Biostimulanten: soorten en werkingsmechanismen

Jonathan R. De Long, Marta A. Streminska en Caroline van der Salm

Rapport WPR-1076

WAGENINGEN UNIVERSITY & RESEARCH

Glastuinbouw Nederland morgen groeit vandaag

TOPSECTOR

boakkerbouw

nlo

Referaat
Biostimulanten worden steeds vaker gebruikt in de land- en tuinbouw, omdat gezocht wordt naar methoden om gebruik van kunstmatige meststoffen en pesticiden te beperken. Deze producten kunnen microbiële, niet-microbiële stoffen of combinaties van deze ingrediënten bevatten. Biostimulanten zijn gedefinieerd als een product dat de plantenvoedingsprocessen stimuleert, onafhankelijk van het nutriëntengehalte van het product, met als enige doel: het gebruik van nutriënten door de plant efficiënter te maken, de tolerantie tegen abiotische stress te verhogen, de kwaliteitskenmerken te verbeteren, en de beschikbaarheid van in de bodem of in de rhizosfeer vastgehouden nutriënten te vergroten. In dit rapport worden de verschillende typen microbiële en niet-microbiële biostimulanten beschreven en wordt ingegaan op de kennis die beschikbaar is over hun werkingsmechanismen. Uit dit overzicht blijkt dat de mechanismen achter de werking van deze producten verschillen maar er ook veel overlap is (Figuur 1). Tevens zien we dat veel producten een effect hebben op zowel de weerbaarheid tegen abiotische als biotische stress d.m.v. effecten op planthormonen en inhoudsstoffen van de plant of door effecten op de bodemweerbaarheid (microbioom). Ondanks de enorme hoeveelheid kennis, die de afgelopen jaren is verzameld over biostimulanten, blijven er nog veel openstaande vragen en obstakels bij de toepasing. De belangrijkste obstakels voor de praktijk zijn onduidelijkheid over de exacte samenstelling van producten, en over de omstandigheden (bv. abiotische condities, gewas, groeifase) waaronder de producten werkzaam zijn.

Abstract
Biostimulants are increasingly used in agriculture and horticulture as methods are sought to limit the use of artificial fertilizers and pesticides. These products may contain microbial or non-microbial substances as well as combinations thereof. Biostimulants are defined as products that stimulate the plant nutrient supply, independent of the nutrient content of the product, with the sole purpose of increasing plant nutrient use efficiency, tolerance to abiotic stress, the availability of nutrients retained in the soil or in the rhizosphere and improving overall quality characteristics of the plant increasing. This report describes the different types of microbial and non-microbial biostimulants and discusses the knowledge that is available regarding their modes of action. The mechanisms behind the effects of these products differ, but there is also substantial overlap. Many products have an effect on the resistance and resilience to both abiotic and biotic stress by means of effects on plant hormones and plant physiology or through effects on soil resistance and resilience (e.g., the microbiome). Despite the enormous amount of knowledge that has been gathered about biostimulants in recent years, many open questions and obstacles remain in their application. The main obstacles in practical use are uncertainty about the exact composition of products and the conditions (e.g. abiotic conditions, crop, growth phase) under which the products are most effective.

Rapportgegevens

Rapport WPR-1076
Projectnummer: 3750426300
DOI: https://doi.org/10.18174/551140
Thema: Gewasbescherming

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

Woord vooraf **5**

Samenvatting **7**

1 Biostimulanten, basisstoffen, en gewasbeschermingsmiddelen **9**

1.1 Biostimulanten 10
1.2 Basisstoffen 11
1.3 Gewasbeschermingsmiddelen 11
1.4 Leeswijzer 12

2 Microbiële gebaseerd producten **13**

2.1 Achtergrond 13
2.2 Mycorrhiza 13
2.3 Algemene schimmels 14
2.4 Bacteriën 15
2.5 De microbiële mixen 17

3 Niet-microbiële producten **19**

3.1 Achtergrond 19
3.2 Plant- en zeewierextracten 19
3.3 Compost (humus- en fulvinezuren) 20
3.4 Digestaten uit verse gewassen en bijproducten uit de voedselindustrie (eiwitten en glycoproteinen) 21
3.5 Nutriënt polymeren (o.a. chitosan) 21
3.6 Anorganische verbindingen & zouten 22
3.7 Mengsels van ingrediënten 23

4 Hoe werken ze? Werkingsmechanismen **25**

4.1 Microbiële producten 25
4.2 Niet-microbiële producten 30

5 Effectief gebruik van biostimulanten **33**

5.1 Achtergrond 33
5.2 Abiotische randvoorwaarden 33
5.3 Concentraties, chemische samenstelling & interacties 34
5.4 Gewasstadium & het effect van het seizoen 34
5.5 Bepaalde gewassen & rassen 35

6 Conclusies **37**

Literatuur **39**

Bijlage 1 Verklaring van wetenschappelijke termen **53**

Woord vooraf

Deze studie is uitgevoerd als onderdeel van het project Kennis op Maat: Kennistransfer Plantgezondheid gefinancierd door de Topsectoren Agri en food en tuinbouw en uitgangsmaterialen en de deelnemende private partijen Glastuinbouw Nederland, BO Akkerbouw en Nederlands Fruittelers Organisatie (NFO). We danken Aad Termorshuizen voor het delen van zijn eerdere inventarisatie naar biostimulanten en we danken de verschillende Kennis op Maat partners voor hun input en constructieve feedback.

Samenvatting

Biostimulanten worden steeds vaker gebruikt in de land- en tuinbouw, omdat de sector en industrie op zoek is naar methoden om gebruik van meststoffen en gewasbeschermingsmiddelen te beperken om uiteindelijke de milieu-impact te verlagen. Deze producten kunnen microbiële, niet-microbiële stoffen of combinaties van deze ingrediënten bevatten. Microbiële producten bevatten schimmels (mycorrhiza) en/of bacteriën. Niet-microbiële biostimulanten kunnen een breed assortiment stoffen bevatten: plantendelen- en zeewierextracten, humus- of fulvinezuren, digestaat uit energie gewassen (eiwitten), andere digestaten, bijproducten van de voedselindustrie (o.a. glycoproteinen), biopolymeren (o.a. chitosan), anorganische kationverbindingen of mengsels van (microbiële en/of niet-microbiële) ingrediënten. Voordelen van biostimulanten zijn onder meer: verbeterde algehele groei en kieming, verbeterde opbrengst, betere opname van voedingsstoffen en metabolische functie, verbindingen met zware metalen en andere giftige stoffen door chelatie, betere bodemstructuur en functie, hogere totale hoeveelheid voedingsstoffen in het product, verbeterde kwaliteit en houdbaarheid en betere weerbaarheid tegen abiotische en biotische stress. Al deze producten kunnen gewassen ten goede komen via zowel directe als indirecte effecten. De mechanismen achter de werking van deze producten kunnen verschillen, maar er is veel overlap. Voorgestelde mechanismen zijn o.a. aanschakelen van het plantenafweersysteem, verhoging en/of regulatie van de productie van planthormonen, voedselbron voor nuttige micro-organismen, productie van stoffen die een antagonistische werking hebben tegen ziekten en plagen, activering van bepaalde plantgenen, verhoging van fysieke verdediging, distributie van nutriënten binnen de plant, verandering in de bodemstructuur en het -microbioom, en veranderingen in plantfysiologie.

Ondanks de enorme hoeveelheid kennis die de afgelopen jaren is verzameld over biostimulanten, blijven er nog veel openstaande vragen en obstakels bij de toepasing. Een van de belangrijkste obstakels is het feit, dat de reproduceerbaarheid van resultaten in de praktijk vaak beperkt is, waardoor er mogelijk problemen kunnen ontstaan voor telers, die deze producten willen gebruiken om hun teelt te verbeteren. Verder bestaan er kennislacunes met betrekking tot de exacte mechanismen, de meest gunstige toepassingsregimes en -omstandigheden, effecten op specifieke gewassen en interacties tussen verschillende producten in (d.w.z. microbiële en niet-microbiële) biostimulanten. In deze review focussen we op biostimulanten, conform de EU-definitie, maar er komen indien nodig ook aanverwante basisstoffen en biologische gewasbeschermingsmiddelen ter sprake en beschrijven we de verschillende actieve ingrediënten en hun werkingsmechanismen. Ten slotte bespreken we de lacunes in de kennis met betrekking tot waargenomen effecten.

1 Biostimulanten, basisstoffen, en gewasbeschermingsmiddelen

We zitten midden in de tweede Groene Revolutie waarin wij zoeken naar alternatieve oplossingen om ziekten en plagen tegen te gaan en aanpassingen in bemestingsregimes in de land- en glastuinbouw te realiseren die minder schadelijke effecten op het milieu en de mensen hebben. Het gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen en kunstmest staat onder druk (Wesemael *et al.* 2011; Donley, 2019) en daardoor is het nodig om kostenefficiëntere en duurzamere alternatieven te vinden. In de afgelopen jaren is er vooruitgang geboekt in de ontwikkeling van verschillende soorten biostimulanten en zijn basisstoffen en gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong beschikbaar gekomen.

Een biostimulant is volgens de EU wetgeving ('Verordening EU 2019/1009; EUR-Lex - 32019R1009 - EN - EUR-Lex (europa.eu)) gedefinieerd als een product dat de plantenvoedingsprocessen stimuleert, onafhankelijk van het nutriëntengehalte van het product, met als enige doel:

- Het gebruik van nutriënten door de plant efficiënter te maken.
- De tolerantie tegen abiotische stress te verhogen.
- De kwaliteitskenmerken te verbeteren.
- De beschikbaarheid van in de bodem of in de rhizosfeer vastgehouden nutriënten te vergroten.

Deze wetgeving gaat per 16 juli 2022 in.

Basisstoffen zijn volgens EU verordening 1107/2009 gedefinieerd als stoffen die niet specifiek gebruikt worden als gewasbeschermingsmiddel, maar die wel een toegevoegde waarde hebben voor de gewasbescherming maar waarvoor de economische belangstelling om een toelating aan te vragen beperkt is. De toelating van deze stoffen en de gebruiksvoorwaarden worden geregeld door de European Food Safety Authority (EFSA) en de middelen zijn te vinden in de toelating databank van het WQel (Ctgb Toelatingen).

Gewasbeschermingsmiddelen (al dan niet van natuurlijke oorsprong) zijn volgens EU verordening 1107/2009 gedefinieerd als middelen die geheel of gedeeltelijk bestaan uit werkzame stoffen, beschermstoffen of synergiën, en die bestemd zijn voor: de bescherming van planten tegen schadelijke organismen, het beïnvloeden van levensprocessen van planten (m.u.v. nutriënten), de bewaring van plantaardige producten, vernietiging van ongewenste delen van planten of de beperking van ongewenste groei van planten.

Deze definities geven duidelijk aan dat er fundamentele verschillen zijn tussen de bovengenoemde middelen. Producten die een effect hebben op ziekten en plagen vallen niet onder de definitie van biostimulanten. Producten die dat wel hebben zoals basisstoffen en (natuurlijke) gewasbeschermingsmiddelen dienen een toelating te hebben door het EFSA.

Juridisch zijn deze verschillende producten dus duidelijk te onderscheiden. Producten die een werking hebben tegen ziekten en plagen (basisstoffen, gewasbeschermingsmiddelen) hebben een toelating nodig van het EFSA. In de praktijk zien we echter dat er een schermergebied bestaat van producten die als biostimulanten op de markt zijn maar niet volledig voldoen aan de EU-definitie bijvoorbeeld door het feit dat zij stoffen bevatten waar je redelijkerwijs van aan mag nemen dat zij ook een werking hebben tegen ziekten en plagen. In dit rapport en de bijbehorende database hebben we getracht zo veel mogelijk producten te bespreken die momenteel onder de categorie biostimulanten op de markt zijn. Hierbij bevinden zich dus producten die mogelijk een bredere werking hebben dan de wetgeving beschrijft. Waar mogelijk zullen wij dit aangeven.

1.1 Biostimulanten

Europa is de grootste markt in de wereld voor plant biostimulanten (uitgaande van de brede definitie), met een marktaandeel van 42% wereldwijd (Caradonia *et al.* 2019). De brede fundamentele definitie van een biostimulant is een stof die bioactieve component bevat die de efficiëntie van nutriëntgebruik en tolerantie tegen abiotische en biotische stress in planten verhoogt (Bulgari *et al.* 2015; Van Oosten *et al.* 2017; Yakhin *et al.* 2017b; Ricci *et al.* 2019a). Maar de EU-definitie is restrictiever. Volgens de EU definitie is een biostimulant: een product dat de plantenvoedingsprocessen stimuleert onafhankelijk van het nutriëntengehalte van het product met als enig doel het gebruik van nutriënten door de plant efficiënter te maken, de tolerantie voor abiotische stress en de kwaliteitskenmerken te verbeteren, of de beschikbaarheid van in de bodem of in de rhizosfeer vastgehouden nutriënten te vergroten (hier niet nader gespecificeerd) ('Verordening EU 2019/1009; EUR-Lex - 32019R1009 - EN - EUR-Lex (europa.eu)). Deze wetgeving treedt per 16 juli 2022 in werking. Op dit moment is nog niet exact bekend wat dit voor de Nederlandse situatie betekent. Volgens de nieuwe wetgeving moet de samenstelling van de biostimulanten in ieder geval bekend zijn. Biostimulanten krijgen in de toekomst een CE-keurmerk, ook hieraan worden eisen gesteld, zodat duidelijk is dat het product veilig is voor mens, dieren en het milieu (https://www.nen.nl/en/normcommissie-biostimulanten).

Biostimulanten kunnen in twee brede categorieën onderverdeeld worden: microbieel en non-microbieel (Tabel 1). Producten, die de tolerantie voor biotisch stress (ziekten en plagen) verhogen, zijn van deze definitie uitgesloten. Het hoofddoel van het gebruik van biostimulanten is verbeterde groei, productie of kwaliteit van gewassen. Een bijkomend voordeel is mogelijk een verminderde behoefte aan bemesting en gewasbescherming waardoor schadelijke effecten op het milieu verminderen.

Tabel 1
Samenvatting van de meest voorkomende soorten van biostimulanten die op de markt staat. Beschrijvingen gebaseerd op EU definitie (European Parliament Council of the European Union, 2019). Een preciezere definitie van de twee soorten van biostimulants is in H 1.1. te vinden.

Groep	Subgroep	Beschrijving
Microbiële	Algemeen schimmels[1]	Non-parasitaire (blad, bodem, endofyten) schimmels
	Mycorrhiza	Symbiotische schimmels
	Bacteriën	Nuttige bacteriën zoals *Rhizobium* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., etc.
Non-microbiële	Plant- en zeewierextracten	Oliën, weefsels, sappen, delen die uit planten, algen, padenstoelen en zeewier geëxtraheerd worden
	Compost (humus- en fulvinezuren	Humuszuren, fulvinezuren, humines, etc. die door microbiële en chemische afbraak van organische stoffen gecreëerd zijn
	Digestaten uit verse gewassen en voedselindustrie bijproducten (eiwitten, hydrolysaten, glycoproteïne)	Eiwithydrolysaten die zijn geproduceerd uit dierlijke en plantaardige residuen. Vrije aminozuren die zijn verkregen door enzymatische afbraak van agro-industriële bijproducten. Anaerobe vergisting geproduceerde stabiele organische verbindingen en nutriënten
	Nutriënt polymeren (o.a. chitosan)	Meest voorkomende zijn chitine (gevonden in o.a. schaaldieren) en chitosan die product is van deacetylisatie van chitine
	Anorganische verbindingen en zouten	Element zoals: aluminium, kobalt, natrium, selenium en silicium. Zouten zoals: chloorverbindingen, fosfaten, fosfieten, silicaten en carbonaten

1. Valt niet onder de Europese definitie van biostimulanten.

Microbiële biostimulanten bevatten verschillende micro-organismen zoals schimmels (mycorrhiza) en bacteriën of metabolieten daarvan. Alleen de volgende micro-organismen zijn toegelaten volgens de EU richtlijn: *Azotobacter* spp., mycorrhiza, *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp.

Niet-microbiële biostimulanten kunnen een breed assortiment stoffen bevatten: plantenextracten en -delen, compost (humuszuren), digestaat (restproduct van biogasproductie) uit energie gewassen (eiwitten), andere digestaten (zeewier extracten), bijproducten van de voedselindustrie (o.a. glycoproteinen), biopolymeren (o.a. chitosan), anorganische kationverbindingen of mengsel van ingrediënten.

Zowel microbiële als non-microbiële producten kunnen direct en indirect positieve invloed op gewassen hebben. Voorbeelden van directe effecten zijn de verbetering van de opname van nutriënten, veroorzaakt door mycorrhiza (microbiële) en verhoging van concentratie van benodigde spoorelementen in de bodem door toevoegingen van zeewier (non-microbiële). Voorbeelden van indirect effecten zijn: verhoging van stikstofbeschikbaarheid door *Azospirillum* bacteriën (microbiële) en het verlagen van de ziekte/plaag druk door toevoegingen van plantenextracten zoals grapefruit (niet-microbiële) die microbiële ziekten en plagen direct en indirect (door geïnduceerde resistentie) doden (Akhtar and Alam, 1993; Chen and Peng, 2019). Verder hebben deze microbiële en non-microbiële producten verschillende werkingsmechanismen b.v. versterking van de groei van de wortels, verandering van de samenstelling van het bodemleven of verhoging van stresstolerantie (voor zowel abiotische als biotische stress). Ten slotte, ondanks de ontwikkeling van de kennis over de werking van biostimulanten, zijn er nog veel kennislacunes. In het bijzonder zijn de randvoorwaarden voor optimale werking nog onbekend en de verkregen resultaten kunnen tussen gewassen en voor verschillende rassen verschillen.

1.2 Basisstoffen

Basisstoffen zijn producten, die al op de markt beschikbaar zijn voor een ander doel (b.v. een voedingsmiddel), maar die ook mogelijk neveneffecten tegen plantenziekten hebben (Marchand, 2015; Marchand, 2017). Verder geeft de EU regelgeving aan dat, voor de toelating als basisstof, de stof een laag risico moet hebben en worden, hormoon verstorende of toxische stoffen uitgesloten (draft Basic substances guidance (europa.eu)). Verder, zoals met biostimulanten, moet een basisstof beoordeeld zijn in overeenstemming met de definitie en wetgeving voor de toepassing van basisstoffen en geen onmiddellijk of uitgesteld effect hebben op de gezondheid van mens, dier of het milieu (https://www.ctgb.nl/onderwerpen/basisstoffen). Een paar voorbeelden van basisstoffen die gebruikt kunnen worden zijn: sucrose, azijn, chitosan HCl en extracties van verschillende plantendelen (b.v. *Equisetum arvense*, *Salix* spp., uien). Deze stoffen zijn toegelaten voor bepaald gebruik zoals aangeven in de bijbehorende toelating. Deze stoffen kunnen verschillende effecten hebben, zoals bestrijding van ziekten en plagen, herbicide werking of verbetering van beschikbaarheid van de spoorelementen. Het is niet toegestaan deze producten als gewasbeschermingsmiddel op de markt te brengen (www.ctgb.nl/onderwerpen/basisstoffen), wel mag worden verwezen naar de toelating als basisstof.

1.3 Gewasbeschermingsmiddelen

Gewasbeschermingsmiddelen zijn gedefinieerd als middelen, die in de vorm waarin zij aan de gebruiker worden geleverd, geheel of gedeeltelijk bestaan uit werkzame stoffen, beschermstoffen of synergiën, en die bestemd zijn voor bepaalde toepassingen. Deze toepassingen zijn: de bescherming van planten of plantaardige producten tegen alle schadelijke organismen (o.a. ziekten, plagen, herbivoren), het beïnvloeden van de levensprocessen van planten, zoals het beïnvloeden van hun groei, voor zover het niet gaat om nutriënten, de bewaring van plantaardige producten, de vernietiging van ongewenste planten of delen van planten, en de beperking of voorkoming van de ongewenste groei van planten (www.ctgb.nl/onderwerpen/gewasbeschermingsmiddel). Gewasbeschermingsmiddelen kunnen synthetisch geproduceerd zijn of van natuurlijke oorsprong. Daarnaast kunnen gewasbeschermingsmiddelen, afhankelijk van hun eigenschappen, geclassificeerd worden als laag risicomiddel in twee brede categorieën verdeelt: kunstmatige of chemische en biologische middelen. Alle werkzame stoffen moeten door een Europees beoordelingsproces en voor gebruik in een middel moet het in Nederland door het college voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden (Ctgb) worden toegelaten. In dit proces wordt gekeken naar de werkzaamheid, de effecten op het milieu, dier en mens en de fysische chemische eigenschappen (https://www.ctgb.nl/gewasbeschermingsmiddelen/aanvraagproces/beoordeling-fase).

1.4 Leeswijzer

In dit rapport geven we een overzicht van de verschillende categorieën biostimulanten die op de markt beschikbaar zijn in Nederland en hun werkingsmechanismen. Hierbij zijn we zo veel mogelijk uitgegaan van de definitie van biostimulanten zoals die voor Europa momenteel wordt gehanteerd (zie 1.1). De werking van veel biostimulanten is echter breed en sommige biostimulanten hebben eigenschappen die verder gaan dan volgens de huidige regelgeving wordt aangegeven (met name werking richting biotische stress). De in dit rapport genoemde werking van biostimulanten is gebaseerd op in de wetenschappelijke literatuur beschikbare data, waarbij we ons dus niet beperken tot de mechanismen die volgens de wet toelaatbaar zijn voor biostimulanten. We gaan in dit rapport ook in op de kennislacunes in het effectief gebruik van deze middelen in de praktijk.

In de bijlage van dit rapport staat een woordenlijst met de belangrijkste wetenschappelijke begrippen die in dit rapport gebruikt worden.

