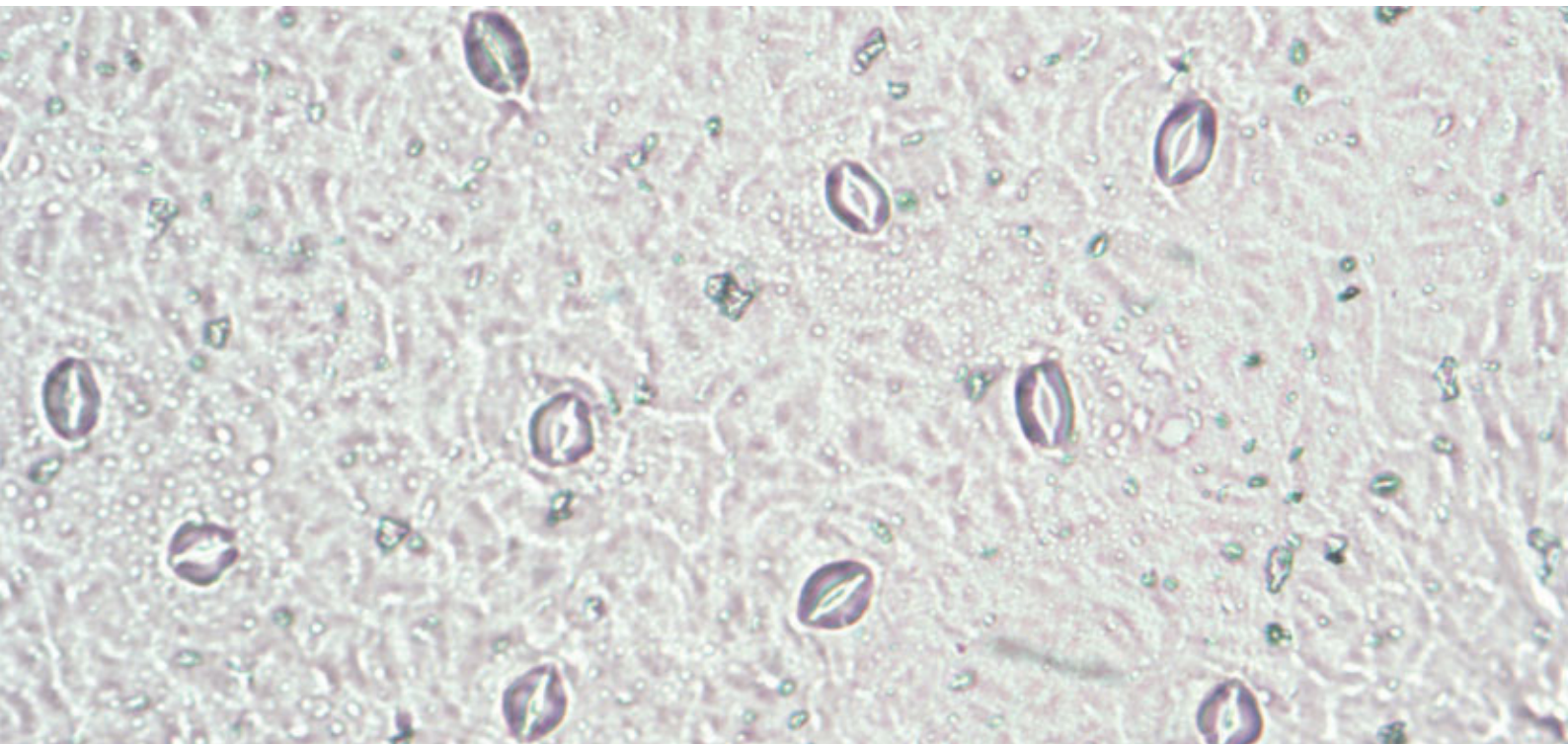


Huidmondjesopening

Onderzoek naar het meetbaar maken van de huidmondjesopening met als doel om de klimaatregeling mede daarop te baseren

H.J. van Telgen, J.O. Voogt, M. Warmenhoven & P.A. van Weel





Huidmondjesopening

Onderzoek naar het meetbaar maken van de huidmondjesopening met als doel om de klimaatregeling mede daarop te baseren

H.J. van Telgen², J.O. Voogt¹, M. Warmenhoven² & P.A. van Weel²

¹ Hoogendoorn Growth Management, Vlaardingen

² Wageningen UR Glastuinbouw, Bleiswijk

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

Hoogendoorn Growth Management

Adres : Westlandseweg 190
: Postbus 108, 3130 AC Vlaardingen
Tel. : 010 - 460 80 80
Fax : 010 - 460 80 00
E-mail : info@hoogendoorn.nl
Internet : www.hoogendoorn.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Samenvatting	1
1 Inleiding	3
1.1 Probleemstelling	4
1.2 Doelstelling	4
1.3 Vooronderzoek	5
1.4 Opzet van het onderzoek	6
2 Materiaal en methoden	9
2.1 Plantmateriaal	9
2.2 Stomata meting met de stempelmethode	9
2.2.1 Oriënterende metingen	9
2.2.2 Praktijkmetingen aan tomaat bij De Grevelingen	10
2.2.3 Metingen aan tomaat bij Wageningen UR Glastuinbouw	10
2.3 Stomata metingen met de Porometer	10
2.4 Berekening stomata opening met de Hoogendoorn Stomatasensor	10
2.5 De Turgormeting	15
3 Resultaten en discussie	17
3.1 Oriënterende metingen met de stempelmethode	17
3.2 Metingen bij tomatenkwekerij Grevelingen ras 'Mecano'	18
3.3 Metingen Wageningen UR Glastuinbouw ras 'Amoroso'	20
3.3.1 Vergelijking porometermetingen en huidmondjesopening	22
3.3.2 Berekende waarden Wageningen UR Bleiswijk	22
3.3.3 Relatie met externe factoren	22
3.4 Resultaten turgormeting	24
3.5 Conclusies Stomata metingen	25
3.6 Discussie over meetmethoden	26
3.6.1 De Stempelmethode	26
3.6.2 De Porometer	26
3.6.3 De Hoogendoorn Stomatasensor	27
3.6.4 De Turgorsensor	27
3.7 Discussie over relatie huidmondjesopening, verdamping en CO ₂ -opname	28
4 Conclusies	29
4.1 Meten van huidmondjesopening	29
4.2 Porometer metingen	29
4.3 Beoordeling soft-sensor 'Stomatasensor'	29
4.4 Sturing op basis van de huidmondjesgeleiding	29
5 Discussie en aanbevelingen	31
6 Referenties	33
Bijlage I. Foto's huidmondjes Grevelingen van 11 oktober 2007	3 pp.
Bijlage II. Foto's huidmondjes Wageningen UR van 9 november 2007	3 pp.
Bijlage III. Foto's huidmondjes van 14 december 2007	1 p.

Samenvatting

Via de huidmondjes verlopen twee belangrijke plantprocessen: de verdamping en de CO₂-opname. Tot nu toe bestaat er geen instrument om het functioneren van die huidmondjes zodanig in beeld te brengen dat de klimaatregeling er op afgestemd zou kunnen worden. Daardoor is het theoretisch mogelijk dat de CO₂ concentratie in de kaslucht onnodig verhoogd wordt omdat de huidmondjes dicht staan. Ook is niet duidelijk welke effecten een bepaald vocht-deficit of een hoge kas of bladtemperatuur hebben op de CO₂-opname of de verdamping van het gewas. Daarmee worden de belangrijkste factoren voor plantengroei bestuurd zonder dat we in feite weten hoe goed of hoe slecht dit verloopt. In dit onderzoek is een nieuwe theoretische basis gelegd voor het functioneren van het huidmondje. Daarbij is de energiebalans het uitgangspunt, de wetmatigheid dat alle energie die op een blad terechtkomt er ook weer van zal verdwijnen via warmteoverdracht aan de omgeving, door verdamping en voor een klein deel voor het fotosynthese-proces. Het nieuwe inzicht over het functioneren van het huidmondje bestaat uit het feit dat verdamping en warmte-overdracht samen dus altijd bijna gelijk zijn aan de hoeveelheid ontvangen energie. Het huidmondje is een actief regelorgaan dat de verhouding tussen die twee componenten kan beïnvloeden. De stand van het huidmondje kan daarom worden afgeleid van de verhouding tussen energieoverdracht via verdamping en via warmteoverdracht. Omdat zowel de bladtemperatuur als de luchttemperatuur goed meetbaar zijn kan met een rekenmodel, een zogenaamde soft-sensor, de gemiddelde stand van de huidmondjes uitgerekend worden voor het gebied waarvan de temperaturen gemeten worden. Door middel van een nieuw ontwikkelde stempelmethode kon in enkele seconden een afdruk worden gemaakt van een huidmondje zonder de plant te beschadigen. Daarna konden aan de hand van microscoopbeelden van de afdrukken de openingen worden opgemeten. Helaas leverden beide methoden niet altijd overeenstemming op. De oorzaak daarvan moet worden gezocht in het feit dat de gebruikte meetmethode niet nauwkeurig genoeg was om hele kleine verschillen in huidmondjesopening in beeld te brengen. Huidmondjes laten net als schermdoeken al bij een kleine kieropening relatief veel water en CO₂ door. Verder vallen de verschillen in uitkomsten te verklaren door het feit dat bij de meting en de visuele waarneming maar een zeer klein deel van de huidmondjes wordt gemeten en bij de soft-sensor het gemiddelde wordt bepaald van alle huidmondjes die zich in de bovenste gewaslaag bevinden. Waarschijnlijk zal alleen het meten van de daadwerkelijke verdamping en de CO₂ opname van een groter aantal planten de nauwkeurigheid van de soft-sensor kunnen aantonen. Een fenomeen dat daarbij meer aandacht moet krijgen is de theorie dat de maximale doorlaat van CO₂ al bij hele kleine openingen optreedt terwijl voor de maximale doorlaat van waterdamp grotere openingen nodig zijn. De ontwikkelde methode om afdrukken te maken van de huidmondjes heeft alleen voor onderzoeksdoeleinden praktische waarde omdat deze zeer arbeidsintensief is. De beide methoden zijn ook nog vergeleken met de uitkomsten van een veelgebruikt meet-instrument, de Porometer, waarmee de verdampingssnelheid van een klein stukje blad kan worden bepaald. De correlatie tussen zowel de metingen van de stempel methode als die van de Porometer in vergelijking met de Hoogendoorn Stomata sensor is te wisselend om over een betrouwbare correlatie te spreken. Uit de metingen kwam verder naar voren dat huidmondjes een sterk heterogeen gedrag vertonen, en dat bovendien bij hetzelfde gewas, in dit geval tomaat, het aantal huidmondjes per oppervlakte-eenheid, en de afmetingen van huidmondjes sterk variëren. Zo waren de huidmondjes in Bleiswijk in vergelijking met een praktijkbedrijf kleiner maar kwamen ze wel in grotere aantallen per cm² voor.

Bestaande methoden van huidmondjesmeting en gewasverdampingsmodellen ter discussie

Doordat huidmondjesgedrag sterk heterogeen is en de bestaande meetmethoden voor huidmondjesgedrag, zoals de veel toegepaste Porometer een zeer plaatselijk resultaat opleveren zijn ze de facto ongeschikt als basis voor een klimaatregeling. Bovendien levert een separaat onderzoek van Hoogendoorn Growthmanagement, maar ook ander onderzoek bekend uit de literatuur, aanwijzingen dat de meetmethode van de Porometer een onjuiste indruk geeft van de huidmondjes geleiding. De reden hiervan is dat het te bemeten blad wordt geplaatst in een cuvet waar een andere energiebalans rond het blad wordt gecreëerd dan in de rest van de kas, waardoor ook de verdamping afwijkend en dus niet representatief is voor de rest van de plant, laat staan voor het gewas. Deze oorzaak van afwijkingen wordt in onderzoek en praktijk niet onderkend omdat de gangbare modellen voor gewasverdamping gebruik maken van de berekeningsmethode van Penman-Monteith waarin de energiebalans slechts voor een deel in rekening wordt gebracht. Dit verklaart overigens tegelijk waarom deze verdampingsmodellen vaak grote afwijkingen vertonen met de werkelijkheid. Het is dus wenselijk om door verder onderzoek hierover meer helderheid te krijgen.

De bevindingen over de betrouwbaarheid van de Porometer zijn ook van toepassing op de gebruikelijke meetapparatuur voor de bepaling van fotosynthese capaciteit. Dat vraagt om een nadere analyse van onze bevindingen. Omdat in dit onderzoek geen validatie van de Stomatasensor kon worden uitgevoerd en deze theoretisch de enig mogelijke weg lijkt om in een praktijksituatie de huidmondjesopening te bepalen, is het vinden van een andere methode om tot validatie te komen dringend gewenst. Kandidaten daarvoor zijn de kas-in-kas methode waarbij de gasstromen in een kleine ruimte rondom één of meerdere planten gemeten worden of een systeem gebaseerd op het wegen van plantgewicht en waterverbruik.

1 Inleiding

Klimaatregeling is tot nu toe gebaseerd op uitwendige factoren zoals kasttemperatuur, RV en CO₂-concentratie van de kaslucht. Een directe meting van het functioneren van de plant levert wellicht nieuwe inzichten op in de behoeften van de plant en de manier waarop je daar met de uitwendige factoren het beste op kunt inspelen. Het huidmondje is in feite de poort van de plant naar zijn omgeving. Daar vindt uitwisseling plaats van waterdamp, zuurstof en CO₂. De verdamping speelt een rol in de energie uitwisseling tussen plant en omgeving en zorgt ook voor aanvoer van water en nutriënten binnen in de plant. De CO₂-opname zegt iets over de hoeveelheid fotosynthese die wordt gerealiseerd bij een bepaalde hoeveelheid beschikbaar licht. In de glastuinbouw wordt veel aardgas verbruikt om de verdamping te stimuleren en de CO₂-concentratie van de kaslucht te verhogen. Door meting van de huidmondjesopening zijn beide processen wellicht beter te besturen waardoor een bijdrage wordt geleverd aan het zo zuinig mogelijk omgaan met energie.

Om de efficiëntie van CO₂-toediening te verhogen is het belangrijk om sluiting van de huidmondjes te voorkomen. Tegelijkertijd dient het klimaat zodanig te zijn dat door continu geopende huidmondjes geen overmatig vochtverlies plaatsvindt en dit ten koste gaat van de groei. Dit vraagt om andere instellingen van ondermeer temperatuur, licht en RV. Kassystemen als de (semi)gesloten of Aircokas lijken hiervoor geschikt wanneer een geavanceerd stuurprogramma het klimaat en CO₂-toediening regelt op basis van huidmondjesopening. Het is dan belangrijk dat de huidmondjesopening gemeten of betrouwbaar berekend kan worden op een zodanige wijze dat dit representatief is voor het gehele gewas. Deze meting moet dan wel daadwerkelijk een relatie hebben met de fotosyntheseactiviteit en de groei waardoor er feitelijk op de fotosynthese geregeld kan worden zonder deze zelf voortdurend te meten.

Doelstelling van het onderzoek

Het doel van het onderhavig onderzoek was tweeledig, namelijk enerzijds het ontwikkelen van een methode om huidmondjesopening te kunnen meten en kwantificeren (open, dicht en tussenliggende stadia), evenals het valideren van deze techniek m.b.t. betrouwbaarheid bij een aantal belangrijke tuinbouwgewassen, en anderzijds het onderzoeken van de mogelijkheden om op basis van het huidmondjes gedrag de klimaatregeling in kassen te verbeteren, door een optimale combinatie van temperatuur, vochtigheid, CO₂ als functie van het PAR niveau, waarbij de huidmondjesopening wordt gebruikt als directe feedback van het gewas. Dit onderzoeksverslag gaat vooral in op de vraag of het mogelijk is om in een praktijksituatie de huidmondjesopening daadwerkelijk te meten of te berekenen.

Opzet van het onderzoek

In eerste instantie was het de bedoeling om een huidmondjes meting te ontwikkelen op basis van digitale beeld-technieken, een methode waarvan de mogelijkheden in een vooronderzoek samen met Hoogendoorn Growth Management BV al waren verkend. Gaande het onderzoek is deze methode echter verlaten omdat de opening van blad tot blad en ook binnen een blad heel erg verschilt, afhankelijk van de beschikbaarheid van licht en water en daarom de beoogde methode niet geschikt is als basis voor een klimaatregeling. Bovendien bleek het erg moeilijk om op een geautomatiseerde wijze een scherpe opname te verkrijgen omdat het blad bestaat uit een zeer hobbelig oppervlak en de afmetingen van het huidmondje bijzonder klein zijn. Om die reden is door Hoogendoorn een alternatieve weg gezocht om de opening van het huidmondje te berekenen op basis van extern meetbare factoren. Deze zogenaamde soft-sensor met de naam 'Stomatosensor' is gebaseerd op de energiebalans van het gewas in relatie tot de kasomstandigheden en moet een real-time indicatie opleveren van het huidmondjes gedrag op gewasniveau.

Binnen het kader van het onderzoek is door Wageningen UR Glastuinbouw een nieuwe, non destructieve methode ontwikkeld, voorlopig 'de stempelmethode' genoemd, waarmee het mogelijk is om relatief nauwkeurig de stand van huidmondjes *in planta* te bepalen.

Om de huidmondjesopening te onderzoeken zijn hiermee op verschillende tijdstippen van de dag planten bemonsterd om het verloop over de dag in kaart te brengen, zowel in praktijkkassen, als in kassen van Wageningen UR Glastuinbouw te Bleiswijk. De metingen zijn vergeleken met die van een Porometer en voor zover mogelijk ook met die van de Hoogendoorn Stomatasensor.

1.1 Probleemstelling

Hoewel een deel van de glastuinbouw voor de toediening van CO₂ gebruik maakt van zuivere CO₂ wekt een groot deel van de bedrijven zelf CO₂ op. Vooral op momenten dat de warmte of de elektriciteitsvraag laag is, moet hiervoor (kostbaar) aardgas verstoekt worden. Daarbij speelt de vraag wat nu precies het juiste moment en het juiste niveau van CO₂ zijn om toe te dienen.

Veel instellingen zijn gebaseerd op ervaring en theorie zonder dat het directe effect van toediening op CO₂-opname, fotosynthese of groei gemeten is. Nu kassystemen onder invloed van toenemende energieprijzen en verhoogde emissie-eisen snel veranderen, blijkt deze ervaringskennis moeilijk toepasbaar op de veranderde verhoudingen tussen de klimaatfactoren. Enerzijds heeft verhoging van de CO₂-concentratie in een kas door het dichthouden van de luchtramen alleen zin wanneer de huidmondjes ver genoeg open staan om die CO₂ ook op te nemen. Anderzijds kunnen te hoog oplopende kastemperaturen of te veel instraling leiden tot een dusdanig hoge verdamping dat verwelking dreigt en de huidmondjes zich zullen sluiten. Overigens lijkt verhoogd CO₂ het fotosynthesesysteem te kunnen beschermen tegen schade veroorzaakt door hoge temperatuur (Taub *et al.*, 2000).

