

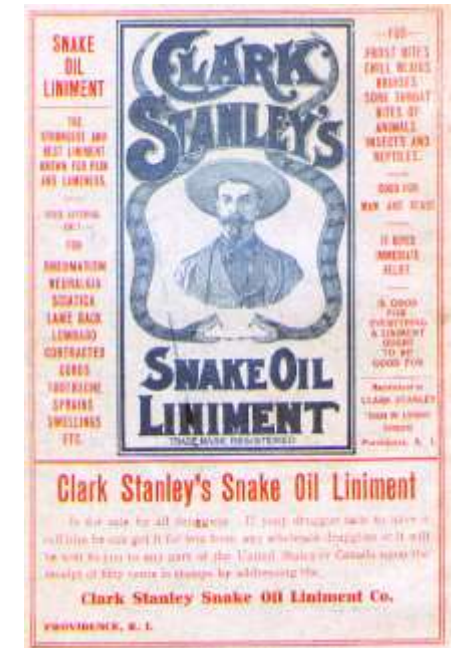
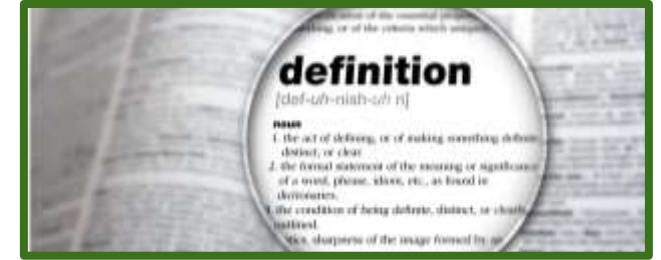
Kunnen biostimulanten zorgen voor gezondere planten?

Geert Haesaert

Universiteit Gent – Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen

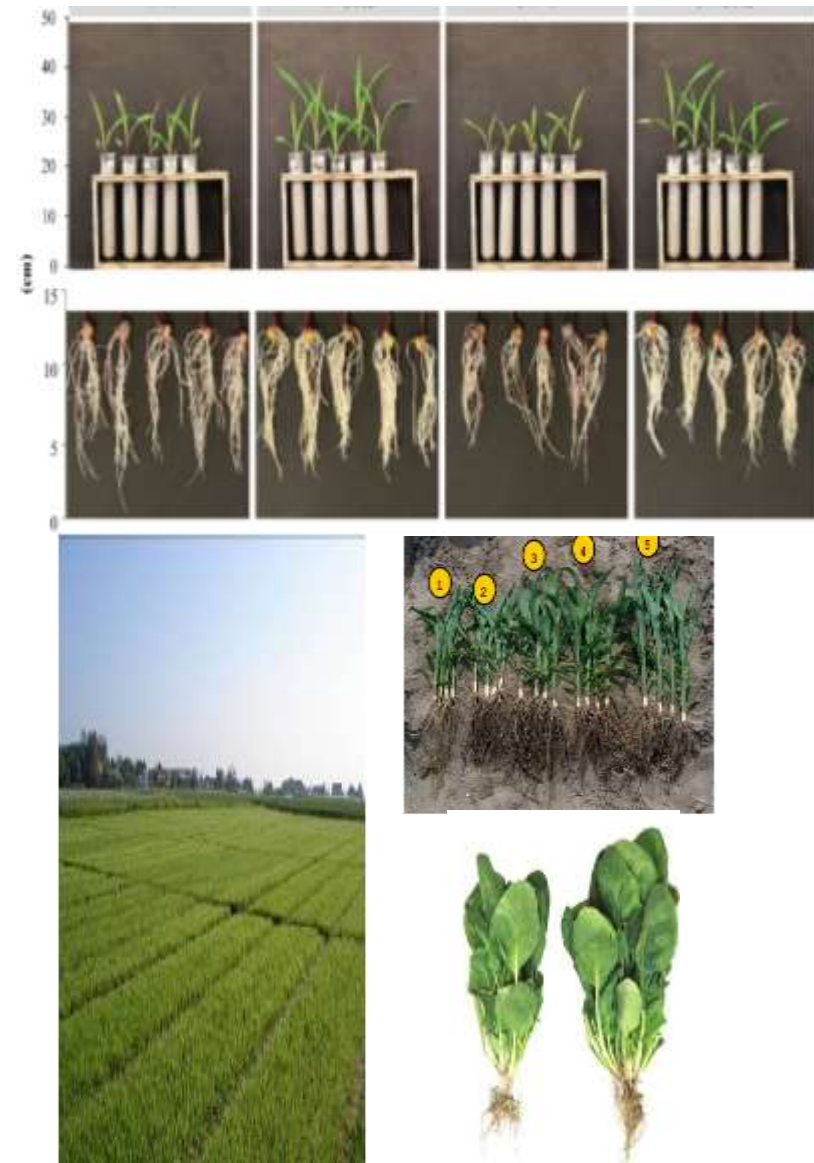
Wat verstaan we onder biostimulanten?

- Biostimulanten zijn substanties of micro-organismen die de plantenfysiologie beïnvloeden zodat de groei en de ontwikkeling bevorderd wordt en de negatieve gevolgen van (a)biotische stress verminderen.
 - Volgens EU-richtlijn:
 1. De efficiëntie van gebruik van nutriënten verbeteren
 2. Tolerantie tegen abiotische stress verhogen
 3. Verhogen van kwaliteit
 4. Beschikbaarheid van nutriënten in bodem verbeteren
- effect is indirect en klein: biostimulanten zijn geen meststoffen (nutriënten inhoud is beperkt) en **geen directe gewasbescherming**
- ‘Bona fide’ biostimulanten zijn deze met een bewezen effect (**betekent niet een gegarandeerd effect**)

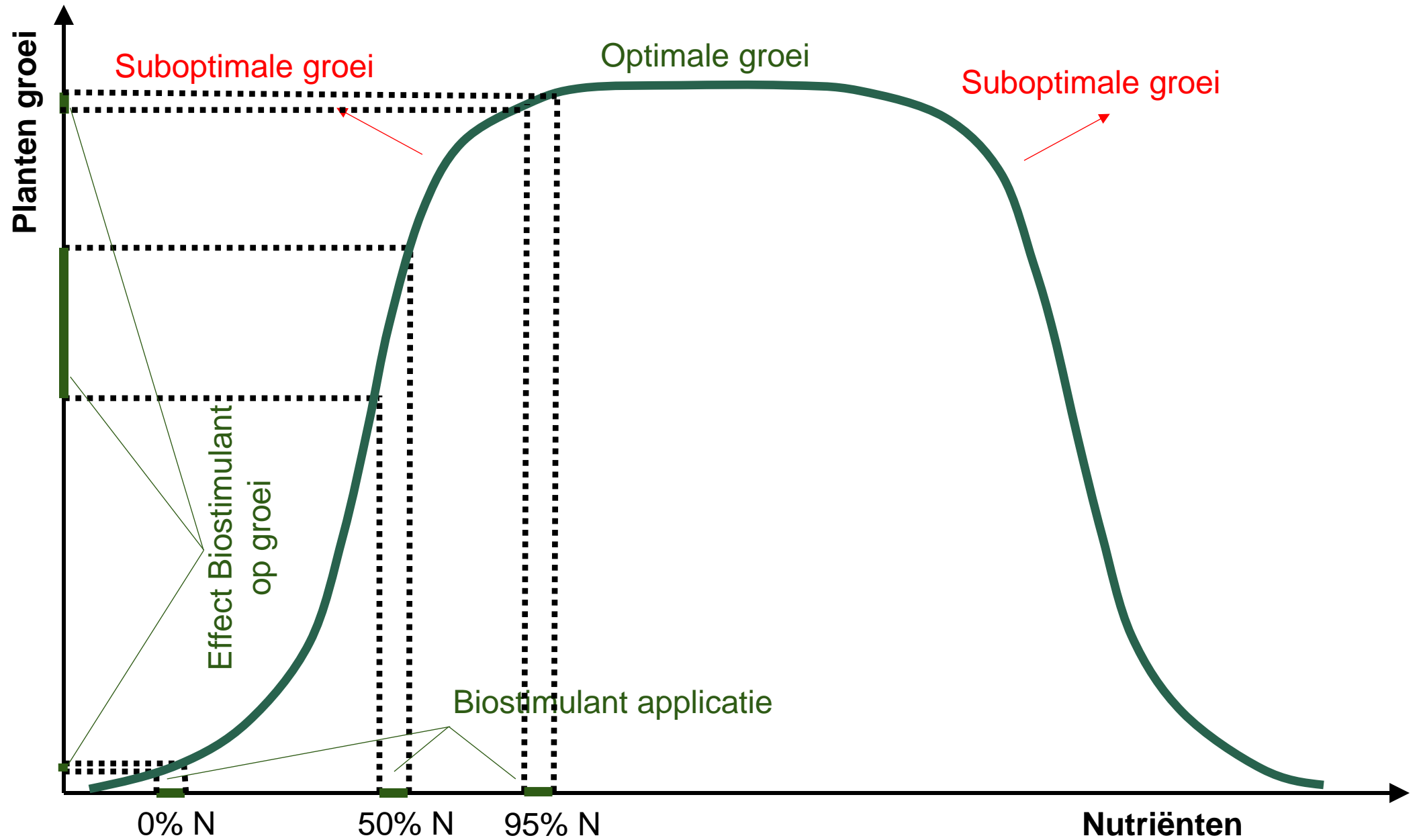


Waarom hebben we niet altijd de verwachte resultaten met Biostimulanten ?

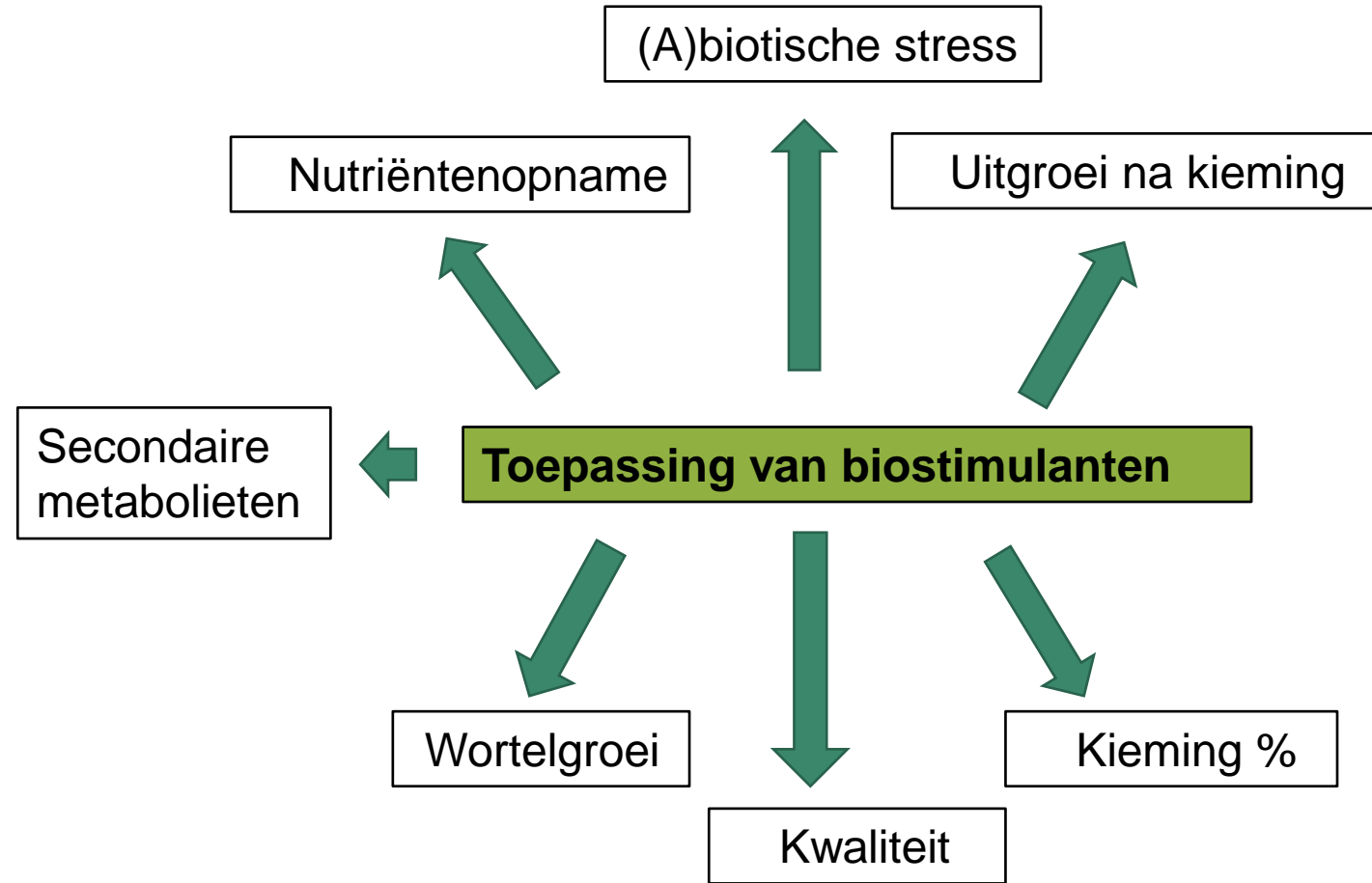
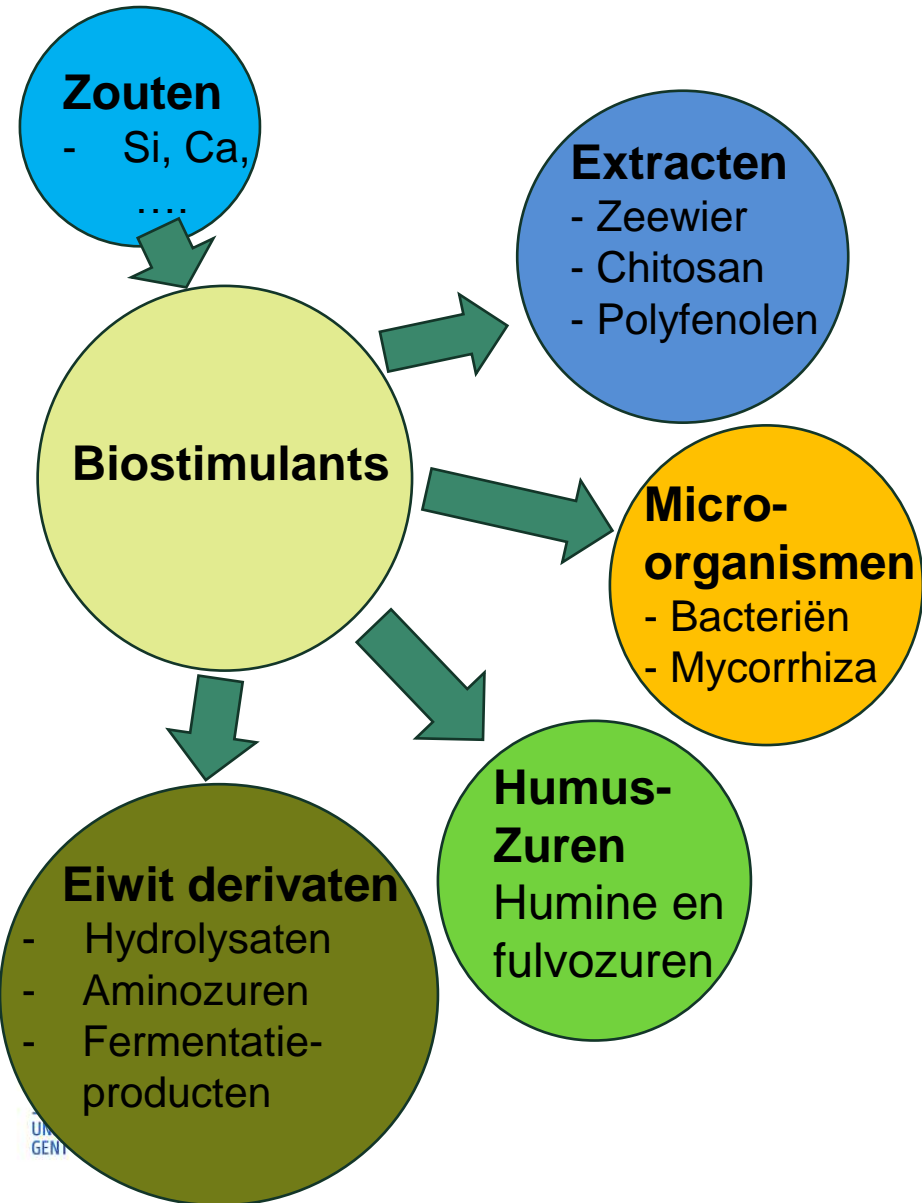
- Variabiliteit in omgevingscondities
→ een biostimulant gebruikt in aardappel tegen droogte in 2018 versus in 2023
- De applicatiewijze is cruciaal
- De noden van een plant zijn heel afhankelijk van zijn groeistadium
→ De timing van applicatie van een biostimulant is essentieel



