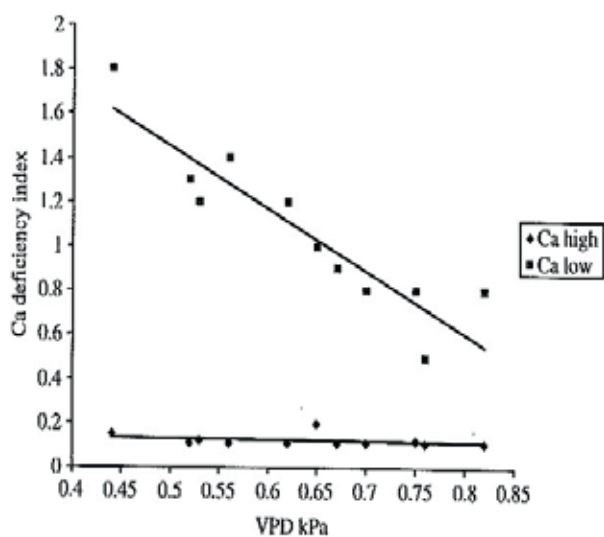
In het onderzoek werd neusrot te voorkomen door de bladeren van de plant ABA in te spuiten. De verminderde bladtranspiratie gaf meer Ca en wateraanvoer naar weinig transpirerende delen. Hun resultaten laten zien dat ABA behandeling van het blad de totale Ca-opname verlaagt maar het transport naar de vrucht stimuleert.

2.2.7 Interacties tussen factoren

Meerdere interacties tussen plant ontwikkeling, klimaat en voeding spelen een rol bij het ontstaan van zwakke cellen en afgestorven bladrandjes. In de literatuur worden verschillende van deze interacties besproken zowel wat betreft de opname als de distributie. Ten eerste is er de relatie tussen voeding en klimaat en plantbelasting bij de opname van Ca. De voedingsgift heeft tijdens de generatieve fase doorgaans een hogere EC en K:Ca verhouding om de vruchtkwaliteit te bevorderen. Dit kan de Ca opname negatief beïnvloeden. Door een grote sinksterkte van de vruchten zullen er weinig assimilaten beschikbaar zijn voor de aanmaak van nieuwe wortelpunten.

In een studie uit 1991 (de Kreijl) werd de interactie voeding en klimaat bestudeerd bij tomaat. In deze studie werden tomatenplanten in een droge en een natte kas geteeld waarbij de voeding bestond uit combinaties van laag en een hoog Ca (respectievelijk 4 en 11 mmol L⁻¹ bij een EC van 3) en 3 fosfaat concentraties (0,3; 1,7 en 4,2 mmol L⁻¹). (de Kreijl, 1991). Neusrot kwam met name voor in een droog klimaat bij een laag P en Ca niveau, maar voor het blad werd er geen relatie tussen voeding en Ca-gebrek in het blad gevonden. Vijf maanden na de zaaidatum (november) was slechts een in lichte vorm van Ca-gebrek in het blad gevonden in de 'natte' kas waar een hoge luchtvochtigheid werd aangehouden. Aan het eind van de teelt in juli werden er groeifwijkingen (kort blad met afgestorven groeipunt) in het blad geconstateerd bij een laag Ca en P niveau.

De relatie tussen voeding en luchtvochtigheid bij het ontstaan van Ca-gebrek in het blad is ook bij komkommer bestudeerd. Figuur 12. laat zien bij een laag Ca aanbod gebrek verschijnselen in het blad toenemen naar mate het vpd afneemt. Dit rechtlijnige verband deed zich niet voor wanneer het Ca aanbod hoog was.



Figuur 12. Ca-gebrek bij komkommer. Ca, high 64% van de kationen, Ca low, 16% van de kationen. Uit Sonneveld & Voogt.

In een studie uit het najaar van 1984 met het tomaten ras 'Estafette' (Ruijzenaars, 1986) werd Ca gedurende 3 weken uit de voeding verwijderd in week 2 (dus tot week 5), 4, 6, en 8 na de plantdatum.

Pas vanaf de periode met maximale plantbelasting ontstonden er bladrandjes. Slechts een enkel randje was zichtbaar wanneer pas vanaf week 8 met Ca-voeding werd gestopt, terwijl de controle groep geen last had van necrotische bladrandjes. Dit onderzoek toont daarom aan dat de relatie tussen voeding en plantbelasting een rol speelt bij Ca-gebrek symptomen.

2.3 Botrytis

2.3.1 Algemeen

De grauwe schimmel *Botrytis cinerea*, kortweg aangeduid als botrytis, is een ziekteverwekkende schimmel die een brede waardplantenreeks heeft. Alle bovengrondse delen zijn gevoelig voor aantasting: stengels, blad, bloemen en vruchten. In de vruchtgroenten zorgt met name stengelaantasting voor uitval van planten, bijvoorbeeld in tomaat en komkommer (Figuur 13.).



Figuur 13. Aantasting door botrytis in tomaat op stengel (links) en vrucht (rechts).

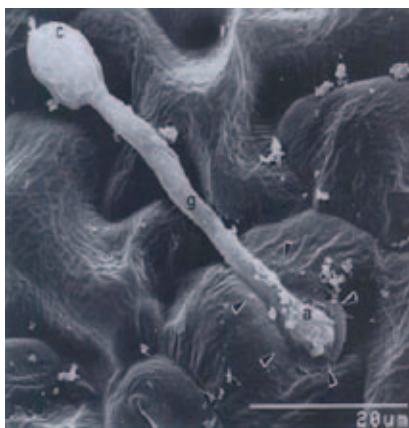
2.3.2 Wanneer treedt infectie op?

De sporen van botrytis komen door de brede waardplantenreeks bijna overal voor. De eerste infecties in een kas met substraatteelt beginnen meestal door sporen die van buitenaf komen. Daarna wordt het verloop van de sporendruk bepaald door geïnfecteerde plantendelen tijdens de teelt (Beyers *et al.* 2010). Bij grondgebonden kasteelten kunnen infecties ook beginnen vanuit overlevingsstructuren (sclerotia) die op afstervende plantenresten zijn overgebleven.

Vocht is een belangrijk vereiste voor kieming van sporen (Köhl *et al.* 2007). Dit kan als vrij water (condens druppels) op het plantmateriaal aanwezig zijn of in de atmosfeer bij een vochtdeficiet $< 2,5 \text{ g/m}^3$ (relatieve vochtigheden boven 87%). Eenmaal in het weefsel is schimmeligroei afhankelijk van de waterpotentiala in het dode weefsel. Pas nadat de kiembuis uitgegroeid is, zal de schimmel voedingsstoffen kunnen opnemen uit de omgeving. Onder optimale condities kan het kiemingsproces binnen 1-3 uur plaatsvinden en zijn er binnen 6 uur infectiestructuren gevormd (appresoria) die voeding uit de plantencel onttrekken. De aanwezigheid van voedingsstoffen (koolstof, stikstof en fosfaat) zorgen voor een versnelde ontwikkeling van sporen. De sporen kunnen binnen een brede temperatuur range kiemen van $0^\circ - 30^\circ \text{C}$ graden met een optimum tussen $18-23^\circ \text{C}$. Boven 30°C is geen groei meer mogelijk. Bestrijding is mogelijk door plantmateriaal of vruchten gedurende 20-30 seconden aan 50°C bloot te stellen.

Gekiemde sporen (Figuur 14) zijn gevoelig voor stress, vooral net voordat het blad geïnfecteerd kan worden. Gekiemde sporen kunnen dood gaan als de vochtperiode onderbroken wordt. Hoe lang deze periode precies moet zijn is niet bekend. Heeft de spore eenmaal een stevig schimmelnetwork in het plantmateriaal opgebouwd dan heeft een droogteperiode weinig effect en ontwikkelen de sporendragers zich gewoon weer opnieuw.

Meestal opereert botrytis als een 'gelegenheidsdief' en komt deze binnen via wondweefsel. Planten met een gezonde afweer worden niet snel geïnfecteerd door botrytis. In de meeste gevallen begint een infectie saprofytisch op dode, afstervende en verouderende cellen. Deze vormen een ideale voedingsbodem met voldoende vocht en weglekkende voedingsstoffen. Van hieruit is de schimmel wel in staat om aangrenzende gezonde cellen te infecteren en de plantafweer te omzeilen. Beschadigingen die een invalspoort vormen voor sporen kunnen op verschillende manieren optreden. Bekend is een ruwe gewasverzorging waarbij teveel stengelbast wordt meegetrokken bij het bladbreken of oogsten en waardoor afstervende delen nog wel aan de plant blijven zitten. Maar ook via afstervende bladrandjes kan de schimmel de plant binnendringen.



Figuur 14. Gekiemde spore (c) met kiembuis (g) en haustorium (voedingscel rechtsonder aangeduid met a). Prins *et al.* 2000.

Bij het infectieproces spelen pectine-afbrekende enzymen (pectinases) een belangrijke rol. Hierdoor is de schimmel in staat om gezond plantenweefsel binnen te dringen (Kars, 2010). Vruchten en bloemen zijn gevoeliger voor infectie dan bladeren en stengels, omdat de celwanden makkelijker door de pectinases van botrytis worden afgebroken. Deze endopolygalacturonases breken pectine uit de plantcelwanden en middenlamel af en knippen de pectine in kleinere stukjes. Hierdoor verliest de celwand zijn stevigheid en verliest het weefsel zijn structuur en zakt in elkaar (Kars, 2010).