Veelal loopt toediening van CO₂ parallel met de lichtperiode, maar toediening van CO₂ op momenten dat de plant het niet kan opnemen, bijvoorbeeld omdat door ongunstige klimaatfactoren (droge lucht, hoge temperatuur) de huidmondjes gesloten zijn, is feitelijk kapitaalsvernietiging tenzij het de bedoeling is het CO₂-niveau in de kas niet onder de natuurlijke concentratie (340 ppm) weg te laten zakken. Ook kan men zich afvragen of zeer hoge niveaus (boven 750 ppm) zinvol zijn, omdat bekend is dat onder invloed van hogere CO₂-niveaus (1) huidmondjes gaan sluiten (ongeveer 3-4% sluiting per 100 ppm verhoging ten opzichte van het basisniveau van 340 ppm, Nederhoff, 1994). Meestal wordt nog wel een toename in assimilatie gezien bij niveaus hoger dan 750 ppm, mits het lichtniveau hoog genoeg blijft.

Ook is bekend dat er onder invloed van langdurig hoog CO₂ morfologische veranderingen in de bladeren kunnen optreden in de vorm van dikkere bladeren, verlaging van het aantal huidmondjes per oppervlakte-eenheid of een verlaagde functionaliteit van de stomata. Bij tomaat is bijvoorbeeld gevonden dat de afname van de fotosynthese snelheid gemeten in mei, van in de winter gevormd blad, een gevolg is van beperking van de stomata functie die niet zozeer afhangt van de directe omgevingsomstandigheden, maar meer van het ontwikkelingsstadium van de betrokken bladeren (Ayari *et al.*, 2000). Dit geeft duidelijk aan dat de aantallen en functie van stomata in bladeren een dynamisch gebeuren is dat voortdurend aan veranderingen onderhevig is.

Om de efficiëntie van CO₂-toediening te verhogen is het belangrijk om sluiting van de huidmondjes te voorkomen. Tegelijkertijd dient het klimaat zodanig te zijn dat door de continu geopende huidmondjes geen overmatig vochtverlies plaatsvindt en dit ten koste gaat van de groei. Een systeem als de (semi)gesloten of Aircokas zou hiervoor zeer geschikt zijn, maar dit betekent totaal andere instellingen qua temperatuur, licht en RV dan gebruikelijk. Dit vereist een geavanceerd stuurprogramma waarbij het klimaat en CO₂-toediening zeer precies kunnen worden geregeld op basis van de huidmondjesopening en, in het verlengde hiervan, dat (a) de huidmondjesopening daadwerkelijk gemeten of betrouwbaar berekend kan worden, dat (b) deze waarden representatief en betrouwbaar zijn voor het gewas en (c) de huidmondjesopening ook daadwerkelijk een relatie heeft met fotosyntheseactiviteit en groei, zodat dan feitelijk op de fotosynthese geregeld wordt zonder deze voortdurend te hoeven monitoren. Overigens zien we dat bij veel stresssituaties huidmondjes (deels) dichtgaan. Daardoor zou huidmondjesopening ook als signalering van plantstress gebruikt kunnen worden.

1.2 Doelstelling

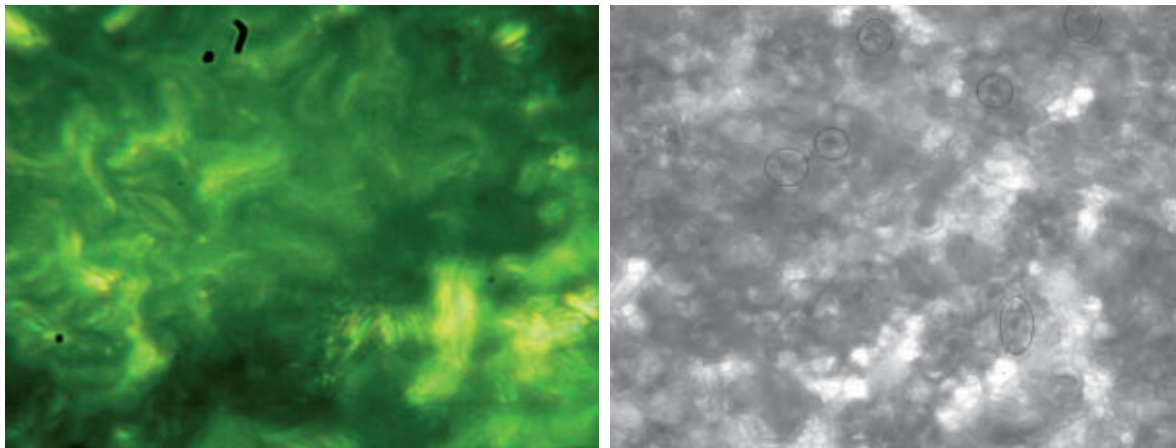
Doel is het ontwikkelen van een methode om huidmondjesopening te kunnen meten en kwantificeren (open, dicht en tussenliggende stadia), valideren van deze techniek m.b.t. betrouwbaarheid bij een aantal belangrijke tuinbouwgewassen, en bij gebleken betrouwbaarheid, vaststellen van de mogelijkheid van toepassing in een (nog te ontwikkelen) beeldverwerkingprogramma of soft-sensor ten behoeve van een stuurprogramma voor CO₂-dosering op basis van huidmondjesopening.

1.3 Vooronderzoek

Voorafgaand aan het onderhavige onderzoek zijn door Wageningen UR Glastuinbouw en Hoogendoorn Growth Management BV proeven genomen waarbij met een digitale camera en een voorzetlens met een vergrotingsfactor van 300x opnamen zijn gemaakt van kleine stukjes blad.

Doel was om te onderzoeken in hoeverre het mogelijk was om uit deze beelden via computer beeldanalyse de huidmondjes op dat stuk blad te detecteren en de afmetingen te bepalen.

Het bleek echter moeilijk om via deze methode afzonderlijke huidmondjes in beeld te krijgen, omdat het scherpstellen door de slechte scherpte/diepte verhouding van een dergelijke voorzetlens erg veel werk is. Uiteindelijk werd wel een redelijk beeld verkregen maar alleen op basis van veel handwerk.



Figuur 1. Twee voorbeelden van opnamen met een microscoop/camera. Links een kleuropname van paprika, rechts een opname van roos in zwart wit.

Een eerste conclusie was dus dat het op deze wijze analyseren van individuele huidmondjes een verregaande automatisering van de waarnemingen noodzakelijk maakt.

Om vervolgens ook iets te kunnen zeggen over de geleidbaarheid van de waargenomen huidmondjes is het nodig om de verkregen beelden te kunnen kalibreren en te valideren met behulp van referentie beelden waarbij de geleidbaarheid van de huidmondjes op een betrouwbare wijze is gemeten, en wel *in planta* (meting aan het gewas zelf zonder invloed op het gewas).

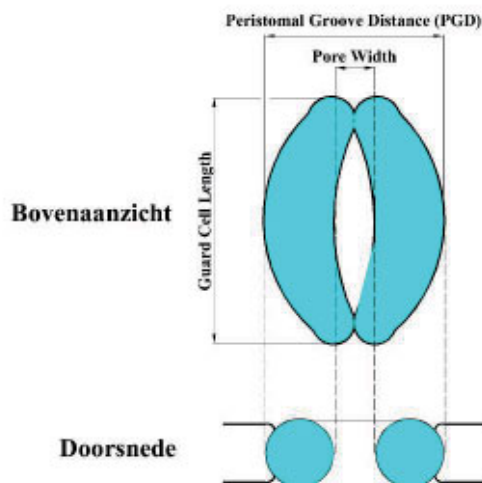
Vooraf dit laatste is belangrijk, aangezien de huidmondjesopening van afgeplukte bladeren vaak niet representatief is voor de fysiologische toestand: direct na afplukken openen de huidmondjes zich vaak volledig door het plotseling wegvallen van de druk in het vatensysteem; daarna sluiten de huidmondjes onder invloed van uitdroging aan de lucht.

Een (beperkte) literatuur screening laat zien dat de meeste experimenten naar kwantificering van huidmondjesopening zijn gedaan met *Commelina communis* (Aziatische dagbloem), een 'onkruid' met regelmatige en grote huidmondjes, waardoor de opening redelijk goed te meten is via een methode van afdrukken in siliconenrubber (Weyers & Johansen, 1985) en meten van de lengte en breedte van de porie.

Bij kasgewassen als tomaat, komkommer, paprika en roos zijn metingen van huidmondjes met dit doel, voor zover bekend, echter nooit gedaan. Uit verkennende opnamen bleek ons dat in tomaat de huidmondjes wat verzonken liggen en bij roos de huidmondjes erg klein zijn. Ook de aanwezige beharing op bladeren kan voor extra problemen zorgen.

Directe meting van de huidmondjesopening is vaak lastig uitvoerbaar (Lawson *et al.*, 1998).

Door deze auteurs werd bij *Phaseolus* (een soort met kleine huidmondjes) een positieve en hoog significante correlatie gevonden tussen de zogenaamde Peristomatal Groove Distance (PGD; zie Figuur 2) die wel goed te bepalen is, met huidmondjesopening én met huidmondjes geleidbaarheid (g_s). Verder stellen deze auteurs dat, om deze methode te kunnen gebruiken, het noodzakelijk is dat voor elke nieuwe soort (en bij voorkeur ook bij verschillende groeiomstandigheden) eerst de details van de relatie tussen PGD en g_s worden vastgesteld en dat de grootste nauwkeurigheid verwacht kan worden bij soorten waarbij de variatie in grootte van het stomatale complex (bij een gegeven opening) relatief klein is. Omdat deze relatie nog niet eerder is onderzocht bij kasgewassen als tomaat, paprika, komkommer en roos, was het zaak eerst te inventariseren of er een relatie gevonden kan worden tussen porometer metingen en huidmondjesopening *in planta* en vervolgens te kijken of deze betrouwbaar genoeg zijn om te kunnen dienen voor validatie van een beeldverwerking of soft-sensor, direct of indirect.



Figuur 2. Bovenaanzicht en doorsnede huidmondje.

1.4 Opzet van het onderzoek

Het onderzoek heeft plaatsgevonden in samenwerking tussen Wageningen UR Glastuinbouw en Hoogendoorn Growth Management BV, de laatste vanwege hun specifieke expertise op gebied van klimaatregeling in kassen, en bovendien op gebied van digitale camera's, beeldanalyse, en automatisering in het algemeen.

De oorspronkelijke opzet was om:

- 1) een waarnemingsmethode voor huidmondjes te ontwikkelen op basis van beeldanalyse in combinatie met een validatie- en kalibratiemethode, en deze methode in verschillende situaties, zowel in een onderzoeksomgeving als in de praktijk te toetsen op praktische bruikbaarheid;
- 2) aan de hand van het waargenomen huidmondjesgedrag te onderzoeken op welke wijze dit kan worden gebruikt om de klimaatregeling in kassen te verbeteren.

Uit de eerste oriënterende metingen, en op basis van literatuur onderzoek is het inzicht ontstaan dat het gedrag van huidmondjes sterk heterogeen is en grote momentane verschillen kan vertonen tussen verschillende planten, tussen verschillende bladeren, en zelfs tussen verschillende delen van een zelfde blad o.a. door 'patchiness' (het fenomeen dat bepaalde clusters van huidmondjes anders reageren dan naastgelegen clusters). Ook kan het aantal huidmondjes per oppervlakte eenheid sterk plaatselijk verschillen.

Hierdoor is in feite elke methode die de stand van individuele huidmondjes bepaalt, of een totale huidmondjesopening van een (klein) deel van een blad ongeschikt als basis van een klimaatregeling.

Daarom is bij de research afdeling van Hoogendoorn Growth Management BV het initiatief genomen tot een separaat onderzoeksproject om een meetmethode te ontwikkelen waarbij de stand van de huidmondjes kan worden bepaald op gewasniveau. Anders gezegd, een methode die iets zegt over een representatief deel van het totale gewas, in plaats van over één blad of zelfs een deel daarvan.

Dit onderzoek heeft in de loop van 2006/2007 geleid tot de ontwikkeling van de Hoogendoorn Stomatasensor, waarvan een beknopte beschrijving is opgenomen in het hoofdstuk materiaal en methoden.

Hiermee is het eerste deel van het onderzoek, namelijk de ontwikkeling van de beeldanalyse methode op een zijspoor gekomen, en is de Stomata sensor als alternatief in het onderzoek opgenomen, maar dan als vergelijkingsmethode.

Vervolgens is de onderzoeksaanpak gewijzigd in de volgende richting:

1. Een vergelijkend onderzoek naar de uitkomsten van drie methoden om de huidmondjesopening te bepalen:
 - a. Het maken van een afdruk van een stukje blad en vervolgens met een microscoop de fysieke afmetingen van een aantal huidmondjes opmeten.
 - b. Een Porometer waarmee van hetzelfde oppervlak een meting wordt gedaan van de verdampingssnelheid.
 - c. Een berekening van de stomatasensor voor een gebied van ongeveer 20 m² van de bovenste laag van het gewas waarin de metingen a) en b) zijn uitgevoerd.
2. Aan de hand van het waargenomen huidmondjesgedrag te onderzoeken op welke wijze dit kan worden gebruikt om de klimaatregeling in kassen te verbeteren.

Op kleine schaal zijn in lopende teelten, zowel in de praktijk als bij Wageningen UR Glastuinbouw, oriënterende proeven uitgevoerd waarbij de huidmondjesopening via afdrukken met behulp van de methode zoals beschreven door Lawson (1998a) onderzocht is. Normaal vertoont de huidmondjesopening een dag-en-nacht ritme, maar door wisselingen in het weer, temperatuur en vochtigheid in de kas, kan de opening ook overdag variëren. Om de huidmondjesopening te onderzoeken zijn op verschillende tijdstippen van de dag planten bemonsterd om het verloop over de dag in kaart te brengen. Deze metingen zijn vergeleken met de uitkomsten van de Hoogendoorn Stomatasensor.

Daarnaast zijn in kassen van Wageningen UR Glastuinbouw afdrukken gemaakt van bladeren van jonge tomatenplanten waaraan vrijwel gelijktijdig de geleidbaarheid met een porometer meting werd bepaald. Vervolgens is gekeken of er een correlatie is tussen de huidmondjes weerstand gemeten met de porometer en de huidmondjesopening gemeten *in planta* van de gedeelten van het blad waar de porometer metingen zijn uitgevoerd.

In feite werd door deze metingen bevestigd dat het huidmondjesgedrag erg heterogeen is en dat alleen een methode die meting op gewasniveau mogelijk maakt bruikbaar is voor het doel, n.l. het kasklimaat te regelen op basis van huidmondjes gedrag.

Het tweede deel van het onderzoek, namelijk hoe de stand van de huidmondjes kan worden gebruikt voor klimaatregeling bouwt voort op een zeer belangrijk resultaat van het eerste deel, namelijk dat veel meer moet worden gekeken naar de energiestromen in de kas, dan naar de gebruikelijke klimaatgrootheden Temperatuur, RV e.d. Dit deel van het onderzoek heeft een meer verkennend karakter gekregen en bevat veel aanknopingspunten voor vervolg onderzoek.

2 Materiaal en methoden

2.1 Plantmateriaal

Voor oriënterende metingen werden Anthurium, Phalaenopsis, paprika en tomatenplanten gebruikt uit lopende proeven in de kassen van Wageningen UR Glastuinbouw. Alle afdrukken werden op een licht bewolkte dag met ruim zonlicht tussen 10.30 en 11.30 uur gemaakt.

De afdrukken bij handelskwekerij Grevelingen werden op 11 oktober vanaf vlak voor zonsopgang (07.45 uur) tot even na de middag (12.00 uur) gemaakt van vol productieve tomatenplanten van het ras 'Mecano' in een gewas van circa 10 maanden oud. In dezelfde groep planten waren bladdikte sensoren en andere meetapparatuur aanwezig, zodat de lokale waarden geregistreerd zijn.

De afdrukken van jonge planten en gelijktijdige porometer metingen werden uitgevoerd bij Wageningen UR Glastuinbouw in een proef met een jong tomaten gewas.

2.2 Stomata meting met de stempelmethode

Om metingen aan de stomata te kunnen verrichten is in het kader van dit onderzoek een 'stempelmethode' ontwikkeld waarbij afdrukken van bladoppervlakken worden gemaakt volgens een methode zoals beschreven door Wyers & Johansen (1985). Door deze afdrukken onder de microscoop te analyseren is het mogelijk de stand van huidmondjes te bepalen.

2.2.1 Oriënterende metingen

Om de bruikbaarheid van de 'stempelmethode' te onderzoeken is eerst een aantal oriënterende metingen gedaan. Dun vloeibaar Xanthopren Plus (Beyer Dental, Almere) werd volgens voorschrift van de fabrikant gemengd met elastomeer harder en direct op de onderzijde van de bladeren aangebracht. Na stolling (2-3 minuten) werd het rubber stempel voorzichtig afgenomen (Figuur 3). Om een positief te maken werd een laag kleurloze nagellak (Hema, longlasting) op de stempels aangebracht; na droging overnacht werd de uitgeharde lakfilm onder de microscoop bekeken bij een vergroting van 10 (oculair) x 10 (objectief).

Van gebieden met huidmondjes werden met een Leica digitale camera foto's gemaakt. Bij dezelfde vergrotingen werden ter referentie foto's van ijk glaasjes met rasters van $50 \times 50 \mu\text{m}$ ($= 0.25 \cdot 10^{-2} \text{ mm}^2$) en $200 \times 200 \mu\text{m}$ (0.04 mm^2) gemaakt, teneinde opnamen te kunnen relateren aan een bepaalde oppervlakte en de aantallen huidmondjes per vierkante cm te kunnen berekenen.



Figuur 3. Stempel blad tomaat.

2.2.2 Praktijkmetingen aan tomaat bij De Grevelingen

Om de stempelmethode in de praktijk te toetsen zijn metingen gedaan bij een tomatengewas, bij handelskwekerij Grevelingen te Sirjansland. Het maken van de stempels en lakfilm werd uitgevoerd als boven beschreven. Vanaf een kwartier voor zonsopgang (zonop: 08.00 uur) werden gemiddeld om het halve uur twee afdrukken gemaakt van een volledig gestrekt blad in de kop (boven) en twee afdrukken van het één na laagste blad van dezelfde plant. Voor de verschillende tijdstippen werden zo veel mogelijk steeds verschillende bladeren gebruikt om beïnvloeding door de monsternamen uit te sluiten.

Van de microscopische opnamen werden op A4 formaat foto afdrukken gemaakt, waarna handmatig de dimensies (lengte huidmondje, PGD: Peristomatal Groove Distance en opening huidmondjesporie) van de huidmondjes werden bepaald.

Bij dit praktijkbedrijf waren ook de metingen beschikbaar van de Hoogendoorn Stomatasensor waarmee online de huidmondjes geleidbaarheid op het moment van meten berekend werden.