Timing van applicatie biostimulant



Voornaamste categorieën van biostimulanten en hun effecten



Erkende biostimulanten

Biostimulant	Type product
AminoA	Eiwithydrolysaat
Aphasol	Eiwithydrolysaat
Biimore	Bacterieel
Kinsidro Grow	Humuszuur
Utrisha N	Bacterieel
Proteïne	Eiwithydrolysaat
Fertiactyl	Humuszuur en zeewierextract
Trio	Zeewierextract
Astelis	Bacterieel
Orgasol	Eiwithydrolysaat
Bidox-spuï	Anorganische verbinding
Nutribond	Plantenextract
LPE	Eiwithydrolysaat
Vixeran	Bacterieel
Fert Z	Anorganische verbinding
Delfan plus	Eiwithydrolysaat
Humifirst	Humuszuur



Kunnen biostimulanten een rol spelen in de gewasbescherming?

- Biostimulanten hebben **geen rechtstreeks effect** op schimmels, bacteriën, virussen en plaagorganismen: het zijn **GEEN gewasbeschermingsmiddelen!**
- Wel een indirect effect door robuustere gewassen:
 - Verlagen niveau van abiotische stress
 - Betere wortelgroei en nutriëntenopname
 - Een snellere kieming
 - Verandering van de microbiële populatie in de rhizosfeer
- Vooral een weerstand verhogend effect tegen tegen 'zwakte' pathogenen (o.a. *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, ...)
- Sommige biostimulanten interfereren met de pathways van plantenhormonen en signaalstoffen bv. Chitosan en mycorrhiza



Humuszuren

Wat zijn humuszuren ?

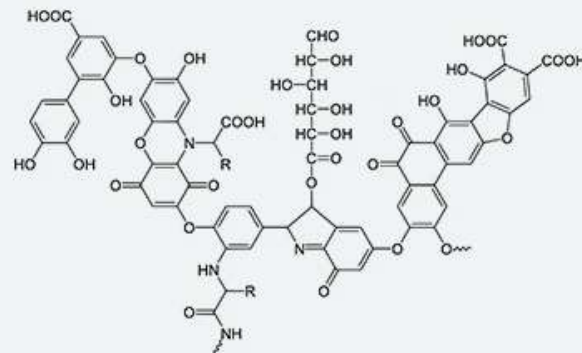
✓ Humus zuren zijn een **complex en heterogeen mengsel van zuren** gevormd in de bodem tijdens de afbraak van planten - en microbiële restmateriaal

→ Humuszuren maken het hoofdbestanddeel uit van het stabiel organisch materiaal in de bodem

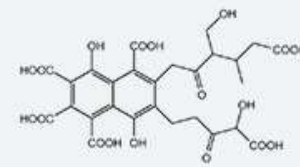
→ Structuur van humuszuren varieert in functie van bodemomstandigheden

(M. (Klucakova: *fontr. Chem*, doi.org/10.3389/fchem.2018.00253)

Humine zuren: een mengsel van zwak alifatische en aromatische organische zuren dat onder basische omstandigheden oplosbaar is in water



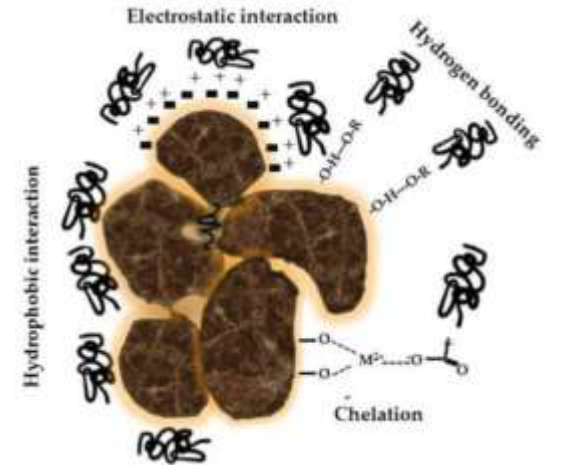
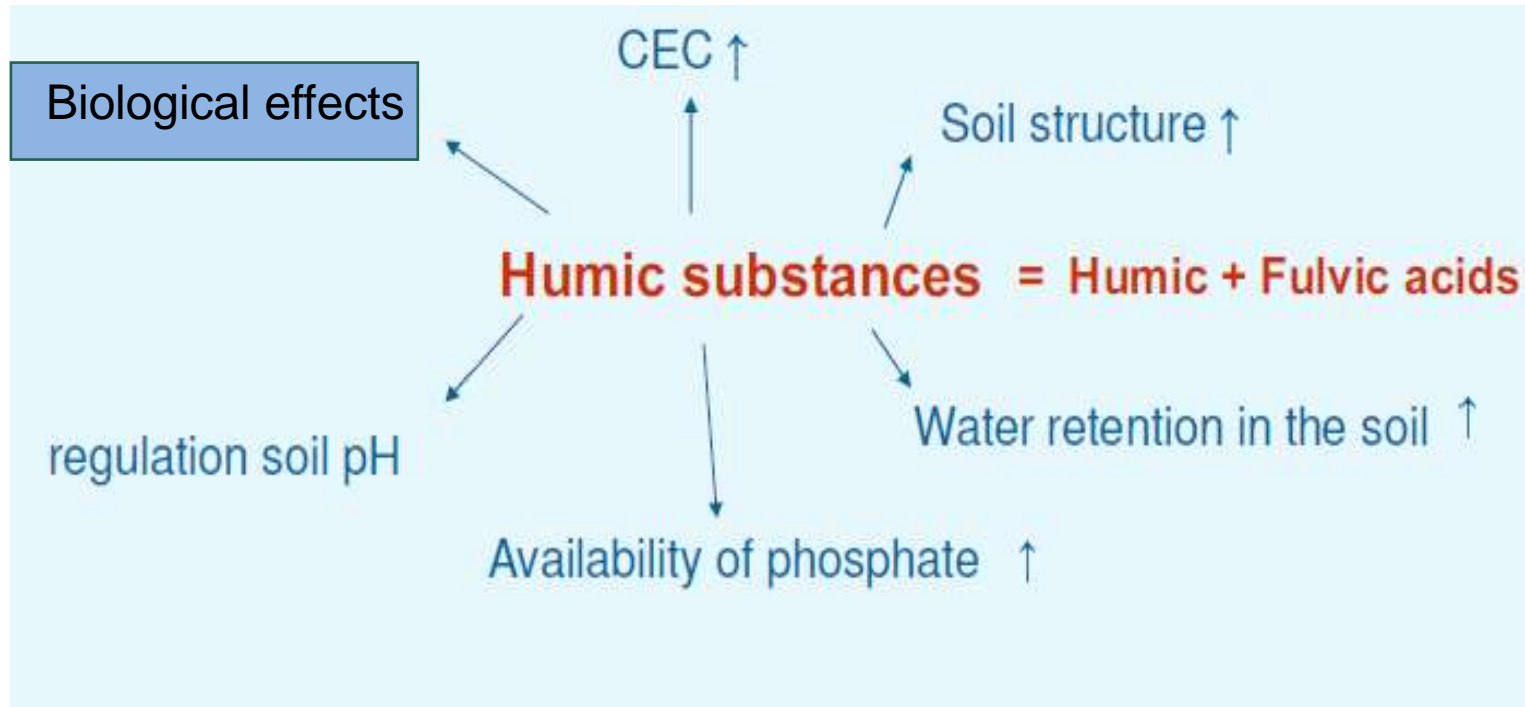
Humic acid molecule



Fulvic acid molecule

Fulvo zuren: een mengsel van zwak alifatische en aromatische zuren dat voor alle pH waarden oplosbaar is in water

Effect van humuszuren?



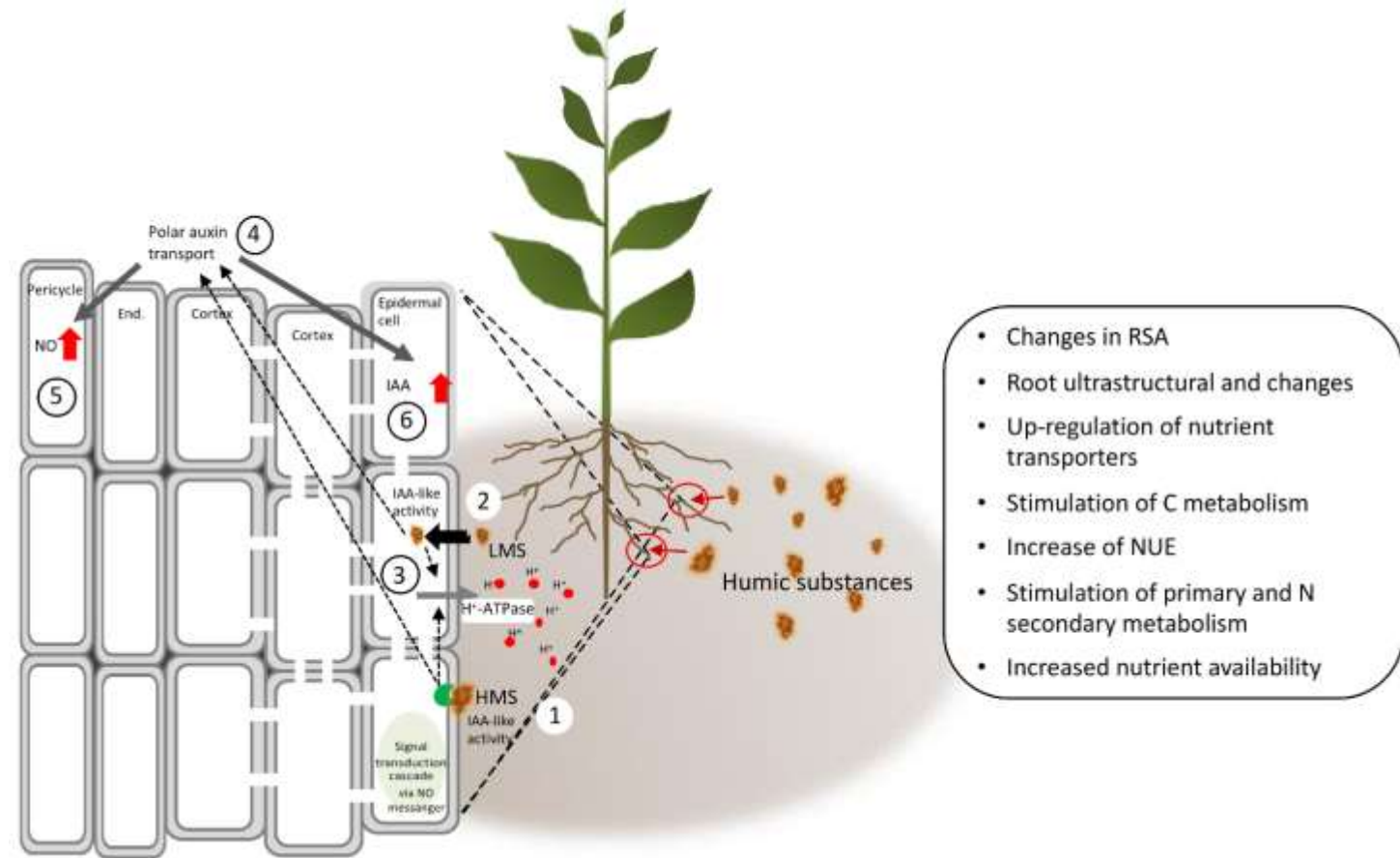
Biologische effecten van humuszuren

Een duidelijke relatie tussen grote van molecule en biologische activiteit:

- ➔ Low molecular size (<3500Da): penetratie in cellen
- ➔ High molecular size: interactie met celwand- en membraan receptoren

Biologisch effect op wortel fysiologie en morfologie:

- IAA-activiteit: zijwortel vorming ter hoogte van pericycle
- Nutriënt transporters worden gestimuleerd
- Inductie van of H⁺-ATPases en fosfatase: P opname stijgt
- NUE neemt toe



