



Nieuwe balansen in Het Nieuwe Telen: Hormonen en Ecologie

Mark van Hoogdalem, Marta Streminska, Yaite Cuesta Arenas, Arie de Gelder,
Kees Weerheim en Anja Dieleman

Rapport WPR-996

Referaat

Voor het project "Nieuwe balansen in Het Nieuwe Telen (HNT): hormonen en ecologie" is een literatuurstudie gedaan naar de huidige staat van kennis met betrekking tot de hormoonbalans en de ecologische balans. Daarnaast is gekeken in hoeverre kennis van deze 'nieuwe' balansen nuttig is voor telers en een waardevolle toevoegingen aan het theoretisch kader van HNT waarin onder andere de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in de plant en de energiebalans, vochtbalans en CO₂ balans in de kas centraal staan. Uit de literatuurstudie blijkt dat de hormoonbalans en de ecologische balans verschillen van de andere plantbalansen binnen HNT. Beide maken een belangrijk onderdeel uit van de mechanismen die de plant helpen om zich aan te passen aan de omgeving en daarmee de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in stand houden onder uiteenlopende omstandigheden. De hormoonbalans en ecologische balans vormen nuttige plantkundige aanvullingen binnen het kader van het HNT. Ook al weten we niet alles, door gebruik te maken van de huidige kennis van relaties met hormonen en ecologie is het beter mogelijk om goed te telen volgens de balansen van HNT met een optimaal gebruik van energie voor licht en warmte en CO₂.

Abstract

Within the project "Nieuwe balansen in Het Nieuwe Telen (HNT): hormonen en ecologie" a literature study was conducted on the plant hormonal and ecological balance. Besides describing the current state of knowledge on these 'new' balances, the study also focused on whether this knowledge is useful for growers and form a valuable addition to the theoretical framework of HNT, in which the water balance, energy balance, and assimilate balance in the plant and the energy balance, water balance and CO₂ balance in the greenhouse play a central role. From the literature study it becomes clear that the hormonal and ecological balance differ from the traditional plant balances within HNT. Both form an essential part of mechanisms that help the plant to adapt to changing environments and by doing so control the water balance, energy balance and assimilate balance of the plant under different circumstances. The hormonal balance and ecological balance are valuable additions to the theoretical framework of HNT. Although there is still a lot unknown, using available knowledge on hormones and ecology can help growers to implement HNT in their cultivation strategy and make optimal use of energy for light, heating and CO₂.

Rapportgegevens

Rapport WPR-996

Projectnummer: 3743395400

DOI: <https://doi.org/10.18174/550352>

Thema: Plantenfysiologie

Dit project/onderzoek is mede tot stand gekomen door de bijdrage van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit in het kader van het programma Kas als Energiebron.

Disclaimer

© 2021 Wageningen, Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit Glastuinbouw, Postbus 20, 2665 MV Bleiswijk T 0317 48 56 06, www.wur.nl/plant-research.

Kamer van Koophandel nr.: 09098104

BTW nr.: NL 8113.83.696.B07

Stichting Wageningen Research. 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 Stichting Wageningen Research.

Stichting Wageningen Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Adresgegevens

Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw

Postbus 20, 2665 ZG Bleiswijk

Violierenweg 1, 2665 MV Bleiswijk

T +31 (0)317 48 56 06

Inhoud

	Samenvatting	5
1	Inleiding	7
2	De Hormoonbalans	9
2.1	Inleiding	9
2.2	Hormonen: de basisprincipes	9
2.2.1	Processen die bepalend zijn voor lokale hormoonconcentraties	10
2.2.1.1	Aanmaak en afbraak	10
2.2.1.2	Omzetting en conjugatie	11
2.2.1.3	Transport	11
2.2.2	Hormoonsignalering	12
2.2.2.1	Waarneming van hormonen in de plantencel	12
2.2.2.2	Werking van hormonen: beïnvloeden regeleiwitten	12
2.2.3	Regulatie van hormonen en hun signalering door licht en temperatuur	13
2.2.3.1	Licht	13
2.2.3.2	Temperatuur	13
2.2.3.3	Crosstalk tussen licht en temperatuursignalen	14
2.2.4	Rol voor de biologische klok	14
2.2.5	Interacties tussen verschillende hormonen	15
2.2.6	De hormoonbalans?	15
2.3	De verschillende soorten plantenhormonen	15
2.3.1	Auxine	16
2.3.2	Gibberellines	17
2.3.3	Ethyleen	18
2.3.4	Cytokinines	18
2.3.5	Brassinosteroiden	18
2.3.6	Strigolactonen	19
2.3.7	Abscisinezuur	19
2.3.8	Salicylzuur	20
2.3.9	Jasmonzuur	20
2.4	Plantenhormonen meten	20
2.5	Praktijkvoorbeelden hormoonbalans	21
2.5.1	Strekking aardbei tijdens wintermaanden	22
2.5.2	Compact telen siergewassen	23
2.5.3	Weerbaarheid Chrysant	23
2.5.4	Uitloop van zij scheuten en knoppen	24

3	De ecologische balans: Nuttige micro-organismen in en rond de plant	27
3.1	Inleiding	27
3.2	Welke en hoeveel micro-organismen zijn aanwezig in plant holobiont?	27
3.3	Micro-organismen en beschikbaarheid van nutriënten voor de planten	29
3.4	Productie en afbraak van planthormonen door micro-organismen	31
3.4.1	Microbiële productie en afbraak van auxines	32
3.4.2	Microbiële productie van cytokinines	33
3.4.3	Microbiële productie van gibberellines	34
3.4.4	Microbiële productie en afbraak van ethyleen	34
3.5	Micro-organismen en geïnduceerde resistentie tegen plantpathogenen	35
3.6	Micro-organismen en bescherming van planten via directe effecten op ziekten en plagen	37
3.7	Gebruik van micro-organismen tijdens de teelt onder glas in het praktijk	38
4	Niet-microbiële biostimulanten en hun effect op de hormoonbalans en ecologische balans	41
4.1	Inleiding	41
4.2	Zeewierextracten	42
4.3	Chitosan	44
4.4	Humuszuren	46
4.5	Eiwit hydrolysaat	48
5	Conclusies en Discussie	51
	Literatuur	55

Samenvatting

In het theoretisch kader van Het Nieuwe Telen (HNT) zijn zes balansen gedefinieerd: de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in de plant en de energiebalans, vochtbalans en CO₂ balans in de kas. Bij het toepassen van HNT lopen telers en onderzoekers soms tegen problemen aan die niet geheel te verklaren zijn met deze balansen. In het rapport "De negen balansen in Het Nieuwe Telen" is onderzocht in hoeverre de mineralenbalans, de ecologische balans en de hormoonbalans nuttige aanvullingen zijn op de bestaande zes balansen van HNT. Uit dit rapport blijkt dat er heel weinig parate kennis is over de functies van hormonen, maar dat er in HNT wel veel van de effecten die waargenomen worden geweten worden aan verstoringen hierin en dat er nog veel vragen liggen over de ecologische balans, met name in de ondergrondse situatie (substraat, micro-organismen, wortelgroei en de invloed hiervan op plant-weerbaarheid). Een beter begrip van de hormoonbalansen in de plant en de ecologische balans in het wortelmilieu zal het beter mogelijk maken onder veranderende omstandigheden goed te telen met een optimaal gebruik van de natuurlijke bronnen licht en CO₂.

Binnen het project "nieuwe balansen in Het Nieuwe Telen: hormonen en ecologie" is een literatuurstudie gedaan naar de huidige staat van kennis met betrekking tot de hormoonbalans en de ecologische balans. Daarnaast is gekeken in hoeverre kennis van de hormoonbalans en ecologische balans nuttig kan zijn voor telers en waardevolle toevoegingen zijn aan het theoretisch kader van Het Nieuwe Telen (HNT).

Hormonen zijn in de natuur voorkomende stoffen die in lage concentraties fysiologische processen in de plant beïnvloeden. Ze dienen als chemische boodschapperstoffen die signalen uit de omgeving of vanuit de plant zelf doorgeven en vervolgens fysiologische processen beïnvloeden zodat de plant zich kan aanpassen aan de omstandigheden. Daarbij is er vaak interactie tussen hormonen: hormonen kunnen elkaars concentratie of effect beïnvloeden, zowel positief of negatief. Daarmee is vooral de balans tussen de verschillende hormonen in de plant van groot belang voor de aansturing van plantprocessen. In tegenstelling tot de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans kan men niet stellen dat een plant naar een bepaalde hormoonbalans streeft. De hormoonhuishouding maakt deel uit van het mechanisme waarmee de plant zich aan kan passen in ontwikkeling aan de omgeving. Dit maakt kennis van de hormoonbalans niet minder belangrijk. Als de hormoonbalans het bereiken van een goede ontwikkeling van de plant verstoort dan is het hebben van een evenwicht in de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans niet voldoende voor een optimale productie. De kennis kan helpen bepaalde reacties van een gewas te begrijpen en tot oplossingen te komen voor problemen die zich tijdens de teelt voordoen of teeltcondities te optimaliseren.

In de ecologische balans staan de plant en alle micro-organismen in en rond de plant (het holobiont) centraal. Planten kunnen niet functioneren zonder micro-organismen. Bacteriën en schimmels, die in associatie met de plant leven, beïnvloeden de groei, ontwikkeling en gezondheid van de planten. Dit doen ze door de opname van nutriënten te stimuleren, doormiddel van het beïnvloeden van de hormoonbalans of door het beschermen van de plant tegen ziekten en plagen. Er is dus een directe relatie tussen de hormoonbalans en de ecologische balans.

De ecologische balans maakt onderdeel uit van het systeem dat de plant helpt om zich aan te passen aan de omgeving. Kennis van de ecologische balans kan een belangrijke rol spelen in de route naar duurzaam fossielvrij telen. Bijvoorbeeld door het toevoegen en/of creëren van ideale omstandigheden voor de groei van micro-organismen die groeibevorderende of weerbaarheid-verhogende stoffen (zoals hormonen) produceren. Of door gebruik te maken van niet-microbiële biostimulanten. Dit zijn biostimulanten, stoffen met gunstige effecten op een gewas, die geen micro-organismen bevatten maar wel een natuurlijk oorsprong hebben. Ze zijn bijvoorbeeld door een organisme geproduceerd. Voorbeelden zijn zeewierextracten, chitosan, humuszuren en eiwit hydrolysaat.. Deze producten kunnen net als nuttige micro-organismen (of microbiële biostimulanten) een bijdrage leveren aan het telen van gezonde en duurzame gewassen door groei, ontwikkeling en weerbaarheid van gewassen te stimuleren. De kennis over dit gehele complex is nog beperkt.

De hormoonbalans en ecologische balans hebben effect op de ontwikkeling en weerbaarheid van de plant en daarmee een indirect effect op de energiebalans, assimilatenbalans en waterbalans. Kennis over deze processen is belangrijk om het gedrag van planten binnen het Nieuwe Telen te begrijpen. Dit is nodig om de ontwikkeling van de plant via de hormoonbalans of de ecologische balans zo te sturen, dat dit bijdraagt aan een energiezuinig teelt volgens de zes balansen van het Nieuwe Telen.

1 Inleiding

De sector heeft een ambitieuze doelstelling in reductie van de CO₂ emissie. Een belangrijke pijler om dit te realiseren is Het Nieuwe Telen (HNT). In het theoretisch kader van HNT zijn zes balansen gedefinieerd, namelijk de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in de plant en de energiebalans, vochtbalans en CO₂ balans in de kas. Bij het toepassen van HNT lopen telers en onderzoekers soms tegen problemen aan die niet geheel te verklaren zijn met deze balansen. In het recent verschenen rapport “De negen balansen in Het Nieuwe Telen” is daarom onderzocht in hoeverre de mineralenbalans, de ecologische balans en de hormoonbalans nuttige aanvullingen zijn op de bestaande zes balansen van HNT. Uit dit rapport blijkt dat er heel weinig parate kennis is over de functies van hormonen, maar dat er in HNT wel veel van de effecten die waargenomen worden geweten worden aan verstoringen hierin en dat er nog veel vragen liggen over de ecologische balans, met name in de ondergrondse situatie (substraat, micro-organismen, wortelgroei en de invloed hiervan op plant-weerbaarheid). Een concreet voorbeeld zijn de verschijnselen die waargenomen worden onder verschillende proeven met LED belichting zoals veel knopuitloop in al gediefde oksels (komkommer) en problemen met strekking (aardbei). Deze fenomenen zijn hormonaal aangestuurd. Een beter begrip van de hormoonbalansen in de plant en de ecologische balans in het wortelmilieu zal het beter mogelijk maken onder veranderende omstandigheden goed te telen met een optimaal gebruik van de natuurlijke bronnen licht en CO₂.

In dit rapport worden de resultaten van een literatuurstudie naar de huidige staat van kennis met betrekking tot de hormoonbalans en de ecologische balans beschreven. Daarnaast wordt er dieper ingegaan op hoe de kennis van deze balansen kan worden toegepast in de praktijk (vormen deze balansen nuttige aanvullingen op de bestaande balansen binnen HNT?) en hoe deze twee ‘nieuwe’ balansen zich verhouden tot de andere plantbalansen binnen het HNT.

In hoofdstuk 2 worden eerst de principes van hormoonsignalering uitgelegd en de invloed hierop van licht, temperatuur en de rol die de biologische klok hierin speelt. Vervolgens worden de verschillende soorten hormonen en hun effecten op de plant beschreven en wordt dieper ingegaan op waar men rekening mee moet houden bij het meten van hormonen. Tot slot worden er een aantal praktijkvoorbeelden beschreven waarin de hormoonbalans een belangrijke rol speelt in de teelt onder glas. Hoofdstuk 3 behandelt de ecologische balans, waarin de plant met alle micro-organismen in en rond de plant (het holobiont) centraal staan. Naast algemene informatie over de micro-organismen die aanwezig zijn in het holobiont wordt er ingegaan op de verschillende manieren waarop micro-organismen nuttig kunnen zijn voor het gewas en hoe deze in de praktijk ingezet zouden kunnen worden. Zowel de hormoonbalans als de ecologische balans kunnen worden beïnvloed door de toepassing van (niet microbiële-)biostimulanten. In hoofdstuk 4 wordt van een aantal van deze producten de werkingsmechanismen beschreven en wat de mogelijke effecten zijn op de plant. Tot slot worden de bevindingen van de literatuurstudie bediscussieerd in hoofdstuk 5.

2 De Hormoonbalans

2.1 Inleiding

Peter J. Davies (Davies, 2010) geeft in zijn boek "Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!" de volgende definitie van plantenhormonen:

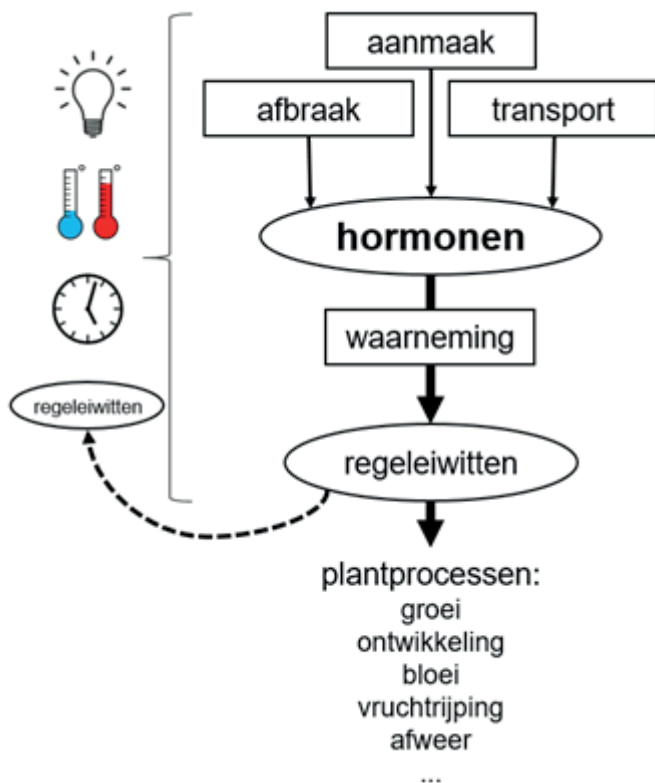
"Een groep van in de natuur voorkomende organische stoffen die in zeer lage concentraties fysiologische processen kunnen beïnvloeden"

Voorbeelden van plant fysiologische processen die door plantenhormonen worden gereguleerd zijn groei en ontwikkeling (bijvoorbeeld strekking van stelen of ontwikkeling van bloemen of vruchten), maar ook andere processen zoals het openen en sluiten van de huidmondjes (stomata) of de aanmaak van afweerstoffen tegen ziekteverwekkers (pathogenen). Hormonen dienen als chemische signalen die informatie van buitenaf zoals licht, temperatuur, aanwezigheid plagen, of vanuit de plant zelf zoals suikers, water doorgeven en plantprocessen hierop aanpassen. Hiermee vervullen ze een belangrijke rol in het behouden van plantbalansen onder veranderende omstandigheden. Dit doen ze bijvoorbeeld door het openen en sluiten van de huidmondjes (stomata) te sturen. Daarmee kunnen ze zowel de waterbalans als de energie balans reguleren. Een ander voorbeeld is dat hormonen de architectuur van de plant kunnen aanpassen onder warmere omstandigheden (strekking van bladstelen en kleinere dunnere bladeren) om zo koelingscapaciteit te verhogen.

In vergelijking met hormonen die we kennen uit mensen en dieren zijn er een aantal opvallende verschillen (Davies, 2010b). In tegenstelling tot dierlijke hormonen worden plantenhormonen niet door één specifiek orgaan of weefsel geproduceerd en getransporteerd naar de plek waar ze een effect hebben. Plantenhormonen kunnen op meerdere plekken in de plant geproduceerd worden en kunnen ook lokaal (op de plaats van productie) een effect hebben. Wel is het zo dat ook in planten het transport van hormonen vaak een belangrijke functie vervult. Daarnaast is een belangrijk kenmerk van plantenhormonen dat er veel overlap is tussen de effecten van de verschillende hormonen op plantprocessen. Een plantproces zoals bloei wordt dan ook door meerdere hormonen gereguleerd via complexe interacties tussen de hormonen en hun signaleringsroutes.

2.2 Hormonen: de basisprincipes

In dit hoofdstuk zullen de basisprincipes van hormoonsignalering aan bod komen (zie ook figuur 2.1): eerst wordt uitgelegd hoe de lokale concentraties van hormonen in planten worden gereguleerd en daarna hoe hormonen worden waargenomen en uiteindelijk effect hebben op plantprocessen. Veel van de informatie in dit hoofdstuk staat beschreven in (Davies, 2010a, 2010b) en is indien nodig aangevuld met informatie uit andere literatuur, waar apart naar wordt gerefereerd in de tekst.



Figuur 2.1 Basisprincipes hormoonsignalering en regulatie.

2.2.1 Processen die bepalend zijn voor lokale hormoonconcentraties

Het effect van een hormoon op de regulatie van plantprocessen is onder andere concentratie-afhankelijk. Strikte regulatie van de lokale concentratie van biologisch actieve plantenhormonen is daarom van groot belang voor optimale groei en ontwikkeling van planten. In de volgende paragrafen worden de processen beschreven die hier uiteindelijk bepalend voor zijn: de aanmaak, afbraak, omzetting, conjugatie en transport van hormonen.

2.2.1.1 Aanmaak en afbraak

In eerste instantie wordt de concentratie van een hormoon bepaald door de aanmaak of afbraak van het hormoon door de plant. Deze processen worden uitgevoerd door gespecialiseerde eiwitten die chemische reacties kunnen laten verlopen: enzymen. Of een hormoon wordt aangemaakt of afgebroken hangt af van de aanwezigheid en activiteit van de enzymen die het hormoon kunnen aanmaken of afbreken. De productie van deze enzymen in de plant wordt strikt gereguleerd door verschillende omgevingsfactoren zoals klimaat, maar ook door verschillende soorten stress, infecties en door interne factoren zoals de hoeveelheid beschikbare suikers. Zo kan een temperatuursverhoging van slechts een paar graden al zorgen voor een toename in productie van enzymen die verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van het groeihormoon gibberellinezuur en auxine (Casal & Balasubramanian, 2019). Hierdoor stijgt de hoeveelheid van deze hormonen in de plant bij hogere temperaturen en wordt groei bevorderd. Hormonen beïnvloeden ook hun eigen aanmaak/afbraak door het sturen van enzymproductie. Een hoge concentratie van cytokininen (een groep plantenhormonen die o.a. celdeling stimuleren) zorgt bijvoorbeeld voor een verhoogde productie van enzymen die cytokininen kunnen afbreken (Kieber & Schaller, 2018; Werner *et al.* 2010). Cytokininen onderdrukken dus eigenlijk hun eigen aanmaak. Dit zorgt ervoor dat de concentratie cytokininen in de plant in balans blijft. Dit mechanisme, waarbij een hormoon de eigen afbraak stimuleert, is een voorbeeld van negatieve feedback. Veel plantenhormonen worden via negatieve feedback mechanismen gereguleerd om hun eigen effect op plantprocessen te dempen. Een (te) snelle en heftige aanpassing van plantprocessen kan namelijk op de langere termijn schadelijk zijn voor de plant.

2.2.1.2 Omzetting en conjugatie

Plantenhormonen zijn onderverdeeld in groepen die bestaan uit stoffen waarvan de chemische structuur grotendeels overeenkomt maar in details van elkaar verschillen. Zo zijn er bijvoorbeeld meer dan 100 verschillende gibberellines (GAs) bekend in planten. Niet alle GAs zijn biologisch actief: sommige hebben niet direct een effect op de plant. Veel GAs zijn voorloper versies die tijdens de verschillende stappen in het productieproces van biologische actieve GAs worden gevormd, maar sommigen ontstaan door omzetting of afbraak van deze actieve GAs. De verschillende vormen van een hormoon kunnen verschillen in hun activiteit of in hun biologische rol. In raaigras lijken GA5 en GA6 bijvoorbeeld belangrijker voor bloei-inductie, terwijl GA1 en GA4 belangrijker lijken voor groei (King *et al.* 2003). Omdat de hormonen die tot dezelfde groep behoren sterk op elkaar lijken kunnen ze vaak op een relatief eenvoudige en snelle manier omgezet worden. Zo kan een biologisch actieve vorm van een hormoon snel omgezet worden in een inactieve vorm die meer een voorraadfunctie heeft. De omzetting van hormonen speelt zo een belangrijke rol in de regulatie van de hoeveelheid actief hormoon in de plant. Daarnaast speelt het in veel gevallen een belangrijke rol in het doorgeven van een hormoonsignaal naar andere delen van de plant of naar andere planten in de buurt. Zo worden vooral niet-actieve GAs getransporteerd via de vaatbundels van de plant, waarna deze weer worden omgezet in actieve vormen na aankomst op de plaats van bestemming. Hormonen kunnen ook worden gekoppeld met een andere chemische groep zoals een suiker of aminozuur. Dit wordt conjugatie genoemd. Deze aanpassingen aan hormonen gebeuren ook door enzymen en kunnen bijvoorbeeld effect hebben op de activiteit van een hormoon. Zo zorgt het toevoegen van suikergroepen aan brassinosteroïden (BRs; een groep plantenhormonen die groei stimuleren) voor inactivatie van dit hormoon (Tang *et al.* 2016).

2.2.1.3 Transport

In veel gevallen worden hormonen geproduceerd op de locaties in de plant waar ze ook hun werk doen, maar toch speelt transport van hormonen een belangrijke rol in bepalen van lokale hormoonconcentraties in de plant. Transport vindt plaats over langere afstanden (bijvoorbeeld van wortel naar scheut) maar ook tussen cellen. Plantenhormonen worden over langere afstanden in de plant getransporteerd via het xyleem en het floëem. Speciale eiwitten zorgen ervoor dat hormonen vanuit de cellen waar ze worden aangemaakt, worden geladen in het xyleem of floëem en bij aankomst op de eindbestemming weer kunnen worden opgenomen door cellen waar ze een hun rol vervullen. Doordat hormonen tussen verschillende delen van de plant worden getransporteerd kan een signaal dat wordt waargenomen in het ene deel van de plant, en daar de aanmaak van een hormoon stimuleert, effect hebben op de regulatie van plantprocessen in andere delen van de plant. Een voorbeeld hiervan is het transport van abscisinezuur (ABA), een hormoon dat betrokken is bij reacties van planten op verschillende vormen van omgevingsstress, waaronder droogte. Bij droogte wordt ABA geproduceerd in wortels en via het xyleem naar bladeren getransporteerd. Daar zorgt het voor het sluiten van de huidmondjes om op die manier waterverlies te voorkomen (Dodd & Davies, 2010).

Het transport van cel naar cel kan op een passieve manier plaatsvinden, via diffusie, of op een actieve manier, via transporteiwitten. Omdat de lokale concentratie van plantenhormonen een zeer belangrijke rol speelt in de regulatie van plantprocessen wordt, net als de aanmaak en afbraak, het transport van hormonen via transporteiwitten strikt gereguleerd. Vooral naar de regulatie van auxinetransport en het belang hiervan voor groei en ontwikkeling van planten is in de loop der tijd veel onderzoek gedaan. Zo wordt de aanmaak, lokalisatie, en de activiteit van een belangrijke groep auxine transporteiwitten (PINs) gereguleerd door omgevingsfactoren als licht en temperatuur, maar ook door interne factoren zoals concentraties van auxine of andere hormonen (overzicht in (Adamowski & Friml, 2015)). Een voorbeeld van de belangrijke rol die transport speelt in de regulatie van plantprocessen door hormonen wordt geïllustreerd door de rol van PIN3 in de shade avoidance response (SAR). Dit is het fenomeen waarbij strekking van bovengrondse plantdelen wordt gestimuleerd als de plant een verlaging in de verhouding rood:verrood licht waarneemt, een signaal dat er op kan duiden dat de plant wordt overschaduwd door een andere plant. In hun studie laten Keuskamp *et al.* (2010) zien dat waarneming van een verlaging in de verhouding rood:verrood licht zorgt voor herschikking van PIN3 eiwitten in cellen van de hypocotiel (stengelstukje onder de zaadlobben) van de zandraket. De resulterende veranderingen in lokale auxineconcentraties zorgen uiteindelijk voor strekking van de hypocotiel (Adamowski & Friml, 2015; Keuskamp *et al.* 2010).

2.2.2 Hormoonsignalering

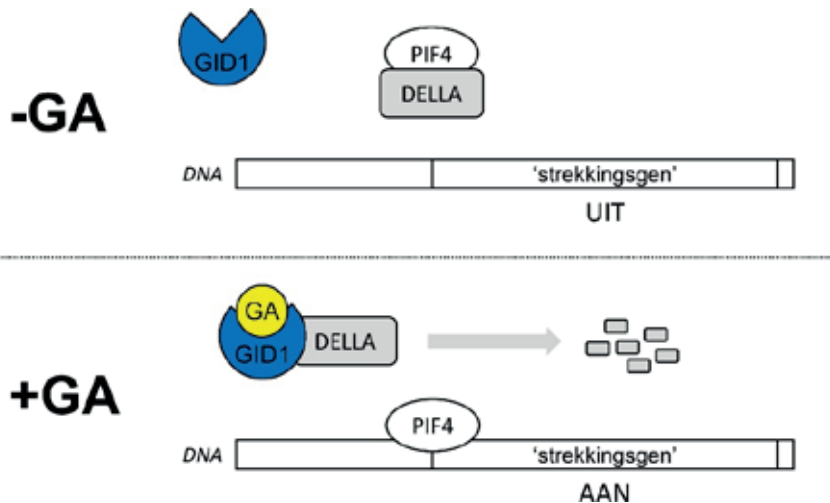
Plantenhormonen dienen als interne signalen die plantprocessen reguleren. Naast het aanwezig zijn van een hormoon in een bepaalde concentratie, is het effect van hormonen op plantprocessen afhankelijk van of het hormoon wordt waargenomen in de cel. Alleen als dat gebeurt kan het hormoonsignaal namelijk worden doorgegeven aan de eiwitten die uiteindelijk verantwoordelijk zijn voor de reguleren van plantprocessen: regeleiwitten. In de volgende paragrafen worden de waarneming van plantenhormonen en de rol van regeleiwitten verder toegelicht.

2.2.2.1 Waarneming van hormonen in de plantencel

Om een regulerende functie uit te kunnen oefenen moeten plantenhormonen waargenomen worden in plantcellen. Dit gebeurt door binding van hormonen aan receptoreiwitten. Voor ieder hormoon zijn er specifieke receptoren die alleen aan dat hormoon kunnen binden. Vaak zijn er wel meerdere soorten receptoren voor eenzelfde hormoon en kan het aantal soorten receptoren voor een bepaald hormoon verschillen tussen plantensoorten. Zo heeft de zandraket bijvoorbeeld 5 verschillende receptoren voor het gasvormige hormoon ethyleen, wat onder andere een rol speelt bij vruchtrijping, en tomaat heeft er 7 (Harkey *et al.* 2019). Verschillende receptoren die aan hetzelfde hormoon binden kunnen onder andere verschillen in het gemak waarmee ze het hormoon herkennen en binden en in de manier waarop ze regeleiwitten, en dus plantprocessen, beïnvloeden. De aanwezigheid van receptoren bepaalt daardoor niet alleen of een hormoon een effect kan hebben op plantprocessen, maar in zekere mate ook wat voor effect en hoe sterk dit effect is. De aanwezigheid van receptoren in plantencellen, en daardoor de gevoeligheid en het effect van een hormoon, is afhankelijk van meerdere factoren zoals het moment van de dag, het type weefsel, of het ontwikkelingsstadium waarin de plant zich bevindt.