2 Microbiële gebaseerd producten

2.1 Achtergrond

Micro-organismen, evenals andere soorten van bodemleven, zijn altijd aanwezig in de bodem en het groeisubstraat, maar ook in water, lucht en plantmateriaal zelf (zaden, stekken, etc.) (Sánchez-Cañizares *et al.* 2017). Bijvoorbeeld, in de plantrhizosfeer (zone direct aangrenzend aan de wortels) bevinden zich soms >30000 soorten micro-organismen, met een dichtheid tot 10^{11} bacteriën per gram wortel (Berendsen *et al.* 2012). Micro-organismen kunnen zich vestigen op zowel ondergrondse (rhizosfeer) als bovengrondse (fyllosfeer) delen van de plant (Sánchez-Cañizares *et al.* 2017). Endofyten zijn micro-organismen, die in staat zijn om binnen het plantweefsel te groeien (Santoyo *et al.* 2016). Deze micro-organismen kunnen schadelijk (d.w.z. ziekmakend) zijn, maar er bestaan ook veel micro-organismen die nuttige en versterkende effecten op de gezondheid, weerbaarheid, groei en productiviteit van planten hebben. Planten kunnen ook zelf de samenstelling van het bodemleven (bodemmicrobioom) beïnvloeden, via wortelexudaten, om zich te beschermen tegen ziekten en plagen, de voedingsopname te verbeteren of de tolerantie tegen abiotische stress te verhogen (Rolfe *et al.* 2019).

Er bestaan veel biostimulanten en gewasbeschermingsmiddelen die gebruik maken van nuttige micro-organismen. Positieve effecten veroorzaakt door micro-organismen kunnen zowel direct als indirect optreden. Directe effecten treden bijvoorbeeld op door de productie van antibiotica of vluchtige stoffen die pathogenen afdoden of inactiveren (antagonisme) of door parasitisme (lytische enzymen, zoals chitinase, die mycelium van schimmels en eieren van aaltjes of insecten afbreken). Indirecte effecten omvatten: effecten door concurrentie om ruimte en nutriënten (zoals bij het gebruik van *Trichoderma* spp.) en door effecten op de plantweerbaarheid bijvoorbeeld door het aanschakelen van geïnduceerde systemische resistentie (ISR) van planten (Köhl *et al.* 2019).

In biostiumulanten mag volgens de Europese regelgeving alleen gebruik gemaakt worden van mycorrhiza en van een drietal bacteriën *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp.

Een overzicht van de mogelijke effecten van de verschillende componenten is te vinden in Tabel 2.

2.2 Mycorrhiza

Mycorrhiza zijn schimmels die een symbiotische relatie met planten vormen. Symbiotische schimmels zijn schimmels die als ze samenleven met een plant, voordelen voor de plant en de schimmel kunnen hebben. Mycorrhiza kunnen binnen het wortelweefsel van een plant zitten (zogenoemde arbusculaire mycorrhiza of endomycorrhiza) of op het oppervlak van de wortel zitten (zogenoemde ectomycorrhiza). De meest relevante voor landbouw en glastuinbouw zijn de arbusculaire mycorrhiza, maar er zijn uitzonderingen (Munyanziza *et al.* 1997). Mycorrhiza kunnen hun gastplanten met verschillende functies helpen (Tabel 2) zoals nutriëntenopname (in het bijzondere fosfor), wateropname bij droogte, tolerantie tegen zoutstress en andere stress (Latef *et al.* 2016). Kolonisatie door mycorrhiza kunnen ook een positieve invloed op de nutriëntengehalten van een gewas hebben waardoor het gezonder is voor mensen (Sbrana *et al.* 2014). Biostimulanten kunnen verschillende soorten mycorrhiza bevatten als ingrediënt (Rouphael *et al.* 2015).

Er zijn meerdere voorwaarden om een succesvolle verhoging van de weerbaarheid van een gewas door een inoculatie van mycorrhiza te garanderen. De meest belangrijke condities zijn: een mycorrhiza met een hoog aantal sporen, afwezigheid van ziekten en plagen in het inoculum, aanwezigheid van nuttige bacteriën (om een synergie te maken en/of de aanwezigheid van zogenoemde "helper bacteria" die binnen of op de mycorrhiza zitten en helpen met verschillende functies (Tarkka and Frey-Klett, 2008)) en een droog inoculatie medium (d.w.z. een product met een lange houdbaarheid die in een droge vorm is) (Rouphael *et al.* 2015).

Daarnaast kan een mengsel van soorten van mycorrhiza, die elkaar versterken (functionele redundantie (zie subhoofd 2.5), het succes verbeteren, maar vaak is één goede stam van één soort van mycorrhiza beter. Een geschikte bodem- en substraatomgeving is ook nodig zoals een gunstige pH, nutriëntenstatus en geschikte soorten organische stoffen (Cavagnaro, 2014; Rouphael *et al.* 2015). Een passend management is ook belangrijk. De gangbare teeltmaatregelen in de glastuinbouw en akkerbouw, zoals gebruik van kunstmest- en gewasbeschermingsmiddelen, vruchtwisseling met ongeschikte gastplantgewassen en een hoge niveau van verstoring (b.v. ploegen) kunnen een negatieve invloed op de aanwezigheid en het functioneren van mycorrhiza hebben (Gosling *et al.* 2006).

Biostimulanten kunnen verschillende soorten en stammen van mycorrhiza bevatten. De meest gebruikt zijn soorten en stammen uit taxa zoals *Acaulospora* spp., *Claroideoglomus* spp., *Funneliformis* spp., *Gigaspora* spp., *Glomus* spp., *Rhizophagus* spp. en *Scutellospora* spp. (Pylak *et al.* 2019; Giovannini *et al.* 2020). Deze soorten en stammen kunnen verschillende effecten op gewassen hebben. Bijvoorbeeld biostimulanten die de mycorrhiza *Claroideoglomus etunicatum* bevatten kunnen planten weerbaarder maken tegen droogte en ziekten (Deng *et al.* 2020). Mycorrhiza die samen met andere soorten schimmels toegevoegd worden, kunnen ook synergistische of additieve effecten op gewassen hebben, zoals de toevoeging van combinatie *Trichoderma atroviride* en *Rhizophagus irregularis* (Colla *et al.* 2015b).

2.3 Algemene schimmels

Er zijn op dit moment veel schimmelsoorten bekend, die positieve effect kunnen hebben op ontwikkeling en productiviteit van de planten. Dit soort schimmels zijn echter niet toegelaten in biostimulanten volgens de EU-regelgeving maar sommige soorten hebben wel een toelating als gewasbeschermingsmiddel. Voor de volledigheid bespreken we zie hier echter wel. Sommige schimmels in o.a. de geslachten *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Piriformospora*, *Phoma* en *Rhizoctonia*, hebben het natuurlijke vermogen om groei van planten te stimuleren (Hossain *et al.* 2017). Maar bepaalde soorten/stammen schimmels van uit bovenstaande lijst kunnen juist ziekten veroorzaken bv die van de geslachten *Fusarium*, *Trichoderma* en *Rhizoctonia*.

Eén van de meest bekende zijn *Trichoderma* schimmels. *Trichoderma* is een divers schimmelgeslacht, met ongeveer 200 geïdentificeerd soorten met een wereldwijde distributie (Kubicek *et al.* 2008). In algemeen is *Trichoderma* een snelgroeiende schimmel die op veel plekken in het ecosysteem gedijd, zoals in de rhizosfeer van planten. Dit is een belangrijke eigenschap van *Trichoderma* voor de werking als gewasbeschermingsmiddel en daarom zitten *Trichoderma* spp. in meer dan 60% van gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong (López-Bucio *et al.* 2015). Deze schimmels hebben een groot aantal nuttige functies in de bodem en het substraat. Ze kunnen ziekten en plagen controleren, stimuleren wortelgroei, dankzij productie van planthormonen en nutriëntenopname en verhogen de weerbaarheid tegen abiotisch stress (López-Bucio *et al.* 2015). Plant pathogene bacteriën zijn in algemeen niet bijzonder kwetsbaar voor aanvallen door *Trichoderma* spp., want het metabolisme van bacteriën is te snel voor de langzamere groeiende *Trichoderma* om de plaats van bacteriën over te nemen en hen te doden (Verma *et al.* 2007). Plagen zoals wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) kunnen ook gecontroleerd worden door *Trichoderma* spp. (Martínez-Medina *et al.* 2017). Er is verder bewijs dat bladtoepassing van bepaalde soort van *Trichoderma* een effect heeft op bovengrondse plagen zoals bladluizen (Ganassi *et al.* 2001), maar verder onderzoek is nodig om het volledige potentieel van *Trichoderma* spp. als een bestrijdingsmiddel tegen geleedpotigen te ontdekken. *Trichoderma* spp. kunnen ook gebruikt worden als een onkruidbestrijdingsmiddel (Evans, 1998), maar net als voor de bestrijding van geleedpotigen is meer onderzoek nodig.

Naast *Trichoderma* worden de hieronder beschreven schimmels in biostimulanten en gewasbeschermingsmiddelen gebruikt. *Purpureocillium* spp. is een schimmel, die stoffen produceert die gebruikt kunnen worden om ziekten zoals *Phytophthora* te bestrijden (Wang *et al.* 2016). *Purpureocillium lilacinum* strain 251 heeft ook een antagonistisch effect op wortelknobbelaaltjes, die waarschijnlijk veroorzaakt wordt door parasitisme op de eieren van de aaltjes (Dahlin *et al.* 2019). *Beauveria bassiana* is een zeer effectief in het doden van insecten en het kan gebruikt worden tegen insectenplagen zoals bladluizen, witte vliegen, schaalinsecten, trips en rupsen (Ownley *et al.* 2004; McKinnon *et al.* 2017). Het kan ook planten tegen Rhizoctonia en Pythium beschermen evenals tegen bepaalde bacteriële ziekten (Ownley *et al.* 2008). Inoculaties met *Gliocladium catenulatum* kunnen gebruikt worden tegen Pythium en Rhizoctonia (Paavanen-Huhtala *et al.* 2000; Punja and Yip, 2003). De entomopathogene schimmel *Isaria fumosorosea* (gevonden in het product PFR97® van Certis) kan zuigende insecten, rupsen, mijten en snuitkevers net zoals meeldauw controleren (Marrone, 2019). Een andere soort van entomopathogene schimmel, *Metarhizium anisopliae*, wordt al meer dan 130 jaar gebruikt voor gewasbescherming en kan meer dan 200 insecten infecteren (Zimmermann, 2007). Niettemin, net zoals met bijna alle schimmels, die ingezet worden voor gewasbescherming, is het belangrijk de geschikte stam te gebruiken om bepaalde insecten te controleren. Een voorbeeld van het belang van de geschikte stam is het gebruikt van non-pathogene *Fusarium oxysporum* als een biocontrol. Gebruik van de *Fusarium oxysporum* FO12 strain kan pathogenen zoals *Verticillium dahliae* en pathogenetische strains van *Fusarium oxysporum* controleren (Blok *et al.* 1997; Mulero-Aparicio *et al.* 2019). De oomycete *Pythium oligandrum* kan pathogenen controleren door zowel directe effecten als indirect effecten (d.w.z. aanschakelen van het plantafweersysteem) (Gerbore *et al.* 2014)

2.4 Bacteriën

Er is een groot aantal bacteriën bekend, die als biostimulant gebruikt kunnen worden. De Europese regelgeving staat toe dat de bacteriën *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp. In biostimulanten voorkomen. Alle bacteriën, die de groei van planten kunnen verbeteren of de weerbaarheid van planten tegen ziekten, plagen en abiotische stressen verhogen, worden plantgroei bevorderende bacteriën genoemd (Engels: Plant growth promoting bacteria, or PGPB) (Souza *et al.* 2015). Ze kunnen binnen of buiten het plantweefsel zitten en, afhankelijk van de soort, kunnen ze in bepaalde organen van de plant (d.w.z. wortels, bladeren, bloemen, stengels) voorkomen (Santoyo *et al.* 2016). De werkingsmechanismen van deze bacteriën verschillen. Bijvoorbeeld bacteriële soorten, die het plant stress hormoon ethyleen kunnen beïnvloeden, kunnen de weerbaarheid van een plant tegen ziekten en plagen en tegen abiotische stress verhogen (Glick, 2014). Andere bacteriën kunnen een negatief effect op ziekten en plagen hebben (Nega, 2014). Meer informatie over mechanismen staat in hoofdstuk 4.

De meest bekende nuttige plant-geassocieerde bacteriën zijn mogelijk de soorten in geslacht *Rhizobium*. Zij gaan symbiotische relaties aan met de wortels van planten uit *vlinderbloemigen* familie en helpen bij de fixatie van atmosferische stikstof (Datta *et al.* 2015); d.w.z. ze halen stikstof uit de lucht die bijdraagt aan de voeding van de planten. De relatie tussen deze bacteriën en *vlinderbloemigen* is al meer als 100 jaren bekend (Hellriegel and Wilfarth, 1888). Recent onderzoek liet zien dat *Rhizobium* bacteriën ook met andere gewassen, zoals rijst, symbiotische relaties kunnen vormen (Yanni and Dazzo, 2010). Sommige *Rhizobium* soorten helpen planten bij de stikstofopname, maar er is een variatie in de efficiëntie van dit proces, die verschilt afhankelijk van de soort bacterie en gewas (Atkins, 1984). Voordelen van *Rhizobium* zijn breder dan alleen stikstof fixatie. Er is bewijs dat *Rhizobium* bacteriën kieming en groei van zaailingen kunnen stimuleren (Zaim *et al.* 2017).

Azospirillum spp. zijn bacteriën die stikstof in de lucht naar bruikbare vormen zoals ammonium omzetten. In tegenstelling tot *Rhizobium* werkt *Azospirillum* vooral bij granen en grassen (Michiels *et al.* 1989). Fixatie van stikstof is niet het enige proces, waarin deze bacteriën een rol spelen. Ze kunnen ook gibberelline produceren (Sivasakthivelan and Saranraj, 2013), dit zijn belangrijke planthormonen die invloed hebben op o.a. de ontwikkeling van plantweefsels, bloeitijd en het kiemen. *Azospirillum* spp. produceren ook antimicrobiële stoffen, die planten tegen ziekten kunnen beschermen (Tortora *et al.* 2011).

Naast symbiotische bacteriën *Rhizobium* en *Azospirillum* spp. kunnen ook de leden van vrijlevende geslacht *Azotobacter* stikstof fixeren (Jnawali *et al.* 2015). Het is al lang bekend dat *Azotobacter* spp. planthormonen, zoals auxine en gibberelline-achtige stoffen, kunnen produceren met een positieve invloed op groei en vruchtproductie (Azcón and Barea, 1975). Gebruik van middelen, die *Azotobacter* spp. bevatten, kan bijdrage aan de opname van nutrieten door de plant zoals koolstof, stikstof, fosfor en zwavel en daardoor de voedingswaarde van een gewas verbeteren (Lévai *et al.* 2008). Ze maken ook antischimmelstoffen aan (gelijkwaardig aan andere stoffen die door andere bacteriën geproduceerd zijn) die ziekten kunnen bestrijden en *Azotobacter* spp. kunnen ook ziekten beconcurreren (Jnawali *et al.* 2015).

Micro-organismen kunnen ook positieve bijdrage leveren aan vergroten van de fosfor (P) beschikbaarheid voor de planten (Glick, 2012). Fosfor is een essentieel hoofdelement voor de plantengroei, die belangrijk is 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 (d.w.z. afbraak van stoffen zonder zuurstof) (Macura *et al.* 2019). Sommige plantengroeibevorderende micro-organismen, zoals bepaalde stammen van Azotobacter, Bacillus, Beijerinckia, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Microbacterium, Pseudomonas, Rhizobium en Serratia kunnen beschikbaarheid van fosfor vergrotten door die 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, die nodig is voor o.a. biosynthese van chlorofyl, fotosynthese en ademhaling (Souza *et al.* 2015). In aerobe omstandigheden (d.w.z. met voldoende zuurstof), in de grond of substraat, is beschikbaarheid van ijzer vaak gelimiteerd door snelle omzetting (oxidatie) van plant beschikbaar Fe^{2+} naar Fe^{3+}, die 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 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 productie van sideroforen. Sideroforen vormen chelaten met Fe^{3+}, waardoor het ijzer beter beschikbaar komt voor de plant (Souza *et al.* 2015). Sideroforen spelen ook een rol in actief transport van ander metalen dat ijzer, en bij de signaalinteractie tussen plant en micro-organismen en kunnen ook antimicrobiële activiteit hebben (Kramer *et al.* 2020).

Volgens nieuwe definitie van EU mogen dus alleen bacteriën van geslachten *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp. aanwezig zijn in biostimulanten. Echter, uit wetenschappelijk onderzoek blijkt dat meerdere bacteriële geslachten een bijdrage kunnen leveren aan betere groei en verhoging van kwaliteit van verschillende gewassen. Ook zijn er veel producten op de markt beschikbaar op basis van bij voorbeeld *Pseudomonas* of *Bacillus* soorten. Het geslacht *Bacillus* heeft een groot aantal nuttige soorten/stammen die zowel in biostimulanten en gewasbeschermingsmiddelen worden gebruikt. *Bacillus* spp. heeft een positieve werking op de bescherming van planten door productie van antimicrobiële stoffen, indirect bescherming door het aanschakelen van het plantenafweersysteem, concurrentie met andere ziekten en plagen en versterking van de groei (Shafi *et al.* 2017). Bovendien zijn deze bacteriën makkelijk te gebruiken in geformuleerde producten, omdat ze endosporen produceren die langere tijd, zelfs jaren, kunnen overleven tijdens bewaring.

Leden van het geslacht *Pseudomonas* hebben ook veel nuttige eigenschappen en worden vaak in gewasbeschermingsmiddelen en biostimulanten gebruikt (Compant *et al.* 2005). Zoals *Bacillus* spp., kunnen deze bacteriën zowel een directe invloed op pathogenen hebben en ook indirecte effecten veroorzaken door het beïnvloeden van het plantafweersysteem (Santoyo *et al.* 2012). Bijvoorbeeld onderzoek op *Pseudomonas stutzeri* YPL-A liet zien dat deze bacterie een chitinase enzym produceert en dat dit enzym de mycelium van de schimmelpathogeen *Fusarium solani* vernietigt (Lim *et al.* 1991). Verder kunnen *Pseudomonas* spp. ijzer chelerende stoffen produceren waardoor ze pathogene micro-organismen van ijzer beroven (en tegelijker tijd de beschikbaarheid van ijzer voor de planten verhogen) en daardoor de plant beschermen (Kloepper *et al.* 1980). Andere soorten van *Pseudomonas* (ook leden van *Bacillus* en *Rhizobium*) kunnen de oplosbaarheid en mineralisatie van fosfaat verhogen en daardoor de beschikbaarheid van dit belangrijke nutriënt in de bodem verhogen (Rodŕiguez and Fraga, 1999).

Streptomyces spp. vormen ongeveer 10% van de bodem microbiële gemeenschap (Janssen, 2006). Ze hebben vergelijkbare functies als *Pseudomonas* en *Bacillus* soorten, maar er bestaat een grotere kans dat leden van *Streptomyces* (non-plantpathogenen) negatieve effecten op nuttige bodem micro-organismen kunnen hebben (Schrey and Tarkka, 2008). Daardoor is het belangrijk alleen gunstige soorten te selecteren voor gebruik in biostimulanten en gewasbeschermingsmiddelen. Interacties tussen *Streptomyces* spp. en andere micro-organismen moeten goed worden begrepen.

Belangrijk is om niet te vergeten dat groeibevorderende eigenschappen in bacteriën en schimmels vaak stam specifiek zijn, dus bijvoorbeeld niet alle *Bacillus amyloliquefaciens* isolaten zullen op dezelfde manier de groei bevorderen. Verder zijn er nog steeds witte vlekken over de lange termijn effecten van gebruik van bacteriële producten op de samenstelling van de bodemgemeenschap van micro-organismen (Ambrosini *et al.* 2016). Potentieel kan de toevoeging van verschillende bacteriën aan de grond onverwachte effecten- hebben die zowel gunstig als schadelijke kunnen zijn.

Een overzicht van de effecten van bacteriën staat in Tabel 2.

2.5 De microbiële mixen

Veel biostimulanten op de markt gebruiken een mengsel van micro-organismen (Pylak *et al.* 2019). Op dit moment voldoen niet al deze mengsel aan de wettelijke EU-definitie; zie Hooftstuk 1. Mengsels kunnen de werking van biostimulanten verbeteren. Dit komt bijvoorbeeld omdat sommige bacteria beter werken onder de abiotische condities (zoals temperatuur, vochtigheid, pH) in de bodem of het substraat dan anderen. Of meerdere bacteriën hebben dezelfde functie, maar vestigen zich beter onder verschillende condities. Door het gebruik van een mix aan organismen neemt de waarschijnlijkheid van een succesvol effect toe. Dit concept wordt "functionele redundantie" genoemd (Ambrosini *et al.* 2016; Joner *et al.* 2019). In hoofdstuk 5 wordt verder ingegaan op de abiotische en biotische randvoorwaarden en andere beperkingen in het gebruik van biostimulanten te lezen.

Positieve effecten voor gewassen veroorzaakt door bacteriën, schimmels en andere micro-organismen gebeuren niet in een vacuüm; d.w.z. het is niet een interactie tussen één plant en één micro-organismen. Er zijn veel andere micro-organismen in de bodem, op en in de omgeving van de wortels in het substraat of de bodem, die met elkaar en planten communiceren (Miransari, 2011). Deze gemeenschap van micro-organismen die in de buurt (d.w.z. rhizosfeer) van de wortels voorkomen wordt microbiota genoemd (Berendsen *et al.* 2012). De effecten, die de microbiota met zich mee brengen (genoemd het microbioom), speelt een grote rol in de bepaling van de gezondheid van een plant door effecten op groei, plantenvoeding en gezondheid (Pieterse *et al.* 2016).