Naast pectinases scheidt de schimmel ook schadelijke metabolieten uit zoals oxaalzuur en eiwitten. Sommige van deze eiwitten zorgen ervoor dat de cellen rondom de infectie afsterven. Oxaalzuur stimuleert de hydrolyse van pectine, waarbij stevige calcium bruggen uit het pectine worden verwijderd waardoor de pectine matrix water opneemt en opzwelt (Williamson *et al.* 2007). Lipasen zijn enzymen waarmee de schimmel de waslaag kan binnendringen.

De sporendruk kan vervolgens worden opgebouwd door fluctuaties in de temperatuur en de luchtvochtigheid. Door een snelle verlaging van de luchtvochtigheid in combinatie met de stijging van de temperatuur in de vroege ochtend laten sporendragende organen de sporen los. De sporen worden vooral door de lucht en soms ook door waterdruppels (bijvoorbeeld condenswater van geïnfecteerde bladeren) en insecten verspreid. Bij aanwezigheid van hoge sporenaantallen is de kans op infectie groter dan bij een lage sporendruk.

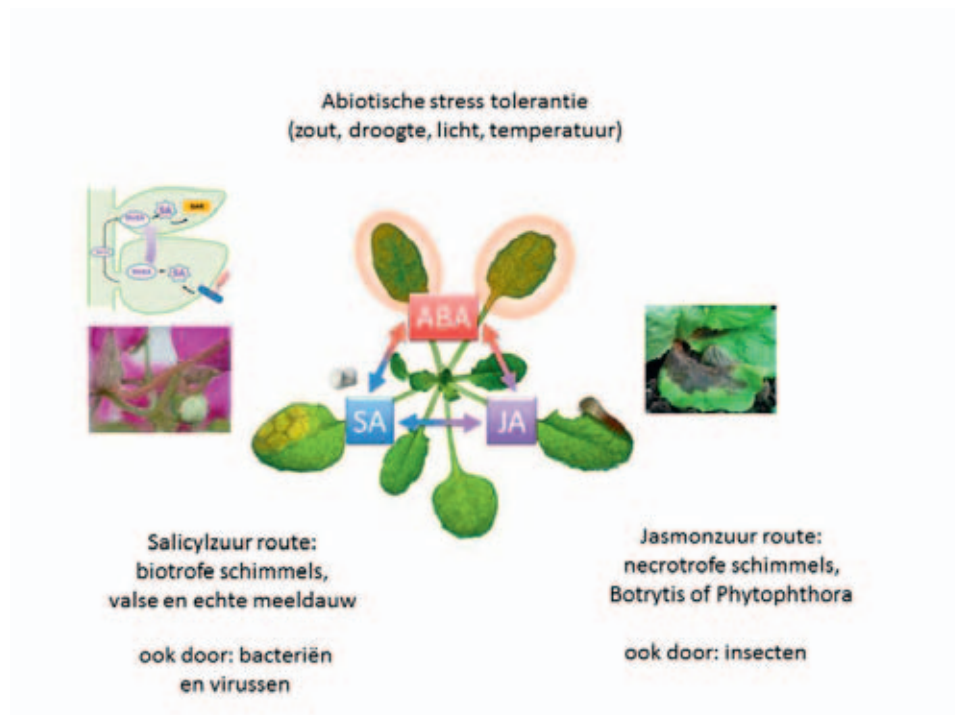
De ontwikkeling van sporendruk wordt beïnvloed door de aanwezigheid van hoeveelheid licht en de kwaliteit van het licht-spectrum. Een geringe hoeveelheid UV-B heeft een stimulerende werking op ontwikkeling van sporen. Van rood licht is bekend dat dit een directe remming geeft van de sporenkieming en indirect de plantweerstand kan verhogen zodat infectie wordt bemoeilijkt. UV-C heeft een direct bestrijdende werking.

2.3.3 Relatie tussen Ca, bladrandjes en de afweer van de plant

Er is een duidelijke relatie tussen cel stevigheid en calcium (zie 2.1). Bladrandjes worden hoogstwaarschijnlijk primair veroorzaakt door zwakke cellen als gevolg van Ca-tekort. Het tekort aan calcium leidt tot membranen die kunnen lekken. Dit helpt de schimmel in de eerste fase om de plant binnen te dringen. Calcium vormt bruggen tussen pectineketens en bepaald zo de stevigheid en doorlatendheid van de celwand. Wanneer de celwand minder pectine bevat is het gemakkelijker door pathogenen af te breken. Pathogenen kunnen daarom ook bepaalde eiwitten (PMEs) maken die het aantal bindingsplaatsen voor calcium vermindert en het netwerk flexibeler wordt. Wanneer het netwerk goed is opgebouwd en dus voldoende Ca bevat heeft het een zogenaamde eidoos structuur (2.1).

Belangrijke receptoren (WAK eiwitten) die betrokken zijn bij de herkenning van de ziekteverwekker binden zich hieraan. Daarnaast vormen door de schimmel afgebroken stukjes pectine een signaalmolecuul bij het op gang brengen van de plantafweer. Dit is vooral zo wanneer het pectine veel Ca bevat. Hieruit valt af te leiden dat cellen met weinig calcium niet alleen makkelijker afbreekbaar zijn voor de schimmel, maar dat de afweer tegen de schimmel ook moeilijker tot stand komt. Daarnaast heeft Ca direct effect op de kieming van botrytis. Blootstelling van botrytis sporen aan concentraties van calciumchloride (4-26 g/l) geeft een verminderde sporenkieming en kiembuisgroei (Chardonnet *et al.* 1999).

Planten zijn in staat zich op verschillende manieren te verdedigen tegen botrytis. Planten zullen zich na een eerste infectie verdedigen tegen de schimmel door het aanschakelen van de zogenaamde salicylzuurroute (SA) /ethyleen (ET) en jasmonzuurroute (JA-route). Via de laatste route worden ook floëemzuigende insecten geweerd (Figuur 15.). Het verdedigingsmechanisme omvat de productie van stoffen (fytoalexinen en antioxidanten) die de groei van de schimmel remmen. Ook kan door de plantenafweer een overgevoeligheidsrespons optreden waardoor cellen rondom de kiemende sporen afsterven.



Figuur 15. Een overzicht van de relaties tussen verschillende signaalroutes. Als een plant abiotische stress ervaart (bijv. koudestress) dan gaat dit ten koste van het vermogen om jasmonzuur of salicylzuurroute aan te schakelen (negatieve feedback) en wordt deze gevoeliger voor infectie.

Er zijn proeven gedaan met zandraket die laten zien dat er een negatieve relatie bestaat tussen het stress hormoon abscisine zuur (ABA) en verdedigingsmechanismen die in werking treden bij biotische stress (ziekten en plagen). Tussen jasmonzuur en salicylzuurroute is eveneens een negatieve correlatie, maar deze effecten zijn vooral sterk op lokaal niveau. Als op een blad eerst een insect gaat vreten waardoor de jasmonzuurroute in werking is gezet, dan zal datzelfde blad gevoeliger worden voor infectie met meeldauw, omdat het vermogen om salicylzuurroute in werking te stellen is verminderd. Recent onderzoek van Oirdi *et al.* (2011) laat zien dat Botrytis heel slim op de signaalroutes van een plant kan inspelen door de salicylzuurroute van een plant te stimuleren. Door de negatieve interactie tussen deze route en jasmonzuurroute is de plant minder goed in staat om op botrytis infectie te reageren waardoor de schimmel makkelijker kan binnendringen. Daarnaast is bekend dat de overgevoeligheidsrespons waarbij de cellen afsterven niet veel uitricht tegen een necrotroof pathogeen als botrytis die zich juist goed op dode cellen kan vermenigvuldigen.

Sinds kort is ook duidelijk dat stressresponsen die via het ABA signaalsysteem worden waargenomen een negatieve werking hebben op het vermogen van de plant om nog de JA en SA signaalroutes te kunnen activeren (Figuur 15). Kortom als een plant eerst te maken krijgt met zout of waterstress dan is deze minder goed in staat zich tegen meeldauw, botrytis of insecten te weren. Echter ook het normale ABA niveau in tomatenplanten heeft al een onderdrukkende werking op de JA signaalroute. Gemuteerde tomatenplanten met een verlaagd ABA niveau vertoonden namelijk een betere afweer tegen botrytis dan niet-gemuteerde planten (Curvers *et al.* 2010). Een verklaring hiervoor is dat de ABA-deficiënte mutant een andere pectine structuur vertoonde in vergelijking met een niet-gemuteerde tomaat. Dit toont aan dat abscisinezuur een belangrijke rol speelt bij de regulatie van PME eiwitten (zie 2.1.3). Interessant is verder dat de ABA-mutant een dikkere cuticula op de epidermis had, een versnelde reactie gaf op infectie door het aanmaken van stevige celwanden in epidermiscellen en minder bladhaartjes. Bladhaartjes (trichomen) kunnen water op het blad vasthouden wat de kieming van Botrytis stimuleert. Wel bleken ze gevoeliger voor droogtestress waardoor ze nog niet direct bruikbaar zijn voor veredelingsprogramma's maar wel om meer inzicht te krijgen in resistentiemechanismen.