2.2.2.2 Werking van hormonen: beïnvloeden regeleiwitten

De binding van een hormoon aan een receptor leidt uiteindelijk tot activatie of remming van regeleiwitten in de cel. Deze regeleiwitten worden ook wel transcriptiefactoren genoemd en reguleren de activiteit van genen die verantwoordelijk zijn voor bepaalde plantprocessen. Terwijl hormonen organische stoffen zijn met een relatief simpele structuur die voornamelijk functioneren als signaalstof die door de plant kan worden getransporteerd en aan receptoren kunnen binden om zo een bepaalde signaleringsroute te activeren, zijn regeleiwitten complexere moleculen die activiteit van genen direct kunnen beïnvloeden door aan DNA in de celkern te binden. Er zijn vele verschillende soorten regeleiwitten. Voor sommigen geldt dat hun activiteit alleen maar door één bepaald hormoon kan worden beïnvloedt, maar velen kunnen door meerdere hormonen worden gestuurd. Een bekend voorbeeld van een groep regeleiwitten waarvan de activiteit door verschillende hormonen wordt gereguleerd zijn de PIF (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR) eiwitten. Deze regeleiwitten zijn verantwoordelijk voor het aansturen van verschillende plantprocessen waaronder zaadkieming, bloemvorming en strekking (de Lucas & Prat, 2014). PIFs stimuleren strekking doordat ze onder andere de activiteit van genen stimuleren die zorgen voor het losser worden van celwanden en het opnemen van water. Beide processen zijn noodzakelijk voor celstrekking. Een van de hormonen die de activiteit van PIFs reguleert is het groeihormoon GA. Binding van GA aan de GID1 (GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF 1) receptor zorgt er namelijk voor dat DELLA eiwitten, die PIF activiteit onderdrukken, worden afgebroken (de Lucas & Prat, 2014). DELLA eiwitten onderdrukken de activiteit van PIFs door aan ze te binden zodat de PIFs niet in staat zijn om genen te activeren die nodig zijn voor strekking (zie Figuur 2.2). Een verhoogde concentratie GA, bijvoorbeeld als gevolg van een hogere temperatuur, zorgt dus voor meer actieve PIFs en meer strekking in de plant. Overigens spelen regeleiwitten op hun beurt weer een belangrijke rol bij de regulatie van zowel lokale hormoonconcentraties als de hormoon signalering. Dit komt omdat ook de activiteit van de genen die hierbij betrokken zijn wordt gestuurd door regeleiwitten. Op deze manier stimuleren PIFs bijvoorbeeld de productie van het groeihormoon auxine (de Lucas & Prat, 2014). Net als voor hormoonreceptoren geldt voor regeleiwitten dat hun aanwezigheid en (potentiele) activiteit bepalend is voor het effect van een hormoon op de regulatie van plantprocessen. De aanwezigheid en activiteit van regeleiwitten, zoals PIFs, wordt bepaald door factoren als temperatuur, licht (kwaliteit en intensiteit), het moment van de dag, het type weefsel en ontwikkelingsstadium (de Lucas & Prat, 2014).



Figuur 2.2 Effect aanwezigheid gibberelline (GA) op activiteit PIF regeleiwit. Binding van GA aan GID1 receptor zorgt voor afbraak DELLA eiwitten waardoor het regeleiwit PIF4 strekkingsgenen kan anschakelen.

2.2.3 Regulatie van hormonen en hun signalering door licht en temperatuur

Omgevingsfactoren als licht (intensiteit en spectrum) en temperatuur zijn van grote invloed op de regulatie van plantprocessen en op de groei en ontwikkeling van een plant. Het reguleren van plantprocessen door deze factoren verloopt via hormonen. Licht en temperatuur kunnen hormonen beïnvloeden op verschillende niveaus: metabolisme, transport, waarneming en regeleiwitten. In de vorige paragrafen zijn hiervan al enkele voorbeelden gegeven maar in de volgende paragrafen wordt dieper ingegaan op de onderliggende principes.

2.2.3.1 Licht

Licht wordt in de plant waargenomen door verschillende soorten fotoreceptoren (overzicht in (Dieleman *et al.* 2020)). Dit zijn gespecialiseerde eiwitten waarvan de structuur en activiteit veranderd bij het absorberen van licht van een bepaalde golflengte. Rood en verrood licht (600-750 nm) wordt waargenomen door fytochromen. Cryptochromen, phototropinen en receptoren van de ZEITLUPE familie zijn voornamelijk gevoelig voor blauw licht (350-500 nm). UV-B licht wordt waargenomen door de UVR8 (UV RESISTANCE LOCUS 8) receptor. Als een fotoreceptor wordt geactiveerd door licht van een specifieke golflengte dan kan het direct de activiteit van regeleiwitten beïnvloeden (Huq & Quail, 2002; Luo & Shi, 2019). Dit kan gevolgen hebben voor de aanmaak/afbraak van hormonen, het transport of de waarneming. Zo zorgt rood licht voor activatie van fytochroom B, terwijl verrood licht zorgt voor inactivatie. Actief fytochroom B kan binden aan PIF eiwitten en zo de afbraak van deze regeleiwitten initiëren (Huq & Quail, 2002). Omdat PIF eiwitten de productie van het groeihormoon auxine stimuleren zorgt relatief veel rood licht dus voor lagere auxineconcentraties in de plant wat tot minder groei kan leiden. Het beïnvloeden van regeleiwitten door fotoreceptoren kan ook gevolgen hebben voor het effect van een hormoon op plantprocessen als een regeleiwit zowel door lichtreceptoren als hormonen wordt gereguleerd wordt. Bijvoorbeeld, als PIF eiwitten worden afgebroken door hun interactie met actief fytochroom onder condities met veel rood licht, dan zal het effect van een toename van het groeihormoon GA minder groot zijn. Afbraak van PIF eiwitten door actief fytochroom zorgt er namelijk voor dat de beschikbare pool van PIF eiwitten die in potentie geactiveerd kunnen worden door GA kleiner wordt.

2.2.3.2 Temperatuur

Over hoe temperatuur precies waargenomen wordt in planten is minder bekend. Maar temperatuur heeft wel direct een effect op hormonen doordat het van invloed is op hoe efficiënt chemische processen verlopen, zoals de aanmaak van hormonen door enzymen. Daarnaast beïnvloedt de temperatuur het transport van hormonen via het xyleem door de invloed op verdamping. Tot slot is ook bekend dat zowel de activiteit en productie van regeleiwitten worden beïnvloed door temperatuur. Zo kan een verhoging van enkele graden al zorgen voor een toename in de productie en de activiteit van PIF eiwitten (Casal & Balasubramanian, 2019).

2.2.3.3 Crosstalk tussen licht en temperatuursignalen

Uit de informatie hierboven blijkt dat zowel licht als temperatuur een rol spelen in de regulatie van lokale hormoonconcentraties en het effect dat hormonen hebben op plantprocessen. In veel gevallen doen beide factoren dit via beïnvloeding van dezelfde regeleiwitten (zoals PIFs). Hierdoor is er sprake van crosstalk tussen licht en temperatuursignalering: regulatie van hormonen en hun effect op plantprocessen door licht wordt beïnvloed door temperatuur en andersom. Eerder is het voorbeeld gegeven dat een verhoging van enkele graden kan zorgen voor een toename in de productie en de activiteit van PIF eiwitten waardoor auxineproductie zal toenemen. Echter, als een verhoging in temperatuur bijvoorbeeld gepaard gaat met een toename van rood licht, gevolgd door PIF afbraak door actief fytochroom B, dan kan dit het effect van temperatuur op auxineproductie dempen. Maar als de verhoging in temperatuur gepaard gaat met meer verrood licht, en dus inactivatie van fytochroom en meer PIF eiwitten, dan zal het effect van temperatuur op de productie van auxine nog sterker zijn (Lorenzo *et al.* 2016).

2.2.4 Rol voor de biologische klok

Voor optimale groei en ontwikkeling is het belangrijk dat de timing van plantprocessen correct verloopt en op een goede manier is afgestemd met dagelijkse fluctuaties in licht en temperatuur (dag-nacht cyclus en bijbehorende temperatuurcyclus). Hierbij speelt de interne biologische klok een belangrijke rol (de Montaigu *et al.* 2010). De klok helpt planten anticiperen op de dag-nacht en nacht-dag overgangen. Zo zorgt de klok er bijvoorbeeld voor dat de plant zich aan het einde van de nacht alvast gaat voorbereiden op de fotosynthese, zodat het licht overdag optimaal benut kan worden voor de productie van suikers (de Montaigu *et al.* 2010; Henriques *et al.* 2018). Aangezien hormonen plantprocessen reguleren is het niet verassend dat ook hormonen en hun signalering worden gereguleerd door de klok.

Een van de gevolgen hiervan is dat voor veel hormonen de concentraties in de plant over de dag variëren (Atamian & Harmer, 2016). Op wat voor manier precies kan verschillen per soort. Zo zijn auxine concentraties in de zandraket het hoogst aan het einde van de dag maar in tabaksplanten zijn deze het hoogst midden op de dag. De variaties in hormoonconcentraties over de dag kunnen worden veroorzaakt door klokregulatie van de activiteit van genen voor enzymen die betrokken zijn bij hormoonproductie. De biologische klok zorgt er ook voor dat de gevoeligheid van de plant voor een hormoon afhankelijk is van het moment van de dag (of nacht). Ook dit kan weer verschillen per soort en komt doordat de biologische klok zaken als de productie of afbraak van hormoonreceptoren reguleert (zoals het geval is voor GA receptoren) of de productie en activiteit van regeleiwitten (zoals het geval is voor PIF eiwitten) (Atamian & Harmer, 2016). Daardoor zal een plant bijvoorbeeld gevoelig zijn voor een toename in GA (bijvoorbeeld als gevolg van een verhoging van temperatuur) op het moment van de dag dat er veel GA receptoren en PIF eiwitten aanwezig zijn en de activiteit van PIF eiwitten niet wordt onderdrukt door de klok. Het is belangrijk om te realiseren dat dit moment mogelijk afhankelijk is van de daglengte. Zo kan het zijn dat onder korte dag condities de plant het meest gevoelig is voor een toename van een hormoon aan het einde van de dag, maar onder lange dag condities in de middag. Overigens zijn het niet alleen maar groeihormonen waarvan de concentraties en gevoeligheid wordt gereguleerd door de klok. Hetzelfde geldt voor het afweerhormoon JA, waardoor de gevoeligheid van planten voor ziekteverwekkers afhankelijk is van het moment van de dag (Atamian & Harmer, 2016; Lu *et al.* 2017).

2.2.5 Interacties tussen verschillende hormonen

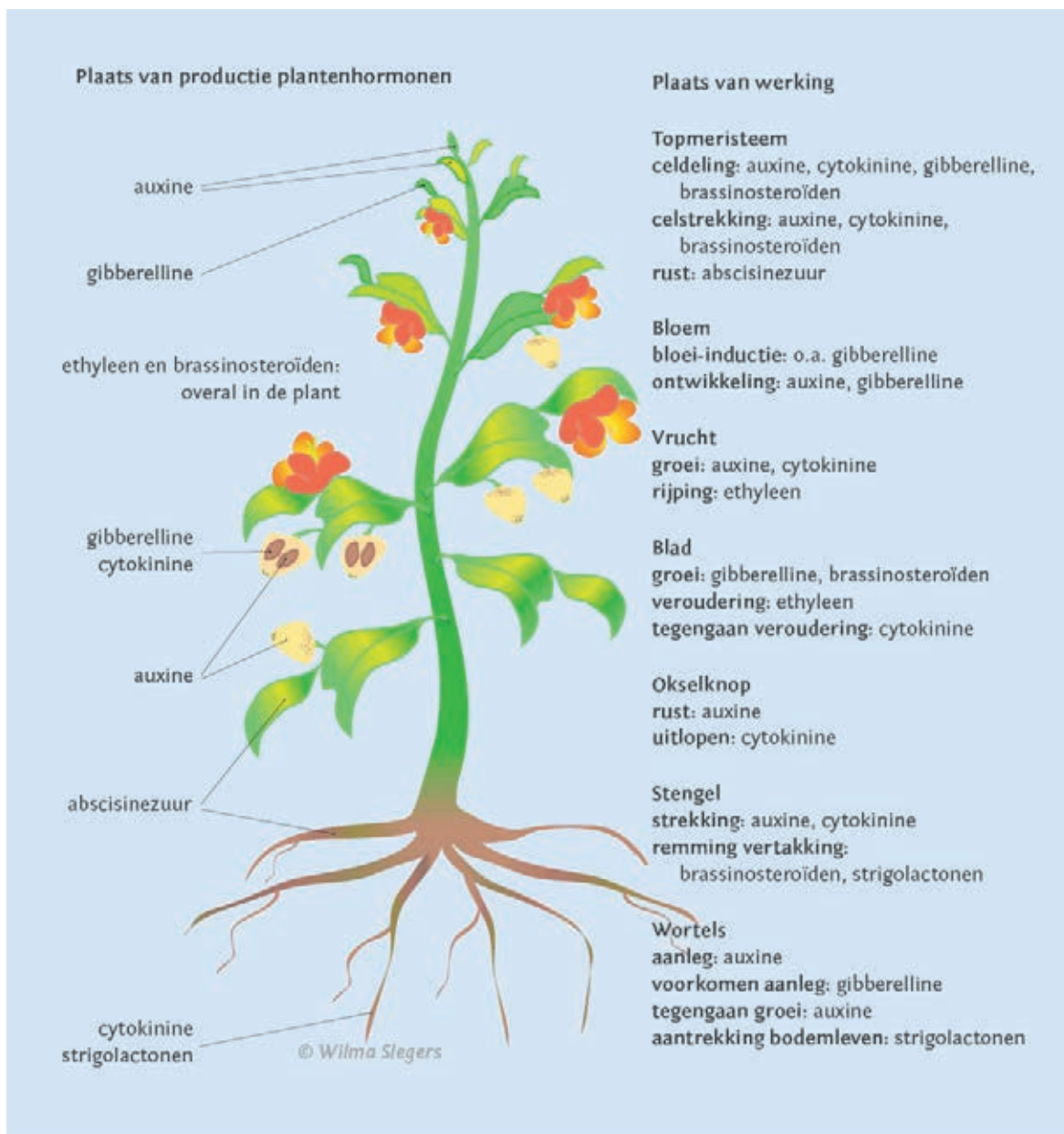
Er is veel overlap tussen de effecten van de verschillende plantenhormonen en een plantproces wordt dan ook vaak gereguleerd door meerdere hormonen. Dit komt omdat er zeer veel interacties zijn tussen de signaleringsroutes van de verschillende hormonen. Zo kunnen plantenhormonen elkaars productie en transport reguleren. Zoals eerder beschreven stimuleert het groeihormoon GA bijvoorbeeld de productie van een ander groeihormoon auxine. Daarnaast stimuleert GA de aanmaak van auxine transporteiwitten (PINs) (Willige *et al.* 2011). GA heeft dan weer een negatief effect op de productie van het stresshormoon ABA, wat op zijn beurt GA productie onderdrukt (Finkelstein, 2013). De uitkomst van deze antagonistische interactie (het ene hormoon een negatief effect heeft op de ander) bepaalt of een plant vooral zal investeren in groei of in weerbaarheid tegen omgevingsstress zoals droogte. De interactie tussen hormonen kan ook plaatsvinden op het niveau van reguleiwitten. Meerdere plantenhormonen kunnen bijvoorbeeld de activiteit van hetzelfde reguleiwit beïnvloeden. Zo hebben Brassinosteroiden net als GA een positief effect op de activiteit van PIFs, waardoor beide hormonen groei stimuleren (Oh *et al.* 2012). Aan de andere kant heeft GA een negatief effect op de activiteit van MYC2 reguleiwitten die deel uitmaken van de Jasmonzuur (JA) signaleringsroute en de afweer tegen necrotrofe ziekteverwekkers en vraat door insecten stimuleren (Bürger & Chory, 2019). GA stimuleert dus groei, maar dit gaat ten koste van de weerbaarheid van de plant. Dat er zeer veel verschillende interacties bestaan tussen de verschillende hormonen en hun signaleringsroutes maakt dat het effect van een hormoon op plantprocessen niet zozeer afhankelijk is van de concentratie van het hormoon zelf, maar meer van de concentratie ten opzichte van die van andere hormonen. Zo zal een toename in concentratie van JA minder of geen effect hebben op de plant als tegelijkertijd de concentratie GA veel sterker toeneemt.

2.2.6 De hormoonbalans?

Uit de vorige paragraaf blijkt dat de concentratie van een specifiek hormoon vaak niet zozeer bepalend is voor de regulatie van plantprocessen, maar dat het gaat om de verhouding, de balans, tussen verschillende hormonen die het proces beïnvloeden. Deze balans wordt beïnvloed door signalen van buitenaf (zoals licht, temperatuur, aanwezigheid plagen) of vanuit de plant zelf (zoals suikers, water) en speelt een belangrijke rol in de sturing van plantprocessen en daarmee de aanpassing van de plant aan zijn omgeving. De hormoonbalans speelt hiermee een belangrijke rol in het behouden van de plantbalansen van het nieuwe telen (HNT): de assimilatenbalans, energiebalans en vochtbalans. De hormoonbalans verschilt dan ook van deze andere plantbalansen. Waar voor de drie traditionele plantbalansen geldt dat de plant streeft naar een evenwicht, is dit niet het geval voor de hormoonbalans. De hormoonbalans maakt onderdeel uit van mechanismen via welke de andere plantbalansen in stand worden gehouden onder veranderende omstandigheden, en verandert daardoor zelf continu. Ondanks dat het niet eenzelfde soort balans is, vormt de hormoonbalans wel degelijk een waardevolle aanvulling op de andere plantbalansen binnen HNT. Kennis van deze balans kan telers namelijk helpen om met bijvoorbeeld het realiseren van bepaalde klimaatcondities of gebruik te maken van een specifiek LED spectrum in de kas de hormoonbalans te veranderen en daarmee het gewas mogelijk te sturen. Daarbij moet wel worden opgemerkt dat de hormoonbalans (de verhouding tussen de verschillende hormonen in de plant) niet allesbepalend is voor de regulatie van plantprocessen en dus de reactie van een plant op bijvoorbeeld de klimaatcondities. Zoals eerder aangegeven speelt daarbij onder andere de aanwezigheid van receptoren en reguleiwitten ook een belangrijke rol.

2.3 De verschillende soorten plantenhormonen

Vandaag de dag worden er doorgaans 9 verschillende plantenhormonen onderscheiden (zie Figuur 2.3). In dit hoofdstuk wordt voor ieder hormoon besproken in wat voor vorm het in de plant voorkomt, waar het aangemaakt wordt en welke functies het hormoon heeft in planten. Veel van de informatie hier beschreven is afkomstig uit (Davies, 2010b), eventueel aangevuld met informatie uit andere geciteerde literatuur.



Figuur 2.3 De verschillende plantenhormonen (Wilma Slegers).

2.3.1 Auxine

In zijn boek "The power of movement in plants" uit 1880 beschrijft Charles Darwin dat het zijdelings belichten van haverkiemplanten zorgt voor kromming van de plant richting de lichtbron. Dit fenomeen, waarbij bovengrondse delen van planten richting een lichtbron groeien, wordt fototropisme genoemd. Uit zijn experimenten blijkt dat de kromming van de plant richting de lichtbron wordt veroorzaakt door strekking van cellen aan de schaduwkant van de plant. Verder blijkt dat deze strekking aangestuurd wordt door een signaal afkomstig van de top van de planten. Verder onderzoek naar fototropisme, leidt uiteindelijk tot de isolatie van dit (chemische) signaal door de Nederlandse wetenschapper Frits Went, waarover deze voor het eerst publiceert in 1926. Later blijkt het te gaan om het plantenhormoon auxine. Er zijn verschillende auxines geïdentificeerd in planten, maar de belangrijkste en meest voorkomende vorm is Indool-3 Azijnzuur (IAA). De aanmaak van auxine vindt zowel plaats in bovengrondse plantdelen als in de wortels, en dan voornamelijk in jonge, ontwikkelende delen zoals blad-primordia, jonge bladeren, ontwikkelende zaden en wortelpunten. Auxine wordt getransporteerd via twee transportsystemen: via het floëem, samen met assimilaten, en van cel naar cel via gespecialiseerde transporteiwitten. Samen zorgen deze transportsystemen voor strikte regulatie van de concentratie auxine in ontwikkelende plantdelen, wat van essentieel belang is voor het effect van het hormoon.

Auxine stimuleert celdeling, -differentiatie en -strekking. Daarmee speelt het een belangrijke rol in de regulatie van bijna alle groei- en ontwikkelingsprocessen in planten. Zo speelt auxine bijvoorbeeld, naast de regulatie van fototropisme ook een belangrijke rol bij een ander bekend proces genaamd apicale dominantie. Dit is het proces waarbij de top van de plant, de apex, de uitgroei van zij scheuten remt. De productie van auxine in de apex is essentieel voor het behouden van apicale dominantie en het verwijderen van de top van een plant resulteert dan ook in de vorming van meer zijtakken. Verder is auxine onder meer betrokken bij de regulatie van strekking (lengtegroei) in bladstelen en internodia, vruchtzetting en groei in sommige fruitsoorten en de vorming van floëem en xyleem. Net als in bovengrondse delen, spelen auxinen ook een belangrijke rol in de groei en ontwikkeling van wortels. Hier reguleert auxine gravitropisme (het groeien van de wortel in de richting van de zwaartekracht) en het stimuleert de ontwikkeling van wortel zij scheuten. Hoewel auxine in veel situaties (strekking) groei en ontwikkeling stimuleert, heeft het in hoge concentraties vaak juist het tegenovergestelde effect. Dit is echter niet een direct effect van het hormoon zelf, maar een gevolg van het feit dat auxine de productie van ethyleen, een ander plantenhormoon, kan stimuleren. Auxine lijkt ook een rol te spelen in de verdeling van assimilaten (suikers) in de plant: transport van assimilaten is richting auxine-producerende plantdelen.

2.3.2 Gibberellines

Gibberellines zijn ontdekt in schimmels (*Gibberella fujikuroi*) door Japanse onderzoekers (Sponsel & Hedden, 2010). Men vond dat geïnfecteerde rijstplanten te sterke groei lieten zien (slappe lange stelen) en dat de GA3 vorm (Gibberellinezuur) hiervoor verantwoordelijk was. GAs zijn dus betrokken bij de regulatie van groei. Inmiddels zijn er meer dan 100 verschillende soorten GAs ontdekt, die verschillen van elkaar in chemische structuur, maar slechts een klein aantal daarvan heeft biologische activiteit. Een aantal belangrijke bioactieve vormen zijn GA1, GA3, GA4 en GA7. De anderen zijn vaak voorloperstoffen of geïnactiveerde versies van deze bioactieve GAs. Het voorkomen van de verschillende GAs verschilt per plantensoort. Ook verschilt het per soort wat de belangrijkste vorm is. Zo is bijvoorbeeld GA1 de meest voorkomende (in de meeste soorten) en belangrijkste GA voor groei in mais en erwtenplanten. GA4 is dan weer in iets minder soorten aangetroffen maar wordt gezien als belangrijkste GA in komkommerplanten en de zandraket. Ook zijn er aanwijzingen dat verschillende GAs in meer of mindere mate betrokken zijn bij verschillende processen: in *Lolium* lijken GA5 en 6 belangrijker voor bloei-inductie, terwijl GA1 en 4 belangrijker lijken voor groei (Sponsel & Hedden, 2010). De productie van (bioactieve) GAs vindt voornamelijk plaats in bovengrondse jonge groeiende delen van de plant en in ontwikkelende zaden (Sponsel & Hedden, 2010). De aanmaak van GAs verloopt volgens een ingewikkeld proces waarvan de eerste stappen plaatsvinden in plastiden van plantcellen, en de vervolgstappen in andere cellulaire compartimenten. Uit onderzoek blijkt dat er vaak overlap is tussen de plaats waar GAs worden aangemaakt en waar ze actief zijn. Echter, GAs kunnen ook worden getransporteerd naar ander delen in de plant via het floëem en xyleem (bijvoorbeeld van scheut naar wortel en vice versa). Onderzoek in de zandraket laat wel zien dat waarschijnlijk vooral niet-bioactieve vormen van GAs worden getransporteerd, waarna ze op hun eindbestemming worden omgezet in bioactieve vormen en hun werk kunnen doen (Binenbaum *et al.* 2018). GAs spelen een essentiële rol bij het ontkiemen van zaden en ze stimuleren strekking, voornamelijk door cel expansie, in zowel bovengrondse plantdelen (bijv. stengels en bladeren) als in wortels. Echter, in hoge concentraties remmen GAs de strekking van wortels juist (Tanimoto, 2012). GAs promoten ook de overgang van vegetatieve naar generatieve groei en ontwikkeling en zijn betrokken bij de ontwikkeling van bloemen, zaden en vruchten (Tanimoto, 2012). Zo worden bijvoorbeeld GAs gebruikt om vruchtzetting en groei te stimuleren bij druiven en kan de behandeling met GAs mannelijke bloei stimuleren in eenhuizige planten.

2.3.3 Ethyleen

Ethyleen is een gasvormig hormoon dat in bijna alle delen van de plant kan worden aangemaakt. Aangezien ethyleen een gas is, vindt transport voornamelijk plaats via diffusie. Dit betekent dat ethyleen niet kan worden getransporteerd naar een specifiek deel van de plant. Echter, de stof waarvan ethyleen wordt gemaakt, 1-aminocyclopropaan-1-carbonzuur (ACC), kan wel worden getransporteerd binnen de plant. Doordat ethyleen gasvormig is, dient het ook als communicatiesignaal tussen planten. Zo kan een toename in productie van ethyleen in de ene plant een reactie veroorzaken in andere planten in de buurt. Ethyleenproductie in planten wordt gestimuleerd door verschillende vormen van abiotische stress (zoals hitte, schaduw, droogte, etc.) en biotische stress (ziekten en plagen). Ethyleen stimuleert afweerreacties tegen plantetende insecten en ziekteverwekkers die plantweefsel doden (necrotrofen) in samenwerking met een ander hormoon JA. Aan de andere kant onderdrukt ethyleen de afweerreactie tegen ziekteverwekkers die gedijen op levend plantmateriaal (biotrofen), die via het hormoon SA verlopen (Bürger & Chory, 2019). Andere processen die gestimuleerd worden door ethyleen zijn bladveroudering, abscissie (verliezen van blad e.d.), vorming en ontwikkeling van bloemen, vrouwelijke bloemvorming, vruchtrijping en vorming van zijwortels. De groei van bladeren en wortels worden in de meeste gevallen geremd door ethyleen. Echter, in sommige gevallen stimuleert ethyleen strekking van bladstelen (Polko *et al.* 2011). Het effect van ethyleen op strekking hangt mogelijk af van de plantensoort of de concentratie ethyleen, aangezien in sommige soorten een lage concentratie ethyleen groei stimuleert, terwijl een hogere concentratie groei remt.

2.3.4 Cytokininines

Cytokininines vormen een groep stoffen die zijn ontdekt tijdens de zoektocht naar stoffen die celdeling kunnen stimuleren in weefselkweken (Chen, 1998). Ze worden door planten geproduceerd, maar ook door verschillende andere (micro)organismen zoals insecten, schimmels en bacteriën (Akhtar *et al.* 2020). De belangrijkste cytokinine in planten is zeatine. Oorspronkelijk werd gedacht dat cytokininines in planten uitsluitend worden geproduceerd in ontwikkelende zaden en wortelpunten, maar er zijn steeds meer aanwijzingen dat het ook in andere delen van de plant plaatsvindt (Kieber & Schaller, 2018). Cytokininines worden vanuit de wortels via het xyleem getransporteerd naar de bovengrondse delen van de plant, of van daaruit naar andere delen van de plant via het floëem. Cytokininines stimuleren celdeling in de bovengrondse delen van de plant. Daarnaast stimuleren ze de ontwikkeling en uitgroei van zij scheuten, de expansie van bladeren en de aanmaak van chlorofyl (bladgroen) en remmen ze bladveroudering. Terwijl cytokininines dus een positief effect hebben op groei van bovengrondse delen van de plant, remmen ze juist de groei van wortels (Kieber & Schaller, 2018). Cytokininines worden ook geassocieerd met betere weerbaarheid van planten tegen verschillende ziektes en plagen (Akhtar *et al.* 2020) maar met een mindere weerbaarheid tegen abiotische stressfactoren zoals droogte (Ha *et al.* 2012).

2.3.5 Brassinosteroiden

Brassinosteroiden vormen een groep van groei-stimulerende plantenhormonen die ontdekt zijn in koolzaad pollen (Mitchell *et al.* 1970). Inmiddels zijn bijna 60 verschillende soorten geïdentificeerd, waarvan brassinolide de meest actieve vorm is in planten. Brassinosteroiden worden in alle delen van de plant geproduceerd, maar wel in verschillende mate. Zo worden over het algemeen hogere concentraties aangetroffen in pollen, ontwikkelende zaden en bloemen (1-100 ng/g vers gewicht) dan in scheuten en bladeren (0.01-0.1 ng/g versgewicht) (Tang *et al.* 2016). In tegenstelling tot veel andere hormonen vindt er geen transport plaats van brassinosteroiden tussen verschillende delen van de plant. Echter, brassinosteroiden kunnen wel een effect hebben buiten de plaats waar ze worden aangemaakt via beïnvloeding van andere hormonen die wel kunnen worden getransporteerd zoals auxinen en gibberellinen (Tang *et al.* 2016). Brassinosteroiden spelen een belangrijke rol in de groei en ontwikkeling van planten. Ze stimuleren groei in bovengrondse delen van planten doordat ze zowel celdeling als celstrekking stimuleren. Verder zijn ze, net als auxine, betrokken bij de vorming van de verschillende soorten vaatbundels en spelen ze een essentiële rol in bloei inductie en ontwikkeling van reproductieve organen (Zicong Li & He, 2020). Hoewel brassinosteroiden nodig zijn voor de normale ontwikkeling van wortels, onderdrukken ze wortelgroei als ze extern worden toegediend (Planas-Riverola *et al.* 2019). Een ander bekend effect van brassinosteroiden is dat ze de productie van het plantenhormoon ethyleen stimuleren.