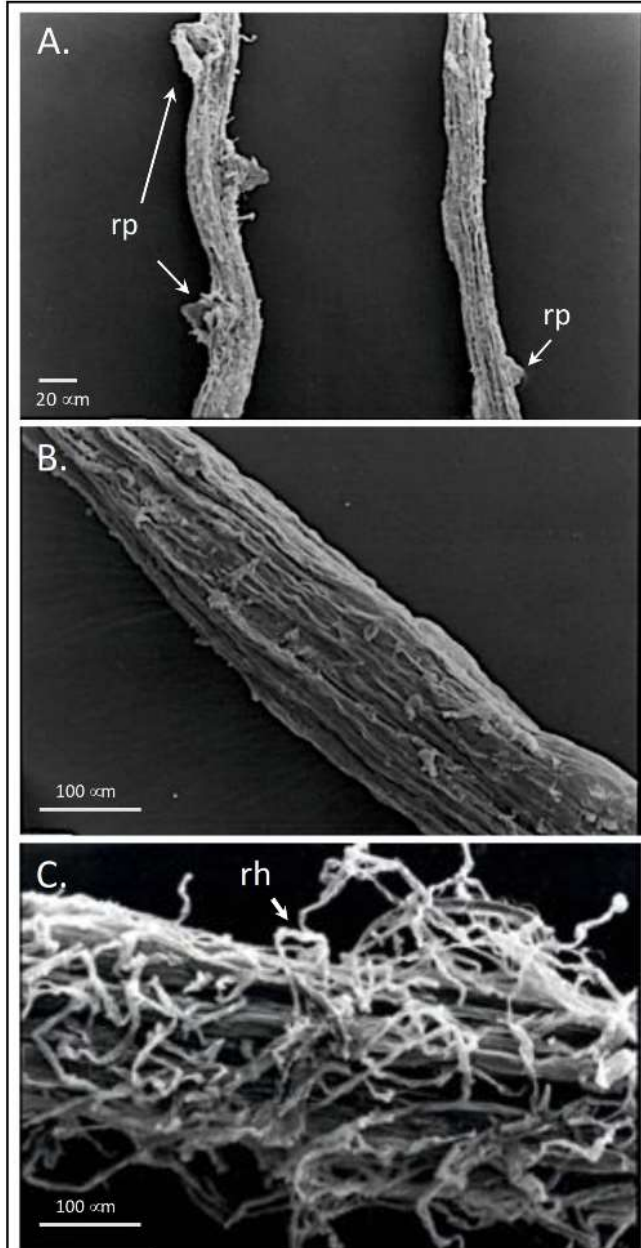
S. Nardi et al. Molecules; doi.org/10.3390/molecules26082256

Biologische effecten van humuszuren

Triticale

Tomaat

Treated



Non-treated

Non-Treated

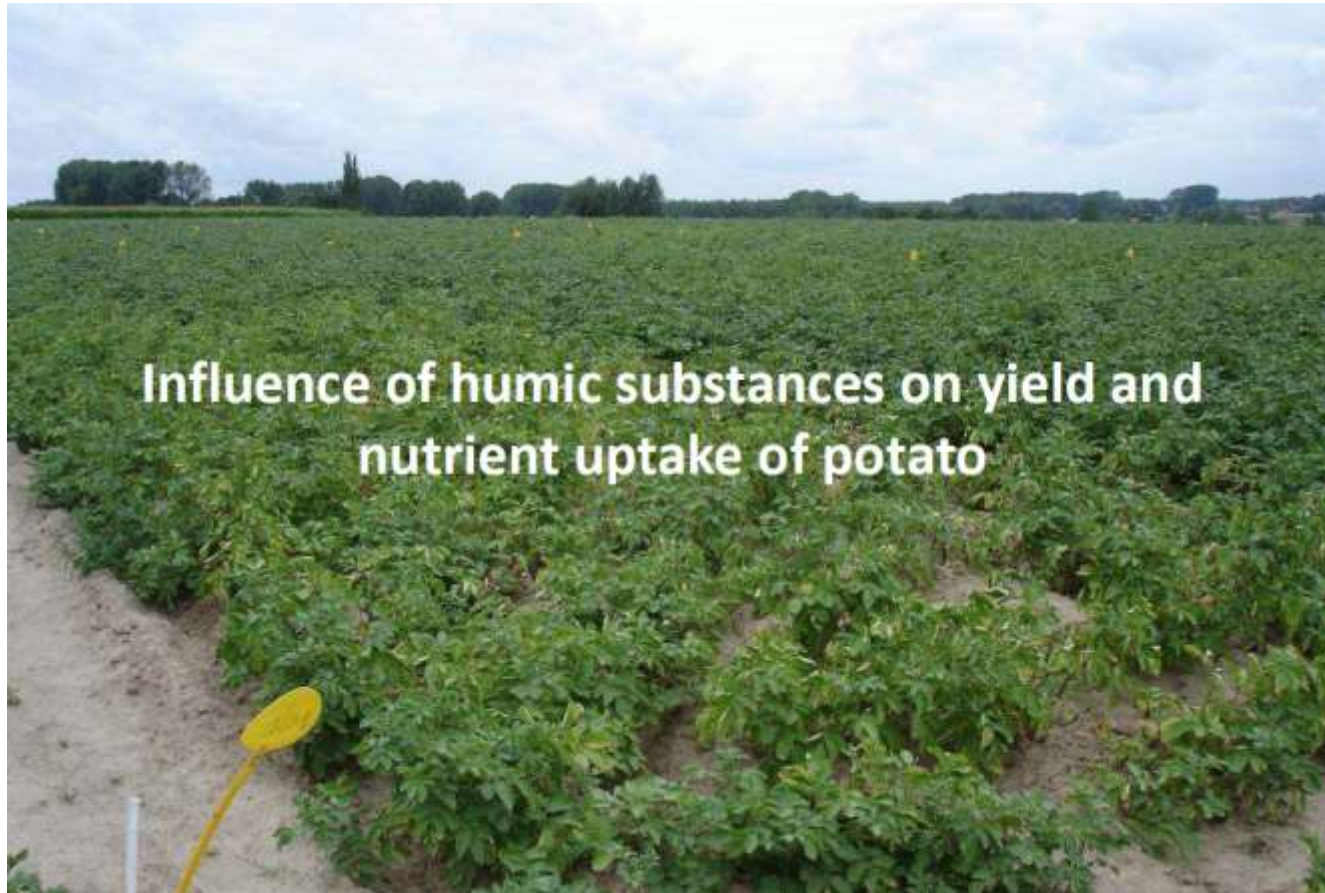


Control Humifirst Humifirst
0.5l/100kg 1l/100kg

SEM micrographs
- Rp: root primordia
- Rh: root hairs

Treated

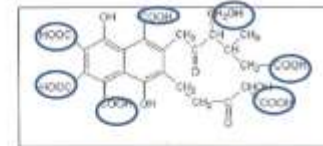
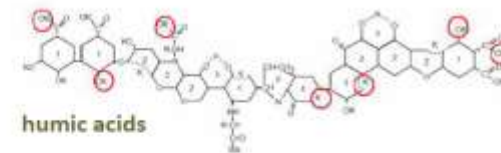
Case study: aardappel



Veldproef:

- Groeiseizoen 2007
- Toediening van humuszuren in combinatie met minerale en organische meststoffen
- Toediening onder vloeibare vorm voor opkomst of geïncorporeerd in meststof

Humifirst = Concentrated solution of humic substances

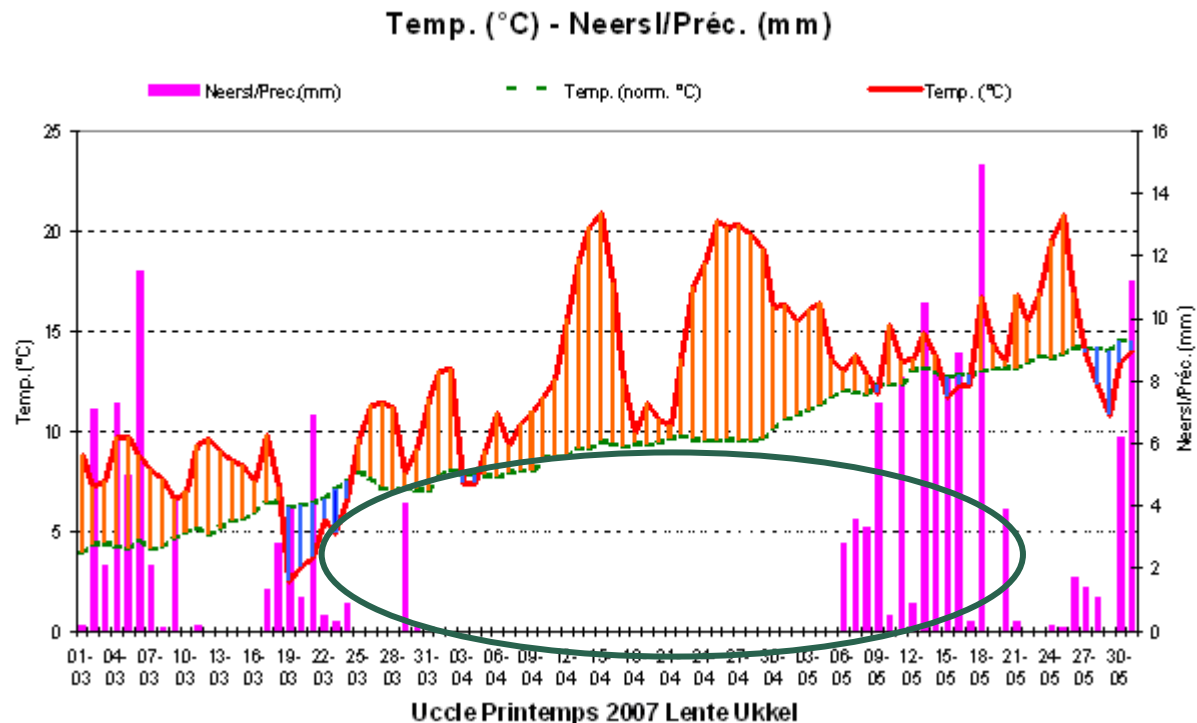


- **Humifirst 12/3**
12% humic acids
3% fulvic acids
- **Humifirst 8/8**
8% humic acids
8% fulvic acids

Material

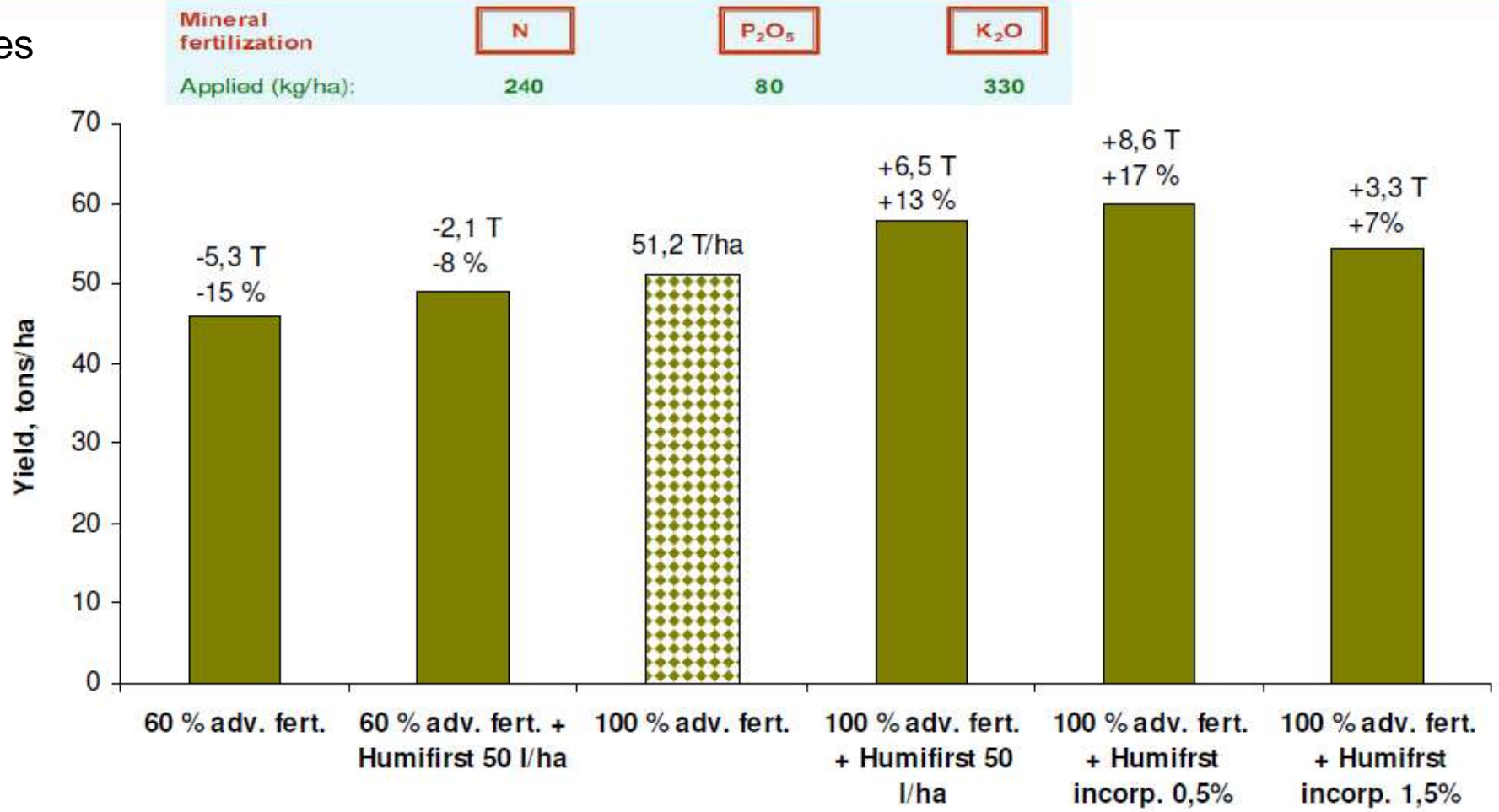
Weer in 2007

- Na 2006 opnieuw temperatuurrecord in 2007
- Geen neerslag tussen 31 maart en 5 mei
- Zomer: typisch Belgisch met veel neerslag