ABA is (net als Ca) eveneens betrokken bij verhoging van ROS niveaus. Reactieve zuurstofdeeltjes in de eerste frontlinie waarmee een plant zich verdedigt tegen binnendringers. Het zijn zuurstofradicalen die zeer reactief zijn en daardoor cellen van ziektekiemen kunnen beschadigen en ontregelen. De combinatie van de activiteit van PMEs en de aanwezigheid van Ca spelen een belangrijke rol in het verkrijgen van een stevige celwand en het voorkomen dat celwanden doelwit worden van pectinases, pectine afbrekende enzymen (Pelloux *et al.* 2007).

Verdiepend stuk:

Curvers *et al.* 2010 stelt dat abscisine zuur een rol speelt in de regulatie van PME eiwitten (zie 2.1.3). Een ABA-deficiënte mutant van tomaat had een grotere hoeveelheid methyl verestering van pectine in vergelijking met een niet-gemuteerde tomaat en daardoor een grotere resistentie tegen botrytis. Wellicht was de betere afweer van de mutant niet direct gerelateerd aan de PME activiteit maar wel een veranderde structuur van de celwand, de eidoos structuur, waardoor afgebroken stukjes celwand (OGAs) als waarschuwingssignaal voor de plant kunnen dienen. Wanneer de methyl groep is verwijderd kunnen er twee dingen gebeuren, ofwel wordt er bij voldoende Ca een eidoosstructuur gevormd, ofwel het pectine dat nu weinig methylgroepen heeft is makkelijk afbreekbaar voor de pectinases van pathogenen. Om deze reden komen PME eiwitten komen niet alleen in planten voor maar ook in pathogene bacteriën en schimmels. De combinatie van de activiteit van PMEs en de aanwezigheid van Ca spelen dus een belangrijke rol in het verkrijgen van een stevige celwand en het voorkomen dat celwanden doelwit worden van pectinases, pectine afbrekende enzymen (Pelloux *et al.* 2007).

3 Discussie

Aan de basis van het bladrandjes probleem zijn een aantal processen van belang die op celniveau spelen. Er zijn dan veel parallellen te trekken tussen het ontstaan van bladrandjes en neusrot. Cellen in de vrucht hebben een andere Ca behoefte dan in cellen in het blad maar de aanvoer tijdens de cel strekking lijkt bepalend voor Ca-gebrek. Ook bij neusrot lijkt de relatie met calcium soms onduidelijk omdat aangetaste vruchten vaak een calcium gehalte hebben vergelijkbaar met normale vruchten (Suzuki *et al.* 2003). In beide gevallen spelen op celniveau er waarschijnlijk tegelijkertijd verschillende dingen zich af. De hypothese van Ho & White (2005) voor het ontstaan van neusrot, waarbij de interne balans van Ca wordt verstoord tijdens de celstrekking geldt mogelijk ook voor het ontstaan van bladrandjes.

Het literatuuronderzoek naar celstevigheid (zie 2.1) belicht een aantal belangrijke taken van Ca. Hieruit blijkt dat met name de aanvoer tijdens de celstrekking van belang is voor de stevigheid van de cellen. Recent onderzoek (Conn *et al.* 2011) naar het vermogen van verschillende celtypen in het blad om Ca te accumuleren laat zien dat de concentratie Ca in de houtvaten de celgroei en strekking beïnvloedt. Wanneer er minder Ca beschikbaar is verandert de samenstelling van de celwand en vermindert het aantal bindingsplaatsen voor Ca, waardoor de celwand flexibeler is, sneller groeit en makkelijker afbreekbaar wordt. Mogelijk wordt vervolgens de interne Ca balans ontregeld waardoor ook de membranen van calcium worden uitgeput. Het celmembraan kan gaan lekken, maar ook de membranen van organellen, bv. de vacuole, kunnen dan hun stabiliteit en integriteit verliezen (Suzuki *et al.* 2003). Daarnaast wordt tijdens de celstrekking de centrale vacuole gevormd en neemt in omvang toe. Omdat de concentratie in de vacuole groter moet zijn dan in het cytoplasma is er dus extra Ca nodig binnen de cel omdat er anders sprake zou zijn van een verdunningseffect. Wanneer er tijdens deze fase H^+ /Ca antiporters erg actief zijn en Ca in het cytoplasma naar de vacuole transporteren, kunnen Ca-gebrek verschijnselen ontstaan ondanks een normaal Ca-gehalte (Ho & White, 2005). Een bijkomend effect is dat botrytis de verzwakte celwanden makkelijker afbreekt, maar ook de plantenafweer komt moeilijker op gang doordat zwakke celwanden minder goed zijn in het signaleren van de ziekteverwekker (WAK eiwitten en stukjes afgebroken pectine spelen hierin een rol).

Veel literatuur en ook praktijkervaringen maken keer op keer melding van bladrandjes door het optreden van klimaat of vochtschokken. Het is nog onvoldoende bekend hoe dit proces precies in zijn werk gaat, maar het is aannemelijk dat zwakke cellen grote overgangen in waterpotentiaal niet aankunnen, waarbij de celwanden en/of membranen dan als gevolg van de externe negatieve waterpotentiaal knappen. Het is dan ook aannemelijk dat het omgekeerde, namelijk een waterpotentiaal opgewekt door een hoge worteldruk in het geval van zwakke cellen eveneens een spanning opwekt die de cellen niet aankunnen en laat knappen. Op dit vlak is er analogie tussen 'rand' en 'glazigheid' bij sla en andere bladgewassen, wat ontstaat na resp. een periode met (te) hoge verdamping en lage verdamping met guttatie als begeleidend verschijnsel. Verder onderzoek zal moeten uitwijzen of en in welke mate beide processen een rol spelen bij dit geheel.

Er blijkt ook een onduidelijk verband tussen het Ca-gehalte van weefsel met en zonder Ca-gebrek verschijnselen. Het is lastig om Ca-tekort te voorspellen of te bepalen hoeveel Ca er in het snelgroeiende weefsel aanwezig is. Het gebrek kan moeilijk worden aangetoond omdat reguliere analyses de locatie van het Ca (binnen of buiten de cel) niet aangeven. In het cytoplasma (celvocht) lijkt het Ca-niveau zeer sterk gereguleerd (zie 2.2). Veruit het meeste Ca (~10000x meer dan in het cytoplasma) bevindt zich in de centrale vacuole en aan de buitenkant van de cel, in de celwand. Er is vooralsnog namelijk geen reden om aan te nemen dat door Ca-tekort verzwakte cellen bij voldoende bladtranspiratie geen Ca in vacuolen kunnen ophopen. Dit zou betekenen dat de totale Ca-gehalten van het blad vooral een indicatie is voor de verdamping van het blad en niet voor de stevigheid. De stevigheid van de cel lijkt vooral door het gehalte Ca in de celwand bepaald te worden. Uiteraard spelen naast Ca ook andere factoren in de opbouw van de celwand een rol. Het lijkt in elk geval voor de hand liggend om bij gewasanalyses de rand van de rest van het blad te scheiden. Het roept ook de vraag op of deze zwakke cellen zich alleen in de bladranden bevinden of in de gehele gewas laag die onder Ca-tekort is ontstaan. Onder sommige onderzoekers en telers leeft namelijk het vermoeden dat in de gewas laag met bladranden in een later stadium ook gevoelig is stengel botrytis.

Het exacte proces op celniveau bij het ontstaan van bladrandjes is dus niet helemaal bekend. Wel is duidelijk dat minder Ca voor zwakte in het gewas zorgt en dat het klimaat en de plantbelasting een belangrijke rol spelen in het ontstaan van bladrandjes. Dit is niet verwonderlijk aangezien een langdurig hoge plantbelasting de opname van Ca kan verminderen (minder aanmaak wortelpunten) en de het klimaat voor een groot deel de opgaande sapstroom bepaalt en dus het transport van Ca.

De plant zal CO₂ opnemen en water verliezen. Van al het water dat een plant met de wortels opneemt gaat ca 90% via de verdamping weer terug de atmosfeer in. De verdamping van water uit de plant zorgt echter ook voor opname en transport van nutriënten via mass-flow. Ruim 90% van de verdamping verlaat de plant via de huidmondjes, de overige 10% verdampt door de beschermende waslaag (cuticula) heen (Raven *et al.* 1999). De gasuitwisseling, ofwel de geleidbaarheid van de huidmondjes, is in eerste plaats afhankelijk van de CO₂ concentratie (Raven *et al.* 1999). Daarnaast spelen tal van andere factoren een rol, denk aan licht en temperatuur en hormonen en natuurlijk de luchtvochtigheid en de energiebalans zoals is beschreven in 2.2.5.