2.3.6 Strigolactonen

Strigolactonen vormen een groep stoffen die uitgescheiden worden door wortels van verschillende plantensoorten en de ontkieming van parasitaire planten (zoals *Striga*) stimuleren. Op dit moment zijn er meer dan 25 soorten strigolactonen in planten bekend. In tegenstelling tot de meeste klassen plantenhormonen kunnen strigolactonen in chemische structuur sterk van elkaar verschillen (Aliche *et al.* 2020; Wang & Bouwmeester, 2018). Het effect van strigolactonen op ontkieming van parasitaire planten blijkt in sommige gevallen af te hangen van deze structuur (Aliche *et al.* 2020). Onderzoeken hebben aangetoond dat strigolactonen in wortels worden aangemaakt. Echter, er zijn aanwijzingen dat ze ook in bovengrondse delen van de plant worden geproduceerd (Al-Babili & Bouwmeester, 2015). Transport van strigolactonen van wortels naar de bovengrondse delen van de plant verloopt via het xyleem. Het uitscheiden van strigolactonen door de wortels is een actief proces dat afhankelijk is van de activiteit van gespecialiseerde transporteiwitten (Al-Babili & Bouwmeester, 2015). Naast ontkieming van parasitaire planten, stimuleren strigolactonen in de bodem ook de vorming van arbusculaire mycorrhiza. Hierbij gaat een schimmel een fysieke interactie aan met het wortelstelsel van de plant. Deze interactie is voor beide organismen gunstig: de schimmel helpt de plant met de opname van mineralen uit de grond waar deze anders niet bij kan en de plant levert op zijn beurt suikers aan de schimmel (Aliche *et al.* 2020). Er zijn aanwijzingen dat strigolactonen ook een rol speelt bij de interacties van de plant met andere (gunstige) micro-organismen in de bodem (Aliche *et al.* 2020). Strigolactonen beïnvloeden ook de groei en ontwikkeling van de plant zelf (zie figuur 1 in (Al-Babili & Bouwmeester, 2015)). Zo stimuleren strigolactonen lengtegroei van internodia, zorgen ze voor verdikking van stammen, bevorderen ze bladveroudering en onderdrukken ze, net als auxine, de vorming en uitgroei van zij scheuten. Mogelijk komt dit laatste doordat strigolactonen het transport van auxine van zijknoppen naar de apex stimuleren, waardoor apicale dominantie in stand wordt gehouden (Aliche *et al.* 2020). Strigolactonen spelen ook een rol in de regulatie van de wortelarchitectuur. Zo hebben ze een gunstig effect op groei van de primaire wortel en de aanmaak en lengte van wortelhaartjes, maar onderdrukken ze de vorming van zijwortels. Er zijn aanwijzingen dat strigolactonen ook een rol spelen bij de afweer tegen specifieke ziekteverwekkers en plagen, maar dit lijkt voornamelijk te verlopen via interacties van strigolactonen met andere hormonen zoals jasmonzuur, salicylzuur en abscisinezuur (Aliche *et al.* 2020).

2.3.7 Abscisinezuur

Het hormoon abscisinezuur (ABA) dankt zijn naam aan het feit dat het is ontdekt tijdens een studie naar stoffen die verantwoordelijk zijn voor abscissie van katoenbollen. Echter, later bleek dat ABA nauwelijks een rol speelt in dit proces. De aanmaak van ABA vindt plaats in wortels, volwassen bladeren en zaden. ABA wordt vanuit de wortels naar andere plantdelen getransporteerd via het xyleem en vanuit bladeren naar andere plantdelen via het floëem. ABA speelt een belangrijke rol bij de reactie van planten op verschillende soorten omgevingsstress zoals kou en droogte. Zo stimuleert ABA bijvoorbeeld het sluiten van de huidmondjes (stomata) wat kan helpen waterverlies te voorkomen. ABA speelt sowieso een belangrijke rol in de waterbalans van de plant. Het is aangetoond dat het ook expressie en activiteit van eiwitten reguleert die betrokken zijn bij watertransport in de plant (Finkelstein, 2013). Het sluiten van stomata wordt niet alleen in reactie op droogte door ABA gestimuleerd, maar ook in reactie op de aanwezigheid van ziekteverwekkers, die via geopende stomata de plant kunnen binnendringen. ABA speelt dus ook een rol in de afweer van de plant. Echter, het lijkt niet altijd een gunstig effect te hebben op afweer. Er zijn aanwijzingen dat ABA vooral de afweer op korte termijn gunstig beïnvloedt, maar dat het op langere termijn ongunstige effecten heeft op de afweer. ABA speelt ook een rol bij de groei en ontwikkeling van planten. Zo onderdrukt ABA groei van bovengrondse plantdelen middels het onderdrukken van celstrekking en celdeling, maar kan het groei van wortels juist stimuleren. Dit laatste hangt mogelijk samen met de rol van ABA in het omgaan met droogtestress. Tot slot speelt ABA ook een belangrijke rol in het behouden van kiemrust doordat het bijvoorbeeld de aanmaak van opslag eiwitten in zaden stimuleert. Dit zijn eiwitten die dienen als voorraden voor diverse componenten die planten nodig hebben om te overleven. Ook onderdrukt ABA de aanmaak van het hormoon GA en onderdrukt daarmee zaadkieming.

2.3.8 Salicylzuur

Salicylzuur (SA) wordt aangemaakt in de plant in reactie op aanvallen door biotrofe ziekteverwekkers (zoals meeldauw en roest). SA is betrokken bij het induceren van systemisch verkregen resistentie (Systemic Aquired Resistance; SAR). Dit is het proces waarbij een lokale infectie ook zorgt voor een immuunreactie in de niet-geïnfecteerde delen van de plant. Hierdoor kan de plant effectiever de infectie tegen gaan en schade beperken. Hoewel SA dus betrokken is bij de verspreiding van een infectiesignaal door de plant, is niet helemaal duidelijk hoe SA binnen de plant wordt getransporteerd. Wel is bekend dat het SA signaal in de plant worden doorgegeven aan andere delen van de plant of andere planten in de buurt doormiddel van omzetting van SA in de vluchtige stof methylsalicylaat (MeSA) (Bürger & Chory, 2019). SA stimuleert de afweer onder andere via het activeren van PATHOGENESIS-RELATED (PR) genen die verantwoordelijk zijn voor de productie van stoffen met een antimicrobiële werking. Terwijl SA de afweer tegen biotrofe ziekteverwekkers stimuleert, onderdrukt het de afweerreacties die lopen via Ethyleen en het hormoon Jasmonzuur (JA). Dit laatste hormoon is voornamelijk betrokken bij de afweer tegen necrotrofe ziekteverwekkers en vraat door insecten. Salicylzuur speelt ook een rol in het sturen van de groei en ontwikkeling van planten. Zo remt SA bijvoorbeeld, net als andere stress-/afweersignalen zoals ABA en JA, plantengroei maar stimuleert het bloei en (in lage concentraties) zaadkieming (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011; van Butselaar & Van den Ackerveken, 2020).

2.3.9 Jasmonzuur

Jasmonzuur (JA), of jasmijnzuur, dankt zijn naam aan de Jasmijnplant. De specifieke geur van deze plant wordt namelijk veroorzaakt door een vluchtige versie van JA, methyljasmonaat (MeJA). Dit is ook de stof die verantwoordelijk is voor transport van JA signalen door de plant. MeJA wordt getransporteerd via het xyleem en floëem en kan makkelijk opgenomen of afgegeven worden door cellen. Doordat het een vluchtige stof is, kan het ook via de lucht verspreiden en zo een JA signaal zeer snel verspreiden naar andere delen van de plant of naar andere planten. Hierin lijkt MeJA dus op MeSA en ethyleen. JA wordt aangemaakt door planten bij infectie door necrotrofe micro-organismen zoals Botrytis en Phytophthora en bij fysieke beschadigingen van de plant, bijvoorbeeld door toedoen van planteneterende insecten zoals rupsen en bladluis. De aanmaak van JA zorgt voor activatie van een specifieke afweerroute die ook wordt gestimuleerd door ethyleen en die verschilt van de afweerroute die aangeschakeld wordt door SA. De JA-afweerroute leidt onder andere tot de aanmaak van stoffen die de plant minder aantrekkelijk maken als voedsel (verminderde voedingswaarde, onsmakelijk, giftig) en van vluchtige stoffen die natuurlijke vijanden van planteneterende insecten aantrekken. Zoals SA de afweerroutes die lopen via JA en ethyleen onderdrukt, zo onderdrukt JA andersom de SA afweerroute (Bürger & Chory, 2019). Daarom kan er doorgaans maar één van de twee afweerroutes actief zijn in de plant. Hierdoor kan bijvoorbeeld activatie van de JA afweerroute ervoor zorgen dat de plant gevoeliger wordt voor biotrofe ziekteverwekkers. Naast de rol van JA in plantafweer onderdrukt het groei en zaadkieming en stimuleert het veroudering, abscissie, vruchtrijping en de aanmaak van chlorofyl. Ook speelt JA een rol bij het omgaan van de plant met verschillende vormen van omgevingsstress (Ali & Baek, 2020).

2.4 Plantenhormonen meten

Het kan interessant zijn om te meten of teeltmaatregelen effect hebben op de productie van bepaalde hormonen. Omdat de hormoonconcentratie een marker kan zijn voor processen die zich in de plant afspelen of hoe een plant (of een deel van de plant) zich zal ontwikkelen. Ook kan het helpen bij het zoeken naar de oorzaak van ongewenste effecten van teeltmaatregelen op de plant en hoe deze in de toekomst tegen te gaan.

Omdat plantenhormonen in zeer lage concentraties voorkomen in de plant en er van de meeste hormonen meerdere versies in de plant aanwezig zijn, is het identificeren en kwantificeren van plantenhormonen in plantmateriaal zeer complex (Tarkowská *et al.* 2014). Het wordt dan ook meestal uitgevoerd door gespecialiseerde instituten of universiteiten. In de Verenigde Staten zijn er ook enkele commerciële bedrijven (zoals Creative Proteomics en Lifeasible) die dergelijke analyses uitvoeren, ook voor klanten in Europa.

Ook al kan het interessant zijn om plantenhormonen te meten, er zijn wel enkele zaken waar men rekening mee moet houden als besloten wordt dit te doen. Ten eerste is het belangrijk om te realiseren dat de concentratie van één hormoon in plantmateriaal niet erg informatief is. Door de vele interacties tussen hormonen en hun signaleringsroutes is het namelijk de balans tussen de verschillende hormonen die uiteindelijk bepalend is voor de regulatie van plantprocessen. Ook is het voor de interpretatie van hormoonconcentraties belangrijk dat er onderscheid wordt gemaakt tussen de verschillende vormen van de verschillende hormonen. Zoals eerder aangegeven hebben namelijk niet alle hormonen of afgeleide stoffen biologische activiteit. Ook kan dit afhangen van de soort waarvan het plantmateriaal afkomstig is. Daarnaast is het van belang dat er een weloverwogen keuze wordt gemaakt voor het type plantmateriaal waar men naar wil kijken. Vaak worden hormoonanalyses gedaan voor volledige scheuten of wortelstelsels, maar zoals eerder aangegeven spelen lokale hormoonconcentraties (tot op cellulair niveau) een belangrijke rol in de regulatie van plantprocessen door hormonen. De hoeveelheid van een hormoon in bijvoorbeeld een volledige scheut meten kan leiden tot verkeerde conclusies. Het kan namelijk zo zijn dat een behandeling niet leidt tot een verandering in hormoonconcentratie op plantniveau, maar wel tot een verandering in de hormoonconcentratie in een specifiek deel van de plant of in een specifieke cellaag. Het is ook van belang op welk moment van de dag plantmateriaal wordt verzameld voor hormoonanalyses, omdat de hoeveelheid hormonen over de dag kan variëren. Het beste is daarom om materiaal te verzamelen op meerdere tijdstippen. Wat de interpretatie van hormoonmetingen verder compliceert is dat het effect van plantenhormonen op de regulatie van plantprocessen afhangt van de aanwezigheid van hormoonreceptoren en de aanwezigheid en activiteit van regeleiwitten. Zo speelt een relatief hoge concentratie van een hormoon geen rol van betekenis als deze bijvoorbeeld niet wordt waargenomen in de cel of als er geen regeleiwitten aanwezig zijn waar het hormoonsignaal aan kan worden doorgegeven.

Omdat zowel het meten van hormonen als de interpretatie van de resultaten zeer complex kunnen zijn, kan het ook interessant zijn om via alternatieve benaderingen de regulatie van plantprocessen door hormonen te bestuderen. Zo kan men er bijvoorbeeld voor kiezen om in plaats van hormoonconcentraties, de expressie (activiteit) van genen te meten die worden aangestuurd door regeleiwitten. Dit zegt niet direct iets over hormoonconcentraties, maar geeft wel informatie over het uiteindelijk effect van een hormoonsignaal op een plantproces. Het meten van de expressie van dergelijke marker genen wordt al veelvuldig gebruikt in onderzoek naar de regulatie van plantprocessen. Een voorbeeld van een marker gen voor activiteit van PIF regeleiwitten is bijvoorbeeld YUCCA8, wat verantwoordelijk is voor de productie van een enzym dat betrokken is bij de aanmaak van auxine (Sun *et al.* 2012). Een nadeel van deze aanpak is echter dat (nog) niet voor alle plantensoorten goede marker genen bekend zijn.

2.5 Praktijkvoorbeelden hormoonbalans

De hormoonbalans speelt een belangrijke rol in de regulatie van verschillende plantprocessen en is daarmee sterk bepalend voor de groei en ontwikkeling van gewassen onder specifieke teeltcondities. In dit hoofdstuk zullen een aantal praktijkvoorbeelden worden beschreven van problemen die zich voordoen in een aantal teelten en die gerelateerd zijn aan processen waarvan bekend is dat deze (mede) worden gereguleerd worden via de hormoonbalans. Naast het beschrijven van de rol die de hormoonbalans speelt in het onderliggende proces, worden er op basis van de huidige kennis over de regulatie van de hormoonbalans aanbevelingen gedaan voor teeltmaatregelen die mogelijk kunnen bijdragen aan een oplossing voor deze problemen. Daarbij moet worden opgemerkt dat het hier vaak gaat om aanbevelingen gemaakt op basis van onderzoek gedaan in andere gewassen (zoals de zandraket), en dus niet gezegd is dat de inzichten op basis van deze onderzoeken direct te vertalen zijn naar de gewassen die genoemd worden in de voorbeelden.

2.5.1 Strekking aardbei tijdens wintermaanden

De afgelopen jaren is het areaal aardbeien dat onder glas geteeld wordt sterk toegenomen en de verwachting is dat dit blijft toenemen de komende jaren. Het streven is een jaarrond, stabiele productie van hoge kwaliteit. Echter, een probleem waar men tegen aan loopt bij het telen van aardbei onder belichting in de wintermaanden is dat het gewas niet voldoende strekt: blad- en bloemstelen blijven te kort. Dit heeft negatieve gevolgen voor de lichtonderschepping en daarmee voor de fotosynthesecapaciteit en productie. Daarnaast bemoeilijkt het kort blijven van bloemstelen de oogstwerkzaamheden. Zoals eerder beschreven speelt het hormoon gibberellinezuur (GA) een belangrijke rol in de regulatie van strekking in planten doordat het de afbraak van regeleiwitten die strekking stimuleren (PIFs) voorkomt. Het niet voldoende strekken van blad- en bloemstelen in aardbei wordt dus mogelijk veroorzaakt door een (te) lage concentratie GA in de plant. Dit idee wordt ondersteund door de resultaten van verschillende studies waarin gekeken is naar het effect van het toedienen van GA3 (een belangrijke bioactieve vorm van GA in planten) op groei en productie van aardbei. Uit deze studies blijkt namelijk dat het bespuiten van aardbeienplanten met GA3 zorgt voor meer strekking in het gewas (zie bijvoorbeeld El-Shabasi *et al.* 2009; Jamal Uddin *et al.* 2012; Paroussi *et al.* 2002; Tehranifar & Battey, 1996).

Uit de literatuur is bekend dat temperatuur en licht van invloed zijn op de interne concentratie GA. Zo is bekend dat hogere temperaturen zorgen voor een toename in GA doordat de aanmaak van het hormoon in planten wordt gestimuleerd (Yamaguchi, 2008). Mogelijk zou het aanhouden van hogere temperaturen tijdens de winterteelt dus strekking stimuleren in aardbei via een verhoging van interne GA concentratie. Om zo efficiënt mogelijk om te gaan met de energie die het kost om hogere temperaturen te realiseren tijdens de teelt is het van belang dat het er meer onderzoek wordt gedaan naar de effecten van die interne biologische klok op de gevoeligheid van de planten voor GA in aardbei. Uit onderzoek in de zandraket blijkt bijvoorbeeld dat de activiteit van PIF regeleiwitten via de biologische klok worden onderdrukt aan het einde van de dag en begin van de nacht (Zhu *et al.* 2016). Aangezien het effect van GA op strekking verloopt via het stabiliseren van PIF eiwitten, is het waarschijnlijk niet effectief om hogere temperaturen te realiseren tijdens de periodes dat de activiteit van deze eiwitten wordt onderdrukt.

Aardbei heeft een hoge lichtbehoefte en er is vanuit de praktijk interesse voor het gebruik van LEDs in de winterteelt. Het gebruik van LEDs heeft naast energiebesparing ook het voordeel dat het telers in staat stelt de spectrale samenstelling te veranderen en daarmee mogelijk strekking te reguleren. Zoals eerder beschreven zorgt verrood licht voor minder afbraak van PIF regeleiwitten die strekking stimuleren. Maar studies in verschillende plantensoorten hebben ook aangetoond dat meer verrood licht zorgt voor een verhoging van de interne GA concentratie (Yang & Li, 2017). Overigens is het mogelijk dat de verhoging van interne GA concentraties als gevolg van zowel hogere temperaturen als meer verrood licht een indirect gevolg is van meer PIF activiteit, aangezien PIFs de aanmaak van het hormoon auxine stimuleren wat vervolgens kan zorgen voor een toename van GA (Frigerio *et al.* 2006).

Onderzoek van Helmus-Schuddebeurs en collega's heeft aangetoond dat het verhogen van de fractie verrood licht in het spectrum (tot 20%) strekking van bladstelen in aardbei kan stimuleren tijdens de wintermaanden (Helmus-Schuddebeurs *et al.* 2019). Echter, het is niet duidelijk of dit samen gaat met een verandering in de interne GA concentratie. Net als voor temperatuur zal het voor het gebruik van veranderingen in het lichtspectra om strekking te sturen via de hormoonbalans van belang zijn om rekening te houden met het effect van de biologische klok wat er toe leidt dat het effect van een lichtbehandeling tijdstip-afhankelijk is.

2.5.2 Compact telen siergewassen

Terwijl in gewassen als aardbei, maar ook paprika, te weinig strekking soms een probleem kan vormen, is een compacte plantvorm voor veel siergewassen juist gewenst. Zo wordt bijvoorbeeld in de teelt van potrozen of potchrysanten gebruik gemaakt van chemische groeiremmers om (overmatige) strekking te voorkomen. Zoals beschreven in de vorige paragraaf speelt het hormoon GA een belangrijke rol in de regulatie van strekking. Het is dan ook niet verassend dat de groeiremmers die worden gebruikt in verschillende teelten strekking remmen via het onderdrukken van GA biosynthese (Carvalho *et al.* 2008). Er zijn ook teeltmaatregelen die gebruikt kunnen worden om strekking te remmen zonder gebruik te maken van chemische stoffen. Voorbeelden hiervan zijn het realiseren van een hogere nacht- dan dagtemperatuur (-DIF) of een korte temperatuurverlaging in de ochtend (ochtendddip of DROP). Onderzoek naar -DIF heeft laten zien dat -DIF strekking van onder andere internodia in erwtenplanten en hypocotielen in de zandraket remt via onderdrukking van de aanmaak en activiteit van GA (Stavang *et al.* 2005), maar ook van andere hormonen zoals auxine en ethyleen (Bours *et al.* 2013, 2015). Dit laat zien dat via het reguleren van de hormoonbalans door temperatuur strekking van plantdelen kan worden geremd. Hierbij moet wel worden opgemerkt dat het effect van -DIF bijvoorbeeld niet voor alle gewassen gelijk is (Myster & Moe, 1995), wat er op duidt dat de regulatie van de hormoonbalans, of het effect hiervan, afhankelijk is van het gewas of de cultivar. De onderzoeken naar -DIF duiden er ook op dat het verlagen van de dagtemperatuur effectiever is om de interne concentraties van GA, auxine, en/of ethyleen te verlagen en daarmee strekking te remmen dan het verlagen van de nachttemperatuur. Dit komt overeen met onderzoek in de zandraket waaruit blijkt dat de regeleiwitten die zorgen voor verlaging van GA concentratie in de plant in reactie op temperatuurverlaging alleen geactiveerd kunnen worden door lage temperaturen aan het begin van de dag (Achard *et al.* 2008; de Lucas & Prat, 2014; Feng *et al.* 2008).

Het lichtspectrum kan ook gebruikt worden voor het verlagen van concentraties van GA en auxine. Zoals beschreven in de vorige paragraaf kan extra verrood licht zorgen voor een toename van GA en auxine, direct of indirect via PIF regeleiwitten. Verrood licht wegnemen, of de rood:verrood verhouding verhogen door extra rood licht toe te voegen heeft het tegenovergestelde effect. Terwijl verrood licht een positief effect heeft op de concentratie van GA en auxine, heeft onderzoek in de zandraket laten zien dat blauw licht de aanmaak van deze hormonen, en daarmee strekking, kan onderdrukken (Huché-Thélier *et al.* 2016). In lijn met de bevindingen omtrent het effect van blauw licht is aangetoond dat een verhoging van de fractie blauw licht tot 60% in de teelt van verschillende siergewassen kan leiden tot compactere planten (Dieleman *et al.* 2018). Echter, in deze studie zag men ook dat het telen onder een hoge fractie blauw licht nadelige effecten heeft zoals bloeivertraging. UVB licht heeft een effect op GA, auxine en strekking dat vergelijkbaar is met dat van blauw licht (Huché-Thélier *et al.* 2016). Dus toevoegen van UVB licht zou in potentie ook een manier zijn om de concentraties van GA en auxine te verlagen, en daarmee strekking te onderdrukken tijdens de teelt. Dat blauw en UVB licht vergelijkbare effecten hebben op GA en auxine komt doordat beide lichtkleuren de activiteit van hetzelfde regeleiwit HY5 (ELONGATED HYPOCOTYL 5) stimuleren (Huché-Thélier *et al.* 2016). Dit regeleiwit zorgt bijvoorbeeld voor onderdrukking van de activiteit van genen die nodig zijn voor de biosynthese en/of afbraak van GA en auxine. Interessant is dat dit onderzoek in de zandraket heeft laten zien dat dit regeleiwit door de biologische klok wordt gereguleerd, en voornamelijk actief is aan het einde van de nacht en begin van de dag (van Hoogdalem *et al.* 2019). Dus mogelijk is voor het verlagen van GA en auxine concentraties blauw/UV-B licht het meest effectief gedurende deze periode.

2.5.3 Weerbaarheid Chrysant

Het spreekt voor zich dat het voor een succesvol verloop van een teelt van belang is dat ziekten en plagen geen vat krijgen op het gewas. Doorgaans worden er voor of tijdens de teelt behandelingen ingezet om plagen en ziekteverwekkers direct aan te pakken en te voorkomen dat deze het gewas kunnen aantasten. Zo wordt voorafgaand aan de teelt van Chrysant gestoomd om problemen met wortelknobbelaaltjes, trips en Fusarium tegen te gaan. In plaats van ziekten en plagen direct bestrijden wordt er steeds meer gekeken naar methoden/ behandelingen die de weerbaarheid van de plant tegen ziekten en plagen verhogen. Dit zou kunnen helpen om het gebruik van chemische bestrijdingsmiddelen terug te dringen, maar ook de noodzaak voor stomen, wat veel (fossiele) energie kost, kunnen verminderen.

Zoals hierboven beschreven spelen met name een tweetal hormonen een belangrijke rol in de afweer van planten: salicylzuur (SA) en jasmonzuur (JA). Aangezien deze hormonen de plant weerbaarheid verhogen door de aanmaak van stoffen te stimuleren die de plant beschermen tegen infecties en vraat kan het in theorie gunstig zijn voor de weerbaarheid van een plant om met teeltmaatregelen een verhoging van de interne SA en/of JA concentraties te realiseren. Echter, men moet er daarbij wel rekening houden dat in veel gevallen verhoogde weerbaarheid van planten ten koste gaat van groei (van Butselaar & Van den Ackerveken, 2020). Dit verloopt onder andere via de hormoonbalans: zo heeft bijvoorbeeld auxine een negatief effect op de productie en activiteit van SA, en andersom, en heeft GA een negatief effect op de werking van JA (van Butselaar & Van den Ackerveken, 2020).

Over het algemeen geldt dat condities waar onder productie en/of activiteit van groeihormonen als auxine en GA worden gestimuleerd (zoals hoge temperaturen en ver rood licht), de weerbaarheid van de plant via JA en SA routes vermindert, maar dit geldt ook andersom. Zo is bijvoorbeeld aangetoond in de zandraket dat bij lagere temperaturen (16°C in plaats van 22°C), SA productie door de plant toeneemt en de plant minder vatbaar is voor een infectie met de *Pseudomonas syringae* bacterie (Zhan Li *et al.* 2020). Hogere temperaturen blijken daarentegen de productie van SA in reactie op een infectie met deze bacterie te remmen (Huot *et al.* 2017). Van ver rood licht, of licht met een lage rood:ver rood verhouding is bekend dat het een negatief effect op de weerbaarheid van planten kan hebben, terwijl blauw of UV-B licht juist een positief effect op de weerbaarheid kan hebben. Het lichtspectrum beïnvloedt de plantafweer via regulatie van verschillende componenten van de SA en JA signaleringsroutes (waaronder regeleiwitten) en/of via de regulatie van de aanmaak/afbraak van deze hormonen (Ballaré & Pierik, 2017; Huché-Théliér *et al.* 2016).

Naast de keuze voor een bepaalde temperatuur of belichtingsstrategie, wordt er ook steeds meer bekend over hoe met behulp van gunstige micro-organismen en gebruikt van biostimulanten de plantweerbaarheid kan worden verhoogd, al dan niet via het beïnvloeden van de hormoonbalans van de plant. Hier zal dieper op in worden gegaan in de volgende hoofdstukken.

2.5.4 Uitloop van zijscheuten en knoppen

Om energie te besparen moet de huidige SON-T belichting in de komkommerteelt uiteindelijk vervangen worden door LEDs. Echter, tot nu toe blijkt tijdens praktijkproeven de teelt van komkommer onder LEDs een uitdaging en treden er een aantal problemen op met het gewas. Een van die problemen is erg veel scheutgroei, zelfs in de schoongemaakte oksels van het gewas. Dit is problematisch omdat het ertoe leidt dat de plant zijn assimilaten moet verdelen over meerdere bloemen/vruchten, waardoor er trosjes ontstaan van onderontwikkelde vruchten.

Het is mogelijk dat de uitgroei van scheuten wordt veroorzaakt door een verstoorde hormoonbalans. De kop van de plant (de apex) produceert het hormoon auxine, wat vervolgens in de richting van de wortels wordt getransporteerd en de uitgroei van scheuten onderdrukt (apicale dominantie). Auxine onderdrukt uitgroei van scheuten onder andere doordat het ervoor zorgt dat cytokines, die vanuit de wortels richting de zijscheuten worden getransporteerd en scheutgroei stimuleren, niet in de scheuten kunnen ophopen. Daarnaast stimuleert het juist het transport van strigolactonen naar de zijscheuten die en daar uitgroei van de scheut onderdrukken (Kebrom, 2017). Dat er (teveel) scheutgroei plaatsvindt in het gewas, kan er dus op duiden dat er te weinig auxine wordt geproduceerd in de kop, dat er te weinig strigolactonen naar de scheuten worden getransporteerd en/of teveel cytokines.

Overigens is komkommer niet het enige gewas waarbij het (teveel) scheutgroei ongewenst is. Zo wordt er bijvoorbeeld ook door telers van pluischrysanten gezocht naar manieren om de uitgroei van pluizen te voorkomen. Deze worden nu nog met de hand verwijderd en het versterken van de apicale dominantie, bijvoorbeeld met een specifiek LED spectrum, zou veel arbeid schelen. Daarnaast zorgt dat mogelijk voor een betere sturing van assimilaten naar de hoofdknop.

Auxineproductie en transport wordt gestimuleerd door PIF regeleiwitten. Dus als de vorming van zijscheuten een gevolg is van een te lage productie of transport van auxine in/vanuit de kop van de plant, dan zou het realiseren van een hogere temperatuur (van de kop) en/of telen onder licht met een hogere fractie ver rood licht of een lagere fractie blauw of rood licht wellicht bij kunnen dragen aan het voorkomen van dit fenomeen. Onder dergelijke condities wordt de activiteit van PIF eiwitten en de productie van auxine gestimuleerd. Over de directe regulatie van cytokines en strigolactonen door temperatuur en licht is weinig bekend. Echter, van deze hormonen is wel bekend dat de productie kan worden beïnvloed door de beschikbaarheid van mineralen. Onderzoek naar groei van de zandraket laat bijvoorbeeld zien dat de uitgroei van zijscheuten wordt geremd onder gelimiteerde stikstof condities (de Jong *et al.* 2014). Dit komt omdat onder dergelijke condities productie en transport van wortels naar de scheut van cytokines wordt onderdrukt maar van strigolactonen wordt gestimuleerd. Daarnaast zorgde gelimiteerd stikstof ervoor dat auxineproductie in de kop van de plant werd gestimuleerd. Onderzoeken naar groei van planten onder gelimiteerd fosfaat condities lieten vergelijkbare resultaten zien (Chien *et al.* 2018).