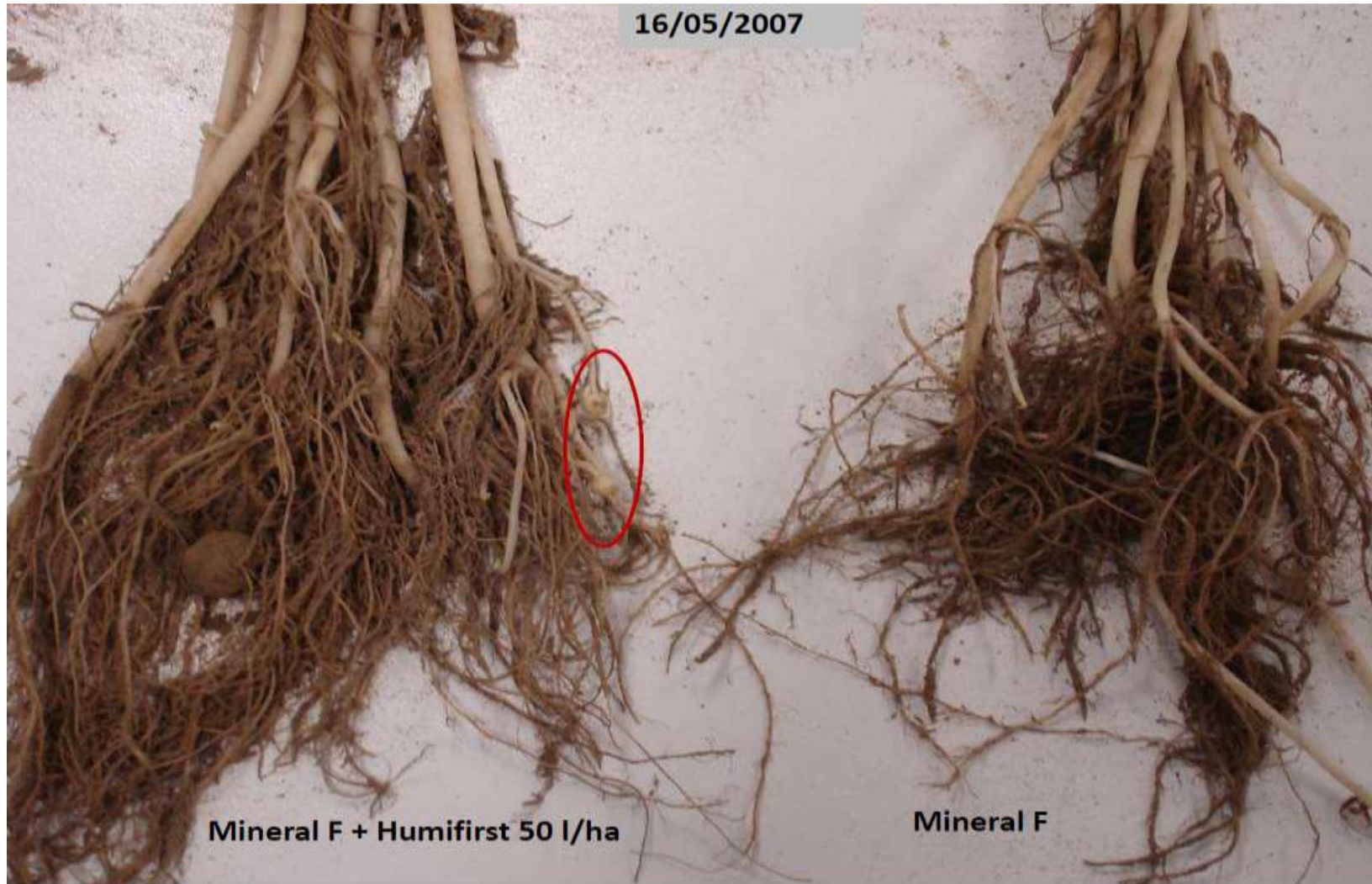


Effect op opbrengst: minerale meststoffen

Bemestingsadvies



Effect op knolzetting en wortelontwikkeling



Effect op knolsortering



Mineral fert. **Yield: +13%** **>32mm: +12%** Mineral fert. + Humifirst

→

Effect op nutriëntenopname

Bemestingsadvies

**Mineral
fertilization**

N

P₂O₅

K₂O

Applied (kg/ha):

240

80

330

Uptake efficiency

Uptake efficiency

Uptake efficiency

%

%

%

Control

36

19

32

Humifirst liquid

43

32

44

Humifirst incorp. 0,5%

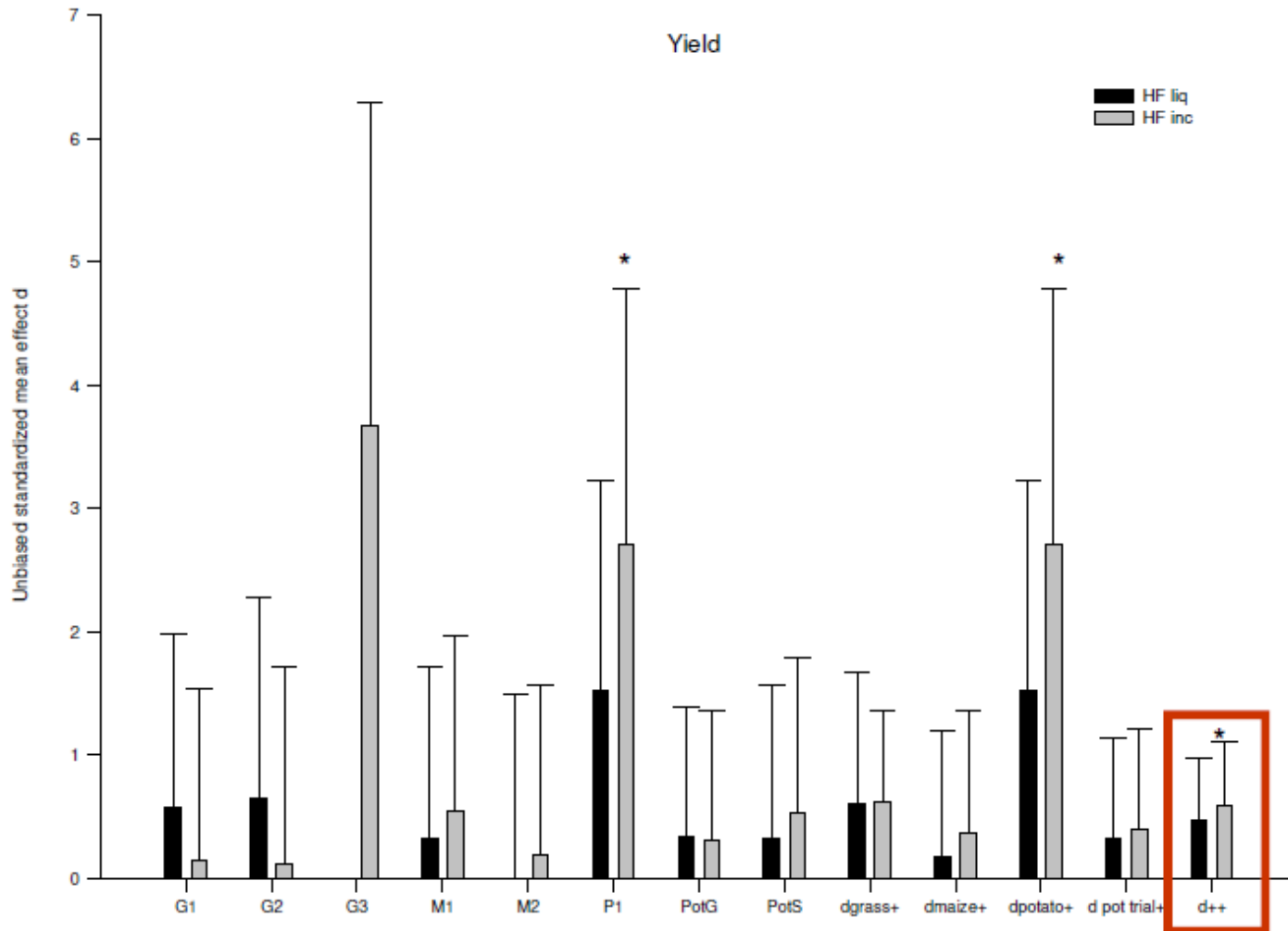
52

34

42



Meta-analysis: effect op opbrengst van diverse proeven



Veld- en potproeven aardappel, maïs, grasland en groenten

effect size expressed by d

0,2-0,5: small effect

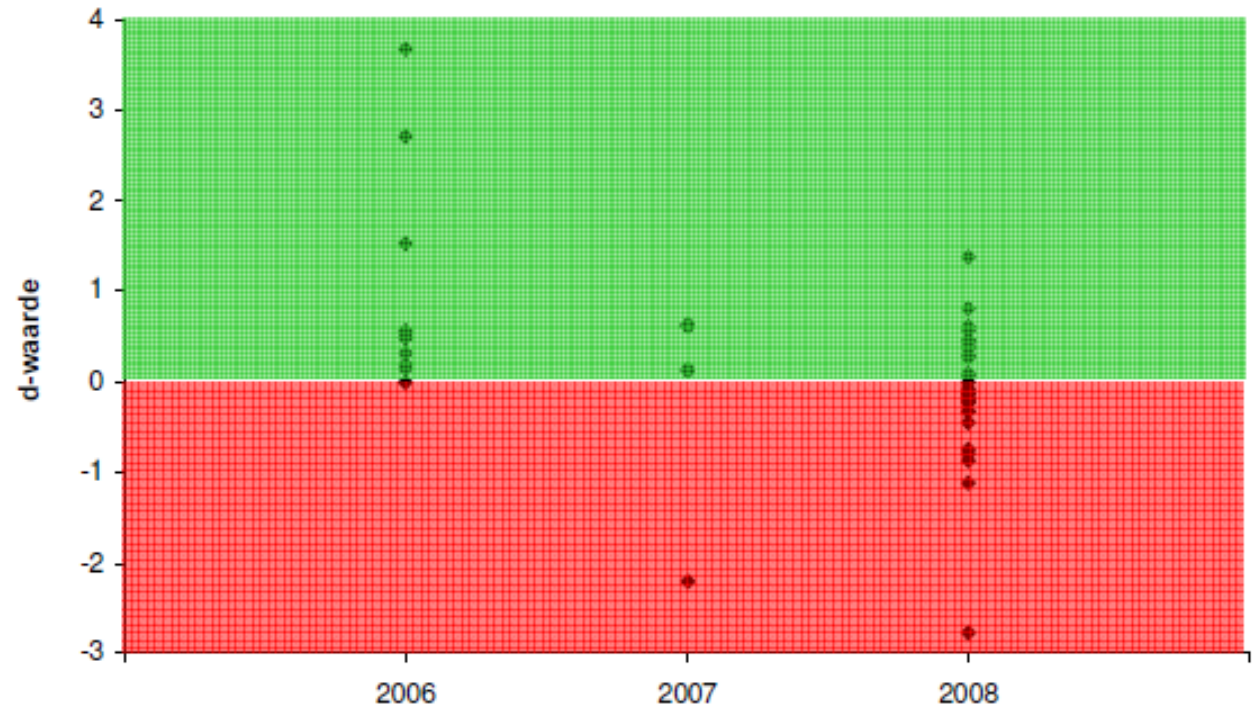
0,5-0,8: mean effect

0,8-1,0: big effect

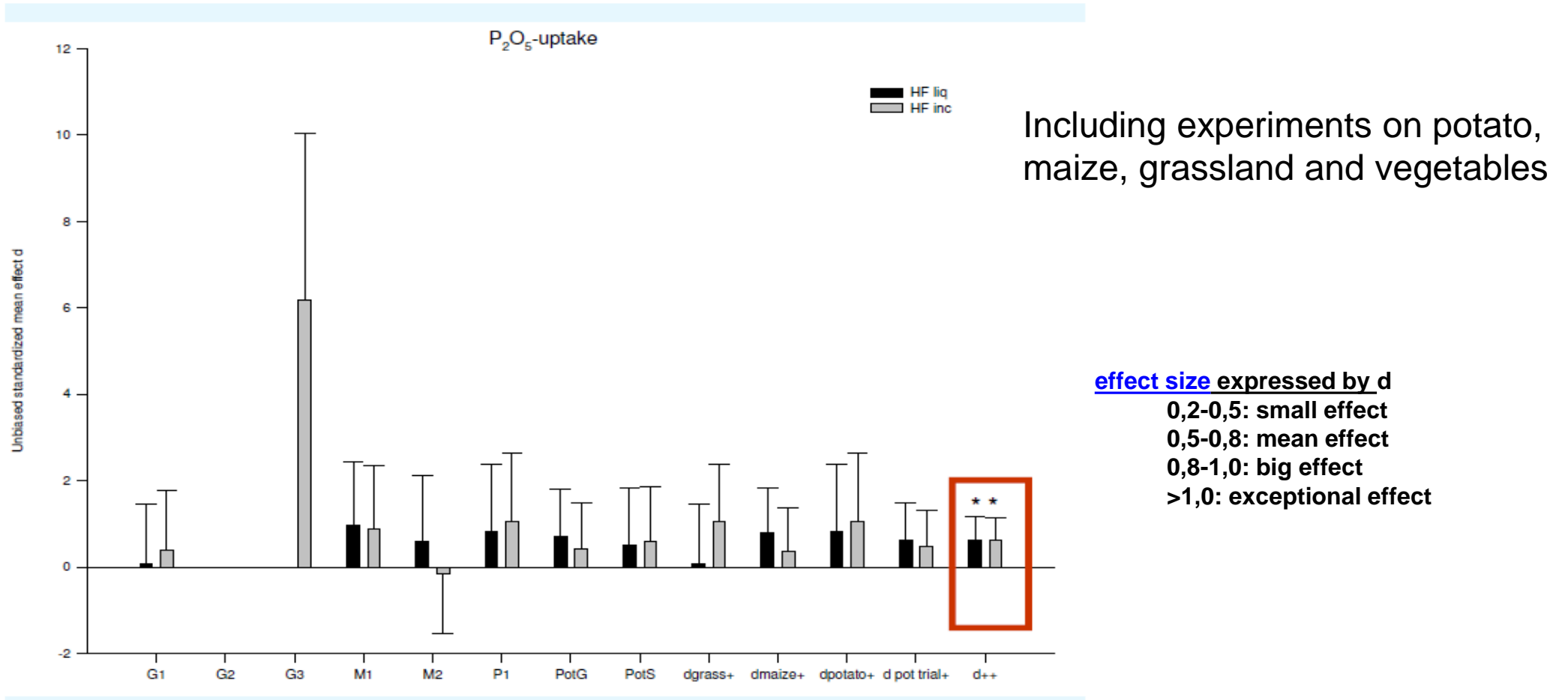
>1,0: exceptional effect

Meta- analysis: opbrengst

Jaareffecten !!!!



