

Naar een verbetering van de CO₂ efficiëntie van glastuinbouwgewassen

Jan Snel & Anja Dieleman





Naar een verbetering van de CO₂ efficiëntie van glastuinbouwgewassen

Jan Snel & Anja Dieleman

© 2009 Wageningen, Wageningen UR Glastuinbouw

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



Ministerie van Landbouw, Natuur en
Voedselkwaliteit



Wageningen UR Glastuinbouw

Adres : Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB Wageningen
: Postbus 644, 6700 AP Wageningen
Tel. : 0317 - 48 60 01
Fax : 0317 - 41 80 94
E-mail : glastuinbouw@wur.nl
Internet : www.glastuinbouw.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1 Inleiding	3
1.1 Probleemstelling	3
1.2 Doelstelling	4
1.3 Afbakening	4
1.4 Opbouw	4
2 Conclusies en aanbevelingen	5
2.1 CO ₂ opname door het blad	5
2.2 Basisprocessen fotosynthese	6
2.2.1 Efficiëntie van de bladfotosynthese	7
2.2.2 Binding en verwerking van CO ₂	7
2.3 Afstemming CO ₂ met overige klimaatcondities	8
3 Geraadpleegde literatuur	13
Bijlage I. Vastlegging van CO ₂ in de fotosynthese	15 pp.
Bijlage II. Aanpassingen aan licht	4 pp.
Bijlage III. Het klimaat in de kas	2 pp.
Bijlage IV. CO ₂ afstemmen op andere factoren	6 pp.
Bijlage V. Analyse van fotosynthese	2 pp.

Samenvatting

Naar een verbetering van de CO₂ efficiëntie van glastuinbouwgewassen

Inleiding

In de glastuinbouw is CO₂ een belangrijke, stuurbare klimaatfactor. In veel teelten wordt gestreefd naar CO₂ concentraties van 700 tot 1000 ppm, een veelvoud van de CO₂ concentratie in de buitenlucht. In de meeste kassen is deze CO₂ 'gratis' beschikbaar omdat de CO₂ vrijkomt bij het verbranden van gas. Echter door de inzet van energiebesparende technieken wordt er minder gas gebruikt en is daardoor minder 'gratis' CO₂ beschikbaar. CO₂ uit alternatieve bronnen als OCAP CO₂ of zuivere CO₂ brengen extra kosten met zich mee. Daarom is het van belang te kijken naar de efficiëntie van de ingebrachte CO₂. Elke kilo CO₂ die in de kas gebracht wordt zou zoveel mogelijk rendement op moeten leveren, in termen van kg product, of tenminste de kosten op moeten brengen. Andere factoren die van belang zijn bij het doseren van CO₂ zijn de mogelijke verontreinigingen van rookgassen met schadelijke gassen als etheen of NO_x een rol. Telers zijn hierdoor geneigd op momenten dat ze de ramen gesloten houden bij voorkeur zuivere CO₂ te gebruiken om schade aan het gewas te voorkomen. Tenslotte bepaalt ook het feit dat de emissie van CO₂ uit kassen gereduceerd moet worden dat minder CO₂ gedoseerd kan worden. Al deze aspecten leiden er toe dat CO₂ in de glastuinbouw een schaars product wordt, waarvan de inzet zo efficiënt mogelijk geregeld moet worden.

Fotosynthese – opname van CO₂

In de fotosynthese wordt door de bladeren kooldioxide (CO₂) opgenomen en met behulp van lichtenergie omgezet in suikers (CH₂O), waarbij zuurstof (O₂) en waterdamp (H₂O) vrijkomen. De gevormde suikers vormen in de plant de bron van energie voor groei en onderhoud. De fotosynthese verloopt via een aantal stappen. De eerste stap is de opname van CO₂ vanuit de lucht en het transport naar de bladgroenkorrels in het blad. Deze opname is te verhogen door te zorgen voor voldoende luchtbeweging in de kas en voor een kasklimaat dat zodanig is dat de huidmondjes voldoende ver open staan om niet belemmerend te zijn voor de CO₂ opname.

Fotosyntheseprocess

In de bladgroenkorrels vinden de licht- en donkerreacties van de fotosyntheseplaats. In de lichtreacties wordt de lichtenergie omgezet in chemische energie. In de donkerreacties wordt met behulp van deze chemische energie de CO₂ vastgelegd en worden de suikers gevormd. Voor de lichtreacties is licht noodzakelijk, de donkerreacties kunnen zowel in het licht als in het donker plaatsvinden. Bij té veel licht is de efficiëntie van het transport van elektronen in het fotosysteem minder dan de maximale 85% (foto-inhibitie). Dat betekent dat schade door te veel licht voorkomen moet worden, door bijvoorbeeld op die momenten te schermen in de kas. Verder kan via veredeling gewerkt worden aan het ontwikkelen van rassen die weinig last hebben van foto-inhibitie of hiervan snel herstellen.

Fotosynthese van het gewas

Bij veel licht zal de fotosynthese van de bovenste bladeren lichtverzadigd raken. Om de gewasfotosynthese te optimaliseren is het van belang dat ook de lager gelegen bladlagen een hoge fotosynthesesnelheid hebben. Dit is te realiseren door te zorgen voor een goede lichtverdeling in het gewas, waarbij ook de lager gelegen bladlagen voldoende licht ontvangen en het afstemmen van de overige klimaatfactoren (CO₂ concentratie, temperatuur en luchtvochtigheid) op de lichthoeveelheid. Door de ventilatieramen meer gesloten te houden gedurende de dag is met eenzelfde aantal kilo's gedoseerd CO₂ een hogere CO₂ concentratie in de kas te bereiken, en daarmee een hogere fotosynthese. Het ontwikkelen van sensoren en modellen om deze kennis in de klimaatregeling te implementeren kan helpen om optimaal gebruik te maken van de beschikbare hoeveelheid CO₂ in de glastuinbouw. In onderstaande tabel is een overzicht gegeven van de belangrijkste maatregelen ter verbetering van de efficiëntie van CO₂, hun

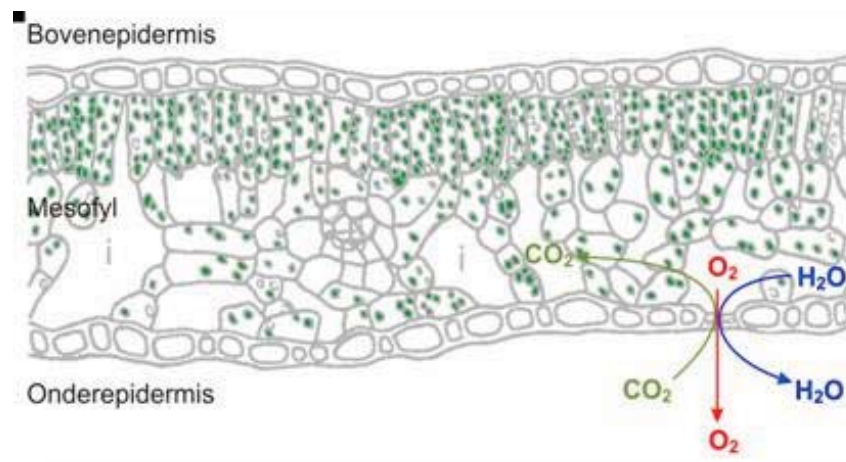
geschatte effect (procentuele toename ten opzichte van de huidige situatie) en de periode waarop deze maatregelen gerealiseerd zouden kunnen zijn.

Maatregel	Geschat effect	Tijdshorizon
<i>Teelt</i>		
Verlagen van de grenslaagweerstand door voldoende luchtbeweging	2-5%	2-5 jaar
Huidmondjes voldoende ver open door voorkomen lage luchtvochtigheden en onvoldoende watervoorziening	2-5%	2-5 jaar
Fotosynthesecapaciteit van bladeren op peil houden door betere lichtverdeling binnen gewas	2-10%	2-10 jaar
Vermindering foto-inhibitie door schermen	2-5%	1-3 jaar
Afstemming CO ₂ dosering op behoefte gewas, lichtintensiteit en temperatuur	5-20%	2-5 jaar
<i>Kennisontwikkeling</i>		
Kwantificeren van kritische fotosynthese processen tijdens de dag en gedurende de teelt	5-20%	3-5 jaar
Sensoren en modellen voor kritische processen fotosynthese	2-5%	2-4 jaar
Telen onder laag zuurstof als alternatief voor onderdrukking fotorespiratie	10-20%	3-5 jaar
Verbetering fotosynthese door voeding met NH ₄	1-5%	2-5 jaar
Allocatie van assimilaten	5-10%	2-5 jaar
<i>Veredeling</i>		
Gewassen met efficiëntere Rubisco	15-30%	>8 jaar
Introductie C4 fotosynthese	10-20%	>10 jaar
Sneller herstel van foto-inhibitie	5-10%	5-10 jaar

1 Inleiding

1.1 Probleemstelling

Fotosynthese in planten is niet alleen belangrijk in de tuinbouw, maar fotosynthese vormt ook de basis voor het leven op aarde. Planten nemen kooldioxide (CO_2) op en geven zuurstof (O_2) en waterdamp (H_2O) af en produceren biomassa uit CO_2 , water en zonlicht. Planten vormen een belangrijke CO_2 sink en zijn daarmee belangrijk voor het handhaven van ons huidige klimaat op aarde. De fotosynthese vindt plaats in de bladgroenkorrels in de cellen van bladeren. De uitwisseling van de gassen CO_2 , O_2 en waterdamp tussen de bladgroenkorrels en de lucht vindt plaats via kleine, regelbare openingen in het blad, de huidmondjes (Figuur 1).



Figuur 1. Gaswisseling in een blad. De dwarsdoorsnede toont de verschillende weefsels en cellen met de (groene) bladgroenkorrels. De fotosynthese vindt plaats in de bladgroenkorrels. De voor de fotosynthese benodigde CO_2 komt via de geopende huidmondjes binnen. Tegelijkertijd verliest het blad water en zuurstof. De uitwisseling van CO_2 , water(damp) en zuurstof wordt gereguleerd door het openen of sluiten van de huidmondjes.

Voor de glastuinbouw is CO_2 een belangrijke, stuurbare klimaatfactor. In veel teelten wordt gestreefd naar CO_2 concentraties van 700 tot 1000 ppm, een veelvoud van de CO_2 concentratie in de buitenlucht. In de nieuwe kasconcepten en met behulp van technieken die recent ontwikkeld zijn, kan het kasklimaat nog veel beter gestuurd en veel constanter gehouden worden. Voorbeelden zijn de (semi)gesloten kassen waarin ook in de zomer CO_2 en luchtvochtigheid langdurig op een hoger niveau gehouden kunnen worden, hetgeen remming van CO_2 opname door sluiting van huidmondjes door een te lage luchtvochtigheid voorkomt. Deze nieuwe mogelijkheden leiden er toe dat er in de zomer minder geventileerd wordt, waardoor het CO_2 gehalte in deze kassen beter te sturen is dan in traditionele open kassen. Wanneer er verwarmd moet worden, kan warm water opgepompt worden uit de aquifer waardoor veel minder gebruikt gemaakt van fossiele brandstoffen, maar waardoor er ook minder 'gratis' CO_2 beschikbaar is. Verder spelen ook mogelijke verontreinigingen van rookgassen met schadelijke gassen als etheen of NO_x een rol. Telers zijn hierdoor geneigd op momenten dat ze de ramen gesloten houden bij voorkeur zuivere CO_2 te gebruiken om schade aan het gewas te voorkomen. Tenslotte bepaalt ook het feit dat de emissie van CO_2 uit kassen gereduceerd moet worden dat minder CO_2 gedoseerd kan worden.

Al deze aspecten leiden er toe dat CO_2 in de glastuinbouw een schaars product wordt, waarvan de inzet zo efficiënt mogelijk geregeld moet worden. In deze inventarisatie wordt beschreven op welke wijze de plant CO_2 opneemt en verwerkt. Op basis hiervan worden aanbevelingen gedaan om ook bij lagere CO_2 doseercapaciteiten de fotosynthese, en daarmee groei en productie op niveau te houden.

1.2 Doelstelling

De doelstellingen van dit project zijn:

- Inzicht verkrijgen in de processen die een rol spelen bij de opname en verwerking van CO₂ door de plant en hoe deze te beïnvloeden zijn.
- Inzicht verkrijgen in de wijze waarop overige klimaatfactoren (temperatuur, luchtvochtigheid en licht) een rol spelen bij de opname en verwerking van CO₂ door de plant.
- Aanbevelingen doen voor een efficiëntere benutting van CO₂ in de kas, zodanig dat met een lagere CO₂ doseercapaciteit evenveel assimilaten gevormd kunnen worden. Daarbij wordt aangegeven wat nu al haalbaar is om CO₂ efficiënter te benutten, waar de mogelijkheden op korte en middellange termijn liggen en welke barrières er zijn om deze optimale benutting te realiseren.

1.3 Afbakening

In deze studie wordt een gedetailleerde beschrijving van een aantal belangrijke deelprocessen van de fotosynthese op chloroplast- en celniveau gegeven. Kennis van deze processen is belangrijk om, gegeven de klimaatsituatie in de kas, de beschikbare CO₂ via fotosynthese zo efficiënt mogelijk vast te kunnen leggen en zo weinig mogelijk CO₂ te verliezen via emissie. Tot nu toe is er maar weinig fundamenteel onderzoek uitgevoerd naar fotosynthese in glastuinbouwgewassen. Daarom zal noodzakelijkerwijs vaak verwezen worden naar resultaten en inzichten behaald met andere plantensoorten, geteeld onder andere omstandigheden. De beschrijving van de fotosyntheseprocessen zal ingepast worden in resultaten uit eerdere onderzoeken waarin effecten van CO₂ op groei en productie van glastuinbouwgewassen beschreven zijn.

In het rapport staan regelmatig omkaderde stukjes tekst opgenomen. Dit zijn punten die direct volgen uit de beschrijving van het fotosyntheseproces en die mogelijke verbeterpunten of aandachtsgebieden aangeven op het gebied van het verbeteren van de efficiëntie van CO₂ in de glastuinbouw. In het hoofdstuk Conclusies en aanbevelingen wordt op deze omkaderde stukjes tekst teruggekomen.

1.4 Opbouw

Het rapport bevat veel gedetailleerde informatie over het fotosyntheseproces. Die informatie is nodig om de aanbevelingen te onderbouwen en de lezer inzicht te geven in de achtergronden van de aanbevelingen. Een veelheid van details kan echter ook de aandacht afleiden. We hebben daarom gekozen voor een opzet met een korte inleiding waarin de problematiek kort beschreven wordt en daarna de aanbevelingen en conclusies. De onderbouwing van de aanbevelingen en de achtergrondinformatie is beschreven in de bijlagen.

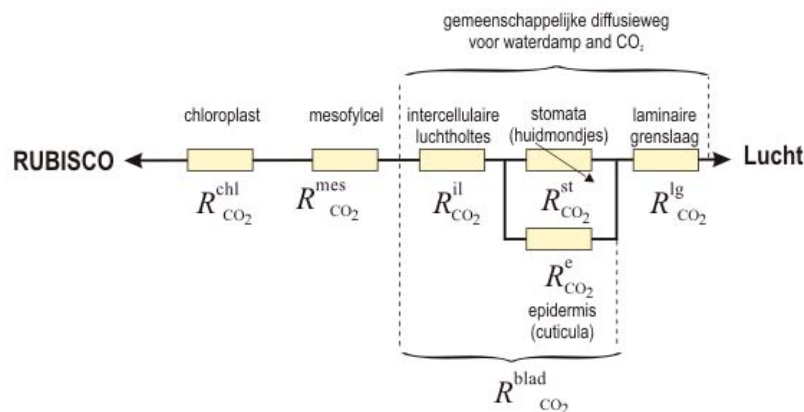
2 Conclusies en aanbevelingen

In de fotosynthese wordt CO_2 in aanwezigheid van water (H_2O) met behulp van lichtenergie omgezet in suikers ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), waarbij zuurstof (O_2) vrijkomt. De gevormde suikers vormen in de plant de bron van energie om vanuit nutriënten het complexe geheel van alle stoffen in de plant op te bouwen.

Uit dit overzicht over de kennis die aanwezig is over de fotosynthese blijkt dat er weliswaar veel kennis is over de verschillende fotosyntheseprocessen, maar dat er verhoudingsgewijs weinig bekend is over deze processen in tuinbouwgewassen onder Nederlandse praktijkomstandigheden. Dit onderzoek heeft een aantal aanbevelingen opgeleverd om de efficiëntie van toegediend CO_2 in de Nederlandse glastuinbouw te verbeteren. Deze aanbevelingen staan in dit hoofdstuk genoemd.

2.1 CO_2 opname door het blad

De binding van CO_2 vindt plaats in de chloroplast. De CO_2 moet dus vanuit de lucht rondom het blad naar de chloroplast getransporteerd worden. De diffusie van CO_2 van lucht naar chloroplast wordt bepaald door het concentratieverschil in CO_2 tussen luchtholtes in het blad en de buitenlucht, en de totale diffusieweerstand R . R bestaat uit een aantal componenten die te maken hebben met de verschillende fysieke structuren van het blad. Onderweg van de buitenlucht naar de chloroplast komt een CO_2 molecuul de volgende barrières (weerstanden) tegen: laminaire luchtlaag vlak bij het blad (grenslaag), bladepidermis met cuticula en huidmondjes, intercellulaire luchtholtes, mesofylcel en uiteindelijk de chloroplast in de mesofylcel. Het diffusiemodel is weergegeven in Figuur 2.



Figuur 2. Diffusiemodel voor uitwisseling van CO_2 tussen Rubisco in de chloroplast en de vrije lucht in de kas.

De diffusiewegen in de laminaire grenslaag, de huidmondjes en de intercellulaire luchtholtes zijn gelijk voor CO_2 en waterdamp (H_2O). Er bestaat dan ook een vaste relatie tussen de weerstand voor diffusie van CO_2 en H_2O in lucht. Deze wordt bepaald door de diffusiecoëfficiënten van CO_2 en H_2O . Voor H_2O is dat de tevens de totale diffusieweg. De diffusie van CO_2 gaat door tot aan het enzym Rubisco binnenin de chloroplast. Dat deel van de diffusie gaat in een waterige fase. De weerstand wordt niet alleen bepaald door de diffusiecoëfficiënt voor CO_2 in water, maar ook de oplosbaarheid van CO_2 in water en de permeabiliteit van de celwand en van de cel- en de chloroplastmembranen.

Aanbeveling: verlagen van de grenslaagweerstand vergemakkelijkt de opname van CO₂ door het blad (zie Bijlage I, paragraaf I.2.1).