3 De ecologische balans: Nuttige micro-organismen in en rond de plant

3.1 Inleiding

Planten leven niet alleen. Planten herbergen een betoverende diversiteit aan microben, zowel op en in hun bovengronds en ondergrondse weefsels, die gezamenlijk bekend staan als plantenmicrobiota. Terwijl de genomen (genetische informatie) van de microbiota, die in nauwe samenwerking met de plant leeft, worden plantmicrobioom genoemd (Berendsen *et al.* 2012). De plantenmicrobiota bestaat voornamelijk uit schimmels, oomyceten, bacteriën, archaea en protisten die nuttig of pathogeen voor de planten kunnen zijn (Mendes *et al.* 2013).

Geen plant kan overleven zonder micro-organismen (Partida-Martinez en Heil, 2011; Compant *et al.* 2019). Daarom is er binnen wetenschap een nieuwe naam geïntroduceerd voor de mutualistische/obligate samenwerking tussen plant en microbiota, zogenaamd plant holobiont (Sanchez-Cañizares *et al.* 2017; Hassani *et al.* 2018).

Voor de plant nuttige micro-organismen, zoals plantgroeibevorderende bacteriën en schimmels, leveren een aanzienlijke bijdrage aan verbeterde groei en productie van de planten via: a) verhogen van beschikbaarheid van nutriënten voor de planten (stikstof, koolstof, fosfaat maar ook microelementen zoals ijzer, mangaan etc.); en b) productie en regulatie van planthormonen (zoals auxines, cytokinines, gibberellines en ethyleen) (Backer *et al.* 2018).

Sommige plantgroeibevorderende micro-organismen kunnen ook indirect effect hebben op plantengroei door een rol te spelen in verdediging tegen plantpathogenen en plagen (Premachandra *et al.* 2016). Micro-organismen kunnen planten tegen pathogenen/plagen beschermen via: a) aanschakelen van geïnduceerde resistentie van planten (via productie van planthormonen zoals jasmonzuur, salicylzuur en ethyleen), b) concurrentie om voedsel of plek met plantpathogenen en c) directe antagonisme (e.g. productie van antibiotica, vluchtige stoffen of enzymen die celwanden van pathogenen/plagen afbreken) (Pieterse *et al.* 2014; Berg *et al.* 2017).

Micro-organismen die antagonistisch zijn tegen ziekten en plagen kunnen van nature aanwezig zijn in het teeltsysteem en het is mogelijk om ze extra te stimuleren door bijvoorbeeld organische toevoegingen, zoals o.a. chitine, in het substraat/ de bodem (bodem/substraatweerbaarheid).

Deze antagonistische micro-organismen kunnen uit het systeem geïsoleerd worden en vervolgens geformuleerd tot een product. Deze producten worden biologische pesticiden genoemd. Gebruik van deze biologische pesticiden in de productie van verschillende gewassen wordt gereguleerd door Wet Gewasbeschermingsmiddelen en biociden.

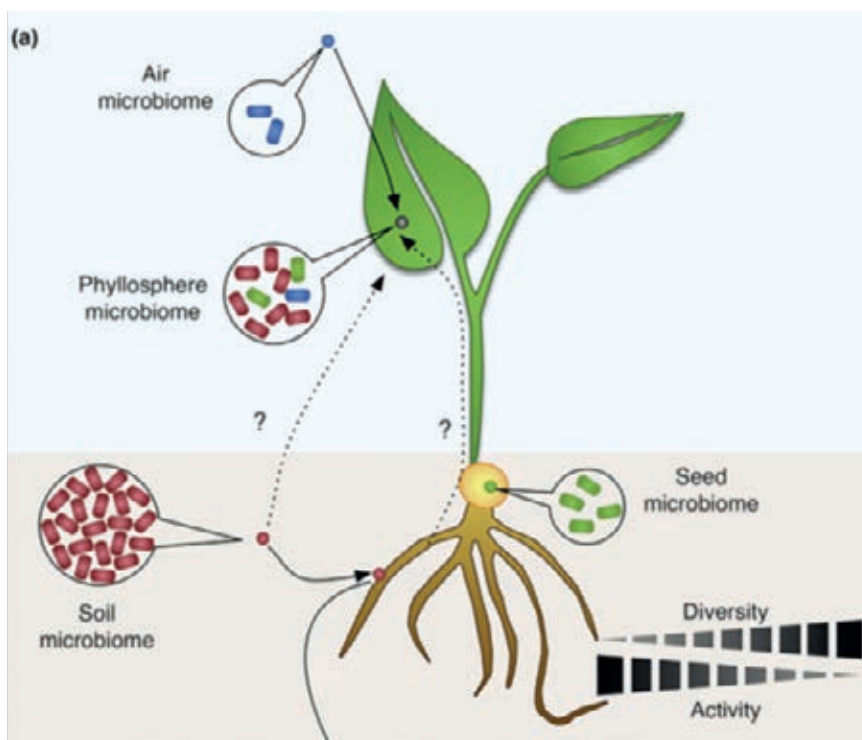
3.2 Welke en hoeveel micro-organismen zijn aanwezig in plant holobiont?

De plantenmicrobiota bestaat voornamelijk uit schimmels (o.a. *Trichoderma*, mycorrhiza schimmels, *Mortierella*, *Fusarium*), oomyceten (o.a. *Pythium*, *Phytophthora*), bacteriën (o.a. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Rhizobium*), archaea (verwant aan bacteriën) en protisten die nuttig of pathogeen voor de planten kunnen zijn (Mendes *et al.* 2013). Samen met de plant vormen zij een plant holobiont (Sanchez-Cañizares *et al.* 2017). Bovengenoemde micro-organismen zijn vaak moeilijk waarneembaar in plantweefsel zonder gebruik van de microscoop.

In het verleden was het alleen mogelijk om micro-organismen te bestuderen door ze te kweken op kunstmatige mediums in het laboratorium. Op die manier waren de bekende bacteriën en schimmels geïsoleerd zoals *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Trichoderma* of *Fusarium*. De opkomst van moleculaire analyse technieken, gebaseerd op DNA, betekende echter een revolutie in onderzoek naar interacties tussen micro-organismen en planten.

Deze technieken maken het mogelijk om de zogenaamd niet-kweekbare microbiota te bestuderen. Microbiologen zijn (nog) niet in staat om deze micro-organismen te kweken in het laboratorium. Bijvoorbeeld, minder dan 1% van bacteriën uit bodem of plantmateriaal groeit in kunstmatige mediums onder labomstandigheden (Bodor *et al.* 2020). Echter, deze micro-organismen kunnen juist een belangrijke rol spelen in de ecosysteem.

Micro-organismen, die uiteindelijk een plant holobiont samen met de plant vormen, zijn afkomstig van bodem (of groeisubstraat in substraatteelt), water, lucht en plantmateriaal zelf (zaden of stekken) (Figuur 3.1) (Sanchez-Cañizares *et al.* 2017). Bijvoorbeeld, in de plant rhizosfeer (zone rondom de wortels) bevinden zich soms >30000 soorten van micro-organismen, met dichtheid tot 10¹¹ bacteriën per gram van de wortel (Berendsen *et al.* 2012). Micro-organismen kunnen zich vestigen op zowel ondegondse (rhizosfeer) als bovengrondse (fylosfeer) delen van de plant (Sanchez-Cañizares *et al.* 2017). Endofyten zijn micro-organismen die in staat zijn om binnen de plantweefsel te groeien (Santoyo *et al.* 2016).



Figuur 3.1 Bronnen van micro-organismen in de plant holobiont. Bron: (Sánchez-Cañizares *et al.* 2017).

Meerderheid van micro-organismen, in plant holobiont, heeft organisch koolstof (org. C.; bijvoorbeeld suikers, organische zuren) nodig voor hun groei. Organisch koolstof kan afkomstig zijn uit organische stof in bodem of organisch substraat of van plant zelf (wortellexudaten). Rhizosfeer van planten is een koolstofrijke omgeving omdat, naar verschillende schattingen, tot 40% van door de plant geassimileerd C wordt uitgescheiden als wortellexudaten (Berendsen *et al.* 2012). Daarom worden ook de anorganische substraten zoals steenwol en perliet relatief snel gekoloniseerd door micro-organismen afkomstig uit o.a. plantzaad en zijn deze niet steriel (Koohakan *et al.* 2004; Postma, 2004; Vallance *et al.*, 2011). Plantenzaden, ook na ontsmetting van het zaadoppervlak, zijn bronnen van endofytische, nuttige micro-organismen, die vervolgens de kiemende zaailing kunnen beschermen tegen ziekten en abiotische stress, als aangetoond voor o.a. tomaat (Bergna *et al.* 2018; Morella *et al.* 2019).

Uit het onderzoek naar interacties tussen plant en micro-organismen is ook gebleken dat planten in staat zijn om specifieke groepen van nuttige micro-organismen aan te trekken vanuit bodem/substraat of water door manipulatie in samenstelling van wortellexudaten (Compant *et al.* 2019). Jasmonzuur (JA), geproduceerd door plant, maar geen bespuiting met exogene methyl jasmonaat (MeJA), kan ook een significant invloed hebben op diversiteit van plantmicrobiota (Carvalhais *et al.* 2013). Vergelijkbaar effect op plantmicrobiota, met een verschuiving richting soorten die antagonistisch zijn tegen pathogenen, is waargenomen bij manipulatie van concentratie van het planthormoon salicylzuur (Lebeis *et al.* 2015).

Er zijn soms miljarden micro-organismen aanwezig in een gram bodem/groei-substraat of op een cm² plantoppervlak (fylofeer) (Berendsen *et al.* 2012). Taxonomische diversiteit en de rol van micro-organismen in rhizosfeer, fylofeer, bodem of groei-substraat mag ook niet onderschat worden. In de rhizosfeer van planten kunnen soms meer dan 30000 verschillende soorten micro-organismen aanwezig zijn (Berendsen *et al.* 2012). Onderzoek toont aan dat plantsoort, soms zelfs cultivar, en groeistadium een belangrijk invloed hebben op diversiteit van micro-organismen in en rond de plant. Bijvoorbeeld verschillende geteste cultivars van tomaat, geteeld in de grond, hadden verschillend effect op de diversiteit van bacteriën in de rhizosfeer, waarbij het meest diverse bacteriële microbioom werd waargenomen in rhizosfeer van cv Maxifort in vergelijking met 2 andere cultivars (Poudel *et al.* 2019). Microbiomen van zaden van rode biet cultivars die verschillen in resistentie tegen *Rhizoctonia* infectie waren significant anders, wat wijst op een belangrijke rol van micro-organismen in bescherming van rode biet tegen *Rhizoctonia* infectie (Wolfgang *et al.* 2020). Veranderingen in fylofeer en rhizosfeer microbioom, als resultaat van behandeling met nuttige micro-organismen, zijn ook waargenomen in andere gewassen, waaronder sla (Erlacher *et al.* 2014) en aardbei (Sylla *et al.* 2013; de Tender *et al.* 2016). Binnen onderzoek naar de teelt van braam en framboos onder glas (project "Nieuw licht op houtig kleinfruit"), gefinancierd door het Kas als Energie programma, werd ook verkennend microbioom analyse uitgevoerd. Resultaten daarvan laten zien, dat ondanks het feit dat beide plantsoorten (braam en framboos) geteeld worden op hetzelfde organisch substraat, op basis van veen, zich andere bacteriën en schimmels ontwikkelen in de wortelzone van braam in vergelijking met framboos (Janse J. *et al.* 2021).

Van oudsher dacht men dat substraat teelt "steriel" was. Dankzij gebruik van qPCR en Next Generation Sequencing, weten wij nu dat er duizenden soorten schimmels en bacteriën aanwezig zijn in organische substraten vanaf het begin van de teelt (Montagne *et al.* 2015; Montagne *et al.* 2017) en dat inerte substraten, zoals perliet of steenwol, en zelfs waterteelt, heel snel worden gekoloniseerd door bacteriën (Grunert *et al.* 2016). Bodemtype of soort groei-substraat (inert vs. organisch, maar ook bijvoorbeeld kokos vs. veen) hebben significant invloed op welke soorten bacteriën en schimmels aanwezig zijn in bodem/groei-substraat, wat ook belangrijke gevolgen kan hebben voor plantgroei en gezondheid (Antonioni *et al.* 2017; Montagne *et al.* 2017).

Het is moeilijk een ecologische/microbiële balans op te stellen, die van toepassing is in alle teelten, omdat er zoveel verschillende interacties zijn tussen micro-organismen/planten (inclusief cultivar)/substraat type en klimaatomstandigheden tijdens de teelt. Micro-organismen in en rond de plant zijn met elkaar verbonden door verschillende interacties (zowel positief als negatief) in zogenaamd microbiële netwerken (Berry en Widder, 2014). Er wordt op dit moment ecologisch onderzoek gedaan naar zogenaamd keystone species. Dat zijn microbiële soorten, niet altijd degenen met de grootste aantallen, wiens afwezigheid in het microbiële netwerk vergaande negatieve effecten hebben op de groei en gezondheid van de plant (Banerjee *et al.* 2018).

3.3 Micro-organismen en beschikbaarheid van nutriënten voor de planten

Het meest bekende voorbeeld van plantengroeibevordering door micro-organismen is een symbiose van stikstof fixerende bacteriën en de wortels van peulvruchten (Glick, 2012). Dankzij deze 'samenwerking' worden de planten voorzien van stikstof, door bacteriën die atmosferische stikstof (N₂) omzetten in organische vorm (NH₂-) aanwezig in aminozuren, in ruil voor suikers afkomstig van fotosynthese.

In high-tech glastuinbouw, met gebruik van minerale meststoffen, zijn de risico's voor het optreden van problemen in het gewas door tekort aan stikstof (N), op dit moment, geminimaliseerd. Ambitie van Nederlandse overheid is echter om de komende jaren verschillende aspecten van circulaire economie te stimuleren. Één van die aspecten is verminderen van het gebruik van stikstof in meststoffen die afkomstig zijn uit industriële productie via de Haber-Bosch reactie. Doelstelling in de circulaire glastuinbouw zou dan worden om zo veel mogelijk (plantaardige) biomassa bronnen van stikstof te hergebruiken. Micro-organismen zijn nodig om deze stikstof, verbonden in organische biomassa, beschikbaar te maken voor de planten. Dat gebeurt via het proces van N mineralisatie, via ammoniak naar nitraat (nitrificatie) (Blok *et al.* 2015). Planten gaan interacties aan met micro-organismen die verantwoordelijk zijn voor verschillende processen in de stikstofkringloop en kunnen zo zelf beschikbaarheid van stikstof voor hun groei regelen, zoals interacties met mycorrhiza schimmels of denitrificerende bacteriën (Moreau *et al.* 2019). Planten nemen verschillende vormen van stikstof op, maar ammonium en nitraat zijn de meest belangrijke bronnen van stikstof voor de meeste planten (Calvo *et al.* 2019). Nitraat opname door de plant gebeurt via actief transport van nitraat door de celmembraan. Dit proces heeft energie nodig en gebeurt niet alleen op basis van osmotische druk. Onderzoek naar plantgroeibevorderende bacteriën in de zandraket (*Arabidopsis*) heeft aangetoond, dat sommige *Bacillus* soorten, invloed kunnen hebben op expressie van genen die belangrijk zijn voor het actief transport van nitraat en ammonium door de celmembraan. De door de plantgroeibevorderende bacteriën verhoogde opname van stikstof resulteerde in hogere plant biomassa ten opzichte van behandeling met gelijke concentraties van minerale stikstof in voeding, maar zonder toevoeging van nuttige *Bacillus* soorten (Calvo *et al.* 2019).

Micro-organismen kunnen ook positieve bijdrage leveren aan vergroten van fosfor (P) beschikbaarheid voor planten (Glick, 2012). Fosfor is een essentieel hoofdelement voor plantengroei en is belangrijk voor talloze metabole processen in de plant. Wereldwijd worden de voorraden van fosfor meststoffen steeds minder, daarom wordt er steeds vaker gekeken naar mogelijkheden om voor plant beschikbare fosfor terug te winnen uit verschillende processen van biomassaverwerking, zoals anaerobe vergisting (Macura *et al.* 2019). Sommige plantgroeibevorderende micro-organismen, zoals bepaalde stammen van *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* en *Serratia* kunnen beschikbaarheid van fosfor vergroten door dit vrij te maken uit niet wateroplosbare fosfaatmineralen of organische verbindingen (Alori *et al.* 2017).

Planten hebben ook tal van micronutriënten nodig om goed te functioneren. Een daarvan is ijzer, wat nodig is voor o.a. biosynthese van chlorofyl, fotosynthese en ademhaling (Souza *et al.* 2015). In aerobe omstandigheden, in de grond of substraat, is beschikbaarheid van ijzer vaak gelimiteerd door snelle oxidatie van plantbeschikbaar Fe^{2+} naar Fe^{3+} , wat niet beschikbaar is voor opname door de plant (Lemanceau *et al.* 2009). Ijzer speelt ook belangrijke rol in plant-pathogeen interacties. Plant pathogenen hebben vaak extra ijzer nodig tijdens het infectie proces (Verbon *et al.* 2017). Nuttige micro-organismen hebben verschillende manieren ontwikkeld om beschikbaarheid van ijzer voor de pathogeen te verkleinen en tegelijkertijd zorgen zij voor voldoende ijzer voor de plant. De best bestudeerde strategie is de productie van sideroforen. Sideroforen zijn chelator moleculen met hoge affiniteit voor Fe^{3+} (Souza *et al.* 2015). Sideroforen spelen ook een rol in actief transport van metalen anders dan ijzer, ze spelen een rol als signaalstoffen in de interactie tussen plant en micro-organisme en kunnen antimicrobiële activiteit hebben (Kramer *et al.* 2020).

3.4 Productie en afbraak van planthormonen door micro-organismen

Zoals beschreven in Hoofdstuk 2 spelen planthormonen een belangrijke rol in het reguleren van plantengroei, ontwikkeling en stressreacties. Planthormonen worden niet alleen geproduceerd door planten maar ook door algen, schimmels en bacteriën (Shi *et al.* 2017). Daarnaast kunnen sommige micro-organismen processen in planten beïnvloeden door plantenhormonen af te breken (Ali *et al.* 2017). Zowel vrijlevende micro-organismen in de plant rhizosfeer als symbiotische micro-organismen en endofyten kunnen planthormonen produceren (Egamberdieva *et al.* 2017). Door micro-organismen geproduceerde plantenhormonen kunnen direct effect hebben op plant groei en ontwikkeling, zoals auxines, cytokinines, gibberelins en ethyleen, maar ook indirect via geïnduceerde resistentie tegen biotische stress (ziekten en plagen), zoals salicylzuur en jasmonzuur (Burketova *et al.* 2015). Door de hormoonhuishouding van de plant te beïnvloeden zorgen micro-organismen voor de betere kansen om plantenweefsels te koloniseren (Verbon en Liberman, 2016). In Tabel 3.1 zijn voorbeelden genoemd van micro-organismen die o.a. auxines, cytokinines, en gibberellines produceren.

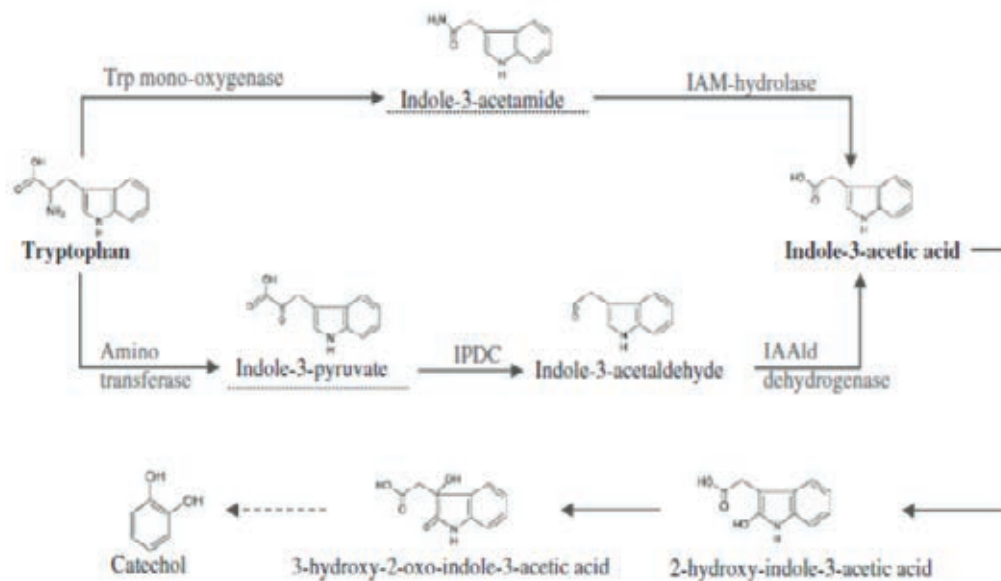
Tabel 3.1

Micro-organismen en productie van planthormonen (bron: Egamberdieva *et al.* 2017)

Microorganisms	Phytohormone	Host plant, abiotic stress
<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	IAA	<i>Sulla camosa</i> (Desf.), Salt stress
<i>Bacillus licheniformis</i>	IAA	<i>Triticum aestivum</i> L., Salt stress
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Arthrobacter</i> sp.	IAA	<i>Triticum aestivum</i> L., Salt stress
<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	IAA	<i>Trifolium repens</i> , Drought stress
<i>Moribacterium</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Rhizobium</i> sp., <i>Sinorhizobium</i> sp.	IAA	<i>Triticum aestivum</i> L., Salt stress
<i>Serratia plymuthica</i> , <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>extremorientalis</i>	IAA	<i>Cucumis sativus</i> , Salt stress
<i>Acinetobacter faecalis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Pantoea agglomerans</i>	IAA	<i>Triticum aestivum</i> L., Salt stress
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> , <i>Ensifer</i> <i>garamanticus</i>	IAA	<i>Hordeum vulgare</i> , Salt stress
<i>Streptomyces coelicolor</i> , <i>Streptomyces geysinensis</i>	IAA	<i>Triticum aestivum</i> L., Salt stress
<i>Bacillus subtilis</i>	IAA	<i>Acacia gerrardi</i> Benth., Salt stress
<i>Pseudomonas</i> sp.	IAA	<i>Zea mays</i> , Salt and heat stresses
<i>Serratia</i> sp.	IAA	<i>Cicer arietinum</i> L., Nutrient stress
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	IAA	<i>Brassica juncea</i> , Cu stress
<i>Pseudomonas putida</i>	IAA	<i>Glycine max</i> (L.) Merr., Salt stress
<i>Leifsonia</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	IAA	<i>Zea mays</i> , Cd stress
<i>Burkholderia</i> sp.	IAA	<i>Solanum lycopersicum</i> L., Cd stress
<i>Bacillus subtilis</i>	IAA	<i>Brassica juncea</i> L., Ni stress
<i>Bacillus megaterium</i>	IAA	<i>Vinca rosea</i> L., Ni stress
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> , <i>Bacillus pumilus</i>	SA	<i>Holanthus annuus</i> , Drought stress
<i>Serratia marcescens</i>	SA	<i>Zea mays</i> , Salt stress
<i>Micrococcus luteus</i>	CK	<i>Zea mays</i> , Drought stress
<i>Arthrobacter</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Azospirillum</i> sp.	CK	<i>Glycine max</i> (L.) Merr., Salt stress
<i>Bacillus subtilis</i>	CK	<i>Platycladus orientalis</i> , Drought stress
<i>Aspergillus fumigatus</i>	GA	<i>Glycine max</i> (L.) Merr., Salt stress
<i>Azospirillum lipoferum</i>	GA	<i>Triticum aestivum</i> L., Drought stress
<i>Phoma glomerata</i> , <i>Penicillium</i> sp.	GA	<i>Cucumis sativus</i> , Drought stress
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ABA	<i>Oryza sativa</i> L., Salt stress
<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	ABA	<i>Vitis vinifera</i> L., Water stress
<i>Trichoderma asperellum</i>	IAA, GA, ABA	<i>Cucumis sativus</i> , Salt stress
<i>Bacillus aryabhattai</i>	IAA, GA, ABA	<i>Glycine max</i> (L.) Merr., Heat stress

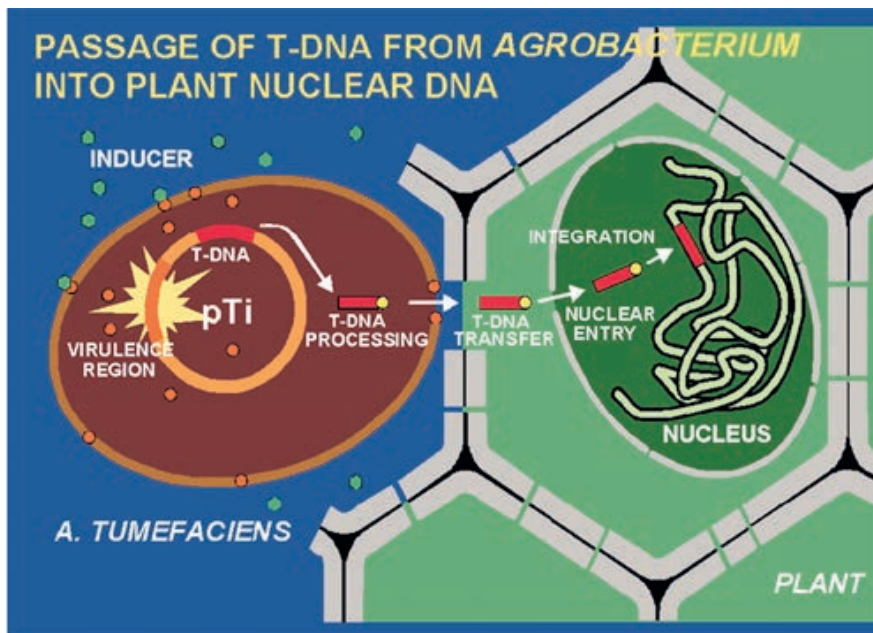
3.4.1 Microbiële productie en afbraak van auxines

Het belangrijkste natuurlijk voorkomend auxine is indool-3-azijnzuur (IAA) (Spaepen, 2015; Patel *et al.* 2015). Op dit moment zijn er zes IAA biosynthese routes bekend en bestudeerd in verschillende micro-organismen. De meeste bacteriën en schimmels gebruiken echter maar één of twee van deze biosynthese routes (Figuur 3.2; Spaepen, 2015). Beide routes beginnen met omzetten van het aminozuur tryptofaan. Micro-organismen kunnen tryptofaan zelf produceren of gebruik maken van het tryptofaan dat in omgeving aanwezig is (geproduceerd door de plant of andere micro-organismen). *Trichoderma virens* kan bijvoorbeeld 17x meer IAA produceren in laboratorium kweek als tryptofaan toegevoegd is aan het groeimedium (Contreras-Cornejo *et al.* 2009). Ook bacteriën, waaronder verschillende stammen van *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* en *Burkholderia*, kunnen hoge concentraties IAA produceren in vivo en in vitro. (Spaepen, 2015).



Figuur 3.2 Microbiële biosynthese van auxine: indool-3-azijnzuur (IAA). Bron: (Spaepen, 2015).

Er zijn ook bacteriën, die in staat zijn om genetisch materiaal van de plant te veranderen zodat die zelf meer auxines gaat produceren. Dit fenomeen wordt in de biotechnologie gebruikt (transfomereren van de planten). De bacteriën *Agrobacterium tumefaciens* en de nauw verwante *Rhizobium rhizogenes* dragen in hun cellen additionele ronde stukken van DNA (plasmide: Ti-tumor inducing in *Agrobacterium* of Ri- root inducing in *Rhizobium*) die genetische informatie bevatten voor biosynthese van o.a. IAA (Escobar en Dandekar, 2003). Genen die coderen voor microbiële enzymen, die belangrijk zijn in biosynthese van IAA, zitten in zogenaamd T-DNA. Dit stuk DNA wordt, tijdens infectie van de plant, ingebouwd in plant eigen DNA (Valentine, 2003). Vervolgens wordt plant aangezet om zelf extra auxines te produceren (Valentine, 2003). Een schematische weergave van infectie van een plant door *Agrobacterium* is te zien in Figuur 3.3.



Figuur 3.3 Infectie route van *Agrobacterium tumefaciens*. Bron: (Valentine, 2003)

Endofytische micro-organismen beïnvloeden de concentratie van IAA in de plant door die af te breken. Verschillende stammen van o.a. *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, en *Microbacterium* zijn onderzocht op potentie voor afbraak van IAA (Dhungana en Itok, 2019).

3.4.2 Microbiële productie van cytokinines

Verschillende onderzoeken hebben aangetoond dat bodem micro-organismen cytokinines produceren (Glick, 2012). Sommige stammen van *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp., *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* en *Paenibacillus polymyxa* produceren cytokinines in vitro in het laboratorium. Het is helaas nog steeds niet helemaal duidelijk of de productie in natuurlijke omstandigheden ook goed op gang komt. Cytokinines geproduceerd door plantgroeibevorderende micro-organismen spelen een indirecte rol in geïnduceerde resistentie van de plant tegen bacteriële en schimmel pathogenen (Akhtar, *et al.* 2020). Uit onderzoek is gebleken dat sommige plantpathogenen ook grote hoeveelheden cytokinines kunnen produceren (Glick, 2012; Akhtar, *et al.* 2020). Daardoor zijn planten juist gevoeliger voor de infectie, zoals in het geval van ziektes veroorzaakt door de al eerder genoemd bacteriële plantpathogeen *Agrobacterium tumefaciens* (Spaepen, 2015). Er is steeds meer bewijs voor de rol van microbiële cytokinines in geïnduceerde resistentie in planten tegen ziekten en plagen (Akhtar *et al.* 2020). Hogere concentraties van trans-zeatin (cytokinine) wordt gelinkt met hogere resistentie tegen pathogeen *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis* (Choi *et al.* 2010). Verhoging van cytokinine concentraties in plantweefsel, dankzij activiteit van endofytische bacteriën zoals de pink-pigmented facultative methylotrophic (PPFM) bacteriën, heeft ook een positief effect op resistentie tegen abiotische stress (Kumar *et al.* 2019). Er is nog veel onduidelijkheid over de interactie van cytokininen met andere plant hormonen wat betreft induceren van resistentie in planten tegen ziekten en plagen.