Het is theoretische mogelijk het microbioom van de wortels te sturen in een richting die voordelen voor de planten heeft (Pineda *et al.* 2017; Wang and Li, 2019). Door o.a. toevoegingen van specifieke organische stoffen, die de micro-organismen als voedselbron gebruiken, kan het microbioom beïnvloed worden en zo kan een weerbare bodem worden gecreëerd (Noble and Coventry, 2005; De Corato, 2020). Bovengrondse behandeling, zoals bladbespuiting, met jasmijn- en/of salicylzuur, kan ook invloed hebben op het wortelmicrobioom. Behandeling met deze stoffen stimuleert de productie van bepaalde soorten organische verbindingen in wortelexudaten, die aantrekkelijk zijn voor de nuttige micro-organismen (Carvalhais *et al.* 2017). Deze nuttige micro-organismen kunnen de plantgroei bevorderen en schadelijke micro-organismen tegengaan. Er is al veel onderzoek gedaan in de akkerbouw naar het sturen van het microbioom van de bodem (Oka, 2010; Postma and Schilder, 2015; Vukicevich *et al.* 2016). Met de ontwikkeling van een inoculatie technieken zou het mogelijk zijn om een bepaalde nuttige gemeenschap van bodemmicro-organismen aan de bodem of het substraat toe te voegen (Compant *et al.* 2019). Zulke inoculatie technieken hebben succes gehad in de restoratie van natuurlijke ecosystemen (Butt *et al.* 1995; Wubs *et al.* 2016) en er is ook onderzoek gedaan in de sierteelt (Ma *et al.* 2018; Pangesti *et al.* 2020) en in de akkerbouw (Abbott and Robson, 1982; Maqubela *et al.* 2009). Maar helaas zijn er nog veel witte vlekken in onze kennis over het wortelmicrobioom (Fierer, 2017) en micro-organismen inoculatie technieken (Trabelsi and Mhamdi, 2013; Parnell *et al.* 2016). Het is nog niet bekend, hoe we precies een recept kunnen maken om de weerbaarheid van de bodem op robuuste, reproduceerbaar manier kunnen verhogen, via manipulatie van het wortelmicrobioom. Meer fundamentele kennis is nodig om een goede handvatten voor de inzet van het microbioom te ontwikkelen.

3 Niet-microbiële producten

3.1 Achtergrond

Planten hebben meer dan alleen bemesting nodig om goed te groeien. Veel non-microbiële biostimulanten bevatten stoffen, anders dan macro- of spoornutriënten, die verschillende positieve invloeden op planten kunnen hebben (Tabel 3). Non-microbiële biostimulanten bevatten diverse ingrediënten van verschillende herkomst. De meest voorkomende ingrediënten in niet-microbiële biostimulanten zijn plant en zeewier extracten/delen, compost (d.w.z. humus- en fulvinezuren), digestaten uit verse gewassen en bijproducten (proteïne hydrolysaten), nutriënt polymeren (zoals chitine), anorganische verbindingen en zouten en mengsels van de bovengenoemde ingrediënten (Nardi *et al.* 2016). Van alle niet-microbiële producten op de markt in de EU nemen de producten die uit humus- en fulvinezuren en digestaten gemaakt zijn ongeveer 50% van het totaal in, terwijl producten gemaakt uit zeewier 37% van de markt beslaan (Rouphael and Colla, 2018).

Zoals het is in geval van microbiële biostimulanten, treden er bij gebruik van niet-microbiële producten zowel directe als indirecte effecten op groei, plantgezondheid en weerbaarheid op. Een voorbeeld van een indirect effect is aanschakelen van geïnduceerde resistentie van planten tegen abiotisch (o.a. droogte, zoutstress) evenals biotisch stress (ziekten, plagen). Directe effecten zijn verbeterde groei door aanwezigheid van bepaalde voedingsstoffen in planten maar daarnaast is bekend dat sommige niet microbiële biostimulanten stoffen bevatten die bepaalde ziekten en plagen tegengaan door productie van antibiotica, lytische enzymen (b.v. chitine) of vluchtige stoffen. Een overzicht van de mogelijke effecten van de verschillende componenten is te vinden in Tabel 2.

3.2 Plant- en zeewierextracten

Extracten van planten en zeewieren zijn veel voorkomende ingrediënten in biostimulanten (Nardi *et al.* 2016). Deze extracten vallen onder de EU-definitie van biostimulanten (European Parliament Council of the European Union, 2019). De meest voorkomende plantenextracten worden uit delen van bladeren, olie en zaden van planten gemaakt. Plantextracten kunnen effecten op de algemene plantgroei en chlorofylbiosynthese (d.w.z. productie van chlorofyl) hebben (Chauhan *et al.* 2018). Bepaalde effecten op nutriënteninhoud in de bodem en planten zijn ook aangetoond. Het herstel van ijzertekort bij aardbeien werd waargenomen wanneer een biostimulant gemaakt van grassen werd toegepast (Saavedra *et al.* 2020). Het gebruik van een uit vlinderbloemigen afgeleid product, verhoogde de weefselconcentraties van antioxidanten in sla, waardoor de gezondheidseigenschappen van het gewas toenamen (Saavedra *et al.* 2020). Effect op vermindering van abiotisch stress is ook aangetoond. Effecten op nutriëntenopname en verhoging van de nutriënten gehalten in de plant zijn waargenomen bij toevoeging van plantextracten onder nutriënt beperkte condities (Carillo *et al.* 2019). Andere voorbeelden zijn extracten gemaakt uit alfalfa, die de zoutstress in mais verminderen door verbetering van initiële groei (Ertani *et al.* 2013b).

Veel plantextracten hebben antimicrobiële werking of hebben een effect tegen plagen en kunnen gebruikt worden om schimmel- en bacteriepathogenen en plagen, zoals insecten en nematoden te bestrijden. Een van de meest gebruikt planten in biostimulanten is knoflook (*Allium sativum*). Stoffen uit knoflook (zie hoofdstuk 4.2 voor meer informatie) lieten een effect zien tegen bacterieziektes zoals *Agrobacterium*, *Erwinia* en *Pseudomonas* spp., schimmelziektes zoals *Alteneria* en *Botrytis* en de oomycete *Phytophthroa infestans* (Curtis *et al.* 2004). Een gewasbeschermingsmiddel gemaakt uit knoflook liet effecten zien tegen wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) en had ook een positieve invloed op de groei in chrysant (De Long *et al.* 2020). Verder, liet het gebruik van knoflookextracten gunstige effecten zien tegen wortelknobbelaaltjes in komkommer. De behandelingen leidden tot een reductie in wortelknobbels en *Meloidogyne* stadium 2 juvenielen (J2) in de bodem (Al-Shalaby, 2009).

Extracten van grapefruit (*Citrus paradise*) komen ook regelmatig als ingrediënt voor (Xu *et al.* 2007). Evenals knoflookextracten hebben deze extracten verschillende antimicrobiële eigenschappen, tegen micro-organismen zoals *Fusarium* en *Pythium* spp. (Pylak *et al.* 2019). Grapefruitextracten kunnen ook zaadkieming, plantengroei en opbrengst verbeteren (Patkowska, 2006). Andere voorbeelden van planten, die in biostimulanten gebruikt worden zijn: kurkuma (*Curcuma longa*), gember (*Zingiber officinale*), neem/margosa (*Azadirachta indica*), basilicum (*Oscimum sanctum*), perzik (*Prunus persica*) en oregano (*Origanum hercleoticum*) (Gurjar *et al.* 2012).

Zeewier wordt al eeuwenlang gebruikt om de gewas- en bodemgezondheid te verbeteren (Lembi and Waaland, 1988). De zeewieren kunnen in drie brede groepen verdeeld worden: Phaeophyta, Rhodophyta en Chlorophyta (bruine, rode en groene algen respectievelijk). De meest gebruikt groep in land- en tuinbouw is de Phaeophyta groep met het lid *Ascophyllum nodosum* als de soort die het meest gebruikt wordt in biostimulanten (Khan *et al.* 2009), maar andere geslachten van Phaeophyta zoals *Fucus* spp., *Laminaria* spp., *Sargassum* spp., en *Turbinaria* spp. worden ook in biostimulanten gebruikt (Hong *et al.* 2007). Zeewierproducten lieten veel positieve effecten op gewassen zien zoals verbeterde kieming, groei (alle plantendelen), bloem- en fruitproductie en productkwaliteit en houdbaarheid (Craigie, 2011; Battacharyya *et al.* 2015). Bijvoorbeeld, de toevoeging van *Ascophyllum nodosum* extracten verhoogt de concentratie van fenolen (antioxidanten) en de opbrengst in aardbeien (Weber *et al.* 2018). Zeewierextracten kunnen ook genen activeren, die betrokken zijn bij het metabolisme van planten, wat leidt tot verbeterde fotosynthese, stikstofopname, celdeling, etc. (Jannin *et al.* 2013).

Een verhoogde weerbaarheid tegen abiotische stressen zoals droogte, zoutgehalte en temperatuurextremen zoals biotische stressen (ziekten en plagen) kunnen ook door zeewierextracten worden veroorzaakt (Khan *et al.* 2009). Deze effecten worden door verschillende mechanismen veroorzaakt o.a. door toevoeging van plant- of andere hormonen (die veelal of niet aanwezig zijn in planten), aanmaak van allelochemicaliën (secondaire metabolieten met giftige effecten tegen andere organismen), een efficiëntere nutriëntopname, veranderingen van het metabolisme van de planten en invloeden op bodemmicro-organismen (Calvo *et al.* 2014). Bijvoorbeeld producten gemaakt uit de zeewier *Ascophyphyllum nodosum* lieten een toename zien van de kolonisatie van mycorrhiza *Rhizophagus irregularius* (Fancy, 2019). Toevoeging van zeewier in de bodem kan ook de algemene microbiële diversiteit verhogen en microbiële functies stimuleren (Alam *et al.* 2013).

3.3 Compost (humus- en fulvinezuren)

Biostimulanten met compost kunnen stoffen bevatten, die verkregen zijn door middel van aerobe (onder invloed van zuurstof) compostering (European Parliament Council of the European Union, 2019). Bekende producten van dit proces zijn humusstoffen. Humusstoffen zijn verdeeld in verschillende categorieën waaronder humuszuren, fulvinezuren en humines (Berbara and García, 2014). Humus- en fulvinezuren zijn door microbiële en chemische afbraak gecreëerd en ze zijn de meest voorkomende natuurlijke moleculen in de wereld (Simpson *et al.* 2002). In de bodem, spelen humuszuren een belangrijke rol bij de beschikbaarheid van nutriënten en bij het transport en omzetting van toxische chemicaliën. Daarnaast beïnvloeden humusbestanddelen de bodemstructuur en daarmee de uitwisseling tussen bodem en atmosfeer (Piccolo and Spiteller, 2003). Ze kunnen verder de samenstelling en functie van de rhizosfeer beïnvloeden (door direct kolonisatie van micro-organismen op de humus of door interacties) (Calvo *et al.* 2014), dus interacties tussen humusstoffen en microbiële biostimulanten zijn mogelijk. Er zijn positieve effecten gerapporteerd van de toediening van humus- en fulvinezuren aan de grond of van de besproeiing van bladeren met deze stoffen (Calvo *et al.* 2014; Abdel-Baky *et al.* 2019).

Humuszuren veroorzaken diverse, morfologische veranderingen in planten en het meest voorkomend is een effect op wortelontwikkeling (Calvo *et al.* 2014). Het meeste onderzoek naar deze effecten is uitgevoerd op akkerbouw gewassen in klimaatkasten. Kennis over hoe humus- en fulvinezuren sierplanten en gewassen in het veld beïnvloeden is schaars. Desalniettemin is er wel enig onderzoek in glastuinbouwgewassen uitgevoerd, die lieten positieve effecten zien van humuszuren op opbrengst en kwaliteit (Calvo *et al.* 2014). Abiotische stress, zoals zoutgehalte (Aydin *et al.* 2012) en droogte (García *et al.* 2012), kunnen ook door humuszuren worden verminderd. Verder kunnen humuszuren verbindingen met zware metalen maken, waardoor de opname van deze schadelijke mengsels wordt beperkt (Yang *et al.* 2013). Humusstoffen kunnen stress in planten verminderen door het verhogen van de productie van polyfenolen (d.w.z. afweerstoffen in de plant) (Pylak *et al.* 2019). In het algemeen hebben fulvinezuren vergelijkbare effecten op gewassen, maar de mineralisatie (d.w.z. omzetting van organische in anorganische vormen) van fulvinezuren is sneller dan humuszuren en dat betekend dat fulvinezuren een betere beschikbaarheid voor planten kunnen hebben (Qualls, 2004). Een andere verschil is dat fulvinezuren kleiner dan humuszuren zijn en het wordt verondersteld dat ze door deze kleinere maat langer in de bodem blijven onder verschillende pH en zoutgehalte niveaus en daardoor een lang durend effect hebben (Varanini and Pinton, 2000).

3.4 Digestaten uit verse gewassen en bijproducten uit de voedselindustrie (eiwitten en glycoproteinen)

Er zijn veel biostimulanten op de markt die gemaakt worden uit bijproducten van de akkerbouw, veeteelt of industrie. Deze bijproducten ontstaan vaak bij vergisting en worden door chemische of enzymatische hydrolyse (du Jardin, 2012) gevormd. Het resultaat is een mengsel van poly- en oligopeptiden, aminozuren en verschillende eiwitten, die nuttige effecten op gewassen hebben. In de EU definitie worden deze producten digestaten, eiwithydrolysaten en glycoproteinen genoemd (European Parliament Council of the European Union, 2019). Omdat deze producten uit afval van andere industrieën zijn gemaakt, draagt dit bij aan de realisatie van een circulaire landbouw: afvalproducten worden nuttige biostimulanten. De meerderheid van deze producten is uit afval van dierlijke producten (b.v. leer en vis bijproducten, bloedmeel, veren) gemaakt (Colla *et al.* 2015a), maar plant gebaseerde producten zijn ook beschikbaar. Zulke stoffen bevatten belangrijke nutriënten (o.a. stikstof), maar het wordt verondersteld dat de gunstige effecten niet direct door een effect van deze nutriënten veroorzaakt wordt (Ertani *et al.* 2009). Toevoeging van eiwithydrolysaten kan een effect op groei en productiviteit hebben (Kunicki *et al.* 2010; Parađiković *et al.* 2011). Nutriëntenopname, zoals efficiëntie van het gebruik van voedingsstoffen, kan ook verbeterd worden door eiwithydrolysaten (Cerdán *et al.* 2008) (Colla *et al.* 2015a). Er zijn ook stoffen, in de categorie eiwithydrolysaten, die vergelijkbare effecten hebben als plantenhormonen (o.a. auxine en gibberelline) met daaropvolgende effecten op gewasprestaties (Matsumiya and Kubo, 2011). Eiwithydrolysaten hebben ook een effect tegen abiotische stress zoals zoutgehalte (Sitohy *et al.* 2020), droogte (Petrozza *et al.* 2014), tekort aan nutriënten (Cerdán *et al.* 2013) en thermische stress (Botta, 2012). Er zijn echter ook negatieve bijwerkingen geconstateerd in het bijzondere bij gebruik van producten van dierlijke oorsprong (Lisiecka *et al.* 2011).

3.5 Nutriënt polymeren (o.a. chitosan)

Deze groep biostimulanten omvat polymeren van biologische oorsprong zoals polysachariden, cellulose, peptiden en zetmeel. Deze polymeren worden vaak een "coating" genoemd en gebruik van dergelijke polymeercoatings liet een effect zien op het (geleidelijk) vrijkomen van voedingsstoffen (o.a. P, K) in de bodem (Assainar *et al.* 2020). Dit betekent een efficiënter gebruik van meststoffen en minder uitspoeling van nutriënten naar grondwater (d.w.z. nutriëntenverontreiniging). Gebruik van biopolymeren kunnen ook een positief effect op de kwaliteit van vruchten hebben. Bijvoorbeeld biopolymeren, gemaakt van polysachariden, verhoogden de mechanische sterkte en antioxidant inhoud van abrikozen bij gebruik van deze biostimulanten gedurende twee jaar (Tarantino *et al.* 2018). Polymeren met watervasthoudende eigenschappen kunnen ook groei en chlorofyl inhoud verhogen in het bijzonder als ze met andere producten gecombineerd worden (Barnes and Percival, 2006).

Chitosan-achtige stoffen zijn één van de meest voorkomende stoffen, die in deze categorie biostimulanten gebruikt worden (El Hadrami *et al.* 2010; Pichyangkura and Chadchawan, 2015). Chitine is een stof dat binnen de celwanden van schimmels, het exoskelet van insecten en in de schalen van schaaldieren gevonden is (Jha *et al.* 2014). Met behandeling door een alkalische stof verandert chitine naar chitosan; een stof die veel wordt toegepast in biostimulanten, basisstoffen en gewasbeschermingsmiddelen (Pichyangkura and Chadchawan, 2015). Beide producten, chitine en chitosan zijn niet oplosbaar in water. Daarom worden er voor praktijktoepassingen vaak zouten van chitosan gebruikt, die wel wateroplosbaar zijn. Zoals veel andere niet-microbiële producten, laat chitosan een effect op weerbaarheid tegen abiotisch stress zien (Pichyangkura and Chadchawan, 2015). Bijvoorbeeld, behandeling met chitosan maakte wijnstokken weerbaarder tegen extreme temperaturen en droogte (Pichyangkura and Chadchawan, 2015). Droogtestress werd ook door chitosan toevoeging verlicht in isabgol (*Plantago ovata*; een plant gebruikt in het maken van laxeermiddelen) (Mahdavi, 2013). Het wordt verondersteld dat dit effect is (gedeeltelijk) veroorzaakt door verhoogde productie van primaire en secundaire metabolieten (du Jardin, 2015). Toevoeging van chitosan kan ook de huidmondjes van de plant laten sluiten met een nuttige effect op droogte tolerantie (Iriti *et al.* 2009). Evenals bij andere polymeren kan het gebruik van chitosan als een zaadcoating voordelen hebben bij kiemen, groeikracht en plantenhormonen (El Hadrami *et al.* 2010). Het is ook aangetoond dat het toevoegen van chitosan aan wijn de hoeveelheid giftige stoffen (zoals Fe, Pb, Cd en organische verontreinigen) vermindert (Bornet and Teissedre, 2008).

Chitosan en chitosan-achtige stoffen hebben ook antivirale, antibacteriële, antinematode en schimmelwerende eigenschappen. Een indirect effect van chitosan op virussen wordt veroorzaakt door aanschakelen van plantafweersystemen (Faoro *et al.* 2001). De groei van micro-organismen kan worden geremd door toevoeging van chitosan (Muzzarelli *et al.* 1990). Dit is een voorbeeld van een direct effect. Toevoeging van chitine kan plant parasitaire nematoden direct bestrijden door een verhoging van het ammoniak gehalte in de bodem, tot een niveau dat toxisch is voor nematoden en door de microbiologische afbraak van chitine, (Spiegel *et al.* 1987). Verder draagt de toevoeging van chitosan bij aan het stimuleren van micro-organismen die chitinase enzymen produceren die de eierschalen van nematoden oplossen en vervelling remmen (Akhtar and Alam, 1993; Chen and Peng, 2019). Chitosan kan ook een fysieke barrière tussen de plant en ziekten of plagen creëren (Hadrami *et al.* 2009) en de genezing van wonden versnellen (Hirano *et al.* 1999).

3.6 Anorganische verbindingen & zouten

De meest voorkomende anorganische zouten in biostimulanten zijn chloorverbindingen, fosfaten, fosfieten, silicaten en carbonaten en sporenelementen (European Parliament Council of the European Union, 2019). Anorganische verbindingen kunnen gebruikt worden om abiotisch stress door droogte of zout te verminderen (du Jardin, 2012). Het anorganische zout fosfiet liet effecten op nutriënten opname en op wortelgroei zien (Rafiee *et al.* 2016). Effecten op zaadkieming zijn ook aangetoond. Bijvoorbeeld toevoeging van bepaalde soorten anorganische zouten hadden een positief effect op de kieming en de groeikracht in sla (*Lactuca sativa*) (Adetunji *et al.* 2020). Maar dit effect was afhankelijk van de soort zout en dus is het belangrijk de juiste zouten te kiezen om de gewenste effecten te krijgen. Anorganische zouten hebben ook vaak antischimmel eigenschappen. Een review over de effecten van anorganische zouten op schimmelziekten liet zien dat 34 verschillende anorganische zouten een vermindering van de schade van 49 schimmelziektes in 35 soorten planten veroorzaakte (Deliopoulos *et al.* 2010). Zulke effecten werden tegen zowel boven- als ondergrondse schimmelziekten aangetoond. Zouten die fosfaten bevatten kunnen niet alleen effecten op schimmels hebben maar ook op bacteriën en virussen (Mucharromah and Kuc, 1991) en tegen plagen. Bijvoorbeeld behandeling van de bodem met zee mineralen toonde een daling in schade veroorzaakt door wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) in chrysant (De Long *et al.* 2020).

Sporenelementen zijn elementen die de plantengroei bevorderen en mogelijk essentieel zijn voor bepaalde gewassen of cultivars, maar die niet door alle planten worden vereist zijn (Pilon-Smits *et al.* 2009). De meest voorkomende spoorelementen in biostimulanten zijn: aluminium (Al), kobalt (Co), koper (Cu), ijzer (Fe), mangaan (Mn), natrium (Na), selenium (Se) en silicium (Si) (European Parliament Council of the European Union, 2019). In hoge concentraties hebben deze elementen toxische effecten, maar lagere concentraties laten voordelen zien. Aluminium kan concentraties van fosfor in de bladeren van planten verhogen (Osaki *et al.* 1997).