De grenslaag is een dunne laag laminair stromende lucht rond het blad, die een weerstand vormt voor de opname van CO₂ door het blad. Naarmate de grenslaag dikker is, is de weerstand groter en wordt de opname van CO₂ door het blad bemoeilijkt. De grenslaagweerstand is afhankelijk van de bladmorphologie, de luchtsnelheid langs het blad en de mate van turbulentie. De luchtsnelheid langs het blad is afhankelijk van de luchtsnelheid in de kas en de structuur van het gewas. De mate van turbulentie hangt af van de luchtsnelheid en de morfologie van het blad. In een open gewas met kleine bladeren met een glad oppervlak zal de grenslaagweerstand lager zijn dan in een gewas met behaarde bladeren met een onregelmatig oppervlak. Om de grenslaagweerstand te overwinnen zal gezorgd moeten worden voor een voldoende hoge CO₂ concentratie, om de grenslaagweerstand te verlagen is een open gewas en voldoende luchtbeweging in de kas nodig.

Aanbeveling: de huidmondjes moeten voldoende ver open staan om niet beperkend te zijn voor de CO₂ opname (zie Bijlage I, paragraaf I.2.2).

CO₂ komt het blad binnen via de huidmondjes. De openingstoestand van de huidmondjes wordt bepaald door de CO₂ concentratie in de kaslucht en de CO₂ concentratie in de sub-stomataire holte, door lichtintensiteit en luchtvochtigheid en door plantenhormonen, met name abscissinezuur. In een 'gewoon' kasklimaat is over het algemeen de openingstoestand van de huidmondjes niet beperkend voor de fotosynthese. Echter, bij extreme omstandigheden als een erg lage luchtvochtigheid van de kaslucht kunnen de huidmondjes zo ver sluiten dat de fotosynthese hierdoor beperkt wordt. Dergelijke omstandigheden moeten worden voorkomen in de kas.

Aanbeveling: verlaging van de mesofylweerstand kan de opname van CO₂ verbeteren (zie Bijlage I, paragraaf I.2.3).

Bij volledig geopende huidmondjes is de mesofylweerstand een belangrijke beperkende factor. Het verlagen er van kan de opname van CO₂ verbeteren. Dit kan o.a. bereikt worden door kleinere mesofylcellen, plattere chloroplasten die vlak tegen de celwand liggen en mogelijk door enzymen die de diffusie van CO₂ in de cel kunnen versnellen (o.a. carbonic anhydrase). Deze aanpassingen zullen voornamelijk via veredeling tot stand moeten komen.

2.2 Basisprocessen fotosynthese

De fotosynthese vindt plaats in de chloroplasten van groene bladeren en kan samengevat worden als de productie van suiker en zuurstof uit water en kooldioxide. Dit proces is alleen mogelijk als er energie ingestopt wordt in de vorm van (zon)licht.

Fotosynthese kan onderverdeeld worden in licht- en donkerreacties. Lichtreacties is een verzamelnaam voor een reeks processen die begint bij de absorptie van licht en resulteert in de productie van chemische energie. In planten wordt lichtenergie geabsorbeerd en door de antennepigmenten, die in aangeslagen toestand raken, overgebracht naar de reactiecentra. Hier vindt de primaire fotochemie plaats in fotosysteem II (PSII), waar onder invloed van de aangevoerde lichtenergie water gesplitst wordt en elektronen vrij komen. Bij het splitsen van water worden zuurstof (O₂) en waterstofionen (H⁺) gevormd. De vrijgekomen elektronen worden in PSII via een elektronentransportketen naar fotosysteem I (PSI) overgebracht. Lichtenergie uit de antenne pigmenten wordt hier gebruikt om uiteindelijk chemische energie, in de vorm van NADPH, te produceren. Tijdens het transport van de elektronen door de elektronentransportketen tussen PSII en PSI worden er ook H⁺ overgebracht, waardoor er een accumulatie van H⁺ plaatsvindt, waardoor een elektrochemisch potentiaal verschil ontstaat. Dit is de basis voor de vorming van meer chemische energie, ATP, door een ATP-ase. Zowel NADPH als ATP kunnen worden gebruikt in de donkerreacties.

In de donkerreacties vindt er, met behulp van de chemische energie die door de lichtreacties is gevormd de carboxylatiereactie van Rubisco plaats, waardoor er CO₂ gefixeerd wordt en suikers gevormd kunnen worden. In het algemeen wordt aangenomen dat de lichtreacties weinig afhankelijk zijn van de temperatuur. De donkerreacties, met name de vastlegging van CO₂, zijn daarentegen sterk temperatuurafhankelijk.

In de meeste tuinbouwgewassen vinden de licht- en donkerreacties overdag in het licht plaats. Een uitgebreide beschrijving van de basisprocessen van de fotosynthese zijn te vinden in Bijlage I.

2.2.1 Efficiëntie van de bladfotosynthese

De maximale efficiëntie van het elektrontransport van fotosysteem II bedraagt ca 85%. Deze waarde wordt alleen in het donker bereikt. In het licht is de efficiëntie lager; hoeveel lager is afhankelijk van licht en het verbruik van energie (NADPH en ATP) in de donkerreacties. Er zijn drie processen betrokken bij deze verlaging van de efficiëntie: i) fotochemische doving (q_p), ii) niet-fotochemische doving (NPQ), en iii) Fotoinhibitie (verlaging van de maximale fotosynthese capaciteit, verlaging van F_v/F_m). Bij normale temperaturen (15-35°C) is het electrontransport niet beperkend voor de fotosynthese.

Aanbeveling: Monitor q_p en NPQ om de efficiëntie van fotosynthese te bewaken en schade te voorkomen (zie Bijlage I, paragraaf I.3.1.1).

Als de q_p lager dan 0.8 wordt, dan is er kans op schade door oxidatieve stress. Dan zijn maatregelen nodig zoals stimulering van de fotosynthese (bv. extra CO_2 en/of hogere temperatuur) of beperking van de lichtintensiteit (bv. schermen). De grootte van de schade door te lage q_p is gewas- en cultivarafhankelijk en lastig in te schatten voor de Nederlandse situatie. Het effect is het grootst bij lichtgevoelige potplanten waar bijvoorbeeld schade door chlorose (bleking) een rol speelt. Een hoge NPQ leidt ook tot verlaging van de fotosynthese, maar een korte periode met hoge NPQ kan nodig zijn om fotoinhibitie en oxidatieve stress te voorkomen. Op dit moment is apparatuur beschikbaar waarmee de q_p en NPQ van bladeren gemonitord kan worden (o.a. Plantivity van Hoogendoorn en Growwatch van Grow Technology). Verlagen van belichting en/of schermen zal de kans op oxidatieve stress en fotoinhibitie verminderen.

Aanbeveling: voorkom fotoinhibitie door te schermen bij tijdelijke hoge lichtintensiteiten (zie Bijlage I, paragraaf I.3.1.1).

Foto-inhibitie is te voorkomen door bij hoge lichtintensiteiten gebruik te maken van de schermen. Met het sluiten van de schermen wordt weliswaar foto-inhibitie bij de bovenste bladeren van het gewas voorkomen, maar tegelijk wordt de beschikbare hoeveelheid licht voor de lager gelegen bladeren minder. Het is niet zondermeer duidelijk wat het netto effect hiervan op de gewasfotosynthese is. Hiervoor zijn modelberekeningen noodzakelijk.

Aanbeveling: ontwikkel rassen met sneller herstel van fotoinhibitie (zie Bijlage I, paragraaf I.3.1.1).

Er is genetische variatie in herstel van fotoinhibitie. Fotoinhibitie kan gemeten worden. In veredelingsprogramma's zou (herstel van) fotoinhibitie meegenomen moeten worden als belangrijke gewaseigenschap.

2.2.2 Binding en verwerking van CO_2

Het enzym Rubisco katalyseert de binding van CO_2 aan de suiker ribulose 1,5-bisfosfaat. Echter, CO_2 bindt relatief slecht aan het enzym Rubisco en bovendien bindt O_2 op dezelfde bindingsplaats veel beter. Wanneer O_2 bindt, wordt deze omgezet en komt CO_2 vrij, een proces genaamd fotorespiratie ('ademhaling in het licht'). Onder normale atmosferische condities (20% O_2 en 350 ppm CO_2) kan fotorespiratie bij C3 planten tot aanzienlijke verliezen in CO_2 assimilatie leiden. Schattingen lopen uiteen van 20-30%. Bij hogere temperaturen bindt de O_2 beter aan Rubisco en wordt de fotorespiratie gestimuleerd. Dat is ook het geval bij waterstress, waarbij de huidmondjes sluiten en de interne CO_2 concentratie daalt en daarmee het evenwicht in de binding van CO_2 en O_2 door Rubisco verschuift in de richting van O_2 kan dit verlies oplopen tot 50% of meer. Fotorespiratie is echter een essentieel proces in de plant. Veel fotorespiratiemutanten bij Arabidopsis zijn alleen onder verhoogd CO_2 levensvatbaar. Volledige onderdrukking van fotorespiratie is dus ongewenst, maar hoeveel fotorespiratie nodig is voor een gezonde plant is niet bekend.

Aanbeveling: verlaag de hoeveelheid fotorespiratie door het verhogen van de CO_2 concentratie en/of verlaging van de O_2 concentratie in de kaslucht (zie Bijlage I, paragraaf I.3.3).

Bij hogere CO_2 concentraties, zoals in de glastuinbouw gebruikelijk, is de fotorespiratie al aanzienlijk lager door de hogere interne CO_2 concentratie. Een alternatieve methode om de fotorespiratie te onderdrukken in gesloten kassen is het verlagen van O_2 concentratie in de lucht. Dat heeft natuurlijk wel consequenties voor de mensen (en ziekten, plagen en biologische bestrijders) in de kas. Bij kassen die ingedeeld zijn in gescheiden compartimenten en verwerkingsruimtes zou het mogelijk kunnen zijn dat in de compartimenten waarin op dat moment geen teelt- of

oogsthandelingen plaatsvinden de O_2 concentratie te verlagen, terwijl dat in compartimenten waar gewerkt wordt niet gebeurt.

Aanbeveling: verlaag de hoeveelheid fotorespiratie door het veredeling van gewassen met betere Rubisco (zie Bijlage I, paragraaf I.3.3).

Er bestaat genetische variatie voor belangrijke eigenschappen van Rubisco. Bij heersende CO_2 kan mogelijk een 25% verlaging van de fotorespiratie bereikt worden door betere Rubisco te gebruiken. Op dit moment zijn geen data voorhanden over variatie in Rubisco binnen de belangrijke glasgroenten. Als die variatie er wel is, kunnen door klassieke veredeling cultivars met betere Rubisco ontwikkeld worden. Als die variatie voor Rubisco er niet is, kan door een GMO aanpak de gewenste Rubisco ingebracht worden.

Aanbeveling: verlaag de hoeveelheid fotorespiratie door het veredeling van gewassen met C4 fotosynthese (zie Bijlage I, paragraaf I.3.3).

In C4 fotosynthese zorgt een CO_2 concentratiemechanisme (een soort CO_2 pomp) voor een hoge CO_2 concentratie in dat deel van het blad waar de CO_2 gebonden wordt door Rubisco. Daardoor wordt de fotorespiratie onderdrukt en hebben C4 gewassen een veel hogere fotosynthese, met name bij hogere temperaturen. Ontwikkeling van C4 tuinbouwgewassen zou de behoefte aan CO_2 flink kunnen doen dalen, zonder productie in te leveren. Voor zover bekend zou hiervoor een GMO aanpak nodig zijn.

Aanbeveling: onderzoek de mogelijkheden om met NH_3 voeding het gewas te optimaliseren (zie Bijlage I, paragraaf I.3.4).

Gebruik van NH_3 (is licht toxisch voor planten) leidt tot kleinere bladeren, groeiremming en kleinere wortels. De maximale fotosynthese per cm^2 blad gaat echter omhoog. Bij hoge CO_2 concentratie kan dat een tot een toename in gewasfotosynthese leiden (Guo 2007).

Aanbeveling: voorkom ophoping van suikers in het blad en daarmee remming van de fotosynthese (feedback inhibitie) (zie Bijlage I, paragraaf I.3.5).

'Paarse koppen' zijn een bekend fenomeen in de belichte tomatenteelt. Het heeft te maken met verhoogde anthocyaanvorming gestimuleerd door suikers in de kop en treedt op als de in de fotosynthese geproduceerde suikers niet voldoende afgevoerd kunnen worden naar de sinks. Hierdoor ontstaat ook een negatieve feedback op de fotosynthese. Als de paarse koppen optreden is de belichting minder efficiënt. De tuinder kan dan kiezen voor een strategie waarbij de belichting verminderd wordt of waarbij de afvoer naar de sinks verhoogd wordt door hogere (nacht)temperaturen. De ophoping van suikers kan naar verwachting maar in beperkte mate gestuurd worden door klimaatomstandigheden. Daarom zal er ook aandacht besteed moeten worden aan de mogelijkheden die het veranderen van morfologie van de plant (zoals de architectuur van het floeem en xyleem) en verhoogde opslagcapaciteit van wortels kunnen bieden.

2.3 Afstemming CO_2 met overige klimaatcondities

Voor een optimale benutting van de CO_2 in de kas, zal de CO_2 dosering afgestemd moeten worden op de overige klimaatomstandigheden.

Aanbeveling: Verhoog de CO_2 concentratie in afhankelijkheid van de lichtintensiteit in de kas (zie Bijlage IV, paragraaf IV.1).

De fotosynthese van een blad neemt toe met toenemende lichtintensiteit, totdat licht niet meer beperkend is. Dan bereikt de fotosynthese een maximum, dat verder verhoogd kan worden door bijvoorbeeld de CO_2 concentratie te verhogen. Het effect van een hogere CO_2 concentratie op de fotosynthese is hoger naarmate de lichtintensiteit hoger is. In traditionele open kassen is dit een CO_2 strategie die moeilijk toe te passen is. Immers, met hoge instraling loopt de temperatuur in de kas al snel op naar niveaus die hoger zijn dan gewenst. Er zal dan geventileerd worden, waardoor er veel CO_2 via de ramen naar buiten verdwijnt. In de praktijk wordt de tendens waargenomen dat er concessies gedaan worden aan de temperatuur ten behoeve van de CO_2 concentratie.

Aanbeveling: Hou de fotosynthesecapaciteit van bladeren intact kas (zie Bijlage IV, paragraaf IV.1).

In een aantal glastuinbouwgewassen loopt gedurende de teelt de hoeveelheid blad sterk op. In bijvoorbeeld paprika, kan de LAI (leaf area index, m² blad per m² grondoppervlak) aan het einde van het teeltseizoen oplopen tot 8. Onder die omstandigheden onderscheppen de bovenste bladeren bijna al het licht, waardoor de lager gelegen bladeren nauwelijks meer licht ontvangen. Zij ontwikkelen zich dan van 'zonnebladeren' tot 'schaduwbladeren' die niet meer efficiënt gebruik kunnen maken van hoge lichtintensiteiten. Door een kasdek materiaal of scherm te gebruiken dat invallend licht (meer) diffuus maakt, of door aanpassingen in rijstructuur of gewasarchitectuur, kan licht dieper in het gewas doordringen. Bij komkommer leidde dit tot meer lichtonderschepping door de middelste bladlagen, tot een hogere fotosynthesesnelheid bij een vaste hoeveelheid licht en een hogere productie door het gewas.

Aanbeveling: stem de temperatuur gedurende de dag af op de heersende lichthoeveelheid en de etmaaltemperatuur op de lichtsom kas (zie Bijlage IV, paragraaf IV.1).

Er bestaat een interactie tussen de temperatuur, de lichtintensiteit en de CO₂ concentratie met betrekking tot de netto fotosynthesesnelheid. Uit fotosynthesemetingen en berekeningen met een groeimodel blijkt dat de netto fotosynthesesnelheid bij lage lichtintensiteiten afneemt met toenemende temperatuur. Bij temperaturen boven de 30 °C is de ademhaling zo hoog dat de netto fotosynthese zelfs negatief wordt bij 100 μmol m⁻² s⁻¹ licht. Naarmate de lichtintensiteit toeneemt, verschuift het optimum van de fotosynthesecurve naar hogere temperaturen. Het effect van temperatuur op gewasfotosynthese is minder sterk dan op de fotosynthese van de bladeren uit de bovenste bladlaag. Dit heeft er mee te maken dat de lager gelegen bladlagen minder licht ontvangen, en dus een lager temperatuuroptimum hebben. Na een zonnige dag moet de temperatuur gedurende de nacht hoog genoeg zijn om de overdag opgeslagen zetmeel in de chloroplasten om te zetten in suikers en deze te exporteren naar de vruchten om de volgende dag te voorkomen dat er remming van de fotosynthese optreedt door feedback inhibitie van de nog aanwezige zetmeel en suikers.

Aanbeveling: Door met een model een optimale doseerstrategie voor CO₂ te berekenen, kan per kilo gedoseerd CO₂ een hogere fotosynthese gerealiseerd worden kas (zie Bijlage IV, paragraaf IV.3).

In een kas hangen lichtintensiteit, temperatuur, CO₂ concentratie en luchtvochtigheid samen. Als er veel licht is zal het in de kas al gauw zo warm worden dat de ramen open moeten. De beschikbare CO₂ doseercapaciteit is dan al gauw niet meer voldoende om een hoge concentratie te handhaven. Gecombineerd met het gegeven dat het gewas een bepaalde optimale temperatuur voor de fotosynthese heeft, ontstaat er dan een tegenstrijdigheid tussen de wens om een hogere concentratie aan te houden (en dus minder te ventileren) en een gunstige temperatuur (meer ventileren). Als ook nog wordt meegenomen dat het doseren op het ene moment invloed heeft op de hoeveelheid CO₂ die op een ander moment kan worden gedoseerd wordt het probleem nog complexer. Er is immers op dagbasis een beperkte hoeveelheid CO₂ en door middel van de buffer-vulcurve heb je als tuinder invloed op de periode waarin de meeste CO₂ wordt toegediend. Hierbij moet dan een afweging worden gemaakt of het doseren midden op de dag, waarbij veel CO₂ verloren gaat door de geopende ramen, toch efficiënter is dan doseren aan het begin of einde van de lichtperiode. In die randen van de dag blijft de concentratie hoger, maar is de lichtintensiteit lager. Met een simulatiemodel, waarin effect van CO₂ op fotosynthese en verliezen door ventilatie meegenomen worden, kan een optimale doseerstrategie bepaald worden, waarbij elke kilo gedoseerd CO₂ zoveel mogelijk rendement op levert. Een dergelijk model is beschikbaar (CO₂ viewer) en te downloaden via www.glastuinbouw.wur.nl.