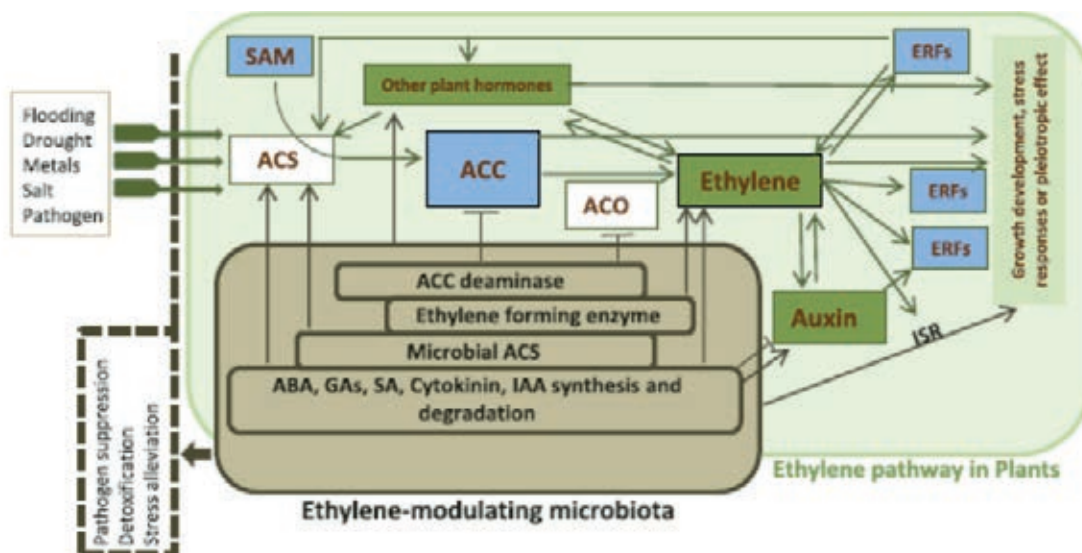
3.4.3 Microbiële productie van gibberellines

Gibberelline is voor het eerst geïsoleerd uit kweek van de schimmel plantpathogeen *Fusarium moniliforme* (ook bekend als *Gibberella fujikuroi*) (Bottini *et al.* 2004, Shi *et al.* 2017). Gibberellines worden niet alleen geproduceerd door planten en schimmels. Bacteriën produceren ze ook, ondanks het feit dat gibberellines geen rol spelen in microbiële metabolisme. De meest onderzochte bacteriële producenten van gibberellines zijn *Azospirillum* en *Rhizobium* soorten. Deze bacteriële soorten zijn belangrijk in verhogen van stikstof beschikbaarheid voor plantengroei via microbiologische stikstof fixatie (van N_2 in de lucht naar NH_2^- in aminozuren en eiwitten). Meerdere onderzoeken hebben aangetoond dat de juiste concentratie van gibberellines nodig is voor de ontwikkeling van knobbels in plantweefsels waar deze bacteriën zich vestigen (Tatsukami *et al.* 2016).

3.4.4 Microbiële productie en afbraak van ethyleen

Ethyleen is een gasvormig hormoon, vaak 'stresshormoon' genoemd, en speelt een belangrijke rol in verschillende fysiologische processen in planten, van kieming (Corbineau *et al.* 2014) tot rijping van vruchten (Liu *et al.* 2015), maar ook in plantreactie op (a)biotische stress (Ravanbakhsh *et al.* 2018). Ophoping van ethyleen, als reactie op stress, kan de plantentolerantie verhogen of juist de symptomen verergeren door bijvoorbeeld snelle afstoot van geïnfecteerde plantenweefsels (Morgan en Drew, 1997). De eerste stap in de synthese van ethyleen in planten is productie van 1-aminocyclopropan-1 karboxylzuur (ACC) door het enzym ACC synthase (ACS) (Ravanbakhsh *et al.* 2018). Met behulp van het enzym ACC oxidase wordt ethyleen geproduceerd vanuit ACC. Micro-organismen kunnen concentraties en effecten van ethyleen in het plant holobiont op verschillende manieren beïnvloeden. De micro-organismen kunnen (1) effect hebben op hoe planten stress waarnemen, 2) de concentratie van ethyleen in plantenweefsel reguleren en 3) reageren op veranderingen in ethyleen concentraties door verschillende metabole processen in hun cellen te aanschakelen (Ravanbakhsh *et al.* 2018).

Fysiologische processen in de plant, die invloed kunnen hebben op hormonale homeostase, zijn uitermate complex en aan elkaar gekoppeld. Een schematische weergave van verschillende processen in het plant holobiont die effect hebben op concentratie en werking van ethyleen is weergegeven in Figuur 3.4.



Figuur 3.4 Regulatie van ethyleen in plant holobiont. ACS- ACC synthase; ACC- 1-aminocyclopropan-1 karboxylzuur; ACO- ACC oxidase. Bron: (Ravanbakhsh *et al.* 2018).

Planten reageren op stress vaak door de productie van ethyleen te verhogen. Micro-organismen kunnen een belangrijke rol spelen in regulatie daarvan, zelfs als ze zich niet in de plantenweefsels bevinden. Micro-organismen kunnen abiotische plantstress voorkomen door bijvoorbeeld bioremediatie van zware metalen in de grond of vergroten van water beschikbaarheid, waarmee ze indirect effect hebben op het ethyleen niveau in planten (Ravanbakhsh *et al.* 2018).

Diverse micro-organismen zijn in staat om ethyleen te produceren, zoals plantpathogene bacteriën (*Ralstonia solanacearum* en *Xanthomonas campestris*), maar ook plantgroeibevorderende bacteriën (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mycoides*, *Streptomyces* sp.), gisten (*Cryptococcus* sp. en *Saccharomyces* sp.) en verschillende schimmels (Fukuda *et al.* 1993). Verder kan de concentratie van ethyleen indirect verhoogd worden door het verhogen van auxine en cytokinine concentraties, wat invloed heeft op de activiteit van het ACS enzym dat nodig is voor de biosynthese van ethyleen (Lorteau *et al.* 2001). Verlaging van ethyleen niveaus in planten kan een gevolg zijn van activiteit van ethyleen afbrekende micro-organismen die het enzym ACC deaminase produceren (Glick, 2014).

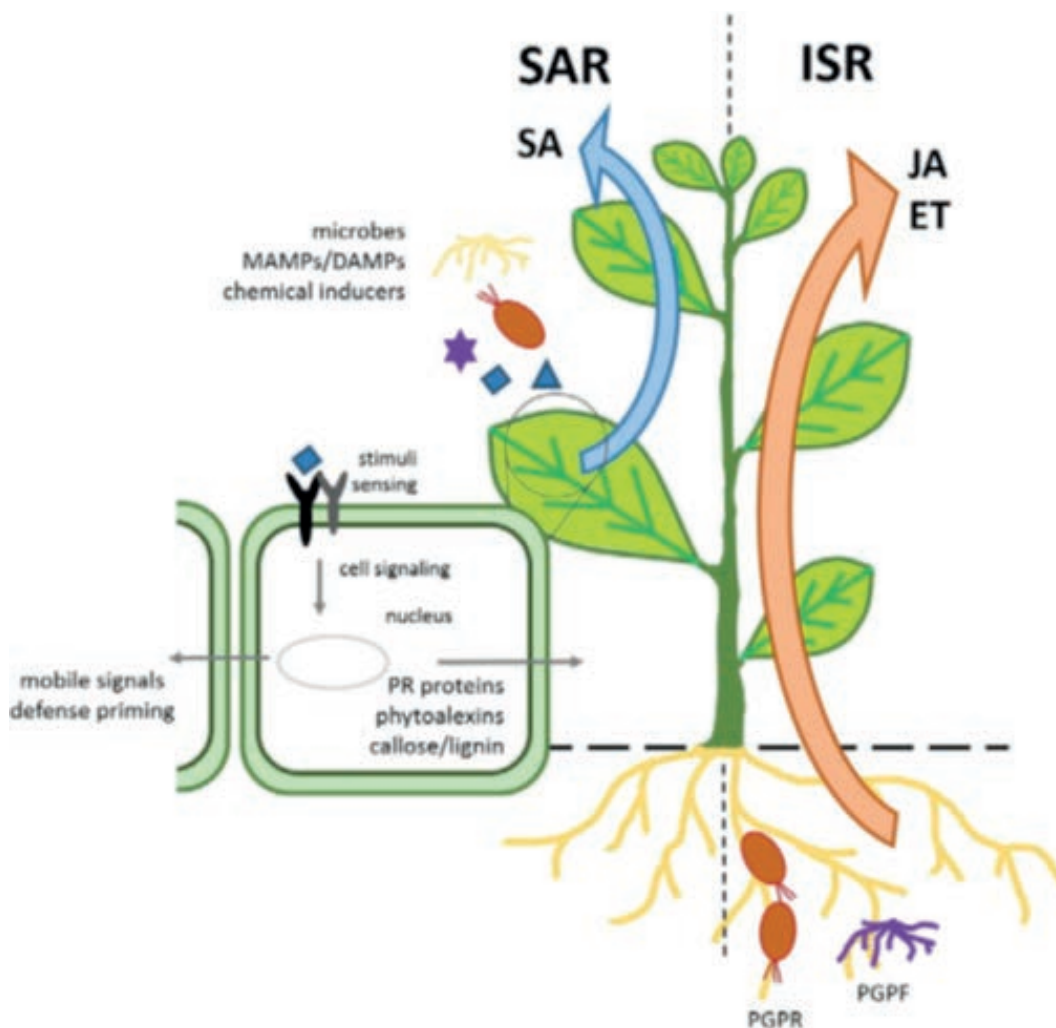
Ethyleen wordt door planten onder biotische stress in overvloed geproduceerd, zoals tijdens infectie door plantpathogene bacteriën, schimmels of aaltjes (Ravanbakhsh *et al.* 2018). Inoculatie van planten met ACC deaminase producerende micro-organismen lijkt planten (gedeeltelijk) te beschermen tegen effecten van infectie met verschillende plantpathogenen (Hao *et al.* 2011). Co-inoculatie van ACC deaminase producerende micro-organismen lijkt ook een positief effect te hebben op formatie van wortelknobbels door stikstof fixerende bacteriën en op kolonisatie van de wortel door mycorrhiza schimmels (Gamalero *et al.* 2008).

3.5 Micro-organismen en geïnduceerde resistentie tegen plantpathogenen

Het idee om plantenziekten tegen te gaan met inzet van nuttige micro-organismen, hun metabolieten of algen/planten extracten is natuurlijk niet nieuw (van Lenteren *et al.* 2018). Micro-organismen beschermen de planten tegen pathogenen en plagen op verschillende manieren:

1. Direct (antagonisme: productie van antibiotica of vluchtige stoffen die pathogeen afdoden of inactiveren; parasitisme: lytische enzymen, zoals chitinase, die mycelium van schimmels en eieren van aaltjes of insecten afbreken).
2. Indirect (door concurrentie om plek en nutriënten en door aanschakelen van geïnduceerde resistentie van planten) (Köhl *et al.* 2019).

Veel van de plantgroe bevorderende micro-organismen, maar ook micro-organismen die direct antagonistisch zijn tegen pathogenen, spelen een rol in aanschakelen van geïnduceerde resistentie van de planten (Pieterse *et al.* 2014). Geïnduceerde resistentie is gebaseerd op plant eigen mechanismen om zich te beschermen tegen pathogenen en plagen. Drie planthormonen: salicylzuur, jasmonzuur en ethyleen spelen daar een belangrijke rol in. Micro-organismen kunnen die afweermechanismen aanschakelen in de plant, maar hebben zelf dan geen direct effect op de pathogeen of plaag. Op basis van de in de literatuur beschikbare kennis kunnen verschillende vormen van geïnduceerde resistentie onderscheiden worden (Burketova *et al.* 2015) (Figuur 3.5): systemisch verworven resistentie (eng. SAR) en geïnduceerde systemisch resistentie (eng. Induced systemic resistance-ISR)



Figuur 3.5 Geïnduceerde resistentie tegen biotische stress in planten. Bron: (Burketova et al. 2015).

Systemisch verworven resistentie (eng. Systemic Acquired Resistance- SAR):

Wordt aangeschakeld door lokale infectie door een pathogeen (bijvoorbeeld meeldauw schimmel), synthetische elicitors van systemisch verworven resistentie (zoals acidobenzolar-S-methyl en anderen analogen van salicylzuur) en soms ook door micro-organismen (zoals *Pseudomonas*) (Pieterse et al. 2014) en hun signaalstoffen, die normaal gebruikt worden voor communicatie tussen afzonderlijke cellen, zogenaamd acyl homoserine lactonen- AHL's (Schenk et al. 2014). De plant maakt gebruik van zogenaamd pathogenese verwante (PR) eiwitten, zoals chitinases en glucanases, om de pathogeen aan te pakken. Vervolgens gaat de plant ook salicylzuur (SA) aanmaken, die systemisch wordt verspreid, om ook in de andere delen van de plant productie van PR eiwitten aan te schakelen. Systemisch verworven resistentie (SAR) is het meest effectief tegen biotrofe bacteriële en schimmel plantpathogenen en plantpathogene aaltjes (Burketova et al. 2015).

Geïnduceerde systemisch resistentie (eng. Induced systemic resistance-ISR):

Activatie van resistentie via ISR verloopt onafhankelijk van salicylzuur (SA). De planthormonen jasmonzuur (JA) en ethyleen (ET) spelen een belangrijke rol in deze vorm van geïnduceerde resistentie. Dankzij aanschakelen van geïnduceerde systemisch resistentie wordt de plant beter voorbereid op een aanval van het pathogeen (zogenaamd priming), maar is niet continu bezig met productie van PR eiwitten, wat energie bespaart (Pieterse et al. 2014; Martinez-Medina et al. 2016). Micro-organismen in de rhizosfeer produceren o.a. sideroforen (ijzerbindende moleculen), lipopolysacchariden (LPS, onderdelen van bacteriële celwanden), en andere stoffen die rol hebben in aanschakelen van ISR. ISR is beschreven voor veel stammen van plantgroeibevorderende bacteriën (PGPR), zoals *Bacillus* en *Serratia*, en plantengroeibevorderende schimmels (PGPF) zoals *Trichoderma*, niet pathogene *Fusarium* en mycorrhiza (Kloepper et al. 2004; Hermosa et al. 2012; Pieterse et al. 2014; Bakker et al. 2013; Cameron et al. 2013, Bakker et al. 2018). Sommige micro-organismen kunnen bijvoorbeeld eerst SA-route priming aanzetten om vervolgens de JA-route te stimuleren om plant te beschermen, bijvoorbeeld *Trichoderma* in tomaat tegen wortelknobbelaaltje (Martinez-Medina et al. 2017).

Enkele stammen van bijvoorbeeld *Trichoderma* of *Bacillus* kunnen tegelijkertijd plant systemisch resistentie induceren tegen verschillende pathogenen en plagen, zoals aaltjes (Pocurull *et al.* 2020). In sommige gevallen is induceren van resistentie allen mogelijk door een groep van samenwerkende micro-organismen, die apart geen effect hebben op resistentie tegen pathogeen (Berendsen *et al.* 2018).

Mycorrhiza schimmels worden vaak gezien als een waardevolle toevoeging in teelt op gronden waar tekorten aan voedingstoffen kunnen ontstaan. Echter, in de afgelopen jaren zijn er ook steeds meer aanwijzingen, dat mycorrhiza schimmels ook een belangrijke rol spelen in geïnduceerde resistentie tegen plantenziekten en plagen (Cameron *et al.* 2013, Song *et al.* 2013, Nair *et al.* 2015, Sanmartin *et al.* 2020).

Planten kunnen de samenstelling van hun wortellexudaten significant veranderen tijdens infectie van het pathogeen. Dit fenomeen wordt vaak "cry for help" genoemd (Rolfe *et al.* 2019). Aanpassing van de samenstelling van wortellexudaten moet uiteindelijk leiden tot kolonisatie van de wortels door micro-organismen die plantgezondheid bevorderen (via directe en indirecte effecten op pathogeen) (Bakker *et al.* 2018). Toepassing van organische toevoegingen, zoals composten, in de bodem en groeisubstraten kan leiden tot vergroten van de "pool" van nuttige micro-organismen, die uiteindelijk wortels van de planten gaan koloniseren (Antonίου *et al.* 2017).

3.6 Micro-organismen en bescherming van planten via directe effecten op ziekten en plagen

Plantenziekten veroorzaakt door bovengrondse en bodemgebonden pathogenen kunnen soms tot grote verliezen leiden in productie van verschillende gewassen onder glas, zowel in groente- als in de sierteelt. De groep van plantenpathogenen omvat zowel schimmels (zoals o.a. *Fusarium*, *Rhizoctonia*, meeldauw, *Botrytis*, *Alternaria*), oomyceten (o.a. *Pythium*, *Phytophthora*), bacteriën (o.a. *Agrobacterium*, *Acidovorax*, *Xanthomonas*, *Clavibacter*) als aaltjes (o.a. *Meloidogyne*, *Pratylenchus*) (O'Brien, 2017). Bovendien kunnen planten aangetast worden door verschillende plaag insecten zoals trips, bladluizen, witte vlieg (van Lenteren *et al.* 2018).

In de afgelopen jaren is de beschikbaarheid, en in veel gevallen ook de effectiviteit, van chemische middelen tegen ziekten en plagen sterk verminderd (Shaltiel-Harpaz *et al.* 2016). Daarom is er een urgente vraag naar alternatieve manieren/producten voor het bestrijden van plantpathogenen en plagen.

Het idee om plantenziekten en plagen tegen te gaan met inzet van nuttige micro-organismen of hun metabolieten is niet nieuw (van Lenteren *et al.* 2018). Wetenschappelijk onderzoek heeft aangetoond dat gebruik van de juiste micro-organismen (biopesticide) ziekten op verschillende manieren kan onderdrukken: a) directe antagonisme (productie van antibiotica en andere metabolieten); b) concurrentie om plek en voedsel en c) verhogen van plantweerbaarheid. Micro-organismen, zoals entomopathogene schimmels en bacteriën, worden ook vaak ingezet om insectenplagen tegen te gaan (van Lenteren *et al.* 2018).

Er zijn veel voorbeelden bekend van succesvol gebruik van antagonistische bacteriële en schimmel stammen (o.a. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Trichoderma*) tegen verschillende bovengrondse en substraat/grondgebonden plantpathogene zoals oomyceten, schimmels en aaltjes in in vitro studies en kleine kasexperimenten (o.a.: Adam *et al.* 2014; Bubici, 2018; Chowdhury *et al.* 2013; Fira *et al.* 2018; Postma *et al.* 2019). Sommige van deze antagonistische micro-organismen zijn ook op dit moment commercieel beschikbaar. Voor een uitgebreide lijst van in Europa verkrijgbaar gewasbeschermingsmiddelen op basis van micro-organismen verwijs ik u naar recent verschenen review artikel (van Lenteren *et al.* 2018; Köhl *et al.* 2019) of de website van het College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb; www.ctgb.nl). Vaak hebben deze biopesticiden brede werking tegen verschillende ondergrondse pathogenen, bijvoorbeeld tegen verschillende schimmels (zoals als o.a. producten als Serenade, Lalstop k61) of tegen schimmels en wortelknobbelaaltjes (Adam *et al.* 2014; Streminska *et al.* 2019; Streminska *et al.* 2020). Deze producten zijn voorbeelden van de inundatieve/inoculatieve benadering in biologische bestrijding, die streeft naar populatieopbouw van antagonist in het systeem door inoculatie met grote aantallen van antagonistische micro-organismen (Mazzola en Freilich, 2017). Uit verschillende onderzoeken in open teelten blijkt dat dit soort producten niet altijd in staat zijn om bescherming tegen plantpathogenen te bieden gedurende de gehele teeltperiode (Mazzola en Freilich, 2017). Op dit moment is er echter weinig en vaak fragmentarisch informatie beschikbaar over hoe succesvol deze producten zijn in (semi)praktijk teelt onder glas.

Entomopathogene schimmels kunnen zowel larven als volwassene insecten infecteren. Meeste entomopathogene schimmels behoren tot Zygomycota (klasse Entomophthorales) en Ascomycota (klasse Hyphomycetes) fyta (Sinha *et al.* 2016). In totaal zijn er rond de 750 soorten van entomopathogene schimmels bekend, maar tot nu toe wordt alleen een beperkt aantal soorten gebruikt in producten die commercieel beschikbaar zijn (Faria & Wraight, 2007). Entomopathogene schimmels die het meest gebruikt worden als biopesticide zijn *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Isaria* en *Purpureocillium* (oude naam: *Paecilomyces*) (Faria & Wraight, 2007). Andere micro-organisme, die vaak ingezet wordt tegen insectenplagen, is *Bacillus thuringensis*, bacterie die Bt toxin produceert die insecten doodt (van Lenteren *et al.* 2018).

Ziekten en plagen kunnen onderdrukt worden door micro-organismen die van nature aanwezig zijn in het teeltsysteem. Dan spreken wij over natuurlijke weerbaarheid van het systeem tegen een ziekte of plaag. Bijvoorbeeld bodems die weerbaar zijn tegen bepaalde ziekten. In een weerbare systeem kan een ziekte aanwezig zijn maar veroorzaakt deze geen ziektesymptomen in het gewas (Mazzola en Freilich, 2017). Micro-organismen die aanwezig zijn in weerbare teeltsystemen zorgen voor directe onderdrukking van de ziekte of plaag. Eventueel kunnen inheemse micro-organismen gestimuleerd worden door aanpassingen in het systeem, bijvoorbeeld door het toevoegen van organische stof, zoals compost of chitine (zie ook Hoofdstuk 4) (Antoniou *et al.* 2017; Bonanomi *et al.* 2018).

3.7 Gebruik van micro-organismen tijdens de teelt onder glas in het praktijk

Afgelopen jaren zijn er veel wetenschappelijke artikelen verschenen over voordelen van toepassing van specifieke micro-organismen om o.a. de groei, productie en kwaliteit van de planten te verbeteren en planten beter te beschermen tegen ziekten en plagen. Onze kennis over werkingsmechanismen van microbiële producten wordt steeds beter. Veel informatie is beschikbaar over effectiviteit van micro-organismen in kleine lab- en kasexperimenten. Er ontbreekt echter informatie over implementatie van 'microbially-assisted' (glas)tuinbouw en effectiviteit van verschillende microbiële producten onder praktijk omstandigheden. Beschikbare informatie is vaak fragmentarisch en experimenten worden uitgevoerd zonder controles, bijvoorbeeld de hele kas wordt behandeld, wat het trekken van conclusies heel moeilijk maakt.

Er zijn verschillende microbiële producten op de Nederlandse markt beschikbaar, die verkocht worden als biostimulant. In de Europese meststoffenverordening (2019/1009) is een biostimulant als volgt gedefinieerd: 'een product dat de voedingsprocessen van een plant stimuleert onafhankelijk van het gehalte aan nutriënten van het product, met als enige doel één of meer van de volgende eigenschappen van de plant of de rhizosfeer van de plant te verbeteren: (1) de efficiëntie van het gebruik van nutriënten, (2) de tolerantie voor abiotische stress, (3) kwaliteitskenmerken, (4) de beschikbaarheid van in de bodem of in de rhizosfeer vastgehouden nutriënten.' (bron: Nefyto-Bulletin-2020-2). Alle biostimulanten zullen in de komende jaren een CE markering krijgen. Op dit moment staan alleen 4 microbiële groepen in de lijst van de biostimulanten in de Europese meststoffenverordening (2019/1009): *Azotobacter* spp., mycorrhiza schimmels, *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp. Drie van deze microbiële groepen zijn stikstof fixerende bacteriën. Er is veel discussie over deze lijst, omdat er genoeg wetenschappelijk bewijs is voor biostimulerende werking van andere microbiële soorten, o.a. *Bacillus* sp., *Streptomyces* of *Trichoderma*.

Veel microbiële biostimulanten op Nederlandse markt bevatten verschillende mengsels van o.a. *Bacillus*, *Trichoderma* en mycorrhiza soorten. Het komt vaak voor dat er geen gedetailleerde informatie beschikbaar is over de samenstelling van het product. Planten groeibevorderende eigenschappen van micro-organismen zijn vaak stam specifiek. Dat wil zeggen, dat er geen 100% garantie is dat alle stammen van bijvoorbeeld *Trichoderma harzianum* of *Bacillus subtilis*, die gebruikt worden in deze producten, echt plantgroeibevorderend zijn. Daarom is er meer duidelijkheid nodig over samenstelling van de producten en meer informatie, uit goed opgezette praktijkexperimenten, over effecten van toepassing in verschillende teelten. Een aantal microbiële biostimulanten op de Nederlandse markt bevatten micro-organismen die heel goed beschreven zijn in wetenschappelijke literatuur in verband met plantgroeibevorderende effecten, zoals o.a. *Trichoderma harzianum* T22, verschillende *Trichoderma asperellum* stammen, *Trichoderma viride*, *Bacillus velezensis* FZB42, *Bacillus amyloliquefaciens* IT45.

Microbiële producten, die hoofdzakelijk toegepast worden om een ziekte of plaag in het gewas tegen te gaan dienen als gewasbeschermingsmiddel beschouwd te worden. Daarvoor moet dan ook toelating aangevraagd worden bij het College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb).

4 Niet-microbiële biostimulanten en hun effect op de hormoonbalans en ecologische balans

4.1 Inleiding

De toepassing van biostimulanten, eventueel in combinatie met biologische bestrijding, kan op korte termijn bijdragen aan het telen van weerbare gewassen op een duurzame manier. Echter, wat de toepassing van deze producten complex maakt is dat voor optimale resultaten rekening gehouden moet worden met veel verschillende factoren die van invloed zijn op de werking ervan. Enkele voorbeelden van deze factoren zijn het klimaat, het gebruikte substraat, het type gewas of de cultivar, de bemestingsstrategie, het bodemleven en het type biostimulant.

Er wordt onderscheid gemaakt tussen microbiële en niet-microbiële biostimulanten (zie tabel 4.1). Microbiële biostimulanten zijn micro-organismen die een gunstig effect hebben op het gewas, zoals bepaalde schimmels of bacteriën. Niet-microbiële biostimulanten bevatten geen levende (micro-)organismen maar kennen wel een natuurlijk oorsprong. Voorbeelden van dit soort biostimulanten zijn zeewierextracten en chitosan. In Hoofdstuk 3 zijn de microbiële biostimulanten en hun werking behandeld. In dit hoofdstuk zal dieper worden ingegaan op de werking van niet-microbiële biostimulanten.

Tabel 4.1

Categorieën biostimulanten en enkele voorbeelden (gebaseerd op Boonekamp, 2020).

Microbieel	Niet-microbieel
<i>Mycorrhiza</i> schimmels	Plantendelen of extracten
<i>Azospirillum spp</i>	Compost (humuszuren)
<i>Rhizobium spp</i>	Digestaat uit energiegewassen (eiwitten)
<i>Azotobacter spp</i>	Andere digestaten (algen, zeewierextracten)
	Bijproducten voedselindustrie (aminozuren)
	Nutrient polymeren (suikers, glycoproteïnen)
	Andere dan nutrient polymeren (glycanen)
	Dierlijke bijproducten (chitine)
	Bijproducten uit verordening 2008/98/EC (anorganische cationverbindingen: Al, Se, Si, Co)
	Mengsels van bovengenoemde producten

Onderzoek naar niet-microbiële biostimulanten richt zich voornamelijk op het effect dat deze hebben op fysiologische aspecten zoals de ontwikkeling van wortels of scheuten of het aantal bloemen. Veel minder onderzoek is gedaan naar de waarschijnlijke effecten van deze biostimulanten op de micro-organismen die leven in en rond de plant (het microbioom) en de interactie tussen het microbioom en de plant. Dit terwijl het microbioom een grote impact heeft op het gewas (zie Hoofdstuk 3). Zo speelt het microbioom een belangrijke rol in de afweer tegen ziektes en plagen en bij de opname van voedingsstoffen. Biostimulanten zouden een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan de vorming en optimalisatie van de interacties tussen planten en micro-organismen (Boonekamp, 2020). Veel van de gunstige effecten van biostimulanten kunnen worden toegeschreven aan het effect wat deze hebben op de hormoonbalans in de plant, direct of indirect. De werkzame bestanddelen van biostimulanten zijn dan ook vaak planthormonen of planthormoon-achtige stoffen, of stoffen die op een andere manier hormoon- gestuurde fysiologische processen beïnvloeden, bijvoorbeeld door de productie van een hormoon te stimuleren (du Jardin, 2015). In dit hoofdstuk zal dieper worden ingegaan op de werking van een aantal belangrijke niet-microbiële biostimulanten: zeewierextracten, chitosan, humuszuren en eiwit hydrolysaat.