Uit de literatuur is overduidelijk dat een hoge luchtvochtigheid bladrandjes in de hand werkt. Het constant (overdag en in de nacht) houden van een hoge luchtvochtigheid zorgt voor onvoldoende verdamping waardoor weinig transport van Ca naar bovengrondse delen plaatsvindt. Bladrandjes zullen niet zo gauw voor komen wanneer een hoog vpd wordt aangehouden. Door de verdampingsdruk is er dan voortdurend aanvoer van Ca naar bovengrondse delen. Dit betekent ook dat bij het zogenaamde “nieuwe telen” waarbij een hoge RV en CO₂ concentraties wordt aangehouden de mogelijkheid van de plant om te kunnen verdampen vermindert. De CO₂ concentratie beïnvloedt het openen van de huidmondjes maar ook de aanmaak van nieuwe huidmondjes. Een lage concentratie binnen het blad zorgt voor het openen van de huidmondjes, verhoging van de CO₂ concentratie voor het sluiten van de huidmondjes en een verminderde dichtheid. De luchtvochtigheid mogelijk speelt een nog grotere rol. Wanneer de turgordruk in het blad een kritieke waarde passeert zal de opening van de huidmondjes afnemen. Het verwarmen van het gewas in de top of het inblazen van droge lucht kunnen de luchtvochtigheid lokaal verminderen en de Ca-toevoer verbeteren.

Op plantniveau bekeken zijn er naast klimaatfactoren nog een aantal oorzaken op te noemen waarvan duidelijk is dat ze bladrandjes in de hand werken door een verminderde opname en distributie. Een slechte wortelontwikkeling vermindert het oppervlak dat beschikbaar is voor de opname van Ca. Voortdurend groeiende wortels zijn nodig omdat de Ca opname in jonge wortelpunten plaats vindt. Bijvoorbeeld als gevolg van het langdurig aanhouden van een hoge plantbelasting heeft de plant onvoldoende assimilaten over voor wortelgroei. De vorming van jonge wortelpuntjes is dan gering en dit remt de opname van Ca. Bij lage plantbelasting komt Ca-gebrek daarom minder voor doordat er voldoende assimilaten beschikbaar zijn om de wortelgroei aan de gang te houden. Bij een te lage Ca-concentratie in de mat of in het druppelwater, zoals bij een te hoge K:Ca of Mg:Ca verhouding neemt de Ca opname af. De opname van Ca wordt ook geremd naarmate de EC hoger is. Vooral boven niveaus 3 mS/cm begint dit te spelen, maar een hoge EC kan vooral leiden tot meer neusrot terwijl het Ca-gehalte in het blad juist toeneemt bij hoge EC. Klaarblijkelijk wordt door een hoge EC de verdeling in de plant vooral beïnvloed, hoogstwaarschijnlijk omdat de worteldruk lager is bij een toenemende EC. Hoewel er weinig onderzoeksresultaten voorhanden zijn die dit kunnen bevestigen, is het aannemelijk dat een hoge EC ook de Ca aanvoer naar jonge, nog niet verdampende, uitgroeiende plantdelen zoals bladeren belemmert. Een hoge EC zal de kans bladrandjes dus op zijn minst doen toenemen.

In de literatuur is weinig informatie te vinden wat betreft de gevoeligheid van verschillende rassen voor bladrandjes, maar voor neusrot zijn er wel degelijk verschillen gevonden (Ho & White, 2005). Er zullen tussen de rassen verschillen bestaan in factoren die zowel de Ca-opname als de distributie beïnvloeden. Denk hierbij aan de vruchtlast, het wortelgestel, dichtheid van de huidmondjes en van bladharen enzovoort. Er zijn verschillende voorbeelden waarbij bladrandjes voorkwamen terwijl een hoog Ca-gehalte in het blad werd aangetroffen. Dit was bijvoorbeeld het geval bij een onderzoek in 1996 (de Kreij) met het ras 'Trust'. Mogelijk is de anatomie van het blad mede bepalend is voor het ontstaan van bladrandjes. Zo kan het aantal de bladhaartjes die Ca ophopen en de vertakking van de nervatuur in het blad per ras verschillen. Een ander verklaring kan zijn dat niet de totale aanvoer kan Ca van belang is, maar een min of meer continue aanvoer, zodat Ca beschikbaar is op momenten dat het tijdens de celgroei in de celwand en membranen moet worden opgenomen. Onderzoek aan korianderplanten heeft laten zien dat randen van het blad een lagere concentratie Ca hebben (Kerton *et al.* 2009). De onderzoekers veronderstellen dat ion en water transport in het blad van elkaar wordt losgekoppeld en de afstand van de cellen tot de nerven bepalend kunnen zijn voor de Ca-toevoer. Blad met een sterke nervatuur zou volgens deze hypothese minder gevoelig voor bladranden door een betere verdeling van het aangevoerde Ca.

Botrytis infecteert de plant via wondweefsel. Naast het lekken van voedingsstoffen uit stervende cellen is het vochtgehalte (> 85% rv, 4-5 uur nat) een voorwaarde om tot infectie te komen. De schimmel kan in de kaslucht aanwezig zijn of een tijdje als gekiemde spore op het blad overleven. De kieming vindt plaatst nadat een natte periode van 4 tot 5 uur, de periode hoeft niet aaneengesloten te zijn. Het aanhouden van een hoge RV doet echter ook de verdamping en Ca opname en transport naar het strekkend blad dalen waardoor het gevaar op bladrandjes ontstaat. Een bladrandje is om meerdere redenen een mooie ingangspoort voor botrytis. Een zwak membraan kan snel nutriënten lekken (bvb door een klimaatschok) en zo een voedingsbodem vormen voor botrytis. Ook is heeft bij Ca-gebrek het pectine in de celwand een andere structuur waardoor het makkelijker afbreekbaar is en minder goed de plant afweer op gang kan brengen. Maar de aanwezigheid van Ca dat vrijkomt bij de afbraak van de celwand en zich bevindt in de ruimtes tussen cellen beïnvloedt ook direct de kieming en eerste groeifase van Botrytis. Hoe meer Ca er aanwezig is hoe sterker de kieming en groei van botrytis wordt geremd (Chardonnay *et al.* 1999).

Een (te) hoge luchtvochtigheid speelt dus een belangrijke rol bij zowel het ontstaan van bladrandjes als bij de kieming van botrytis. Het buitenklimaat lijkt echter doorslaggevend voor het ontstaan van bladrandjes in reeds verzwakte cellen. Dit verklaard waarom de relatie tussen Ca-gebrek en Ca-gehalte vaak erg verwarrend zijn. Ten eerste zijn het de randen die worden aangetast. Door splitsing van ion en water transport in het blad (Gilliam *et al.* 2010) er is minder aanvoer van calcium naar cellen die zich in de rand bevinden. Doordat calcium zich na vorming van de celwand kan blijven ophopen in de vacuole en een necrotische bladrand blijkt alleen na een klimaatschok ontstaat, lijkt de bemonstering van het blad voor een gewasanalyse in dit stadium weinig zinvol omdat het gehalte 'normaal' is maar zich niet op de juiste plek in de cel bevindt.

4 Vertaling naar de praktijk

Het optreden van bladrandjes houdt al een groot aantal jaren de gemoederen van telers en teeltadviseurs bezig. Er is daarom veel ervaringskennis rondom het optreden van bladrandjes en de mogelijke oorzaken. Soms zijn de meningen tegenstrijdig, of lijken dat te zijn. In dit hoofdstuk wordt getracht wat samenhang aan te brengen tussen de gevestigde meningen en veronderstellingen. Daarbij zal getracht worden elke stelling te beoordelen en van een theoretische basis te voorzien vanuit de kennis van de fysiologie van de plant. Waar mogelijk en relevant zal een verwijzing worden gegeven naar de voorgaande paragrafen voor verdiepende tekst over de waterhuishouding en de opname en transport van Ca. Een probleem bij de interpretatie van de stellingen is dat ze meestal genoemd worden in een bepaalde context, die niet altijd eenduidig is. De context zal daarom kort worden aangegeven.

1. Bladrandjes ontstaan meestal tijdens of na een periode met zware plantbelasting
context: diverse citaten in vakpers, vrijwel altijd genoemd in het kader van de belichte teelt

Bij de actuele discussies in de vakpers wordt dit gegeven het meest genoemd en speelt vooral bij de belichte tomatenteelt. Vaak wordt hierbij aangegeven dat dit te maken heeft met het “veel van het gewas vragen”, of ook dat de beschikbare assimilaten over teveel “vraag” moeten worden verdeeld. Voor telers is het optreden van wat bladrandjes een teken dat het maximale uit de plant is gehaald.

Er is een goede fysiologische verklaring voor dit gegeven. Bij een toenemende plantbelasting, waarbij feitelijk de hoeveelheid bladoppervlak ten opzichte van de hoeveelheid (aantal*gewicht) van vruchten klein zal zijn zullen de beschikbare assimilaten verdeeld moeten worden over veel “vraag”. Het is bekend dat de wortels dan het minst bedeed worden, wortelgroei neemt af of staat stil, of er zal zelfs wortelafsterving optreden. Voor de water- en voedingsopname in het algemeen heeft dit nog geen ernstige gevolgen, maar specifiek voor de Ca opname wel. In paragraaf 2.2.2 is beschreven dat dit element specifiek wordt opgenomen door de jonge, groeiende wortels. Ontbreken deze, of nemen ze af, zal dus ook de Ca opname in het gedrang komen. Door de beperkte Ca beschikbaarheid in de aanvoer naar jonge cellen zullen dan zwakke cellen gevormd gaan worden. Het daadwerkelijk zichtbaar worden van de bladrandjes, dus het optreden van het symptoom is echter pas later, als de zwakke cellen kapot gaan (zie 3). Er zal dus enige tijd liggen tussen het begin van de periode van zware belasting en het zichtbaar worden van het symptoom. Gewassen die langdurig een zware belasting kennen zullen ook langdurig met dit probleem te maken hebben.