Er is ook een voorbeeld van verhoogde activiteit van antioxidant enzymen in theeplanten (*Camellia sinensis*) (Ghanati *et al.* 2005). Dit effect zou de kwaliteit van de bladeren kunnen verbeteren met gezondheidsvoordelen. Toevoeging van kobalt leidde tot verhoogde gehalten aan macronutriënten (d.w.z. N, P, K) en sporenelementen (d.w.z. Fe, Mn, Zn), betere kwaliteit van het gewas en verhoogt aantal Rhizobium knobbels in vlinderbloemigen (Gad, 2006). Andere voordelen van kobalt zijn een verhoogde droogte resistentie en misschien een verhoogde weerbaarheid tegen biotisch stress, maar meer onderzoek is nodig op dit thema (Pilon-Smits *et al.* 2009). Biostimulanten, die zowel ijzer bevatten als stoffen die de beschikbaarheid van ijzer verhogen (chelaten), kunnen ijzertekort helpen verlichten (Kinnersley, 1993) met positieve effecten op de vorming van chlorofyl. Toevoeging van op koper gebaseerd biostimulanten (in mengsels met andere soorten van biostimulanten) kan de groei van planten verbeteren door productie van belangrijke enzymen (Luziatelli *et al.* 2015). Biostimulanten met mangaan zijn ook belangrijk en kunnen een positieve invloed op productie van plantweefsel, enzymen en metabolisme hebben (Alejandro *et al.* 2020). Natrium wordt vaak alleen als een nadelige stof gezien (denk aan schadelijke zoutgehalte), maar in lage concentraties kan dit element voordelen voor planten hebben. Natrium kan in bepaalde situaties kalium vervangen (Pilon-Smits *et al.* 2009) en de opname van nitraat bevorderen (García-Sánchez *et al.* 2000). Selenium leidde tot een verhoogde groei in gewassen zoals rogge, sla en aardappelen (Hartikainen, 2005) en effecten tegen schimmels en herbivoren zijn ook geobserveerd (Quinn *et al.* 2007). Toevoegingen van silicium oefent een aantal gunstige effecten uit op groei en opbrengst van verschillende plantensoorten, waaronder verbetering van de blootstelling van het blad aan licht, verminderde gevoeligheid voor pathogenen en wortelparasieten en verbetering van abiotische stress (Pilon-Smits *et al.* 2009).

3.7 Mengsels van ingrediënten

Er zijn biostimulanten op de markt die een mengsel van bovenstaande ingrediënten bevatten. Het voordeel van mengsels is dat ingrediënten elkaar kunnen versterken (synergistische werking). Bijvoorbeeld toevoeging van zeewierextracten in combinatie met humuszuur toonde een versterking van groeikracht; groter dan toevoeging van de afzonderlijke ingrediënten (Prakash *et al.* 2014). Niettemin is er een gebrek aan kennis over interacties tussen niet-microbiële biostimulanten (Rouphael and Colla, 2018). Meer focus ligt op interacties tussen niet-microbiële en microbiële producten. Bijvoorbeeld toevoeging van humuszuur samen met mycorrhiza hadden een synergistisch positief effect op wortelgroei en nutriëntengehalte in het blad (Bettoni *et al.* 2014). Onderzoek liet synergistische effecten zien van gelijktijdig toevoeging van een mengsel van schimmels en eiwithydrolysaten op opbrengst (Rouphael *et al.* 2017). Indirect effecten veroorzaakt door interacties tussen niet-microbiële producten en al aanwezige micro-organismen zijn ook mogelijk. Producten met zeewier lieten een verbetering zien van de microbiële gemeenschap, die een hogere activiteit van enzymen in de bodem veroorzaakte en daardoor leidde tot een verhoogde nutriënten beschikbaarheid voor de planten (Wang *et al.* 2018). Er is nog steeds meer onderzoek nodig naar de extra voordelen van combinaties van zowel microbiële als niet-microbiële biostimulanten.

Tabel 2

Samenvatting van de gunstige effecten van de meest voorkomende soorten van biostimulanten die op de markt beschikbaar zijn. Meer gedetailleerd informatie over de effecten is in de tekst van hoofdstukken 2 en 3 te vinden.

Groep	Subgroep	Gunstige effecten
Microbiële	Algemene schimmels (niet toegelaten volgens EU-definitie)	• Verbeterde algemene groei • Hogere nutriëntenopname • Weerbaarheid tegen abiotisch stress • Weerbaarheid tegen ziekten en plagen
	Mycorrhiza	• Verbeterde algemene groei • Hogere nutriëntenopname (in het bijzonder fosfor) • Hogere nutriëntengehalten van het gewas • Verbeterde wateropname • Weerbaarheid tegen droogte, zoutgehalte • Weerbaarheid tegen ziekten en plagen
	Bacteriën	• Verbeterde algemene groei en kieming • Verbeterde ontwikkeling van o.a. bloemen • Fixatie van atmosferische stikstof • Hogere nutriëntenbeschikbaarheid en -opname • Hogere nutriëntengehalten van het gewas • Weerbaarheid tegen droogte, zoutgehalte • Weerbaarheid tegen ziekten en plagen
Non-microbiële	Plant- en zeewierextracten	• Verbeterde algemene groei en kieming • Verbeterde opbrengst • Verbeterde bodemgezondheid • Hogere nutriëntenbeschikbaarheid en -opname • Hogere nutriëntengehalten van het gewas • Weerbaarheid tegen droogte, zoutgehalte, temperatuurextremen • Weerbaarheid tegen ziekten en plagen
	Compost (humus- en fulvinezuren	• Verbeterde algemene groei • Betere uitwisseling tussen bodem en atmosfeer • Verbeterde opbrengst en gewaskwaliteit • Hogere nutriëntenbeschikbaarheid en -opname • Verbindingen met zware metalen • Weerbaarheid tegen droogte, zoutgehalte • Positieve invloed op de rhizosfeer
	Digestaten uit verse gewassen en voedselindustrie bijproducten (eiwitten, hydrolysaten, glycoproteinen)	• Verbeterde algemene groei • Verbeterde opbrengst • Hogere nutriëntenbeschikbaarheid en -opname • Weerbaarheid tegen zoutgehalte, temperatuurextremen
	Nutriënt polymeren (o.a. chitosan)	• Verbeterde algemene groei • Verbeterde opbrengst • Verbindingen met zware metalen/giftige stoffen • Hogere nutriëntenbeschikbaarheid en -opname • Hogere nutriëntengehalten van het gewas • Weerbaarheid tegen droogte, temperatuurextremen • Weerbaarheid tegen ziekten en plagen
	Anorganische verbindingen en zouten	• Verbeterde algemene groei en kieming • Verbeterde opbrengst • Hogere nutriëntenbeschikbaarheid en -opname (in het bijzonder sporenelementen) • Hogere nutriëntengehalten van het gewas • Weerbaarheid tegen droogte, zoutgehalte • Weerbaarheid tegen ziekten en plagen (misschien)

4 Hoe werken ze? Werkingsmechanismen

De mechanistische achtergrond over de werking van biostimulanten is breed (Figuur 1, Tabel 3). Bij de microbiële producten vallen de werkingsmechanismen in grote lijnen uiteen in plantengroei bevordering en werking tegen ziekten-en plagen (d.w.z. biocontrol) (Sofo *et al.* 2014). Er is echter een aanzienlijk grijs gebied, waarbij veel micro-organismen voordelen bieden die min of meer onder beide categorieën vallen. Specifieker er is een scala aan mechanismen voor de microbiële producten, zoals productie van planthormonen, polyfenolen, productie van bepaalde enzymen en antibiotische stoffen en concurrentie met andere micro-organismen (en ziekteverwekkers) om nutriënten en plaats in het ecosysteem en het aanschakelen van afweersystemen zoals induced systemic resistance (ISR).

Non-microbiële producten maken overwegend gebruik van dezelfde mechanismen, maar er zijn uitzonderingen zoals bepaalde (an)organische stoffen die opname van voedingsstoffen beter beschikbaar amen voor de plant, verbindingen vormen met schadelijke stoffen in de bodem of stoffen die een verstoring in het metabolisme van ziekten en plagen creëren. Hieronder bevindt zich een gedetailleerdere beschrijving van de verschillende werkingsmechanismen van de biostimulanten.

4.1 Microbiële producten

Biostimulanten gemaakt uit micro-organismen hebben verschillende effecten en werkingsmechanismen. In hoofdstuk 3 hebben we laten zien dan microbiële biostimulanten o.a. positieve effecten kunnen hebben op bv. de algemene groei, nutriëntenopname, de weerbaarheid, de aanwezigheid van andere micro-organismen en op ziekten en plagen.

Algemene groei en nutriëntenopname
Bijvoorbeeld toevoeging van verschillende *Bacillus* soorten lieten een effect op nutriënt beschikbaarheid in de bodem zien met een verbetering in plantengroei; dit effect werd versterkt door gelijktijdige toevoeging van kunstmest (d.w.z. N en P) (Canbolat *et al.* 2006). *Bacillus* spp. kunnen ook stoffen produceren die de groei van planten verbeteren (Sofo *et al.* 2014). Mycorrhiza soorten kunnen ook plantengroei verbeteren door een grotere opname van voedingsstoffen door een groter netwerk van nutriëntenzoekende hyfen in de bodem (Giovannini *et al.* 2020). Soorten van *Rhizobium* spp. kunnen helpen met stikstofbinding in vlinderbloemigen zoals graangewassen (Zaim *et al.* 2017). Er is ook bewijs dat *Rhizobium* en *Bradyrhizobium* spp. fosfor beschikbaar kunnen maken voor planten (Antoun *et al.* 1998). Deze resultaten suggereren dat microbiële biostimulanten de input van kunstmest kunnen verminderen door zowel directe als indirecte effecten op interacties tussen planten en voedingsstoffen.

Micro-organismen kunnen ook een rol spelen bij de opname of vastlegging van stoffen in de bodem, die giftig zijn voor planten. Vaak treedt hierbij een nauwe interactie en synergie op tussen planten, die koolstof aan de microben leveren in ruil voor dergelijke "diensten" (Chaudhry *et al.* 2005). Er zijn ook voorbeelden van interacties tussen verschillende soorten van schimmels. Onderzoek liet een synergistisch effect zien, veroorzaakt door *Trichoderma atroviride* en *Glomus intraradices*: de eerste schimmel had een positieve invloed op nutriënten beschikbaarheid (door productie van zogenaamde sideroforen, kleine organische verbindingen die metalen (b.v. Fe) kunnen binden) en de tweede veroorzaakte en verbeterde wortelgroei (Colla *et al.* 2015b). Rhizobium-soorten kunnen ook helpen bij de groei door een betere wortelkolonisatie, sideroforen en organische zuren (Zaim *et al.* 2017).

Weerbaarheid
Microbiële biostimulanten kunnen de fysieke verdediging van de plant verbeteren (Sofo *et al.* 2014). Dit maakt planten weerbaarder tegen zowel abiotische als biotische stressen. Celwanden kunnen sterker worden (Schenk *et al.* 2014) en productie van structurele steunpolymeren zoals lignine kunnen toenemen.

Micro-organismen uit biostimulanten kunnen productie en afbraak van planthormonen beïnvloeden, om op die manier de weerbaarheid van een plant te verhogen (Pieterse *et al.* 2012). Signalen van planthormonen kunnen een plant voorbereiden voor een aanval van bepaalde bacteriën door aanschakelen of priming van het afweersysteem of versterking van de celwand (Schenk *et al.* 2014). Jasmijnzuur één van de meest belangrijke signaal hormonen, die betrokken zijn bij de verhoging van plantweerbaarheid (Carvalhais *et al.* 2017). Jasmijnzuur heeft een groot effect op hemibiotrofepathogenen (pathogenen die voedsel van levende plantweefsel in de eerste groeifase krijgen en later van dode weefsel zoals *Fusarium* spp. en *Pythium* spp.), necrotrofe pathogenen (pathogenen die voedsel van dode plantweefsel krijgen zoals Botrytis) en herbivore kauwende insecten (zoals rupsen) (Carvalhais *et al.* 2017). Dit hormoon heeft ook een invloed op de ontwikkeling van bijna alle delen van de plant zoals wortelgroei, de opening van stomata, bloemen en fruit, etc. (Bari and Jones, 2009). kan ook de samenstelling van de microbiota in de rhizosfeer beïnvloeden (Pieterse *et al.* 2009). Waarschijnlijk is het dus mogelijk het microbioom van de plant te sturen door het activeren van de jasmijnzuur afweerroute (Carvalhais *et al.* 2017). Salicylzuur is een andere heel belangrijk signaal hormoon dat kan worden geactiveerd door micro-organismen (Palmer *et al.* 2017). Evenals jasmijnzuur heeft salicylzuur een grote invloed op de ontwikkeling van verschillende plantorganen en processen (Raskin, 1992). In tegenstelling tot jasmijnzuur heeft salicylzuur grotere invloed op biotrofe pathogenen (pathogenen die voedsel van levende plantweefsel krijgen), zoals meeldauw en zuigende insecten (zoals bladluizen) (Fragnière *et al.* 2011). Niettemin hebben zowel jasmijn- als salicylzuur interactieve effecten op plagen en insecten (Lemarié *et al.* 2015; Martínez-Medina *et al.* 2017; Zheng *et al.* 2019) en "cross talk" tussen deze pathways gebeurt d.w.z. ze kunnen elkaar modificeren en beïnvloeden (Pieterse and Van Loon, 1999). Ethyleen is een andere belangrijke planthormoon, die vaak mensen met de rijping van fruit associëren (Burg and Burg, 1962). Maar ethyleen heeft ook een invloed op andere delen en groeistadia van planten en het heeft een groot rol in de stressrespons van planten (Light *et al.* 2016). Bijvoorbeeld de ethyleen productie in een plant neemt toe als het zoutgehalte in de bodem stijgt met negatieve effecten op de groei van wortels (Jiang *et al.* 2013). Micro-organismen zoals rhizobacteriën van de geslachten *Pseuodmonas* en *Rhizobium* die vaak in biostimulanten zitten kunnen een verlaging van ethyleen creëren (veroorzaakt door afbreking van ethyleen door productie van ACC-deaminase) met het resultaat een verbetering van planten groei en gezondheid (d.w.z. de verlichting van stress) (Backer *et al.* 2018). Veranderingen in fytohormonen zoals auxines en cytokines aangemaakt door de schimmel *Trichoderma harzianum* kunnen de plantengroei verhogen (Sofo *et al.* 2011). Veel soorten van mycorrhiza maken auxine-achtige stoffen die kunnen de wortels en algemene plantengroei verhogen (Giovannini *et al.* 2020). Bacteriën zoals *Rhizobium* spp. maken ook fytohormonen en andere nuttige moleculen die de groei en opbrengst kunnen verbeteren niet alleen in vlinderbloemigen maar waarschijnlijk ook in granen (Matiru and Dakora, 2004).

Polyfenolen zijn alomtegenwoordige secundaire metabolieten die bijna alle planten produceren om verschillende functies zoals o.a. bescherming tegen ziekten en plagen, UV licht, koude, nutriëntcyclus en meerdere abiotische stressen te dienen (Close and McArthur, 2002; Lattanzio *et al.* 2006; Albert *et al.* 2009; ConsTabel *et al.* 2014). Veel microbiële producten kunnen de concentratie van polyfenolen in gewassen verhogen met zowel voordelen voor de gewasgezondheid en de weerbaarheid. Toevoegingen van een biostimulant met *Azospirillum* spp. en *Brevibacillus* spp. bacteriën verhoogt de opbrengst, nutriëntengehalten en polyfenol inhoud van tomaten (Oancea *et al.* 2017). Een voorbeeld van de verhoging van gewasweerbaarheid is de verhoging van polyfenolen veroorzaakt door toevoegen van non-antagonistische *Trichoderma* en *Fusarium* die de planten tegen ziekten en abiotisch stress beschermen (Mathivanan *et al.* 2008).

Concurrentie andere micro-organismen
Concurrentie voor voedsel of plek met plantpathogenen is een andere mechanisme waardoor microbiële biostimulanten planten kunnen beschermen (Berg *et al.* 2014; Pieterse *et al.* 2014). Leden van het schimmelgeslacht *Trichoderma* kunnen een barrière over de wortels van planten vorm en daardoor aantasting van pathogenen voorkomen (Harman *et al.* 2004). Toch is de rol van competitie voor plaats m.b.t. *Trichoderma* spp. en andere soorten van micro-organismen niet altijd duidelijk en moeilijk te bepalen (Harman, 2000). Microbiële biostimulanten inclusief degenen die mycorrhiza en *Bacillus* spp. bevatten verhogen de nutriëntenopname van de plant en daardoor beconcurreren zij ziekteverwekkers voor voedingsstoffen (Pylak *et al.* 2019). Concurrentie voor nutriënten en plaats met nuttige schimmels maakt een pathogeen kwetsbaarder tegen de enzymen en antimicrobiële stoffen van de gastplant (Adikaram *et al.* 2002). Bacteriën laten vergelijkbare mechanismen als schimmels zien. Bijvoorbeeld onderzoek naar verschillende soorten van *Pseudomonas* spp. in weerbare bodems lieten zien dat mechanismen zoals productie van abiotische stoffen, plantweerbaarheid en concurrentie een rol spelen (Loper *et al.* 2012). Deze bevindingen benadrukken hoe belangrijk interacties tussen werkingsmechanismen zijn en hoe kennis over het verschil tussen soorten van micro-organismen nodig is.

Productie van plantbeschermende stoffen
Stoffen geproduceerd door micro-organismen kunnen pathogenen en plagen direct doden. Een soort van peptide gemaakt door *Trichoderma pseudokoningii* induceert de celdood in *Fusarium oxysporum* (Shi *et al.* 2012). Er zijn verschillende eiwitten die planten kunnen produceren om weerbaarheid tegen abiotische en biotische stress aan te maken (Pylak *et al.* 2019), maar meer onderzoek is nodig om de identiteit en eigenschappen van deze eiwitten te bepalen. Indirect effecten tegen ziekte en plagen veroorzaakt door micro-organismen zijn ook belangrijk. Bijvoorbeeld toevoeging van de schimmel *Aureobasidium pullulans* stimuleert productie van antibiotische stoffen (d.w.z. de polysacharide, pullulan) met een positieve effect tegen *Botrytis cinerea* (Adikaram *et al.* 2002). Micro-organismen zoals *Trichoderma* spp. kunnen veranderingen in de activiteit van de genen van planten veroorzaken en daardoor weerbaarheid verhogen (Shoresh *et al.* 2010). Verandering van genexpressie kan een invloed op hormonen en polyfenolen hebben (zoals hier boven bediscussieerd), maar ook nutriënt opname en resistentie tegen abiotische stress door metabolisme activiteit (Shoresh *et al.* 2010).

Een overzicht van de mechanismen van de microbiële biostimulanten staat in Tabel 3.

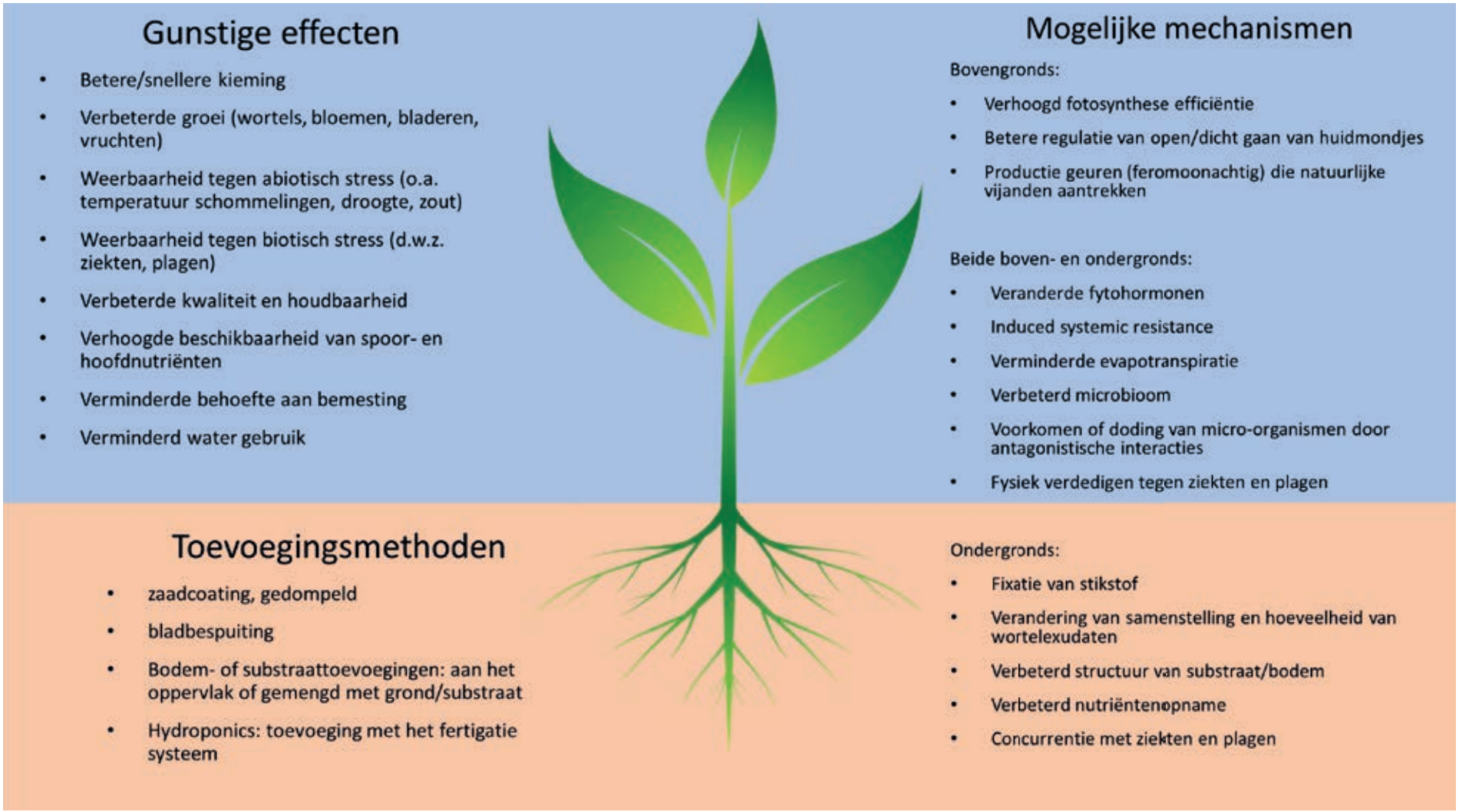
Tabel 3

Samenvatting van de bekende en voorgestelde mechanismen achter de werking van de meest voorkomende soorten van biostimulanten die op de markt staat. Meer gedetailleerd informatie over de mogelijke mechanismen is in de tekst van hoofdstuk 4.0 en Tabel 2 te vinden.