Meta-analysis: effect op P-opname



Kunnen Humuszuren een rol spelen in de gewasbescherming?

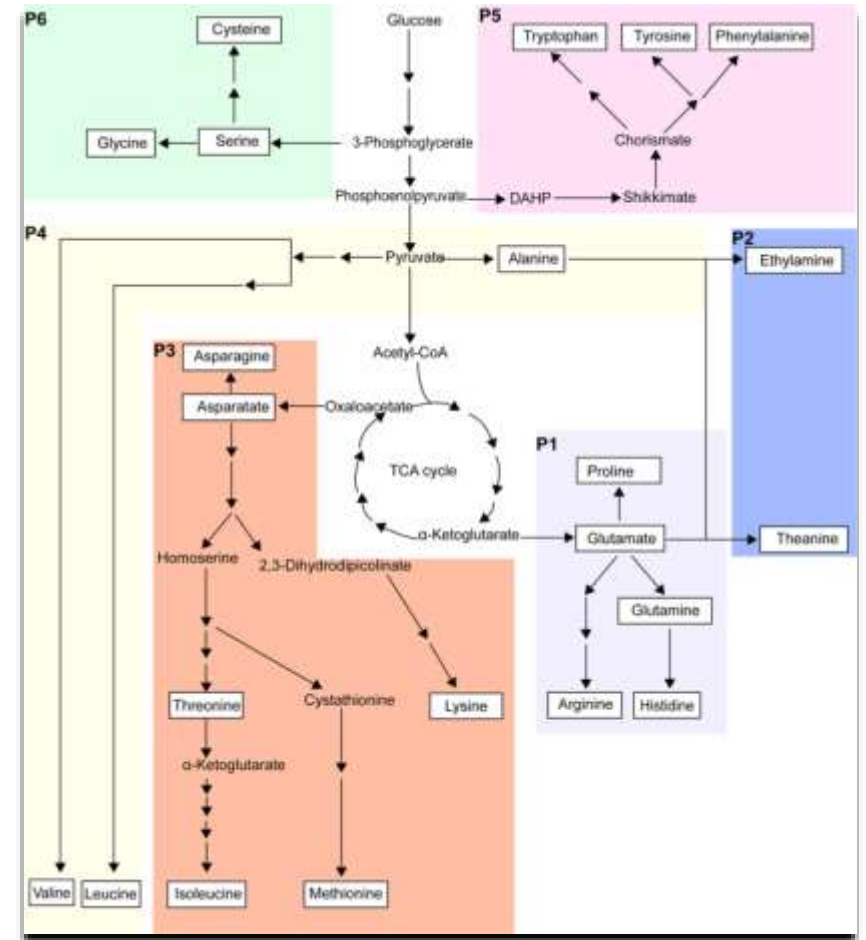


- Humuszuren stimuleren primaire en secundaire metabolieten
 - ✓ Humuszuren veranderen microbiële populatie in rhizosfeer met mogelijks een effect op wortelpathogenen
- Meer wortelgroei dus betere tolerantie tegen wortelbeschadigers
- Betere nutriëntenopname bv. Kalium, Calcium, Silicium, ...
- In literatuur (45 referentie !) zijn beschreven dat humuszuren kunnen optreden als elicitor en dus resistentiemechanismen op gang brengen via plantenhormonen (o.a. Jasmijnzuur: ISR).
- Vooral effect tegen 'zwakte' pathogenen

Eiwit hydrolysaten

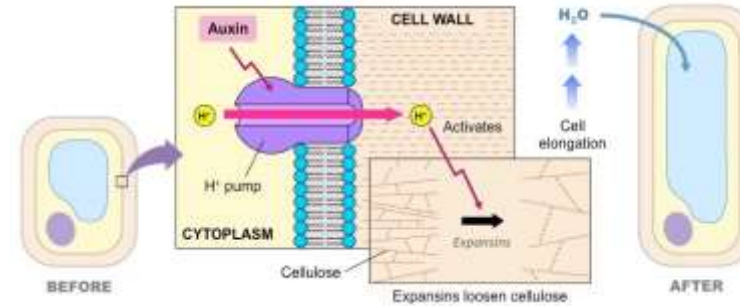
Wat zijn hydrolysaten ?

- Ontstaan door hydrolyse van eiwitstructuren
- Fysische, chemische en biologische (enzymatische) methoden
- Kleine peptideketens/vrije aminozuren het sterkst biologische actief / behoud van L-isomeren aminozuren
- Dierlijke of plantaardige oorsprong

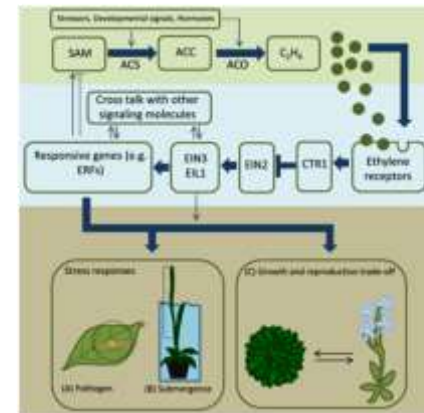


Biologische effecten van hydrolysaten

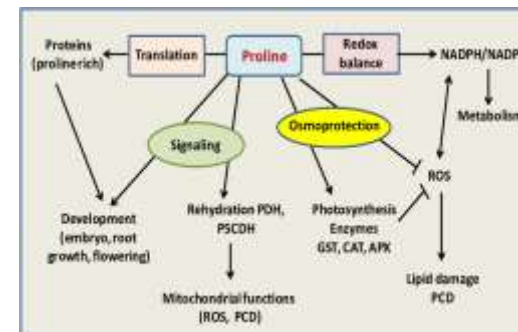
- ✓ Tryptofaan-rijke hydrolysaten: IAA effect en celgroei



- ✓ Methionine-rijke hydrolysaten: verlaagt droogte-stress (methionine = precursor van ethyleen)



- ✓ Proline/glycine-rijke hydrolysaten: osmoprotectie en verlaagt droogte stress



Case study: aardappel

veldproef Bottelare 2019

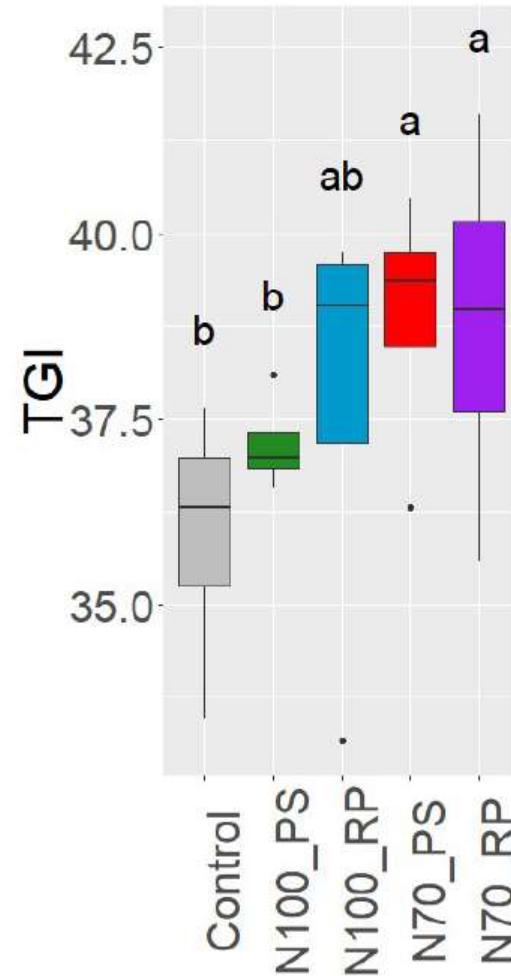
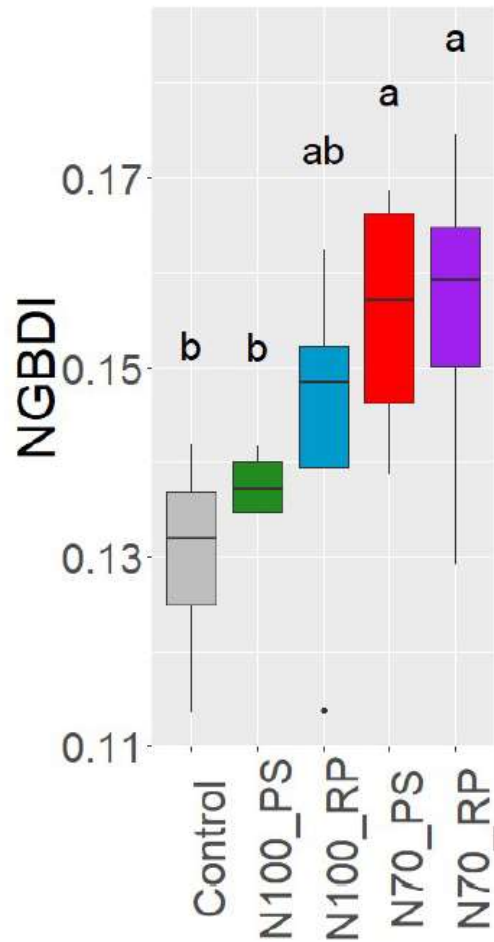
- ✓ zandleembodeml
- ✓ Variëteit: Agria
- ✓ pH: 6,1; P, K en Mg: hoog; %C: 1,01
- ✓ N-advies: 156 kg/ha
- ✓ 4 x 3L AphaSol vanaf bloei met interval van 10 dagen
- ✓ Drone beelden met RBG camera
- ✓ April en Mei waren droog in 2019

Biostimulant:

AphaSol: hydrolysaat van kippenveren



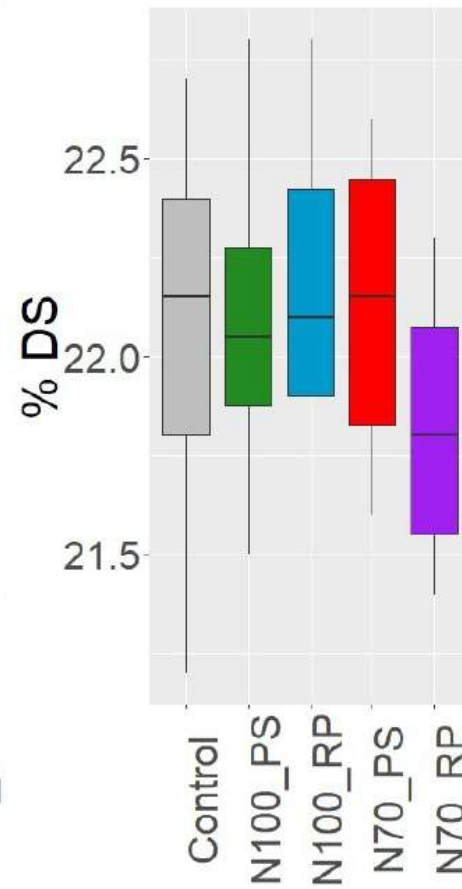
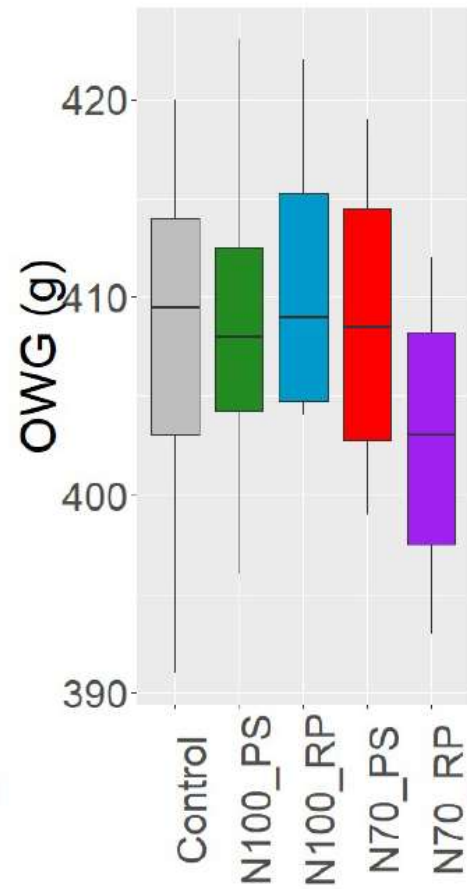
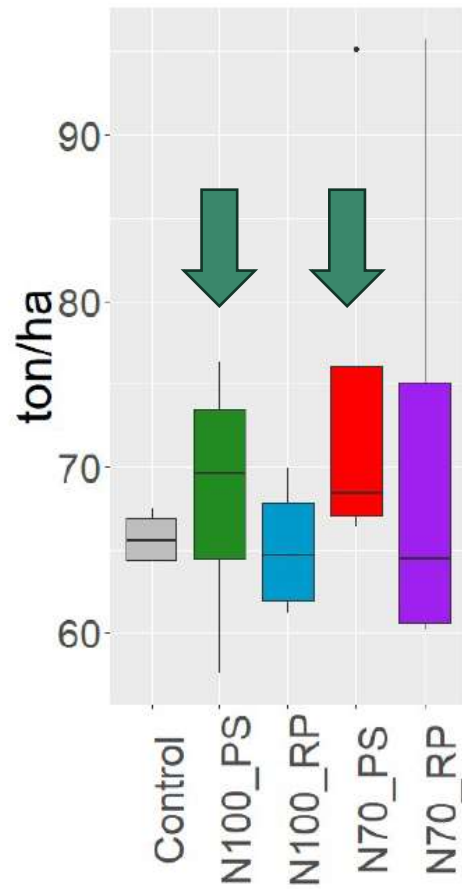
Effect op gewasindices