2. Bladrandjes ontstaan vaak bij belichte teelten
context: veel genoemd door telers en adviseurs; algemeen erkend feit

Hoe komt het dat bij de belichte teelt bladrandjes het meest voorkomen? Waarschijnlijk spelen er een aantal factoren tegelijkertijd.

- a) In de eerste plaats zal vanuit kosteneffectiviteit gestreefd worden naar een maximale plantbelasting, maar mogelijk zijn de teeltomstandigheden dusdanig dat de plant in de winter onder belichte omstandigheden zich sowieso generatiever ontwikkelt. Het relatief weinige licht dat er is zal zoveel mogelijk in de reproductie worden gestopt. Het effect van de zware plantbelasting zal verminderde wortelontwikkeling betekenen, zie onder 3.1.
- b) Ondanks belichting is het totale lichtniveau in november – februari niet veel meer dan het totaal aan daglicht in begin maart. Het gevolg is weinig assimilaten beschikbaar en wekt – los van de Ca-problematiek- sowieso ook zwakkere cellen op.
- c) De plant wordt langduriger blootgesteld aan licht, vaak tot 18 uur. Er is dan maar een vrij korte “rust”periode. Een periode van “geen verdamping” is uitermate belangrijk om worteldruk op te wekken. Zoals uitgelegd in 2.2.5 is transport via worteldruk het enige vervoermiddel voor Ca naar de jonge nog niet verdampende plantdelen.
- d) Vanwege de wens tot beheersing van vruchtkwaliteit wordt een hoge tot zeer hoge druppel- EC en mat of drain EC gehandhaafd. Een hoge EC belemmert de Ca opname, (hoewel het gehalte in het blad wel kan toenemen doordat bij een hogere EC ook meer Ca bij de wortel wordt aangeboden) maar vooral het transport naar vruchten (neusrot) en jonge bladeren wordt geremd.

- e) In de vierde plaats wordt er weinig en in bepaalde perioden in het geheel niet geventileerd. De verdamping en daarmee de Ca aanvoer zijn daardoor beperkt (zie 2.2.5). Want dit is weer van belang om voldoende Ca in jong blad te krijgen. Ook zijn de verschillen tussen binnen en buitenklimaat in de winterperiode extreem groot. Als er dan geventileerd wordt, ook als is het maar een kier, kan de vochtschok groot zijn¹.
- f) In de wintermaanden is er ondanks de belichting een beperkte hoeveelheid licht, terwijl de CO₂ dosering onverminderd hoog is. Bovendien wordt er minder gelucht zodat de CO₂ concentraties gemakkelijker en langer op dit hoge niveau blijven. Hoog CO₂ heeft als effect dat er minder huidmondjes gevormd worden en de huidmondjes soms ook meer gesloten zijn. Dit heeft weer tot gevolg dat het gewas minder verdampt.
- g) In de belichte teelt worden juist meer gevoelige rassen geteeld.
- Hiertegenover staat echter dat dat bij belichting juist de koppen de stralingswarmte krijgen van de SON-T lampen. Dit moet de verdamping in de kop stimuleren en dus bladrandjes tegengaan. Het laatste woord is hier nog niet over gezegd en aanvullend onderzoek is nodig om verdere antwoorden te vinden.

3. Bladranden zien we vaak bij te laat en teveel luchten

context: diverse nieuwsflitsen in de vakpers en meningen van telers

De link tussen de strategieën van ventileren in samenhang met de buitenomstandigheden en bladrandjes wordt veelvuldig gelegd. Klaarblijkelijk ervaren telers dit als een belangrijke oorzaak. Er zijn een aantal aspecten die hierbij spelen, die vanuit de fysiologie van de plant beter begrepen worden. Het mag duidelijk zijn dat voor de Ca opname en het transport naar boven in de plant de xyleem- of houtvatenstroom verantwoordelijk is. Zonder verdamping is er alleen transport via de worteldruk. Uit onderzoek is duidelijk gebleken dat bij onvoldoende verdamping de jonge bladeren onvoldoende Ca aangevoerd krijgen en Ca-gebrek (bladrandjes) vertonen (2.2.5). Dit lijkt dus in eerste instantie tegenstrijdig met deze stellingname. Echter het zit ingewikkelder in elkaar. Bij ventilatie neemt de verdamping sterk toe, want door het afvoeren van kaslucht met daarin veel vocht en het binnenkomen van koudere, droge lucht stijgt het vochtdeficiet (vpd) sterk. Hoe sterker de ventilatie hoe groter het verschil in vpd, vooral de kop van de plant krijgt het meest te maken met deze vochtschok. Als er dan jonge bladeren in de kop zitten met zwakke cellen, dan zijn deze cellen en dat weefsel onvoldoende bestand tegen dit verschil in vpd en zullen kapot kunnen gaan. Om dit goed te begrijpen moeten nog we een stapje dieper gaan. Een hoog vpd en vooral een plotselinge schok in vpd, heeft gevolgen voor uiteraard in de eerste plaats de verdamping vanuit de huidmondjes in het blad, maar ook voor vochtverlies door de opperhuid en de waslaag (cuticula) heen. Het uiteindelijke gevolg is dat de waterpotentiaal¹ sterk toeneemt. Al het vocht in het blad, of dit nu in de cellen zit (vacuole, cytoplasma) of daarbuiten (celwanden, intercellulaire ruimtes) is aan dit krachten spel onderworpen. Bij een hoge vpd is er dus een zeer groot drukverschil. Zwakke cellen of liever gezegd, zwakke celwanden en membranen kunnen deze druk waarschijnlijk niet aan. In paragraaf 2.1.2 is uitgelegd dat Ca een cruciale rol vervult in het stevig maken van de celwanden. Cellen die dus te weinig Ca aangevoerd hebben gekregen zullen minder goed bestand zijn tegen deze grote drukverschillen. Blijft de vraag hoe het nu komt dat die cellen een lager Ca-gehalte hebben en dus zwakker zijn. Dit is wat speculatief, maar vermoedelijk is er aan de periode voorafgaande aan het moment dan de vochtblaadjes ontstaan (symptoom) een periode of moment dat de Ca aanvoer, c.q. transport naar de jonge zich nog in de fase van de celstrekking bevindende cellen geremd is. Dit zou bijvoorbeeld kunnen door de hoge plantbelasting (zie 2.2.6.), een hoge EC (zie 2.2.4), ras of onderstameffect, te weinig worteldruk of continue hoge RV/lage vpd (zie 2.2.5). Zijn cellen eenmaal gevormd en uitgegroeid, dan is er geen mogelijkheid meer om de Ca inbouw in de celwand nog aan te passen. Kortom, in het geval van het effect van ventilatie op bladrandjes liggen primaire oorzaak en secundaire oorzaak, nl. het ontstaan van het symptoom in de tijd uitelkaar. Het gegeven dat in de zomerperiode bladrandjes meestal géén groot probleem vormen, terwijl de verdampingsdruk aanzienlijk hoger is, kan gezien worden als een ondersteuning van deze redenering. Een tomatenteler had de ervaring dat door ventilatoren dichtbij de koppen te plaatsen ook minder problemen met bladrandjes optraden.

¹ Bij een vochtschok moet bedacht worden dat de plant in de ruimte om hem heen voortdurend onderhevig is aan allerlei krachten die op de watermoleculen inwerken, zoals de zwaartekracht, de osmotische kracht en de adhesiekracht van allerlei oppervlaktes (celwanden). Je kunt dit ook vertalen in een zuigspanning, ofwel een negatieve hydrostatische druk.) Als voorbeeld: een situatie van van een kastemperatuur met 200 °C en een RV 90%, door het inluchten van koude, dus veel drogere buitenlucht daalt de RV plotseling naar 50%. Dit geeft dan een potentiaal verschil van maar liefst 768 bar !)

4. Bij inluchten tijdens een vorstperiode ontstaan bladrandjes

context: diverse nieuwsflitsen in de vakpers en meningen van telers, tijdens de koude winters van 2009/2010 en 2010/2011

Het effect van ventilatie is beschreven onder 6. Bij deze waarneming geldt nog veel sterker dat de vochtschok nog veel groter kan zijn. Immers bij vorst zal er langdurig in het geheel niet geventileerd worden, de vpd zal dus langdurig erg laag zijn. Als er dan toch wordt gelucht, zelfs bij een kleine kier en een hoge p-band, is het temperatuurverschil en daarmee het vochtverschil nog veel groter als al aangegeven onder punt 6. Bovendien is de aanleiding tot ventileren in een vorstperiode behalve vochtafvoer, ook temperatuurbeheersing omdat bij helder, zonnig weer in feb/mrt de kastemperatuur te hoog kan worden. Bij dit type weer (hogedruk, oostenwind) is de RV meestal extreem laag.