2.2.3 Metingen aan tomaat bij Wageningen UR Glastuinbouw

In het Wageningen UR Glastuinbouw proefkassen complex te Bleiswijk werden met de stempelmethode ook metingen aan jonge tomaten planten, ras 'Amoroso' verricht zoals bovenomschreven.

2.3 Stomata metingen met de Porometer

Een gebruikelijke methode in het onderzoek is om de geleidbaarheid van huidmondjes te bepalen met een zgn. porometer. In dit onderzoek is hiervoor de AP4 UM 3 (Delta - T Devices) gebruikt.

Hierbij wordt een te bemeten blad ingeklemd in een kleine meetkamer (cuvet) waarin een RV- en temperatuursensor aanwezig zijn. Door dit cuvet wordt voortdurend lucht geblazen waarvan de temperatuur en vochtigheid geregeld worden op een instelbare waarde die zo dicht mogelijk gekozen wordt bij de heersende kasomstandigheden. De waterdamp die het blad verlaat verhoogt de RV in de meetkamer. De porometer meet de snelheid waarmee de RV stijgt met 2.3%. Hieruit wordt de geleidbaarheid van de huidmondjes, in dit geval dus voor waterdamp, automatisch berekend. Bij de metingen werd steeds een zelfde positie van het bladdeel ingeklemd in de hoop zo steeds een gelijk aantal huidmondjes te vangen in de meetkamer.

2.4 Berekening stomata opening met de Hoogendoorn Stomatasensor

De Stomata sensor is een separate ontwikkeling van Hoogendoorn Growth Management BV en dus op zichzelf geen onderdeel van het onderhavig onderzoek. Omdat het toegepaste meetprincipe fundamenteel afwijkt van bestaande methoden en het bovendien nieuwe inzichten biedt in een aantal aanverwante processen die zich in de kas afspelen zoals gewasverdamping is hieronder een korte beschrijving opgenomen.

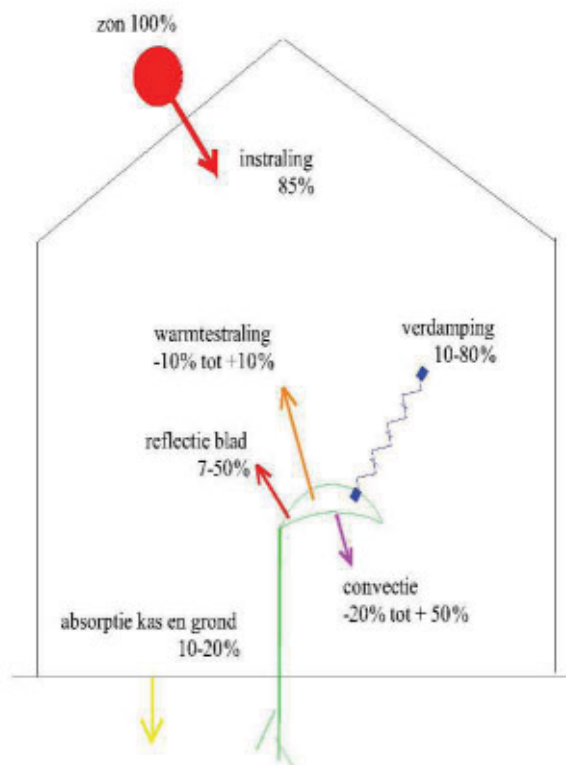
Monteith (1965) heeft een rekenmodel ontwikkeld genaamd de Penman-Monteith methode waarmee de verdamping voor lage buitengewassen kan worden berekend op basis van een fictieve grenslaagweerstand en het vochtdeficit. Stanghellini (1987) heeft die methode later aangepast voor gewassen met meerdere bladlagen in kassen met meestal lagere luchtsnelheden. Daarvoor is o.a. de LAI (Leaf Area Index) toegevoegd aan de oorspronkelijke Penman-Monteith formule. De basis voor beide rekenmethoden is echter dezelfde namelijk de formule:

$$E = g_{tr}(\chi_{eff} - \chi_a) \quad \text{[Formule 1]}$$

Daarin is g_{tr} een effectieve 'verdampingsgeleiding' van huidmondje en grenslaag van het blad, χ_{eff} de dampdruk van het blad en χ_a de dampdruk van de kaslucht. Op basis van die formule kun je bij een bekende verdamping de

effectieve geleiding van huidmondje en grenslaag berekenen. Oppervlakkig beschouwd zou je g_r kunnen zien als maat voor de huidmondjesopening. Dat is echter alleen waar als de dampdruk achter het huidmondje altijd dezelfde zou zijn. Maar op basis van de energiebalans moet die veronderstelling als niet houdbaar worden beschouwd. Het huidmondje is geen stationair gegeven, de openingstoestand reageert op externe signalen. Welke dat precies zijn en hoe groot de invloed is van de individuele factoren is niet precies bekend. In de literatuur (Willmer & Fricker, 1996) worden de belangrijkste factoren opgesomd: licht, in het bijzonder blauw licht; interne vochtbalans, o.a. gesignaleerd door de wortels; VPD; CO_2 -concentraties in en buiten de plant en temperatuur. Dit zijn allemaal factoren die we met een klimaatregeling of een goede kasuitrusting kunnen beïnvloeden. Daarbij moet wel oog worden gehouden voor de interacties die vaak optreden tussen fysische grootheden. Kaslucht kent immers altijd een balans tussen temperatuur, luchtvochtigheid en druk, zoals vastgelegd in het Mollier diagram. Met andere woorden er zijn bepaalde fysische wetten waaraan elk systeem, dus ook de plant of de kaslucht zal moeten voldoen. De wet van behoud van energie is daarvan misschien wel de meest relevante voor een plant. De wet van behoud van energie hier nu verder 'de energiebalans' genoemd vertelt ons dat energie niet verloren kan gaan noch uit het niets kan ontstaan. Vrij vertaald betekent dit dat de hoeveelheid energie die op een plant terechtkomt gelijk is aan de energie die daar op enige wijze weer bij vrij komt. Het huidmondje speelt nu een enorm belangrijke rol in het bepalen in welke vorm de stralingsenergie van de zon of van een lamp of verwarmingsbuis weer afgegeven wordt aan de omgeving. Het onderstaande schema helpt ons om de verschillende vormen waarin die energie weer vrijkomt te herkennen.

De fotosynthese en de verdamping zijn beide primair afhankelijk van de hoeveelheid toegevoerde energie. Op die basis werkt het rekenmodel van Hoogendoorn waarmee de gemiddelde huidmondjesgeleiding van een gewas wordt uitgerekend. De wet van behoud van energie zegt dat de aangevoerde energie volledig zal worden omgezet naar afgevoerde energie. Door die afvoerstromen te berekenen en te vergelijken met de toegevoerde energie kan o.a. worden afgeleid hoeveel water er via het huidmondje verdampt.



Figuur 4. Modelmatige weergave van energiestromen in een kas met een ruwe schatting van de aandelen van de diverse afvoerstromen.

Globaal spelen de volgende stromen een rol: verdamping, convectie, straling, reflectie en groei.

- De grootste afvoerstroom is gewoonlijk de verdamping, voor een vol verdampend tomatengewas is deze bijdrage al 80%.
- De tweede belangrijke afvoerstroom is convectie. Daarbij speelt de bladtemperatuur een belangrijke rol. Ligt die boven de ruimtetemperatuur dan zal er dankzij het grote bladoppervlak relatief veel warmte naar de omgeving afvloeien, eventueel nog verder vergroot door extra luchtbeweging. Bij een sterk verdampend gewas

ligt de bladtemperatuur echter meestal iets onder de ruimtetemperatuur en neemt hij zelfs warmte op uit de omringende kaslucht.

- De stralingsoverdracht bestaat uit twee componenten, de directe reflectie van zonlicht door het blad en de afgifte van warmtestraling naar de omgeving. Bij veel licht is de omgeving meestal warm en levert de warmtestraling maar een kleine bijdrage. Hoe groot de reflectie is moet voorlopig als onbekend worden verondersteld omdat dit afhankelijk is van het soort blad en de bladstand. De schattingen over welk percentage gereflecteerd wordt lopen uiteen tussen 7% en 50%. Vooral nog wordt in de rekenmodellen van 7% uitgegaan (defaultwaarde voor verschillende gewassen volgens Marcelis *et al.*, 1998).
- Een deel van de energie wordt opgeslagen in de kas en de kasgrond. De hoeveelheid is mede afhankelijk van de afdekking van de grond tegen verdamping en het al of niet reflecterend zijn van die afdekking.
- Op de totale energieomzetting speelt de groei een beperkte rol, omdat het aandeel klein is (ongeveer 5%).

De energiebalans blijkt een goed middel te zijn om de stand van het huidmondje te herleiden uit de gerealiseerde verhouding tussen warmteafvoer via verdamping en via convectieve overdracht aan de omringende kaslucht. Dat kan worden afgeleid uit de volgende formules:

De basis vergelijking voor de energie balans is:

$$R_n = lE + Q + G \quad \text{[Formule 2]}$$

Waarbij R_n is de door het gewas geabsorbeerde straling, lE de latente warmteoverdracht (verdamping), l de verdampingswarmte voor water en E de evapotranspiratie (totale verdamping inclusief de grond), Q de voelbare warmteoverdracht (convectie op basis van temperatuurverschil) en G de warmteoverdracht via langgolvlige warmtestraling naar de bodem en de kasomhulling. De convectieve warmteoverdracht Q kan worden berekend met de formule:

$$Q = h (T_k - T_g) \quad \text{[Formule 3]}$$

Daarin is h de effectieve warmteoverdrachtscoëfficiënt tussen gewas en omgeving in $W/m^2 \cdot K$, T_k de temperatuur van de kaslucht en T_g de temperatuur van het gewas. Deze laatste kan met een infrarood camera worden gemeten. Strikt genomen moet voor hoogopgaande gewassen voor meerdere bladlagen deze formule worden ingevuld om een volledig betrouwbaar beeld te krijgen. Omdat de totale hoeveelheid geabsorbeerde energie onderin relatief klein is wordt voor dit rapport volstaan met de bovenste bladlaag. Daar zal immers ook de kans op sluiting van huidmondjes het grootst zijn.

De coëfficiënt h is strikt genomen een buitengewoon complexe en ook dynamische factor die van vele zaken afhankelijk is waaronder de luchtsnelheid rondom en tussen de planten, het aanwezige bladoppervlak, verschillen in temperatuur tussen verschillende bladlagen, enz.

In de praktijk blijkt echter dat voor een wat groter volume gewas/lucht deze h gemiddeld een redelijk constante waarde heeft. Dat is aannemelijk omdat een dicht gewas een dempende invloed heeft op luchtbeweging waardoor locale verschillen in bladdichtheid en luchtsnelheid elkaar compenseren. Dit is bevestigd door onderzoek van dr. Takakura (mondelinge mededelingen). Ook in het praktijk onderzoek van Hoogendoorn is gevonden dat een heel goede match tussen berekeningen en metingen wordt gevonden met een constante waarde van h .

De langgolvlige straling G is afhankelijk van het temperatuurverschil tussen blad en het kasdek of de grond. Bij veel instraling is het **relatieve** aandeel van G klein, ondanks de temperatuur verschillen. En bij weinig instraling zijn de temperatuur verschillen tussen de plant en omgeving klein, zodat de **absolute** waarde van G klein is. Daarom wordt deze factor verder verwaarloosd in de beschouwingen over de dagsituatie. Op andere momenten van de dag kan deze factor juist een grote rol spelen zoals in de situatie dat we in de avond de kastemperatuur snel omlaag zouden willen brengen of in de ochtend als de kaslucht snel kan opwarmen en de grond daarbij achterblijft.

Op basis daarvan kan de verdamping E gevonden worden met de volgende formule:

$$E = \frac{R_n - h(T_k - T_g)}{l} \quad \text{[Formule 4]}$$

Daarmee is de basis gelegd voor een model van de huidmondjesgeleiding afgeleid van de energiebalans die o.a. is bepaald uit de gemeten bladtemperaturen.

Volgens de eerste wet van Fick is het damptransport door diffusie te berekenen met de formule:

$$E = D_w * dW_x / dx \quad \text{[Formule 5]}$$

Waarin D_w = de diffusie coëfficiënt, dW_x = het concentratie verschil (voor en achter het huidmondje), dx = de transportafstand.

Omdat men in de tuinbouw gewend is te rekenen in dampdruk heeft het zin om deze formule om te bouwen tot een formule voor massatransport op basis van drukverschillen. Dat geeft het volgende resultaat:

$$E = g_{tr} (\chi_{eff} - \chi_a)$$

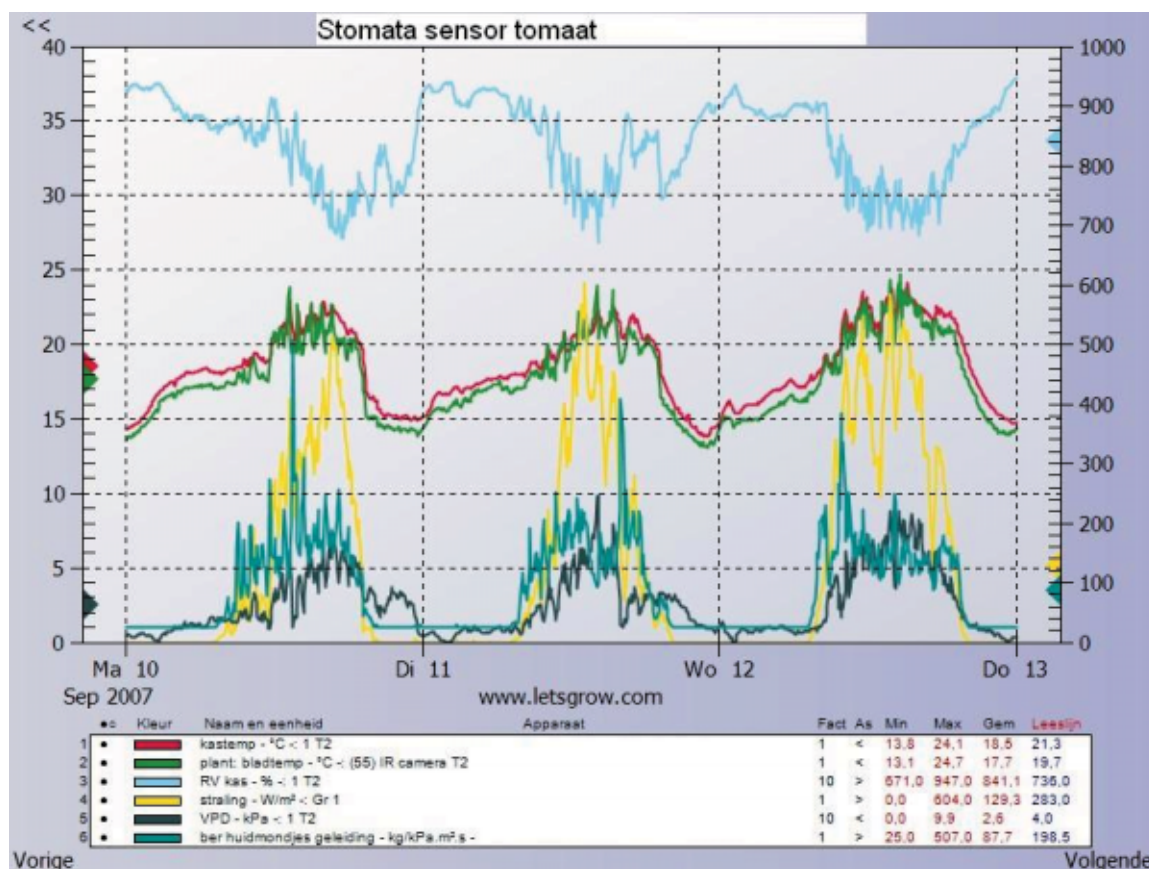
Inderdaad dus dezelfde als formule 1. Het verschil tussen, χ_{eff} de dampdruk van het blad en χ_a de dampdruk van de kaslucht noemen we het dampdrukverschil ofwel VPD_{gewas} (Vapour Pressure Difference), niet te verwarren met vochtdeficit, want dat is de hoeveelheid vocht in grammen die kaslucht bij een bepaalde temperatuur nog zou kunnen opnemen.

Combinatie van de formules 1 en 4 levert dan de volgende formule voor de huidmondjes geleiding g_{tr} op:

$$g_{tr} = \frac{R_n - h(T_k - T_g)}{l * VPD_{gewas}} \quad \text{[Formule 6]}$$

Wanneer de bladtemperatuur bekend is en de verdamping gemeten kan worden, kan uit de verhouding tussen verdamping en convectie met formule 4 de huidmondjesgeleiding worden berekend. Een te lage verdamping zal immers leiden tot een oelopende bladtemperatuur en daarmee tot een toename van de convectieve warmteoverdracht. Als de bladtemperatuur en de VPD bekend is kan de huidmondjesgeleiding worden berekend met formule 6. Let wel in beide gevallen wordt de huidmondjesgeleiding voor waterdamp bepaald. In de literatuur (Kaiser & Kappen, 2001) is een aanwijzing gevonden dat de geleidbaarheid voor CO_2 anders ligt dan voor waterdamp. Als de fotosynthese moet worden afgemeten aan de berekende geleiding voor waterdamp zal er eerst nog een omrekeningsfactor bepaald moeten worden. Onbekend is nog of de uitgaande stroom watermoleculen de ingaande stroom CO_2 moleculen al of niet beïnvloedt anders moet daarvoor ook gecorrigeerd worden. De factor h is vooralsnog alleen voor een specifieke situatie te bepalen. Door verzameling van klimaatdata en de gemeten verdamping kan worden nagegaan in hoeverre die factor stabiel is of aangepast moet worden aan specifieke omstandigheden. Uit de tot nu toe uitgevoerde analyses blijkt dat voor tomaat in volgroeide toestand de factor h redelijk stabiel is. Theoretisch zou deze factor ook berekend moeten kunnen worden uit een berekende LAI, een gemeten luchtsnelheid rondom het blad en een warmteoverdracht coëfficiënt van een bepaald soort blad. Voor dit onderzoek zijn we uitgegaan van de veronderstelling dat de factor h die bepaald is aan de hand van langdurige metingen van de werkelijke verdamping, voor het specifieke bedrijf waar de metingen zijn uitgevoerd, constant is.

Op basis van gemeten klimaatparameters kan vervolgens een grafiek worden gemaakt met de berekende waarde van de geleiding van het huidmondje. Een voorbeeld is weergegeven in Figuur 5. Omdat de berekening is gebaseerd op een aantal metingen die in een kas een sterk fluctuerend karakter hebben, vertoont deze grafiek inherent hetzelfde beeld. Van belang is om alleen de trends en de stabiele niveaus te beoordelen. Dan valt op dat er weinig tijdsverschil zit tussen zonsopgang en opening van de huidmondjes. Op dinsdag om 15.00 uur wordt de verneveling aan gezet. Het valt op dat de verhoging van de RV gepaard gaat met een verbeterde geleiding. Op dat moment daalt de bladtemperatuur onder de ruimtetemperatuur, een teken dat de transpiratie toeneemt. De VPD gaat op dat moment zelfs sterk omlaag wat voor veel ondernemers als atypisch wordt ervaren omdat de overheersende mening is dat de transpiratie gestuurd kan worden door een voldoende hoog VPD aan te houden.