Aanbeveling: door de ventilatieramen (meer) gesloten te houden wordt met dezelfde kilo's gedoseerd CO₂ een hogere fotosynthese bereikt kas (zie Bijlage IV, paragraaf IV.3).

In de jaren negentig is een teeltconcept ontwikkeld voor de glastuinbouw waarin de kas 'volledig' gesloten werd. Kenmerk van de gesloten kas is dat er een klimaat gerealiseerd kan worden dat onafhankelijk is van het buitenklimaat, met uitzondering van de factor licht. Met behulp van verwarming, koeling, ontvochtiging en CO₂ dosering kunnen temperatuur, luchtvochtigheid en CO₂ concentratie in de kas naar de wensen van de teler gerealiseerd worden. Door in de zomer een deel van de warmte van de zon te oogsten, dit op te slaan en in de winter te gebruiken biedt dit concept grote mogelijkheden tot reductie van het gebruik van fossiele energie. In dit concept kan het kasklimaat volledig op de behoeften van het gewas afgestemd worden. Naast de gesloten kas zijn ook semigesloten kasconcepten ontwikkeld, die niet volledig gesloten zijn, maar waarin wel veel minder geventileerd wordt dan in open kassen. In de (semi) gesloten kassen is de efficiëntie van elke kilo gedoseerde CO₂ hoog, omdat het verlies van CO₂ door ventilatie veel lager is dan in open kassen.

Aanbeveling: ontwikkel kennis, sensoren en fysiologische modellen om de CO₂ benutting door het gewas te optimaliseren.

Er is voor tuinbouwgewassen (nog) geen goed inzicht in het verloop van de belangrijke deelprocessen van de fotosynthese over de dag en gedurende de teelt. Ontwikkeling van kennis, sensoren en fysiologische modellen is essentieel om in de toekomst de CO₂ in de teelt nog optimaler in te kunnen zetten. Op dit moment bestaan er al methoden voor het bepalen van de efficiëntie van de CO₂ opname door het gewas via het analyseren van de fotosynthese. Hiermee kunnen o.a. de volgende processen geanalyseerd worden: beperkende factoren in de fotosynthese, balans tussen source en sink en schade door foto-inhibitie. Daarvoor zijn nu nog externe deskundigen nodig om deze metingen op een bedrijf uit te voeren. Naar de toekomst toe is het nodig sensoren te ontwikkelen die online de kritische processen van de fotosynthese geautomatiseerd kunnen meten, om zodoende in de teelt continu te kunnen sturen op een optimale efficiëntie van het gebruik van CO₂. Tot nu toe worden deze metingen voornamelijk op bladniveau gedaan. Om de teeltomstandigheden te optimaliseren op basis van de gewasfotosynthese, zou het wenselijk zijn direct een goede meting te hebben van de fotosynthese van het hele gewas.

Bovenstaande aanbevelingen zijn samengevat in Tabel 1.

Tabel 1. Overzicht van maatregelen ter verbetering van de CO₂ efficiëntie van de fotosynthese, hun geschatte effect en de tijdshorizon van mogelijke realisatie. Het effect is uitgedrukt als procentuele toename in fotosynthese ten opzichte van huidige situatie. De effecten en de tijdshorizon zijn schattingen gebaseerd op (combinaties van) fragmentarisch onderzoek aan verschillende soorten onder verschillende condities en niet meer dan indicatief.

Maatregel	Geschat effect	Tijdshorizon
<i>Teelt</i>		
Verlagen van de grenslaagweerstand door voldoende luchtbeweging	2-5%	2-5 jaar
Huidmondjes voldoende ver open door voorkomen lage luchtvochtigheden en onvoldoende watervoorziening	2-5%	2-5 jaar
Fotosynthesecapaciteit van bladeren op peil houden door betere lichtverdeling binnen gewas	2-10%	2-10 jaar
Vermindering foto-inhibitie door schermen	2-5%	1-3 jaar
Afstemming CO ₂ dosering op behoefte gewas, lichtintensiteit en temperatuur	5-20%	2-5 jaar
<i>Kennisontwikkeling</i>		
Kwantificeren van kritische fotosynthese processen tijdens de dag en gedurende de teelt	5-20%	3-5 jaar
Sensoren en modellen voor kritische processen fotosynthese	2-5%	2-4 jaar
Telen onder laag zuurstof als alternatief voor onderdrukking fotorespiratie	10-20%	3-5 jaar
Verbetering fotosynthese door voeding met NH ₄	1-5%	2-5 jaar
Allocatie van assimilaten	5-10%	2-5 jaar
<i>Veredeling</i>		
Gewassen met efficiëntere Rubisco	15-30%	>8 jaar
Introductie C4 fotosynthese	10-20%	>10 jaar
Sneller herstel van foto-inhibitie	5-10%	5-10 jaar

Dit project is uitgevoerd met als doel inzicht te krijgen in de processen die een rol spelen bij de opname en verwerking van CO₂ door de plant en hoe deze te beïnvloeden zijn, inzicht te krijgen in de wijze waarop overige klimaatfactoren (temperatuur, luchtvochtigheid en licht) een rol spelen bij de opname en verwerking van CO₂ door de plant en aanbevelingen te doen voor een efficiëntere benutting van CO₂ in de kas. In bovenstaand overzicht is zeer

summier een overzicht gegeven van het fotosyntheseprocess en hoe dit beïnvloed wordt door o.a. klimaatfactoren. In de bijlagen zijn de uitgebreide beschrijvingen hiervan opgenomen. Uit bovenstaande opsomming blijkt duidelijk dat er nog voldoende mogelijkheden zijn om de efficiëntie van gedoseerd CO₂ te verhogen. Een aantal hiervan bestaat uit teeltmogelijkheden die binnen één tot enkele jaren toegepast zouden kunnen worden, en waarvoor grotendeels de kennis reeds aanwezig is. Verder zijn er een aantal maatregelen benoemd die potentieel een grote verbetering van de efficiëntie van CO₂ tot gevolg zouden kunnen hebben, maar waarvoor nog (veel) kennis ontwikkeld zal moeten worden. Deze kennishiaten liggen met name in het in kaart brengen van de kritische processen van de fotosynthese, sensoren om deze te meten en de mogelijkheden om te telen onder laag zuurstof. Ook voor de veredeling is een rol weggelegd in het verhogen van de efficiëntie van CO₂, in combinatie met het fysiologisch onderzoek. Vanuit het onderzoek moet aangedragen op welke processen er veredeld moet worden om gewassen te verkrijgen met een hoge CO₂ efficiëntie, en zal aangegeven moeten worden welke complicaties daarbij vermeden moeten worden.

3 Geraadpleegde literatuur

- Ainsworth, E.A. & Rogers, A. (2007).
The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment* 30: 258–270.
- Bernacchi, C.J., Portis, A.R., Nakano, H., von Caemmerer, S. & Long, S.P. (2003).
Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis in vivo. *Plant Physiology* 130: 1992–1998.
- Björkmann, O. & Demmig-Adams, B. (1995).
Regulation of light energy capture, conversion and dissipation in leaves of higher plants. In: *Ecophysiology of photosynthesis* (Schulze and Caldwell, eds.), Springer, Berlin, 17-70.
- Bolhàr-Nordenkamp, H.R. & Draxler, G. (1993).
Functional leaf anatomy. In: *Photosynthesis and production in a changing environment* (Hall, Scurlock, Bolhàr-Nordenkamp, Leegood and Long, eds.), Chapman & Hall, London: 91-112.
- Dieleman, A. & Kempkes, F. (2005).
Schermen in de tomatenteelt: mogelijkheden en beperkingen. *Plant Research International, Wageningen, Nota* 359.
- Dodd, A.N., Salathia, N., Hall, A., Kévai, E., Tóth, R., Nagy, F., Hibberd, J.M., Millar, J. & Webb, A.A.R., (2005).
Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage. *Science* 309: 630-633.
- Eichelmann, H., Kasparova, I., Pettai, H., Padu, E. & Vapaavuori, E. (2002).
A computer-operated routine of gas exchange and optical measurements to diagnose photosynthetic apparatus in leaves. *Plant, Cell and Environment* 25: 923–943.
- Gelder, de, A., Campen, J., Elings, A., Stanghellini, C. & Meinen, E., 2006.
Luchtcirculatie en productie. Resultaten kasexperiment 2005. Rapport PPO Naaldwijk, 60 pp.
- Guidi, I., Lorefice, G., Pardossi, A., Malorgio, F. Tognoni, F. & Soldatini, G.F. (1998).
Growth and photosynthesis of *Lycopersicon esculentum* (L.) plants as affected by nitrogen deficiency. *Biologia Plantarum* 40 (2): 235-244.
- Guo, S., Zhou, Y., Shen, Q. & Zhang, F. (2007).
Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants – growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. *Plant Biology* 9: 21–29.
- Harmer, S.L., Hogenesch, J.B., Straume, M., Chang, H.-S., Han, B., Zhu, T., Wang, X., Kreps, J.A. & Kay, S.A. (2000).
Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science* 290: 2110-2113.
- Haupt-Herting, S., Klug, K. & Fock, H.P. (2001).
A new approach to measure gross CO₂ fluxes in leaves. Gross CO₂ assimilation, photorespiration, and mitochondrial respiration in the light in tomato under drought stress. *Plant Physiology* 126: 388–396
- Hemming, S., Jongschaap, R., Janse, J. & Dueck, T. (2007).
Effecten van diffuus licht op komkommer. *Nota* 446, Wageningen UR Glastuinbouw, 37 pp.
- Hirel B. & Galais A. (2006).
Rubisco synthesis, turnover and degradation: some new thoughts on an old problem. *New Phytologist* 169, 443–445.
- Hymus G.J., Baker, N.R. & Long, S.P. (2001).
Growth in elevated CO₂ can both increase and decrease photochemistry and photoinhibition of photosynthesis in a predictable manner. *Dactylis glomerata* grown in two levels of nitrogen nutrition. *Plant Physiology* 127: 1204–1211.
- Laisk, A., Oja, V., Rasulov, B., Rämama, H., Eichelmann, H., Kasparova, I., Pettai, H., Padu, E. & Vapaavuori, E. (2002).
A computer-operated routine of gas exchange and optical measurements to diagnose photosynthetic apparatus in leaves. *Plant, Cell and Environment* 25: 923–943.

- Long, S.P. & Bernacchi, C.J. (2003).
Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany* 54: 2393-2401.
- Long, S.P., Zhu, X.-G., Naidu, S.L. & Ort, D.R.I. (2006).
Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant, Cell and Environment* 29: 315–330.
- McCree, K.J. (1981).
Photosynthetically active radiation. In: *Encyclopedia of plant physiology. New series. Vol. 2A* (Lange, Nobel, Osmond, Ziegler, eds.), Springer, Berlin, pp. 41-55.
- Meehl, G.A., Stocker, T.F., Collins, W.D., Friedlingstein, P., Gaye, A.T., Gregory, J.M., Kitoh, A., Knutti, R., Murphy, J.M., Noda, A., Raper, S.C.B., Watterson, I.G., Weaver, A.J. & Zhao, Z.C. (2007).
Global climate projections. In: *Climate change 2007: The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change* [Solomon, S., D. Qin, M., Manning, Z., Chen, M., Marquis, K.B., Averyt, M., Tignor & H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Price, G.D., Von Caemmerer, S., Evans, J.R., Siebke, K., Anderson, J.M & Badger, M.R. (1998).
Photosynthesis is strongly reduced by antisense suppression of chloroplastic cytochrome *bf* complex in transgenic tobacco. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 445–452
- Salvucci, M.E. & Crafts-Brandner, S.J. (2004).
Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 120: 179–186.
- Sharkey, T.D., Laporte, M., Lu, Y., Weise, S. & Weber, A.P.M. (2004).
Engineering plants for elevated CO₂: a relationship between starch degradation and sugar sensing. *Plant Biology* 6: 280-288.
- Smith, H. (1994).
Sensing the light environment: the function of the phytochrome family. In: *Photomorphogenesis in Plants 2nd edition* (Kendrick, Kronenberg, eds.), Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp. 277-416.
- Suzuki, Y., Makino, A. & Mae, T. (2001).
Changes in the turnover of Rubisco and levels of mRNAs of *rbcL* and *rbcS* in rice leaves from emergence to senescence. *Plant, Cell and Environment* 24: 1353–1360.
- Takahashi, S., Bauwe, H. & Badger, M. (2007).
Impairment of the photorespiratory pathway accelerates photoinhibition of photosystem II by suppression of repair but not acceleration of damage processes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 144: 487–494.
- Talbott, L.D., Hammad, J.W., Cien Harn, L., Hai Nguyen, V., Patel, J. & Zeiger, E. (2006).
Reversal by green light of blue light-stimulated stomatal opening in intact, attached leaves of *Arabidopsis* operates only in the potassium-dependent, morning phase of movement. *Plant Cell Physiology* 47: 332–339.
- Van den Boogaard, R., Gieling, T., Heinen, H., Van Kooten, O., Marcelis, L., Schroot, J., Snel, J.H.F., van Straaten, G. & Wieringa, G. (2003).
Hydrion-line: On-line monitor- en besturingssysteem voor proceswater in een gesloten teeltsysteem in de glastuinbouw. Eindrapport van het EET project EETK99038.
- Vavasseur, A. & Raghavendra, A.S. (2005).
Guard cell metabolism and CO₂ sensing. *New Phytologist* 165: 665–682.
- Viiil, J. & Pärnik, T. (2006).
Light- and CO₂-saturated photosynthesis: enhancement by oxygen. *Photosynthesis Research* 88: 357–366.
- Vogelmann, T.C. (1994).
Light within the plant. In: *Photomorphogenesis in Plants 2nd edition* (Kendrick, Kronenberg, eds.), Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp. 491-535.
- Yin, X., Harbinson, J. & Struik, P.C. (2006).
Mathematical review of literature to assess alternative electron transports and interphotosystem excitation partitioning of steady-state C3 photosynthesis under limiting light. *Plant, Cell and Environment* 29: 1771–1782.
- Zeiger, E. (2003).
Reversal by green light of blue light-stimulated stomatal opening in intact, attached leaves of *Arabidopsis* operates only in the potassium-dependent, morning phase of movement. *Plant Cell Physiology* 47: 332–339.

Zhu X.-G, Portis Jr, A.R. & Long S.P. (2004).

Would transformation of C3 crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 27: 155–165.

Bijlage I.

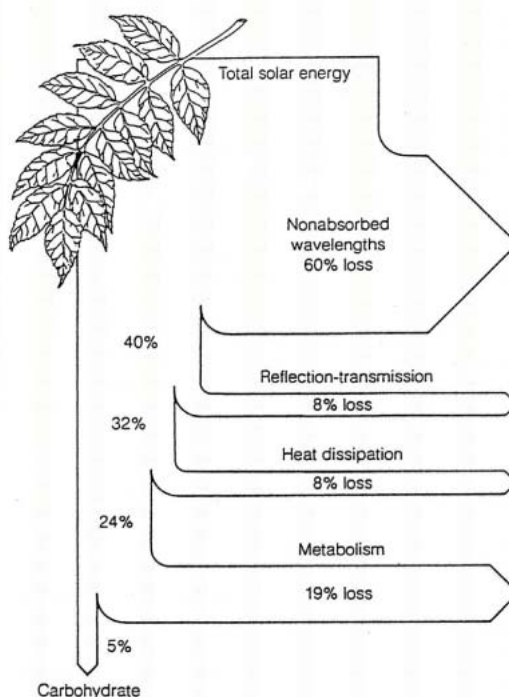
Vastlegging van CO₂ in de fotosynthese

I.1 Inleiding

Fotosynthese vormt de basis voor groei en productie van gewassen. Planten zijn in staat zonne-energie te benutten en om te zetten in bruikbare chemische energie voor de opbouw van koolstofverbindingen. Zij zijn hiertoe in staat door de aanwezigheid van lichtabsorberende pigmenten, die zich bevinden in de thylakoidmembraan van de chloroplasten. Slechts ongeveer 5% van de lichtenergie die op een blad valt wordt uiteindelijk door fotosynthese vastgelegd in de vorm van koolhydraten. Zoals in Figuur 3 te zien is, zijn oorzaken voor dit lage rendement:

1. lage energie-inhoud van langgolvig licht,
2. reflectie- en transmissieverliezen,
3. omzetting in warmte,
4. energetische verliezen ten gevolge van het metabolisme dat nodig is om de plant in stand te houden en te laten groeien.

Aan de energie-inhoud van het licht kan de plant niets veranderen, maar de andere drie factoren kan de plant in meer of mindere mate beïnvloeden.



Figuur 3. Schatting van efficiëntie en verliezen bij de verschillende stappen in bladfotosynthese.

Effecten van reflectie en transmissie op de fotosynthese worden in het project 'Fotosynthese-efficiency bij verschillende golflengten' (PT 13100) onderzocht en maken geen deel uit van dit onderzoek. De resultaten van het project 'Fotosynthese-efficiency bij verschillende golflengten' komen in de loop van 2009 als rapport beschikbaar. Omzetting in warmte en metabolisme worden in deze bijlage behandeld.

Voor een efficiënte vastlegging van CO₂ in de fotosynthese is het belangrijk dat licht, luchtvochtigheid, temperatuur en CO₂ concentratie in de kas goed afgestemd zijn op het fotosyntheseapparaat van het gewas. Dit heeft te maken met de moleculaire eigenschappen van het fotosyntheseapparaat, met name het bladgroen (chlorofyl) en het CO₂ bindende eiwit Rubisco. Wanneer chlorofyl meer licht invangt dan kan worden gebruikt in de fotosynthese, treden er fotochemische reacties op waarbij gevaarlijke vormen van zuurstof ontstaan waardoor beschadiging van het fotosyntheseapparaat (foto-inhibitie) optreedt. Het gevolg is een verlaagde fotosynthese.

1. Stem licht, temperatuur, CO₂ concentratie en luchtvochtigheid af op het fotosynthese-apparaat van het gewas.

Het enzym Rubisco dat verantwoordelijk is voor de binding van CO₂, bindt niet alleen CO₂ maar ook zuurstof. Als de verhouding O₂/CO₂ in de lucht te hoog is, gaat er veel lichtenergie verloren in fotorespiratie. Dat betekent dat in een dynamisch lichtklimaat, zoals dat zich ook in een Nederlandse kas voordoet, de plant met een groot dilemma opgescheept wordt. In perioden of op plekken met weinig licht moet het licht efficiënt benut worden om zoveel mogelijk CO₂ vast te kunnen leggen. In perioden of op plekken met veel licht moet de plant zorgen dat er niet teveel foto-inhibitie optreedt. De plant is tot op zekere hoogte in staat het fotosyntheseapparaat aan te passen in bestaande en nieuw te ontwikkelen bladeren. De teler kan helpen door het (licht)klimaat te optimaliseren.