Een ervaring uit de praktijk is ook dat het in perioden met koud en zonnig weer beter is de temperatuur in de kas verder te laten oplopen, tot bijvoorbeeld 26 °C met een klein kiertje lucht, dan ruim luchten om een lagere ruimtetemperatuur te realiseren. Een opvallende waarneming werd nog opgetekend uit de mond van een teler, namelijk dat tijdens een periode van langdurig koud weer, waarbij niet geventileerd werd, het kasklimaat uniformer was en dat de “bleke randen”, het beginstadium van bladrandjes bijgekleurd zijn! Dit is moeilijk verklaarbaar omdat cellen die eenmaal kapot zijn zich niet weer kunnen herstellen.

In de zomer komt de warmte ook vooral van boven van de zon, terwijl in de koudere periode de warmte vooral van het buisrailsysteem moet komen, waardoor juist de onderste bladeren meer worden gestimuleerd om te verdampen.

5. Hoge worteldruk veroorzaakt bladrandjes

context: artikel over luchtvochtigheid, energiebesparing en infectie schimmels

Dit is een lastige stelling, omdat een plantfysiologische verklaring dit zowel kan ondersteunen als ontkrachten. Ja: Indien de gevormde cellen in jonge net uitgegroeide bladeren, door wat voor omstandigheid dan ook een te laag Ca-gehalte hebben, zullen zwakke cellen zijn gevormd. Voor een uitvoerige uiteenzetting over het ontstaan van zwakke cellen en zwakke celwanden, zie 2.1. Als er dan een te hoge worteldruk ontstaat, kan de interne vochtspanning in de plant hoog worden. Het is nog niet geheel zeker maar wel erg waarschijnlijk dat deze zwakke cellen deze druk dan niet aankunnen en als gevolg hiervan zullen knappen. Waarom dan specifiek de cellen aan de rand en punt van de bladeren stuk gaan en de symptomen laten zien is te verklaren uit de al eerder besproken wijze waarop Ca in de plant wordt getransporteerd (zie 2.2.2). De cellen aan de randen zijn het verst verwijderd van de hoofdnerf en zullen mogelijk het laagste Ca-gehalte hebben. Dit is niet onderzocht, maar er is een analogie te trekken met vruchten, waarbij de punt van de vrucht ook het laagste Ca-gehalte heeft.

Nee: Als uitgelegd in 2.2.2, is Ca-transport naar niet-verdampende delen uitsluitend mogelijk via worteldruk. Hoe meer en langduriger worteldruk aanwezig is, hoe meer Ca in de uiterste delen van jonge plantorganen terecht komt. Uit onderzoek naar de oorzaken van neusrot blijkt dit in ieder geval een essentiële bijdrage te geven. Tegelijkertijd moet ook genoemd worden dat uit het meeste onderzoek blijkt dat weinig verdamping (dus veel worteldruk) eerder bladrandjes geeft. De ervaring is dat te benauwd telen, dus te weinig luchten meer kans op bladranden geeft. Waarschijnlijk is er een subtiel samenspel van een bepaalde Ca aanvoer via worteldruk, perse noodzakelijk om de Ca ter plekke te krijgen maar ook van voldoende verdamping in de kop van de plant, waar de zich ontwikkelende jonge bladeren zich bevinden om ook via die transportweg Ca aan te voeren.

6. Groeikrachtige onderstammen hebben minder last van bladrandjes, bij generatieve onderstammen (Stallone, Optifort) zijn gevoeliger voor bladrandjes.

context: artikel over aanbod aan onderstammen voor tomaat

Dit gegeven heeft twee aspecten. In de eerste plaats het vegetatieve/generatieve karakter van de groei van de ent. Dit zal dezelfde oorzaken en gevolgen hebben als beschreven onder punt 1, dus generatieve onderstammen geven eerder een zware plantbelasting. Het tweede aspect is het wortelstelsel. Helaas is er nog weinig bekend over de anatomie (bouw) van onderstammen en het effect daarop op de functie van de wortel. De kans is groot dat een 'generatieve' onderstam ook minder wortels zal hebben en dus minder wortelpunten en dus een lagere Ca opname, maar dit is niet vastgesteld. Het is niet ondenkbaar dat het geheel hormonaal wordt gestuurd, waarbij de 'generatieve' onderstam de ent in generatieve richting stuurt, waarbij vervolgens deze, vanwege de zware plantbelasting minder assimilaten investeert in de wortels. Hiermee zijn we terug bij 1.

7. Een lage planttemperatuur rond zonop verhoogt de kans op bladrandjes

Te laat opstoken in de nanacht bevordert bladrandjes

context: diverse nieuwsflitsen in de vakpers en meningen van telers

Dit fenomeen hangt ook weer samen met de verdamping beschreven 2.2.5. Maar waarschijnlijk speelt ook een rol dat bij een lage planttemperatuur alle processen in de kop van de plant minder snel verlopen. Er wordt daarom geadviseerd om goed opgewarmd de nacht uit te komen. De bedoeling van de temperatuurverhoging in de nanacht is ongetwijfeld te zorgen dat de planten op temperatuur zijn bij zonsopgang zodat ze direct op vol vermogen kunnen assimileren, maar zeker ook te voorkomen dat door de snel oplopende luchtvochtigheid condensatie op het gewas optreedt en zich botrytis kan ontwikkelen. Bij een te lage planttemperatuur zal het vochttransport in de plant achterblijven bij de verdampingsvraag. Het is ook niet ondenkbaar dat het te laat beginnen met het verhogen van de nanachttemperatuur tot gevolg heeft dat het opstoken feller moet, met als gevolg dat uiteindelijk de luchtramen eerder en verder opengaan. De vochtschok is daarmee groter en verklaart ook dat te laat opstoken meer bladrandjes geeft.

8. Bladrandjes worden zoveel mogelijk beperkt door klimaatschokken te voorkomen

context: praktijkgeluiden in vakpers

Zie onder punt 3 en 5.

9. Laag K versterkt het optreden van bladrandjes

context: gehoord in wandelgangen, enkele keer genoemd in nieuwsflitsen praktijk, teelttips Deligrow 17 april 2011

Deze mening wordt niet vaak genoemd, maar is wel opvallend. Het lijkt in eerste instantie tegenstrijdig met het Ca verhaal. Bij het aanhouden van een hoge luchtvochtigheid wordt ook de K opname verminderd (Adams & Ho, 1995). De aanleiding lijkt ook te zijn de eerdere gedane metingen in de gevallen van bladrandjes, waarbij K vaak lager was dan bij de controlemonsters. Dit hoeft echter niet te betekenen dat er sprake is van K tekort, laat staan van een oorzaak. Immers we praten hier over lekkende en leeggelopen cellen, waarbij verlies aan K (inhoud vacuole!) is opgetreden. Mogelijk dat de aanleiding voor deze stelling ook is ingegeven door lage K gehalten in de mat of drain op momenten van optreden van bladrandjes. Echter dit zou ook wel zeer goed kunnen samenhangen met de al eerder genoemde periode van zware plantbelasting. Immers, voor vruchttuitgroei is veel meer K nodig dan voor vegetatieve groei. De groter worden vacuole van de vruchtcellen treden op als K-sink. Soms wordt ook aangegeven dat een laag kalium aanbod door een grote vraag van de vruchten te weinig kleur geeft in de kop van de plant, waardoor het blad gevoelig wordt voor bladrandjes. Niettemin zijn dit aspecten die nader aandacht vragen.

10. Rasgevoeligheid

context: praktijkgeluiden en artikelen in de vakpers, ervaringen van telers, adviseurs en onderzoekers.

Dit is een vaststaand feit. Rassen als 'Trust' in het verleden, 'Komeett' ,en 'Levanzo' en nog andere huidige rassen zijn zeer gevoelig. 'Sunstream' bijna niet. De oorzaak is nog onbekend, maar zal ongetwijfeld genetisch bepaald zijn. Dit kan zowel te maken hebben met de blad/vrucht verhouding; generatief/vegetatief of andere spruit/wortelverhouding werken. Maar ook de nervatuur van het blad en de productie van zijwortels kan een rol spelen. Opvallend is wel dat het over het algemeen grove rassen zijn die gevoelig zijn. Ook is niet ondenkbaar dat Ca-transport of verdeling een rol speelt, of een genetisch bepaalde wijze van opbouw van de celwand die daardoor zwakker c.q. sterker is.

11. Na lichtrijke dagen heeft de plant meer nachtrust nodig.

context: context: praktijkgeluiden in vakpers

Bij punt 2 is uitgelegd dat een tomaat een bepaalde rustperiode nodig heeft om worteldruk op te kunnen wekken, en die transportstroom is verantwoordelijk voor Ca aanvoer naar jonge uitgroeiende delen. Na lichtrijke dagen kan de turgorspanning aan het eind van de dag te ver weg gezakt zijn, waarbij het dan lang duurt voor de plant weer zover is dat er effectief worteldruk optreedt. Indien op een lichtrijke dag eveneens nog fors wordt belicht, zal dit averechts werken.