4.2 Zeewierextracten

Zeewierextracten zijn de meest geproduceerde biostimulanten en de verwachting is dat tegen 2022 deze groep 33.8% van de totale markt voor biostimulanten vertegenwoordigd (markets and markets, 2016). De samenstelling van biostimulanten gebaseerd op zeewierextracten hangt af van de soort die wordt gebruikt en de extractiemethode (Battacharyya *et al.* 2015). De meest gebruikte soort is de bruine alg *Ascophyllum nodosum* (zie Tabel 4.2, afkomstig uit Battacharyya *et al.*,2015). Veel voorkomende stoffen in zeewierextracten zijn: polysachariden, mineralen en sporenelementen, betaïnes, alginaten/fucoidan, sterolen, vitamines, vetten en oliën, zuren, antioxidanten en pigmenten (EL Boukhari *et al.*,2015). Daarnaast komen in zeewierextracten ook een aantal plantenhormonen en afgeleide stoffen voor, waaronder auxinen, cytokinines, gibberellines, abscisinezuur en brassinosteroiden (Stirk *et al.* 2014). Niet alle hormonen die worden gevonden in zeewierextracten zijn biologisch actief. Het gaat dan bijvoorbeeld om een geïnactiveerde voorloper versie (precursor) van een bepaald hormoon. De hypothese is dat deze stoffen na opname door de plant worden omgezet in een biologisch actieve vorm. Door de complexe biochemische samenstelling van zeewierextracten is het ingewikkeld om de precieze werkingsmechanismen van deze producten te achterhalen (Stirk *et al.* 2020).

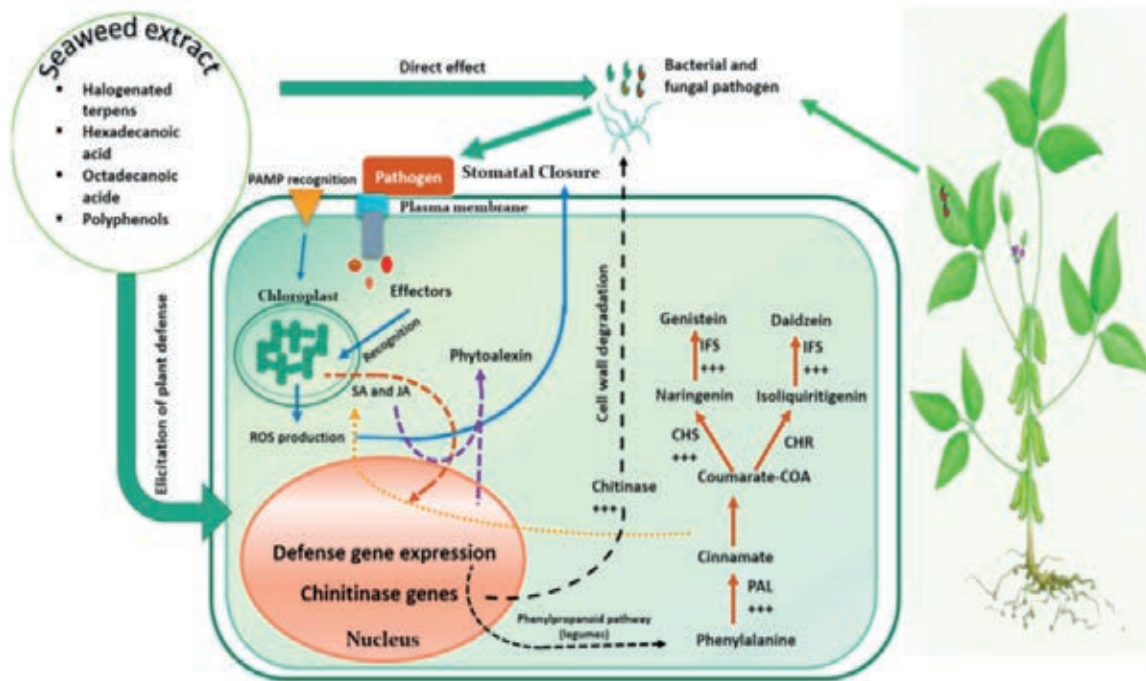
Zeewierextracten hebben een positief effect op groei van zowel wortels als bovengrondse delen van gewassen, een effect wat onder meer kan worden toegeschreven aan de aanwezigheid van auxine en cytokinen in de extracten (Tarakhovskaya *et al.* 2007). Daarnaast verhogen ze de plantweerbaarheid tegen pathogene bacteriën en schimmels (Figuur 4.1). Dit kan direct, doordat stoffen in het extract schadelijk zijn voor de schimmels of bacteriën, of het kan indirect, doordat stoffen afweergenen in de plant activeren en zo plantverdedigingsmechanismen inschakelen (Figuur 1 (Boukhari *et al.* 2020)). Ook zorgt abscisinezuur in zeewierextracten voor een verbeterde weerbaarheid tegen abiotische stressfactoren zoals droogte, hoog zoutgehalte of hitte (Tarakhovskaya *et al.* 2007).

Er zijn slechts enkele studies bekend waarbij is gekeken naar het effect van zeewierextracten op het plant microbioom. Een aantal van deze studies vonden een positief effect: het toevoegen van zeewierextract zorgde voor positieve veranderingen van het microbioom, waarbij er meer voor de plant gunstige micro-organismen werden aangetroffen. In andere studies had het zeewierextract geen effect op de samenstelling van het microbioom, maar werd er wel een positief effect waargenomen op de activiteit van belangrijke enzymen. Voor zover bekend bij ons zijn er geen studies die laten zien dat zeewierextracten een negatief effect hebben op het plant-microbioom. Echter, wel moet worden opgemerkt dat de interpretatie van de studies die zijn geraadpleegd lastig kan zijn, gezien de variabiliteit binnen de verschillende geteste producten en de klimaat- en teeltcondities, welke ook van invloed kunnen zijn op het plant microbioom (Renaut *et al.* 2019; Wang *et al.*,2018; Alam *et al.* 2014).

Tabel 4.2

Het effect van zeewierextracten op groentegewassen (Bron: Battacharyya et al., 2015).

Crop	Seaweed extract	Effects
Bean	<i>A. nodosum</i>	Increased in germination
Broccoli	<i>A. nodosum</i> <i>A. nodosum</i> and <i>Durvillaea potatorum</i>	Increased in antioxidant activity, flavonoids, phenolic and, isothiocyanate Increased in stem diameter, leaf area, biomass, enhanced early growth and reduced white blister (<i>Albugo candida</i>)
Cabbage	<i>A. nodosum</i> commercial extracts	Increased in concentration of flavonoids and, phenolics
Carrot	<i>A. nodosum</i>	Increased peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chitinase, PR1 and PR5; reduced growth of <i>Alternaria radicina</i> and, <i>Botrytis cinerea</i>
Cauliflower	<i>A. nodosum</i>	Increased in yield and, curd diameter
Cucumber	Green alga (<i>E. intestinalis</i>), red alga (<i>G. pectinatum</i>), <i>Ecklonia maxima</i> <i>A. nodosum</i>	Increased in yield, Fe, Zn and Mn content Increased in yield, fruit per plant and, fruit weight
Eggplant	<i>A. nodosum</i> <i>A. nodosum</i> <i>Hypnea musciformis</i> and <i>Gracilaria textorii</i>	Increased in vegetative growth and yield Increased in seed germination and, yield
Lettuce	A commercial extract of <i>E. maxima</i>	Increased in yield, K, Mg and Ca uptake
Gram Mung bean	<i>Sargassum wightii</i>	Increased in total protein, total carbohydrate and, total lipid; increased in shoot and root length
Okra	<i>Rosenvigea intricate</i> <i>Kappaphycus alvarezii</i>	Increased in yield, chlorophyll and, carotenoids Increased in fruit yield, fruit length, fruit diameter and, nutritional quality
Onion	<i>A. nodosum</i>	Increased in yield and, reduced severity of downy mildew
Pepper	<i>A. nodosum</i> <i>A. nodosum</i> commercial extract	Increased in yield, fruit diameter, length and, chlorophyll content Increased in yield, ascorbic acid and, chlorophyll content
Potato	<i>E. maxima</i>	Improved seedling establishment after transplanting
Spinach	<i>A. nodosum</i>	Increased in antioxidant activity, flavonoids, phenolic content and, Fe ²⁺ chelating ability
Tomato	<i>E. maxima</i> A commercial extract of brown seaweeds <i>Ulva lactuca</i> and <i>P. gymnospora</i> <i>Hypnea musciformis</i> and <i>Gracilaria textorii</i>	Increased Mn uptake Increased in Zn, Fe and, chlorophyll content Enhanced germination, height and, fruit weight Increased in germination and yield



Figuur 4.1 Schematische weergave van mogelijke mechanismen via welke zeewierextracten de afweer tegen pathogene schimmels en bacteriën kunnen verhogen in een gewas. JA: Jasmonic acid, SA: Salycilic acid, PAL: Phenylalanine ammonia-lyase, CHS: Chalcone synthase, CHR: Chalcone reductase, IFS: Isoflavone synthase, IFR: Isoflavone reductase. Bron: (Boukhari et al. 2020).

4.3 Chitosan

Omdat biostimulanten een positief effect hebben op verschillende fysiologische aspecten en weerbaarheid tegen abiotische stressfactoren kunnen leiden tot een gewas dat ook beter in staat is zichzelf te beschermen tegen een aanval door pathogenen. Echter, van sommige biostimulanten is bekend dat deze een direct antimicrobiële werking hebben. Chitosan is hier een voorbeeld van. Chitosan is een biopolymeer die wordt gemaakt door deacetylering van chitine, een stof die op industriële schaal wordt geproduceerd uit exoskeletten van insecten en schaaldieren (Pichyangkura et al. 2015). De afgelopen jaren zijn er verschillende studies gedaan naar Chitosan. In planten heeft chitosan effect op fysiologische processen doordat de oligomeren kunnen binden aan verschillende cellulaire componenten zoals DNA, plasmamembranen en celwanden, maar ook aan specifieke receptoren die betrokken zijn bij de afweerreacties tegen pathogenen, op een manier die vergelijkbaar is met de binding van elicitors (stoffen die een afweerreactie uitlokken) aan dergelijke receptoren (Jardin 2015).

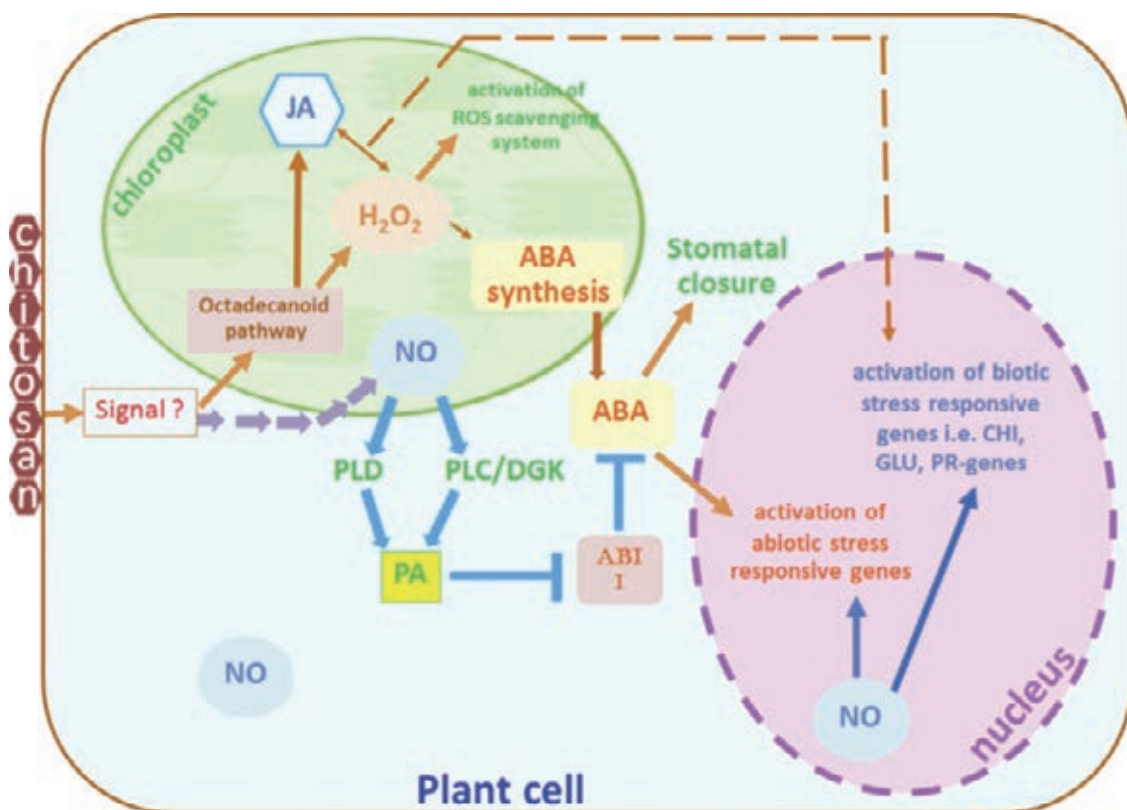
Afhankelijk van de dosis zijn er verschillende gunstige effecten van chitosan op planten waargenomen zoals het bevorderen van zaadkiemen, beworteling, planthoogte, bladoppervlak, aantal bloemen, en gewasopbrengst (Li et al. 2019; Hassan, 2019; Limpanavech et al. 2008). Deze effecten van chitosan zijn mogelijk het gevolg van veranderingen in genexpressie: verhoogde activiteit van genen die verantwoordelijk zijn voor deze effecten is aangetoond door Pichyangkura and Chadchawan, (2015). Een andere verklaring voor de gunstige effecten van chitosan is dat het een betere opname van nutriënten door de wortels faciliteert doordat de antimicrobiële activiteit van deze stof indirect de groei van gunstige micro-organismen in het wortelmilieu stimuleert, ten koste van pathogene micro-organismen.

Er zijn ook studies gedaan naar het effect van chitosan op de weerbaarheid van planten tegen abiotische stressfactoren zoals hitte en droogte. Een hypothese is dat chitosan uitdroging door overmatige transpiratie tegengaat via het stimuleren van ABA productie en activiteit, wat onder andere leidt tot het sluiten van de huidmondjes (Sharp, 2013).

Het model in Figuur 4.2 laat zien hoe chitosan op cellulair niveau werkt. De effecten van chitosan op onder andere de groei en weerbaarheid van planten verloopt via de biochemische interactie tussen deze stof en plantcellen. Deze resulteert in een (nog onbekend) signaal dat wordt doorgegeven aan de chloroplast, waarna waterstofperoxide (H_2O_2), JA en stikstofoxide (NO) wordt gegenereerd. De productie van H_2O_2 en JA verloopt via de octadecanoid route (Lin *et al.* 2005). De H_2O_2 dient onder andere als signaalstof voor abiotische stress, daardoor zorgt het toedienen van chitosan in sommige plantensoorten voor een betere weerbaarheid tegen abiotische stress (chitosan priming; Zeng and Luo, 2012).

De productie van NO is een voorwaarde voor de productie van fosfatidinezuur, wat de activiteit van ABI1, een negatieve regulator van ABA signalering, onderdrukt (Zhang *et al.* 2004; Raho *et al.* 2011). De productie van H_2O_2 en NO in reactie op chitosan zorgen hebben dus beide een positief effect op de aanmaak en activiteit van ABA en daarmee op weerbaarheid tegen abiotische stressfactoren.

De anti-microbiële eigenschappen van chitosan zorgt ervoor dat deze biostimulant de groei van verschillende pathogenen kan onderdrukken. Bijvoorbeeld van (semi) necrotrofe pathogenen zoals *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium aphanidermatum*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora capsici* en *Alternaria alternata*, van pathogene bacteriën als *Xanthomonas* sp, van virussen zoals het tabaksmozaïekvirus (TMV) en van verschillende andere schimmels (zie Tabel 4.3; Pichyangkura and Chadchawan, 2015).



Figuur 4.2 Model voor de werking van chitosan op cellulair niveau. Binding van chitosan aan het celmembraan zorgt ervoor dat een (nog onbekend) signaal wordt doorgegeven in de cel dat leidt tot de productie van waterstofperoxide (H_2O_2) en jasmonzuur (JA) via de octadecanoid route en van stikstofoxide (NO) in de chloroplast. H_2O_2 stimuleert het opruimsysteem voor reactieve zuurstofcomponenten (ROS), die schadelijk kunnen zijn voor planten in hoger concentraties, en de aanmaak van ABA. JA reguleert de activiteit van verschillende afweergenen zoals chitinase (CHI) en glucanase (GLU). Bron: (Pichyangkura and Chadchawan, 2015).

Tabel 4.3

Effecten van chitosan toediening op groentegewassen. (Bron: Pichyangkura and Chadchawan, 2015).

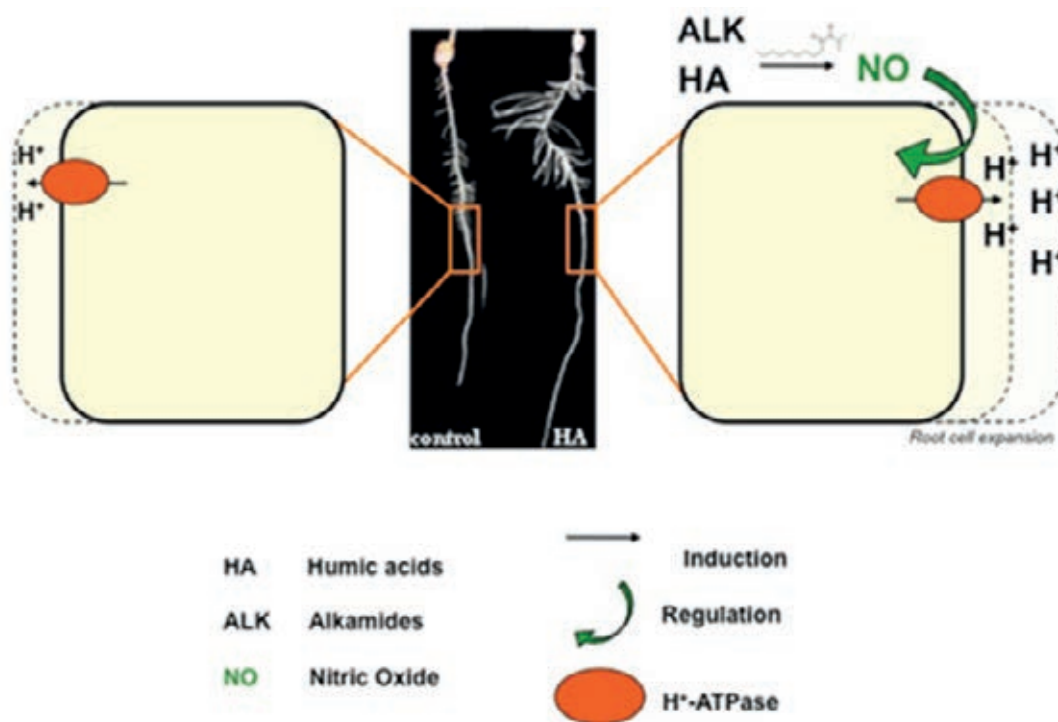
Crop	Chitosan type and concentration	Method of application	Effects	References
Artichoke	Chitosan A (MW = 400 kDa) and Chitosan B (MW = 140 kDa) from Primex (Reykjavik, Iceland) at 3% or 4% (w/v) in 1% or 5% (v/v) acetic acid at 1% (v/v)	Seed coating after harvest	<ul style="list-style-type: none"> 4% (w/v) Chitosan B was better for coating Enhanced seed germination and quality Increased plant growth 	Ziani et al. (2010)
Bell pepper	Chitosan at 0.5% or 1.0% (w/v) Crab-shell chitosan (10 mg/mL) in 0.04 N HCl	Fruit coating in post-harvest Application on stem scar of fruit after harvest	<ul style="list-style-type: none"> Addition of lemon grass oil enhanced the antimicrobial activity Chitosan alone was more effective at extending the fruit shelf life Protection against <i>Botrytis cinerea</i> 	Ali et al., 2015; El Ghaouth et al. (1997)
Broccoli	Medium MW chitosan (98% DD) at 2% (w/v) in 1% (v/v) acetic acid and a glycerol/chitosan weight ratio of 0.28	Floret coating in post-harvest	<ul style="list-style-type: none"> Inhibited bacterial growth Inhibited the yellowing and opening florets 	Moreira et al. (2011)
Carrot	Chitosan at 2% or 4% (w/v)	Root coating in post-harvest	<ul style="list-style-type: none"> Inhibited <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> infection Reduced sclerotinia rot incidence from 88% (untreated) to 28% 	Chuah et al. (1997)
Celery	Chitosan at 3 mg/mL	Root dipping before transplanting	<ul style="list-style-type: none"> Reduced severity of <i>Fusarium</i> yellows 	Bell et al. (1998)
Chili	High MW (600–900 kDa) chitosan at 1.0% (w/v)	Soil supplement before transplanting	<ul style="list-style-type: none"> Increased height, canopy diameter, leaf number, leaf width and length 	Chookhongkha et al. (2012)
Cucumber	Chitosan (85% DD; MW = 1000,000 kDa) at 0.1% (w/v)	Foliar spray prior to inoculation	<ul style="list-style-type: none"> Controlled grey mold (<i>B. cinerea</i>) Increased POX activity 	Ben-Shalom et al. (2003)

4.4 Humuszuren

Humuszuren vormen belangrijke natuurlijke componenten in organisch materiaal dat wordt gevormd door afbraak van dood cellulair materiaal door micro-organismen in de bodem (Abdel-Baky et al. 2019). De verwachting is dat de vraag naar deze biostimulanten komende jaren sterk zal toenemen (markets and markets, 2016). Het effect van humuszuren op planten is onder andere afhankelijk van de bron van de humuszuren, omgevingsfactoren (bijv. klimaatcondities waarin een gewas geteeld wordt), de plantsoort, de gebruikte dosering en de manier van toedienen (Rose et al. 2014). In Tabel 4 wordt een overzicht gegeven van de effecten van deze biostimulanten op een aantal gewassen.

Ondanks het hoge gehalte aan nutriënten wordt het stimulerende effect wat humuszuren hebben op plantengroei vooral veroorzaakt door de aanwezigheid van auxine of stoffen die in activiteit lijken op dit hormoon in humuszuren. Zeer lage concentraties van andere hormonen zoals cytokinines, gibberellines en ethyleen worden soms waargenomen (Nardi et al., 2018).

Humuszuren beïnvloeden de opname van nutriënten in de bodem via de aanmaak en het functioneren van membraaneiwhitten, voornamelijk van protonpompen die de elektrochemische proton gradiënt van het plasmamembraan kunnen doen toenemen. Het hormoon auxine speelt een belangrijke rol in de formatie van wortelhaartjes en zijwortels. Tijdens deze processen zorgen lage concentraties (10^{-9} - 10^{-8} M) auxine voor de aanmaak van het plasmamembraan eiwit (protonpomp) H⁺ATPase. De H⁺ATPase hydrolyseert ATP in het cytoplasma, wat leidt tot productie van H⁺, wat vervolgens wordt uitgescheiden in de celwand. Dit zorgt voor een lagere pH buiten de cel en veroorzaakt zo een elektrochemisch potentiaalverschil wat de invoer van ionen in de cel faciliteert. Dit proces zorgt er ook voor dat de pH van de celwand wordt verlaagd, waardoor enzymen worden geactiveerd die de celwand losser maken worden geactiveerd en cel expansie wordt geïnitieerd (Canellas, 2015). Net als auxine stimuleren humuszuren wortelontwikkeling, maar daarnaast hebben ze ook een positief effect op de opname van macro- en micronutriënten via een toename van de kationenomwisselingscapaciteit in het wortelmilieu (Figuur 4.3).



Figuur 4.3 Invloed van alkamiden en humuszuren op het losmaken van de celwand en expansiegroei in wortels. Bron: (Zandonadi et al. 2019).

Bijna 20 jaar geleden werd een nieuwe klasse plant groeiregulatoren beschreven: de alkamiden (Ramirez 2004). Alkamiden zijn secundaire metabolieten die deel uitmaken van de ongebonden fractie in humuszuur aggregaten. De effecten van alkamiden op planten zijn vergelijkbaar met die van auxine, maar waarschijnlijk beïnvloeden ze wortelontwikkeling op een andere manier, aangezien alkamiden geen effect hebben op de expressie van genen die gevoelig zijn voor auxine (Zandoni et al. 2019). De best bestudeerde alkamide is N-isopropyldecaanamide. De chemische structuur van deze stof lijkt sterk op die van de groep bacteriële 'quorum sensing' signaalstoffen N-acyl-L-homoserine lactonen. Deze stoffen spelen een belangrijke rol in de communicatie tussen cellen en spelen daarmee een cruciale rol in biofilmvorming en wortelkolonisatie.

Naast het stimuleren van wortelhaartjes en zijwortels hebben humuszuren ook effect op de formatie van wortelkapcellen (grenscellen) en uitscheiding van bepaalde stoffen uit de wortelpunten. Grenscellen vormen de eerste levende grenslaag in het plant bodem milieu en spelen een belangrijke rol in het waarnemen van de omgeving en het reguleren van de interactie tussen de verschillende micro-organismen in het wortelmilieu. Humuszuren kunnen het aantal en de vorm van de grenscellen beïnvloeden. Daarnaast kunnen ze van invloed zijn op de vorming van plantenslijm wat de grenscellen kan beschermen.

Het is mogelijk dat humuszuren zorgen voor een toename in het aantal hydrofobe domeinen, of uitscheiding van grenscellen kan moduleren via de aanmaak van antimicrobiële stoffen of chemische stoffen die juist micro-organismen aantrekken, wat kan resulteren in een toename van het aantal bacteriën dat zich hecht aan de wortelpunten. Uit onderzoek met maisplanten van Olivares en Canellas (2017) bleek bijvoorbeeld dat toediening van humuszuren aan het wortelmilieu zorgde voor een toename van de populatie van de *Herbaspirillum seropedicae* bacterie rond de grenscellen. Het is wel belangrijk om op te merken dat een dergelijke toename van het aantal bacteriën rond de grenscellen van de wortels alleen een gunstig effect heeft op de plant als het hierbij gaat om groeibevorderende bacteriën en niet om pathogene bacteriën.

Er zijn ook effecten van humuszuren op een betere plantweerbaarheid tegen abiotische stressfactoren waargenomen. Een te hoog zoutgehalte (saliniteit) is één van de belangrijkste problemen voor de landbouw in drogere gebieden in de wereld maar zou door recirculatie van voedingstoffen in de toekomst ook een probleem kunnen vormen voor de glastuinbouw. Een hoog zoutgehalte heeft een remmend effect op plantengroei doordat de opname en het vasthouden van water bemoeilijkt wordt, maar het heeft ook een nadelig effect op gasuitwisseling, fotosynthese, en eiwitsynthese (Romero-Aranda *et al.* 2001).

Humuszuur kan de plant helpen om beter om te gaan met zoutstress door wortelgroei te stimuleren (en zo wateropname te verbeteren), de opname van mineralen te reguleren en het voorkomen van schade aan celmembranen. Onderzoek laat zien dat toedienen van humuszuur inderdaad kan leiden tot hogere productie van gewassen die werden blootgesteld aan zoutstress (Türkmen *et al.* 2004, Paksoy *et al.* 2010).

Tabel 4.4

Effect van humuszuren op verschillende gewassen. (Bron: Canellas, 2015).

Gewas	Behandeling	Effect
Chrysant	Humuszuur van turf, wel of niet gecombineerd met NPK meststof; Toediening via bladspray; Kasexperiment	Toename bloemdiameter van 33%
Aubergine	Commercieel product gecombineerd met verschillende stikstofconcentraties; Toediening via bladspray; Veldexperiment	Hogere opbrengst (23-63%) en efficiënter gebruik stikstof
Gladiolen	Humuszuren uit compost, verschillende doses; Knollen voor 24 uur geweekt in oplossing; Kasexperiment.	Toename groei en snellere bloei
Sla	Humuszuur uit vermicompost; Toediening via bladspray; Veldexperiment	Kortere oogstcyclus
Ui	Humuszuur gecombineerd met aminozuren en verschillende stikstofconcentraties; Toediening via bladspray; Veldexperiment	Hogere opbrengst (5-6%)
Paprika	Humuszuur uit compost en leonardiet; Toediening aan substraat; Kasexperiment	Toename plant drooggewicht en hogere opbrengst (tot 56%)
Aardbei	Commercieel product in verschillende concentraties; Toediening via blad; Kasexperiment (hydroponics)	Hogere opbrengst (33%) en stevigere vruchten
Tomaat	Humuszuur uit vermicompost gecombineerd met groeibevorderende micro-organismen; Toediening via substraat en bladspray; Veldexperiment	Hogere opbrengst (44-80%)

4.5 Eiwit hydrolysaat

Eiwit hydrolysaten zijn mengsels van polypeptiden, oligopeptiden en aminozuren die worden geproduceerd uit eiwitrijke bronnen doormiddel van hydrolyse (Schaafsma, 2009). Meer dan 90% van de eiwit hydrolysaten op de markt voor de tuinbouw is gebaseerd op producten die verkregen worden via chemische hydrolyse van dierlijke eiwitten (bijvoorbeeld bijproducten van de leerindustrie of de visverwerking). Echter, de laatste jaren komen er steeds meer eiwit hydrolysaten op de markt die worden geproduceerd door enzymatische hydrolyse van plantaardige biomassa (zoals bijproducten van zaad en groenteproduktie) (Colla *et al.* 2015).

De aminozuur-samenstelling van eiwit hydrolysaten is divers en hangt af van de eiwitbron die wordt gebruikt voor de productie. Plantaardige eiwit hydrolysaten bevatten hoge concentraties asparaginezuur en glutaminezuur. Deze aminozuren spelen een belangrijke rol in het stikstofmetabolisme van planten. Dierlijke eiwit hydrolysaten bevatten hoge concentraties glycine en proline. Deze aminozuren zijn betrokken bij de vorming en instandhouding van celmembranen en het aanpassen van de plant aan zoutstress. In tegenstelling tot veel andere eiwit hydrolysaten, bevatten dierlijke eiwit hydrolysaten die geproduceerd worden doormiddel van chemische hydrolyse geen tryptofaan doordat dit aminozuur wordt afgebroken gedurende het productieproces. Dit aminozuur speelt een belangrijke rol in verschillende plantfysiologische processen omdat het een voorloper stof is van het hormoon auxine.