Figuur 5. Voorbeeld van de berekende huidmondjesgeleiding voor een tomatengewas.

Als dit rekenmodel inderdaad de opening van de huidmondjes van een gewas kan berekenen worden een aantal belangrijke voordelen behaald. In de eerste plaats is het dan niet nodig om een sensor te ontwikkelen die de zeer kleine huidmondjes in beeld kan brengen. Bovendien wordt een beter beeld gekregen van de gemiddelde toestand van de bovenste laag van een gewas omdat de opening van individuele huidmondjes zeer afhankelijk is van lokale omstandigheden. Omdat die bovenste gewaslaag de meeste straling ontvangt is dat zowel vanuit fotosynthese als vanuit stress beheersing gezien de meest interessante. Op basis van de berekende huidmondjes geleidingen kan blijken dat een specifieke verwachting over bijvoorbeeld de hoeveelheid fotosynthese bij de beschikbare hoeveelheid licht gecontroleerd worden. Bij afwijkingen kan daarna gericht gezocht worden naar verbeter mogelijkheden. In het kader van de meest efficiënte inzet van energie kan met deze informatie ook gespeurd worden naar de effecten van aangepaste temperatuur, licht, CO₂ en waterstrategieën.

2.5 De Turgormeting

Naast de al besproken methoden is in de zijlijn ook gekeken naar een aanvullende mogelijkheid om informatie over het gedrag van huidmondjes te verkrijgen, namelijk door meting van de turgor in de plant. Opening van de huidmondjes leidt tot verdamping en daarmee tot een verandering in de vochthuishouding in een blad. Zolang wateraanvoer en verdamping met elkaar in evenwicht zijn is er geen probleem, maar bekend was al dat dit bij veel instraling niet het geval is. De verdamping zal dan groter zijn dan de wateraanvoer en dat is bijvoorbeeld terug te vinden in een afnemend plantgewicht overdag. Professor Bravdo uit Israël (Sharon, 2001) heeft in samenwerking met de firma Leafsen een meetmethode ontwikkeld waarmee de bladdikte en daarmee indirect de bladturgor gemeten kan worden aan intacte bladeren. De sensor bestaat uit een doorschijnende plastic clip waarvan de openingshoek van de bekken gemeten kan worden met een rekstrookje. Een dunner blad zal een lagere uitgangsspanning opleveren dan een dik blad. De diktemeting is in absolute zin niet betrouwbaar, maar wel in relatieve zin.



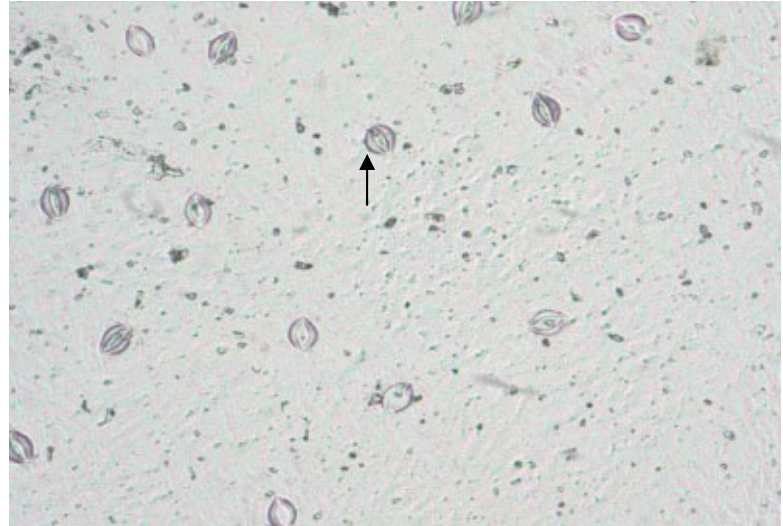
Figuur 6. Bladdiktemeter op een rozenblad.

Een meetset bestaat uit 6 clips die via draden verbonden zijn met een draadloze zender. Daardoor is het relatief eenvoudig om de sensoren op elke willekeurige plaats in het gewas aan te brengen. Deze sensor is in Israël ontwikkeld vooral om de frequentie van watergeven te optimaliseren, maar voor ons doel is de turgormeting vooral van belang vanwege de relatie met de huidmondjesopening. Om inzicht te krijgen in die toepasbaarheid heeft een test plaatsgevonden. Daartoe heeft de firma Hoogendoorn een aantal meetsets zodanig aangepast dat deze online via een Letsgrow koppeling via internet uitgelezen kunnen worden.

3 Resultaten en discussie

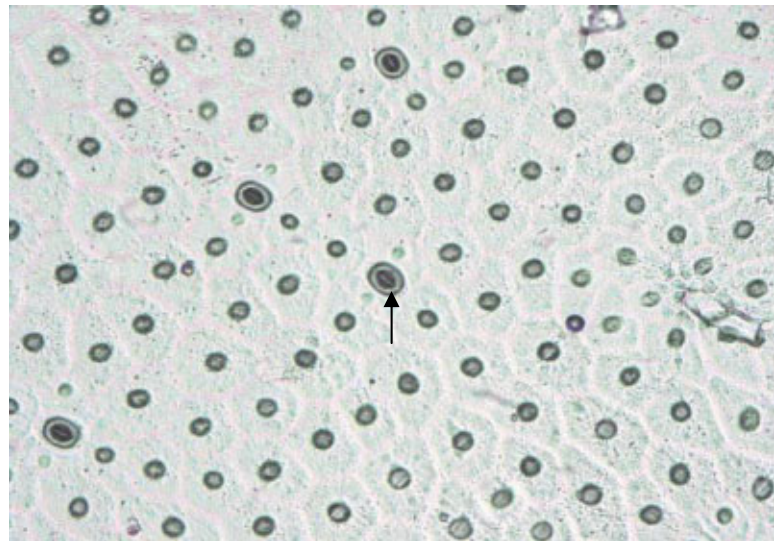
3.1 Oriënterende metingen met de stempelmethode

Om de afdrukmethode te toetsen, zijn een aantal proefafdrukken gemaakt van verschillende typen planten. Bij planten met relatief glad blad als anthurium en Phalaenopsis gaat het afdrukken maken het best en laten de (vlakke) lakpositieven veel detail zien (Figuur 7a en 7b). Bij planten met minder glad oppervlak als paprika (Figuur 7c) of met beharing (tomaat, Figuur 7d) lijkt de afdruk maken niet zozeer een probleem, maar is het soms lastig de lakpositieven goed vlak te krijgen. Door schroeven zijn echter voldoende huidmondjes in beeld te krijgen.

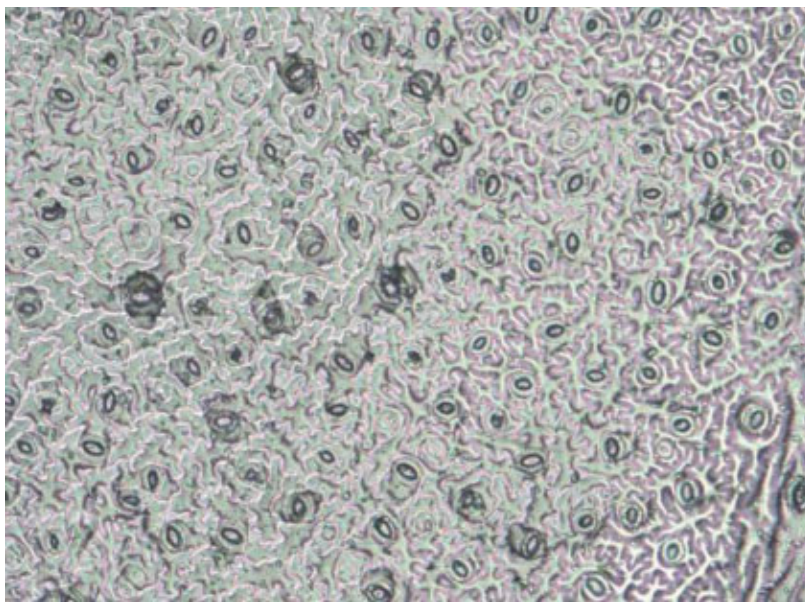


Figuur 7a. *Anthurium* (pijl wijst huidmondje aan).

Wat opvalt in de foto's (voor elke soort is een gelijk oppervlak van 0.3806 mm² in beeld) is, dat per soort zowel de aantallen huidmondjes als de openingstoestand sterk verschillen, ondanks dat de afdrukken ongeveer op dezelfde tijd (tussen 10.30 uur en 11.30 uur) genomen zijn. Bij Phalaenopsis zijn vier gesloten (Phalaenopsis is een CAM-plant) huidmondjes in beeld, op hetzelfde oppervlak heeft anthurium ongeveer 14 huidmondjes in verschillende mate van opening, paprika circa 80, voornamelijk open, huidmondjes.

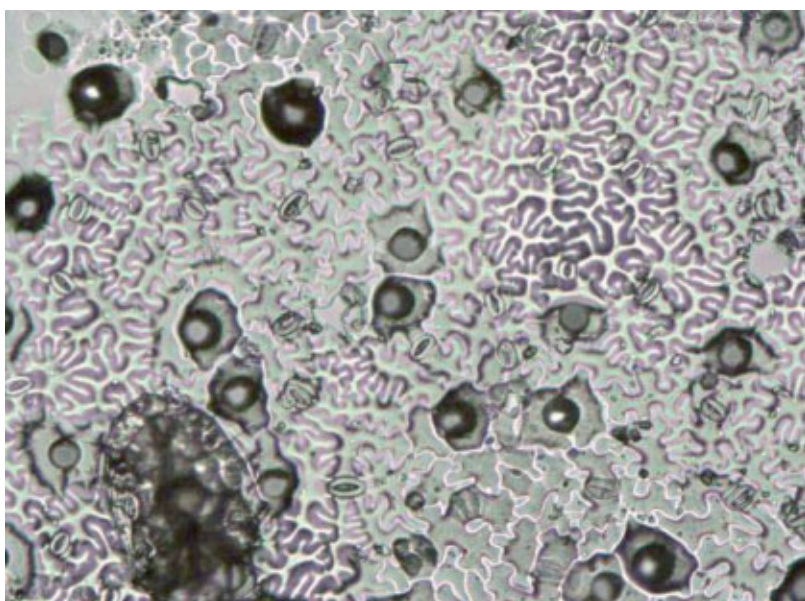


Figuur 7b. *Phalaenopsis* (pijl wijst huidmondje aan).



Figuur 7c. Paprika.

Tomaat zit qua aantal en opening tussen anthurium en paprika in; de beharing van de bladeren en het niet vlak zijn van het blad veroorzaakt echter wat onscherpe gaten in het beeld. Niettemin lijkt het toch wel mogelijk om met deze techniek een betrouwbaar beeld te krijgen van huidmondjes aantallen en openings-toestand bij tomaat.



Figuur 7d. Tomaat (let op wittevlieglarve linksonder).

3.2 Metingen bij tomatenkwekerij Grevelingen ras 'Mecano'

Op 11 oktober heeft een serie metingen plaatsgevonden. Zon op om 8.00 uur, zon onder 19.00 uur. De hoogste instraling bedroeg om 12.00 uur 470 W/m^2 . Zie ook figuur 16. De huidmondjes in de bladeren in de kop blijven zeker tot 8.15 uur gesloten (poriebreedte), om 9.15 uur lijkt er iets opening te gaan komen, om 9.45 uur lijken ze volledig open te zijn. Om 10.25 uur zijn ze weer iets gesloten en vanaf 11.00 uur zijn ze weer verder open (Tabel 1 en foto's in Bijlage I).

De onderste bladeren gedragen zich echter totaal anders. Daarin blijven de huidmondjes zeker tot 10.30 uur gesloten (dit is lastig te bepalen omdat juist dat preparaat iets minder is). Vanaf 11.00 uur lijkt er iets van beweging in te komen, maar de opening is minder vergeleken met de bladeren in de kop.

In Tabel 1 staan de gemiddelde afmetingen van de handmatig opgemeten huidmondjes. Per cm² werden ongeveer 8400 huidmondjes geteld.

Tabel 1. Overzicht van de gemiddelde afmetingen van handmatig gemeten huidmondjes 11 oktober 2007 ($n = \pm 20$). PGD: Peristomatal Groove Distance.

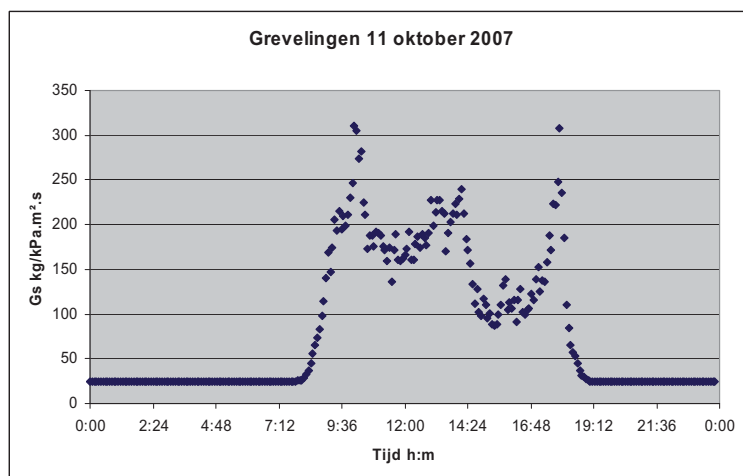
Boven	Tijd uur	Lengte μ meter	PGD μ meter	poriebreedte μ meter	Globale straling W/m ²
	7.45	36,8	23,3	0	0
	8.15	36,7	27,4	0	20
	8.45	37,6	24,1	1,2	70
	9.15	40,0	25,7	0	100
	9.45	34,8	24,5	7,7	120
	10.25	37,3	27,4	3,7	230
	11.00	36,8	24,8	5,7	310
	11.30	-	-	-	320
	12.00	39,9	25,6	6,6	460
Onder	7.50	38,0	22,4	0	0
	8.30	40,3	24,0	0	50
	8.55	38,2	23,1	0	90
	9.20	39,9	25,5	0	100
	9.50	42,2	22,6	0	180
	10.30	-	-	-	220
	11.05	42,4	25,3	0,5	290
	11.35	38,3	25	0,8	340
	12.05	42,6	25	3,7	460

De berekende huidmondjes geleiding door het programma van Hoogendoorn wordt weergegeven als de waarde G_s , in hoofdstuk 2.4 ook aangeduid als g_{tr} . Dit getal kun je hetzelfde interpreteren als de 'elektrische geleiding' in de wet van Ohm. Deze wet zegt dat de stroomsterkte gelijk is aan de spanning vermenigvuldigd met de geleiding van de stroomdraad.

De geleiding kun je ook uitdrukken als: $\frac{1}{\text{weerstand}}$.

In dit geval betekent een hoge geleiding dat bij een bepaald dampdrukverschil (spanning) aan weerszijden van het huidmondje een grote volumestroom van water zal optreden. Let wel: om de daadwerkelijke verdamping te bepalen zul je dus ook het dampspanningsverschil moeten weten. En die kun je afleiden uit de VPD en de bladtemperatuur. Het iets meer sluiten van de huidmondjes van het enkele gemeten blad boven in het gewas om 10.25 uur in Tabel 1 komt overeen met de hier berekende afname aan geleidbaarheid in Figuur 8 die dus een gemiddelde is van alle bladeren waarvan de bladtemperatuur is gemeten. Aan de andere kant is de gemeten opening om 9.15 uur wel een hele vreemde uitslag die niet overeenkomt met de trend in Figuur 8. Het verder openen van de huidmondjes tot de laatste meting (12.00 uur boven) komt iets later tot uitdrukking in de berekende geleiding. Het hier getoonde beeld van een snel toenemende geleiding in de ochtend, gevolgd door een afname in de middag met aan het einde van de middag weer een sterke toename is in het onderzoek vrij karakteristiek gebleken. Het ondersteunt de theorie van de namiddag depressie. De sterke toename van de geleiding aan het einde van de middag heeft waarschijnlijk te maken met het weer in balans komen van de inwendige vochtsituatie. Vergelijken we de handmetingen onderin het gewas met deze berekende geleidingen dan lijkt er geen enkele relatie te vinden. Dat kan veroorzaakt zijn door het lage

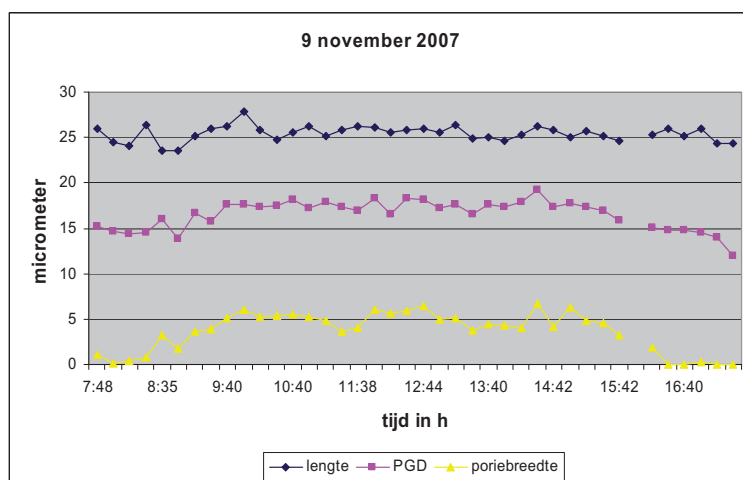
instralingsniveau waardoor er relatief weinig licht onderin terecht is gekomen, maar kan ook veroorzaakt zijn door een fout in één van beide methoden. Vooral de vraag of hele kleine openingen wel voldoende nauwkeurig te meten zijn dringt zich hier op. Later in dit rapport zal daar uitvoeriger bij worden stilgestaan.



Figuur 8. Berekende geleidbaarheid (G_s) bij de Grevelingen.