Groep	Mogelijke mechanismen	Subcategorie die deze effect veroorzaakt
Microbiële	• Aanschakelen van het plantenafweersysteem (o.a. polyfenolen)	• M, B
	• Verhoogde of beperkte productie van planthormonen (o.a. jasmijn- en salicylzuur, ethyleen, auxines, cytokines, gibberelline)	• M, B
	• Concurrentie voor voedsel en plek met pathogenen	• B
	• Productie van antagonistische stoffen (direct of indirect doding van ziekten en plagen)	• B
	• Activering van bepaalde plantgenen	• M, B
	• Verhoging van fysieke verdediging	• B
	• Verandering in de bodemstructuur	• B
	• Versnelde afbraak van organische stof	• M, B
Non-microbiële	• Aanschakelen van het plantenafweersysteem (o.a. polyfenolen, tannines)	• P, C, D,
	• Verhoogde of beperkte productie van planthormonen (o.a. jasmijn- en salicylzuur, ethyleen, auxines, cytokines, gibberelline)	• P, C, D, A, N
	• Voedselbron voor nuttige micro-organismen	• P, C, D
	• Productie van antagonistische stoffen (direct of indirect doding van ziekten en plagen)	• P, C, A, N
	• Activering van bepaalde plantgenen	• P, C, N
	• Verhoging van fysieke verdediging	• P, A
	• Distributie van nutriënten (binnen de plant)	• C, D
	• Verandering in de bodemstructuur en het -microbioom	• P, C, D, N
	• Versnelde afbraak van organische stof	• P, C, N
	• Verandering van plantfysiologie	• C, N
	• Barrière tegen uitdroging	• N, A
	• Bodemvruchtbaarheid	• C, P

M = mycorrhiza, B = bacteriën, P = plant- en zeewierextracten, C = compost (humus- en fulvinezuren),

D = digestaten uit verse gewassen en voedselindustrie bijproducten, N = nutriënt polymeren, A = anorganische verbindingen.



Figuur 1 *Overzicht van toevoegingsmethoden, gunstige effecten en mogelijke mechanismen achter de werking van microbiële en niet-microbiële biostimulanten. Specifieke informatie over welke groep biostimulanten een bepaald gunstig effect veroorzaakt is in Tabel 2 samengevat en meer informatie over de mechanismen is in Tabel 3 te vinden. Definities van wetenschappelijke termen zijn in de woordenlijst te vinden in Appendix 1.*

4.2 Niet-microbiële producten

Niet microbiële biostimulanten kunnen effecten hebben op groei en opbrengst, de bodemvruchtbaarheid/gezondheid, nutriëntenopname en weerbaarheid tegen (a)biotische stress (Tabel 2). Hierbij spelen verschillende werkingsmechanismen een rol (Tabel 3).

Bodemvruchtbaarheid en nutriëntenopname
Plantenextracten en zeewier zijn per definitie soorten organische stof en daardoor hebben ze de bekende voordelen van organische stof zoals verbeterede bodemstructuur, een voedselbron voor micro-organismen, en een bron van nutriënten voor de plant.

Zeewierextracten bevatten polysachariden die de bodemstructuur kunnen verbeteren door het creëren van een betere aggregaatstructuur (Khan *et al.* 2009). Beschikbaarheid van micronutriënten kan ook verbeterd worden door toevoeging van zeewier-extracten die helpen bij het cheleren van mineralen door productie van o.a. sideroforen (Halpern *et al.* 2015).

Humuszuur bevat hormoonachtige stoffen, die waarschijnlijk effecten van echte planthormonen kunnen nabootsen (Pizzeghello *et al.* 2001). Bijvoorbeeld, stoffen aanwezig in humuszuur leidden tot een auxine achtige activiteit, die de groei van wortels stimuleerde (Trevisan *et al.* 2010). Hogere activiteit van NO_3-assimilatie enzymen in de plant, door toevoeging van humusstoffen, kan de opname- efficiëntie en het gebruik van stikstof verbeteren (Halpern *et al.* 2015). Effecten op de metabolisme en opname en distributie van nutriënten binnen planten, kunnen ook beïnvloed worden door humuszuur (Nardi *et al.* 2016). Bijvoorbeeld het wordt verondersteld, dat humuszuren een effect op nitraat distributie binnen de plant kunnen hebben en dat dit effect hormonen zoals cytokinen kan beïnvloeden en daardoor de plantengroei (Mora *et al.* 2010). Humuszuren maken ook verbindingen met nutriënten (o.a. Fe), die de opname gemakkelijker maken (Berbara and García, 2014). De kleinste humus- en fulvinezuren hebben de grootse effecten op hormoonachtige activiteit en nitraat opname (Piccolo *et al.* 1992). Humuszuren kunnen ook de fysische eigenschappen van de bodem modificeren met voordelen voor de planten. Bijvoorbeeld, toevoeging van humuszuur liet een verhoogd opbrengst zien in watermeloen, waarschijnlijk veroorzaakt door beter bodem structuur, die leidt tot een verbetering van gasuitwisseling in de bodem (Salman *et al.* 2005). Verbetering van de algemeen structuur van de bodem is ook mogelijk (du Jardin, 2015) met verbetering van de stabiliteit van grondaggregaten en daardoor een beter waterdoorlatendheid en retentie (Piccolo *et al.* 1997)

De digestaten, die ontstaan door de chemische en enzymatische afbraak van verschillende soorten gewasafval en resten uit de vee- en voedselindustrie, bestaan uit een mengsel van poly- en oligopeptiden, aminozuren, hydrolysaten en verschillende eiwitten. Effecten van zulke stoffen op de planthormoon-achtige stoffen (o.a. auxine en gibberelline) zijn bekend (Ito *et al.* 2006), met een positieve invloed op groei, opbrengst, etc. Bijvoorbeeld toevoeging van een enzymatisch gehydrolyseerd biostimulant, op basis van dierlijke eiwitten, had een positieve invloed op hormonen zoals auxine en jasmijnzuur die een verhoging van weerbaarheid in tomaten tegen droogte stress veroorzaakt (Casadesús *et al.* 2019). Toevoeging van eiwithydrolysaten kan ook een effect op polyfenolen (o.a. flavonoïden) hebben, resulterend in een verbetering van weerbaarheid tegen stress (Ertani *et al.* 2013a). Planten kunnen de kleinere stoffen zoals aminozuren direct opnemen (Colla *et al.* 2015a).

Aminozuren vertegenwoordigen in de meeste planten de belangrijkste transportvorm voor organische N, en ze kunnen direct worden gebruikt voor eiwitsynthese en andere essentiële N-verbindingen (Rentsch *et al.* 2007). Onderzoek liet ook zien dat aminozuren belangrijk zijn voor het transport van micronutriënten in planten (Halpern *et al.* 2015) met voordelen voor efficiency van nutriënten gebruik. De aminozuren asparagine, glutamine en cysteïne evenals peptiden kunnen schadelijke zware metalen (o.a. Zn, Ni, Cu, As en Cd) cheleren (Sytar *et al.* 2013). Hydrolysaten kunnen een toename van de microbiële activiteit in de bodem veroorzaken (d.w.z. een voedselbron zijn voor de (nuttige) microben), leidend tot een verbetering van de mobiliteit van micronutriënten, oplosbaarheid en opname van o.a. Fe, Zn, Mn en Cu en wijzigingen in de wortelarchitectuur van planten, in het bijzonder wortellengte, dichtheid en aantal zijwortels (Colla *et al.* 2015a). Toevoeging van hydroloysaten kan ook effecten hebben op expressie van genen gerelateerd aan stikstofopname en gebruik in de plant (Schiavon *et al.* 2008). Maar bij lage niveaus van stikstof kan het ook een negatief effect op opname van stikstof hebben (Ruiz *et al.* 2000). Daarom is het belangrijk dat de randvoorwaarden voor de toepassing van dit soort producten bekend zijn. Aminozuren kunnen de structuur van de bodem verbeteren (Halpern *et al.* 2015) en microbiële activiteit in de bodem verhogen, die de afbraak van organische stoffen versnellen en waardoor de nutriënten beschikbaarheid verbeterd (García-Martínez *et al.* 2010).

Bepaalde polysachariden, die in chitosan zitten, kunnen voordelen hebben voor nuttige bodemmicro-organismen zoals *Bacillus* spp., mycorrhiza en rhizobacteriën (El Hadrami *et al.* 2010). Chitosan toevoeging in de bodem kan ook de afbraak van organische stoffen versnellen door verhoogde activiteit van saprotrofen met voordelen voor de nutriëntenopname (Boonlertnirun *et al.* 2008). Toevoeging van chitosan stimuleert ook fotosynthese en leidt daardoor tot hogere opbrengst (Katiyar *et al.* 2015). Dit effect was in druiven te zien. Er was een verhoging in gaswisseling (beide O_2 en CO_2), en een verhoging in groei en ook weerbaarheid tegen *Botrytis* (Barka *et al.* 2004). De chelatie van zware metalen veroorzaakt door chitosan kan de toxische effecten van deze metalen helpen verzachten en de gezondheid van planten en bodem verbeteren (Varma *et al.* 2004). Chitosan kan helpen bij het genezen van wonden die zijn veroorzaakt door plagen, ziekten en fysieke schade door de eiwitsynthese-routes te activeren die betrokken zijn bij weefselregeneratie (El Hadrami *et al.* 2010).

Weerbaarheid

Planten -en zeewierextracten bevatten verhoogde concentraties van verbindingen die in de planten voorkomen waaruit ze gemaakt worden, zoals aromaten, secundaire metabolieten zoals fenolen, fenolzuren, chinonen, flavonen, flavonoïden, flavonolen, tannines en coumarines (Pylak *et al.* 2019). Deze stoffen kunnen een belangrijk mechanisme achter de biostimulanten zijn m.b.t. weerbaarheid. Bijvoorbeeld biostimulanten gemaakt uit extracten van eikenbomen lieten een verhoging zien van polyfenolen in wijnstokken, die de resistentie tegen zieken en plagen evenals de gezondheidswaarde van de druiven/wijn voor mensen kunnen verbeteren (Pardo-García *et al.* 2014). Zeewier producten bevatten hoge concentraties van polyfenolen, in bepaalde soorten meer dan 15% van de droge biomassa (Craigie, 2011). Polyfenolen verhogen o.a. de weerbaarheid tegen ziekten en plagen. Bepaalde biostimulanten gemaakt van plantenextracten kunnen het niveau van ethyleen verlagen met een positief effect op het gewas (Bulgari *et al.* 2017). Andere plantafweerhormonen zoals jasmijn- en salicylzuren kunnen verhoogd worden door plantextracten. Bijvoorbeeld het wordt voorondersteld dat, een verhoging van jasmijnzuur in de planten één van de werkingsmechanismen van zeewier-extracten is (EL Boukhari *et al.* 2020), die tot een verbeterde weerbaarheid tegen abiotisch en biotisch stress kan leiden evenals verhoogd groei. Vergelijkbare effecten zijn ook bij zeewierproducten waargenomen, waarbij toevoeging van zeewier een verhoging van cytokinen (planthormonen verantwoordelijk voor celdeling) activiteit liet zien (Ördög *et al.* 2004).

Zeewierextracten kunnen ook een effect op afweerhormonen van planten, zoals salicylzuur, hebben (Calvo *et al.* 2014). Andere mechanismen zijn ook mogelijk. Een voorbeeld is de chemische reacties veroorzaakt door knoflook (*Allium sativum*) extracten. De vluchtige antimicrobiële stof allicine (diallylthiosulfinaat) wordt in knoflook geproduceerd, wanneer de weefsels worden beschadigd en het substraat alliïne (S-allyl-l-cysteïnesulfoxide) zich mengt met het enzym alliin-lyase (Slusarenko *et al.* 2008). Deze stof heeft een anti-microbiel effect (Pylak *et al.* 2019) en heeft ook effecten tegen plant parasitische aaltjes laten zien (De Long *et al.* 2020).

Humuszuren kunnen een daling in stress veroorzaken en ook de concentratie van secondaire metabolieten (d.w.z. polyfenolen) in planten verhogen (Pylak *et al.* 2019). Fysiologische veranderingen in de planten zijn ook mogelijk. Bladtoepassing van fulvinezuur veroorzaakte verminderde stomatale geleiding, die tot hogere weerbaarheid tegen droogte leidde (Calvo *et al.* 2014)..

Nutriëntenpolymeren, zoals chitosan, werken via meerdere mechanismen. Chitosan-achtige producten kunnen zich binden aan specifieke receptoren, die betrokken zijn bij de activering van afweergenen, op een vergelijkbare manier als elicitors op planten (du Jardin, 2015). Dit betekent dat het plantenafweersysteem (o.a. de salicyl- en jasmijnzuur pathways) geactiveerd wordt en daardoor wordt de weerbaarheid van de planten tegen b.v. ziekten en plagen verhoogd. Andere soorten van nutriëntenpolymeren kunnen ook plantenafweersystemen door andere of vergelijkbare pathways aanschakelen met vergelijkbare effecten (du Jardin, 2015). Chitosan kan een barrière op het oppervlak van zaden creëren en daardoor uitdroging voorkomen en kiemen verbeteren (Zeng and Luo, 2012).

Bladtoepassing van chitosan verminderde transpiratie door gedeeltelijke of volledige sluiting van huidmondjes (Bittelli *et al.* 2001) en ook door een laag op bladeren, die het water in de bladeren houdt (Iriti *et al.* 2009). Toevoeging van nutriëntenpolymeren kan het structuur van de bodem verbeteren door vorming van sterkere aggregaten met voordelen voor waterafstotende en verminderde erosie (Wallace and Wallace, 1986). Dit effect kan weerbaarheid tegen droogte verbeteren.

De werkingsmechanismen van anorganische verbindingen en zouten zijn nog niet volledig vastgesteld, maar aangenomen wordt dat er veel verschillende mechanismen zijn en dat deze mechanismen op elkaar inwerken om een verhoogde efficiëntie te creëren (Deliopoulos *et al.* 2010). Het word vermoed dat anorganische verbindingen de osmotische, pH- en redoxhomeostase, hormonale signalering en enzymen die betrokken zijn bij stressrespons beïnvloeden (du Jardin, 2015). Met een modificatie van de stressrespons in de plant is het mogelijk om ziekten, plagen en abiotische stress te verminderen; d.w.z. de planten kunnen zich beter voorbereiden om op de stress te reageren. Verhogingen van concentraties van bepaalde elementen, zoals silica, kunnen leiden tot een fysische versterking van celwanden, die de plant weerbaarder maakt tegen schade (du Jardin, 2015). Toevoeging van op biostimulanten met mangaan kunnen weerbaarheid tegen droogtestress verhogen, door de productie van een waslaag op de bladeren, die het verlies van water voorkomt (Hebbern *et al.* 2009). De effecten van anorganische zouten op schimmelziekten kan veroorzaakt worden door verschillende mechanismen. Bijvoorbeeld een verandering van de pH op de oppervlak van de bladeren tot een ongeschikt niveau (Ziv and Zitter, 1992), direct doding van de celwanden van de schimmels en uitdroging van de schimmelsporen zijn als mechanismen bekend (Tiffin and Green, 2005).

Onderzoek naar het element kobalt liet een effect zien op het aantal wortelknobbels veroorzaakt door *Rhizobium* spp. in vlinderbloemigen (Gad, 2006), want dit element is belangrijk voor bepaalde enzymen in stikstofbindende bacteriën zoals *Rhizobium* (Palit *et al.* 1994). Er is ook een hypothese dat lage concentraties van zouten zoals NaCl (zout) een positieve invloed op nuttige micro-organismen zoals rhizobacteriën kunnen hebben en daardoor de gezondheid van een gewas verbeteren (Elmer, 2003). Beide, anorganische verbindingen en zouten, zijn in verschillende soorten biostimulanten (o.a. zeewierextracten, gewasafval producten, humuszuren) aanwezig. Het wordt verondersteld dat de werkingsmechanismen achter deze biostimulanten, (gedeeltelijk) worden veroorzaakt door deze elementen/stoffen (du Jardin, 2015).

Mengsels van biostimulanten hebben vergelijkbare effecten laten zien. Dezelfde mechanismen, als boven uitgelegd, zien we terug in de mengsels (Rouphael and Colla, 2018). Daarnaast bestaan er mogelijk synergistische effecten, die andere mechanistische pathways activeren. Niettemin blijft er een groot gebrek in kennis over de mechanismen van mengsels van biostimulanten.

5 Effectief gebruik van biostimulanten

5.1 Achtergrond

De producenten van biostimulanten maken soms claims over de werkzaamheid van hun producten die mogelijk niet gerechtvaardigd zijn (Ricci *et al.* 2019b). Deze claims worden misschien veroorzaakt door een gebrek aan kennis over de (geschikte) randvoorwaarden (abiotische condities, concentraties, gewasstadium etc.) voor optimale werkzaamheid. Daardoor zijn de effecten van biostimulanten vaak niet goed voorspelbaar en dat maakt het moeilijk voor de telers om te kiezen voor de meest effectieve producten voor hun gewassen en situatie. Effecten van biostimulanten lijken afhankelijk te zijn van omstandigheden, zoals de bodemvochtigheid, de temperatuur, het gewas, de cultivar en het gewasstadium op het moment van toevoeging, en de grondsoort of groeimedium (Yakhin *et al.* 2017a; Parađiković *et al.* 2019). De vraag is dan ook, of producten die onder bepaalde lab/proefkas omstandigheden werken, in de praktijk ook betrouwbaar zijn. Er is nog veel onbekend over welke randvoorwaarden de grootste invloed op de effectiviteit van biostimulanten hebben. Niettemin krijgen we langzaamaan meer handvatten over welke condities het meest geschikt zijn voor een goede werking van biostimulanten. Door gebruik van nieuwe technologieën, zoals metabolomics (Craigie, 2011; Jannin *et al.* 2012), beginnen we meer te weten te komen over hoe biostimulanten werken en met deze informatie is het mogelijk een beter toedieningsplan te maken. Hieronder is er een samenvatting over wat bekend en nog onbekend is over de randvoorwaarden, die de effectiviteit van de toevoeging van biostimulanten beïnvloeden.

5.2 Abiotische randvoorwaarden

Om een biostimulant te laten werken is het nodig dat deze voldoende kansen krijgt om in te werken in het plantenweefsel, de microbiële processen, etc. Dit wordt bepaald door een complexe interactie tussen factoren. Bijvoorbeeld hoe lang een stof vloeibaar blijft, is afhankelijk van temperatuur en luchtvochtigheid, het moleculairgewicht en de concentratie van de stof (Kolomazník *et al.* 2012). De biostimulant kan dus b.v. werken onder geschikte gecontroleerde omstandigheden in een kas, maar als dezelfde biostimulant in het veld wordt gebruikt, waar de condities verschillen, kunnen deze effecten verdwijnen (Di Marco and Osti, 2009).

Verschillende niveaus van waterstress kunnen een invloed op de werking van een biostimulant hebben. Effecten van biostimulanten gemaakt uit mycorrhiza, zeewierextract en aminozuren lieten tegenstrijdige effecten op planteigenschappen in muntplanten zien, zoals de groei en productie van essentiële oliën, die bepaald worden door het niveau van waterstress (Elansary *et al.* 2020). Temperatuur kan ook een invloed hebben op de werking van biostimulanten. Bijvoorbeeld toevoeging van aminozuren in Engels raaigras (*Lolium perenne*) liet een positief effect op fotochemische efficiëntie zien, maar dit effect was alleen aanwezig in een bepaalde temperatuurrange (Kauffman *et al.* 2007). Maar er zijn ook contrasterende voorbeelden. Voor toevoeging van biostimulanten met humuszuur en anorganisch zout zijn positieve effecten gedemonstreerd op gewassen zoals peterselie, prei, ui, tomaat, sla en radijs, maar deze effecten bleven onder een reeks temperaturen (10-25 ºC) vrijwel gelijk (Yildirim *et al.* 2000). Een andere randvoorwaarden met een groter effect op de effectiviteit van biostimulanten is de pH-waarde van het substraat of de bodem. De pH heeft een invloed op verschillende eigenschappen van de bodem of het substraat, zoals de beschikbaarheid van voedingsstoffen en compositie van het microbioom. Daardoor is er zeker een effect van pH op de functie van biostimulanten. Bijvoorbeeld het aantal nuttige bacteriën zoals *Azotobacter* wordt sterk beïnvloed door een lage pH (Jnawali *et al.* 2015). Niettemin zijn er voorbeelden van soorten schimmels, die in een brede range van pH-waarden nuttig kunnen zijn. Bijvoorbeeld onderzoek liet zien dat *Trichoderma* soorten de opbrengst kunnen verbeteren in een pH range van 5.5-8.0 (Colla *et al.* 2015b). Verder wordt verondersteld dat fulvinezuren onder een brede scala van pH nog voordelen kunnen hebben, want ze zijn kleiner dan humuszuren en daardoor kunnen ze langdurig in de bodem blijven (Calvo *et al.* 2014). De stof, die wordt gebruikt als drager voor de verspreiding van microbiële producten (b.v. voor *Azospirillum* spp.), kan de houdbaarheid en daarmee de werkzaamheid beïnvloeden (Sivasakthivelan and Saranraj, 2013). Tenslotte een laag niveau van nutriënten, zoals stikstof of kalium, kan de opname van producten die nuttige aminozuren bevatten verminderen (Moe, 2013).