Hydrolyse van dierlijke of plantaardige eiwitbronnen resulteert niet alleen in aminozuren, maar ook in oplosbare peptiden waarvan de hoeveelheid afhangt van de mate van hydrolysatie. Bij enzymatische hydrolyse worden er grotere hoeveelheden peptiden geproduceerd dan bij chemische hydrolyse. Peptiden worden soms als een aparte klasse planthormonen gezien en spelen een belangrijke rol in planten als signaalstoffen die verschillende fysiologische processen reguleren. Het gaat dan onder andere om processen gelinkt aan groei, ontwikkeling en plantweerbaarheid (Tabel 4.5; (Ryan *et al.* 2002; Colla *et al.* 2015)). Zo speelt de plant peptide fytosulfokine een rol in de regulatie van vroegtijdige abscissie van bloemen en vruchten in reactie op droogtestress in tomaat (Reichardt *et al.* 2020) en spelen sommige peptiden een belangrijke rol in de regulatie van wortelontwikkeling onder lage stikstofconcentraties in de zandraket (Aggarwal *et al.* 2020).

Het is aangetoond dat eiwit hydrolysaten biologisch actieve peptiden kunnen bevatten. Zo is de peptide RHPP (Root Hair Promoting Peptide) geïsoleerd uit een eiwit hydrolysaat geproduceerd doormiddel van de hydrolyse van sojameel (Matsumiya and Kubo, 2011).

Verschillende experimenten met tomaat en andere gewassen hebben aangetoond dat toedienen van RHPP de wortelontwikkeling stimuleert, waarbij vooral het aantal wortelhaartjes en zijwortels toeneemt. Trainer® is een enzymatisch geproduceerd eiwit hydrolysaat van groentezaden dat voor ongeveer 27-33% bestaat uit aminozuren en oplosbare peptiden (Hamedani *et al.* 2020).

Uit analyse van tomatenplanten die blootgesteld werden aan droogte en behandeld met Trainer® bleek dat het toedienen van dit product onder andere zorgt voor een duidelijke toename van salicylaten in de plant, wat uiteindelijk leidt tot een verhoogde tolerantie tegen droogte. Andere studies laten zien dat Trainer® een positief effect heeft op de groei van mais, erwten en tomaten, vergelijkbaar met het effect van auxine en gibberelline (Colla *et al.*, 2014).

Het effect van eiwit hydrolysaten op de plant hangt mogelijk af van de micro-organismen in en rond het wortelmilieu en de bovengrondse plantdelen. Deze micro-organismen kunnen bijvoorbeeld concurreren met de plant om de aminozuren en peptiden in de producten, maar ze kunnen ook enzymen uitscheiden die peptiden afbreken in kleinere signaalmoleculen die vervolgens fysiologische processen in de plant kunnen beïnvloeden (Colla, 2015).

Niet alle dierlijke eiwit hydrolysaten worden geproduceerd doormiddel van chemische hydrolyse. Sommigen worden, net als de plantaardige producten, geproduceerd doormiddel van enzymatische hydrolyse. Een voorbeeld hiervan is eiwit hydrolysaat gebaseerd op bijproducten van de visverwerkingsindustrie. Uit onderzoek blijkt dat eiwit hydrolysaten gebaseerd op vis kunnen leiden tot een toename van het aantal bladeren, dikkere stengels en een toename in biomassa van zowel bovengrondse als ondergrondse plantdelen. Echter, er zijn ook onderzoeken waaruit blijkt dat toedienen van dierlijke eiwit hydrolysaten (inclusief de hydrolysaten gebaseerd op vis) nadelige effecten kan hebben op vruchtdragende gewassen (Cerdán *et al.* 2009; Lisiecka *et al.* 2011). In dat geval wordt gesproken van aminozuur remming (‘general amino acid inhibition’; Bonner and Jensen, 1997). Dit wordt veroorzaakt door overmatige opname van vrije aminozuren door het blad, wat zorgt voor een verstoring van de aminozuurbalans in de cellen, een energietekort door de hoge energetische kosten van aminozuur transport, remming van nitraat opname en meer kans op apoptose (geprogrammeerde celdood).

De Europese Unie heeft het toepassen van dierlijke eiwit hydrolysaten op eetbare delen van biologisch geteelde gewassen verboden middels de verordening (EU) 354/2014. Echter, dergelijke producten mogen nog wel worden toegedient aan de niet-eetbare delen van gewassen zoals zaden, wortels en bladeren.

Naast aminozuren en peptiden bevatten eiwit hydrolysaten nog andere stoffen die gunstige effecten kunnen hebben op planten zoals vetten, koolhydraten, fenolen, mineralen, planthormonen en andere organische stoffen (Ertani et al., 2014). Plantaardige eiwit hydrolysaten bevatten oplosbare koolhydraten (suikers) en fenolen die een belangrijke rol spelen in de energiehuishouding van de plant en de weerbaarheid tegen verschillende soorten stress. Dierlijke eiwit hydrolysaten bevatten geen koolhydraten, fenolen of planthormonen. De hoeveelheid en samenstelling van mineralen in eiwit hydrolysaat is ook afhankelijk van de oorspronkelijke eiwitbron. Doorgaans bevatten plantaardige eiwit hydrolysaten hogere concentraties mineralen dan de dierlijke producten (Ertani et al. 2009).

Tabel 4.5

Effect van eiwit hydrolysaten op verschillende gewassen. (Bron: Colla et al. 2015).

Gewas	Type hydrolysaat	Toediening	Experimentele condities	Effect
Mais	Plantaardig (op basis van Luzerne)	Wortel	Klimaatcel; hydroponics	Toename zouttolerantie, stikstof accumulatie en activiteit antioxidantstelsel
Druiven	Plantaardig (op basis van granen en peulen)	Wortel	Veldexperiment	Toename in fenolen en Increased total phenolics, and anthocyanen in sap
Sla	Plantaardig (Trainer®)	Wortel en blad	Kasexperiment; teelt in potten; verschillende zoutgehaltes	Toename zouttolerantie, accumulatie chlorofyl, stikstof en fosfor in bladeren
Paprika	Plantaardig (op basis van Luzerne)	Blad	Kasexperiment; teelt in potten	Toename in versgewicht en aantal vruchten en toename van secundaire metabolieten in vruchten
Paprika	Dierlijk, met micronutriënten (Fosfonutren)	Blad	Kasexperiment; teelt in potten	Afname in groei, opbrengst en gebruik van nitraten
Aardbei	Dierlijk (Aminoflor)	Blad	Kasexperiment; teelt in zakken	Afname gewicht van dochterplanten
Tomaat	Plantaardig (Trainer®)	Wortel	Klimaatcel; hydroponics	Toename beworteling en scheutgroei

5 Conclusies en Discussie

In dit rapport zijn de resultaten van een literatuurstudie binnen het project naar de hormoonbalans en de ecologische balans beschreven. Deze studie is gedaan in het kader van het Kas als Energiebron project "Nieuwe balansen in het nieuwe telen: hormonen en ecologie". Hierbij is niet alleen gekeken naar de huidige staat van kennis met betrekking tot deze twee 'nieuwe' balansen, maar ook naar in hoeverre kennis van de hormoonbalans en ecologische balans nuttig kan zijn voor telers en waardevolle toevoegingen zijn aan het theoretisch kader van Het Nieuwe Telen (HNT). Binnen dit kader wordt op dit moment doorgaans uitgegaan van zes balansen gedefinieerd: de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in de plant en de energiebalans, vochtbalans en CO₂ balans in de kas. Uit de informatie in dit rapport blijkt dat, hoewel de hormoonbalans en ecologische kunnen worden gezien als een ander type balansen dan de 'traditionele' balansen, deze wel degelijk nuttige aanvullingen zijn op het theoretisch kader van HNT omdat ze kunnen helpen de processen in gewassen te begrijpen en deze te sturen en op die manier het beter mogelijk om goed te telen onder glas met een optimaal gebruik van energie voor licht en warmte en CO₂.

De hormoonbalans en implicaties voor praktijk en onderzoek

Hormonen zijn in de natuur voorkomende stoffen die in lage concentraties fysiologische processen in de plant kunnen beïnvloeden. Ze dienen als chemische boodschapperstoffen die signalen uit de omgeving of vanuit de plant zelf doorgeven en vervolgens fysiologische processen beïnvloeden zodat de plant zich kan aanpassen aan de omstandigheden.

In tegenstelling tot de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in de plant kan men niet stellen dat een plant naar een bepaalde hormoonbalans streeft. De hormoonbalans vormt een belangrijk onderdeel van de mechanismen waarmee de plant zich optimaal aan kan passen aan de omgeving om zo de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans in stand te houden. Daarmee verschilt de hormoonbalans dus van de andere balansen van HNT, maar dat maakt kennis van deze balans niet minder belangrijk voor telers. Als de hormoonbalans het bereiken van een goede ontwikkeling van de plant verstoort dan is het hebben van een evenwicht in de waterbalans, energiebalans en assimilatenbalans niet voldoende voor een optimale productie. Zoals blijkt uit de praktijkvoorbeelden in hoofdstuk 2.5 kan kennis van de hormoonbalans in de plant helpen bepaalde reacties van een gewas te begrijpen en tot mogelijke oplossingen te komen voor ongewenste reacties (zoals teveel of te weinig strekking) doormiddel van het sturen van de hormoonbalans met licht en temperatuur of gebruik van middelen als biostimulanten.

Op basis van de huidige staat van kennis met betrekking tot de hormoonbalans en signalering blijkt wel dat hierbij met een aantal aspecten rekening moet worden gehouden:

- De interactie tussen licht en temperatuur.
Omdat zowel licht als temperatuur effect kunnen hebben op zaken als hormoonproductie, transport, en signalering is het mogelijk dat het effect van bepaalde lichtcondities afhangt van de temperatuur, en andersom.
- De rol van de biologische klok.
De biologische klok zorgt er onder andere voor dat de gevoeligheid voor, of het effect van een hormoon afhangen van het moment van de dag. Dit heeft als gevolg dat het effect van teeltmaatregelen of behandelingen (zoals een temperatuurverlaging of verandering in het spectrum of het gebruik van biostimulanten) die een plant sturen via hormoonsignalering afhankelijk is van het tijdstip waarop deze maatregelen of behandelingen worden ingezet.
- De interacties tussen hormonen.
Sommige hormonen kunnen elkaars concentratie of effect stimuleren of onderdrukken. Daarmee kan een teeltmaatregel of behandeling een gunstig effect hebben op bepaalde eigenschappen van het gewas, maar een nadelig effect hebben op andere eigenschappen. Zo gaat een toename in strekking soms samen met een verminderde plantweerbaarheid.

Bovengenoemde inzichten zijn van belang bij het doen van (praktijk)onderzoek waarbij gekeken wordt naar de effecten van teeltcondities of behandelingen. Bijvoorbeeld bij het testen van het effect van een bepaald lichtspectrum moet rekening gehouden worden met het moment waarop dit spectrum wordt toegepast en met het klimaat. Een belangrijk punt is wel dat de meeste inzichten in hormoonsignalering die in dit rapport beschreven staan gebaseerd zijn op (fundamenteel) onderzoek in modelorganismen zoals de zandraket (*Arabidopsis*) of tomaat. Dus bij het opstellen en testen van hypothesen voor onderzoek met andere gewassen is het van belang om rekening te houden met de mogelijkheid dat het gewas anders reageert op behandelingen dan verwacht. Om hier mee inzicht in te krijgen is onderzoek naar de rol van hormonen in andere gewassen onder praktijk (teelt) condities nodig. Het meten van hormonen, maar vooral het meten van activiteit van reguleiwitten met behulp van genexpressie analyse in gewassen kan hierbij een belangrijke rol spelen.

De ecologische balans: potentie voor de glastuinbouw

Planten kunnen niet functioneren zonder micro-organismen. Bacteriën en schimmels, die in associatie met de plant leven, kunnen de groei, ontwikkeling en gezondheid van de planten beïnvloeden door bijvoorbeeld de opname van nutriënten te stimuleren of doormiddel van het beïnvloeden van de hormoonbalans van de plant. Net als voor de hormoonbalans geldt ook voor de ecologische balans dat er niet een bepaald evenwicht is waar de plant naar streeft, maar dat kennis van de ecologische balans van belang is voor telers. Beïnvloeden van het holobiont (en daarmee de ecologische balans) om de productie in de kassen te optimaliseren, in combinatie met lagere inputs van warmte energie en licht, is voor de hand liggend. Veel plantgroeibevorderende micro-organismen kunnen bijvoorbeeld ook bij lagere temperaturen actief blijven en stoffen produceren die groei bevorderen, zoals planthormonen als gibberelline en auxine, terwijl de productie van deze hormonen in planten zelf bij lagere temperaturen juist afneemt. In theorie zou dus met behulp van dergelijke micro-organisme bij lagere temperatuur dezelfde groei van een gewas kunnen worden gerealiseerd. Daarbij moet wel worden opgemerkt dat, zoals in hoofdstuk 2 wordt beschreven, het effect van een hormoon niet alleen concentratie-afhankelijk is. Het ten gunste beïnvloeden van de ecologische balans kan door micro-organismen toe te voegen (bijvoorbeeld microbiële biostimulanten), maar ook door bemesting of soms door klimaatsturing.

Het opmaken van de ecologische/microbiële balans voor verschillende teelten in de grond, substraat of op water is op dit moment nog moeilijk. Groeisubstraat met een miljard bacteriën per cm³ hoeft bijvoorbeeld niet beter te zijn dan groeisubstraat met een miljoen bacteriën per cm³. Belangrijkere factoren zijn de identiteit en ecologische functies, zoals plantgroeibevordering, die deze micro-organismen kunnen uitvoeren. In veel gevallen, zoals in substraatteelt, weten wij op dit moment nog niet genoeg over welke micro-organismen waar aanwezig zijn en welke functies vervullen zij in het ecosysteem in de kas. Daarom is er meer kennis nodig over de effectiviteit van alle maatregelen, zoals toevoegen van micro-organismen of systeemveranderingen aanbrengen om inheemse micro-organismen te stimuleren, onder (semi)praktijk omstandigheden in glastuinbouw. Uit het overzicht van wetenschappelijke literatuur, vaak onderzoek in het lab of in kleine kasexperimenten, en schaarse informatie uit praktijk experimenten blijkt dat micro-organismen een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan het verbeteren en verduurzamen van de teelt van verschillende gewassen onder glas. Maar deze bijdrage kan dus ook afhankelijk zijn van de plantsoort, groeisubstraat en klimaatomstandigheden.

Niet-microbiële biostimulanten: sturen van de hormoonbalans en ecologische balans

Naast bijvoorbeeld klimaat, belichting of het toevoegen van micro-organismen aan het substraat, kunnen de hormoonbalans en de ecologische balans, en daarmee de ontwikkeling van een gewas, ook worden gestuurd door gebruik te maken van niet-microbiële biostimulanten zoals zeewierextracten, chitosan, humuszuren en eiwit hydrolysaat. Deze biostimulanten bevatten geen micro-organismen maar hebben wel een natuurlijk oorsprong. Ze kunnen een bijdrage leveren aan het telen van gezonde en duurzame gewassen door vermindering van het gebruik van water en meststoffen. Veel producten die deze voordelen claimen, zijn al jaren op de markt verkrijgbaar. Ze worden echter niet algemeen toegepast in de standaard teeltpraktijken vanwege het ontbreken van voldoende kennis bij telers en teeltadviseurs over hun effectiviteit, werkingsspectrum en werkingsmechanisme. Uit de informatie gepresenteerd in hoofdstuk 4 blijkt dat niet-microbiële biostimulanten via verschillende mechanismen invloed kunnen hebben op een gewas. Vaak zijn deze gelinkt aan de hormoonbalans of de ecologische balans. Zo bevatten sommige niet-microbiële biostimulanten hormonen of hormoonachtige stoffen die kunnen worden opgenomen door de plant en zo de hormoonbalans in de plant veranderen en fysiologische processen reguleren. Ook kunnen ze bijvoorbeeld stoffen bevatten die direct schadelijk zijn voor bepaalde micro-organismen of juist de groei van bepaalde micro-organismen stimuleren.

Ook kunnen ze hormonen of andere stoffen bevatten die de interactie tussen de plant en micro-organismen beïnvloeden. Hoewel er over de werkingsmechanismen van een aantal niet-microbiële biostimulanten redelijk wat bekend is, is niet altijd bekend of het effect afhankelijk van het gewas of de teeltomstandigheden. Dit maakt de keuze voor het gebruik van biostimulanten in teelten lastig. Hier zal nog meer onderzoek naar moeten worden gedaan.

Literatuur

- Abdel-Baky, Y. R., Abouziena, H. F., Amin, A. A., El-Sh, M. R., and Abd El-Sttar, A. M. 2019.
Improve quality and productivity of some faba bean cultivars with foliar application of fulvic acid. *Bulletin of the National Research Centre*, 43, 2.
- Achard, P., Gong, F., Cheminant, S., Alioua, M., Hedden, P., and Genschik, P. 2008.
The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. *The Plant Cell*, 20(8), 2117–2129.
- Abdel-Baky, Y. R., Abouziena, H. F., Amin, A. A., El-Sh, M. R., and Abd El-Sttar, A. M. 2019.
Improve quality and productivity of some faba bean cultivars with foliar application of fulvic acid. *Bulletin of the National Research Centre*, 43, 2.
- Achard, P., Gong, F., Cheminant, S., Alioua, M., Hedden, P., and Genschik, P. 2008.
The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. *The Plant Cell*, 20(8), 2117–2129.
- Adam, M., Heuer, H., and Hallmann, J. 2014.
Bacterial Antagonists of Fungal Pathogens Also Control Root-Knot Nematodes by Induced Systemic Resistance of Tomato Plants. *PLoS one*. 9. e90402. 10.1371/journal.pone.0090402.
- Adamowski, M., and Friml, J. 2015.
PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution. *The Plant Cell*, 27(1), 20–32.
- Akhtar, S. S., Mekureyaw, M. F., Pandey, C., and Roitsch, T. 2020.
Role of Cytokinins for Interactions of Plants With Microbial Pathogens and Pest Insects. *Frontiers in plant science*, 10, 1777. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01777>
- Al-Babili, S., and Bouwmeester, H. J. 2015.
Strigolactones, a novel carotenoid-derived plant hormone. *Annual Review of Plant Biology*, 66, 161–186.
- Alam.M.Z., Gordon B., Jeffrey N., and Hodges M.D. 2014.
Ascophyllum extract application can promote plant growth and root yield in carrot associated with increased root-zone soil microbial activity. *Canadian Journal of Plant Science*. 94(2): 337-348.
- Ali, S., Charles, T.C., and Glick, B.R. 2017.
Endophytic Phytohormones and Their Role in Plant Growth Promotion. In: Doty S. (eds) *Functional Importance of the Plant Microbiome*. Springer, Cham
- Ali, M., and Baek, K.-H. 2020.
Jasmonic acid signaling pathway in response to abiotic stresses in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 621.
- Aliche, E. B., Screpanti, C., De Mesmaeker, A., Munnik, T., and Bouwmeester, H. J. 2020.
Science and application of strigolactones. *New Phytologist*.
- Alori, E.T., Glick, B.R., and Babalola, O.O. 2017.
Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Frontiers in Microbiology* 8
- Antoniou, A., Tsolakidou, M. D., Stringlis, I. A., and Pantelides, I. S. 2017.
Rhizosphere Microbiome Recruited from a Suppressive Compost Improves Plant Fitness and Increases Protection against Vascular Wilt Pathogens of Tomato. *Frontiers in plant science*, 8, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02022>
- Atamian, H. S., and Harmer, S. L. 2016.
Circadian regulation of hormone signaling and plant physiology. *Plant Molecular Biology*, 91(6), 691–702.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S., and Smith, D.L. 2018.
Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science* 9: 1473
- Bakker, P.A., Doornbos, R.F., Zamioudis C, Berendsen RL, and Pieterse CM. 2013.
Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome. *Plant Pathol J*. 29(2): 136-143. doi:10.5423/PPJ.SI.07.2012.0111
- Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., de Jonge, R., and Berendsen, R.L. 2018.
The Soil-Borne Legacy. *Cell*. 172(6):1178-1180. doi:10.1016/j.cell.2018.02.024

- Ballaré, C. L., and Pierik, R. (2017).
The shade-avoidance syndrome: Multiple signals and ecological consequences. *Plant, Cell & Environment*, 40(11), 2530–2543.
- Banerjee, S., Schlaeppi, K., and van der Heijden, M.G.A. 2018.
Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nat Rev Microbiol* 16: 567–576 <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0024-1>
- Battacharyya D., Zamani M., R .P., and Prithiviraj B. 2015.
Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci Hort.*196: 39-48.
- Berendsen, R.L., Pieterse, C.M.J., and Bakker, P.A.H.M. 2012.
The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 17:478–86.
- Berendsen, R.L., Vismans, G., and Yum K. 2018.
Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium. *ISME J.* 12(6):1496-1507.
[doi:10.1038/s41396-018-0093-1](https://doi.org/10.1038/s41396-018-0093-1)
- Berg, G., Köberl, M., Rybakova, D., Müller, H., Grosch, R., and Smalla, K. 2017.
Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. *FEMS Microbiology Ecology* 93 <https://doi.org/10.1093/femsec/fix050>
- Bergna, A., Cernava, T., Rändler, M., Grosch, R., Zachow, C., and Berg, G. 2018.
Tomato seeds preferably transmit plant beneficial endophytes. *Phytobiomes J* 2(4): 183–193
- Berry, D. and Widder, S. 2014.
Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. *Frontiers in Microbiology* 5: 219; URL=<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2014.00219>
- Binenbaum, J., Weinstain, R., and Shani, E. 2018.
Gibberellin localization and transport in plants. *Trends in Plant Science*, 23(5), 410–421.
- Blok, C., Streminska, M., and Vermeulen, T. 2017.
Ammonium conversion in liquid organic fertilisers. *Acta Hort.* 1168, 11-18 DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1168.2
- Bodor, A., Bounedjoum, N., and Vincze, G.E. 2020.
Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives. *Rev Environ Sci Biotechnol* 19:1–22
<https://doi.org/10.1007/s11157-020-09522-4>
- Bonner, C. A., and Jensen, R. A. 1997.
Recognition of specific patterns of amino acid inhibition of growth in higher plants, uncomplicated by glutamine-reversible general amino acid inhibition. *Plant Science*, 130:133-143.
- Bonanomi, G., Lorito, M., Vinale, F., and Woo, S.L. 2018.
Organic Amendments, Beneficial Microbes, and Soil Microbiota: Toward a Unified Framework for Disease Suppression. *Annual Review of Phytopathology* 56:1, 1-20
- Boonekamp P. 2020.
De kansen voor biostimulanten in toekomstige teeltsystemen. *Gewasbescherming* 51: 92-98.
- Bottini, R., Cassán, F., and Piccoli, P. 2004.
Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004;65(5):497-503. [doi:10.1007/s00253-004-1696-1](https://doi.org/10.1007/s00253-004-1696-1)
- Bours, R., Kohlen, W., Bouwmeester, H. J., and van der Krol, A. 2015.
Thermoperiodic control of hypocotyl elongation depends on auxin-induced ethylene signaling that controls downstream PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR3 activity. *Plant Physiology*, 167(2), 517–530.
- Bours, R., van Zanten, M., Pierik, R., Bouwmeester, H. J., and van der Krol, A. R. 2013.
Antiphase Light and Temperature Cycles Affect PHYB-controlled Ethylene Sensitivity and Biosynthesis; Limiting Leaf Movement and Growth of Arabidopsis. *Plant Physiology*.
- Bubici, G. 2018.
Streptomyces spp. as biocontrol agents against Fusarium species. *CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources*. 13. [10.1079/PAVSNNR201813050](https://doi.org/10.1079/PAVSNNR201813050).
- Bürger, M., and Chory, J. 2019.
Stressed out about hormones: how plants orchestrate immunity. *Cell Host & Microbe*, 26(2), 163–172.
- Burketova, L., Trda, L., Ott, P.G., and Valentova, O. 2015.
Bio-based resistance inducers for sustainable plant protection against pathogens. *Biotechnol Adv.* 33:994-1004. [doi:10.1016/j.biotechadv.2015.01.004](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.004)

- Calvo, P., Zebelo, S., McNear, D., Kloepper, J., and Fadamiro, H. 2019.
Plant growth-promoting rhizobacteria induce changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression of nitrate and ammonium uptake genes. *Journal of Plant Interactions*, 14:1, 224-231, DOI: 10.1080/17429145.2019.1602887
- Cameron, D.D., Neal, A.L., van Wees, S.C.M, and Ton, J. 2013.
Mycorrhiza-induced resistance: more than the sum of its parts? *Trends in Plant Science* 18: 539-545
- Canellas, L. P., and Olivares, F. L. 2017.
Production of border cells and colonization of maize root tips by *Herbaspirillum seropedicae* are modulated by humic acid. *Plant and Soil*, 417: 403-413.
- Carvalhais, L.C., Dennis, P.G., Badri, D.V., Tyson, G.W., and Vivanco, J.M. 2013.
Activation of the Jasmonic Acid Plant Defence Pathway Alters the Composition of Rhizosphere Bacterial Communities. *PLoS ONE* 8(2): e56457. doi:10.1371/journal.pone.0056457
- Carvalho, S. M. P., van Noort, F. R., Postma, R., and Heuvelink, E. 2008.
Possibilities for producing compact floricultural crops. Wageningen UR Greenhouse Horticulture.
- Casal, J. J., and Balasubramanian, S. 2019.
Thermomorphogenesis. *Annual Review of Plant Biology*, 70, 321–346.
- Chen, C.-M. 1998.
The discovery of cytokinins. In *Discoveries In Plant Biology: (Volume I)* (pp. 1–15). World Scientific.
- Chien, P.-S., Chiang, C.-P., Leong, S. J., and Chiou, T.-J. 2018.
Sensing and signaling of phosphate starvation: from local to long distance. *Plant and Cell Physiology*, 59(9), 1714–1722.
- Choi, J., Huh, S. U., Kojima, M., Sakakibara, H., Paek, K. H., and Hwang, I. 2010.
The Cytokinin-activated transcription factor ARR2 promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in *Arabidopsis*. *Dev. Cell* 19, 284–295. doi: 10.1016/j.devcel.2010.07.011
- Chowdhury, S.P., Dietel, K., Rändler, M., Schmid, M., and Junge, H 2013.
Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on Lettuce Growth and Health under Pathogen Pressure and Its Impact on the Rhizosphere Bacterial Community. *PLoS ONE* 8(7): e68818. doi:10.1371/journal.pone.0068818
- Colla, G., Rouphael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., and Cardarelli, M. 2014.
Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Front Plant Sci* 5 (448), 448
- Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., and Rouphael, Y. 2015a.
Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 196, 28–38
- Colla, G., Rouphael, Y., Di Mattia, E., El-Nakhel, C., and Cardarelli, M. 2015b.
Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *J. Sci. Food Agric.* 95 (8), 1706–1715.
- Compant, S., Samad, A., Faist, A., and Sessitsch, A. 2019.
A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of Advanced Research* 19: 29-37
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., and López-Bucio, J. 2009.
Trichoderma virens, a Plant Beneficial Fungus, Enhances Biomass Production and Promotes Lateral Root Growth through an Auxin-Dependent Mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 149 (3) 1579-1592; DOI: 10.1104/pp.108.130369
- Corbineau, F., Xia, Q., Bailly, C., and El-Maarouf-Bouteau, H. 2014.
Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy. *Frontiers in plant science*, 5, 539. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00539>
- Davies, P. J. (Ed.) 2010.
Plant hormones. Springer, Dordrecht.
- Davies, P. J. 2010a.
Regulatory factors in hormone action: Level, location and signal transduction. In *Plant Hormones* (pp. 16–35). Springer.
- Davies, P. J. 2010b.
The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones* (pp. 1–15). Springer.
- De Jong, M., George, G., Ongaro, V., Williamson, L., Willetts, B., Ljung, K., McCulloch, H., and Leyser, O. 2014.
Auxin and strigolactone signaling are required for modulation of *Arabidopsis* shoot branching by nitrogen supply. *Plant Physiology*, 166(1), 384–395.