12. Door besmetting met het pepinomozaïek virus neemt de gevoeligheid voor bladrandjes toe

context: diverse meldingen van adviseurs en telers.

Over dit effect is weinig met zekerheid te zeggen, behalve dat dit kennelijk een gegeven is wat in de praktijk wordt waargenomen. De effecten van 'pepino' zijn wel te karakteriseren als groeiverzwakking, maar ook dat het gewas generatiever wordt. Logischerwijs wordt daardoor ook de wortelgroei belemmerd, zodat er een parallel is te trekken met punt 1.

13. Teveel water geven bij weinig verdampend weer

Context: teelttips Deligrow 17 april 2011

Door teveel water te geven bij donker, weinig verdampend weer zou het wortelmilieu te nat kunnen worden en zuurstofgebrek op kunnen treden, leidend tot wortelafsterving. Hierdoor zou er minder Ca door de plant opgenomen kunnen worden (zie punt 1). Teveel water geven onder weinig verdampende klimaatomstandigheden zou echter ook een hoge worteldruk kunnen veroorzaken, waardoor zwakke cellen kapotgedrukt kunnen worden (zie punt 5).

14. Te lage EC-gift

Context: teelttips Deligrow 17 april 2011

Bij een te lage EC van het druppelwater kan de worteldruk sterk opgewekt worden. Onder bepaalde omstandigheden zoals hierboven omschreven kunnen dan bladrandjes ontstaan.

15. Te weinig calcium aanbod/opname.

Context: teelttips Deligrow 17 april 2011

Door een antagonistisch effect kan een goede opname van Ca verhinderd worden door teveel kalium of ammonium in de druppeloplossing, waardoor er te weinig Ca in de zich ontwikkelende bladeren van de kop terecht komt (zie punt 2).

16. Te koud druppelwater

Context: teelttips Deligrow 17 april 2011

Een relatief lage temperatuur van het druppelwater kan een slechtere opname van voedingselementen, waaronder Ca, veroorzaken. Dit zou weer tot zwakkere cellen in de kop leiden.

5 Conclusie

Dat bladrandjes bij tomaat iets met Ca te maken hebben is vrijwel zeker. Calcium speelt een belangrijke rol bij de opbouw van cellen. In de celwanden is Ca onmisbaar voor het vormen van de middenlamel en verstevigt de celwand door binding van pectine ketens. Calcium reguleert de doorlatendheid en functionaliteit van membranen en voorkomt zo dat cellen ionen of plasma verliezen. De concentratie in het cytoplasma wordt dus sterk gereguleerd omdat schommelingen cel processen in gang zetten. Bij het schommelen van de concentratie en het in stand houden van de homeostase (constant houden van de concentratie) in het cytoplasma wordt zo nodig Ca aangevuld met vrij Ca in de celwanden en intercellulaire ruimten en uit de centrale vacuole waar Ca kan ophopen. De aanvoer van Ca naar jonge groeiende cellen is dus cruciaal. Het transport en de verdeling van Ca is echter zeer complex omdat er een aantal factoren tegelijkertijd spelen, die elkaar bovendien beïnvloeden. Naast factoren in het wortelmilieu spelen het klimaat, plantconditie, groeisnelheid en gewasstadium een rol. De opname van Ca wordt beïnvloed door het absolute Ca niveau, de K:Ca verhouding, NH_4 concentratie en de EC. Nog veel belangrijker is echter de aanwezigheid van voldoende jong groeiende wortelpunten, omdat Ca vrijwel uitsluitend daar wordt opgenomen. Beperkte wortelgroei door slechte condities in het wortelmilieu (pH, O_2 gehalte), maar vooral ook door hoge plantbelasting verlagen de opname. Transport en distributie van Ca hangen vooral samen met klimaat. Weinig verdamping door lage vpd zorgt voor onvoldoende Ca aanvoer. Dit is met name voor jong blad funest. Hierdoor worden zwakke cellen gecreëerd. Met name de celwanden van de cellen zullen verzwakt zijn en een slechte weerstand tegen ziekteverwekkers hebben. Als de cel is uitgegroeid kan dit tekort in de celwand niet worden hersteld omdat aanvoer van extra calcium zich na de celgroei in de vacuole ophoopt. Weefsels met zwakke cellen bepalen het ontstaan van bladrandjes. Wat er precies gebeurt is onduidelijk, maar aangezien bladrandjes zich altijd voordoen na een vochtschok is het aannemelijk dat de water en Ca huishouding in de cel ontregelt raakt door een plotse verandering van de waterpotentiaal. Botrytis zal bij een voldoende hoge sporendruk en beschikbaarheid van vocht (natslaan van het blad, hoge luchtvochtigheid) kunnen kiemen en de plant via het verzwakte weefsel, met lekkende membranen kunnen infecteren.

Aanbevelingen voor verder onderzoek

Uit de literatuurstudie blijkt dat er nog veel zaken niet geheel duidelijk zijn. Voor een gedeelte zijn dit aspecten op celniveau, onderwerpen die te maken hebben met celbiologie: Ca in de cel en de positie en functie in de verschillende organen van een cel. Dit zijn onderwerpen die buiten de horizon van ons onderzoek liggen en laten we verder rusten. Er zijn ook onderwerpen die zich op weefsel en plantniveau bevinden. Dit is het terrein van de plantenfysiologen, waarbij ook gewaskennis nodig is. Te denken valt dan aan de volgende onderwerpen:

1) Rol van Ca bij jonge groeiende weefsels. Hierbij zijn de volgende aspecten van belang:

- Onderzoek naar het transport van Ca naar jonge groeiende weefsels
- Effect van de Ca aanvoer op de celstrekking
- Rol van worteldruk en van verdamping
- Noodzakelijkheid van continue aanvoer van Ca
- Effect op celstevigheid en hoe te meten

Vervolgens zijn er onderwerpen die zich meer op gewas c.q. teeltniveau bevinden.

2) Ca opname en distributie

- Effect van de wortelontwikkeling op de Ca-opname
- Inzicht in de waterhuishouding van de plant
- Vergelijking van rasgevoeligheid voor bladrandjes
- Vergelijking rasgevoeligheid voor botrytis infectie
- Inzicht in Ca-distributie in ruimte en tijd

3) Ca, weefselstevigheid en botrytis

- Non-destructief meten van weefselstevigheid
- Relatie stengel botrytis en bladranden bestuderen
- Relatie ABA, Ca en botrytis verder uitdiepen

6 Referenties

- Adams P. 1999.
Plant nutrition demystified. In: Proceedings of the International Symposium of Growing Media and Hydroponics. Acta Horticulturae 481: 341-344.
- Adams P, Ho LC. 1993.
Effects of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and on the incidence of blossom-end rot. Plant and Soil 154: 127-132.
- Adams P, Ho LC. 1995.
Uptake and distribution of nutrients in relation to tomato fruit quality. Acta Horticulturae 412: 374-386.
- Amtman A, Blatt MR. 2009.
Regulation of macronutrient transport. New Phytologist 181: 35-52.
- Aulbers A, Draaijer A, Oosterhuis G, Sanders J, Persoon S. 2010.
Onderzoek naar invloed warmte en spectrale effecten LED belichting. Eindrapportage Teeltseizoen 2009-2010, pp. 46.
- Bangerth F. 1979.
Calcium-related physiological disorders of plants. Annual Review of Phytopathology 17: 97-122.
- Bastias E, Alcaraz-Lopez C, Bonilla I, Carmen Martinez-Ballesta M. 2010.
Interactions between salinity and boron toxicity in tomato plants involve apoplastic calcium. Journal of Plant Physiology 167: 54-60.
- Beerling DJ, Franks PJ. 2010.
Plant science: The hidden cost of transpiration. Nature 464: 495-496.
- Berg van den, GA, Esmeijer MH, Nederhoff E, Rijdsdijk AA, Stapel-Cuypers LHM, Vermeulen PCM, Batta L, Eijk van J, Gaalen van C, Latour PAM, Lelie J, Noordermeer F, Ogink RAM, Blokpoel L, Schans van der R, Stijger HCM, Verveer J, Wijlens J. 1999.
CO₂ in de glastuinbouw. Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente Aalsmeer/Naaldwijk, 3e druk, pp. 126.
- Beyers T, Heyens K, Seels B, Vogels L, en Aerts R. 2010.
Botrytis cinerea in tomaat. Gewasbescherming 41: 214-218.
- Boer de HJ, Lammertsma EI, Wagner-Cremer F, Dilcher DL, Wassen MJ. 2011.
Climate forcing due to optimization of maximal leaf conductance in subtropical vegetation rising under CO₂. Proceedings of the National Academy of Sciences 108: 4041-4046.
- Bos van den A, Burg van der A, Goor van B. 1989.
Plantevoeding in de glastuinbouw-2e herz.uitg. Informatiereeks/Proefstation voor Tuinbouw onder Glas. pp. 218
- Chardonnet CO, Sams CE, Conway WS. 1999.
Calcium effect on the mycelial cell walls of *Botrytis cinerea*. Phytochemistry 52: 967-973.
- Curvers K, Seifi H, Mouille G, de Rycke R, Asselbergh B, Van Hecke A, Vanderschaeghe D, Höfte H, Callewaert N, Van Breusegem F, Höfte M. 2010.
Abscisic acid deficiency causes changes in cuticle permeability and pectin composition that influence tomato resistance to *Botrytis cinerea*. Plant Physiology 154: 847-860.
- Conn SJ, Gilliam M, Athman A, Schreiber AW, Baumann U, Moller I, Cheng N-H, Stancombe MA, Hirschi KD, Webb AAR, Burton R, Kaiser BN, Tyerman SD, Leigh RA. 2011.
Cell-specific vacuolar calcium storage mediated by CAX1 regulates apoplastic calcium concentration, gas exchange, and plant productivity in Arabidopsis. The Plant Cell 23: 240-257.
- Cosgrove DJ. 2001.
Wall structure and wall loosening. A look back and forwards. Plant Physiology 125: 131-134.
- Cosgrove DJ. 2005.
Growth of the plant cell wall. Nature Review Molecular & Cell Biology 6: 850-861.
- Deepak S, Shailasree S, Kini RK, Muck A, Mithöfer A, Shetty SH. 2010.
Hydroxyproline-rich glycoproteins and plant defence. Journal of Phytopathology 158: 585-593.