5.3 Concentraties, chemische samenstelling & interacties

Biostimulanten met dezelfde actieve ingrediënten kunnen verschillen in concentraties tussen fabrikanten. Onderzoek laat zien, dat de concentratie van een biostimulant een belangrijk factor is bij de werking daarvan (Lakhdar *et al.* 2010). Veel etiketten van biostimulanten geven geen specifieke informatie over concentraties en dat maakt het lastig voor telers de meest geschikte product te kiezen.

Vaak bevat een biostimulant meerdere actieve ingrediënten of biostimulanten met verschillende ingrediënten worden gelijktijdig toegevoegd. Ook als een van deze actieve stoffen een veelbelovend effect heeft laten zien, is het dan mogelijk dat deze effecten in de praktijk niet optreden bij het gebruik van mengsels. Dit is zo omdat het effect kan veranderen door interacties met andere stoffen in de biostimulant (Bulgari *et al.* 2015). Deze interactie-effecten kunnen positief of negatief zijn. Bijvoorbeeld, toevoeging van zeewier extracten in combinatie met humuszuur toonde een versterking van groeikracht; een versterking die groter is dan op basis van toevoeging van de losse ingrediënten (Prakash *et al.* 2014). Interacties tussen micro-organismen in biostimulanten kunnen ook de effectiviteit veranderen. Bijvoorbeeld voordelen op nutriëntopname veroorzaakt door mycorrhiza producten kunnen verdwijnen door toevoeging van producten, die andere soorten schimmels (b.v. *Trichoderma* spp.) bevatten, door concurrentie tussen de verschillende soorten schimmels (De Jaeger *et al.* 2011). Verder gebruik van niet-nutriëntpolymeren coatings liet een positief effect zien op resterende nutriënten (d.w.z. minder uitspoeling), maar dit effect verdween toen de polymeren werden aangebracht met microbiële inoculatie (Assainar *et al.* 2020). Ondanks deze negatieve voorbeelden, is er ook bewijs dat gelijktijdige toevoeging van microbiële en niet-microbiële biostimulanten additieve voordelen kan hebben. Onderzoek liet bijvoorbeeld goede resultaten zien met combinaties van humuszuren, zeewierextracten en eiwithydrolysaten samen met microbiële producten (Rouphael *et al.* 2017).

Extractiemethoden en herkomst van het materiaal kunnen ook een invloed hebben op de effecten van een biostimulant. Twee van de meest belangrijke stappen bij het bereiden van een planten- en zeewierextracten zijn het kiezen van de juiste planten en de extractiemethode. Bijvoorbeeld extractie van zeewier bij hoge temperaturen liet een groter effect tegen abiotisch stress zien dan bij lagere temperaturen (Guinan *et al.* 2012). Concentraties van actieve stoffen binnen zeewier extracten kunnen verschillen op basis van soort zeewier en seizoen van verzameling (Khan *et al.* 2009). De herkomstbron van het materiaal is ook belangrijk. Bijvoorbeeld toevoeging van aminozuren van plantaardige- versus dierlijke bronnen lieten respectievelijk positieve en negatieve effecten zien op groei en ijzer (Fe) opname in tomaten (Cerdán *et al.* 2013). Humus- en fulvinezuren laten ook effecten zien, die afhankelijk zijn van het gebruikte materiaal en tijd van transformatie van oorspronkelijke materiaal naar product (Berbara and García, 2014). Chitosan-achtige stoffen kunnen verschillen in samenstelling; een verschil dat veroorzaakt is door verwerking van het materiaal (El Hadrami *et al.* 2010). De grote (d.w.z. moleculair gewicht) van chitosan-achtige stoffen speelt ook een belangrijk rol in hoe effectief ze zijn (Luan *et al.* 2006). Deze verschillen geven de chitosan-verbindingen eigenschappen, die verschillende effecten op planten hebben. Daarvoor is het nodig om te weten welke samenstellingen het meest geschikt zijn voor bepaalde doelen (b.v. bestrijding van ziekten en plagen, weerbaarheid tegen abiotisch stress).

5.4 Gewasstadium & het effect van het seizoen

Het tijdstip in de ontwikkeling van een gewas kan bepalen hoe effectief een biostimulant is en deze verschillen zijn belangrijk om te overwegen bij zowel voedselgewassen als siergewassen (Parađiković *et al.* 2019). Bijvoorbeeld gebruik van zeewier extracten en humuszuur verbeterd de gezondheid van gras, maar deze biostimulant heeft het sterkste effect in de zomer- tijdens de hoogste biomassa productie (Zhang *et al.* 2003). Verder kunnen initiële positieve effecten op een gewas, veroorzaakt door een biostimulant, verdwijnen als de planten zich ontwikkelen. Toevoeging van zeewier extracten op tarwe liet langere, grotere planten zien, maar de totale opbrengst was lager (de Carvalho *et al.* 2014). Effecten van eiwithydrolysaten op groeihormonen in tomaten, onder waterstress, verschilde afhankelijk van het gewasstadium (Casadesús *et al.* 2019).

Het seizoen en de geassocieerde weersomstandigheden kunnen invloed hebben op de werking van biostimulanten. Bijvoorbeeld toevoeging van een aminozuurproduct liet positieve effecten op de voedingskwaliteit van spinazie zien, maar dit voordeel was alleen zichtbaar in de herfst (niet in de lente) en het effect varieerde van jaar tot jaar (Kunicki *et al.* 2010). Af en toe is het niet helemaal duidelijk of het verschil in effecten van biostimulanten wordt veroorzaakt door alleen het seizoen of door interacties tussen de biostimulant en het seizoen. Onderzoek over effectiviteit van aminozuren-houdende biostimulanten liet een beter effect op opbrengst en inhoud van antioxidanten zien in gewassen, die in de winter-lente versus de winter werden geteeld.

5.5 Bepaalde gewassen & rassen

Biostimulanten, die in één soort gewas goed werken, kunnen geen effect op andere gewassen hebben. De verantwoordelijkheid voor de bepaling van werkzaamheden van biostimulanten in verschillende gewassen ligt bij de producent, maar vaak zijn er onvoldoende openbare resultaten van dit soort onderzoek beschikbaar. De EU geeft een set van richtlijnen om producenten te informeren om op de meest effectieve manier de werking van biostimulanten in verschillende gewassen te bepalen (Ricci *et al.* 2019b). De EU stelt voor om gewassen in verschillende groepen te verdelen (b.v. vlinderbloemigen, fruitbomen, druiven, etc.), aangezien deze gewassen eigenschappen delen die de effectiviteit van een biostimulant kunnen beïnvloeden (Ricci *et al.* 2019b).

Effecten van biostimulanten gemaakt uit micro-organismen, zeewierextracten, aminozuren en organische stoffen kunnen variëren tussen gewas en cultivar (Pereira *et al.* 2019). Bijvoorbeeld biostimulanten, gemaakt uit aminozuren, hadden positieve effecten op radijs, sla en paprika, maar geen effecten in spinazie en andijvie (Colla *et al.* 2015a). Bestrijding van wortelknobbelaaltjes (*Meloidogyne* spp.) door de toevoeging van antagonistische schimmels (b.v. *Purpureocillium lilacinum* strain 251) heeft succes in tomaten getoond (Kiewnick and Sikora, 2006; Dahlin *et al.* 2019) en een paar producten met deze schimmels zijn al op de markt (b.v. BioAct Prime van Bayer). Maar deze middelen met schimmels zijn niet altijd effectief in andere gewassen, zoals chrysant (van der Wurff, 2010). Vergelijkbare effecten zijn ook bij de inoculatie met nuttige bacteriën geobserveerd. Bijvoorbeeld proeven met *Azotobacter* lieten zien dat het overleven van deze bacteriën, na inoculatie, afhankelijk is van het soort gewas en daardoor de positieve effecten op het gewas verschilden (Sariv and Ragoviv, 1963). Cultivar speelt ook een rol in de effectiviteit van biostimulant. Onderzoek op twee spinazie cultivars liet verschillende effecten zien van biostimulanten, gemaakt uit zeewier, planten- en zeewier extracten, aminozuren en organische stoffen, op planteneigenschappen zoals eiwitinhoud, suikerinhoud en organische zuren (Pereira *et al.* 2019). Vergelijkbare effecten van biostimulanten gemaakt uit plantenextracten, aminozuren en spoorelementen op groei en opbrengst zijn ook in 6 rassen van tomaten waargenomen (Francesca *et al.* 2020).

6 Conclusies

Biostimulanten worden steeds vaker gebruikt in de land- en tuinbouw, omdat de sector en industrie op zoek is naar opties om het gebruik van meststoffen en gewasbeschermingsmiddelen te beperken. Deze producten kunnen microbiële, niet-microbiële of combinaties van ingrediënten bevatten. Microbiële producten bevatten meestal nuttige micro-organismen zoals mycorrhiza en bacteriën, terwijl niet-microbiële producten typisch plantenextracten en -delen, compost (humuszuren), digestaat uit energie gewassen, andere digestaten (zeewier extracten), bijproducten van de voedselindustrie (o.a. glycoproteinen), biopolymeren (o.a. chitosan), anorganische kationverbindingen of mengsels van ingrediënten bevatten. Voordelen van dergelijke producten zijn onder meer: verhoogde algehele groei, verbeterde opbrengst, betere opname van voedingsstoffen en metabolische functie, hogere totale hoeveelheid voedingsstoffen van het product, betere kwaliteit en houdbaarheid en hogere tolerantie voor abiotische (d.w.z. droogte, temperatuurschommelingen, tekort aan voedingsstoffen, zoutstress) en biotische stress (d.w.z. ziekten en plagen) (Tabel 2). Al deze producten kunnen gewassen ten goede komen via zowel directe als indirecte effecten. De mechanismen achter de werking van deze producten verschillen (Tabel 3), maar er is veel overlap (Figuur 1). Bij de microbiële producten zien we vooral een sterk positief effect op de nutriëntenopname door enerzijds stikstoffixatie en anderzijds beter beschikbaar maken van aanwezige nutriënten in de bodem. Daarnaast hebben deze producten vaak een effect op het bodemleven of op bepaalde planthormonen waardoor de weerbaarheid tegen biotische en abiotische stress verhoogd wordt. Bij de niet-microbiële producten hebben de plant- en zeewierextracten de composten een duidelijk invloed op de algemene bodemvruchtbaarheid en daarmee op bodemleven, nutriëntenbeschikbaarheid en weerbaarheid van de plant. Daarnaast spelen de producten een rol in het verhogen van het polyfenolgehalte in de plant wat de plantweerbaarheid tegen ziekten- en plagen verhoogd. Bij de digestaten valt vooral de invloed van deze producten op planthormonen op wat zowel effecten kan hebben op groei, kieming als weerbaarheid. De nutrientpolymeren werken vooral in op planthormonen en fysiologische processen in de plant waardoor weerbaarheid tegen zowel abiotische als biotische stress verhoogd kan worden. Daarnaast hebben sommige van deze producten antivirale, antibacteriële, antinematode en schimmelwerende eigenschappen. De anorganisch verbindeingen hebben vaak een fysische werking op de sterkte van celwanden, op b.v. waxlagen en op de plantafweer. Daarnaast kunnen bepaalde zouten effecten hebben op plantenziekten.

Hoewel er de afgelopen jaren veel kennis is opgebouwd over biostimulanten resteren er, voor een goede toepassing in de praktijk, nog veel vragen over de werking en de optimale omstandigheden waaronder het product effectief is. Dit wordt enerzijds veroorzaakt doordat het mechanisme achter de werking van biostimulanten nog onvoldoende duidelijk is. Tevens kunnen specifieke mengsels van ingrediënten de eigenschappen van het product sterk beïnvloeden waardoor de (neven)effecten van individuele bestanddelen versterkt of juist verminderd worden.

Een beter begrip van hoe deze producten werken, zal hun potentiële voordelen vergroten en de toepassingsregimes verbeteren. Om tot een optimaal gebruik van biostimulanten te komen is het bovendien zeer belangrijk dat de (actieve) ingrediënten in het product en de concentraties bekend zijn. Het is bijvoorbeeld van groot belang de exacte soorten en stammen micro-organismen te kennen die het product bevat. Voor de praktijk is het ook cruciaal om meer inzicht te hebben onder welke abiotische omstandigheden (b.v. temperatuur, pH, vochtigheid), bij welke gewassen (cultivars) en in welke stadia de producten werken.

Literatuur

Abbott, L. and Robson, A. 1982.
The role of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. Australian Journal of Agricultural Research 33:389-408.

Abdel-Baky, Y. R., Abouziena, H., Amin, A., El-Sh, M. R. and Abd El-Sttar, A. 2019.
Improve quality and productivity of some faba bean cultivars with foliar application of fulvic acid. Bulletin of the National Research Centre 43:2.

Adetunji, A. E., Varghese, B. and Pammenter, N. W. 2020.
Effects of inorganic salt solutions on vigour, viability, oxidative metabolism and germination enzymes in aged cabbage and lettuce seeds. Plants 9:1164.

Adikaram, N. K. B., Joyce, D. C. and Terryc, L. A. 2002.
Biocontrol activity and induced resistance as a possible mode of action for Aureobasidium pullulans against grey mould of strawberry fruit. Australasian Plant Pathology 31:223-229.

Akhtar, M. and Alam, M. M. 1993.
Utilization of waste materials in nematode control: A review. Bioresource Technology 45:1-7.

Al-Shalaby, M. E. M. 2009.
The use of garlic extracts for biocontrol of Meloidogyne incognita infecting cucumber plants. International Journal of Nematology 19:208-214.

Alam, M. Z., Braun, G., Norrie, J. and Hodges, D. M. 2013.
Effect of Ascophyllum extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. Canadian Journal of Plant Science 93:23-36.

Albert, A., Sareedenchai, V., Heller, W., Seidlitz, H. K. and Zidorn, C. 2009.
Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in Arnica montana L. cv. ARBO. Oecologia 160:1-8.

Alejandro, S., Höller, S., Meier, B. and Peiter, E. 2020.
Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation. Front. Plant Sci. 11.

Alori, E. T., Glick, B. R. and Babalola, O. O. 2017.
Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. Front. Microbiol. 8:971.

Ambrosini, A., de Souza, R. and Passaglia, L. M. 2016.
Ecological role of bacterial inoculants and their potential impact on soil microbial diversity. Plant and Soil 400:193-207.

Antoun, H., Beauchamp, C. J., Goussard, N., Chabot, R. and Lalande, R. 1998.
Potential of Rhizobium and Bradyrhizobium species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (Raphanus sativus L.). Pp. 57-67 *in*ed. Molecular microbial ecology of the soil,Springer.

Assainar, S. K., Abbott, L. K., Mickan, B. S., Storer, P. J., Whiteley, A. S., Siddique, K. H. M. and Solaiman, Z. M. 2020.
Polymer-coated rock mineral fertilizer has potential to substitute soluble fertilizer for increasing growth, nutrient uptake, and yield of wheat. Biol. Fertil. Soils 56:381-394.

Atkins, C. 1984.
Efficiencies and inefficiencies in the legume/Rhizobium symbiosis—A review. Plant and Soil 82:273-284.

Aydin, A., Kant, C. and Turan, M. 2012.
Humic acid application alleviate salinity stress of bean (Phaseolus vulgaris L.) plants decreasing membrane leakage. African Journal of Agricultural Research 7:1073-1086.

Azcón, R. and Barea, J. 1975.
Synthesis of auxins, gibberellins and cytokinins byAzotobacter vinelandii andAzotobacter beijerinckii related to effects produced on tomato plants. Plant and Soil 43:609-619.

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. Front. Plant Sci. 9:1473.

Bari, R. and Jones, J. D. 2009.
Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol.Biol. 69:473-488.

Barka, E. A., Eullaffroy, P., Clément, C. and Vernet, G. 2004.
Chitosan improves development, and protects Vitis vinifera L. against Botrytis cinerea. Plant Cell Reports 22:608-614.
Barnes, S. and Percival, G. C. 2006.
Influence of biostimulants and water-retaining polymer root dips on survival and growth of newly transplanted bare-rooted silver birch and rowan. Journal of Environmental Horticulture 24:173-179.
Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P. and Prithiviraj, B. 2015.
Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. Scientia Horticulturae 196:39-48.
Berbara, R. L. and García, A. C. 2014.
Humic substances and plant defense metabolism. Pp. 297-319 *in*ed. Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment,Springer.
Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. and Bakker, P. A. 2012.
The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in plant science 17:478-486.
Berg, G., Grube, M., Schloter, M. and Smalla, K. 2014.
Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. Front. Microbiol. 5:148.
Bettoni, M. M., Mogor, Á. F., Pauletti, V. and Goicoechea, N. 2014.
Growth and metabolism of onion seedlings as affected by the application of humic substances, mycorrhizal inoculation and elevated CO_2. Scientia Horticulturae 180:227-235.
Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G. S. and Nichols, E. J. 2001.
Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. Agricultural and Forest Meteorology 107:167-175.
Blok, W., Zwankhuizen, M. and Bollen, G. 1997.
Biological control of Fusarium oxysporum f. sp. asparagi by applying non-pathogenic isolates of F. oxysporum. Biocontrol Science and Technology 7:527-542.
Boonlertnirun, S., Boonraung, C. and Suvanasara, R. 2008.
Application of chitosan in rice production. Journal of metals, materials and minerals 18.
Bornet, A. and Teissedre, P. 2008.
Chitosan, chitin-glucan and chitin effects on minerals (iron, lead, cadmium) and organic (ochratoxin A) contaminants in wines. European Food Research and Technology 226:681-689.
Botta, A. 2012.
Enhancing plant tolerance to temperature stress with amino acids: an approach to their mode of action. In: *I World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture 1009*, pp. 29-35.
Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P. and Ferrante, A. 2015.
Biostimulants and crop responses: a review. Biological Agriculture & Horticulture 31:1-17.
Bulgari, R., Morgutti, S., Cocetta, G., Negrini, N., Farris, S., Calcante, A., Spinardi, A., Ferrari, E., Mignani, I. and Oberti, R. 2017.
Evaluation of borage extracts as potential biostimulant using a phenomic, agronomic, physiological, and biochemical approach. Front. Plant Sci. 8:935.
Burg, S. P. and Burg, E. A. 1962.
Role of ethylene in fruit ripening. Plant Physiology 37:179.
Butt, K. R., Frederickson, J. and Morris, R. M. 1995.
An earthworm cultivation and soil inoculation technique for land restoration. Ecological Engineering 4:1-9.
Calvo, P., Nelson, L. and Kloepper, J. W. 2014.
Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and Soil 383:3-41.
Canbolat, M. Y., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F. and Aydın, A. 2006.
Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. Biol. Fertil. Soils 42:350-357.
Caradonia, F., Battaglia, V., Righi, L., Pascali, G. and La Torre, A. 2019.
Plant biostimulant regulatory framework: prospects in europe and current situation at international level. Journal of Plant Growth Regulation 38:438-448.
Carillo, P., Colla, G., El-Nakhel, C., Bonini, P., D'Amelia, L., Dell'Aversana, E., Pannico, A., Giordano, M., Sifola, M. I. and Kyriacou, M. C. 2019.
Biostimulant application with a tropical plant extract enhances Corchorus olitorius adaptation to sub-optimal nutrient regimens by improving physiological parameters. Agronomy 9:249.
Carvalhais, L. C., Schenk, P. M. and Dennis, P. G. 2017.
Jasmonic acid signalling and the plant holobiont. Curr. Opin. Microbiol. 37:42-47.

Casadesús, A., Polo, J. and Munné-Bosch, S. 2019.
Hormonal effects of an enzymatically hydrolyzed animal protein-based biostimulant (Pepton) in water-stressed tomato plants. Front. Plant Sci. 10:758.

Cavagnaro, T. R. 2014.
Impacts of compost application on the formation and functioning of arbuscular mycorrhizas. Soil Biology and Biochemistry 78:38-44.

Cerdán, M., Sánchez-Sánchez, A., Oliver, M., Juárez, M. and Sánchez-Andreu, J. 2008.
Effect of foliar and root applications of amino acids on iron uptake by tomato plants. In: *IV Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 830*, pp. 481-488.

Cerdán, M., Sánchez-Sánchez, A., Jordá, J. D., Juárez, M. and Sánchez-Andreu, J. 2013. Effect of commercial amino acids on iron nutrition of tomato plants grown under lime-induced iron deficiency. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 176:859-866.

Chaudhry, Q., Blom-Zandstra, M., Gupta, S. K. and Joner, E. 2005.
Utilising the synergy between plants and rhizosphere microorganisms to enhance breakdown of organic pollutants in the environment (15 pp). Environmental Science and Pollution Research 12:34-48.

Chauhan, U., Singh, A. K., Godani, D., Handa, S., Gupta, P. S., Patel, S. and Joshi, P. 2018.
Some natural extracts from plants as low-cost alternatives for synthetic PGRs in rose micropropagation. Journal of Applied Horticulture 20.