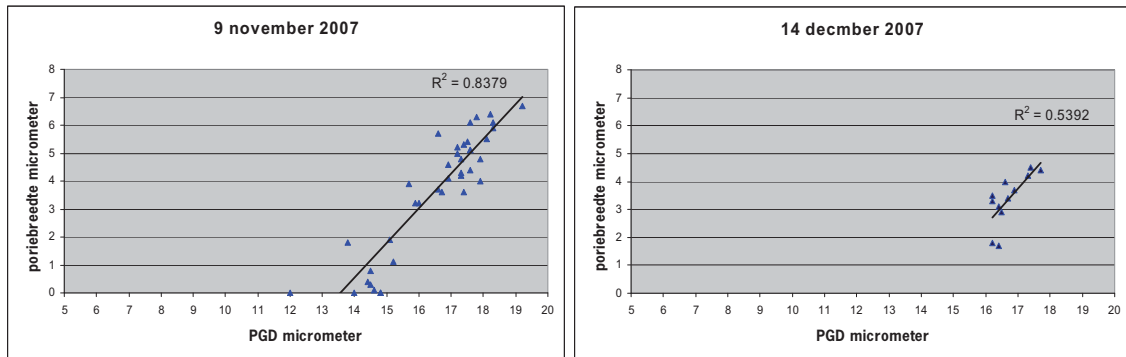
3.3 Metingen Wageningen UR Glastuinbouw ras 'Amoroso'

Op 9 november werd om het halve uur een geleidbaarheidsmeting met de porometer en een stempel gemaakt aan net volgroeide bladeren boven in het gewas. Het klimaat valt af te lezen in figuur 17. De maximale instraling bedroeg 314 W/m^2 . Tijdens deze metingen werd er niet belicht in de kas. Bij de start van de metingen begonnen de huidmondjes zich te openen. Er werd doorgemeten tot het punt van sluiting van de huidmondjes. Bij het handmatig opmeten van de huidmondjes valt op dat deze kleiner zijn dan de huidmondjes in Grevelingen (Tabel 1, 2 en Figuur 9). Opvallend is dat de poriebreedte in Grevelingen vergelijkbare waarden (orde grootte) heeft als bij Wageningen UR.



Figuur 9. Overzicht handmatig gemeten huidmondjes 9-11-07. PGD: Peristomatal Groove Distance. Er werden per cm^2 ook meer huidmondjes geteld circa 11800 ten opzichte van 8400 per cm^2 in Grevelingen.

Figuur 10 laat de correlatie zien tussen de zogenaamde Peristomatal Groove Distance (PGD) en de poriebreedte van de huidmondjes. Deze correlatie werd niet in de Grevelingen data gevonden. Een mogelijke verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat de data set maar een halve dag beslaat.



Figuur 10 en 11. Correlatie PGD en opening huidmondjes op 9 november 14 december.

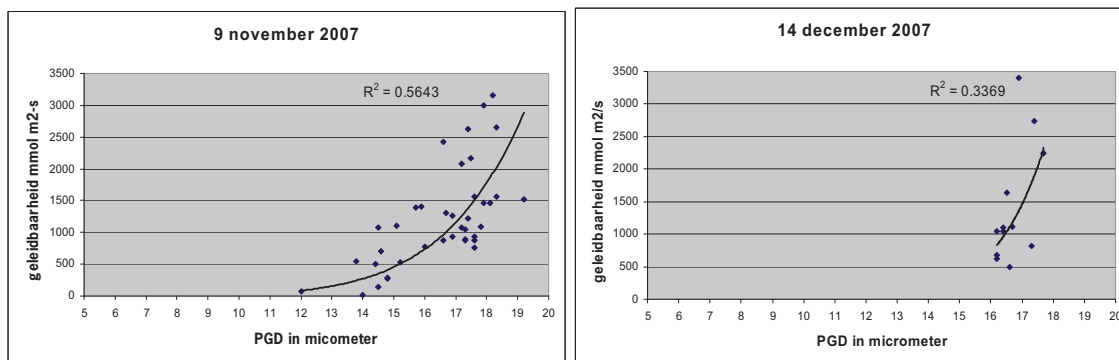
Op 14 december werden op een zestal tijdstippen verdeeld over de dag nogmaals geleidbaarheidsmetingen gedaan en stempels gemaakt. Het klimaat is af te lezen uit figuur 18. De maximale zinstraling bedroeg 215 W/m^2 . Zon op om 9.00 uur, zon onder om 16.20 uur. Tijdens deze meting was de belichting ingesteld van 00.00 uur tot 16.00 uur. De handmatige metingen uit Tabel 2 en de foto's van Bijlage III laten zien de huidmondjes open zijn om 8.18 uur. Als de zon sterk verminderd om 15.23 uur staan de huidmondjes duidelijk verder open. Dat is een duidelijke aanwijzing dat de beschikbare hoeveelheid vocht voor dat tijdstip zodanig klein was dat de huidmondjes de opening moesten beperken om uitdroging te voorkomen. Na het uitgaan van de lampen gaan de huidmondjes weer sluiten dit is goed te zien op de foto van 16.20 uur. Figuur 11 laat de correlatie zien tussen de zogenaamde PGD en de opening van de huidmondjes.

Tabel 2. Overzicht van de handmatige gemeten huidmondjes 14 december 2007.
PGD: Peristomatal Groove Distance.

Tijd uur	L µmeter	PGD µmeter	Poriebreedte µmeter
8.18	27,2	16,2	3,5
8.20	26,9	16,2	3,3
9.56	27	16,6	4
9.58	28,9	17,3	4,2
11.42	26,3	16,4	3,1
11.44	26,6	16,7	3,4
13.37	26,4	16,5	2,9
13.39	26,9	16,9	3,7
15.23	28,2	17,4	4,5
15.25	28,4	17,7	4,4
16.18	27,4	16,2	1,8
16.20	28,3	16,4	1,7

3.3.1 Vergelijking porometermetingen en huidmondjesopening

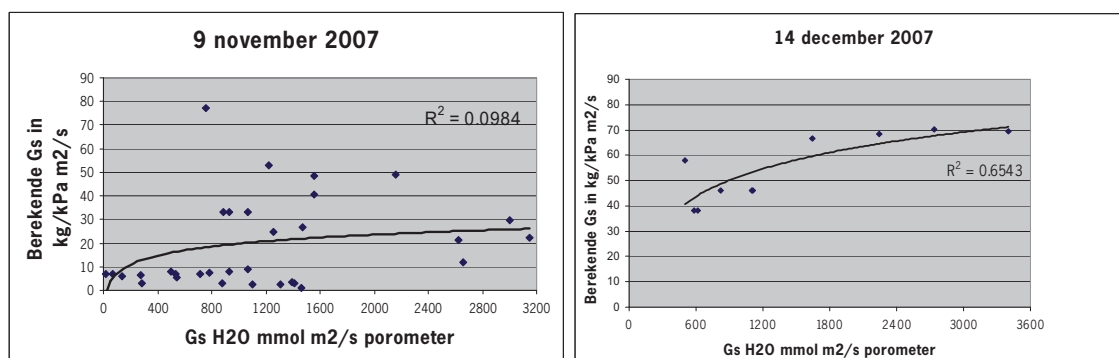
In de Figuren 12 en 13 worden de gemeten geleidbaarheid en de PGD vergeleken. Vooral op 14 december is de correlatie niet hoog dit wordt mede veroorzaakt door het geringe aantal waarnemingen. Met de andere parameters lengte huidmondje en opening huidmondje zijn geen correlaties gevonden met PGD (data niet weergegeven).



Figuren 12 en 13. Correlatie tussen de PGD en de gemeten geleidbaarheid met de porometer.

3.3.2 Berekende waarden Wageningen UR Bleiswijk

Op 9 november hangt er nog geen planttemperatuurmeter in de kas waar gemeten wordt. Om toch een vergelijk te kunnen maken met het de Hoogendoorn Stomasensor wordt de temperatuurmeting van de porometer gebruikt. Opgemerkt dient te worden dat de berekeningen van dit programma op vijfminuten gemiddelde worden gedaan. De metingen met de porometer zijn moment opnamen. Er wordt op 9 november geen correlatie gevonden (Figuur 14). Op 14 december is er inmiddels een planttemperatuurmeter geïnstalleerd. Met de weinige meetpunten lijkt er een correlatie te zijn tussen de porometer en de Stomasensor van Hoogendoorn (Figuur 15).

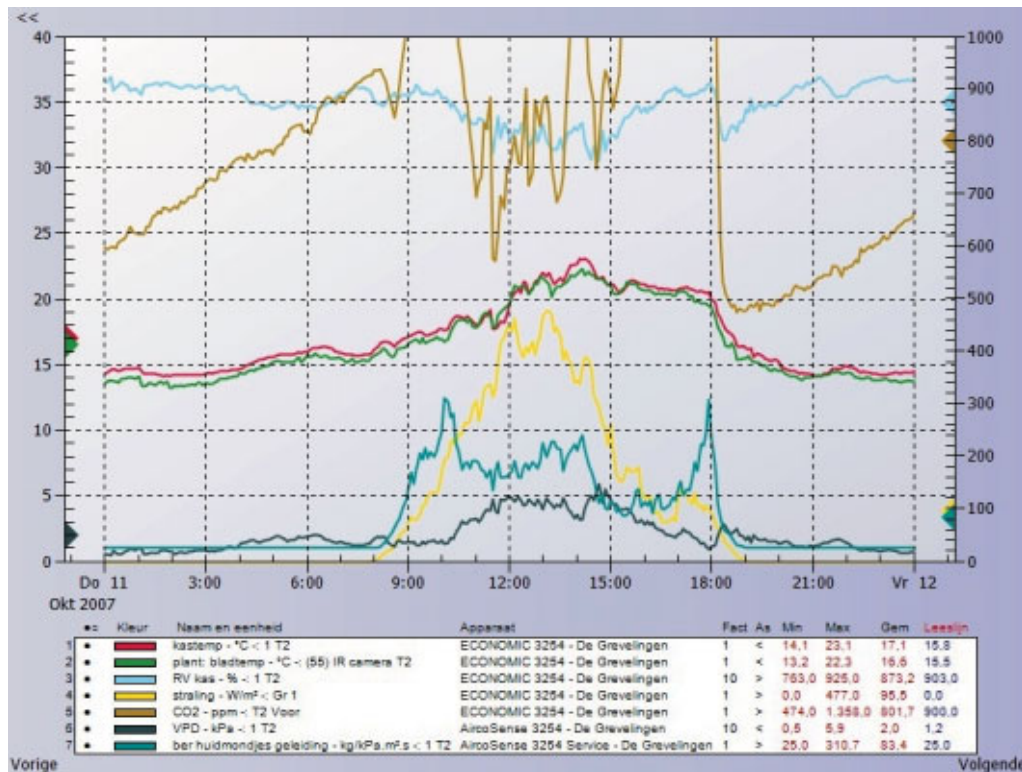


Figuren 14 en 15. Correlatie berekende G_s en G_s porometer.

3.3.3 Relatie met externe factoren

Opvallend is dat de gevonden correlaties per meetdag nogal afwijken. Omdat de metingen in het najaar hebben plaatsgevonden wanneer de lichtniveaus laag zijn is het gewenst om na te gaan of daar mogelijk een verklaring valt te vinden.

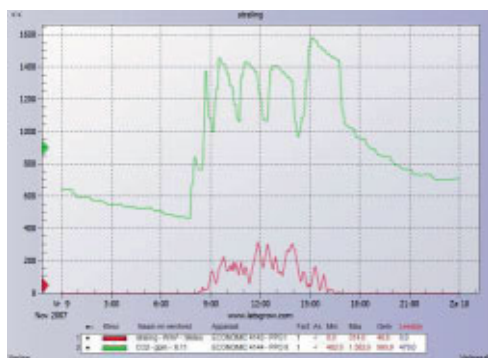
Op 11 oktober vonden de metingen bij de Grevelingen plaats. De instraling was toen matig. Wat verder opvalt, is dat het CO₂-niveau die dag sterke fluctuaties vertoont die samenvallen met het openen en sluiten van de huidmondjes. Wellicht een aanwijzing dat er overgedoseerd wordt.



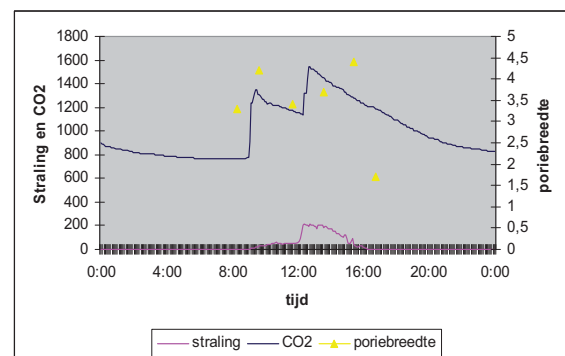
Figuur 16. Klimaatdata meetdag de Grevelingen.

Op deze dag werd er geen verband gevonden tussen de poriebreedte en de PGD waarde.

Op 9 november en 14 december 2007 werden de metingen bij Wageningen UR uitgevoerd. De straling is op beide dagen laag.



Figuur 17. Instraling en CO₂ op 9-11-2007.



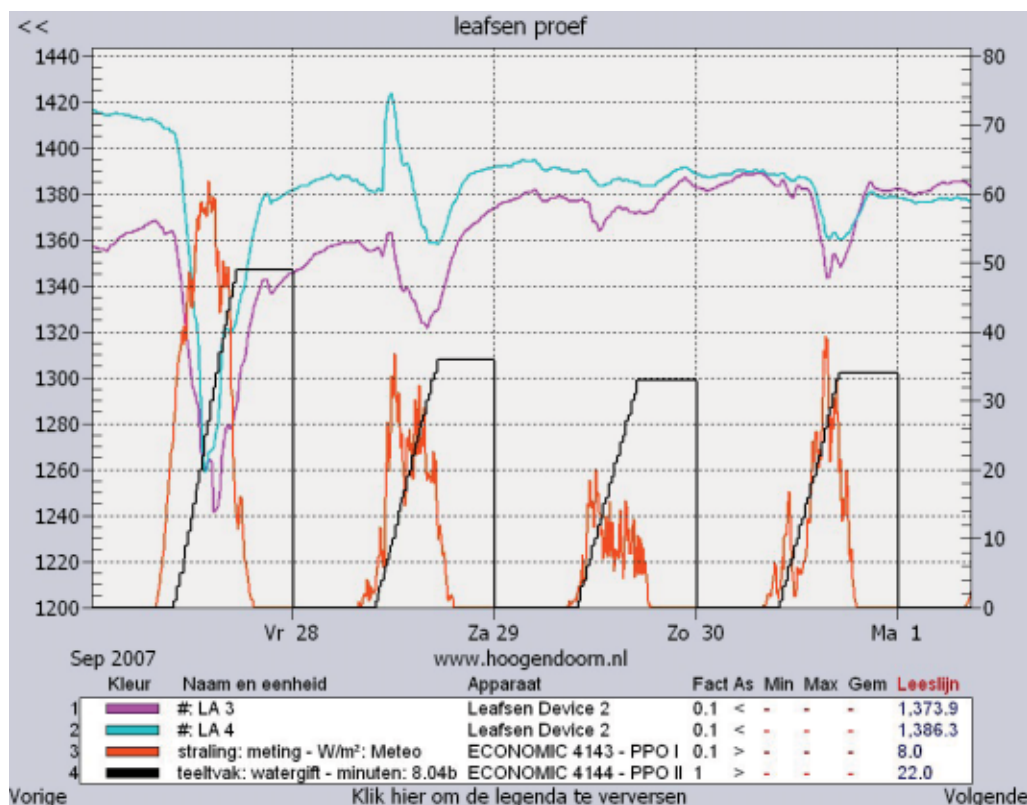
Figuur 18. Instraling, CO₂ en poriebreedte op 14-12-2007.

Op 14 december werd er belicht tussen 0.00 en 16.00 uur. Op beide dagen is de correlatie tussen poriebreedte en de PGD waarde hoog. Hoewel de absolute lichthoeveelheid op 11 oktober het hoogst is werd juist daar die relatie

niet gevonden. Een verband tussen hoge correlaties en de instraling lijkt er dus niet te zijn. Ook op 14-12-2007 valt op dat de poriebreedte verband lijkt te houden met de CO₂-concentratie.

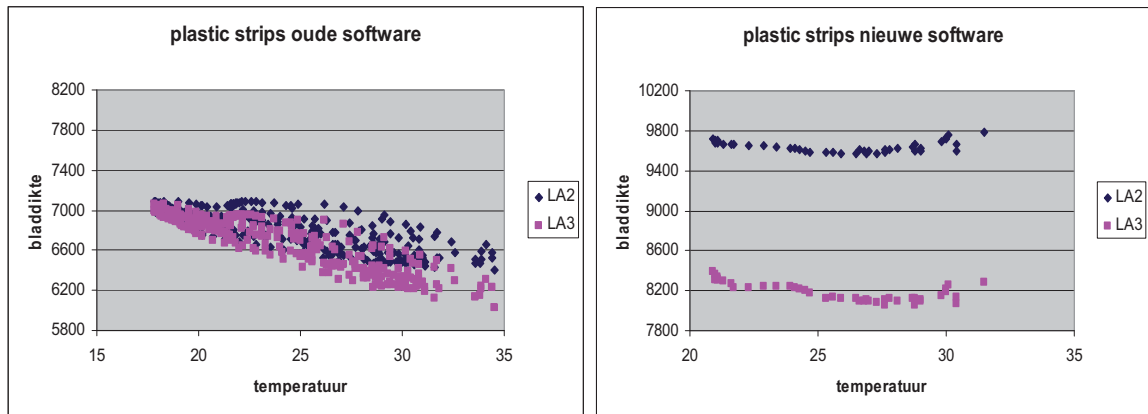
3.4 Resultaten turgormeting

In een tomatengewas is in een proefkas van Wageningen UR Glastuinbouw getest hoe het signaal van de bladdikte-meter er uit zag. Daaruit kwam het volgende beeld:



Figuur 19. Verloop gedurende 4 dagen van globale straling, watergift en bladdikte bovenin de plant (LA3 en LA4) voor een volgroeid tomatengewas.

De bladdikte reageert zoals verwacht op de instraling en ondanks de extra watergiften op 28 september neemt de bladdikte relatief sterk af bij de hoge instraling van 600 W/m². Overigens een teken dat zelfs voor Nederlandse klimaat omstandigheden de vraag gesteld kan worden of de watergift wel optimaal is. Uit de metingen bleek ook dat alle 6 sensoren op een plant eenzelfde beeld vertonen waarbij de lager gelegen bladeren overdag minder grote fluctuaties kennen. De plant kan dus blijkbaar het vocht inwendig niet snel genoeg vereffenen. Helaas bleek uit de metingen ook een temperatuurinvloed op de sensor. Daarvoor is een test gedaan met 2mm dikke strips die in twee sensoren zijn geplaatst. Door aanpassingen aan de software kon dit probleem worden verholpen zoals blijkt uit de onderstaande figuren.



Figuur 20. Relatie tussen gemeten bladdikte en omgevingstemperatuur bij twee verschillende plastic strips van 2mm dikte (LA2 en LA3) voor en na softwarematige temperatuur compensatie.

In principe is het dus mogelijk om het verloop van de bladturgor te volgen in de vorm van een relatief kengetal. Interessant zal zijn om de relatie huidmondjesopening en bladdikteontwikkeling te volgen, maar dat viel buiten het bereik van dit onderzoek.

3.5 Conclusies Stomata metingen

Met de stempel methode zijn de huidmondjes goed zichtbaar te maken zonder beschadiging van het blad. De stempel methode laat voor sommige meetdagen een hoge correlatie zien tussen poriebreedte en PGD welke ook is gevonden door Lawson et, al 1998a. De correlatie wordt slechter naarmate er minder licht is. Dus voor kleine openingen is dit verband onbruikbaar. De stempelmethode is zeer arbeidsintensief en geeft niet op tijd de informatie over de openingstoestand van de huidmondjes die nodig is om te kunnen sturen met klimaatinstellingen en CO₂-dosering. De methode geeft alleen de toestand weer van een heel klein stukje blad en is dus niet representatief voor een gewas.