2. De concentraties O₂ en CO₂ bepalen de efficiëntie van de binding van CO₂ door Rubisco.

Voor een goed begrip van deze beschermings- en aanpassingsmechanismen en hoe je daar in de teelt optimaal gebruik van kunt maken, zal in de volgende paragrafen een korte beschrijving van de opname en verwerking van CO₂ gegeven worden.

I.2 Opname van CO₂ door het blad.

De binding van CO₂ vindt plaats in de chloroplast. De CO₂ moet dus vanuit de lucht rondom het blad naar de chloroplast getransporteerd worden. Dat kan alleen via de huidmondjes omdat de epidermis van het blad ondoorlaatbaar is voor CO₂. De plant kan de aanvoer van CO₂ en het verlies van waterdamp regelen via de huidmondjes (zie Figuur 1).

Het transport van CO₂ en H₂O tussen mesofylcel en de vrije lucht wordt beschreven door een transportmodel gebaseerd op de diffusiewet van Fick. Deze wet leidt tot een beschrijving van gastransport die analoog is aan de beschrijving van transport van elektronen onder invloed van een elektrische potentiaal.

Dat is de bekende wet van Ohm: $I = \frac{V_2 - V_1}{R}$ [1]

Met I : stroom, $V_2 - V_1$: potentiaalverschil en R : weerstand.

In termen van CO₂ transport luidt de vergelijking: $A = \frac{(c_a - c_i)}{R}$ [2]

Waarin:

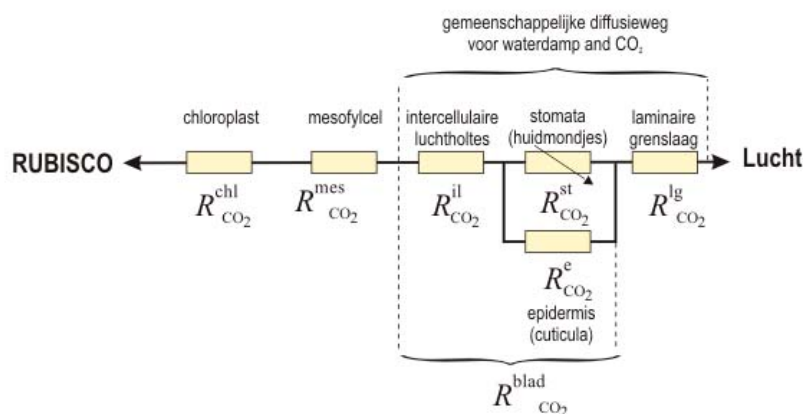
A : snelheid van CO₂-transport ('CO₂ stroom') in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

c_a , c_i : externe respectievelijk interne CO₂ concentratie in $\mu\text{mol mol}^{-1}$

R : totale weerstand van het blad voor diffusie van CO₂ in $\text{m}^2 \text{s}^{-1} \text{mol}^{-1}$.

De diffusie van CO₂ van lucht naar mesofylcel wordt dus bepaald door het concentratieverschil (tussen luchtholtes in het blad en de vrije buitenlucht) en de diffusieweerstanden van de laminaire luchtlaag, de huidmondjes en de

intercellulaire holtes. De diffusieweerstand bestaat uit een aantal componenten die te maken hebben met de verschillende fysieke structuren van het blad. Onderweg van de intercellulaire holtes naar de chloroplast komt een CO_2 molecuul nog de volgende barrières (weerstanden) tegen: mesofylcel (celmembraan waterige inhoud) en uiteindelijk de chloroplast (in de mesofylcel). Het diffusiemodel is weergegeven in Figuur 4.



Figuur 4. Diffusiemodel voor uitwisseling van CO_2 tussen Rubisco in de chloroplast en de vrije lucht in de kas.

Het simpele diffusiemodel blijkt verrassend goed te werken en wordt nog steeds algemeen gebruikt. Alleen onder stresscondities waarbij huidmondjes in sommige delen van het blad gesloten zijn en in andere delen niet ('patchiness') is het simpele diffusiemodel niet bruikbaar.

1.2.1 Grenslaagweerstand

Dee grenslaag is een dunne laag stilstaande lucht rond het blad, dat een weerstand is in de opname van CO_2 en de afgifte van waterdamp door het blad. De grenslaagweerstand is afhankelijk van de luchtsnelheid langs het blad en de mate van turbulentie. De luchtsnelheid langs het blad is weer afhankelijk van de luchtsnelheid in de kas en de structuur van het gewas (o.a. bladgrootte). In een kas is de luchtsnelheid over het algemeen veel lager dan buiten, met als gevolg dat de grenslaag in de kas relatief dik is en daarmee de grenslaagweerstand hoog is. Uit modelberekeningen blijkt dat het verdubbelen van de grenslaagweerstand (dikkere grenslaag) de fotosynthese met 1 tot 8% kan verlagen (Gijzen, 1995). Dit effect is het sterkst op zonnige dagen, het minst op donkere dagen.

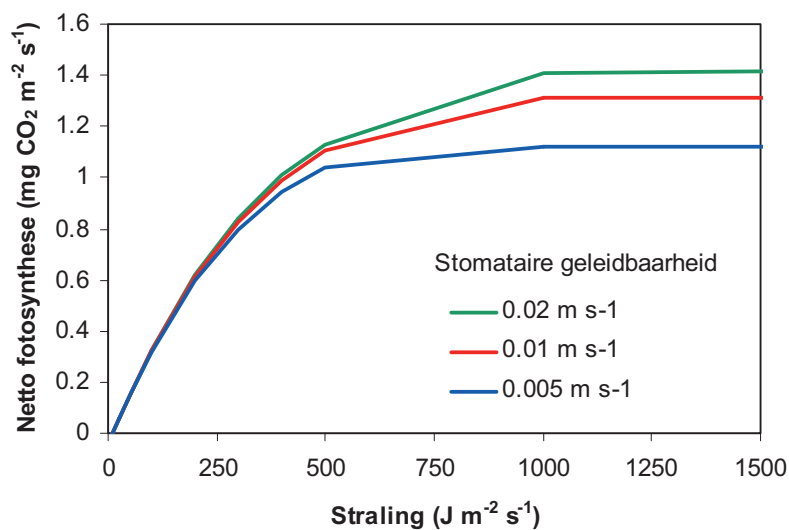
In een onderzoek naar luchtbevinging zijn in een tomatenteelt in de kas met luchtslangen en ventilatoren behandelingen aangelegd waarin de op verschillende hoogtes in het gewas luchtslangen gehangen werden, en waarbij de lucht met verschillende luchtsnelheden langs het gewas geblazen werd (De Gelder *et al.*, 2006). Gedurende een aantal maanden werden productie en gewasontwikkeling in de verschillende behandelingen gevolgd. Hierin werden geen verschillen gevonden. Daarnaast zijn uitgebreide metingen gedaan aan de werking van het fotosynthese systeem. Hieruit werd geconcludeerd dat luchtbevinging niet leidde tot een systematische aanpassing van de fotosynthese (De Gelder *et al.*, 2006). Luchtbevinging en luchtsnelheid in een gesloten kas zijn weer anders dan de in het onderzoek van De Gelder *et al.* (2006) gebruikte kassen. In dat onderzoek werd lucht aangezogen en ingebracht binnen dezelfde kasafdeling. In gesloten kassen wordt over het algemeen gekoelde en gedroogde lucht ingebracht. Hoe groot het effect van de luchtbevinging op fotosynthese en verdamping zal zijn in gesloten kassen is niet bekend.

3. Verlagen van de grenslaagweerstand vergemakkelijkt de opname van CO_2 door het blad.

1.2.2 Huidmondjesweerstand

In de praktijk is de weerstand van de cuticula erg groot ten opzichte van de weerstand van de huidmondjes; alle CO_2 komt het blad dus via de huidmondjes binnen. De weerstand van de mesofylcel en intercellulaire luchtholtes is bij veel planten klein ten opzichte van de weerstand van de huidmondjes en de chloroplast (Laisk *et al.*, 2002). Dat betekent dat de plant met de openingstoestand van de huidmondjes de toevoer van CO_2 goed kan regelen (Figuur 5).

4. De openingstoestand van de huidmondjes bepaalt hoe snel CO_2 door het blad opgenomen wordt.



Figuur 5. Relatie tussen de straling en de berekende netto fotosynthese bij drie stomataire geleidbaarheden. Deze relaties zijn berekend met een fotosynthesemodel volgens Farquhar *et al.*, 1980.

Over het gedrag van de huidmondjes is echter nog veel onbekend. De openingstoestand wordt beïnvloed door lichtintensiteit en luchtvochtigheid, maar ook door hormonen als abscissinezuur, auxinen en cytokininen (Grantz, 1990). Een huidmondje bestaat uit twee sluitcellen die zich sluiten als de osmotische waarde van de celinhoud toeneemt. Hoewel het mechanisme waarmee de huidmondjes openen of sluiten nog niet volledig is opgehelderd, is wel bekend dat de volgende interne en externe factoren de openingstoestand van de huidmondjes beïnvloeden:

- **CO_2 .** CO_2 wordt als het belangrijkste signaal gezien voor de regulatie van de huidmondjes (Vavasseur & Raghavendra 2005). Een hoge CO_2 concentratie in het blad (bv. in het donker tijdens de ademhaling) zorgt ervoor dat open huidmondjes dichtgaan. Een lage CO_2 concentratie (bv. <300 ppm ten gevolge van fotosynthese onder hoog licht) daarentegen doet gesloten huidmondjes opengaan. Indirect is de fotosynthese dus de belangrijkste factor voor het openen van de huidmondjes
- **Licht.**
 - Blauw licht zorgt via de fotoreceptor fototropine rechtstreeks voor het openen van de huidmondjes mits er CO_2 aanwezig is.
 - Groen licht kan de opening van de huidmondjes door blauw licht teniet doen, maar dat is beperkt tot de morgen als het osmoticum kalium gebruikt wordt voor het openen van de huidmondjes. 's Middags wordt nl. Niet kalium maar sucrose gebruikt als osmoticum en dan werkt groen licht niet meer (Talbot *et al.* 2003).

- Wit licht werkt op een indirecte manier. Door fotosynthese gaat de interne CO₂ concentratie omlaag waardoor de huidmondjes opengaan. Daarnaast zorgt licht via fotosynthetisch electronentransport voor de ATP die nodig is voor de osmoregulatie.
- **ABA.** Het hormoon ABA (abscisinezuur) sluit huidmondjes in aanwezigheid van CO₂ en licht. ABA wordt onder andere gevormd bij waterstress. Daardoor gaan de huidmondjes dicht bij watergebrek.
- **Biologische klok.** Planten hebben een interne biologische klok die o.a. het gedrag van huidmondjes beïnvloedt (Vavasseur & Raghavendra 2005, Roelfsema & Hedrich 2005). In onderzoek met Arabidopsis mutanten hebben Dodd *et al.* (2005) laten zien dat een goede afstemming van de periode van de biologische klok met de belichting belangrijk is voor een goede fotosynthese en groei. Dat betekent dat in toekomstige teeltsystemen de belichting afgestemd moet zijn op de periode van de biologische klok.
- **Transpiratie.** Mogelijk kunnen de huidmondjes de transpiratie meten en op basis daarvan het effect van CO₂ op het sluiten van de huidmondjes beïnvloeden. Dit is echter nog niet eenduidig vastgesteld (Vavasseur & Raghavendra 2005).

5. De huidmondjes worden geregeld door de interne CO₂ concentratie, door waterstress (ABA) en door blauw en groen licht.

1.2.3 Mesofylweerstand

Bij volledig geopende huidmondjes is de mesofylweerstand een belangrijke factor. Voor kruidachtige gewassen met een hoge fotosynthesesnelheid zou dit naar schatting een 10% hogere maximale fotosynthese kunnen opleveren, met daaraan gekoppeld een sterkere transpiratie (Long & Bernacchi, 2003). Bernacchi *et al.* (2002) hebben laten zien dat in tabaksplanten bij hogere temperatuur de mesofylweerstand weliswaar lager is, maar niet voldoende om de hogere fotosynthese te compenseren. Bij 40°C zou de fotosynthese 22% hoger kunnen uitvallen als de mesofylweerstand naar nul gebracht zou kunnen worden.

Het is dus mogelijk om CO₂ efficiënter op te nemen door er voor te zorgen dat de mesofylweerstand verlaagd wordt. Dit kan o.a. bereikt worden met kleinere mesofylcellen, plattere chloroplasten die vlak tegen de celwand liggen, en mogelijk door enzymen die de diffusie van CO₂ in de cel kunnen versnellen (Long & Bernacchi, 2003).

6. Verlaging van de mesofylweerstand kan de opname van CO₂ verbeteren.

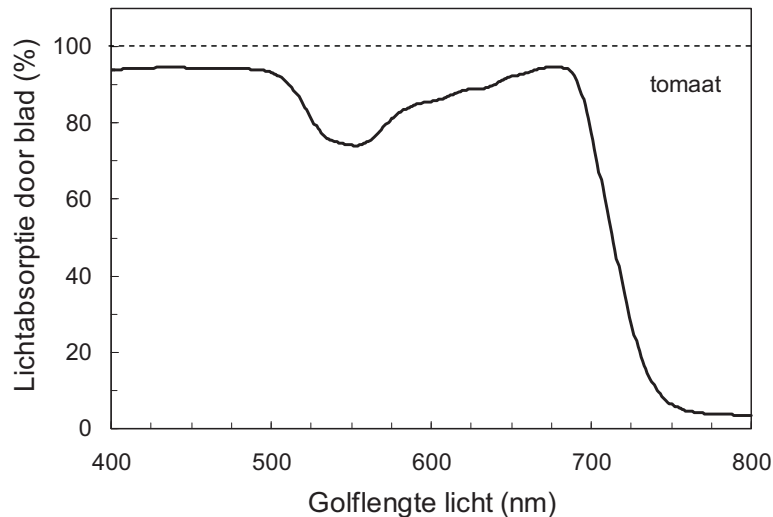
De mesofylweerstand kan via veredeling, genetische aanpassingen en/of via teeltmaatregelen beïnvloed worden.

7. Verhogen van de fotosynthese (CO₂ uitwisseling) zal in veel gevallen ook een verhoging van de transpiratie (uitwisseling van waterdamp) betekenen.

1.3 Basisprocessen fotosynthese

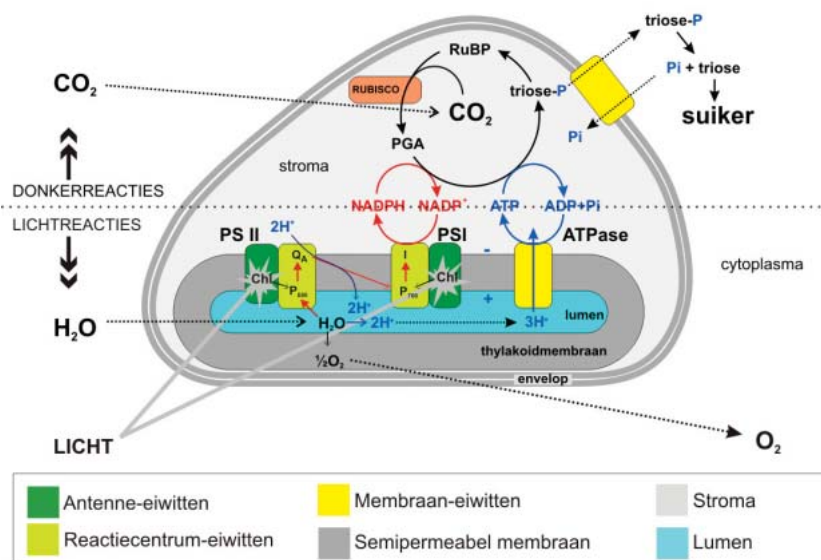
De fotosynthese vindt plaats in de bladgroenkorrels (chloroplasten, zie Figuur 1) van groene bladeren en kan samengevat worden als de productie van suiker en zuurstof uit water en kooldioxide. Dit proces is alleen mogelijk als er energie ingestopt wordt in de vorm van (zon)licht.

Licht wordt in het blad opgevangen door verschillende pigmenten (voornamelijk chlorofyl a en chlorofyl b) in zogenaamde fotosystemen in de chloroplast. In het blauw (400-500nm) en in het rood (600-700nm) wordt 90% of meer licht opgevangen (Figuur 6). In het groen-gele gebied (500-600nm) ligt dat iets lager (70-90%). Er bestaan twee verschillende soorten fotosystemen: fotosysteem I (PSI) en fotosysteem II (PSII). De fotochemisch actieve pigmenten in de twee fotosystemen hebben verschillende absorptiebanden; PSI vooral bij 700 nm, PSII bij 680 nm.



Figuur 6. Absorptie van opvallend licht van verschillende kleuren door een tomatenblad.

Fotosynthese kan onderverdeeld worden in licht- en donkerreacties. In de lichtreacties wordt lichtenergie omgezet in chemische energie (de energiedragers NADPH en ATP). In de donkerreacties wordt deze chemische energie (NADPH en ATP) CO_2 omgezet in suikers. In de meeste tuinbouwgewassen vinden de licht- en de donkerreacties overdag in het licht plaats.



Figuur 7. Schematische weergave van de licht- en donkerreacties van de fotosynthese in de chloroplast. Afkortingen: ATPase - ATP synthase/hydrolase, Chl - chlorofyl, Fd - ferredoxine, PS - fotosysteem, I - primaire electron acceptor van PS I, P680 - primaire donor van PS II, P700 - primaire donor van PS I, PC - plastocyanine, PQ - plastoquinone, RUBISCO - Ribulose bisfosfaat carboxylase/oxygenase, Q_A - primaire plastoquinone acceptor van PS II.

In Figuur 7 is de fotosynthese in de chloroplast schematisch weergegeven. De chloroplast bestaat uit twee compartimenten: het stroma en het lumen die van elkaar gescheiden zijn door het thylakoidmembraan. In dat membraan bevinden zich alle componenten voor de lichtreacties; de donkerreacties spelen zich in het stroma af. Het lumen fungeert als een buffervat voor de protonen en de elektrische lading die nodig zijn voor de vorming van ATP.