Chen, Q. and Peng, D. 2019.
Nematode Chitin and Application. Advances in experimental medicine and biology 1142:209-219.

Close, D. C. and McArthur, C. 2002.
Rethinking the role of many plant phenolics - protection from photodamage not herbivores? Oikos 99:166-172.

Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R. and Rouphael, Y. 2015a.
Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. Scientia Horticulturae 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. Journal of the Science of Food and Agriculture 95:1706-1715.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C. and Barka, E. A. 2005.
Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl. Environ. Microbiol. 71:4951-4959.

Compant, S., Samad, A., Faist, H. 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.

Constabel, C. P., Yoshida, K. and Walker, V. 2014.
Diverse ecological roles of plant tannins: plant defense and beyond. Recent advances in polyphenol research 4:115-142.

Craigie, J. S. 2011.
Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. Journal of applied phycology 23:371-393.

Curtis, H., Noll, U., Störmann, J. and Slusarenko, A. J. 2004.
Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (Allium sativum L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. Physiological and molecular plant pathology 65:79-89.

Dahlin, P., Eder, R., Consoli, E., Krauss, J. and Kiewnick, S. 2019.
Integrated control of Meloidogyne incognita in tomatoes using fluopyram and Purpureocillium lilacinum strain 251. Crop Protection 124:104874.

Datta, A., Singh, R. K., Kumar, S. and Kumar, S. 2015.
An effective and beneficial plant growth promoting soil bacterium "Rhizobium": a review. Ann Plant Sci 4:933-942.

de Carvalho, M. E. A., de Camargo, P. R., Gallo, L. A. and Junior, M. V. C. F. 2014.
Seaweed extract provides development and production of wheat. Agrarian 7:166-170.

De Corato, U. 2020.
Disease-suppressive compost enhances natural soil suppressiveness against soil-borne plant pathogens: A critical review. Rhizosphere 13:100192.

De Jaeger, N., De la Providencia, I., Rouhier, H. and Declerck, S. 2011.
Co-entrapment of Trichoderma harzianum and Glomus sp. within alginate beads: impact on the arbuscular mycorrhizal fungi life cycle. Journal of Applied Microbiology 111:125-135.

De Long, J., R., Streminska, M., Persijn, A., Huisman, M. and van der Salm, C. 2020.
Green Challenges: Bestrijding van Meloidogyne spp. (wortelknobbelaaltjes) in chrysant met biologische bestrijdingsmiddelen en biostimulanten. Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business unit ….
Deliopoulos, T., Kettlewell, P. S. and Hare, M. C. 2010.
Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. Crop Protection 29:1059-1075.
Deng, J., Li, F. and Duan, T. Y. 2020.
Claroideoglomus etunicatum reduces leaf spot incidence and improves drought stress resistance in perennial ryegrass. Australasian Plant Pathology 49:147-157.
Di Marco, S. and Osti, F. 2009.
Effect of biostimulant sprays on Phaeomoniella chlamydospora and esca proper infected vines under greenhouse and field conditions. Phytopathologia Mediterranea 48:47-58.
Donley, N. 2019.
The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides. Environmental Health 18:44.
du Jardin, P. 2012.
The Science of Plant Biostimulants–A bibliographic analysis, Ad hoc study report. European Commission.
du Jardin, P. 2015.
Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Scientia Horticulturae 196:3-14.
EL Boukhari, M. E., 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 Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I. and Daayf, F. 2010.
Chitosan in plant protection. Marine drugs 8:968-987.
Elansary, H. O., Mahmoud, E. A., El-Ansary, D. O. and Mattar, M. A. 2020.
Effects of Water Stress and Modern Biostimulants on Growth and Quality Characteristics of Mint. Agronomy 10:6.
Elmer, W. H. 2003.
Local and systemic effects of NaCl on root composition, rhizobacteria, and Fusarium crown and root rot of asparagus. Phytopathology 93:186-192.
Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C. and Nardi, S. 2009.
Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. Journal of plant nutrition and soil science 172:237-244.
Ertani, A., Pizzeghello, D., Altissimo, A. and Nardi, S. 2013a.
Use of meat hydrolyzate derived from tanning residues as plant biostimulant for hydroponically grown maize. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 176:287-295.
Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A. and Nardi, S. 2013b.
Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed Zea mays L. plants. Plant and soil 364:145-158.
European Parliament Council of the European Union 2019.
Regulation (EU) 2019/1009 of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003. Official Journal of the European Union, L 170/1. Off. J. Eur. Union 62:1-132.
Evans, H. 1998.
The safe use of fungi for biological control of weeds. Phytoprotection 79:67-74.
Fancy, S. 2019.
The Influence of an Ascophyllum Nodosum Seaweed Biostimulant on Interactions Between Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Rhizophagus irregularis) and Medicago Truncatula.
Faoro, F., Sant, S., Iriti, M., Maffi, D. and Appiano, A. 2001.
Chitosan-elicited resistance to plant viruses: a histochemical and cytochemical study. Chitin enzymology 22:57-62.
Fierer, N. 2017.
Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. Nat. Rev. Microbiol. 15:579.
Fragnière, C., Serrano, M., Abou-Mansour, E., Métraux, J.-P. and L'Haridon, F. 2011.
Salicylic acid and its location in response to biotic and abiotic stress. FEBS letters 585:1847-1852.

Francesca, S., Arena, C., Hay Mele, B., Schettini, C., Ambrosino, P., Barone, A. and Rigano, M. M. 2020.
The use of a plant-based biostimulant improves plant performances and fruit quality in tomato plants grown at elevated temperatures. Agronomy 10:363.

Gad, N. 2006.
Increasing the efficiency of nitrogen fertilization through cobalt application to pea plant. Res J Agric Biol Sci 2:433-442.

Ganassi, S., Moretti, A., Stornelli, C., Fratello, B., Pagliai, A. B., Logrieco, A. and Sabatini, M. A. 2001.
Effect of Fusarium, Paecilomyces and Trichoderma formulations against aphid Schizaphis graminum. Mycopathologia 151:131-138.

García-Martínez, A., Díaz, A., Tejada, M., Bautista, J., Rodríguez, B., Santa María, C., Revilla, E. and Parrado, J. 2010.
Enzymatic production of an organic soil biostimulant from wheat-condensed distiller solubles: Effects on soil biochemistry and biodiversity. Process Biochemistry 45:1127-1133.

Garćia-Sánchez, M. a. J., Jaime, M. P., Ramos, A., Sanders, D. and Fernández, J. 2000.
Sodium-Dependent Nitrate Transport at the Plasma Membrane of Leaf Cells of the Marine Higher Plant Zostera marinaL. Plant physiology 122:879-886.

García, A. C., Berbara, R. L. L., Farías, L. P., Izquierdo, F. G., Hernández, O. L., Campos, R. H. and Castro, R. N. 2012.
Humic acids of vermicompost as an ecological pathway to increase resistance of rice seedlings to water stress. Afr. J. Biotechnol. 11:3125-3134.

Gerbore, J., Benhamou, N., Vallance, J., Le Floch, G., Grizard, D., Regnault-Roger, C. and Rey, P. 2014.
Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of Pythium oligandrum. Environmental Science and Pollution Research 21:4847-4860.

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2005.
Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. Plant and soil 276:133-141.

Giovannini, L., Palla, M., Agnolucci, M., Avio, L., Sbrana, C., Turrini, A. and Giovannetti, M. 2020.
Arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbiota as plant biostimulants: research strategies for the selection of the best performing inocula. Agronomy 10:106.

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.

Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G. and Bending, G. D. 2006.
Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. Agriculture, Ecosystems & Environment 113:17-35.

Guinan, K., Sujeeth, N., Copeland, R., Jones, P., O'brien, N., Sharma, H., Prouteau, P. and O'sullivan, J. 2012.
Discrete roles for extracts of Ascophyllum nodosum in enhancing plant growth and tolerance to abiotic and biotic stresses. In: *I World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture 1009*, pp. 127-135.

Gurjar, M. S., Ali, S., Akhtar, M. and Singh, K. S. 2012.
Efficacy of plant extracts in plant disease management.

Hadrami, A., Hadrami, I. and Daayf, F. 2009.
Suppression of induced plant defense responses by fungal and oomycetes pathogens. Molecular plant–microbe interactions. Cambridge: CABI231-268.

Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T. and Yermiyahu, U. 2015.
The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. Pp. 141-174 *in*ed. Advances in agronomy,Elsevier.

Harman, G., Lorito, M. and Lynch, J. 2004.
Uses of Trichoderma spp. to alleviate or remediate soil and water pollution. Advances in applied microbiology 56:313-330.

Harman, G. E. 2000.
Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on Trichoderma harzinum T-22. Plant Disease 84:377-393.

Hartikainen, H. 2005.
Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. Journal of Trace elements in Medicine and Biology 18:309-318.

Hebbern, C. A., Laursen, K. H., Ladegaard, A. H., Schmidt, S. B., Pedas, P., Bruhn, D., Schjoerring, J. K., Wulfsohn, D. and Husted, S. 2009.
Latent manganese deficiency increases transpiration in barley (Hordeum vulgare). Physiologia plantarum 135:307-316.
Hellriegel, H. and Wilfarth, H. 1888.
Untersuchungen uber die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen.
Hirano, S., Nakahira, T., Nakagawa, M. and Kim, S. K. 1999.
The preparation and applications of functional fibres from crab shell chitin. Pp. 373-377 *in*ed. Progress in Industrial Microbiology,Elsevier.
Hong, D. D., Hien, H. M. and Son, P. N. 2007.
Seaweeds from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. Journal of Applied Phycology 19:817-826.
Hossain, M. M., Sultana, F. and Islam, S. 2017.
Plant growth-promoting fungi (PGPF): phytostimulation and induced systemic resistance. Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives135-191.
Iriti, M., Picchi, V., Rossoni, M., Gomarasca, S., Ludwig, N., Gargano, M. and Faoro, F. 2009.
Chitosan antitranspirant activity is due to abscisic acid-dependent stomatal closure. Environ. Exp. Bot. 66:493-500.
Ito, Y., Nakanomyo, I., Motose, H., Iwamoto, K., Sawa, S., Dohmae, N. and Fukuda, H. 2006.
Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation. Science 313:842-845.
Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M., San Francisco, S., Baigorri, R. and Cruz, F. 2013.
Brassica napus growth is promoted by Ascophyllum nodosum (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. Journal of Plant Growth Regulation 32:31-52.
Jannin, L., Arkoun, M., Ourry, A., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M., San Francisco, S., Baigorri, R. and Cruz, F. 2012.
Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: involvement of N, C and S metabolisms. Plant and soil 359:297-319.
Janssen, P. H. 2006.
Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. Appl. Environ. Microbiol. 72:1719-1728.
Jha, S., Kumar, C. and Modi, H. 2014.
Microbial chitinases: Manifestation and prospective. Microbes in Process. Portland, ME, USA.: Nova Science Publisher151-162.
Jiang, C., Belfield, E. J., Cao, Y., Smith, J. A. C. and Harberd, N. P. 2013.
An Arabidopsis soil-salinity–tolerance mutation confers ethylene-mediated enhancement of sodium/potassium homeostasis. The Plant Cell 25:3535-3552.
Jnawali, A., Ojha, R. and Marahatta, S. 2015.
Role of Azotobacter in soil fertility and sustainability–A Review. Adv. Plants Agric. Res 2:1-5.
Joner, E., Skjerve, E., Sundheim, L., Tronsmo, A., Wastson, Y., Eckner, K., Kapperud, G., Lassen, J. F., Narvhus, J. and Nesbakken, T. 2019.
Microorganisms in Biostimulants. European Journal of Nutrition & Food Safety310-311.
Jorobekova, S. and Kydralieva, K. 2019.
Plant Growth Biostimulants from By-Products of Anaerobic Digestion of Organic Substances. Pp. *in*ed. Organic Fertilizers,IntechOpen.
Katiyar, D., Hemantaranjan, A. and Singh, B. 2015.
Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. Indian Journal of Plant Physiology 20:1-9.
Kauffman, G. L., Kneivel, D. P. and Watschke, T. L. 2007.
Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. Crop science 47:261-267.
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. Journal of Plant Growth Regulation 28:386-399.

Kiewnick, S. and Sikora, R. A. 2006.
Biological control of the root-knot nematode Meloidogyne incognita by Paecilomyces lilacinus strain 251. Biol. Control 38:179-187.
Kinnersley, A. 1993.
The role of phytochelates in plant growth and productivity. Plant growth regulation 12:207-218.
Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M. N. 1980.
Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. Nature 286:885-886.
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. 10:845.
Kolomazník, K., Pecha, J., Friebrová, V., Janáčová, D. and Vašek, V. 2012.
Diffusion of biostimulators into plant tissues. Heat and Mass Transfer 48:1505-1512.
Kramer, J., Özkaya, Ö. and Kümmerli, R. 2020.
Bacterial siderophores in community and host interactions. Nat. Rev. Microbiol. 18:152-163.
Kubicek, C. P., Komon-Zelazowska, M. and Druzhinina, I. S. 2008.
Fungal genus Hypocrea/Trichoderma: from barcodes to biodiversity. Journal of Zhejiang University Science B 9:753.
Kunicki, E., Grabowska, A., Sękara, A. and Wojciechowska, R. 2010.
The effect of cultivar type, time of cultivation, and biostimulant treatment on the yield of spinach (Spinacia oleracea L.). Folia Horticulturae 22:9-13.
Lakhdar, A., Iannelli, M. A., Debez, A., Massacci, A., Jedidi, N. and Abdelly, C. 2010.
Effect of municipal solid waste compost and sewage sludge use on wheat (Triticum durum): growth, heavy metal accumulation, and antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture 90:965-971.
Latef, A. A. H. A., Hashem, A., Rasool, S., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A., Egamberdieva, D., Jan, S., Anjum, N. A. and Ahmad, P. 2016.
Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stress in plants: a review. Journal of Plant Biology 59:407-426.
Lattanzio, V., Lattanzio, V. M. T. and Cardinali, A. 2006.
Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects.
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 and Soil 321:513-535.
Lemarié, S., Robert-Seilaniantz, A., Lariagon, C., Lemoine, J., Marnet, N., Jubault, M., Manzanares-Dauleux, M. J. and Gravot, A. 2015.
Both the Jasmonic Acid and the Salicylic Acid Pathways Contribute to Resistance to the Biotrophic Clubroot Agent Plasmodiophora brassicae in Arabidopsis. Plant and Cell Physiology 56:2158-2168.
Lembi, C. A. and Waaland, J. R. 1988.
Algae and human affairs. Cambridge University Press.
Lévai, L., Veres, S., Bákonyi, N. and Gajdos, É. 2008.
Can Wood Ash and Bio-fertilizer Play a Role in Organic Agriculture? Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva 70:263-272.
Light, K. M., Wisniewski, J. A., Vinyard, W. A. and Kieber-Emmons, M. T. 2016.
Perception of the plant hormone ethylene: known-knowns and known-unknowns. JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry 21:715-728.
Lim, H.-S., Kim, Y.-S. and Kim, S.-D. 1991.
Pseudomonas stutzeri YPL-1 genetic transformation and antifungal mechanism against Fusarium solani, an agent of plant root rot. Appl. Environ. Microbiol. 57:510-516.
Lisiecka, J., Knaflewski, M., Spizewski, T., Fraszczak, B., Kaluzewicz, A. and Krzesinski, W. 2011.
The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv.'Elsanta'. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus 10:31-40.
Loper, J. E., Hassan, K. A., Mavrodi, D. V., Davis II, E. W., Lim, C. K., Shaffer, B. T., Elbourne, L. D., Stockwell, V. O., Hartney, S. L. and Breakwell, K. 2012.
Comparative genomics of plant-associated Pseudomonas spp.: insights into diversity and inheritance of traits involved in multitrophic interactions. PLoS Genet 8:e1002784.

López-Bucio, J., Pelagio-Flores, R. and Herrera-Estrella, A. 2015.
Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. Scientia horticulturae 196:109-123.
Luan, L. Q., Nagasawa, N., Tamada, M. and Nakanishi, T. M. 2006.
Enhancement of plant growth activity of irradiated chitosan by molecular weight fractionation. Radioisotopes 55:21.
Luziatelli, F., Ficca, A., Colla, G., Svecova, E. and Ruzzi, M. 2015.
Effects of a protein hydrolysate-based biostimulant and two micronutrient based fertilizers on plant growth and epiphytic bacterial population of lettuce. In: *II World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture 1148*, pp. 43-48.
Ma, H.-k., Pineda, A., van der Wurff, A. W. and Bezemer, T. M. 2018.
Carry-over effects of soil inoculation on plant growth and health under sequential exposure to soil-borne diseases. Plant and Soil 433:257-270.
Macura, B., Johannesdottir, S. L., Piniewski, M., Haddaway, N. R. and Kvarnström, E. 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. Environmental Evidence 8:1-9.
Mahdavi, B. 2013.
Seed germination and growth responses of Isabgol (Plantago ovata Forsk) to chitosan and salinity. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 5:1084.
Maqubela, M., Mnkeni, P., Issa, O. M., Pardo, M. and D'acqui, L. 2009.
Nostoc cyanobacterial inoculation in South African agricultural soils enhances soil structure, fertility, and maize growth. Plant and Soil 315:79-92.
Marchand, P. 2017.
Basic substances as renewable and affordable crop protection products. Chronicle of Bioresource Management 1:065-066.
Marchand, P. A. 2015.
Basic substances: an opportunity for approval of low-concern substances under EU pesticide regulation. Pest management science 71:1197-1200.
Marrone, P. G. 2019.
Pesticidal natural products–status and future potential. Pest management science 75:2325-2340.
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.
Mathivanan, N., Prabavathy, V. and Vijayanandraj, V. 2008.
The effect of fungal secondary metabolites on bacterial and fungal pathogens. Pp. 129-140 *in*ed. Secondary Metabolites in Soil Ecology,Springer.
Matiru, V. N. and Dakora, F. D. 2004.
Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. Afr. J. Biotechnol. 3:1-7.
Matsumiya, Y. and Kubo, M. 2011.
Soybean peptide: novel plant growth promoting peptide from soybean. Soybean and Nutrition215-230.
McKinnon, A. C., Saari, S., Moran-Diez, M. E., Meyling, N. V., Raad, M. and Glare, T. R. 2017.
Beauveria bassiana as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential. BioControl 62:1-17.
Michiels, K., Vanderleyden, J. and Van Gool, A. 1989.
Azospirillum-plant root associations: a review. Biol. Fertil. Soils 8:356-368.
Miransari, M. 2011.
Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology 89:917-930.
Moe, L. A. 2013.
Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. Am. J. Bot. 100:1692-1705.
Mora, V., Bacaicoa, E., Zamarreno, A.-M., Aguirre, E., Garnica, M., Fuentes, M. and García-Mina, J.-M. 2010.
Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. Journal of Plant Physiology 167:633-642.

Mucharromah, E. and Kuc, J. 1991.
Oxalate and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses in cucumber. Crop Protection 10:265-270.
Mulero-Aparicio, A., Agustí-Brisach, C., Varo, Á., López-Escudero, F. J. and Trapero, A. 2019.
A non-pathogenic strain of Fusarium oxysporum as a potential biocontrol agent against Verticillium wilt of olive. Biol. Control 139:104045.
Munyanziza, E., Kehri, H. K. and Bagyaraj, D. J. 1997.
Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: the role of mycorrhiza in crops and trees. Appl. Soil Ecol. 6:77-85.
Muzzarelli, R., Tarsi, R., Filippini, O., Giovanetti, E., Biagini, G. and Varaldo, P. 1990.
Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. Antimicrobial agents and chemotherapy 34:2019-2023.
Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M. and Ertani, A. 2016.
Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. Scientia Agricola 73:18-23.
Nega, A. 2014.
Review on concepts in biological control of plant pathogens. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare 4:33-54.
Noble, R. and Coventry, E. 2005.
Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. Biocontrol Science and Technology 15:3-20.
Oancea, F., Răut, I. and Zamfiropol-Cristea, V. 2017.
Influence of soil treatment with microbial plant biostimulant on tomato yield and quality. J. Int. Sci. Publ.: Agric. Food 5:156-165.
Oka, Y. 2010.
Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments — A review. Appl. Soil Ecol. 44:101-115.
Ördög, V., Stirk, W. A., Van Staden, J., Novák, O. and Strnad, M. 2004.
Endogenous cytokinins in three genera of microalgae from the Chlorophyta 1. Journal of Phycology 40:88-95.
Osaki, M., Watanabe, T. and Tadano, T. 1997.
Beneficial effect of aluminum on growth of plants adapted to low pH soils. Soil Sci. Plant Nutr. 43:551-563.
Ownley, B. H., Griffin, M. R., Klingeman, W. E., Gwinn, K. D., Moulton, J. K. and Pereira, R. M. 2008.
Beauveria bassiana: endophytic colonization and plant disease control. Journal of invertebrate pathology 98:267-270.
Ownley, B. H., Pereira, R. M., Klingeman, W. E., Quigley, N. B. and Leckie, B. M. 2004.
Beauveria bassiana, a dual purpose biocontrol organism, with activity against insect pests and plant pathogens. Emerging Concepts in Plant Health Management. Research Signpost, India255-269.
Paavanen-Huhtala, S., Avikainen, H. and Yli-Mattila, T. 2000.
Development of strain-specific primers for a strain of Gliocladium catenulatum used in biological control. European Journal of Plant Pathology 106:187-198.
Palit, S., Sharma, A. and Talukder, G. 1994.
Effects of cobalt on plants. The botanical review 60:149-181.
Palmer, I. A., Shang, Z. and Fu, Z. Q. 2017.
Salicylic acid-mediated plant defense: Recent developments, missing links, and future outlook. Frontiers in biology 12:258-270.
Pangesti, N., Pineda, A., Hannula, S. E. and Bezemer, T. M. 2020.
Soil inoculation alters the endosphere microbiome of chrysanthemum roots and leaves. Plant and Soil 455:107-119.
Parađiković, N., Teklić, T., Zeljković, S., Lisjak, M. and Špoljarević, M. 2019.
Biostimulants research in some horticultural plant species—A review. Food and Energy Security 8:e00162.
Parađiković, N., Vinković, T., Vinković Vrček, I., Žuntar, I., Bojić, M. and Medić-Šarić, M. 2011.
Effect of natural biostimulants on yield and nutritional quality: an example of sweet yellow pepper (Capsicum annuum L.) plants. Journal of the Science of Food and Agriculture 91:2146-2152.
Pardo-García, A. I., Martínez-Gil, A., Cadahía, E., Pardo, F., Alonso, G. and Salinas, M. 2014.
Oak extract application to grapevines as a plant biostimulant to increase wine polyphenols. Food research international 55:150-160.