Het verband tussen porometerwaarde en PGD is klein, maar wel aanwezig (correlatie coëfficiënt van 0.56 is nog altijd redelijk te noemen), zeker voor een lastige plant als tomaat. De correlatie die Weyers cs vonden waren weliswaar hoger, maar zij geven ook aan dat grootte en dichtheid van huidmondjes die kunnen beïnvloeden, vooral in de gebieden onder 20% en boven 90% opening. Dat is net het gebied waar op 9 november de waarden beginnen af te wijken van een lineair verband. De vraag is of de correlatie PGD en Porometer voldoende is aangetoond. Zo nee dan zullen er ook nog meer 'stempels' gemaakt moeten worden. Maar ook voor deze meting geldt dat het alleen een klein stukje blad betreft en dus niet representatief voor een heel gewas. De correlatie is waarschijnlijk zo laag omdat de meting zelf de energiebalans van het gemeten bladoppervlak verstoort. Daardoor is de snelheid waarmee de meting wordt uitgevoerd van grote invloed.

Het vergelijk G_s-porometer met de berekende G_s-waarden van de Hoogendoorn Stomatasensor lijkt alleen een redelijke correlatie te geven op 14 december. Het ontbreken van planttemperatuurmetingen op 9 november maakt het moeilijk om een vergelijking te maken omdat planttemperatuurmetingen gebaseerd op 5 minuten gemiddelden ontbraken. Bij de resultaten van Grevelingen kon geen verband worden gelegd tussen PGD en de G_s-berekend van Hoogendoorn.

In feite mag dit geen verbazing wekken omdat de Porometer immers een zeer plaatselijke meting is, en de Hoogendoorn Stomatasensor uitgaat van een groter deel van het gewas. Het ontbreken van een duidelijke correlatie kan dus een bewijs zijn dat huidmondjes zich heterogeen gedragen. Maar zoals al betoogt, ook de invloed van de Porometer op de energiebalans van het gemeten stukje blad maakt de uitkomsten onbetrouwbaar.

De huidmondjes van de tomaten in Grevelingen bleken veel groter dan in Bleiswijk (Wageningen UR). Anderzijds was het aantal huidmondjes in Bleiswijk hoger dan bij Grevelingen. Er werd geen verschil gevonden in huidmondjesopening. Een mogelijke verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat de grootte van huidmondjes ras afhankelijk is en het tijdstip van aanleg (zomer/winter) van invloed op de grootte en het aantal huidmondjes per cm^2 .

Samengevat ontstaat het volgende beeld:

Effect	Stempelmethode	Porometer	Stomatasensor
Verstoring huidmondje	Nee	Ja	Nee
Geheel gewas of Lokaal	Lokaal	Lokaal	Geheel gewas
Bruikbaar voor klimaatregeling	Nee	Nee	Ja
Verdampingsmeting	Nee	Ja	Ja
Huidmondjesopening	Ja	Nee	Nee
Huidmondjes weerstand	Nee	Ja	Ja
CO ₂ -opname	Nee	Nee	Nee

Voor een klimaatregeling gericht op maximale groei is vooral de CO₂-opname van belang. Geen van de methoden kan die bepalen, maar de Stomata sensor komt wel het dichtst bij een theoretisch berekenbare CO₂-opname. Maar dan moet er voor de opname van CO₂ wel een eenduidig verband zijn met de CO₂ concentratie in de kas en de huidmondjesopening en dat is allerm minst zeker.

Voor een klimaatregeling gericht op voorkomen van stress en gewasschade is een vergelijking van de theoretische verdamping op basis van de energiebalans met de werkelijke verdamping gewenst. De Stomatasensor is daarvoor theoretisch bruikbaar.

3.6 Discussie over meetmethoden

In het licht van de doelstelling van het onderzoek, maar ook vanwege voortschrijdend inzicht in de materie volgt hieronder een discussie over de verschillende meetmethoden. Behalve de drie methoden die in het onderzoek betrokken waren wordt nog een vierde methode besproken, namelijk die van de turgormeting.

3.6.1 De Stempelmethode

Het gebruik van dental gum is goed bevallen omdat het snel werkt en goede afdrukken kan opleveren, zonder bladschade. Daardoor kon op hetzelfde blad en op dezelfde plek een porometer meting worden uitgevoerd. De afdrukken waren echter niet constant van kwaliteit en betroffen niet dezelfde oppervlakte als de meetkamer van de porometer. Vooral de druk waarmee de gum op blad wordt gestreken evenals het eventuele uitsmeren lijken van invloed op de kwaliteit van de afdruk. Het lijkt daarom aan te bevelen om een mechanisch stempel met een vast oppervlak te ontwikkelen waarmee de pasta altijd verticaal op het bladoppervlak wordt aangebracht, zodat het materiaal niet horizontaal over het blad wordt uitgesmeerd en de aandrukkracht altijd dezelfde is. Het oppervlak zou dan hetzelfde gekozen kunnen worden als de meetkamer van de porometer, hoewel dat voor de microscoopbepaling eigenlijk al een te groot oppervlak is.

3.6.2 De Porometer

Het werkingsprincipe van de Porometer roept vraagtekens op over de betrouwbaarheid van deze meting. De meting is gebaseerd op het vaststellen van de tijd die nodig is om een bepaalde stijging van de RV te bereiken in een op het blad gezette meetkamer (cuvet). De verdamping uit het blad is afhankelijk van het dampdrukverschil tussen blad en

meetkamer en de totale oppervlakte aan geopende huidmondjes in de meetkamer. De leverancier stelt dat wanneer de meettijd beperkt wordt tot maximaal 10 seconden de fouten die gemaakt worden in de meting van het dampdrukverschil wel meevallen omdat het huidmondje slechts langzaam reageert op veranderingen. Maar gezien het feit dat die opening niet bekend is en de energiebalans in die 10 seconden wel degelijk veranderd kan er worden getwijfeld aan die aanname. Belangrijk is ook de fout veroorzaakt door het feit dat het aantal huidmondjes in de meetkamer per meetplek anders is. Uit de metingen valt op te maken dat dit aantal sterk varieert. Daarnaast is het ook uit de literatuur bekend dat de huidmondjesopening lokaal sterk kan verschillen, bijvoorbeeld als gevolg van de hoeveelheid opvallend licht, dat onderin het gewas altijd lager zal zijn. Recent is daar ook nog de gedachte bij gekomen dat de dampdruk in het blad niet altijd optimaal hoeft te zijn en eveneens lokaal kan verschillen. De porometer is dus niet alleen een hele lokale meting, die de toestand van het gewas niet hoeft weer te geven, maar zegt eigenlijk ook nog niets over de opening van het huidmondje. De slechte correlaties tussen de porometer waarden en de gemeten afmetingen van de huidmondjes zouden daarvan een bewijs kunnen zijn. Een hoge verdamping kan het gevolg zijn van veel huidmondjes die slechts weinig open staan met een hoge dampdruk achter het huidmondje. Maar ook een gevolg van een klein aantal huidmondjes dat wijd open staat. In het eerste geval kan de CO₂ opname beperkt zijn, in het tweede niet.

3.6.3 De Hoogendoorn Stomatasensor

Ten aanzien van de rekenmethode van Hoogendoorn kan nog geen eenduidige conclusie worden getrokken over de nauwkeurigheid. De redenering over de betrouwbaarheid van de referentiemetingen evenals het fundamentele probleem dat een lokale meting niet gebruikt kan worden om een globale meting te kalibreren maken dat het zeker nog te vroeg is voor conclusies. Theoretisch blijft deze methode een betere basis voor klimaatregeling dan een porometer of een lokale meting van de huidmondjesopening omdat er wordt uitgegaan van de energiebalans van het hele gewas.

In de huidige praktijktoepassingen van de Stomatasensor wordt het rekenmodel 'getuned' door middel van een vergelijking tussen de berekende verdamping over een etmaal en de gemeten watergift - drain. Hiermee wordt voor een aantal gewassen een redelijk goede overeenkomst gevonden.

Om een nog beter inzicht te krijgen in de voorspellende waarde van het model zou verder gekalibreerd kunnen worden aan de hand van de actuele verdamping. Met behulp van een weegschaal kunnen fluctuaties in verdamping zichtbaar worden gemaakt en vergeleken met theoretisch berekende verdamping op basis van de energiebalans. Inmiddels heeft een dergelijk onderzoek plaatsgevonden bij tomaat en daar bleek een prima match te bestaan tussen de weegschaaldata en de berekende verdamping op basis van de stomatasensor (R. Baas 2009).

Verder zouden ook relaties gelegd kunnen worden met de uitwisseling van energie tussen kas en omgeving. Het ventilatiemodel van Bontsema (2006) kan daarbij een rol spelen. Dit kan in vervolg onderzoek verder uitgewerkt worden.

3.6.4 De Turgorsensor

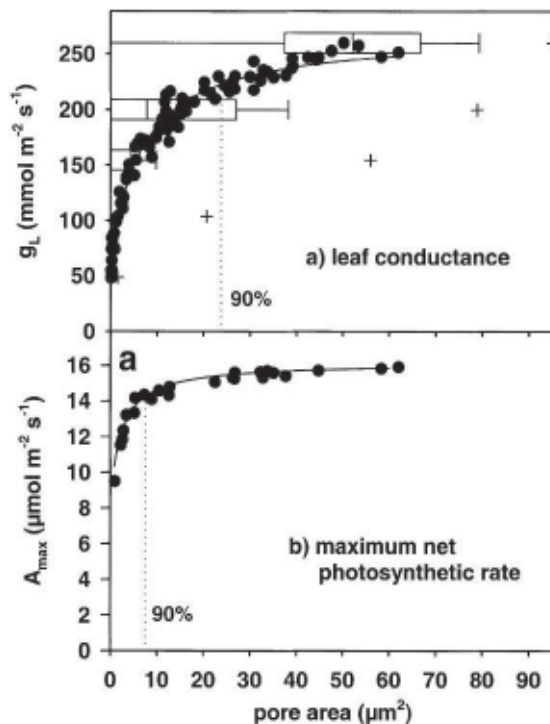
Hoewel er een mooi verband lijkt te bestaan tussen de toename van instraling en de afname van de bladdikte is het nog te vroeg om ook een relatie te veronderstellen met de huidmondjesopening of de CO₂ opname. De aanvoercapaciteit van water vanuit de wortels in relatie tot de verdamping speelt immers een cruciale rol. Voor een specifieke situatie van een bepaalde cultivar in een bepaalde kas kunnen met dit instrument mogelijk wel verbanden worden bepaald die weergeven hoe een gewas normaal reageert bij een instralingspatroon. Door vergelijking met de actuele reactie kunnen afwijkingen worden opgespoord en mogelijk worden verholpen door de verdamping te beperken of de watergift te verhogen. Daardoor zou theoretisch de plant minder stress ervaren en de kans op een namiddagdepressie door watertekort afnemen.

3.7 Discussie over relatie huidmondjesopening, verdamping en CO₂-opname

Los van de discussie over de juiste meetmethode om de huidmondjesopening te bepalen is er nog een ander fenomeen, namelijk dat de opening van het huidmondjes op zichzelf nog geen rechtstreekse maatstaf is voor de verdamping of de CO₂-opname. Immers de uitwisseling van waterdamp en CO₂ bij een bepaalde huidmondjesopening hangt ook af van het concentratieverschil binnen en buiten de bladholte. Voor CO₂ is het verschil in ppm's een goede maatstaf voor concentratieverschil, voor waterdamp kan de VPD in kPa een maatstaf zijn, en beiden kunnen in een kas behoorlijk snel variëren. Bovendien behoeft er niet noodzakelijkerwijs een lineair verband te zijn tussen de grootte van de huidmondjesopening en de verdamping of de CO₂-opname van dat moment, zelfs als de concentratieverschillen stabiel zijn.

Omdat we bij de huidmondjes meting een aantal meetfouten maken zoals verschillen door focusering en een te lage beeldresolutie valt in het bijzonder een kleine opening niet nauwkeurig vast te stellen. Gehoopt was op een relatie tussen de opening en de lengte of breedte van het huidmondje die wat nauwkeuriger is vast te stellen, maar helaas was de correlatie daarvan afhankelijk van de meetomstandigheden.

In de literatuur (Kaiser & Kappen, 2001, Figuur 8) kan een aanwijzing worden gevonden voor de theorie dat het diffusieproces rondom het huidmondje voor water anders verloopt dan voor CO₂. Uit deze figuur valt te concluderen dat al bij een kleine opening van de huidmondjes zowel de geleidbaarheid voor waterdamp als de fotosynthese hoog zijn. Opvallend is ook dat de fotosynthese bij meer dan 10% opening nauwelijks nog toeneemt, terwijl de waterdamp uitwisseling nog wel stijgt tot ongeveer 35% opening. Een klimaat regeling die ernaar streeft om de fotosynthese te maximaliseren en de verdamping te beperken tot een niveau dat groot genoeg is voor nutriëntentransport maar laag genoeg om verdroging te voorkomen zal tussen 10% en 35% opening moeten regelen. Daarbij gaat het om de oppervlakte van het gat. Voor een tomatenhuidmondje is de lengte ongeveer 40 μm en de maximale spleetbreedte 10 μm . Uitgaande van een elliptische opening betekent dat een maximum spleetoppervlak van 314 μm^2 . Bij een opening van 10% is de spleetbreedte dan 1 μm en bij 35% opening: 3,5 μm . Met de in dit onderzoek gebruikte vergrotingsfactor valt dit verschil niet betrouwbaar te meten.



Figuur 21. De relatie tussen de geleidbaarheid voor waterdamp (g_L) en de netto fotosynthese (A_{max}) bij verzadigd licht ($650 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en de gemiddelde oppervlakte van de porie opening.
Overgenomen uit: Kaiser en Kappen (2001).

4 Conclusies

4.1 Meten van huidmondjesopening

1. De methode van het maken van een afdruk met Xanthopren Plus gevolgd door een positief van nagellak en een microscoopbeeld is zeer goed bruikbaar om als non-destructieve methode de openingstoestand van een groep huidmondjes vast te leggen zonder beïnvloeding van de stand van het huidmondje.
2. De gebruikte beeldresolutie is waarschijnlijk te grof om op basis van de metingen uitgevoerd op de verkregen beelden een uitspraak te doen over verschillen in openingsoppervlak omdat de verschillen in spleetbreedte over een dag gering zijn en deze maat heel erg klein is.
3. Meten van de buitenmaat van het huidmondje, de Peristomal Groove Distance, levert een beter bruikbare methode op, maar vertoont niet onder alle omstandigheden een hoge correlatie met de spleetbreedte.
4. Door de zeer arbeidsintensieve databepaling is de afdrukmethode momenteel alleen geschikt voor onderzoeksdoeleinden. Met beeldanalyse valt dit proces mogelijk wel te automatiseren, hoewel de verschillen in scherpte-diepte verhouding binnen een opname een probleem zullen blijven.
5. Voor sturingsdoeleinden heeft de afdrukmethode geen praktische waarde omdat er (nog) niet momentaan gemeten kan worden en de verschillen binnen een plant of een gewas heel groot zullen zijn en er dus niet vertrouwd kan worden op een enkele meting op een oppervlakte van 0,04 mm².
6. Wel kan deze methode worden gebruikt voor een check van de plantreactie op specifieke omstandigheden.

4.2 Porometer metingen

De porometer metingen vertonen geen verband met de gemeten huidmondjesopening. Dat kan liggen aan de resolutie van de microscoopmeting, maar kan ook het gevolg zijn van een directe beïnvloeding van de porometer meetcuvet op de energiebalans van de meetplek. Ook is het aantal huidmondjes dat zich onder het cuvet bevindt onbekend en waarschijnlijk steeds anders. Een nadere analyse van de betrouwbaarheid van deze meting is gewenst, maar heeft voor het doel van klimaatsturing in een kas geen prioriteit omdat het een puntmeting blijft.

4.3 Beoordeling soft-sensor 'Stomatasensor'

Door het gebrek aan een betrouwbare directe meting van de openingsgraad van de huidmondjes was het nog niet mogelijk om te controleren hoe betrouwbaar de uitkomsten van dit rekenmodel zijn.

4.4 Sturing op basis van de huidmondjesgeleiding

De sturing van het kasklimaat op basis van een meting van de huidmondjesgeleiding is nog niet gerealiseerd. Wel ligt er nu een theoretisch kader waarin de sturing van het kasklimaat op basis van de energiebalans nader is uitgewerkt. Zo gauw als de stomatasensor is gevalideerd kan deze onderdeel gaan vormen van een zodanige besturing van verneveling, raamstand en watergift dat een zo hoog mogelijke CO₂ concentratie in de kas gecombineerd kan worden met een zo groot mogelijke huidmondjesopening als verantwoord is voor een goede waterbalans. Sturing van het kasklimaat op basis van kastemperatuur en vochtdeficit wordt dan vervangen door sturing op (etmaal) gewastemperatuur en fotosynthese capaciteit van het gewas.

De huidmondjesgeleiding wordt vrijwel altijd bepaald voor de geleiding voor waterdamp. Zelfs als de geleiding betrouwbaar gemeten zou kunnen worden, is het nog maar de vraag wat daarvan de praktische waarde is voor de besturing van het kasklimaat. Als het doel is om de verdamping te meten en te besturen zegt de geleiding alleen iets wanneer ook het dampdrukverschil van water aan beide zijden van het huidmondje bekend is. De gangbare praktijk om te regelen op basis van de dampdruk in de kas negeert het feit dat de dampdruk in het blad vrijwel zeker niet constant is maar afhangt van de energietoevoer naar het blad en de actuele stand van het huidmondje. Het bepalen

van de energiebalans van het blad is in die zin een veel betrouwbaarder methode om de verdamping vast te stellen, ook omdat die is gebaseerd op de temperatuurmeting van een relatief groot bladoppervlak. Wat de stand van het huidmondje betekent voor de CO_2 -opname is nog onzekerder, omdat er nog geen eenduidige relatie bekend is tussen de inwendige en uitwendige CO_2 -concentratie en de stand van het huidmondje. Gezien de vele mogelijke verschijningsvormen van huidmondjes zal die relatie ook niet voor ieder gewas dezelfde zijn.

5 Discussie en aanbevelingen

Het gedrag van huidmondjes is complex en blijkt als regelorgaan van de plant op verkeerde wijze in de klimaatregeling te zijn geschat. Zo lijkt het er op dat een regeling op vochtdeficit op een zonnige namiddag de eigen regelmogelijkheden van de plant ondermijnt. Van de eigenlijke functie van het huidmondje, namelijk het regelen van het uitwisselen van gassen met de omgeving en de invloed van de kasklimaatregeling daarop is maar weinig concrete informatie te vinden. Dat komt doordat goede instrumenten voor het in een kas meten van die gasuitwisseling feitelijk ontbreken. Daar waar ze wel bestaan meten ze slechts de gasuitwisseling van een heel klein oppervlak en dan ook nog via een methode die de energiebalans verstoort en daarmee een onbetrouwbare uitkomst leveren. Ook de weg van een directe meting van de openingsgraad van een huidmondje lijkt niet te kunnen leiden tot een betrouwbare inschatting van de gasuitwisseling van een hele plant. Een soft-sensor op basis van de energiebalans lijkt de beste kanshebber voor een klimaatregeling die gericht is op maximaal benutten van licht en CO₂, dus op klimaatsturing op basis van plantreactie.