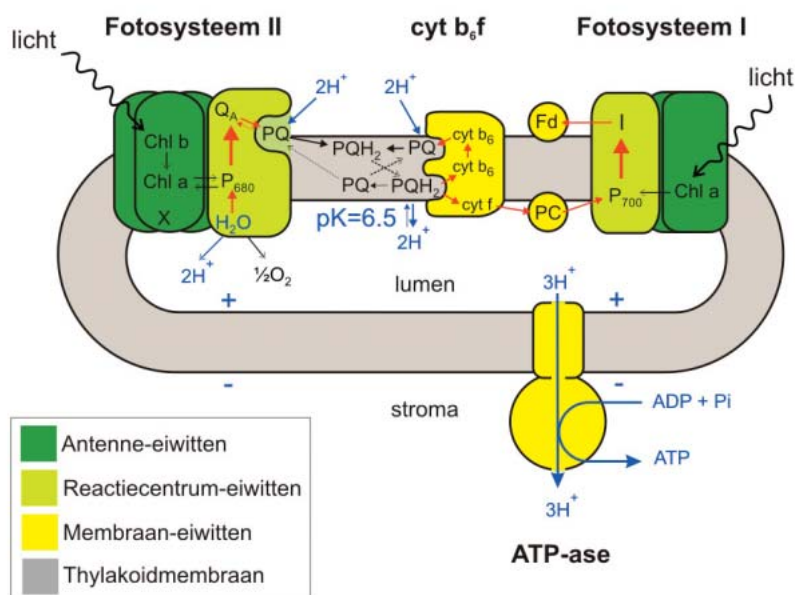
I.3.1 Lichtreacties

Licht wordt door het chlorofyl in de antennes van de fotosystemen I en II (PS I en PS II) geabsorbeerd (Figuren 7 en 8). Het grootste deel van deze lichtenergie wordt doorgegeven aan de zogenaamde primaire donoren: P700 in het reactiecentrum van fotosysteem I en P680 in het reactiecentrum van fotosysteem II. De rest van de lichtenergie gaat verloren als warmte of wordt voor een heel klein deel als licht afgegeven (fluorescentie). Hoeveel lichtenergie verloren gaat is afhankelijk van de interactie tussen de chlorofylmoleculen en hun eiwitomgeving (zie I.3.2).

Fotosysteem II zorgt voor het splitsen van water: $2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{H}^+ + \text{O}_2 + 4 \text{e}^-$ [3]

De lichtenergie wordt gebruikt om de elektronen via een aantal tussenstappen over te dragen van fotosysteem II naar fotosysteem I. De uiteindelijke electronenacceptor is ferredoxine (Fd) in PS I. De kwantumefficiëntie (elektron per ingevangen foton) van dit proces is maximaal 85%. Dat wordt alleen gehaald bij lage fotosynthesesnelheden. Bij normale fotosynthesesnelheden ligt de efficiëntie dicht bij de 65-75% ten gevolge van het optreden van fotochemische en niet-fotochemische doving (zie I.3.1.1).

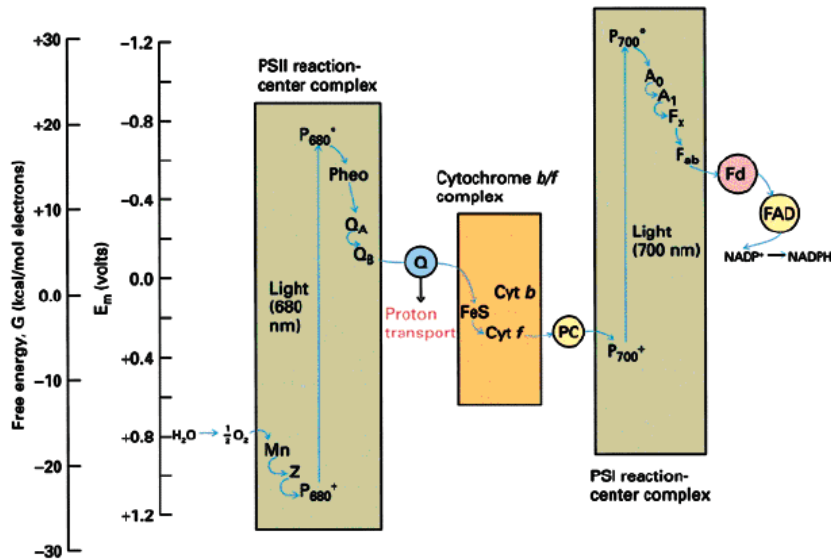
In fotosysteem I worden de elektronen en protonen overgedragen op NADP waarbij NADPH ontstaat. Tijdens het elektrontransport worden een elektrische potentiaal (door de ladingsscheiding in PS I en PS II) en een protongradiënt (bij de watersplitsing en bij het elektrontransport van PS II naar PS I) over het thylakoidmembraan opgebouwd. De potentiaal in het lumen wordt positief ten opzichte van het stroma en de pH in het lumen daalt. Het elektrische potentiaalverschil en de protongradiënt fungeren samen als drijvende kracht ('protonmotive force') voor de fosforylering van ADP tot ATP. De lichtreacties zorgen dus voor de aanmaak van de universele energiedragers



Figuur 8. Schematische weergave van de lichtreacties van de fotosynthese in het thylakoidmembraan van de chloroplast. Afkortingen: ATPase - ATP synthase/hydrolase, Chl - chlorofyl, Fd - ferredoxine, I - primaire elektronacceptor van fotosysteem I, P₆₈₀ - primaire donor van fotosysteem II, P₇₀₀ - primaire donor van fotosysteem I, PC - plastocyanine, PQ - plastoquinon, Q_A - primaire plastoquinon acceptor van fotosysteem II. Fotosysteem II zorgt voor het splitsen van water. De verkregen elektronen worden doorgegeven aan fotosysteem I die er extra energie aan toevoegt waardoor NADH geproduceerd kan worden.

NADPH (waterstof en energie) en ATP (energie). Op deze wijze wordt lichtenergie omgezet in chemische energie. NADPH en ATP tenslotte worden in de Calvin cyclus (donkerreacties) gebruikt om CO_2 te reduceren tot suikerfosfaat.

Samenvattend geldt dat in de lichtreacties onder invloed van licht in de thylakoidmembraan een elektronenstroom tot stand komt. Tijdens het transport staan deze elektronen energie af, die gebruikt kan worden voor de synthese van ATP (protonengradiënt). Vereenvoudigd geeft dit het zogenaamde Z-schema, te zien in onderstaande figuur.



Figuur 9. Z-schema van de fotosynthese.

I.3.1.1 Efficiëntie primaire reacties in PSII elektrontransport

De maximale efficiëntie van het PSII elektrontransport van P_{680} naar Q_A bedraagt ca 85%. Deze waarde wordt alleen in het donker bereikt. In het licht is de efficiëntie van het PSII elektrontransport lager; hoeveel is afhankelijk van het licht en van het verbruik van NADPH en ATP in de donkerreacties. Er zijn drie processen betrokken bij deze verlaging van de efficiëntie:

Fotochemische doving (q_p). In het licht ontvangt Q_A elektronen van P_{680} en wordt daarmee negatief geladen. Het duurt even (ca. 0.6 ms) voordat deze negatieve lading (electron) wordt doorgegeven aan de rest van de transportketen. In die tijd kan Q_A geen nieuw electron opnemen en wordt de efficiëntie van PSII lager. Als het elektrontransport geremd is, bv. omdat er te CO_2 is (dichte huidmondjes), is er meer Q_A^- waardoor de efficiëntie van de fotosynthese lager wordt. Dit effect treedt met name op bij veel licht en lage fotosynthese, bijvoorbeeld bij lage temperaturen of bij droogtestress. Fotochemische doving kan snel ontstaan, maar is ook weer snel verdwenen. Tijdsconstanten liggen in het ms gebied.

De q_p wordt gemeten met chlorofylfluorescentie en heeft een waarde tussen 0 en 1. Een actieve plant heeft een q_p die tussen de 0.8 en 1 ligt. Als de q_p veel lager is dan 0.8, is er sprake van geremd elektrontransport en is er grote kans op oxidatieve stress.

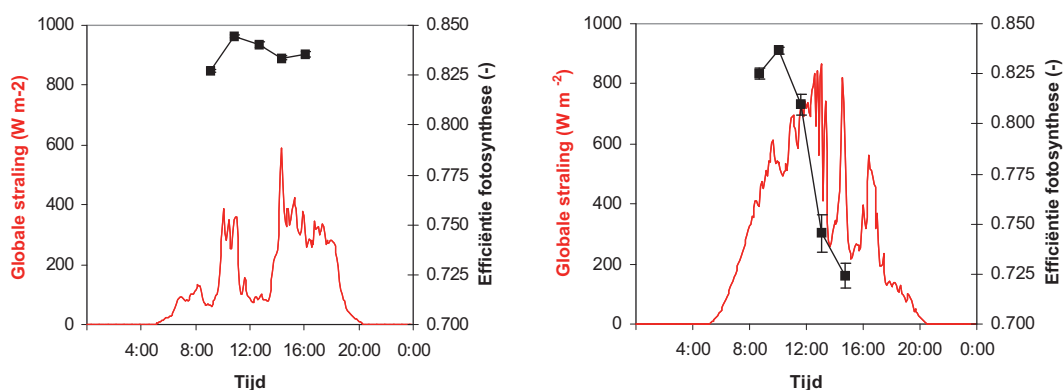
8. Monitoring van fotochemische doving (q_p) kan oxidatieve stress opsporen.

Niet-fotochemische doving (NPQ). Als er weinig CO_2 beschikbaar is in de chloroplast, bijvoorbeeld door sluiten huidmondjes, dan kan de efficiëntie van PSII elektrontransport verlaagd worden door negatieve terugkoppeling. Dit

proces berust op een verandering in de antenne van PSII en is reversibel met een tijdsconstante van 1-5 minuten. De terugkeer van de laagefficiënte PSII antenne naar de efficiënte PSII antenne kost de plant energie in de vorm van NADPH, maar die is verwaarloosbaar t.o.v. de energie die nodig is voor de fotosynthese. Niet-fotochemische doving verlaagt de efficiëntie van de fotosynthese maar is ook een belangrijk beschermingsmechanisme als het blad teveel licht heeft en biedt bescherming tegen foto-inhibitie door het licht om te zetten in warmte. De NPQ wordt ook gemeten met chlorofylfluorescentie en heeft een waarde van 0 (in donker) of hoger (in het licht).

9. Monitoring van niet-fotochemische doving (NPQ) geeft informatie over warmteverliezen en bescherming tegen lichtschade (fotoinhibitie).

Foto-inhibitie. Foto-inhibitie is een beschadiging van PSII door licht waarbij één van de eiwitten van het reactiecentrum afgebroken wordt. Foto-inhibitie resulteert in een verlaging van de efficiëntie waarmee lichtenergie in het reactiecentrum omgezet in elektronentransport. De verlaging van de maximale efficiëntie van het PSII elektronentransport is een goede maat voor foto-inhibitie. De reparatie van PSII vergt eiwitsynthese en duurt veel langer (>4 uur) dan bv. het herstel van NPQ. Het herstel kost ook meer energie en bouwstenen (C,N,P) dan herstel van NPQ. Fotoinhibitie wordt gemeten met chlorofylfluorescentie als een verlaging van de efficiëntie van het PSII elektronentransport in een aan het donker aangepast blad en aangeduid met Fv/Fm.



Figuur 10. Voorbeeld van foto-inhibitie bij tomaat in een onderzoekskas. De maximale efficiëntie van de fotosynthese (zwarte symbolen) op een halfbewolkte dag (links) en een zonnige dag (rechts). Op de zonnige dag was de foto-inhibitie sterker dan het herstel en trad vanaf 12:00 verlaging van de maximale efficiëntie op. Bron: Dieleman & Kempkes, 2005).

Figuur 10 geeft een voorbeeld van het optreden van foto-inhibitie bij een tomatengewas. Vanaf ca 10:00 treedt tijdens een zonnige dag een verlaging van de Fv/Fm op. Deze wordt veroorzaakt door foto-inhibitie. Om 15:00 is de Fv/Fm ongeveer 12% lager dan om 10:00. Het verdere verloop van de Fv/Fm is niet gemeten, maar de verwachting is dat het herstel pas 's nachts optreedt. Dat betekent dat het gewas de tweede helft van de dag een lagere fotosynthese heeft.

De huidige theorie is dat foto-inhibitie altijd optreedt, maar dat onder normale omstandigheden het herstel van de opgelopen schade snel wordt hersteld, waardoor de efficiëntie hoog blijft en de fotosynthese nauwelijks negatief beïnvloed wordt (Takahashi, 2007). Met name onder N-limitatie (N is nodig voor eiwitsynthese) is het herstel van foto-inhibitie geremd, en is er sprake van zichtbare verlaging van de efficiëntie van de fotosynthese (Guidi *et al.*, 1998). Ook onder condities waarbij de fotorespiratie geremd is (hoog CO₂ en/of laag O₂) kan de schade door foto-inhibitie ernstiger zijn (Takahashi, 2007).

10. Voorkomen van foto-inhibitie kan de efficiëntie van CO₂ gebruik verhogen. Onderzoek is nodig om vast te stellen hoe groot het effect van foto-inhibitie op de fotosynthese in kasgewassen is.

11. Meting van chlorofylfluorescentie (Fv/Fm) kan foto-inhibitie opsporen.

I.3.1.2 Secundair electronentransport

De elektronentransportketen bevat verschillende reacties waarbij protonen betrokken zijn. De snelheid van deze reacties is dan afhankelijk van de pH. De belangrijkste pH afhankelijke reacties zijn:

Oxidatie van plastoquinol. De reactie wordt gekatalyseerd door het z.g. cyt b₆f eiwitcomplex (zie Figuur 9). De halfwaardetijd van de plastoquinoloxidatie is bij hoge pH in het lumen zo'n 5 ms. Als het lumen zuurder wordt neemt de halfwaardetijd toe. De pKa is 6.5. Als er veel licht is en de fotosynthese is geremd (lage ATP consumptie), kan de halfwaardetijd zomaar een factor 4-5 groter worden. De oxidatie van plastoquinol is de langzaamste stap in de lichtreacties. De flux (aantal elektronen per seconde) kan verhoogd worden door meer cyt b₆f eiwit aan te maken.

Oxidatie van water. Bij de oxidatie van water komen protonen vrij. Ook deze reacties gaan langzamer bij een lage pH in het lumen, maar de reacties zijn dan nog niet snelheidsbeperkend. Ze spelen mogelijk wel een rol bij het ontstaan foto-inhibitie (Takahashi 2007).

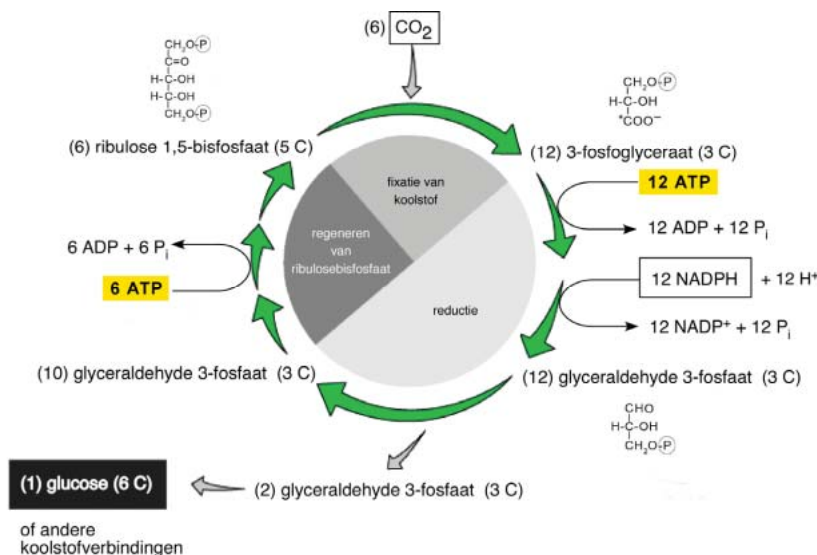
Een zuur lumen is belangrijk voor de vorming van ATP, maar het remt het elektronentransport. Een hoge maximale fotosynthesesnelheid kan alleen bereikt worden door veel plastoquinol en cyt b₆f eiwitcomplexen aan te maken. Deze hoeveelheid is genetisch bepaald, maar wordt wel beïnvloed door teeltomstandigheden.

12. Meer cyt b₆f kan de efficiëntie van de CO₂ benutting in de fotosynthese verhogen.

13. Meer inzicht in verband tussen cyt b₆f en maximale fotosynthese in glasgroenten is nodig om rassen te kunnen veredelen op hogere CO₂ benutting.

I.3.2 Donkerreacties

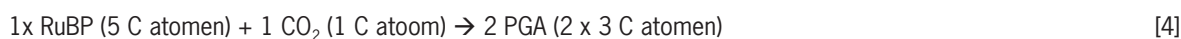
In de fotosynthese moeten uiteindelijk energierijke verbindingen (suikers) gevormd worden. In de lichtreacties zijn de energiedragers NADPH en ATP gevormd. Die worden in de donkerreacties gebruikt om CO₂ te reduceren tot triosefosfaat (zie Figuur 11). Deze reacties worden de Calvincyclus genoemd. Bij deze reacties is licht niet nodig, vandaar de naam 'donkerreacties'. Deze naam is enigszins ongelukkig gekozen, omdat de donkerreacties ook in het licht plaatsvinden.