Parnell, J. J., Berka, R., Young, H. A., Sturino, J. M., Kang, Y., Barnhart, D. and DiLeo, M. V. 2016.
From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. Front. Plant Sci. 7:1110.
Patkowska, E. 2006.
Effectiveness of grapefruit extract and Pythium oligandrum in the control of bean and peas pathogens. Journal of Plant Protection Research 46:15-28.
Pereira, C., Dias, M. I., Petropoulos, S. A., Plexida, S., Chrysargyris, A., Tzortzakis, N., Calhelha, R. C., Ivanov, M., Stojković, D. and Soković, M. 2019.
The Effects of Biostimulants, Biofertilizers and Water-Stress on Nutritional Value and Chemical Composition of Two Spinach Genotypes (Spinacia oleracea L.). Molecules 24:4494.
Petrozza, A., Santaniello, A., Summerer, S., Di Tommaso, G., Di Tommaso, D., Paparelli, E., Piaggesi, A., Perata, P. and Cellini, F. 2014.
Physiological responses to Megafol® treatments in tomato plants under drought stress: a phenomic and molecular approach. Scientia Horticulturae 174:185-192.
Piccolo, A., Nardi, S. and Concheri, G. 1992.
Structural characteristics of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant systems. Soil Biology and Biochemistry 24:373-380.
Piccolo, A., Pietramellara, G. and Mbagwu, J. 1997.
Use of humic substances as soil conditioners to increase aggregate stability. Geoderma 75:267-277.
Piccolo, A. and Spiteller, M. 2003.
Electrospray ionization mass spectrometry of terrestrial humic substances and their size fractions. Analytical and bioanalytical chemistry 377:1047-1059.
Pichyangkura, R. and Chadchawan, S. 2015.
Biostimulant activity of chitosan in horticulture. Scientia Horticulturae 196:49-65.
Pieterse, C. M., de Jonge, R. and Berendsen, R. L. 2016.
The soil-borne supremacy. Trends in plant science 21:171-173.
Pieterse, C. M., Leon-Reyes, A., Van der Ent, S. and Van Wees, S. C. 2009.
Networking by small-molecule hormones in plant immunity. Nature chemical biology 5:308-316.
Pieterse, C. M., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A. and Van Wees, S. C. 2012.
Hormonal modulation of plant immunity. Annual review of cell and developmental biology 28.
Pieterse, C. M. and Van Loon, L. C. 1999.
Salicylic acid-independent plant defence pathways. Trends in plant science 4:52-58.
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. Annual review of phytopathology 52.
Pilon-Smits, E. A., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M. and Schiavon, M. 2009.
Physiological functions of beneficial elements. Current opinion in plant biology 12:267-274.
Pineda, A., Kaplan, I. and Bezemer, T. M. 2017.
Steering soil microbiomes to suppress aboveground insect pests. Trends in Plant Science 22:770-778.
Pizzeghello, D., Nicolini, G. and Nardi, S. 2001.
Hormone – like activity of humic substances in Fagus sylvaticae forests. New Phytol. 151:647-657.
Postma, J. and Schilder, M. T. 2015.
Enhancement of soil suppressiveness against Rhizoctonia solani in sugar beet by organic amendments. Appl. Soil Ecol. 94:72-79.
Prakash, P., Medhi, S., Saikia, S., Narendrakumar, G., Thirugnanasambandam, T. and Abraham, L. S. 2014.
Production, formulation and application of seaweed liquid fertilizer using humic acid on growth of Arachis hypogaea. Biosci. Biotechnol. Res. Asia 11:1515-1519.
Punja, Z. K. and Yip, R. 2003.
Biological control of damping-off and root rot caused by Pythium aphanidermatum on greenhouse cucumbers. Canadian Journal of Plant Pathology 25:411-417.
Pylak, M., Oszust, K. and Frąc, M. 2019.
Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 18:597-616.
Qualls, R. G. 2004.
Biodegradability of humic substances and other fractions of decomposing leaf litter. Soil Sci. Soc. Am. J. 68:1705-1712.

Quinn, C. F., Galeas, M. L., Freeman, J. L. and Pilon-Smits, E. 2007.
Selenium: deterrence, toxicity, and adaptation. Integrated Environmental Assessment and Management 3:460-462.
Rafiee, H., Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., Qaderi, A., Zarinpanjeh, N., Sekara, A. and Zand, E. 2016.
Application of plant biostimulants as new approach to improve the biological responses of medicinal plants-A critical review. دارویی گیاهان پژوهشی علمی فصلنامه 3:6-39.
Raskin, I. 1992.
Role of salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 43:439-463.
Rentsch, D., Schmidt, S. and Tegeder, M. 2007.
Transporters for uptake and allocation of organic nitrogen compounds in plants. FEBS letters 581:2281-2289.
Ricci, M., Tilbury, L., Daridon, B. and Sukalac, K. 2019a.
General Principles to Justify Plant Biostimulant Claims. Front. Plant Sci. 10.
Ricci, M., Tilbury, L., Daridon, B. and Sukalac, K. 2019b.
General principles to justify plant biostimulant claims. Front. Plant Sci. 10:494.
Rodŕiguez, H. and Fraga, R. 1999.
Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology advances 17:319-339.
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. Curr. Opin. Microbiol. 49:73-82.
Rouphael, Y., Cardarelli, M., Bonini, P. and Colla, G. 2017.
Synergistic action of a microbial-based biostimulant and a plant derived-protein hydrolysate enhances lettuce tolerance to alkalinity and salinity. Front. Plant Sci. 8:131.
Rouphael, Y. and Colla, G. 2018.
Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. Front. Plant Sci. 9:1655.
Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., De Pascale, S., Bonini, P. and Colla, G. 2015.
Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. Scientia Horticulturae 196:91-108.
Ruiz, J. M., Castilla, N. and Romero, L. 2000.
Nitrogen metabolism in pepper plants applied with different bioregulators. J. Agric. Food Chem. 48:2925-2929.
Saavedra, T., Gama, F., Correia, P. J., Da Silva, J. P., Miguel, M. G., de Varennes, A. and Pestana, M. 2020.
A novel plant extract as a biostimulant to recover strawberry plants from iron chlorosis. Journal of Plant Nutrition1-13.
Salman, S., Abou-Hussein, S., Abdel-Mawgoud, A. and El-Nemr, M. 2005.
Fruit yield and quality of watermelon as affected by hybrids and humic acid application. Journal of Applied Sciences Research 1:51-58.
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.
Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M. and Glick, B. R. 2016.
Plant growth-promoting bacterial endophytes. Microbiological research 183:92-99.
Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. d. C. and Govindappa, M. 2012.
Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of Bacillus and Pseudomonas: a review. Biocontrol Science and Technology 22:855-872.
Sariv, Z. and Ragoviv, B. 1963.
The effect of some plants on the dynamics of Azotobacter in the soil. Annals of Scientific Work at the Faculty of Agriculture Novi Sad 7:1-11.
Sbrana, C., Avio, L. and Giovannetti, M. 2014.
Beneficial mycorrhizal symbionts affecting the production of health-promoting phytochemicals. ELECTROPHORESIS 35:1535-1546.

Schenk, S. T., Hernández-Reyes, C., Samans, B., Stein, E., Neumann, C., Schikora, M., Reichelt, M., Mithöfer, A., Becker, A. and Kogel, K.-H. 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 26:2708-2723.
Schiavon, M., Ertani, A. and Nardi, S. 2008.
Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and nitrogen metabolism in Zea mays L. J. Agric. Food Chem. 56:11800-11808.
Schrey, S. D. and Tarkka, M. T. 2008.
Friends and foes: streptomycetes as modulators of plant disease and symbiosis. Antonie Van Leeuwenhoek 94:11-19.
Shafi, J., Tian, H. and Ji, M. 2017.
Bacillus species as versatile weapons for plant pathogens: a review. Biotechnology & Biotechnological Equipment 31:446-459.
Shi, M., Chen, L., Wang, X.-W., Zhang, T., Zhao, P.-B., Song, X.-Y., Sun, C.-Y., Chen, X.-L., Zhou, B.-C. and Zhang, Y.-Z. 2012.
Antimicrobial peptaibols from Trichoderma pseudokoningii induce programmed cell death in plant fungal pathogens. Microbiology 158:166-175.
Shoresh, M., Harman, G. E. and Mastouri, F. 2010.
Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual review of phytopathology 48:21-43.
Simpson, A. J., Kingery, W. L., Hayes, M. H., Spraul, M., Humpfer, E., Dvortsak, P., Kerssebaum, R., Godejohann, M. and Hofmann, M. 2002.
Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. Naturwissenschaften 89:84-88.
Sitohy, M. Z., Desoky, E.-S. M., Osman, A. and Rady, M. M. 2020.
Pumpkin seed protein hydrolysate treatment alleviates salt stress effects on Phaseolus vulgaris by elevating antioxidant capacity and recovering ion homeostasis. Scientia Horticulturae 271:109495.
Sivasakthivelan, P. and Saranraj, P. 2013.
Azospirillum and its formulations: A Review. International Journal of Microbiological Research 4:275-287.
Slusarenko, A. J., Patel, A. and Portz, D. 2008.
Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study. Pp. 313-322 *in* Collinge, D. B., Munk, L. and Cooke, B. M., ed. Sustainable disease management in a European context, Dordrecht: Springer Netherlands.
Sofo, A., Nuzzaci, M., Vitti, A., Tataranni, G. and Scopa, A. 2014.
Control of biotic and abiotic stresses in cultivated plants by the use of biostimulant microorganisms. Pp. 107-117 *in*ed. Improvement of crops in the Era of Climatic Changes,Springer.
Sofo, A., Scopa, A., Manfra, M., De Nisco, M., Tenore, G., Troisi, J., Di Fiori, R. and Novellino, E. 2011.
Trichoderma harzianum strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (Prunus cerasus× P. canescens). Plant Growth Regulation 65:421-425.
Souza, R. d., Ambrosini, A. and Passaglia, L. M. P. 2015.
Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. Genet Mol Biol 38:401-419.
Spiegel, Y., Chet, I. and Cohn, E. 1987.
Use of chitin for controlling plant plant-parasitic nematodes: II. Mode of action. Plant and Soil 98:337-345.
Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzałka, K. and Prasad, M. 2013.
Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. Acta Physiol. Plant. 35:985-999.
Tarantino, A., Lops, F., Disciglio, G. and Lopriore, G. 2018.
Effects of plant biostimulants on fruit set, growth, yield and fruit quality attributes of 'Orange rubis®'apricot (Prunus armeniaca L.) cultivar in two consecutive years. Scientia Horticulturae 239:26-34.
Tarkka, M. T. and Frey-Klett, P. 2008.
Mycorrhiza helper bacteria. Pp. 113-132 *in*ed. Mycorrhiza,Springer.
Tiffin, D. and Green, K. 2005.
Use of potassium hydrogen carbonate for powdery mildew control. HDC project report, CP 48.
Tortora, M. L., Díaz-Ricci, J. C. and Pedraza, R. O. 2011.
Azospirillum brasilense siderophores with antifungal activity against Colletotrichum acutatum. Archives of microbiology 193:275-286.

Trabelsi, D. and Mhamdi, R. 2013.
Microbial inoculants and their impact on soil microbial communities: a review. BioMed research international 2013.
Trevisan, S., Pizzeghello, D., Ruperti, B., Francioso, O., Sassi, A., Palme, K., Quaggiotti, S. and Nardi, S. 2010.
Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in Arabidopsis. Plant Biol. 12:604-614.
van der Wurff, A. W. G. 2010.
Biological control of root knot nematodes in organic vegetable and flower greenhouse cultivation: state of science : report of a study over the period 2005-2010. Wageningen UR Greenhouse Horticulture Bleiswijk.
Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S. and Maggio, A. 2017.
The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. Chemical and Biological Technologies in Agriculture 4:5.
Varanini, Z. and Pinton, R. 2000.
Direct versus indirect effects of soil humic substances on plant growth and nutrition. The Rhizosphere. Marcel Dekker, New York141-157.
Varma, A., Deshpande, S. and Kennedy, J. 2004.
Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. Carbohydrate Polymers 55:77-93.
Verbon, E. H., Trapet, P. L., Stringlis, I. A., Kruijs, S., Bakker, P. A. and Pieterse, C. M. 2017.
Iron and immunity. Annual review of phytopathology 55:355-375.
Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y. and Valéro, J. R. 2007.
Antagonistic fungi, Trichoderma spp.: Panoply of biological control. Biochemical Engineering Journal 37:1-20.
Vukicevich, E., Lowery, T., Bowen, P., Úrbez-Torres, J. R. and Hart, M. 2016.
Cover crops to increase soil microbial diversity and mitigate decline in perennial agriculture. A review. Agron. Sustain. Dev. 36:48.
Wallace, G. A. and Wallace, A. 1986.
Control of soil erosion by polymeric soil conditioners. Soil Sci. 141:363-367.
Wang, G., Liu, Z., Lin, R., Li, E., Mao, Z., Ling, J., Yang, Y., Yin, W.-B. and Xie, B. 2016.
Biosynthesis of antibiotic leucinostatins in bio-control fungus Purpureocillium lilacinum and their inhibition on Phytophthora revealed by genome mining. PLoS pathogens 12:e1005685.
Wang, L. and Li, X. 2019.
Steering soil microbiome to enhance soil system resilience. Critical Reviews in Microbiology 45:743-753.
Wang, M., Chen, L., Li, Y., Chen, L., Liu, Z., Wang, X., Yan, P. and Qin, 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.
Weber, N., Schmitzer, V., Jakopic, J. and Stampar, F. 2018.
First fruit in season: seaweed extract and silicon advance organic strawberry (Fragaria× ananassa Duch.) fruit formation and yield. Scientia Horticulturae 242:103-109.
Wesemael, W. M. L., Viaene, N. and Moens, M. 2011.
Root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) in Europe. Nematology 13:3-16.
Wubs, E. R. J., van der Putten, W. H., Bosch, M. and Bezemer, T. M. 2016.
Soil inoculation steers restoration of terrestrial ecosystems. Nat. Plants 2:1-5.
Xu, W.-T., Huang, K.-L., Guo, F., Qu, W., Yang, J.-J., Liang, Z.-H. and Luo, Y.-B. 2007.
Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control Botrytis cinerea. Postharvest Biology and Technology 46:86-94.
Yakhin, O. I., Lubyanov, A. A., Yakhin, I. A. and Brown, P. H. 2017a.
Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. Front. Plant Sci. 7.
Yakhin, O. I., Lubyanov, A. A., Yakhin, I. A. and Brown, P. H. 2017b.
Biostimulants in plant science: a global perspective. Front. Plant Sci. 7:2049.
Yang, X., Zhang, S., Tian, Y., Guo, W. and Wang, J. 2013.
The influence of humic acids on the accumulation of lead (Pb) and cadmium (Cd) in tobacco leaves grown in different soils. Journal of soil science and plant nutrition 13:43-53.
Yanni, Y. G. and Dazzo, F. B. 2010.
Enhancement of rice production using endophytic strains of Rhizobium leguminosarum bv. trifolii in extensive field inoculation trials within the Egypt Nile delta. Plant and Soil 336:129-142.

Yildirim, E., Dursun, A., Güvenc, I. and Kumlay, A. 2000.
The effects of different salt, biostimulant and temperature levels on seed germination of some vegetable species. In: *II Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes 579*, pp. 249-253.

Zaim, S., Bekkar, A. A. and Belabid, L. 2017.
Rhizobium as a Crop Enhancer and Biofertilizer for Increased Non-legume Production. Pp. 25-37 *in*ed. Rhizobium Biology and Biotechnology,Springer.

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, X., Ervin, E. and Schmidt, R. 2003.
Physiological effects of liquid applications of a seaweed extract and a humic acid on creeping bentgrass. Journal of the American Society for Horticultural Science 128:492-496.

Zheng, X., Chen, Y., Zhao, L., Chen, Y., Zheng, L., Zheng, K., Mu, Y., Zhao, X., Gao, Y. and Zhang, J. 2019.
Tripartite interactions between jasmonic/salicylic acid pathways, western flower thrips, and thrips-transmitted tomato zonate spot virus infection in Capsicuum annuum. Arthropod-Plant Interactions 13:289-297.

Zimmermann, G. 2007.
Review on safety of the entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae. Biocontrol Science and Technology 17:879-920.

Ziv, O. and Zitter, T. 1992.
Effects of bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. Plant Disease 76:513-517.

Bijlage 1 Verklaring van wetenschappelijke termen

Woord	Definitie
aminozuren	De kleinste en belangrijkste bouwstenen van eiwitten
antagonistisch effect	Een negatief effect dat een organisme op een andere heeft
auxine	Een soort van planthormoon die verantwoordelijk voor de groei (b.v. verlenging) van plantcellen zijn
eiwithydrolysaten	Mengsels van voorverteerde eiwitten
entomopathogene	Pathogenen die schadelijk zijn voor geleedpotigen (o.a. insecten, mijten) zijn
enzymen	Moleculen die chemische reacties versnellen; b.v. reacties binnen plantencellen
ethyleen	Een planthormoon dat verantwoordelijk is voor o.a. het rijpen van fruit
fixatie (van stikstof)	Transformatie van stikstofgas in de atmosfeer tot een vorm die bruikbaar bij planten is
functionele redundantie (micro-organismen)	Micro-organismen die dezelfde functie uitvoeren. Of één micro-organisme met een functie sterft af, een andere met dezelfde functie kan overnemen
fyllosfeer	Bovengrondse delen van een plant die een leefgebied voor micro-organismen vormen
gastplant	Een plant die geschikt is voor een organisme om op of in te leven
geïnduceerd systematische resistentie	Aanschakelen van het plantafweersysteem; het maakt een plant weerbaardere tegen stress
gibberelline	Een planthormoon dat verantwoordelijk is voor plantontwikkeling zoals uitkiemen, bloemtijd, bladveroudering, etc. is
jasmijnzuur	Een planthormoon dat verantwoordelijk is voor o.a. het aanschakelen van het verdedigingssysteem tegen abiotische en biotische (bijzonder tegen zuigende insecten) stress in planten
lytische enzymen	Enzymen die de celwanden van organismen kunnen afbreken
microbioom	Het hele complex aan micro-organismen en hun functies in een bepaald ecosysteem (op of in een plant of de bodem)
mycorrhiza	Schimmels die de wortels van planten koloniseren; ze kunnen voordelen voor planten hebben zoals verhoogt nutriënten opname
niche	De functie van een organisme in het ecosysteem; zijn rol (b.v. pathogeen, plant groei bevorder)
oligopeptiden	Een korte keten van aminozuren
oomycete	Waterschimmels zoals Pythium
plant hormonen	Stoffen geproduceerd in planten die diverse functies kunnen beïnvloeden
plantafweersysteem	Het systeem gebruikt bij planten om schadelijke omstandigheden te overkomen. Jasmijn- en salicylzuren en polyfenolen spelen hier een rol
plantgroei bevorderende bacteriën	Bacteriën die plantgroei helpen door verschillende mechanismen; b.v. verbeterede nutriënten opname, aanschakelen van hormonen productie
polymeren	Organische verbinding waarvan de moleculen bestaan uit een opeenvolging van identieke, of soortgelijke, delen (monomere eenheden) die chemisch aan elkaar zijn gekoppeld.

Woord	Definitie
polypeptiden	Een molecuul dat bestaat uit een klein aantal aminozuren die met elkaar verbonden zijn door peptidebindingen
polyfenolen (antioxidanten)	Een groep van chemische verbindingen, die voorkomen in planten. Ze hebben diverse functies (o.a. afweer) en een bepaalde klas, antioxidanten, hebben gezondheid voordelen voor mensen
primaire metabolieten	De huidige producten van fotosyntheses zoals suikers
rhizosfeer	Kleine gebied in de grond of substraat dat direct wordt beïnvloed door wortelexudaten en bijbehorende bodemmicro-organismen
salicylzuur	Een soort van planthormoon die verantwoordelijk is voor o.a. de aanschakelen van het verdedigingssysteem tegen abiotische en biotische (bijzonder tegen pathogenen) stress in planten
secondaire metabolieten	Een metaboliet die niet direct betrokken is bij de groei van cellen, bij de ontwikkeling of bij de reproductie van een organisme. Een voorbeeld is polyfenolen.
sideroforen	Chelator moleculen met hoge affiniteit voor Fe^{3+}
stam (micro-organismen)	Soorten (d.w.z. species) micro-organismen kunnen subtiele van elkaar verschillen; bepaalde stammen kunnen verschillende effecten op gewassen hebben
synergistische effecten	Effecten veroorzaakt door interacties tussen twee of meer factoren die een cumulatief effect creëren dat sterker is dan de additieve individuele effecten
weerbaarheid	Resistentie tegen abiotische en biotische stress
wortelexudaten	Moleculen die worden uitgescheiden door de wortels; ze kunnen effecten op de rhizosfeer of andere bodem/substraat micro-organismen hebben

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-1076

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.