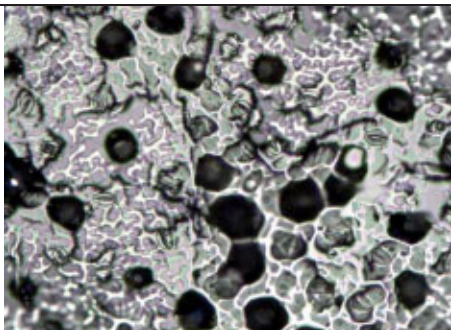
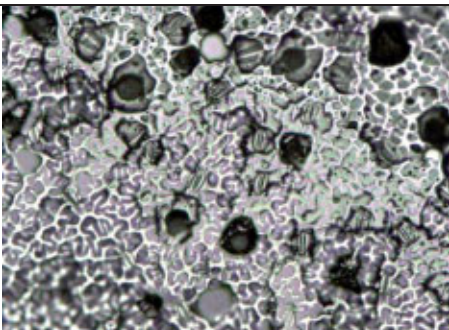
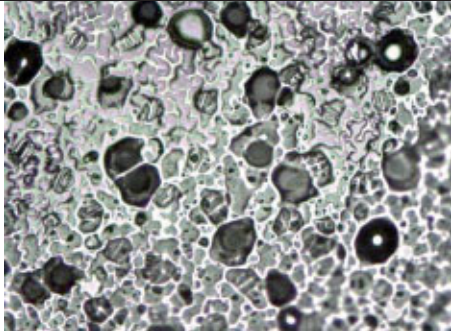
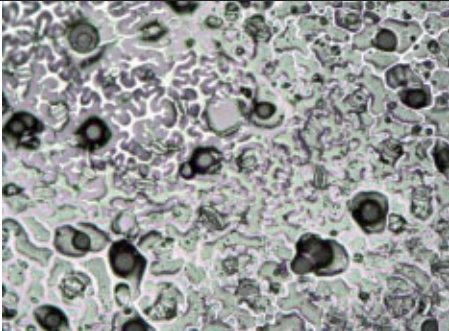
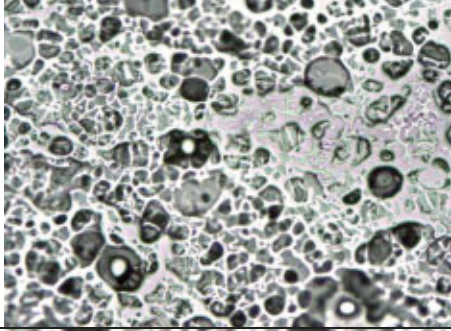
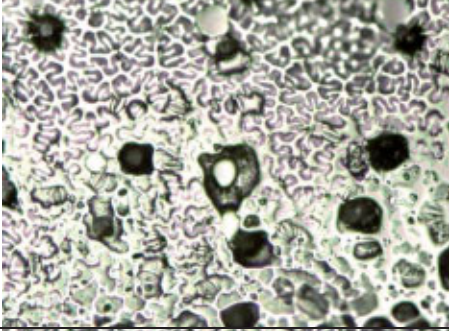
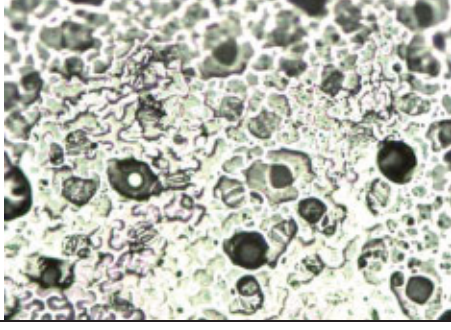
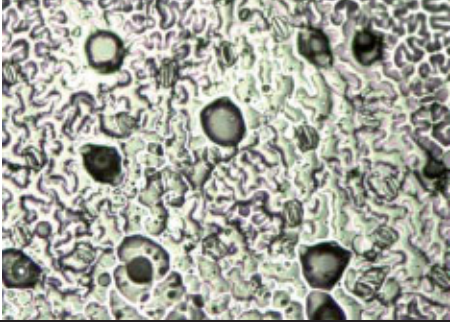
1. De gevolgen van het feit dat het transport van waterdamp anders verloopt dan van CO₂ worden feitelijk genegeerd. Veel metingen aan huidmondjes worden gebaseerd op transport van waterdamp, maar dat zegt weinig over het potentiële transport van CO₂. Er bestaat het vermoeden dat beide stromen elkaar beïnvloeden omdat ze tegengesteld gericht zijn en de moleculen zich in feite door een vrij nauwe 'tunnel' botsend van wand naar wand moeten verplaatsen. Een nadere analyse van dit proces is dringend gewenst.
2. Als de regelkarakteristiek van het huidmondje inderdaad lijkt op dat van een schermkier, heeft dit grote gevolgen voor de klimaatregeling. Een kleine kier levert geen zichtbaar effect op, een wat grotere kier ineens heel veel en bij nog verder opentrekken verandert het kasklimaat nauwelijks nog. Sturing op basis van een zichtbare opening heeft dan niet zoveel zin omdat die visuele waarneming nooit nauwkeurig genoeg zal zijn. De ideale grafiek (figuur 21) is bepaald voor een specifieke energietoevoer en inwendige vochttoestand, maar de werkelijke karakteristiek is nog veel complexer. Nog een reden om te concentreren op gasstromen.
3. Feit is dat veel ondernemers sturen op een 'actieve' plant waarmee ze in feite de verdamping onnodig hoog opvoeren ten koste van een grote hoeveelheid fossiele energie. Daardoor zijn ook de klimaatregelingen op vochtdeficit ontstaan. De energiebalans leert ons dat verdamping bij de hogere instralingen vrijwel volledig afhankelijk zijn van de toegevoerde energie en maar voor een beperkt deel (ongeveer 15%) van de dampdruk in de kas. Het huidmondje bezit weliswaar de capaciteit om zelf de verdamping enigszins terug te regelen, maar niet volledig. Zou dit wel gebeuren dan kon de enorme toevoer aan energie al heel snel tot overtemperatuur leiden en daarmee tot enorme plantschade. Het samenspel van een iets oplopende bladtemperatuur en toenemende convectieve warmteoverdracht aan de kaslucht gecombineerd met de iets afnemende verdamping tot een systeem levert robuustheid. En hoewel 15% vermindering van de verdamping slechts een subtiel verschil lijkt kan het toch precies verdamping en wateraanvoer via de wortels langer in evenwicht houden en de huidmondjes net zoveel verder open houden dat de CO₂-opname minder geremd wordt.
4. Het blijft verbazingwekkend dat de belangrijkste doelvariabele, de netto opname van CO₂ door het gewas, niet gemeten wordt, laat staan dat er op gestuurd wordt. Uiteraard heeft dit te maken met het ontbreken van goede meetapparatuur. Daarnaast lijkt er een stilzwijgende consensus te bestaan over de gedachte dat een grote verdamping synoniem is aan een grote CO₂-opname. Om daadwerkelijk te komen tot een klimaatregeling op basis van een 'sprekende' plant, is het kunnen vaststellen van de momentaan opgenomen CO₂ van groot belang. Gezien de grote buffercapaciteit van een gewas is een inschatting op uurbasis al een behoorlijke stap. Een weegschaal zou zoiets moeten kunnen vaststellen, maar vooralsnog zijn de bestaande weegsystemen niet bruikbaar voor dit doel, vooral door teveel ruis op de meting. Toch lijken er wel mogelijkheden om de betrouwbaarheid van deze meting verder op te voeren, met name door de weegschaal en de te meten planten mechanisch volledig te isoleren van de rest van de kas. Nog beter zou zijn om een meetkamer te ontwikkelen waarmee de gasuitwisseling van één of enkele planten op minutenbasis bepaald kan worden in een kassituatie. Een dergelijk meetsysteem bestaat (Hansen, 1996), maar is vrij kostbaar en onderhoudsintensief. Het loont de moeite om na te gaan of een vereenvoudigde versie daarvan haalbaar is omdat dit instrument specifiek voor onderzoek doeleinden was gebouwd. En ook hier geldt dat de energiebalans niet verstoord mag worden door de meting zelf.

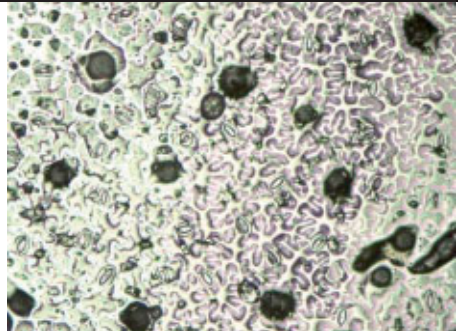
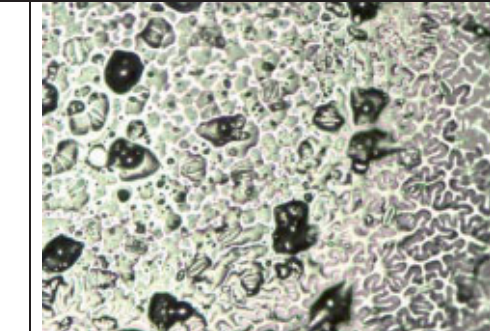
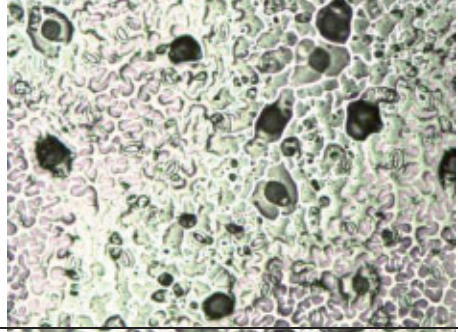
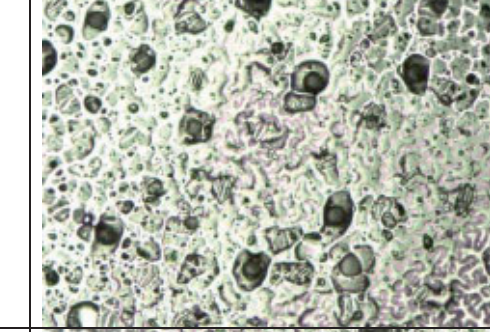
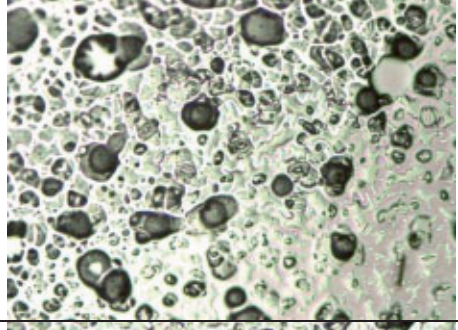
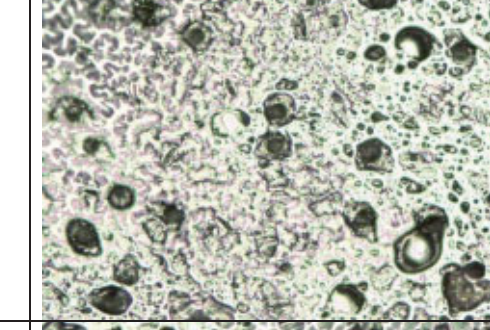
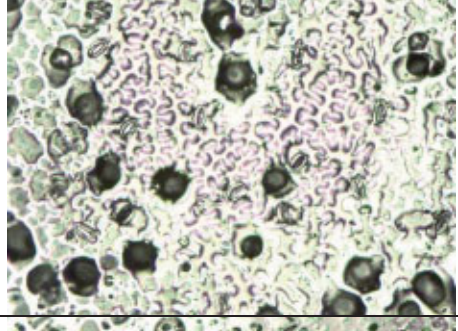
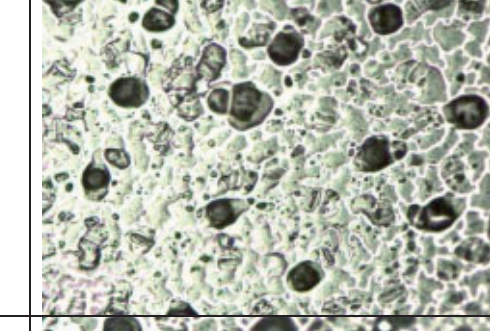
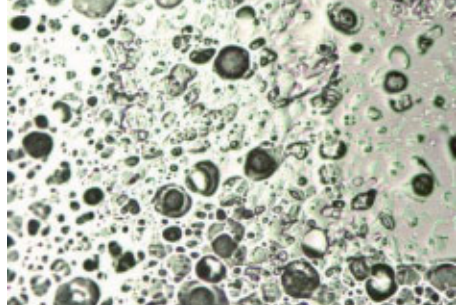
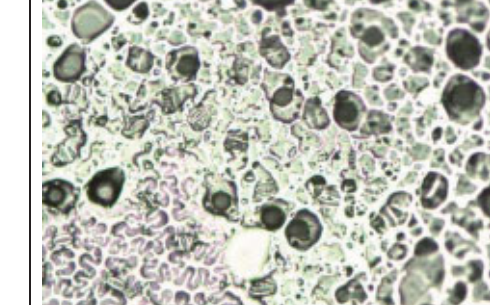
6 Referenties

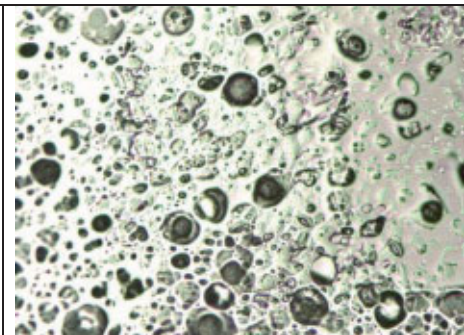
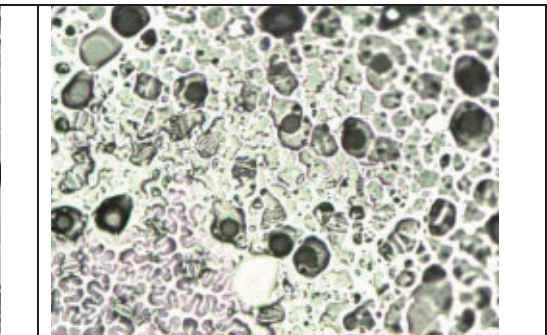
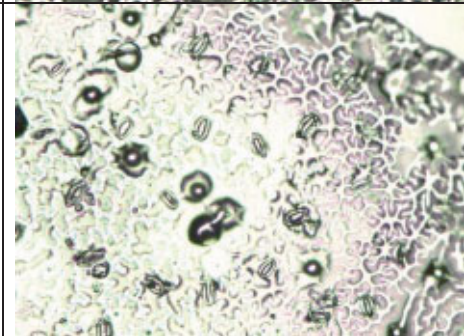
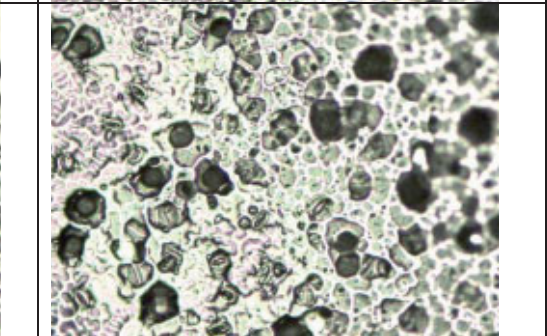
- Ayari, O., G. Samson, M. Dorais, R. Boulanger & A. Gosselin, 2000.
Stomatal limitation of photosynthesis in winter production of greenhouse tomato plants. *Physiologia Plantarum*, 110 (4), 558-564.
- R. Baas 2009.
On-line metingen verdamping en groei in Greenportkas mei-november 2008. Intern verslag WUR glastuinbouw.
- Buckley, T.N., K.A. Mott & G.D. Farquhar, 2003.
A hydromechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment* 26, 1767-1785.
- Dieleman, A., F. Kempkes & T. Dueck, 2006.
'Activeren' of 'stilzetten' op donkere dagen. Wageningen UR nota 423.
- Franks, P.J. & G.D. Farquhar, 2007.
The mechanical diversity of Stomata and its significance in Gas-Exchange Control. *Plant Physiology*, Vol 43, pp 78-87.
- Hansen, J.M. & K. Hogg-Schmidt, 1996.
A computer controlled chamber system designed for greenhouse microclimatic modelling and control. *Acta Horticulturae* 440, 310-315.
- H. Kaiser, 1999.
Die stomatische Reaktion von *Sambucus nigra* und *aegopodium podagraria* in Abhängigkeit von Licht und Luftfeuchte. Dissertation Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
- Houter, B. *et al.*, 2004.
Energiebesparing door aangepaste vochtregulatie. PPO 416.16017.
- Kaiser, H. & L. Kappen, 2001.
Stomatal oscillations at small apertures: indications for a fundamental insufficiency of stomatal feedback-control inherent in the stomatal turgor mechanism, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 52, No. 359, pp. 1303-1313.
- Lawson, T., W. James & J. Weyers, 1998a.
A surrogate measure of stomatal aperture. *J. Exp. Botany*, 49 (325), 1397-1403.
- Lawson, T., J. Weyers & R. A'Brook, 1998b.
The nature of heterogeneity in the stomatal behaviour of *Phaseolus vulgaris* L. primary leaves. *J. Exp. Botany*, 49 (325), 1387-1395.
- Marcelis L.F.M., E. Heuvelink & J. Goudriaan, 1998.
Modelling biomass production and yield of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae* 74, 83-111.
- Martin, E.S., M.E. Donkin & R.A. Stevens, 1983.
Stomata. *Studies in Biology* 155. Edwin Arnold Publishers, London UK.
- Monteith, J.L., 1965.
Evaporation and environment. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 19, 205-224.