Figuur 11. Overzicht van de Calvin cyclus. In de Calvin cyclus worden drie stadia onderscheiden:

- 1. Fixatie van koolstof.** *Onder invloed van RUBISCO wordt CO₂ gebonden aan ribulose 1,5 bisfosfaat en zo opgenomen in de Calvincyclus. De gevormde C₆ verbinding is instabiel en valt direct uiteen in twee C₃ verbindingen (3-fosfoglyceraat).*
- 2. Reductie tot suiker.** *De carboxylgroep van 3-fosfoglyceraat wordt door NADPH gereduceerd tot een aldehydegroep. Het resultaat is een triosefosfaat: glyceraldehyde 3-fosfaat. Voor dit proces wordt energie geleverd door de hydrolyse van ATP.*
- 3. Regeneratie van ribulose 1,5-bisfosfaat.** *Het grootste deel van het gevormde triosefosfaat wordt via een complexe reactiereeks terug omgezet in ribulose 1,5 bisfosfaat, waardoor de cyclus gesloten is. Voor deze reactie wordt energie gebruikt afkomstig van ATP.*

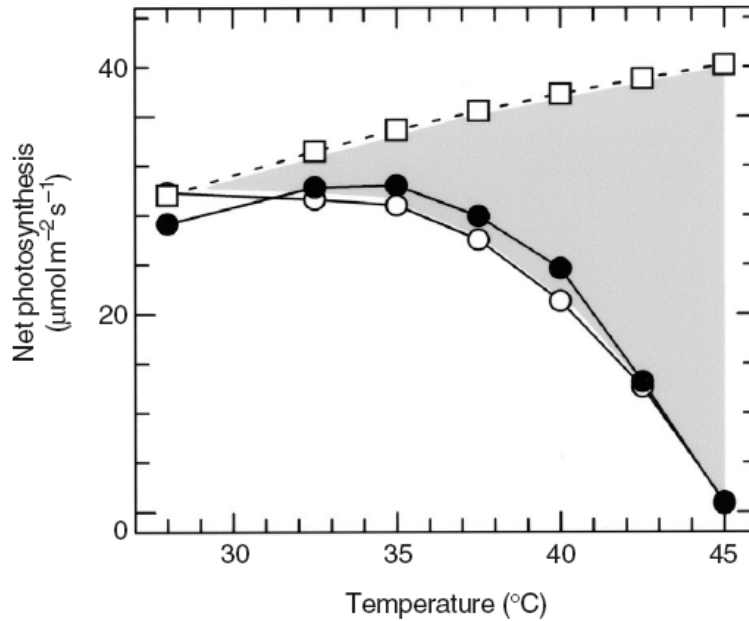
Met behulp van de in de lichtreacties gevormde NADPH en ATP kan CO₂ in de Calvin cyclus gereduceerd worden tot triosefosfaat (zie Figuur 10). De eerste stap in de Calvincyclus is de binding van CO₂ aan de suiker ribulose 1,5-bisfosfaat (RuBP). Deze stap wordt gekatalyseerd door het enzym RUBISCO en levert 2 3-fosfoglyceraat (PGA) suikers op:



Deze reactie gaat vanzelf; daar is geen energie voor nodig. De volgende stap is de reductie van PGA tot triosefosfaat. Dat kost wel energie in de vorm van NADPH and ATP. Om de Calvin cyclus af te maken moet de RuBP weer teruggevormd worden. Per gebonden CO₂ kost dat minimaal 4 elektronen. Als de cyclus 3 keer rond geweest is, zijn er 3 moleculen CO₂ gebonden en is er 1 molecuul triose-fosfaat (triose-P) gevormd.

I.3.2.1 RUBISCO

CO₂ bindt relatief slecht aan het enzym RUBISCO en bovendien kan ook O₂ op dezelfde bindingsplaats binden. De plant heeft daarom heel veel RUBISCO nodig. RUBISCO is daarmee het meest voorkomende eiwit, niet alleen in de plant maar ook op aarde. Door de grote hoeveelheid is RUBISCO een belangrijke pool van N in de plant.



Figuur 12. Temperatuurafhankelijkheid van de fotosynthese in katoen. De open cirkels geven de gemeten fotosynthese weer. De gesloten cirkels zijn berekend op basis van de eigenschappen van RUBISCO en Rubisco Activase. De open vierkantjes zijn berekend met volledig geactiveerd RUBISCO. Bron: Salvucci & Crafts-Brandner 2004.

De carboxylatiesnelheid V^c waarmee CO_2 wordt vastgelegd, wordt beschreven door:

$$V^c = V^c_{\max} \frac{C_i}{C_i + K_m^c \left(1 + \frac{O_i}{K_m^o}\right)} \quad [5]$$

De carboxylatiesnelheid V^c is afhankelijk van de maximale carboxylatiesnelheid (V^c_{\max}), de interne CO_2 concentratie (C_i) en de interne zuurstofconcentratie (O_i). De maximale carboxylatiesnelheid (V^c_{\max}) en de affiniteit van RUBISCO voor CO_2 (K_m^c) en O_2 (K_m^o) zijn intrinsieke eigenschappen van RUBISCO die per soort kunnen verschillen. Als de CO_2 concentratie niet verzadigd is en de zuurstofconcentratie niet verwaarloosbaar is ten opzichte van de affiniteit van RUBISCO voor zuurstof (K_m^o), dan zal de CO_2 fixatiesnelheid afnemen door fotorespiratie. Door de (interne) CO_2 concentratie te verhogen kan de fotorespiratie onderdrukt worden.

De V^c_{\max} van RUBISCO wordt op verschillende manieren gereguleerd:

- **Activatie.** In het donker is RUBISCO in een niet-actieve toestand. Activatie in het licht treedt op door i) binding van Mg^{2+} en CO_2 en ii) Rubisco Activase. De activatie door Mg^{2+} en CO_2 is nodig om de site actief te maken. In het donker is de katalytische site echter bezet door substraten (bijvoorbeeld RuBP) waardoor de activatie door CO_2 en Mg^{2+} niet kan plaatsvinden. De activatie door Rubisco Activase is nodig om de katalytische site vrij te maken voor activatie door CO_2 en Mg^{2+} . Rubisco Activase wordt zelf gereguleerd via de redoxpotentiaal (Thioredoxine-f) en de ADP/ATP ratio in de chloroplast (Portis 2003). Rubisco Activase wordt verondersteld een relatief lage optimumtemperatuur te hebben (Salvucci & Crafts-Brandner 2004). Figuur 10 laat de temperatuurafhankelijkheid zien van de fotosynthese in katoen (warmteminnend gewas). Katoen heeft een optimumtemperatuur van ongeveer: $T_{\text{opt}} = 34^\circ\text{C}$. Deze wordt grotendeels bepaald Rubisco Activase, dat boven de 34°C steeds minder actief is. Rubisco zelf heeft een veel hoger temperatuuroptimum (open vierkantjes in Figuur 10).

14. Bij hoge bladtemperaturen wordt de fotosynthese minder efficiënt door deels geïnactiveerde Rubisco.

Voor glastuinbouwgewassen is de optimumtemperatuur van Rubisco Activase niet bekend. Het valt te verwachten dat de optimumtemperatuur voor komkommer en tomaat gelijk is of lager dan die bij katoen.

15. Onderzoek naar Rubisco Activase kan rassen opleveren met op hogere CO₂ benutting bij hoge temperaturen.

- **Remming.** RUBISCO wordt niet-competitief geremd door een aantal bijproducten van de katalytische reactie zoals 3-ketoarabinitol en Xylulose-bisfosfaat en door de natuurlijke remmer 2-carboxyarabinitol 1-fosfaat. De remming van deze stoffen kan ongedaan gemaakt worden door Rubisco Activase. Bij hogere temperaturen wordt een groter percentage bijproducten verondersteld (Salvucci & Crafts-Brandner 2004) waardoor RUBISCO meer geremd is bij temperaturen boven de 30 graden.
- **Turnover.** De hoeveelheid RUBISCO in een blad is de balans tussen synthese en afbraak (Suzuki *et al.* 2001). Bij rijst overheerst de synthese in de eerste 10 dagen van de bladontwikkeling (strekingsfase); daarna is de afbraak groter dan de synthese (Suzuki 2001). RUBISCO is één van de belangrijkste N-bronnen in de plant. De levensduur van RUBISCO is ca. 7 dagen, maar kan onder stress korter zijn (Davies 1982 geciteerd uit Hirel/Galais 2006). De N uit RUBISCO in oudere bladeren wordt met name gebruikt voor het vullen van vruchten en knollen.

RUBISCO is in het donker geïnactiveerd. Het enzym wordt geactiveerd door een aantal factoren die gekoppeld zijn aan licht. Hierdoor wordt voorkomen dat de Calvin cyclus 's nachts draait en ATP en NADPH zou vragen die nodig zijn voor biosynthese van complexere verbindingen die nodig zijn voor de groei van de plant. De plant zou in dat geval alleen maar suikers maken en niet meer kunnen groeien.

Er bestaat genetische variatie voor de verschillende eigenschappen van Rubisco (Zhu *et al.*, 2004). Deze auteurs schatten dat door inbrengen van optimaal Rubisco voor veldgewassen de opbrengst (biomassa) met 25% zou kunnen toenemen.

16. Met GMO technieken zouden glastuinbouwgroenten ontwikkeld kunnen worden met betere Rubisco en een tot 25% efficiënter CO₂ gebruik.

I.3.2.1 Regeneratie van RuBP

Bij de carboxylatie wordt RuBP (C5 suiker) omgezet in suikerfosfaten. Als er geen nieuwe RuBP aangemaakt zou worden, zou de fotosynthese stoppen omdat er dan geen RuBP meer is om CO₂ aan te binden. Een deel van de geproduceerde suikerfosfaten wordt daarom gebruikt om nieuwe RuBP te maken. Deze aanmaak van RuBP gebeurt in de Calvin cyclus. Bij hoog licht, en zeker bij hoog CO₂, kan de aanmaak van RuBP snelheidsbeperkend worden. In transgene tabak hebben Price *et al.* (1998) als aangetoond dat het elektronentransport tussen PSII en PSI de beperkende factor is voor de regeneratie van RuBP. Verhoging van bv. cytochrome b6 in de chloroplast (zie 3.3.1.2) zou de maximale fotosynthese bij hoog CO₂ kunnen verhogen.

17. Verhoging van RUBP regeneratie door hoger elektronentransport zou de maximale fotosynthese kunnen verhogen.

Fotorespiratie is een essentieel proces in de plant (Reumann & Weber, 2006) en sterk verweven met stikstofmetabolisme en mitochondriële ademhaling. Veel fotorespiratiemutanten bij *Arabidopsis* zijn alleen onder verhoogd CO₂ levensvatbaar. Volledige onderdrukking van fotorespiratie is dus ongewenst, maar hoeveel fotorespiratie nodig is voor een gezonde plant is niet bekend.

18. Bij 350 ppm CO₂ gaat 20-30% van de opgenomen CO₂ verloren via fotorespiratie.

I.3.4 Niet-assimilatoire reacties

Dit zijn reacties die waarbij Ferredoxine en/of NADPH betrokken is voor de reductie van metabolieten. Een kwantitatief belangrijk proces is de reductie van nitraat tot ammonium in de chloroplast. Recentelijk hebben Yin *et al.* (2006) geschat dat ca. 10% van de in de lichtreacties gegenereerde elektronen voor nitraatreductie nodig kunnen zijn. Deze elektronen zijn niet beschikbaar voor de reductie van CO₂. Niet-assimilatoire reacties zorgen er voor dat de relatie tussen PSII elektrontransport en CO₂ opname niet altijd constant is.

I.3.5 Export van gevormde suiker

Het omhullende membraan van de chloroplast (de 'envelop') is impermeabel voor suikers maar bevat wel een transporteiwit voor triose-P. Triose-P is daarom het eindproduct van de fotosynthese in de chloroplast. Dit transporteiwit, de fosfaat-translocator, is een z.g. 'antiporter' die triose-fosfaat in het stroma uitwisselt tegen fosfaat in het cytoplasma. In het cytoplasma wordt uit triose-P suiker gevormd waarbij het fosfaat vrijkomt en weer tegen triose-P in het stroma uitgewisseld kan worden. Op deze manier blijft het fosfaatiniveau in de chloroplast gehandhaafd, zodat fosforyleringsreacties in de chloroplast (vorming van ATP!) door kunnen blijven gaan.

Onder condities waarin de fotosynthese in de chloroplast meer triose-P vormt dan er kan worden geëxporteerd naar het cytoplasma, wordt er zetmeel gevormd in de chloroplast. Dit zetmeel hoopt op en wordt 's nachts afgebroken tot maltose en glucose dat geëxporteerd wordt naar het cytoplasma (Sharkey *et al.* 2004). De ophoping van suikers leidt bij veel plantensoorten tot de inductie van anthocyaanvorming ('paarse koppen'). Hierdoor ontstaat ook een negatieve feedback op de fotosynthese. Als de paarse koppen optreden is de belichting minder efficiënt. De tuinder kan dan kiezen voor een strategie waarbij de belichting verminderd wordt of waarbij de afvoer naar de sinks verhoogd wordt door hogere (nacht)temperaturen. Sucrose is, bij *Arabidopsis*, de meest effectieve vorm van suiker voor de inductie van de anthocyaanvorming (Teng *et al.* 2005).

19. Ophoping van suikers kan leiden tot vorming van anthocyaan ('paarse koppen')

Een viertal enzymen in deze afbraakroute van zetmeel wordt 's nacht aangemaakt onder invloed van genen die aangeschakeld worden door de inwendige biologische klok (Harmer *et al.* 2000). De mobilisatie van zetmeel vanuit de chloroplast naar de cel vindt dus pas plaats als de biologische klok de enzymen aanschakelt.

20. Afbraak van zetmeel wordt gestuurd door een inwendige biologische klok.

Bijlage II.

Aanpassingen aan licht

Voor een goede werking van de fotosynthese is een goede onderlinge afstemming van deze deelprocessen een vereiste. Deze afstemming vindt op verschillende niveaus plaats: fysiologisch, biochemisch en genetisch. Alleen de eerste twee niveaus zijn voor de tuinder belangrijk. De genetische aanpassing is meer een zaak voor de veredelaar.

Planten zitten met een dilemma opgescheept. Bij weinig licht moet het licht efficiënt benut worden om veel CO₂ te kunnen vastleggen voor een goede groei, maar als even later de zon schijnt loopt de plant kans dat er allerlei schadelijke vormen van zuurstof ontstaan. Planten moeten in beide situaties goed kunnen functioneren.

Het zijn niet de afzonderlijke klimaatfactoren (licht, temperatuur, CO₂, luchtvochtigheid) die van belang zijn, maar vooral ook de balans tussen deze klimaatfactoren en de capaciteiten van de plant. De balans tussen ingevangen licht en verwerkingscapaciteit wordt door een aantal processen bepaald:

1. lichtinvang door het blad
2. omzetting van lichtenergie in fotosynthese en warmte

Als er meer licht ingevangen wordt dan dat er nuttig gebruikt kan worden in de fotosynthese of onschadelijk gemaakt kan worden via omzetting in warmte, treedt er beschadiging op in de vorm van foto-inhibitie (inactivatie van PSII) en foto-oxidatie (bleking of vergeling). Zolang de herstelcapaciteit van de plant voldoende is, leidt dit niet tot zichtbare symptomen. Pas wanneer de herstelcapaciteit te kort schiet, ontstaan zichtbare symptomen.

II.1 Lichtinvang door het blad

II.1.1 Bladstand

Passieve bewegingen. Als gevolg van een tekort aan water zullen planten verwelken en bladeren zonder secundaire verdikkingen van de celwand zullen slap gaan hangen. Dit zorgt ervoor dat de hoek met de zon groter wordt en er minder licht ingevangen wordt. Voorbeelden van planten met deze eigenschappen zijn kruidachtige soorten, bv. zonnebloem, tomaat, komkommer en veel grassoorten. Nadeel van dit mechanisme is dat ook de huidmondjes dicht gaan en de fotosynthese stopt.

Actieve bewegingen. Planten met bladeren die een pulvinus (scharniermechanisme) hebben, kunnen de bladstand actief regelen. Het draaipunt voor de bladbeweging is de pulvinus, een verdikking op het punt waar bladsteel en bladschijf bij elkaar komen. Het mechanisme is gebaseerd op volumeveranderingen in de pulvinus, waarbij waarschijnlijk de 'blauw licht receptor' en fytochroom betrokken zijn. We onderscheiden 2 soorten beweging: nastieën en tropieën. In geval van een nastie wordt alleen de intensiteit, maar niet de richting van de beweging door de prikkel bepaald. In het geval van een tropie wordt zowel de intensiteit als de richting van de beweging bepaald door de prikkel.



*Figuur 14. Voorbeeld van een nastische beweging. Tijdens een korte periode in vol zonlicht (zonnevlek) kan de schaduwplant *Oxalis oregana* snel (10 min) de bladeren naar beneden kan wegvouwen om een te hoge lichtintensiteit te vermijden. Na het verdwijnen de zonnevlek brengt de plant het blad langzaam (60 min) weer horizontaal. Het blad blijft tijdens deze periode volledig turgescient. Foto: Calflora.*

Om dat de mate van vouwing evenredig is van de lichtintensiteit, is dit mechanisme heel effectief in het voorkomen van overbelichting door direct licht. Voor hoge teelten zou dit mechanisme interessant kunnen zijn om bij hoog licht meer licht in de onderste lagen van het gewas te krijgen. Dit vergt fundamenteel onderzoek om na te gaan of dit via standaard veredelings technieken kan of dat GMO technieken nodig zijn.

II.1.2 Bladreflectie

De reflectie van het blad kan door de vorming van met lucht-gevulde haren/trichomen of afzetting zoutkristallen op het blad aanzienlijk toenemen. Dit kan zich uiten als een witte waas over het blad tot zelfs een bijna wit worden van het blad. De vorming van de haren is afhankelijk van de omstandigheden tijdens de aanleg van de haren, maar door uitdroging van de haren (irreversibel proces) kan de reflectie sterk vergroot worden. Hiermee wordt de lichtinvang irreversibel beperkt.

II.1.3 Chloroplastbewegingen

Door gebruik te maken van het z.g. 'zeef-effect' kan de hoeveelheid licht die door de chloroplasten geabsorbeerd wordt aangepast worden. Bij laag licht liggen de chloroplasten in een vlak loodrecht op de richting van het licht, bij hoog licht meer in vlak evenwijdig aan licht (in elkaars schaduw). In *Oxalis oregana* resulteert dat in een hogere absorptie van het blad onder condities waarin het licht optimaal benut moet worden. Ook hier speelt waarschijnlijk de blauw-licht receptor een rol.

II.1.4 Pigmentsamenstelling

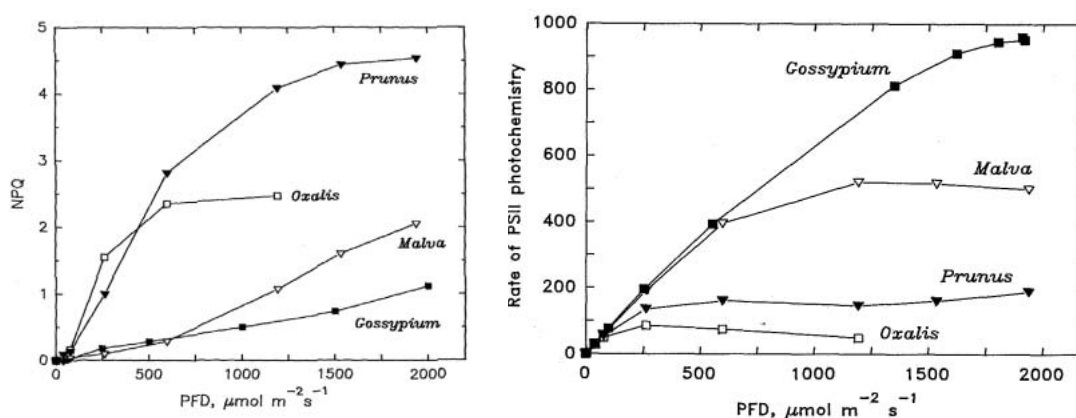
Alhoewel volgroeide bladeren hun pigmentsamenstelling binnen een paar dagen kunnen aanpassen aan een verandering in omstandigheden, draagt dit bij groene en donkergroene bladeren niet veel bij aan de vermindering van de lichtinvang. In deze bladeren is de hoeveelheid chlorofyl niet beperkend voor de lichtinvang. Pas bij een flinke afname in chlorofyl (chlorose) wordt er minder licht ingevangen.