N100: advies (156 kg/ha N)
N70: 70 % of advies = 109 kg/ha
N

PS= AphaSol
RP= referentie product

Effect op opbrengst en onderwatergewicht

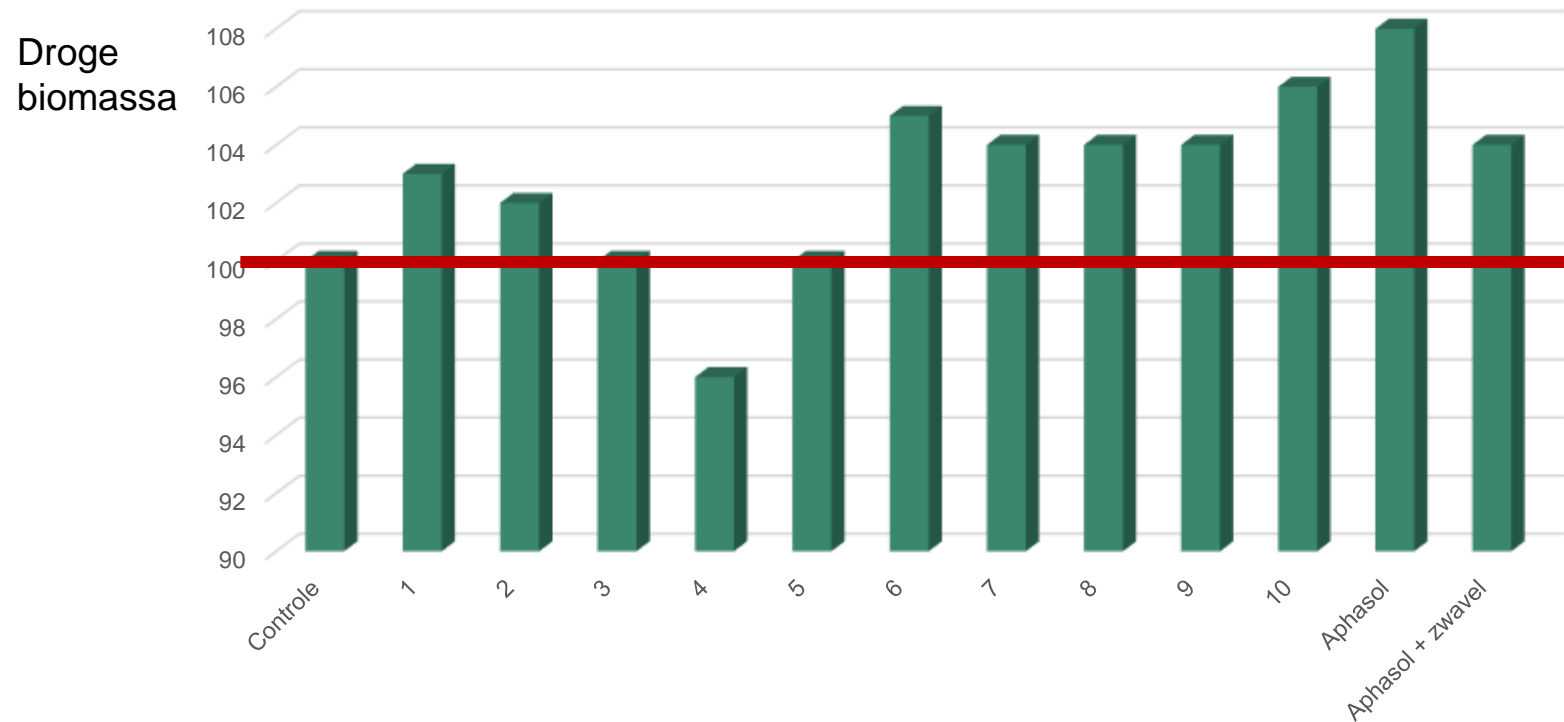


N100: advies (156 kg/ha N)
N70: 70 % of advies = 109 kg/ha
N

PS= AphaSol
RP= referentie product



Effect van hydrolysaten op wintertarwe

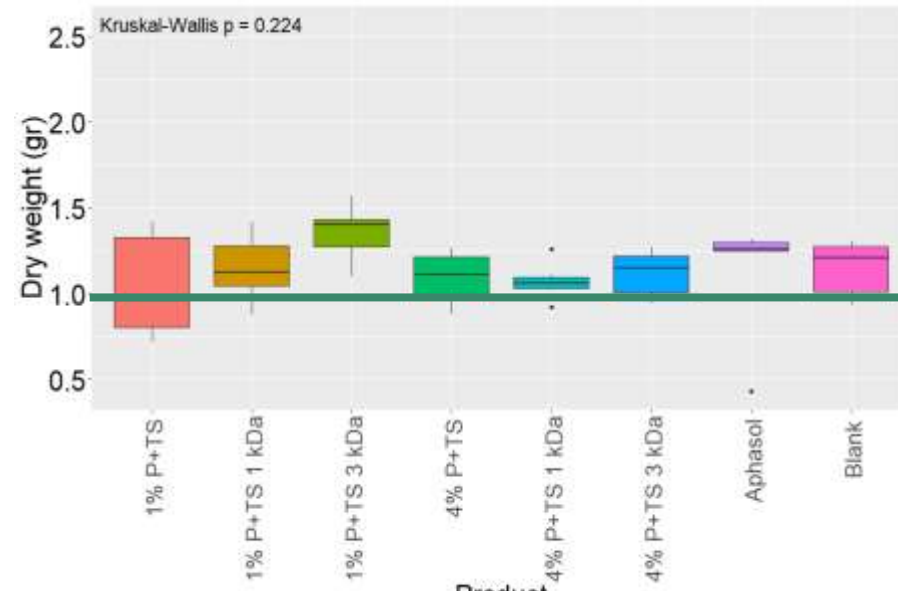
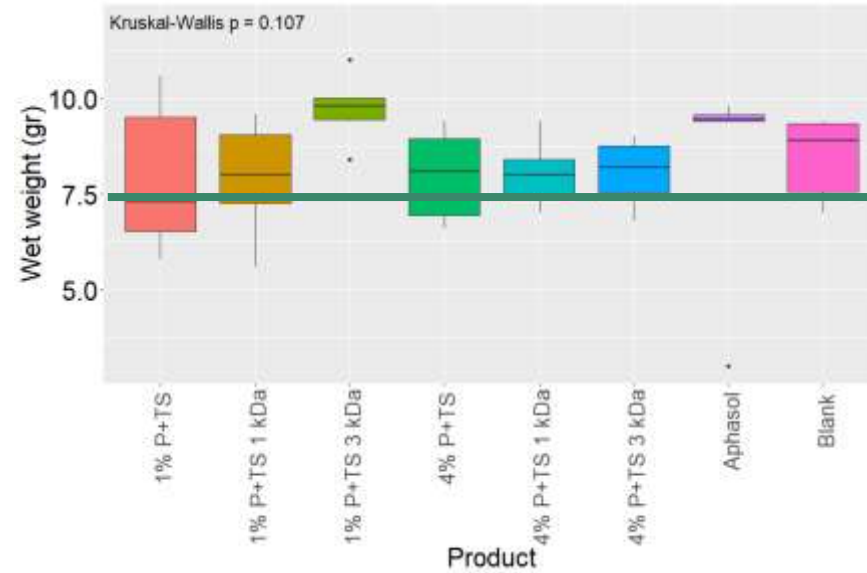


**Potproef onder
suboptimale
omstandigheden**

Maïs potproef

Potproef met maïs:

- Zeer arme zandgrond met lage pH
- Voor zaaien: 24 kg/ha N, 20 kg/ha P₂O₅, 40 kg/ha K₂O and 16 kg/ha MgO
- Actirob werd toegevoegd aan spuitvloeistof





Kunnen hydrolysaten een rol spelen in de gewasbescherming?

- Verlagen abiotische stress waardoor planten robuuster reageren tegen biotische stress
- Meer wortelgroei dus betere tolerantie tegen wortelbeschadigers
- Betere nutriëntenopname
- Inductie van Ca-signal in cellen wat leidt tot hogere productie van PR-eiwitten
- Interfereren met plantenhormonen bv. IAA

Zeewier-extracten

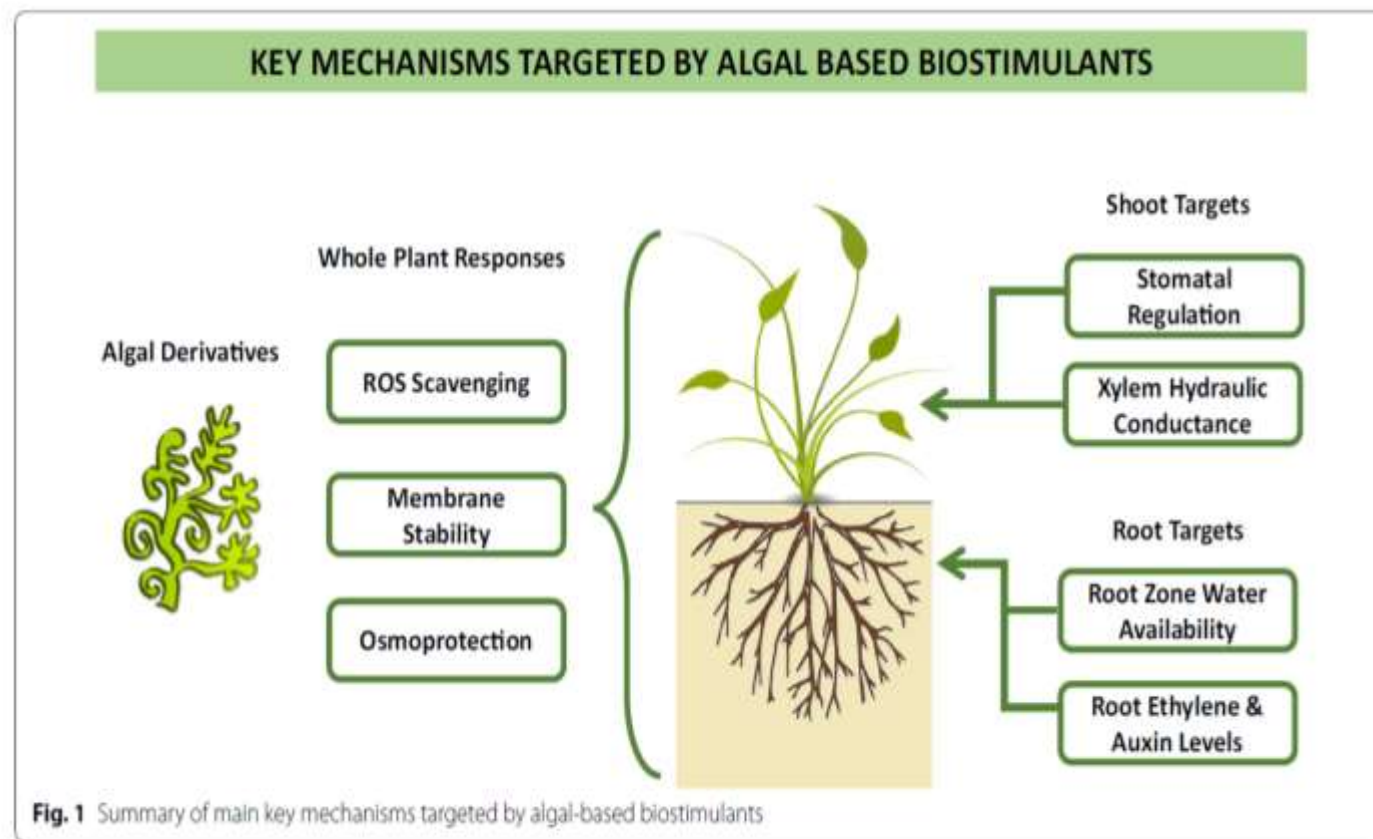
Biologische effecten van zeewier-extracten

- Grote diversiteit aan middelen door gebruik te maken van verschillende soorten wieren
- Bevatten diverse biologisch actieve componenten
 - ✓ Plantenhormonen
 - ✓ Polysachariden
 - ✓ Carotenoïden
 - ✓ Amino-zuren
 - ✓ Lipiden
 - ✓ Fenolen
 - ✓
 - ✓ **Maar ook mineralen, sporenelementen (bv. Zwavel, Calcium, ..., Silicium)**

Bioactive Compounds	Chlorophyceae (Green)	Rhodophyceae (Red)	Phaeophyceae (Brown)	Reference
Carotenoid	<ul style="list-style-type: none"> - β-carotene - Lutein - Violaxanthin - Antheraxanthin - Zeaxanthin - Neoxanthin 	<ul style="list-style-type: none"> - β-carotene - α-carotene - Zeaxanthin - Lutein 	<ul style="list-style-type: none"> - Fucoxanthin - β-carotene - Violaxanthin 	[154,155]
Minerals	<ul style="list-style-type: none"> - Macro (C, Cl, Fe, Mg, P, K, Na and S) - Micro (B, Cr, Co, Cu, F, Ge, I, Mn, Mo, Ni, Se, Si, S, Ti, W, V, Zn) 	<ul style="list-style-type: none"> - Macro (C, Cl, Fe, Mg, P, K, Na and S) - Micro (B, Cr, Co, Cu, F, Ge, I, Mn, Mo, Ni, Se, Si, S, Ti, W, V, Zn) 	<ul style="list-style-type: none"> - Macro (C, Cl, Fe, Mg, P, K, Na and S) - Micro (B, Cr, Co, Cu, F, Ge, I, Mn, Mo, Ni, Se, Si, S, Ti, W, V, Zn) 	[156-158]
Polyphenolics and Phlorotannins	<ul style="list-style-type: none"> - Bromophenols - Flavonoids 	<ul style="list-style-type: none"> - Bromophenols - Flavonoids - Phenolic terpenoids - Mycosporine-like amino Acid 	<ul style="list-style-type: none"> - Bromophenols - Flavonoids - Phenolic terpenoids - Phloroglucinol - Eckol - Dieckol 	[159,160]
Lipids	<ul style="list-style-type: none"> - Glycolipids - Betaine lipids - Non-polar glycerolipids (neutral lipids) - Mannose and rhamnose containing glycolipids 	<ul style="list-style-type: none"> - Sulfur-containing phospholipids - Phosphatidyl sulfocholine - Glycolipids - Betaine lipids - Non-polar glycerolipids (neutral lipids) - Sulfonoglycolipid crassicolinsine 	<ul style="list-style-type: none"> - Glycolipids - Betaine lipids - Non-polar glycerolipids (neutral lipids) - Unusual lipid class 	[153,161,162]
Oxylipins	<ul style="list-style-type: none"> - Hydroxy and hydroperoxy fatty acids (FAs) Coital (C10-acylpin) - Epoxy alcohol - Hydroxy and hydroperoxy FAs - 15-<i>iso</i>-trideca-9,11-dienoic acid, (2Z) - pentane, pentanol, hexanal 	<ul style="list-style-type: none"> - Hydroperoxy FAs - Hydroxy FAs - Diols - Epoxy FAs - Prostaglandins - Leukotrienes - Cyclopropyl hydroxyecosanoids - Eicosanoids - Heposidin like metabolite - Polyeneic acid 	<ul style="list-style-type: none"> - Ecklonalactones - Egregialactones - Carbocyclic eiseniachlorides, eiseniachlorides and bicyclic cymathere ethers - Hydroxy-, hydroperoxy FAs 	[151,160-163]
Protein, peptides, and amino acids	<ul style="list-style-type: none"> - Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, methionine, Phenylalanine, Threonine, Tryptophan, Valine, Cysteine, Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Alanine, Glycine, Proline, Serine, Tyrosine and Alanine - Taurine - Domoic acid - α-Kainic acid 	<ul style="list-style-type: none"> - Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, methionine, Phenylalanine, Threonine, Tryptophan, Valine, Cysteine, Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Alanine, Glycine, Proline, Serine, Tyrosine and Alanine - Taurine - Domoic acid - α-Kainic acid 	<ul style="list-style-type: none"> - Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysine, methionine, Phenylalanine, Threonine, Tryptophan, Valine, Cysteine, Arginine, Aspartic acid, Glutamic acid, Alanine, Glycine, Proline, Serine, Tyrosine and Alanine - Taurine - α-Kainic acid 	[164-166]