- De Lucas, M., and Prat, S. 2014.
PIFs get BR right: PHYTOCHROME INTERACTING FACTORs as integrators of light and hormonal signals. *New Phytologist*, 202(4), 1126–1141.
- De Montaigu, A., Tóth, R., and Coupland, G. 2010.
Plant development goes like clockwork. *Trends in Genetics*, 26(7), 296–306.
- De Pascale, S., Roupahel, Y., Cirillo, C., and Colla, G. 2020.
Plant biostimulants in greenhouse horticulture: recent advances and challenges ahead. *Acta Hort.* 1271, 327–334 DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1271.45
- De Tender, C., Haegeman, A., Vandecasteele, B., Clement, L., Cremelie, P., Dawyndt, P., Maes, M., and Debode, J. 2016.
Dynamics in the Strawberry Rhizosphere Microbiome in Response to Biochar and Botrytis cinerea Leaf Infection. *Frontiers in microbiology*, 7: 2062. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02062>
- Dhungana, S.A. and Itoh, K. 2019.
Effects of Co-Inoculation of Indole-3-Acetic Acid-Producing and -Degrading Bacterial Endophytes on Plant Growth. *Horticulturae* 5: 17.
- Dieleman, A., de Gelder, A., Weerheim, K., Kruidhof, M., Verkerke, W., Garcia, N., Kromwijk, A., Elings, A., de Visser, P., and Janse, J. 2020.
Denkkader licht: Naar een effectief gebruik van LED belichting in de glastuinbouw. Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw.
- Dieleman, A., van Noort, F., and Kromwijk, A. 2018.
Sturen van compactheid met blauw lichten wegnemen van de schemering: onderzoek naar sturen compactheid met gebruik maken van lichtkleuren om gewasontwikkeling, strekking en groei te sturen: een studie naar blauw licht. Wageningen University & Research, BU Glastuinbouw.
- Dodd I.C. and Davies, W.J. 2010.
Hormones and the Regulation of Water Balance. In *Plant Hormones* (pp. 519–538). Springer, Dordrecht.
- Du Jardin, P. 2015.
Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* 196, 3–14.
- Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Alqarawi, A.A., Abd_Allah, E.F., and Hashem, A. 2017.
Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Front. Microbiol.* 8:2104. doi: 10.3389/fmicb.2017.02104
- EL Boukhari, M. E. M., Barakate, M., Bouhia, Y., and Lyamlouli, K. 2020.
Trends in Seaweed Extract Based Biostimulants: Manufacturing Process and Beneficial Effect on Soil-Plant Systems. *Plants* 9, 359.
- El-Shabasi, M. S. S., Ragab, M. E., El-Oksh, I. I., and Osman, Y. M. M. 2009.
Response of strawberry plants to some growth regulators. *Acta Horticulturae*, 842(1980), 725–728. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.842.157>
- Erlacher, A., Cardinale, M., Grosch, R., Grube, M., and Berg, G. 2014.
The impact of the pathogen Rhizoctonia solani and its beneficial counterpart Bacillus amyloliquefaciens on the indigenous lettuce microbiome. *Frontiers in microbiology*, 5, 175. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00175>
- Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., and Nardi, S. 2013.
Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed Zea mays L. plants. *Plant Soil* 364 (1-2), 145–158
- Ertani, A., Pizzeghello, D., Francioso, O., Sambo, P., Sanchez-Cortes, S., and Nardi, S. 2014.
Capsicum chinensis L. growth and nutraceutical properties are enhanced by biostimulants in a long-term period: chemical and metabolomic approaches. *Front Plant Sci* 5 (375).
- Escobar, M.A. and Dandekar, A.M. 2003.
Agrobacterium tumefaciens as an agent of disease. *Trends Plant Sci* 8 (8) (2003), pp. 380–386
- Faria, M.R. and Wraight, S.P. 2007.
Mycoinsecticides and Mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43: 237–256.
- Feng, S., Martinez, C., Gusmaroli, G., Wang, Y., Zhou, J., Wang, F., Chen, L., Yu, L., Iglesias-Pedraz, J. M., and Kircher, S. 2008.
Coordinated regulation of Arabidopsis thaliana development by light and gibberellins. *Nature*, 451(7177), 475–479.

- Finkelstein, R. 2013.
Absciscic acid synthesis and response. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 11.
- Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J., and Stanković, S. 2018.
Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of Biotechnology*. 285. 44–55. 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044.
- Frigerio, M., Alabadí, D., Pérez-Gómez, J., García-Cárcel, L., Phillips, A. L., Hedden, P., and Blázquez, M. A. 2006.
Transcriptional regulation of gibberellin metabolism genes by auxin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 142(2), 553–563.
- Fukuda, H., Ogawa, T., and Tanase, S. 1993.
Ethylene Production by Micro-organisms. In: *Advances in Microbial Physiology*, Editor(s): A.H. Rose, Academic Press, Volume 35, p: 275-306
- Gamalero, E., Berta, G., Massa, N. Glick, B. R., and Lingua, G. 2008.
Synergistic interactions between the ACC deaminase-producing bacterium *Pseudomonas putida* UW4 and the AM fungus *Gigaspora rosea* positively affect cucumber plant growth," *FEMS Microbiology Ecology*, 64: 459–467
- Glick, B.R. 2012.
Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica* 2012.
- Glick, B.R. 2014.
Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169: 30-39
- Grunert, O., Hernandez-Sanabria, E., and Vilchez-Vargas, R. 2016.
Mineral and organic growing media have distinct community structure, stability and functionality in soilless culture systems. *Sci Rep* 6, 18837 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep18837>
- Ha, S., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., and Tran, L.-S. P. 2012.
Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. *Trends in Plant Science*, 17(3), 172–179.
- Hao, Y., Charles, T.C., and Glick, B.R. 2007.
ACC deaminase from plant growth-promoting bacteria affects crown gall development. *Can J Microbiol.* 53(12):1291-1299. doi:10.1139/W07-099
- Harkey, A. F., Yoon, G. M., Seo, D. H., DeLong, A., and Muday, G. 2019.
Light modulates ethylene synthesis, signaling, and downstream transcriptional networks to control plant development. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1094.
- Hassan, O., and Chang, T. 2017.
Chitosan for eco-friendly control of plant disease. *Asian J Plant Pathol*, 11: 53-70.
- Hassan N. 2019.
Effect of Chitosan on Physiological and Morphological Traits of Lemon Verbena (*Lippia citriodora* L.) under in Vitro and Field Conditions. *Journal of crop ecophysiology*, 13 (49):73- 86.
- Hassani, M.A., Durán, P., Hacquard, S. 2018.
Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome* 6:58 <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0445-0>
- Helmus-schuddebeurs, L., Endschoot, R. Van, and Dorresteyn, B. 2019.
LED belichting in aardbei. december.
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., and Monte, E. 2012.
Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* 158:17-25.
- Henriques, R., Papdi, C., Ahmad, Z., and Bögre, L. 2018.
Circadian regulation of plant growth. *Annual Plant Reviews Online*, 675–704.
- Huché-Thélier, L., Crespel, L., Le Gourriec, J., Morel, P., Sakr, S., and Leduc, N. 2016.
Light signaling and plant responses to blue and UV radiations—Perspectives for applications in horticulture. *Environmental and Experimental Botany*, 121, 22–38.
- Huot, B., Castroverde, C. D. M., Velásquez, A. C., Hubbard, E., Pulman, J. A., Yao, J., Childs, K. L., Tsuda, K., Montgomery, B. L., and He, S. Y. 2017.
Dual impact of elevated temperature on plant defence and bacterial virulence in *Arabidopsis*. *Nature Communications*, 8(1), 1–12.
- Huq, E., and Quail, P. H. 2002.
PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator of phytochrome B signaling in *Arabidopsis*. *The EMBO Journal*, 21(10), 2441–2450.

- Jamal Uddin, A. F. M., Hossan, M. J., Islam, M. S., Ahsan, M. K., and Mehraj, H. 2012.
Strawberry growth and yield responses to gibberellic acid concentrations. *Journal of Experimental Biosciences*, 3(2), 51–56.
- Janse, J., Streminska, M.A., and Huisman, H.M. 2021.
Eerste verkenning microbiom in wortelzone van framboos en braam tijdens teelt in substraat onder glas.
In: Nieuw licht op houtig kleinfruit: Onderzoek lichtspectra, diffuus glas en ras bij bramen en frambozen' (Rapport WPR)
- Kebrom, T. H. 2017.
A growing stem inhibits bud outgrowth—the overlooked theory of apical dominance. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1874.
- Keuskamp, D. H., Pollmann, S., Voeseek, L. A. C. J., Peeters, A. J. M., and Pierik, R. 2010.
Auxin transport through PIN-FORMED 3 (PIN3) controls shade avoidance and fitness during competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(52), 22740–22744.
- Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., and Prithiviraj, B., 2009.
Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28, 386–399.
- Kieber, J. J., and Schaller, G. E. 2018.
Cytokinin signaling in plant development. *Development*, 145(4).
- King, R. W., Evans, L. T., Mander, L. N., Moritz, T., Pharis, R. P., and Twitchin, B. 2003.
Synthesis of gibberellin GA6 and its role in flowering of *Lolium temulentum*. *Phytochemistry*, 62(1), 77–82.
- Kloepper, J.W., Ryu, C-M., and Zhang, S. 2004.
Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94:1259–1266
- Koohakan, P., Ikeda, H., Jeanakorn, T., Tojo, M., Kusakari, S.I., Okada, K., and Sato, S. 2004.
Evaluation of the indigenous microorganisms in soilless culture: occurrence and quantitative characteristics in the different growing systems, *Scientia Hort.* 101: 179–188
- Köhl J., Kolnaar R., and Ravensberg W.J.. 2019.
Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Front Plant Sci.* 19:845- doi: 10.3389/fpls.2019.00845
- Kramer, J., Özkaya, Ö. and Kümmerli, R. 2020.
Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat Rev Microbiol* 18: 152–163 <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0284-4>
- Kumar, M., Kour, D., Yadav, A. N., Saxena, R., Rai, P. K., and Jyoti, A. 2019.
Biodiversity of methylotrophic microbial communities and their potential role in mitigation of abiotic stresses in plants. *Biologia* 74, 287–308. doi: 10.2478/ s11756-019-00190-6
- Lebeis, S.L., Paredes, S.H., and Lundberg, D.S. 2015.
Plant Microbiome. Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. *Science*. 349(6250):860–864. doi:10.1126/science.aaa8764
- Lemanceau, P., Bauer, P., Kraemer, S., and Briat, J.F. 2009.
Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant Soil*. 321:513–535.
- Li, B., Wang, X., Chen, R., Huangfu, W., and Xie, G. 2008.
Antibacterial activity of chitosan solution against *Xanthomonas* pathogenic bacteria isolated from *Euphorbia pulcherrima*. *Carbohydrate Polymers*, 72(2), 287–292.
- Li, R., He, J., Xie, H., Wang, W., Bose, S. K., Sun, Y., ... and Yin, H. 2019.
Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International journal of biological macromolecules*, 126, 91–100.
- Li, Zhan, Liu, H., Ding, Z., Yan, J., Yu, H., Pan, R., Hu, J., Guan, Y., and Hua, J. 2020.
Low temperature enhances plant immunity via salicylic acid pathway genes that are repressed by ethylene. *Plant Physiology*, 182(1), 626–639.
- Li, Zicong and He, Y. 2020.
Roles of Brassinosteroids in Plant Reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 872.
- Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., and Bangyeekhun, T. 2008.
Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid. *Scientia horticulturae*, 116: 65–72

- Lin, W., Hu, X., Zhang, W., Rogers, W. J., and Cai, W. 2005.
Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. *Journal of Plant Physiology*, 162: 937-944.
- Liu, M., Pirrello, J., Chervin, C., Roustan, J. P., and Bouzayen, M. 2015.
Ethylene Control of Fruit Ripening: Revisiting the Complex Network of Transcriptional Regulation. *Plant physiology*, 169(4), 2380–2390. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01361>
- Lorenzo, C. D., Sanchez-Lamas, M., Antonietti, M. S., and Cerdán, P. D. 2016.
Emerging hubs in plant light and temperature signaling. *Photochemistry and Photobiology*, 92(1), 3–13.
- Lorteau, M.A., Ferguson, B.J., and Guinel, F.C. 2001.
Effects of cytokinin on ethylene production and nodulation in pea (*Pisum sativum*) cv. Sparkle. *Physiol Plant*. 112(3):421-428. doi:10.1034/j.1399-3054.2001.1120316.x
- Lu, H., McClung, C. R., and Zhang, C. 2017.
Tick tock: circadian regulation of plant innate immunity. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 287–311.
- Luo, Y. and Shi, H. 2019.
Direct regulation of phytohormone actions by photoreceptors. *Trends in Plant Science*, 24(2), 105–108.
- Macura, B., Johannesdottir, S.L., and Piniewski, M. 2019.
Effectiveness of ecotechnologies for recovery of nitrogen and phosphorus from anaerobic digestate and effectiveness of the recovery products as fertilisers: a systematic review protocol. *Environ Evid* 8, 29 <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0173-3>
- Martinez-Medina, A., Flors, V., and Heil, M. 2016.
Recognizing Plant Defense Priming. *Trends Plant Sci.* 21(10): 818-822.
- Martínez-Medina, A., Fernandez, I., Lok, G.B., Pozo, M.J., Pieterse, C.M.J. and Van Wees, S.C.M. 2017.
Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. *New Phytol* 213: 1363-1377. doi:10.1111/nph.14251
- Matsumiya, Y. and Kubo, M. 2011.
Soybean peptide: novel plant growth promoting peptide from soybean. *Soybean and Nutrition*, 215-230.
- Mazzola, M. and Freilich, S. 2016.
Prospects for Biological Soilborne Disease Control: Application of Indigenous Versus Synthetic Microbiomes. *Phytopathology* 107. 10.1094/PHYTO-09-16-0330-RVW.
- Mendes, R., Garbeva, P., and Raaijmakers, J.M. 2013.
The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev.* 37: 634-663. doi:10.1111/1574-6976.12028
- Mitchell, J. W., Mandava, N., Worley, J. F., Plimmer, J. R., and Smith, M. V. 1970.
Brassinins - a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature*, 225(5237), 1065–1066.
- Montagne, V., Charpentier, S., Cannavo, P., Capiiaux, H., Grosbellet, C., and Lebeau, T. 2015.
Structure and activity of spontaneous fungal communities in organic substrates used for soilless crops, *Scientia Horticulturae*, Volume 192: 148-157
- Montagne, V., Capiiaux, H., and Barret, M. 2017.
Bacterial and fungal communities vary with the type of organic substrate: implications for biocontrol of soilless crops. *Environ Chem Lett* 15: 537–545 <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0628-0>
- Moreau, D., Bardgett, R.D., Finlay, R.D., Jones, D.L., and Philippot, L.A. 2019.
A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Funct Ecol.* 33: 540– 552. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13303>
- Morella, N.M., Zhang, X., and Koskella B. 2019.
Tomato Seed-Associated Bacteria Confer Protection of Seedlings Against Foliar Disease Caused by *Pseudomonas syringae*. *Phytobiomes Journal* 3: 177-190
- Morgan, P.W. and Drew, M.C. 1997.
Ethylene and plant responses to stress. *Physiol Plant* 100:620–30
- Myster, J., and Moe, R. 1995.
Effect of diurnal temperature alternations on plant morphology in some greenhouse crops—a mini review. *Scientia Horticulturae*, 62(4), 205–215.
- Nair, A., Kolet, S.P., Thulasiram, H.V., and Bhargava, S. 2015.
Role of methyl jasmonate in the expression of mycorrhizal induced resistance against *Fusarium oxysporum* in tomato plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 92: 139-145

- Nardi, S., Pizzeghello, D., and Ertani, A. 2018.
Hormone-like activity of the soil organic matter. *Applied Soil Ecology*, 123: 517-520.
- O'Brien, P.A. 2017.
Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathol.* 46: 293–304 <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0481-4>
- Oh, E., Zhu, J.-Y., and Wang, Z.-Y. 2012.
Interaction between BZR1 and PIF4 integrates brassinosteroid and environmental responses. *Nature Cell Biology*, 14(8), 802–809.
- Park, K.C. and Chang, T.H. 2012.
Effect of chitosan on microbial community in soils planted with cucumber under protected cultivation. *Horticultural Science & Technology*, 30: 261-269.
- Paroussi, G., Voyiatzis, D.G., Paroussis, E., and Drogoudi, P.D. 2002.
Growth, flowering and yield responses to GA3 of strawberry grown under different environmental conditions. *Scientia Horticulturae*, 96(1–4), 103–113. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00058-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00058-4)
- Partida-Martinez, L.P. and Heil, M. 2011.
The Microbe-Free Plant: Fact or Artifact? *Frontiers in Plant Science* 2:100
- Patel, K., Goswami, D., Dhandhukia, P., and Thakker, J. 2015.
Techniques to Study Microbial Phytohormones in J. D.K. Maheshwari (ed.), Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. *Sustainable Development and Biodiversity* 12, DOI 10.1007/978-3-319-24654-3_1
- Patkowska, E., Pięta, D., and Pastucha, A. 2006.
The effect of Biochikol 020 PC on microorganism communities in the rhizosphere of Fabaceae plants. *Polish Chitin Soc. Monograph XI*, 171-178.
- Paul, K., Sorrentino, M., Lucini, L., Roupheal, Y., Cardarelli, M., Bonini, P., ... and Colla, G. 2019.
Understanding the biostimulant action of vegetal-derived protein hydrolysates by high-throughput plant phenotyping and metabolomics: A case study on tomato. *Frontiers in Plant Science*, 10: 47.
- Peniche, C., Argüelles-Monal, W., Goycoolea, F.M. 2008.
Chitin and chitosan: major sources, properties and applications. In *Monomers, polymers and composites from renewable resources* (pp. 517-542). Elsevier.
- Pichyangkura R. and Chadchawan S. 2015.
Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Sci Hort.*196: 49–65.
- Pieterse, C.M., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C., and Bakker, P.A. 2014.
Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol* 52:347-375. doi:10.1146/annurev-phyto-082712-102340
- Planas-Riverola, A., Gupta, A., Betegón-Putze, I., Bosch, N., Ibañes, M., and Caño-Delgado, A.I. 2019.
Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*, 146(5).
- Pocurull, M., Fullana, A.M., Ferro, M., Valero, P., Escudero, N., Saus, E., Gabaldón, T., and Sorribas, F.J. 2020.
Commercial Formulates of Trichoderma Induce Systemic Plant Resistance to Meloidogyne incognita in Tomato and the Effect Is Additive to That of the Mi-1.2 Resistance Gene. *Frontiers in microbiology*, 10, 3042. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03042>
- Polko, J.K., Voesenek, L.A.C.J., Peeters, A.J.M., and Pierik, R. 2011.
Petiole hyponasty: an ethylene-driven, adaptive response to changes in the environment. *AoB Plants*, 2011.
- Postma, J. 2004.
Suppressiveness of root pathogens in closed culture systems. *Acta Hort* 644, 503-510
DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.644.67
- Postma, J. and Nijhuis, E. 2019.
Pseudomonas chlororaphis and organic amendments controlling Pythium infection in tomato. *European Journal of Plant Pathology* 10.1007/s10658-019-01743-w.
- Poudel, R., Jumpponen, A., Kennelly, M.M., Rivard, C.L., Gomez-Montano, L., and Garrett, K.A. 2019.
Rootstocks Shape the Rhizobiome: Rhizosphere and Endosphere Bacterial Communities in the Grafted Tomato System. *Appl Environ Microbiol.* 85(2):e01765-18. doi: 10.1128/AEM.01765-18. PMID: 30413478; PMCID: PMC6328775.
- Premachandra, D., Hudek, L., and Brau, L. 2016.
Bacterial Modes of Action for Enhancing of Plant Growth. *J Biotechnol Biomater* 6: 236. doi:10.4172/2155-952X.1000236

Publicatieblad van de Europese Unie. 2019.

Verordening (eu) 2019/1009 van het europees parlement en de raad van 5 juni 2019 tot vaststelling van voorschriften inzake het op de markt aanbieden van EU-bemestingsproducten en tot wijziging van de Verordeningen (EG) nr. 1069/2009 en (EG) nr. 1107/2009 en tot intrekking van Verordening (EG) nr. 2003/2003.

Raho, N., Ramirez, L., Lanteri, M.L., Gonorazky, G., Lamattina, L., Ten Have, A., and Laxalt, A.M. 2011.

Phosphatidic acid production in chitosan-elicited tomato cells, via both phospholipase D and phospholipase C/diacylglycerol kinase, requires nitric oxide. *Journal of plant physiology*, 168: 534-539.

Ramírez-Chávez, E., López-Bucio, J., Herrera-Estrella, L., and Molina-Torres, J. 2004.

Alkamides isolated from plants promote growth and alter root development in Arabidopsis. *Plant physiology*, 134: 1058-1068.

Renaut, S., Masse, J., Norrie, J. P., Blal, B., and Hijri, M. 2019.

A commercial seaweed extract structured microbial communities associated with tomato and pepper roots and significantly increased crop yield. *Microbial Biotechnology*, 12, 1346– 1358.

Ravanbakhsh, M., Sasidharan, R., and Voesenek, L.A.C.J. 2018.

Microbial modulation of plant ethylene signaling: ecological and evolutionary consequences. *Microbiome* 6: 52 <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0436-1>

Rivas-San Vicente, M. and Plasencia, J. 2011.

Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3321–3338.

Rolfe, S.A., Griffiths, J., and Ton, J. 2019.

Crying out for help with root exudates: adaptive mechanisms by which stressed plants assemble health-promoting soil microbiomes. *Current Opinion in Microbiology*, 49: 73-82

Rose, M. T., Patti, A. F., Little, K. R., Brown, A. L., Jackson, W. R., and Cavagnaro, T. R. 2014.

A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. In *Advances in agronomy* 124: 37-89. Academic Press.

Sánchez-Cañizares, C., Jorrín, B., Poole, P.S., and Tkacz, A. 2017.

Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Curr Opin Microbiol.* 38:188-196. doi:10.1016/j.mib.2017.07.001

Sanmartín, N., Sánchez-Bel, P., Pastor, V., Pastor-Fernández, J., Mateu, D., José Pozo, M., Cerezo, M., and Flors, V. 2020.

Root-to-shoot signalling in mycorrhizal tomato plants upon Botrytis cinerea infection, *Plant Science* Volume 298, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110595>.

Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, Ma., and Glick, B.R. 2016.

Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research* 183:92-99

Sharp, R. G. 2013.

A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. *Agronomy*, 3: 757-793.

Schenk, S. T., Hernández-Reyes, C., Samans, B., Stein, E., Neumann, C., Schikora, M., Reichelt, M., Mithöfer, A., Becker, A., Kogel, K. H., and Schikora, A. 2014.

N-Acyl-Homoserine Lactone Primes Plants for Cell Wall Reinforcement and Induces Resistance to Bacterial Pathogens via the Salicylic Acid/Oxylipin Pathway. *The Plant cell*, 26(6), 2708–2723. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.126763>

Shaltiel-Harpaz, L., Masaphy, S., Tsrur, L., and Palevsky, E. 2016.

Biorational, Environmentally Safe Methods for the Control of Soil Pathogens and Pests in Israel. 10.1007/978-981-10-2576-1_16.

Shi, T.Q., Peng, H., Zeng, S.Y., Ji, R.Y., Shi, K., Huang, H., and Ji, X.J. 2017.

Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered*, 8(2), 124–128. <https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1212138>

Sinha, K.K., Choudhary, A.K., and Kumari, P. 2016.

Entomopathogenic fungi. In: Omkar (Ed.), *Ecofriendly pest management for food security*, pp. 475-505. London (UK): Academic Prints.

Song, Y., Ye, M., Li, Wang, R., Wei, X., Luo, S., and Zeng, R. 2013.

Priming of Anti-Herbivore Defense in Tomato by Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Involvement of the Jasmonate Pathway. *Journal of chemical ecology* 39. 10.1007/s10886-013-0312-1.

- Souza, R. d., Ambrosini, A., and Passaglia, L. M. 2015.
Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and molecular biology*, 38: 401–419. <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150053>
- Spaepen S. 2015.
Plant Hormones Produced by Microbes. In: Lugtenberg B. (eds) *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer, Cham
- Sponsel, V. M. and Hedden, P. 2010.
Gibberellin biosynthesis and inactivation. In *Plant Hormones* (pp. 63–94). Springer.
- Stavang, J. A., Lindgård, B., Erntsen, A., Lid, S. E., Moe, R., and Olsen, J. E. 2005.
Thermoperiodic stem elongation involves transcriptional regulation of gibberellin deactivation in pea. *Plant Physiology*, 138(4), 2344–2353.
- Stirk WA, Tarkowská D, Turečová V, Strnad M, and van Staden J. 2014.
Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak®, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*. *J Appl Phycol*. 26:561–567
- Stirk, W., Rengasamy, K., Kulkarni, M., and van Staden, J. 2020.
Plant Biostimulants from Seaweed: An Overview. In *The Chemical Biology of Plant Biostimulants*; Wiley: Hoboken, NJ, USA; Chapter 2; 320.
- Streminska M.A., Hollander P., de Boer A., and Ayik, A. 2019.
Systeemaanpak bodemgebonden ziekten en plagen. Rapport WPR-861
- Streminska, M.A, Breeuwsma, S.; Huisman, H.M.; de Vos, R., van Eekelen, H., Stevens, L., and van der Salm, C. 2020.
Green Challenges: plant en bodemweerbaarheid tegen ondergrondse ziekten. (Rapport WPR 943)
- Sun, J., Qi, L., Li, Y., Chu, J., and Li, C. 2012.
PIF4-mediated activation of YUCCA8 expression integrates temperature into the auxin pathway in regulating *Arabidopsis* hypocotyl growth. *PLoS Genet*, 8(3), e1002594.
- Sylla, J., Alsanus, B.W., Krüger, E., Reineke, A., Strohmeier, S., and Wohanka, W. 2013.
Leaf microbiota of strawberries as affected by biological control agents. *Phytopathology* 103:1001-11. doi: 10.1094/PHYTO-01-13-0014-R. PMID: 24020904.
- Tang, J., Han, Z., and Chai, J. 2016.
Q&A: what are brassinosteroids and how do they act in plants? *BMC Biology*, 14(1), 1–5.
- Tanimoto, E. 2012.
Tall or short? Slender or thick? A plant strategy for regulating elongation growth of roots by low concentrations of gibberellin. *Annals of Botany*, 110(2), 373–381.
- Tarakhovskaya, E.R., Maslov, Yu.I., and Shishova, M.F. 2007.
Phytohormones in Algae, Russ. J. *Plant Physiol.*, 54: 163–170.
- Tarkowská, D., Novák, O., Floková, K., Tarkowski, P., Turečková, V., Grúz, J., Rolčík, J., and Strnad, M. 2014.
Quo vadis plant hormone analysis? *Planta*, 240(1), 55–76.
- Tatsukami, Y. and Ueda, M. 2016.
Rhizobial gibberellin negatively regulates host nodule number. *Sci Rep* 6, 27998 <https://doi.org/10.1038/srep27998>
- Tehraniifar, A., and Battey, N.H. 1996.
Comparison of the effects of GA3 and chilling on vegetative vigour and fruit set in strawberry. *III International Strawberry Symposium* 439, 627–632.
- Tharanathan, R.N. and Kittur, F.S. 2003.
Chitin—the undisputed biomolecule of great potential.
- Valentine L. 2003.
Agrobacterium tumefaciens and the Plant: The David and Goliath of Modern Genetics. *Plant Physiology* 133(3): 948-955; DOI: 10.1104/pp.103.032243
- Vallance, J., Déniel, F., Le Floch, G., Guérin-Dubrana, L., Blancard, D., and Rey, P. 2011.
Pathogenic and beneficial microorganisms in soilless cultures. *Agron Sustain Dev* 31(1):191–203
- Van Butselaar, T. and Van den Ackerveken, G. 2020.
Salicylic Acid Steers the Growth–Immunity Tradeoff. *Trends in Plant Science*.
- Van Hoogdalem, M. D., van Ieperen, W., Heuvelink, E., and Kierkels, T. 2019.
-DIF verstoort biologische klok en suikerhuishouding en remt lengtegroei. Planten compacter bij gerichte temperatuur-en lichtregimes. *Onder Glas*, 16(4), 40–41.

- Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Kohl, J., Ravensberg, W. J., and Urbaneja, A. 2018.
Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39-59
- Verbon, E. H. and Liberman, L. M. 2016.
Beneficial Microbes Affect Endogenous Mechanisms Controlling Root Development. *Trends in plant science*, 21(3), 218–229. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.013>
- Verbon, E.H., Trapet, P.L., Stringlis, I.A., Kruijs, S., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J. 2017.
Iron and Immunity. *Annual Review of Phytopathology* 55: 355-375
- Wang M., Chen L., Li Y., Chen L., Liu Z., Wang X., Yan P., and Qing S. 2018.
Responses of soil microbial communities to a short-term application of seaweed fertilizer revealed by deep amplicon sequencing. *Appl. Soil Ecol.* 125: 288–296.
- Wang, Y. and Bouwmeester, H. J. 2018.
Structural diversity in the strigolactones. *Journal of Experimental Botany*, 69(9), 2219–2230.
- Werner, T., Nehnevajova, E., Köllmer, I., Novák, O., Strnad, M., Krämer, U., and Schmülling, T. 2010.
Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in Arabidopsis and tobacco. *The Plant Cell*, 22(12), 3905–3920.
- Willige, B. C., Isono, E., Richter, R., Zourelidou, M., and Schwechheimer, C. 2011.
Gibberellin regulates PIN-FORMED abundance and is required for auxin transport-dependent growth and development in Arabidopsis thaliana. *The Plant Cell*, 23(6), 2184–2195.
- Wolfgang, A., Zachow, C., Müller, H., Grand, A., Temme, N., Tilcher, R., and Berg, G. 2020.
Understanding the Impact of Cultivar, Seed Origin, and Substrate on Bacterial Diversity of the Sugar Beet Rhizosphere and Suppression of Soil-Borne Pathogens. *Frontiers in Plant Science* 11: 1450; URL=<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.560869>
- Yamaguchi, S. 2008.
Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 225–251.
- Yang, C., and Li, L. 2017.
Hormonal regulation in shade avoidance. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1527.
- Zhu, J.-Y., Oh, E., Wang, T., and Wang, Z.-Y. 2016.
TOC1–PIF4 interaction mediates the circadian gating of thermoresponsive growth in Arabidopsis. *Nature Communications*, 7(1), 1–10.
- Zandonadi, D.B., Matos, C.R.R., and Castro, R.N. 2019.
Alkamides: a new class of plant growth regulators linked to humic acid bioactivity. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 6, 23.
- Zeng, D. and Luo, X. 2012.
Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance. *Open Journal of Soil Science*, 2: 282.
- Zhang, W., Qin, C., Zhao, J., and Wang, X. 2004.
Phospholipase Dα1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 9508-9513.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Wageningen University & Research,
BU Glastuinbouw
Postbus 20
2665 ZG Bleiswijk
Violierenweg 1
2665 MV Bleiswijk
T +31 (0)317 48 56 06
www.wur.nl/glastuinbouw

Rapport WPR-996

De missie van Wageningen University & Research is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen University & Research bundelen Wageningen University en gespecialiseerde onderzoeksinstituten van Stichting Wageningen Research hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.800 medewerkers (6.000 fte) en 12.900 studenten behoort Wageningen University & Research wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.