21. Veredeling van glastuinbouwgewassen op adaptieve lichtinvang zou kunnen leiden tot gewas met flexibele lichtverdeling in gewas voor een betere CO₂ benutting.

II.2 Omzetting lichtenergie in fotosynthese en warmte

II.2.1 Omzetting lichtenergie in warmte in PSII (NPQ)

In hogere planten komen drie vormen van het pigment xanthofyl voor in de antenne van PSII: violaxanthine, anteraxanthine en zeaxanthine. De stoffen kunnen door epoxidatie of de-epoxidatie in elkaar omgezet worden met behulp van twee enzymen: een epoxidase resp. de-epoxidase. De warmteverliezen in het chlorofyl zijn evenredig met de epoxidatiegraad $EPS=(V+0.5A)/(V+A+Z)$. Als het lumen zuur wordt (bij veel licht en/of lage fixatie van CO_2) neemt de epoxidatiegraad en dus de warmteverliezen in de antenne toe en wordt de efficiëntie van het PSII elektrontransport lager. Op deze manier is er een negatieve terugkoppeling van de donkerreacties op het PSII elektrontransport.



Figuur 15. Lichtafhankelijkheid van NPQ (links) en ETR (rechts) van een aantal plantensoorten. Bron: Björkmann and Demmig-Adams (1994).

Figuur 15 illustreert het resultaat van deze terugkoppeling bij een aantal verschillende planten. De figuur toont de NPQ (links) en de ETR (rechts) als functie van de lichtintensiteit van een aantal plantensoorten die meer of mindere zijn aangepast aan veel licht. De ETR waarden bij hoog licht reflecteren de standplaats van de plant: *Oxalis oregana* is een schaduwplant en heeft de laagste ETR; de zonneplant katoen (*Gossypium*) heeft de hoogste ETR en *Prunus ilicifolia* (halfschaduw) en *Malva parviflora* (houdt van de zon) liggen er tussen. Het blijkt dat de planten die aan de hoogste lichtintensiteiten zijn aangepast en de hoogste ETR vertonen en ook de minste warmte in de antenne verliezen.

II.2.2 Vastlegging in metabolieten

Alle processen in de plant die energie vragen in de vorm van NAD(P)H of ATP dragen bij aan de verwerkingscapaciteit van lichtenergie. Verreweg de voornaamste route voor het verwerken lichtenergie is natuurlijk de CO_2 -fixatie, maar andere kwantitatief belangrijke routes zijn fotorespiratie en de reductie van zuurstof (Mehler-reactie). Ook de reductie van nitraat tot ammonium en reductie van sulfaat tot sulfide leveren een beperkte bijdrage aan de verwerking van lichtenergie. Alleen als de aanvoer van CO_2 vanuit de buitenlucht naar de chloroplasten belemmerd wordt door het sluiten van de huidmondjes (bv. watergebrek) kan er minder energie in de fotosynthese vastgelegd worden en gaan de andere processen een rol spelen bij de dissipatie van lichtenergie.

II.3 Foto-inhibitie

Als de capaciteit bovenbeschreven beschermingsmechanismen overschreden wordt, is één van de eerste gevolgen beschadiging van PSII (foto-inhibitie). Door een nog niet opgehelderd mechanisme ontstaat er een beschadiging in het reactiecentrum van PSII waardoor de excitatie-energie van P680 volledig in warmte omgezet wordt. Hierdoor stopt het elektrontransport. De schade ten gevolge van foto-inhibitie kan beschouwd worden als de weerspiegeling het evenwicht tussen een drietal processen: i) foto-inhibitie, d.w.z. beschadiging van het reactiecentrum van PSII waardoor elektrontransport niet meer mogelijk is, ii) afbraak en verwijdering van essentiële PSII eiwitten en iii) synthese en herinbouw van deze eiwitten in PSII. Het percentage beschadigde PSII is eenvoudig te meten met chlorofyl fluorescentie (F_v/F_m : maximale efficiëntie PSII).

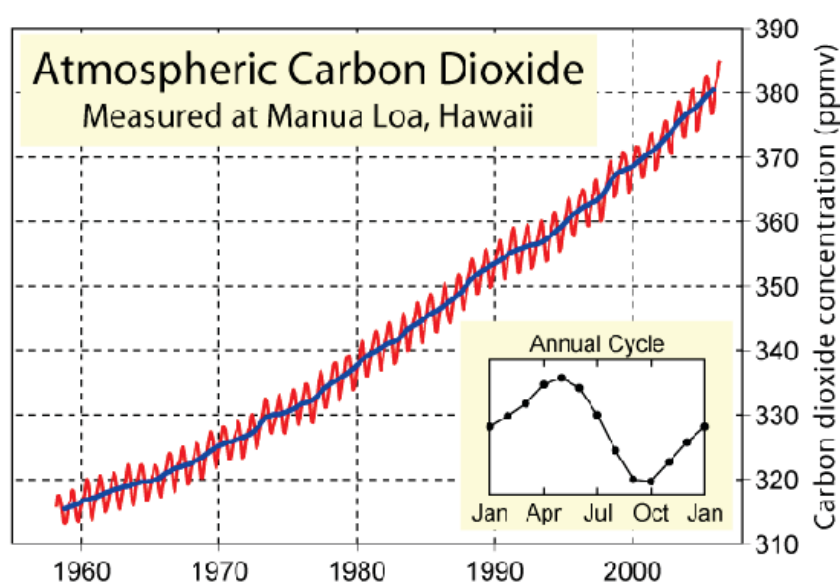
Bijlage III.

Het klimaat in de kas

Het klimaat in de kas is niet statisch maar dynamisch. Het klimaat varieert, zowel ruimtelijk als in de tijd.

III.1 Tijd

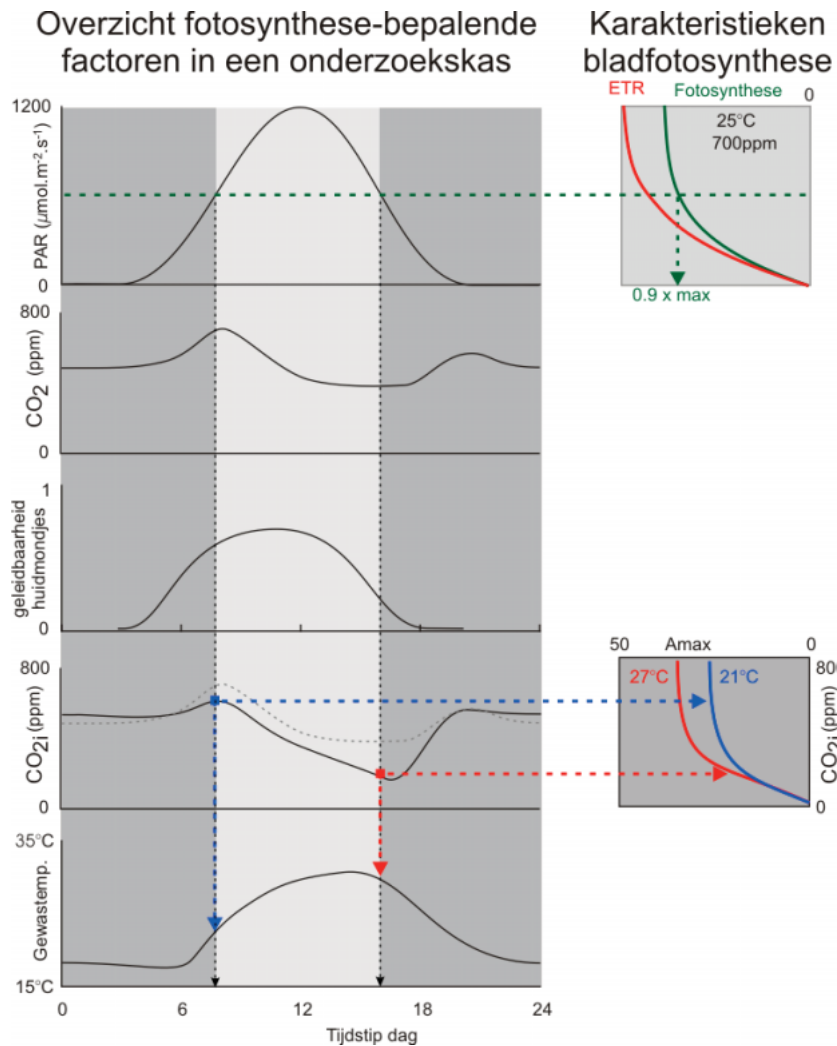
Het klimaat verandert. De CO₂ concentratie in de lucht neemt de laatste decennia toe met ca. 1.5 ppm per jaar. Dat betekent dat in 2020 de CO₂ concentratie ongeveer 400 ppm zou bedragen. De verwachting is echter dat deze stijging de komende jaren nog sneller zal gaan. Rond 2060 zal mogelijk de 500 ppm bereikt worden (Meehl and Stocker, 2007).



Figuur 16. CO₂ concentratie op de Mount Manua Loa gedurende de afgelopen 40 jaar.

Daarnaast zijn er snellere variaties. In een kas varieert het klimaat gedurende het jaar, maar ook tijdens de dag. Binnen het gewas treden er bijvoorbeeld extra variaties in licht op door kleine bewegingen van het gewas. De productie van het gewas is uiteindelijk een som van als deze variërende factoren.

Figuur 17 geeft een voorbeeld van het dagelijkse klimaat op een heldere dag in de zomer in een (onderzoeks)kas met tomaat. Het effect van het openen van de ramen (verticale stippellijn) heeft een duidelijk effect op het klimaat.



Figuur 17. Voorbeeld van het klimaat in een kas onder zomerse omstandigheden. PAR, CO₂, geleidbaarheid en gewastemperatuur zijn afkomstig van experimenten in onderzoekskas. De CO_{2i} en de karakteristieken van de bladfotosynthese fictief, gebaseerd op typische waarden voor tomaat.

Figuur 17 geeft aan dat op een zomerse dag de fotosynthese gedurende een langere periode verzadigd kan zijn (lichtgrijze gebied in de figuur). Toch is binnen dat gebied er nog een groot verschil in klimaat. In het begin is er sprake van een relatief lage temperatuur in combinatie met een hoge CO₂ concentratie en een hoge lichtintensiteit. Onder die omstandigheden is het gewas productief. Later op de dag is de situatie heel anders, met een hogere temperatuur en een door de ventilatie lagere CO₂. Gecombineerd met mogelijk gedeeltelijk gesloten huidmondjes en limitaties in de verwerking van fotosyntheseproducten, verkeert het gewas fysiologisch gezien, in een totaal andere toestand. Dat blijkt ook uit de inzet van Figuur 16 die laat de relatie zien tussen fotosynthese en de interne CO₂ concentratie in het blad. 's Morgens (blauwe lijn) is de fotosynthese beperkt door de capaciteit van het gewas (bijvoorbeeld openingstoestand van de huidmondjes). 's Middags wordt het gewas door de beschikbare CO₂ beperkt.

Voor een maximale CO₂ efficiëntie is dus niet alleen de CO₂ concentratie van belang, maar ook het moment (fysiologische status van het gewas) waarop die toegediend wordt. Deze fysiologische status is alleen goed te bepalen met apparatuur waarmee fotosynthese, verdamping en electrontransport gemeten kunnen worden.

Bijlage IV.

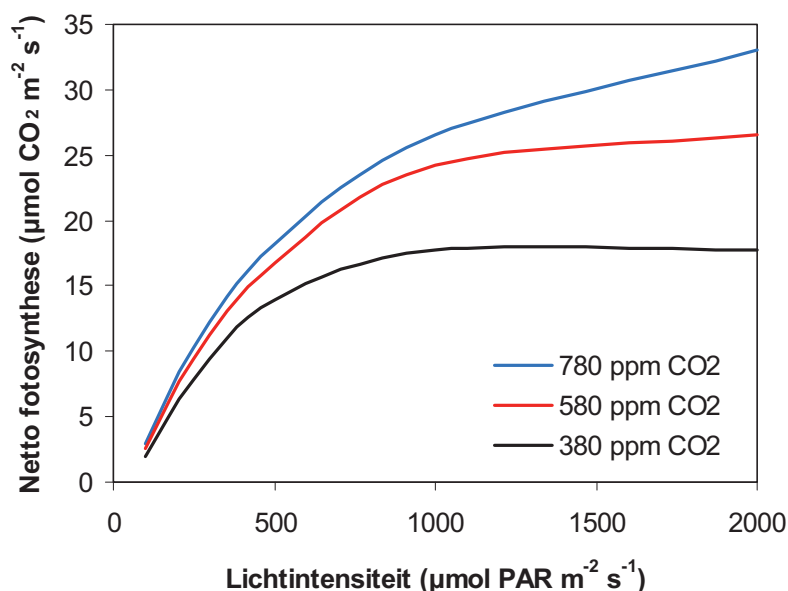
CO₂ afstemmen op andere factoren

IV.1 CO₂ afstemmen op klimaatfactoren

Onderstaand wordt per klimaatfactor een overzicht gegeven van de relatie tussen deze factor en de fotosynthese, en eventuele aanpassingen in de tijd.

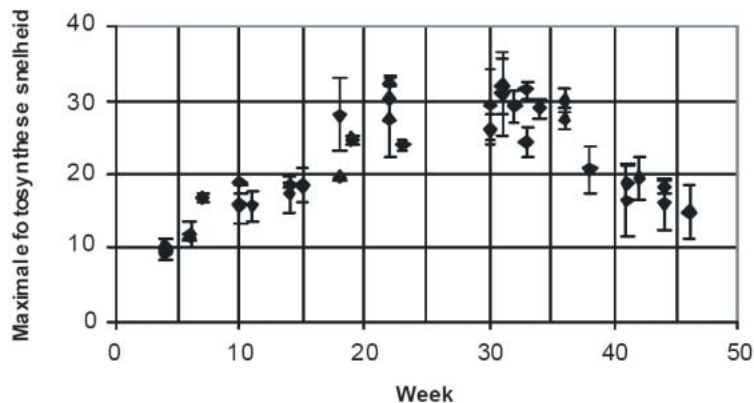
Licht

Fotosynthese van een blad neemt toe met toenemende lichtintensiteit, totdat licht niet meer beperkend is. Dan bereikt de fotosynthese een maximum, dat verder verhoogd kan worden door bijvoorbeeld de CO₂ concentratie te verhogen.



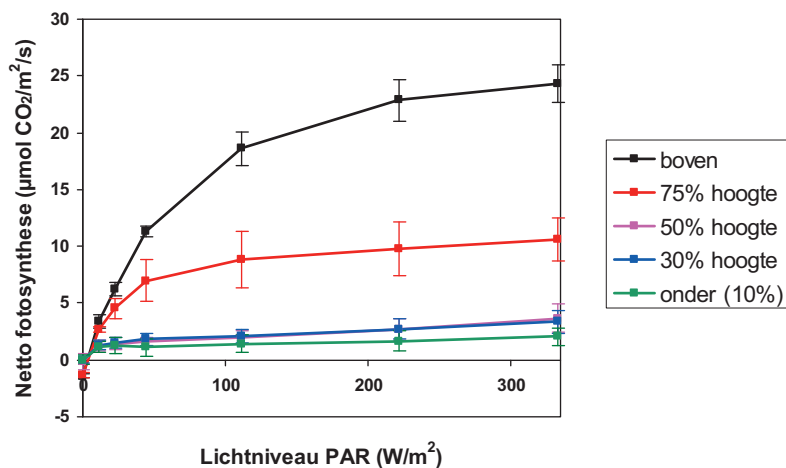
Figuur 18. Lichtresponscurves van de fotosynthese bij verschillende CO₂ concentraties. Bron: Dieleman et al., 2003.

Planten meten de hoeveelheid licht en kunnen, binnen soortafhankelijke grenzen, zorgen dat het fotosyntheseapparaat aangepast is aan de heersende omstandigheden. Bij tomaat werd gedurende het jaar fotosynthese van bovenste bladeren onder vaste omstandigheden gemeten. Daaruit bleek dat de maximale fotosynthesesnelheid in de eerste helft van het jaar een toename liet zien en in de tweede helft van het jaar een afname (Figuur 19). In de zomer bleek de maximale fotosynthese bijna 3 maal zo hoog te zijn als in de winter. Deze veranderingen vinden plaats in een tijdstraject van enkele dagen.



Figuur 19. Maximale fotosynthesesnelheid in de loop van het groeiseizoen 2001 voor de bovenste bladlaag in een tomatengewas. Bron: Van den Boogaard et al. (2003).

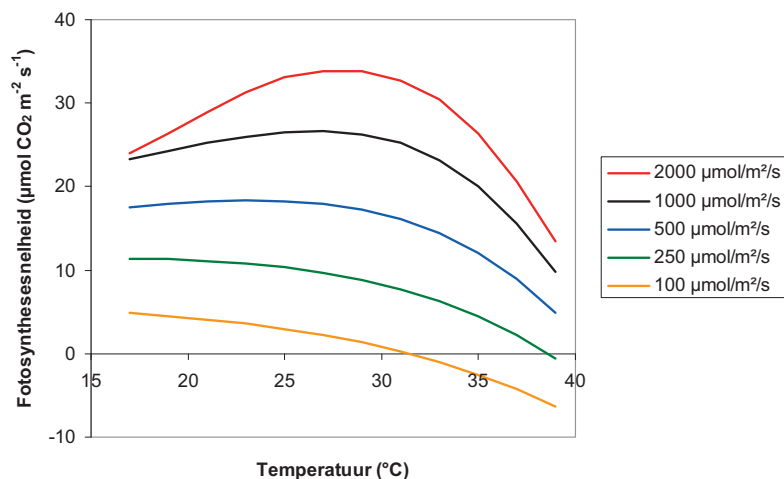
In een aantal glastuinbouwgewassen loopt gedurende de teelt de hoeveelheid blad sterk op. In bijvoorbeeld paprika, kan de LAI (leaf area index, m² blad per m² grondoppervlak) aan het einde van het teeltseizoen oplopen tot 8. Onder die omstandigheden onderscheppen de bovenste bladeren bijna al het licht, waardoor de lager gelegen bladeren nauwelijks meer licht ontvangen. Zij ontwikkelen zich dan van 'zonnebladeren' tot 'schaduwbladeren' die niet meer efficiënt gebruik kunnen maken van hoge lichtintensiteiten (Figuur 20).