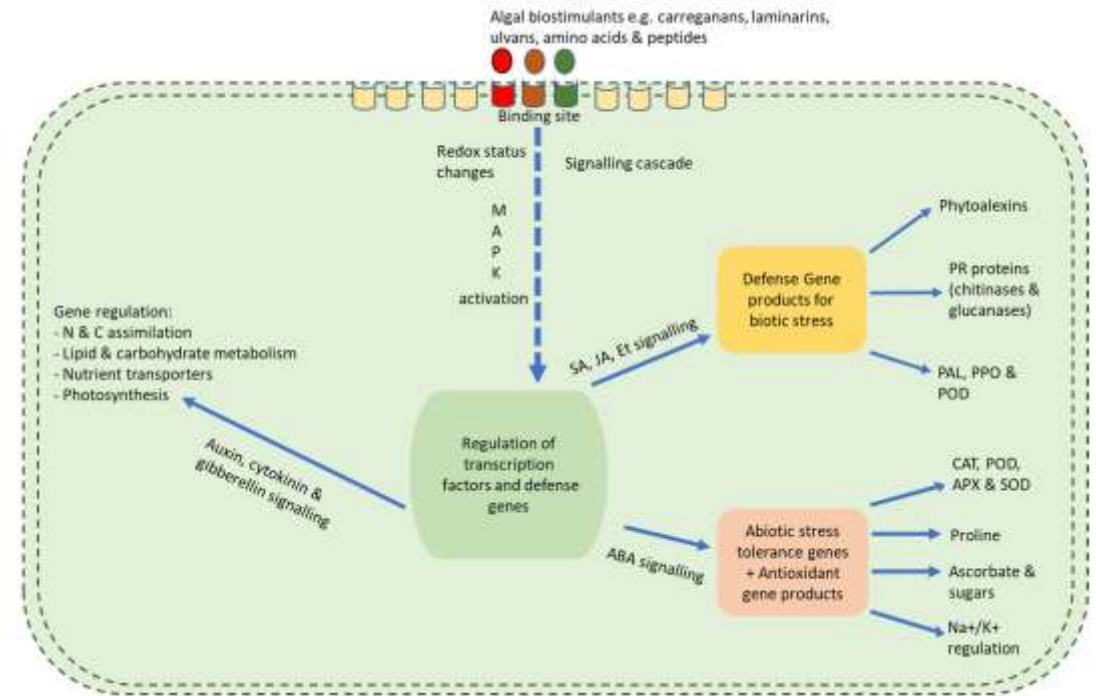
Biologische effecten van zeewier-extracten

- Gaan vooral abiotische stress tegen bv. droogte door:
 - ✓ verhogen van membraan- en DNA-stabiliteit
 - ✓ Efficiëntere regeling van stomata
 - ✓ Antioxidant werking
 - ✓ Verhogen van osmo-actieve bestanddelen (proline, suikers, ...)
 - ✓ Verhogen wortelmassa, etc.
- Weinig consistente resultaten



Biologische effecten van zeewier-extracten: weerstand tegen ziekten en plagen

- Verhogen ziekte/plaag tolerantie door een verbeterde groei
- Interferen met microbiom van wortel: betere afweer tegen wortelpathogenen
- Inductie van resistentie bv. door aanrijking van Si maar ook via plantenhormonen



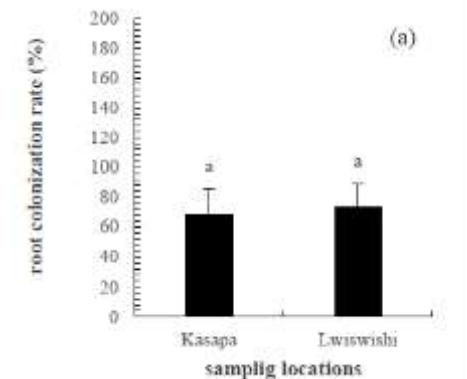
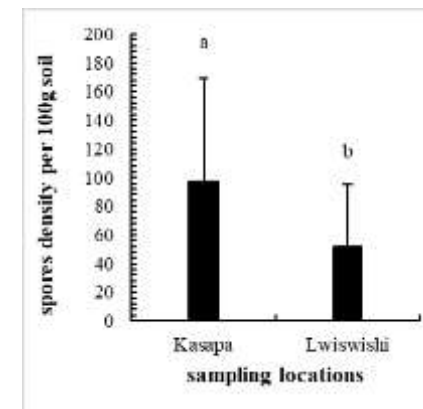
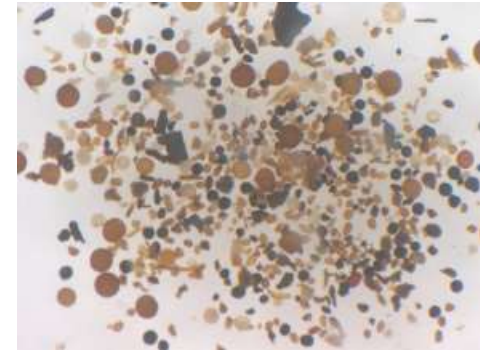
Micro-organismen



Lubumbashi regio: Een uitstekende bron
van Arbusculaire Mycorrhiza Schimmels
(AMF)

Congolese bodems zijn rijk aan AMF

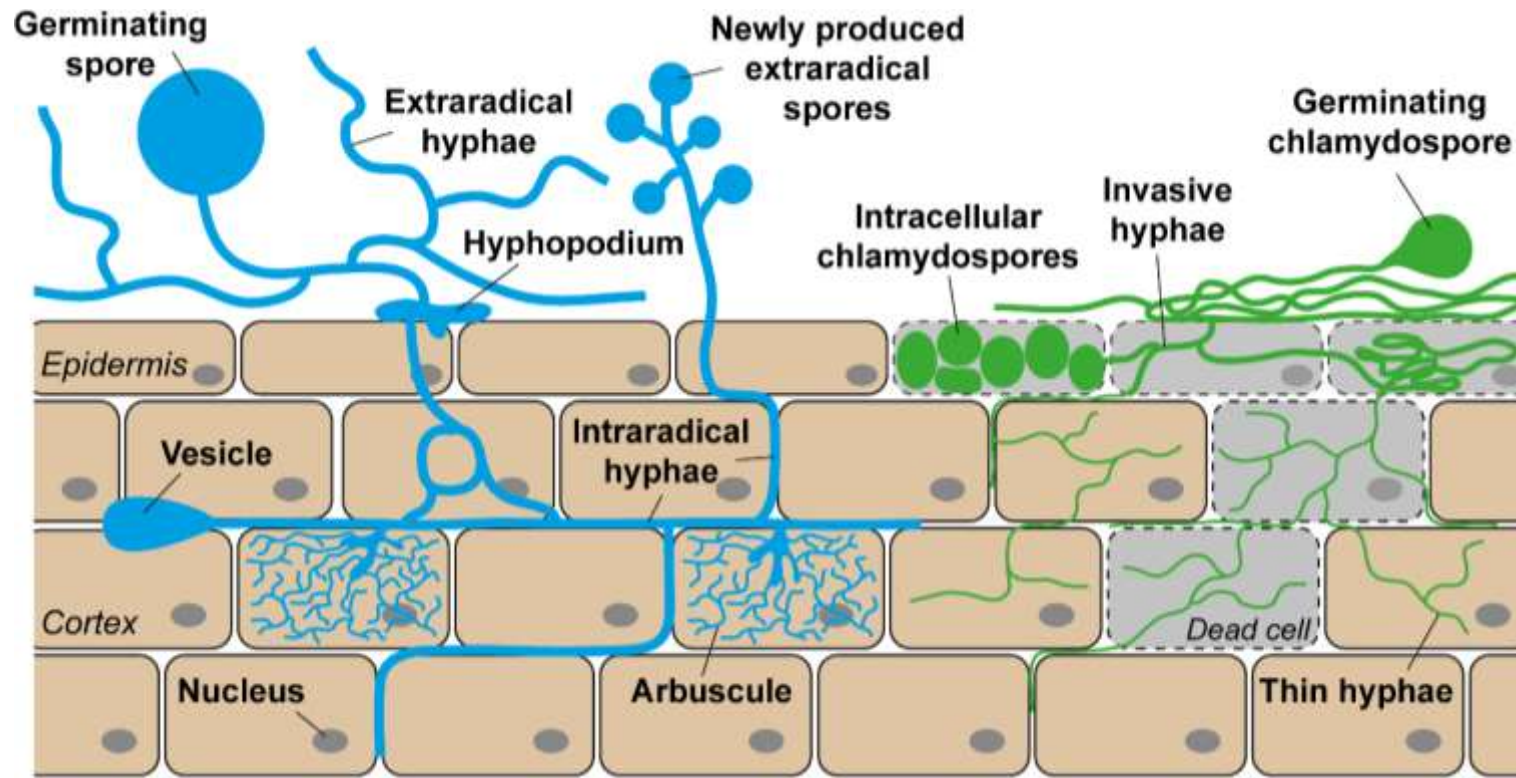
- Na het nemen van bodemstalen in verschillende bodemtypes met een diversiteit aan gewasgeschiedenis:
 - 19 tot 27 AMF soorten
 - *Acaulospora* spp, *Glomus* spp, *Entrophospora* spp and *Gigaspora* spp zijn de voornaamste soorten
 - Sporen dichtheid tussen 40 and 150 per 100 g bodem
 - Wortel kolonisatie > 60%
 - Duidelijke interactie tussen soort en omgeving (bv pH)



AMF in de bodem

Arbuscular mycorrhizal fungi

Serendipita

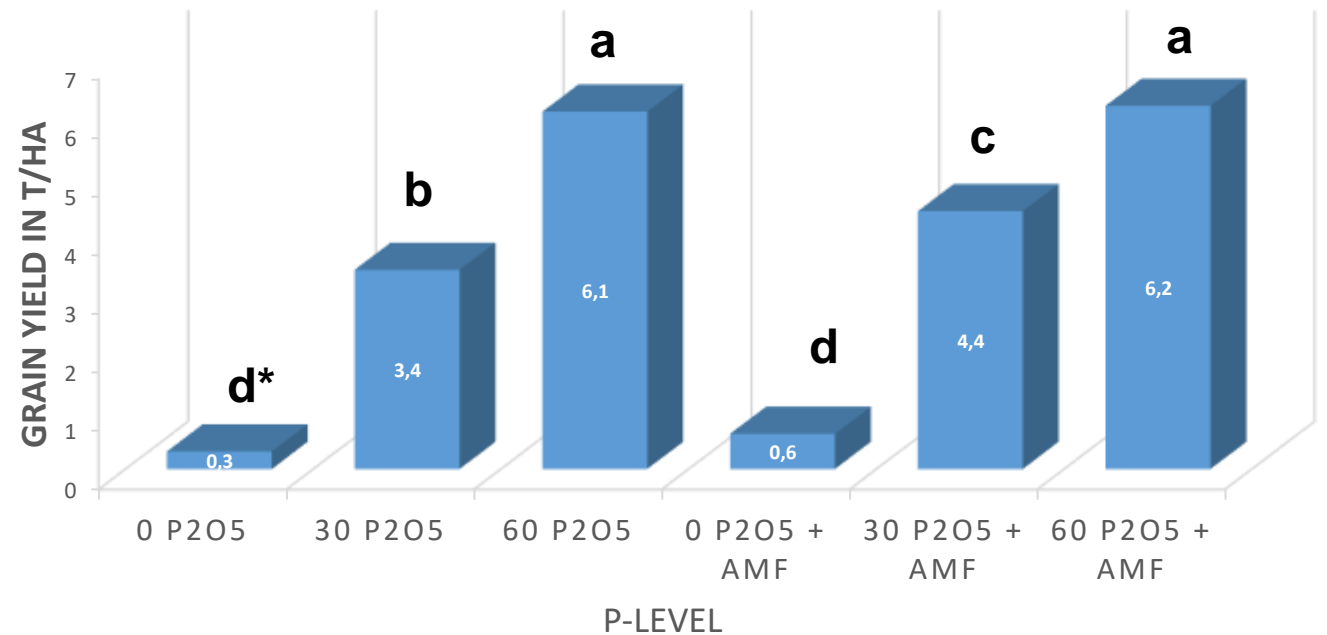


Effect of P level in combination with AMF on yield of maize

Veldproef LUBUMBASHI REGIO

- Ferralsols: pH 6,2; opneembaar P 10,3 mg/g soil
- AMF-spore concentration: 250 per 100 g substrate
- 0, 30 and 60kg/ha P₂O₅ and 60 kg/ha N

IMPACT OF AMF ON GRAIN YIELD MAIZE



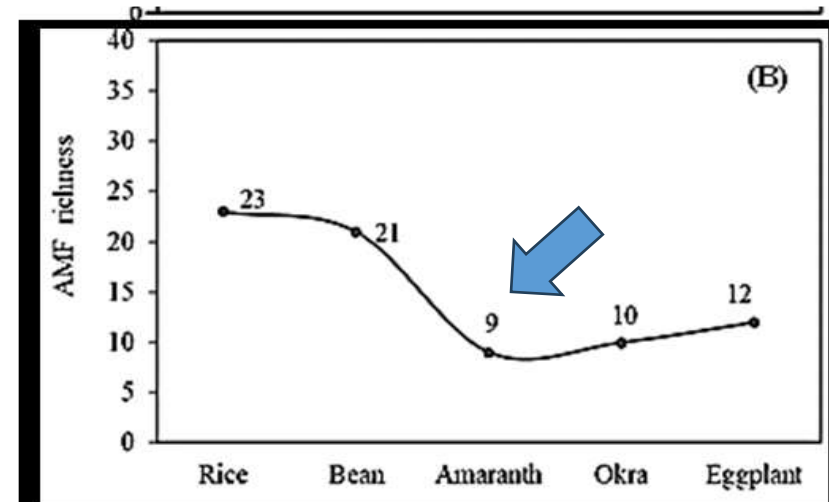
* Significant difference according Tukey test