- Mott, K.A., 1988.
Do Stomata Respond to CO₂ Concentrations Other than Intercellular? *Plant Physiol.* (1988) 86, 0200-0203.
- Namba, K., N. Kondo, M. Monta & A. Sasao, 2004.
'Measurement of Plant Stomas under Several CO₂ Conditions using Microscopic Images'. *Shokubutsu Kojo Gakkaishi*, Vol. 16, 41-49.
- Nederhoff, E.M., 1994.
Effect of CO₂ concentrations on photosynthesis, transpiration and production of greenhouse fruit vegetable crops. thesis
- Sharon, Y. & B. Bravdo, 2001.
A fully-automated orchard irrigation system based on continuous monitoring of turgor potential with a leaf sensor. *Acta Horticulturae* 562, 55-61.
- Takakura, T. *et al.*, 2007.
Evapotranspiration Rate Measurement by Energy-balance Equation in a Single-span Greenhouse. ASABE paper 074020.
- Talbott, L.D. et al., 2003.
Relative humidity is a key factor in the acclimation of the stomatal response to CO₂ *Journal of exp botany* Vol 54.
- Taub, D.R., J.R. Seemann & J.S. Coleman, 2000.
Growth in elevated CO₂ protects photosynthesis against high-temperature damage. *Plant, Cell and environment* 23, 649-656.
- Ting, I.P. & W.E. Loomis, 1963.
Diffusion through Stomates. *American Journal of Botany*, Vol 50, Nr 9, pp. 866-872.
- Tuzet, A., A. Perrier & R. Leuning, 2003.
A Coupled model of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration. *Plant, Cell and Environment* 26 pp 1097-1116.
- Weyers, J.D.B. & L.G. Johansen, 1985.
Accurate estimation of stomatal aperture from silicone rubber impressions, *New Phytologist* 101, 109-115.
- Willmer, C. & M. Frickler, 1996.
Stomata, second edition. Chapman & Hall. ISBN 0-412-72500-2.

Bijlage I.**Foto's huidmondjes Grevelingen van
11 oktober 2007**

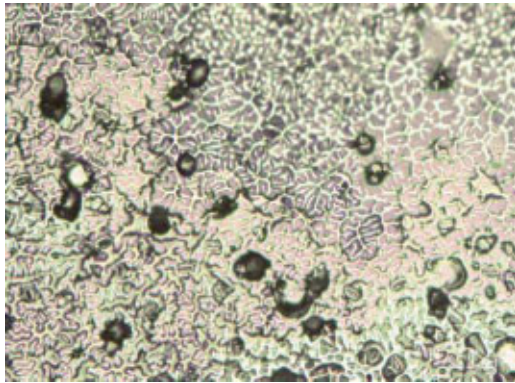
Tijd	Boven	Onder
0745-0750		
0815-0830		
0845-0855		
0915-0920		

0945- 0950		
		
1025-1030		
1100-1105		
1130-1135		

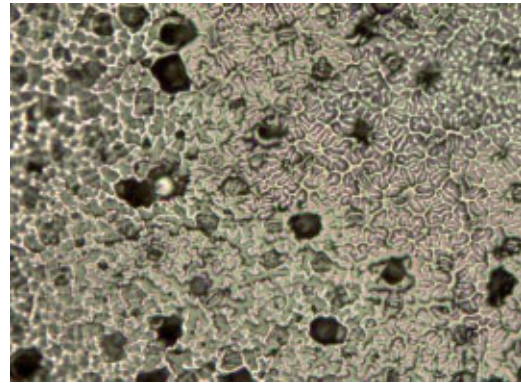
1130-1135		
1200-1205		

Bijlage II.

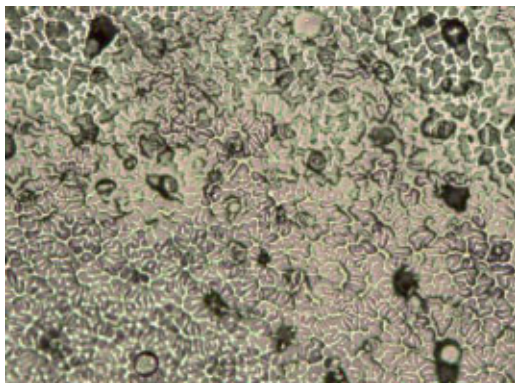
Foto's huidmondjes Wageningen UR van 9 november 2007



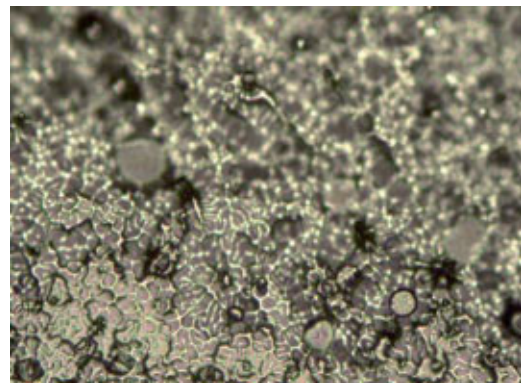
7.48 uur



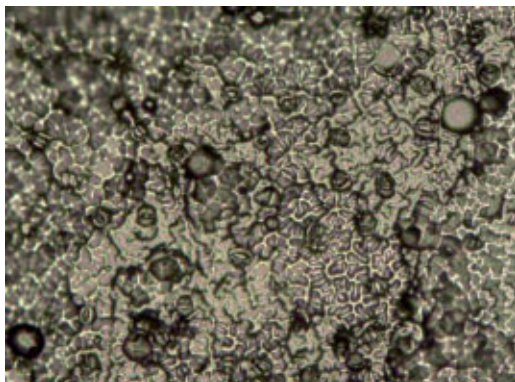
8.20 uur



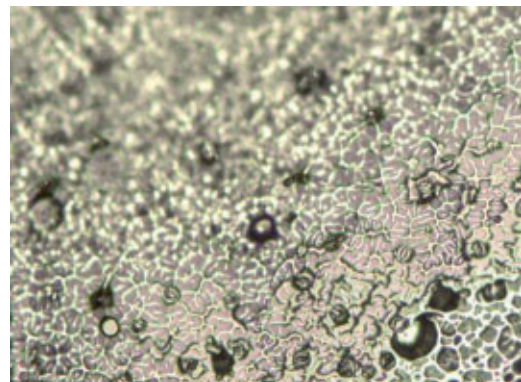
8.37 uur



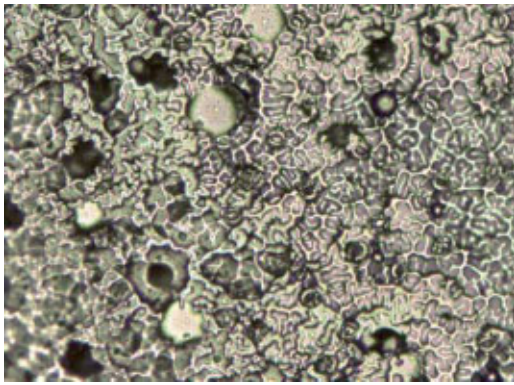
9.15 uur



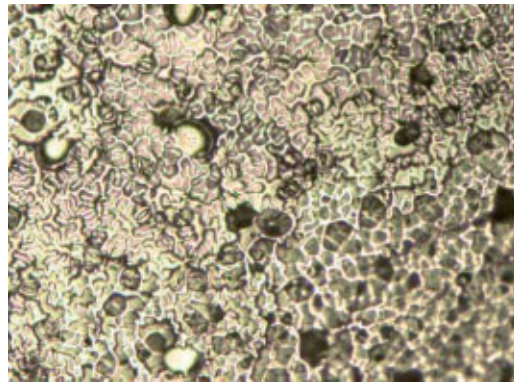
9.42 uur



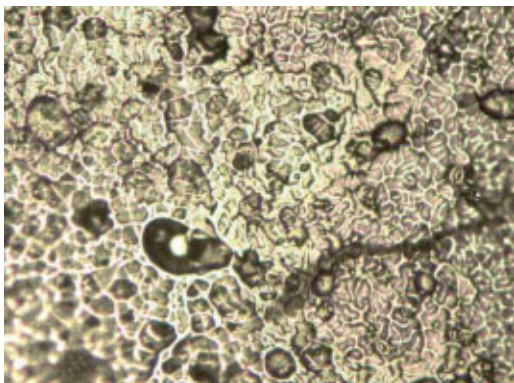
10.13 uur



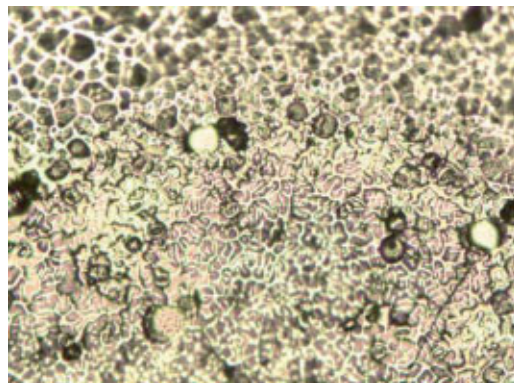
10.41 uur



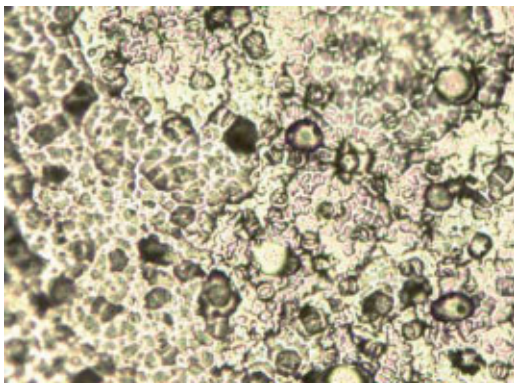
11.11 uur



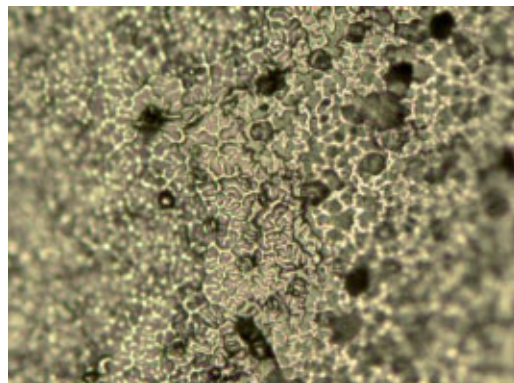
11.40 uur



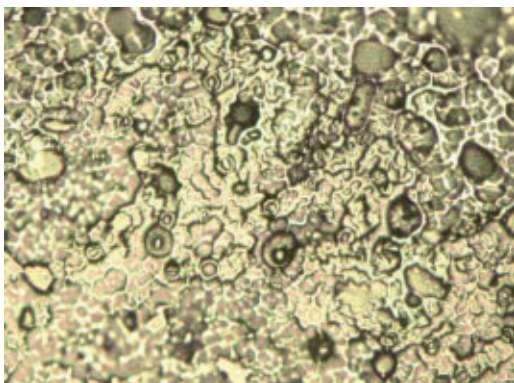
12.13 uur



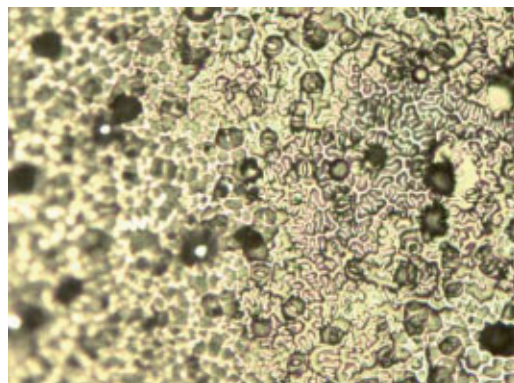
12.46 uur



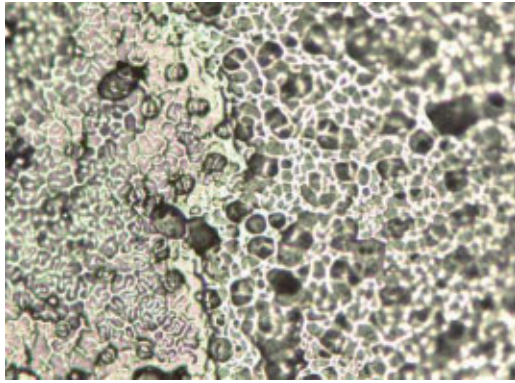
13.25 uur



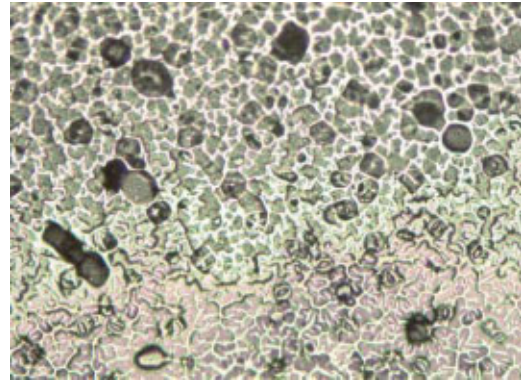
13.44 uur



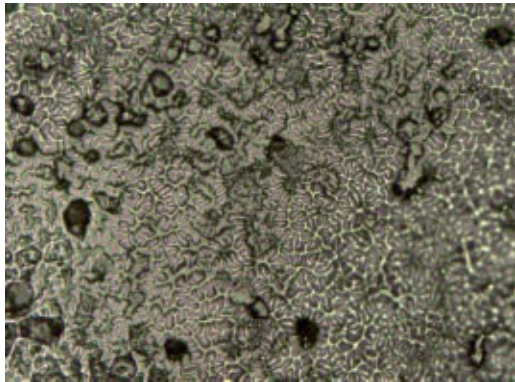
14.14 uur



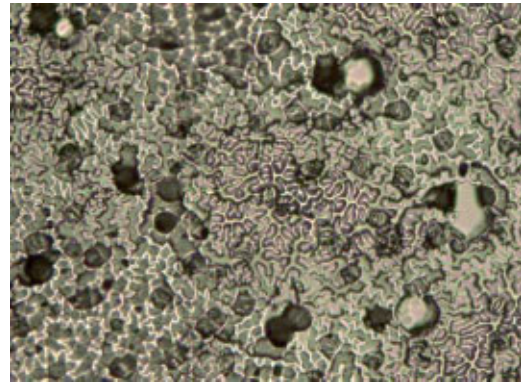
14.44 uur



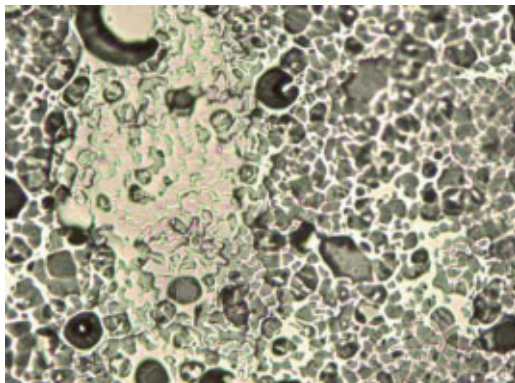
15.12 uur



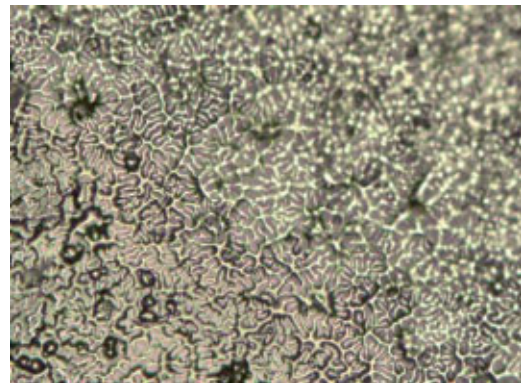
15.44 uur



16.12 uur



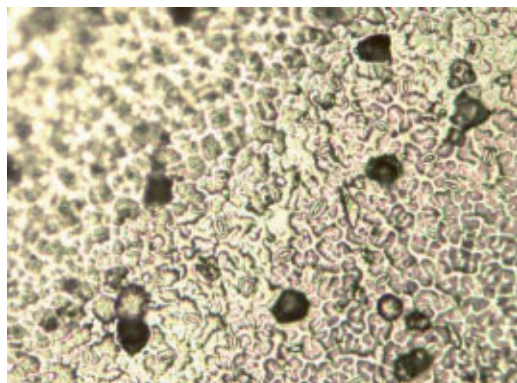
16.42 uur



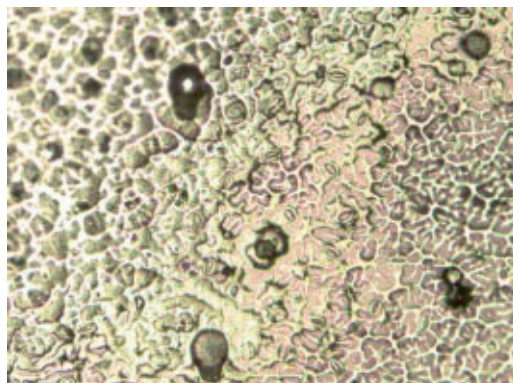
17.12 uur

Bijlage III.

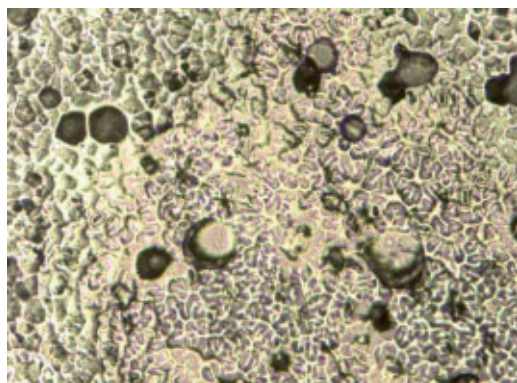
Foto's huidmondjes van 14 december 2007



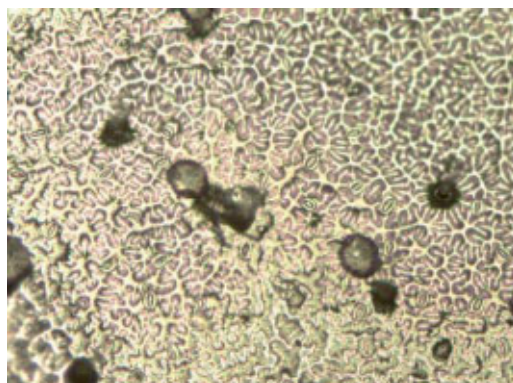
8.18 uur



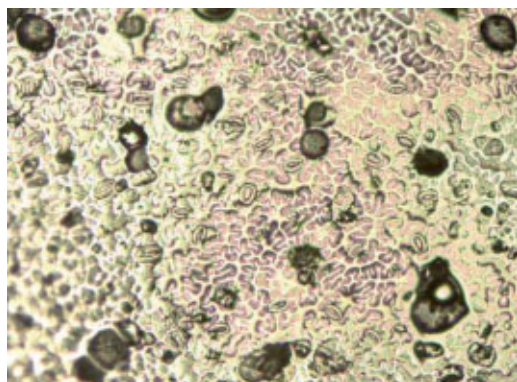
9.56 uur



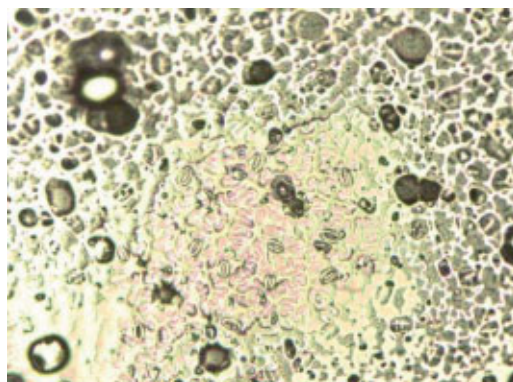
11.42 uur



13.17 uur



15.23 uur



16.20 uur