Figuur 20. Lichtresponscurves van de fotosynthese van paprikabladeren gemeten op 5 verschillende hoogtes in het gewas met een LAI van ongeveer 6 m²/m². Bron: Dueck et al., 2005.

Temperatuur

Er bestaat een interactie tussen de temperatuur, de lichtintensiteit en de CO₂ concentratie met betrekking tot de netto fotosynthesesnelheid. Uit fotosynthesemetingen en berekeningen met een groeimodel blijkt dat de netto fotosynthesesnelheid bij lage lichtintensiteiten afneemt met toenemende temperatuur. Bij temperaturen boven de 30 °C is de ademhaling zo hoog dat de netto fotosynthese zelfs negatief wordt bij 100 mol m⁻² s⁻¹ licht. Naarmate de lichtintensiteit toeneemt, verschuift het optimum van de fotosynthesecurve naar hogere temperaturen.



Figuur 21. Temperatuurreponscurve van de netto bladfotosynthesesnelheid berekend met een gewasgroeimodel bij lichtintensiteiten oplopend van 100 naar 2000 $\mu\text{mol PAR m}^2 \text{ s}$. Bron: Dieleman *et al.*, 2003.

Luchtvochtigheid

Uit metingen in productiekassen blijkt dat op zonnige dagen waterstress kan optreden. Op dat moment gaan de huidmondjes dicht en wordt de fotosynthese sterk geremd. De fotosynthese en de fotorespiratie houden elkaar in evenwicht: de in de fotosynthese vastgelegde CO_2 wordt in de fotorespiratie weer afgegeven (Cornic and Fresnau 2002). Deze cyclus verbruikt ATP en NADPH en daarom kan het elektronentransport doorgaan. Als de fotorespiratie slecht verloopt, bv door stikstofgebrek, lijkt schade door foto-inhibitie een probleem te kunnen worden (Hymus *et al.* 2007).

CO_2

Langdurige blootstelling aan hoog CO_2 verhoogt de fotosynthese, maar verlaagt de stomataire geleidbaarheid. Daardoor vermindert de verdamping en het watergebruik. Deze experimenten zijn uitgevoerd aan planten in het veld (Ainsworth and Rogers 2007). Het is niet duidelijk of dit effect optreedt in bestaande bladeren of alleen in nieuw aangelegde bladeren.

Stikstof

Stikstof kan als ammonium (NH_3) of als nitraat (NO_3^-) aangeboden worden. Omdat de plant uiteindelijk NH_3 gebruikt voor de opbouw van aminozuren en eiwitten, moet NO_3^- eerst in de chloroplast gereduceerd worden tot NH_3 . De hiervoor benodigde elektronen zijn afkomstig van Ferredoxine. De fractie elektronen die voor NO_3^- reductie gebruikt wordt bedraagt naar schatting minder dan 10% (Yin *et al.*, 2006). Gebruik van NO_3^- als stikstofbron zorgt dus voor een verlaging van de efficiënte van de CO_2 assimilatie. Gebruik van NH_3 als stikstofbron is echter niet zondermeer mogelijk. NH_3 is namelijk giftig en leidt tot kleinere bladeren, groeiremming en kleinere wortels. De maximale fotosynthese per cm^2 blad gaat echter omhoog. Bij hoge CO_2 concentratie kan dat een tot een toename in gewasfotosynthese leiden (Guo 2007). Een tweede effect van stikstof treedt op in geval van N-limitering. In dat geval is er een grotere gevoeligheid voor foto-inhibitie (Hymus *et al.* 2001, Takahashi 2007)

Zuurstof

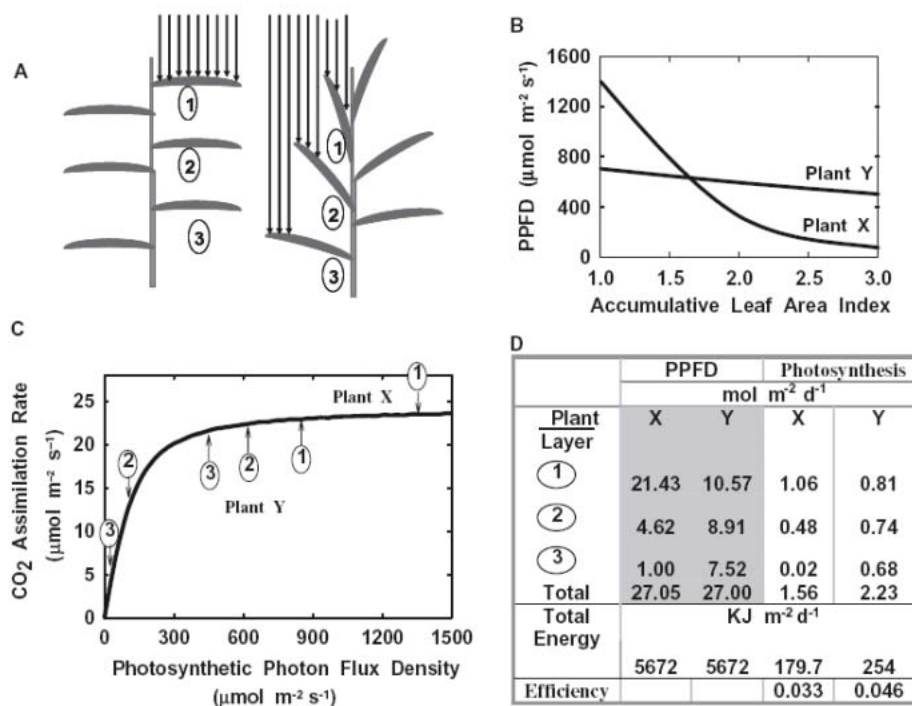
Zuurstof verlaagt de efficiënte van de CO_2 benutting via fotorespiratie. Dit effect kan tegen gegaan worden door een hoge CO_2 concentratie. Dat is het belangrijkste voordeel van hoog CO_2 in de kas. Het is de verhouding tussen CO_2 en O_2 die belangrijk is. Als CO_2 minder beschikbaar zou zijn in gesloten kassen, dan zou verlagen van O_2 de fotorespiratie kunnen remmen en de fotosynthese kunnen stimuleren. Verlagen van O_2 geeft echter niet hetzelfde

als verhoging van CO₂ omdat de lagere CO₂ concentratie er voor zorgt dat de fotosynthese bij hoog licht beperkt wordt door de aanvoer van CO₂.

Daarnaast kan zuurstof als electronenacceptor fungeren in pseudocyclisch electronentransport. Dit resulteert in een stimulering van de ETR. Het effect is halfmaximaal bij 10.6% O₂ en de stimulatie t.o.v. 20% O₂ is maximaal een paar procent (Viil *et al.* 2006).

IV.2 Ruimte

Het klimaat is niet binnen het hele gewas gelijk. Licht, temperatuur, RV en CO₂ zijn afhankelijk van de architectuur en de activiteit van het gewas. De architectuur van een gewas heeft grote invloed op de productie. Long *et al.* (2006) geven een voorbeeld van de invloed van de gewasarchitectuur op de lichtbenuttingsefficiëntie van twee hypothetische gewassen en komen tot aanzienlijke verschillen (Figuur 22). Gewas X heeft alleen horizontaal blad, waardoor de bovenste bladlaag het meeste licht invangt, ten koste van de lager gelegen bladeren. In gewas Y staan de bovenste bladeren redelijk verticaal en de lager gelegen bladeren meer horizontaal. In gewas Y wordt het licht beter over de verschillende bladlagen in het gewas verdeeld en dat leidt tot een aanzienlijk hogere (0.046 vs. 0.033) efficiëntie.



Figuur 22. (A) Plant X heeft alleen horizontaal blad, waardoor de bovenste laag (1) het meeste licht invangt ten koste van lagen (2) en (3). Plant Y heeft meer verticale bladeren bovenin en meer horizontaal onderin. Deze architectuur zorgt voor een betere verdeling van het licht over het gewas. (B) Berekende lichtinstraling (PAR) om 12 uur voor plant X en plant Y bij de verschillende bladlagen, uitgedrukt als cumulatieve leaf area index. (C) Lichtrespons curve van de fotosynthese. De omhooggerichte pijlen geven de gemiddelde instraling (PPFD) van de drie bladlagen van plant Y, en de pijlen omlaag die van plant X. (D) Fotosynthese (CO₂ opname) van de drie bladlagen in planten X en Y gemiddeld over de dag. De efficiëntie is berekend als de energie-inhoud van de vastgelegde koolhydraten gedeeld door de door het gewas geabsorbeerde hoeveelheid licht.

Het is een hypothetisch voorbeeld waarop het nodige is aan te merken. Het voorbeeld gaat over de akkerbouw. In de glastuinbouw is natuurlijk al veel gedaan aan optimalisatie van het gewas, niet alleen via veredeling maar ook door teeltmaatregelen. Daarnaast houdt het voorbeeld geen rekening met het feit dat het fotosyntheseapparaat zich aanpast aan laag licht.

Het voorbeeld laat echter wel goed zien wat de effecten van extra CO₂ op de planten X en Y zullen zijn. In plant Y is het gehele gewas lichtverzadigd en zal extra CO₂ tot een toename in fotosynthese leiden. In plant X is alleen de bovenste laag lichtverzadigd. De lagere bladlagen profiteren in mindere mate van de extra CO₂. Dit houdt in dat de efficiëntie van de CO₂ dosering in Y zal hoger zijn dan die bij X.

De plant- en gewasarchitectuur heeft dus een duidelijke invloed op licht- en fotosyntheseverdeling binnen het gewas en op de efficiëntie van het CO₂ gebruik.

22. Gewasarchitectuur beïnvloedt de efficiëntie van CO₂ via lichtonderschepping.

De verdeling van klimaatfactoren als licht, temperatuur en luchtvochtigheid in het gewas kunnen naast aanpassingen in de gewasarchitectuur ook gewijzigd worden door veranderingen in kasdekmaterialen, schermen, rijstructuur en bijbelichten tussen het gewas. In een hoogopgaand gewas zoals bijvoorbeeld tomaat of komkommer is de verticale lichtverdeling niet optimaal. De bovenste bladeren onderscheppen veel licht. De diepere lagen van het gewas ontvangen minder licht, zodat de onderste bladeren nauwelijks bijdragen aan de fotosynthese en groei. Uit een proef (Hemming *et al.*, 2007) waarin komkommer onder een helder en een diffuus kasdek materiaal geteeld werd bleek dat de productie positief werd beïnvloed door diffuus licht. Door licht diffuus te maken, dringt het dieper in het gewas door. Dit leidde bij komkommer tot meer lichtonderschepping door de middelste bladlagen en tot een hogere fotosynthesesnelheid bij een vaste hoeveelheid licht. De verwachting is dat het feit dat de middelste bladlagen geteeld onder diffuus kasdek een hoger gehalte aan Rubisco bevat, hetgeen de verschillen in fotosynthese en productie veroorzaakt (Hemming *et al.*, 2007).

23. Lichtdoordringing dieper in het gewas verhoogt de efficiëntie van gedoseerd CO₂

IV.3 Afstemmen van ventilatie op CO₂ dosering

In paragraaf 5.2 zijn de effecten van temperatuur, licht en CO₂ concentratie op de fotosynthese beschreven. In een kas hangen al deze klimaatfactoren echter samen. Als er veel licht is zal het in de kas al gauw zo warm worden dat de ramen open moeten. De beschikbare CO₂ doseercapaciteit is dan al gauw niet meer voldoende om een hoge concentratie te handhaven. Gecombineerd met het gegeven dat het gewas een bepaalde optimale temperatuur voor de fotosynthese heeft, ontstaat er dan een tegenstrijdigheid tussen de wens om een hogere concentratie aan te houden (en dus minder te ventileren) en een gunstige temperatuur (meer ventileren).

Als ook nog wordt meegenomen dat het doseren op het ene moment invloed heeft op de hoeveelheid CO₂ die op een ander moment kan worden gedoseerd wordt het probleem nog complexer. Er is immers op dagbasis een beperkte hoeveelheid CO₂ en door middel van de buffer-vulcurve heb je als tuinder invloed op de periode waarin de meeste CO₂ wordt toegediend. Hierbij moet dan een afweging worden gemaakt of het doseren midden op de dag, waarbij veel CO₂ verloren gaat door de geopende ramen, toch efficiënter is dan doseren aan het begin of einde van de lichtperiode. In die randen van de dag blijft de concentratie hoger, maar is de lichtintensiteit lager.

Door WUR Glastuinbouw is een simulatiemodel ontwikkeld waarmee het effect van de CO₂ doseerstrategie op de fotosynthese van het gewas berekend wordt. Hierbij wordt het positieve effect van CO₂ afgewogen tegen de verliezen aan CO₂ door ventilatie. Dit resulteert in een optimale doseerstrategie, waarbij elke kilo gedoseerd CO₂

zoveel mogelijk rendement op levert. Het rekenprogramma kan worden gedownload vanaf www.glastuinbouw.wur.nl/NL/diensten.

24. Door met een model een optimale doseerstrategie voor CO₂ te berekenen, kan per kilo gedoseerd CO₂ een hogere fotosynthese gerealiseerd worden.

IV.4 Geconditioneerd telen

In de jaren negentig is een teeltconcept ontwikkeld voor de glastuinbouw waarin de kas 'volledig' gesloten werd. Kenmerk van de gesloten kas is dat er een klimaat gerealiseerd kan worden dat onafhankelijk is van het buitenklimaat, met uitzondering van de factor licht. Met behulp van verwarming, koeling, ontvochtiging en CO₂ dosering kunnen temperatuur, luchtvochtigheid en CO₂ concentratie in de kas naar de wensen van de teler gerealiseerd worden. Door in de zomer een deel van de warmte van de zon te oogsten, dit op te slaan en in de winter te gebruiken biedt dit concept grote mogelijkheden tot reductie van het gebruik van fossiele energie. In dit concept kan het kasklimaat volledig op de behoeften van het gewas afgestemd worden. Naast de gesloten kas zijn ook semi-gesloten kasconcepten ontwikkeld, die niet volledig gesloten zijn, maar waarin wel veel minder geventileerd wordt dan in open kassen.

In de (semi) gesloten kassen is de efficiëntie van elke kilo gedoseerde CO₂ hoog, omdat het verlies van CO₂ door ventilatie veel lager is dan in open kassen.

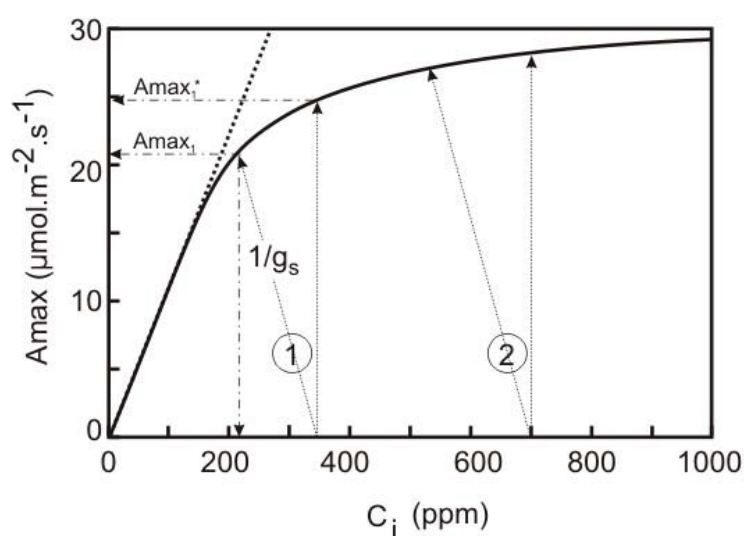
Bijlage V.

Analyse van fotosynthese

Voor een goede werking van de fotosynthese is een goede onderlinge afstemming van alle betrokken deelprocessen een vereiste. Simpele fotosynthesemetingen zijn niet voldoende om te weten welke van deze deelprocessen de fotosynthese beperken en welke niet. In de afgelopen jaren is apparatuur beschikbaar gekomen en zijn methoden ontwikkeld om deze deelprocessen in bladeren te kunnen meten.

V.1 Gaswisseling: A/C_i curve

Een veelgebruikte methode is om bij een vaste temperatuur en verzadigende lichtintensiteit de aangeboden CO₂ concentratie te variëren en de fotosynthese en de geleidbaarheid van de huidmondjes te meten. Uit de geleidbaarheid van de huidmondjes en de CO₂ opnamesnelheid (fotosynthese) kan de CO₂ concentratie in het blad (C_i) berekend worden. Als de fotosynthese als functie van C_i uitgezet wordt ontstaat een z.g. A/C_i curve (Figuur 23).



Figuur 23. Relatie tussen maximale fotosynthese A_{max} en C_i, de CO₂ concentratie in het blad. Op basis van zo'n meting kan bepaald worden waar de limitaties in de fotosynthese liggen. Geval 1 geeft de situatie weer bij een CO₂ concentratie van 350 ppm in de kas. Bij een C_i van 350 ppm zou de maximale fotosynthese A_{max}^{} bedragen. De diffusieweerstand 1/g_s zorgt er echter voor dat de interne CO₂ concentratie C_i afneemt met toenemende A_{max} (schuine lijn). Dat betekent dat de werkelijke waarde A_{max}₁ is. Bij de gebruikte g_s ligt die een stuk lager. In geval 2, een CO₂ concentratie van 700 ppm in de kas, is C_i ook wel lager, maar doordat C_i nagenoeg verzadigend is, is het effect van de diffusieweerstand op de A_{max} hier veel kleiner. De maximale fotosynthese bij een gegeven CO₂ concentratie wordt in het lineaire deel van de curve (laag CO₂) beperkt door de V_{max}^c van RUBISCO; bij hogere CO₂ (rechterdeel curve) door de vorming van RuBP (substraat voor CO₂ binding).*

In het lineaire deel van de curve (bij lage C_i) is de binding van CO₂ aan Rubisco de beperkende factor. Als de curve begint af te buigen, gaat ook de regeneratie van RuBP meespelen. Dat kan veroorzaakt worden door de lichtreacties

(electronentransport) of door donkerreacties (bv S). Tenslotte bij hoge C_i ontstaat een situatie waarbij de export van de geproduceerde triosefosfaten naar het cytoplasma de vorming van sucrose beperkend wordt.

Deze analyse is door Sharkey *et al.* (2007) geautomatiseerd zodat uit een gemeten A/C_i curve 5 belangrijke fotosyntheseparameters berekend kunnen worden: V_{max}^c (maximale carboxylatiesnelheid), J (snelheid fotosynthetisch elektronentransport), TPU (export van triosefosfaten), R_d (ademhaling) and g_m [geleidbaarheid huidmondjes).