- Decreux A, Messiaen J. 2005.
Wall-associated kinase WAK1 interacts with cell wall pectines in a Ca induced formation. *Plant Cell Physiology* 46: 268-278.
- Derbyshire P, McCann MC, Roberts K. 2007.
Restricted cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyl is associated with a reduced average pectin esterification. *BMC Plant Biology* 7:3.
- Dieleman A, Gelder de A, Janse J, Eveleens B, Lagas P, Elings A, Qian T, Steenhuizen J, Biemans R. 2011.
Temperatuurstrategieën in geconditioneerde kassen. Intern rapport WUR glastuinbouw.
- Ferguson IB. 1984.
Calcium in plant senescence and fruit ripening. *Plant, Cell and Environment* 7: 477-489.
- Freitas de SG, Padda M, Wu Q, Park S, Mitcham EJ. 2011.
Dynamic alternations in cellular and molecular components during blossom-end rot development in tomatoes expressing sCAX1, a constitutively active Ca²⁺/H⁺ antiporter from *Arabidopsis*.
- Gilliam M, Dayod M, Hocking BJ, Xu B, Conn SJ, Kaiser BN, Leigh RA, Tyerman SD. 2011.
Calcium delivery and storage in plant leaves: exploring the link with water flow. *Journal of Experimental Botany* 62: 2233-2250.
- Hepler 2005.
Calcium: a central plant growth regulator of plant growth and development. *The plant cell* 17: 2142-2155.
- Heuvelink E., Kierkels T. 2010.
Plantkunde Onder glas, pp. 124.
- Ho LC, White PJ. 2005.
A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Annals of Botany* 95: 571-581.
- Kars I. 2010.
Hoe veroorzaakt *Botrytis* rot? *Gewasbescherming* 41: 245-247.
- Kerton M, Newbury HJ, Hand D, Pritchard J. 2009.
Accumulation of calcium in the centre of leaves of coriander (*Coriandrum sativum* L.) is due to an uncoupling of water and ion transport. *Journal of Experimental Botany* 60: 227-235.
- Köhl J, Visser de PHB, Wubben J. 2007.
Risico's op schimmelaantasting in vruchtgroenten: literatuurstudie. Rapportage van project: voorfase van onderzoeksprogramma Energie (LNV-DK-03-06), pp. 41.
- Kreij de, C. 1991.
Luchtvochtigheid, Ca en fosfaat bij tomaat. Proefstation voor tuinbouw onder glas te Naaldwijk. Intern verslag 35, pp. 23.
- Kreij de, C. 1993.
Calcium transport het meest beïnvloed. In: Proefstation voor Tuinbouw onder Glas/Proefstation voor de bloemisterij, Naaldwijk/Aalsmeer, Nederland. Luchtvochtigheid, informatiereeks 104: 36-37.
- Kreij de, C. 1996.
Bladrandjes bij tomaat 'trust'. Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente Vestiging Naaldwijk. Intern verslag 41, pp. 8.
- Marschner H. 1986.
Mineral Nutrition in Higher Plants. Academic Press, London.
- Martinez-Ballesta MC, Cabañero EO, Periago PM, Maurel C, Carvajal M. 2008.
Two different effects of Ca on aquaporins in salinity-stressed pepper plants. *Planta* 228: 15-25.
- 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 trichocarpa* x *P. deltoides*). *Journal of Experimental Botany* 57: 373-380.
- Muller K, Linkies A, Vreeburg AM, Fry SC, Krieger-Liszka A, Leubner-Metzger G. 2009.
In vivo wall loosening by hydroxyl radicals during cress seed germination and elongation growth. *Plant Physiology* 150: 1855-1865.

- Oirdi ME, El Rahman TA, Rigano L, El Hadrami A, Rodriguez MF, Daayf F, Vojnov A, Bouarab K. 2011.
Botrytis cinerea manipulates the antagonistic effects between immune pathways to promote disease development in tomato. *The Plant Cell* 23: 2405-2421.
- Pelloux J, Rustérucci C, Mellerowics EJ. 2007.
 New insights into pectin methylesterase structure and function. *Trends in Plant Science* 12: 267-277.
- Prins TW, Tudzynski P, Tiedemann A von, Tudzynski B, Have A ten, Hansen ME, Tenberge K, Kan JAL van. 2000.
 Infection strategies of *Botrytis cinerea* and related necrotrophic pathogens. In: *Fungal pathology* / J.W. Kronstad (ed.). - Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 2000. - ISBN 0-7923-6370-1.
- Raven PH, Evert R, Eichhorn SE. 1999.
 Biology of Plants, Sixth edition. Freeman, Worth. pp. 944
- Reed RC, Brady SR, Muday GK. 1998.
 Inhibition of auxin movement from shoot into the root inhibits lateral root development in Arabidopsis. *Plant Physiology* 118: 1369-1378.
- Ruijsenaars Y. 1986.
 Het effect van onderbreking van Ca-voeding bij tomaat (herfst, 1984). Proefstation voor de tuinbouw onder glas te Naaldwijk. Internverslag 25, pp. 12.
- Saure MC. 1998.
 Causes of the tipburn in leaves of vegetables. *Scientia Horticulturae* 76: 131-147.
- Seifert GJ, Blaukopf C. 2010.
 Irritable walls: the plant extracellular matrix and signalling. *Plant Physiology* 153: 467-478.
- Suzuki K, Shono M, Egawa Y. 2003.
 Localization of calcium in the pericarp cells of tomato fruits during the development of blossom-end rot. *Protoplasma* 222: 149-156.
- Sonneveld C, Voogt W. 1990.
 Response of tomatoes (*lycopersicon esculentum*) to an unequal distribution of nutrients in the root environment. *Plant and Soil* 245: 35-47.
- Sonneveld S, Voogt W. 2009.
 Plant nutrition of greenhouse crops. Springer, pp. 431.
- Sonneveld C, Welles GWH. 2005.
 Cation concentrations of plant tissues of fruit-vegetable crops as affected by the EC of the external nutrient solution and humidity. *Proceedings of the International Society on Soilless Cultivation and Hydroponics. Acta Horticulturae* 697: 377-382.
- Timmerman GJ, Kamp PGH. 2003.
 Kasklimaatregeling.
- Teyerman SD, Niemietz CM, Bramley H. 2002.
 Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, Cell and Environment* 25: 173-194.
- Van Os, E. *et al.* 2010.
 Bedrijfsvergelijking geeft inzicht in kansen op Botrytis bij gerbera in de na-oogstfase. *Gewasbescherming* 41: 227-231.
- Wang Y, Noguchi K, Terashima I. 2011.
 Photosynthesis-dependent and -independent responses of stomata to blue, red and green monochromatic light: differences between the normally oriented and inverted leaves of sunflower. *Plant Cell Physiology* 52: 479-489.
- Wei C, Lintilhac PM. 2008.
 Is the loss of stability theory a realistic concept for stress relaxation-mediated cell wall expansion during plant growth? *Plant Physiology* 147: 935-938.
- White PJ. 2001.
 The pathway of calcium movement to the xylem. *Journal of Experimental Botany*, 52: 891-899.
- White PJ, Broadley MR. 2003.
 Calcium in plants. *Annals of Botany* 92: 487-511.

- Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, van Kan JAL. 2007.
Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* 8: 561-580.
- Winship LJ, Obermeyer G, Geitmann A, Hepler PK. Under pressure, cell walls set the place. *Trends in Plant Science* 15: 363-369.
- Wolf S, Mouille G, Pelloux J. 2009.
Homogalacturonan methyl-esterification and plant development. *Molecular Plant* 2: 851-860.
- Woodward FI, Kelly CK. 1995.
The influence of CO₂ concentration on stomatal density. *New Phytologist* 131: 311-327.
- Zhu GL, Boyer JS. 1992.
Enlargement in chara studied with a turgor clamp: growth rate is not determined by turgor. *Plant Physiology* 100: 2071-80.

www.groentennieuws.nl

<http://www.hortinfo.nl/horti-index/>