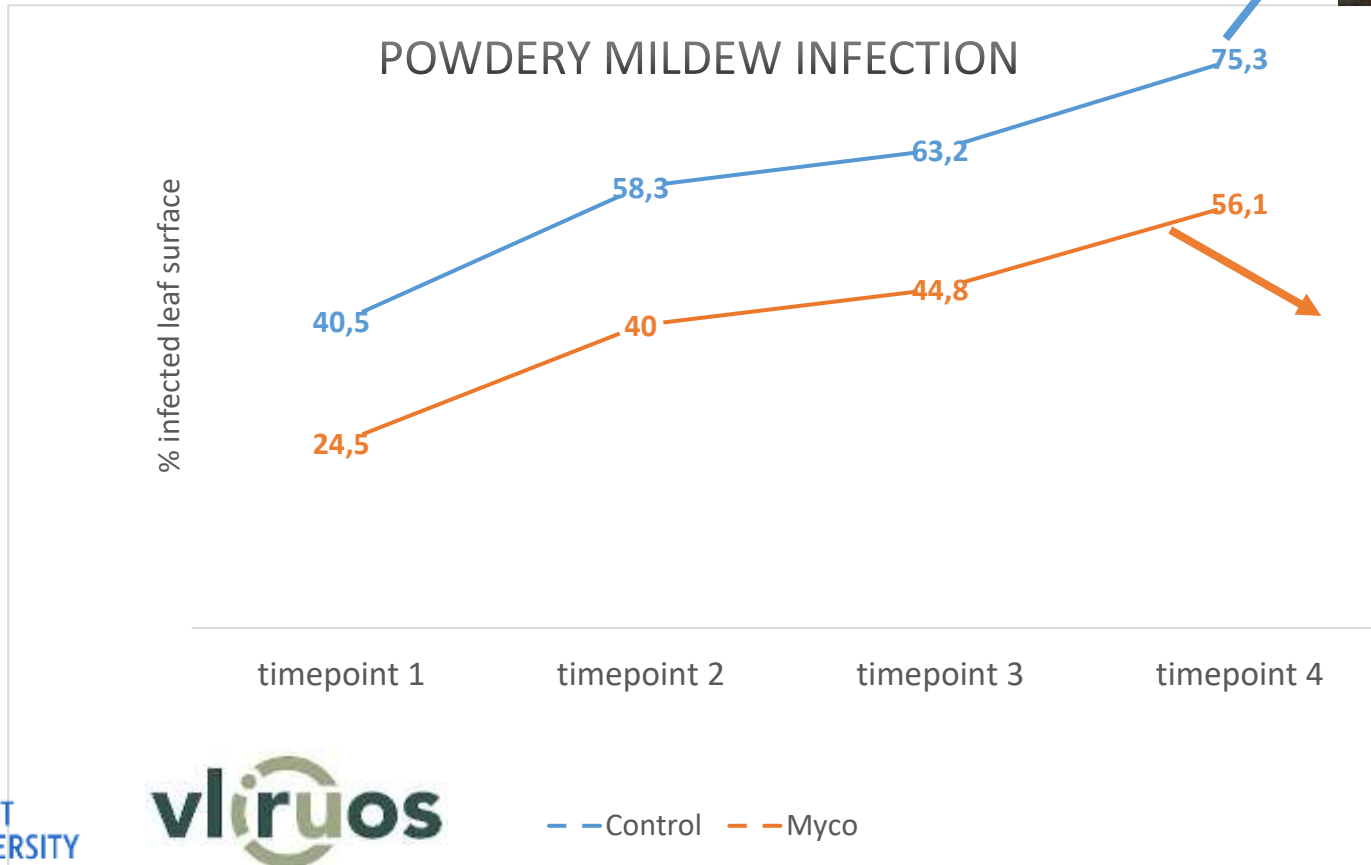
Effect van gewasrotatie op AMF

ROTATIE EXPERIMENT

- Plinthosols
- pH 4,5; extractable P 11 mg/g soil
- Gewassen: Rijst-Boon-Amaranth-Okra-Aubergine
- Sporen densiteit by start (before rice): 8-38



Effect van AMF inoculatie op meeldauw bij tarwe



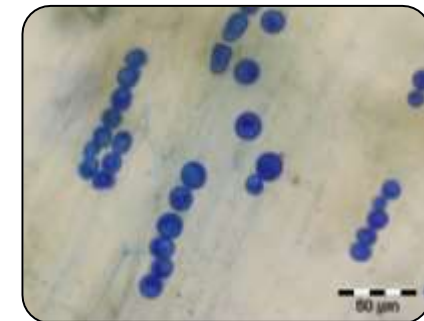
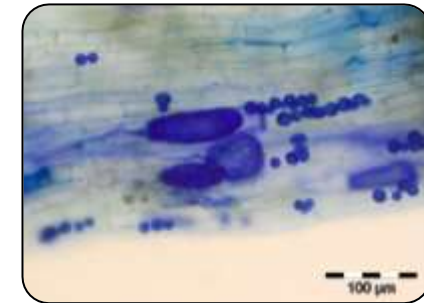
A wide-angle landscape photograph of the Kisangani region. In the foreground, there is a dense green forest. A large, calm river flows through the middle ground. The background shows a vast expanse of forest under a blue sky with scattered white clouds. The text is overlaid on the upper half of the image.

Kisangani region

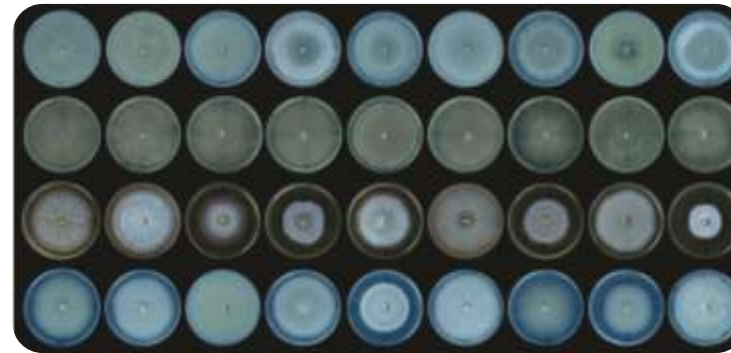
Serendipita genus en zijn metabolieten: een veel
belovende biostimulant

Wat zit in de rhizosfeer aan nuttige schimmels?

Bodemstalen → Trap cultures

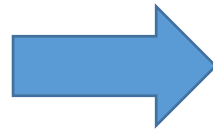
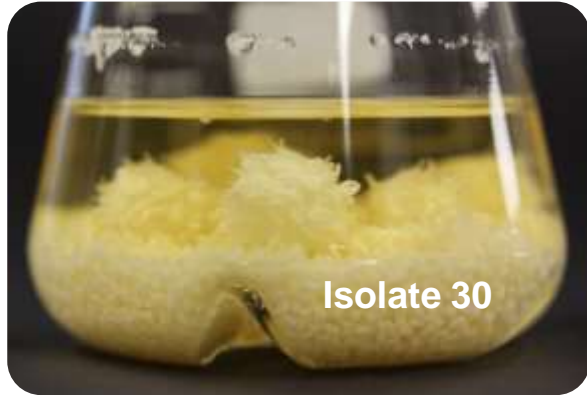


Na uitplaten van wortelstukjes



= Serendipita

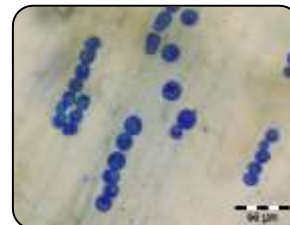
Serendipita: overleven 'bottelaarse winters'



Winter tarwe, gezaaid oktober 2019

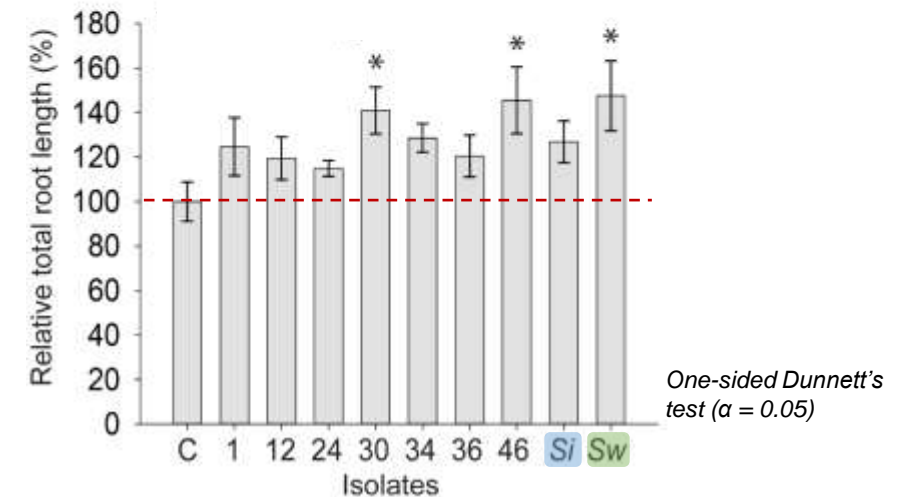
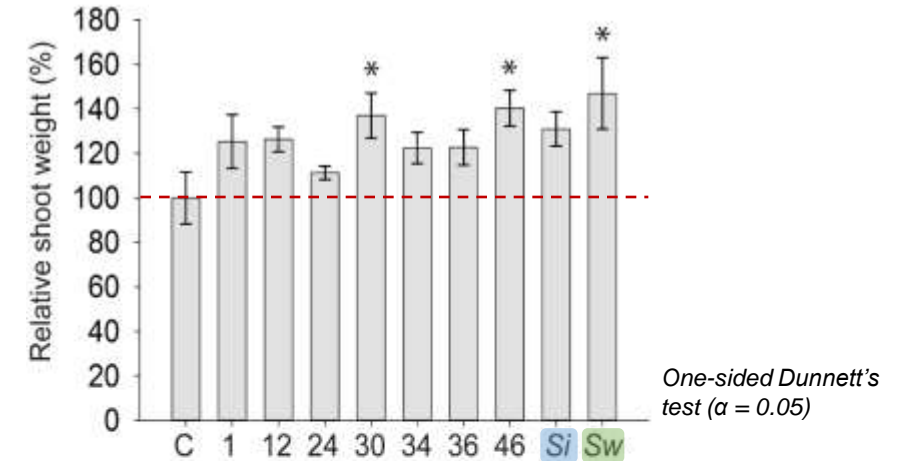
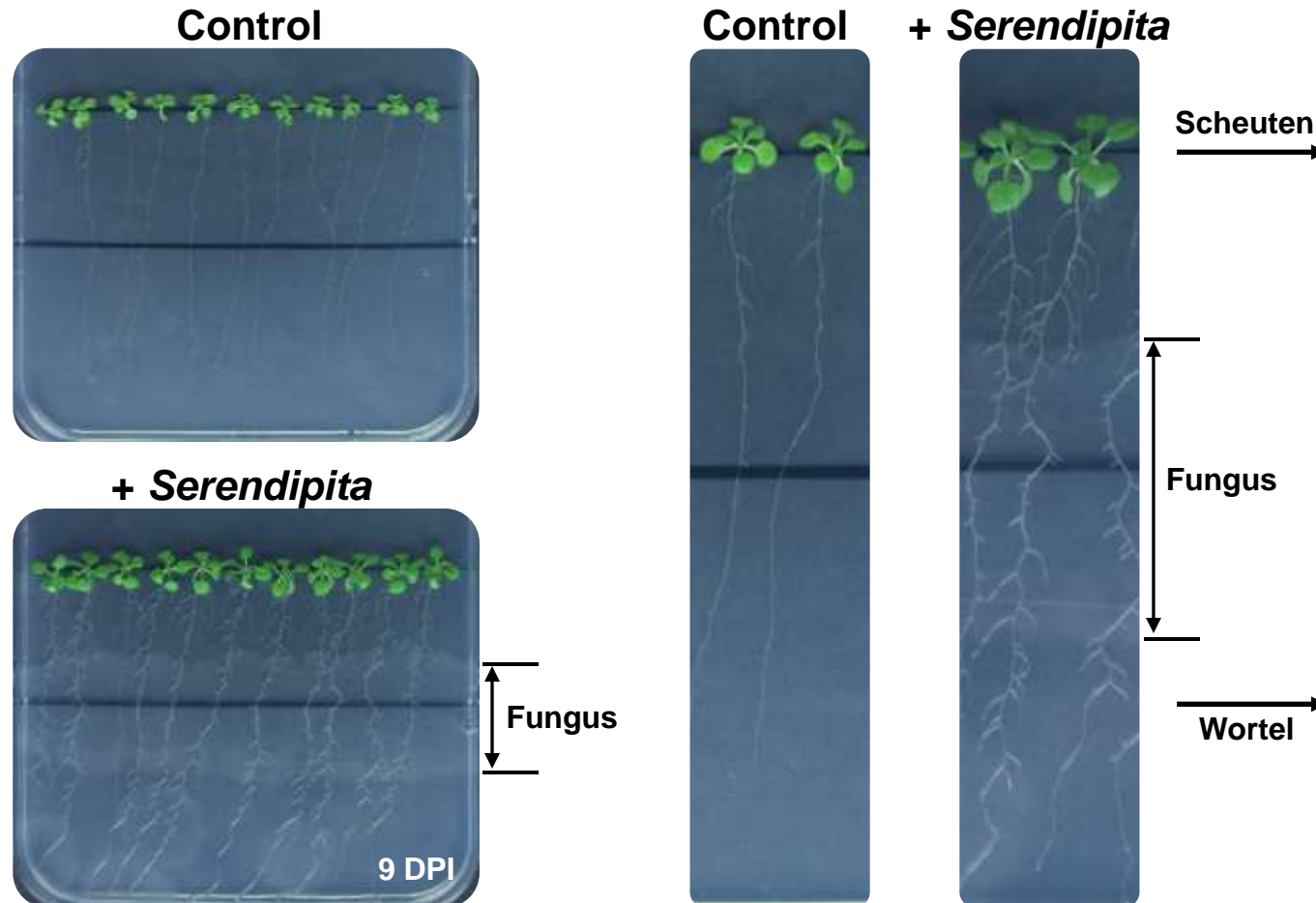


Winter tarwe oogst Augustus 2020



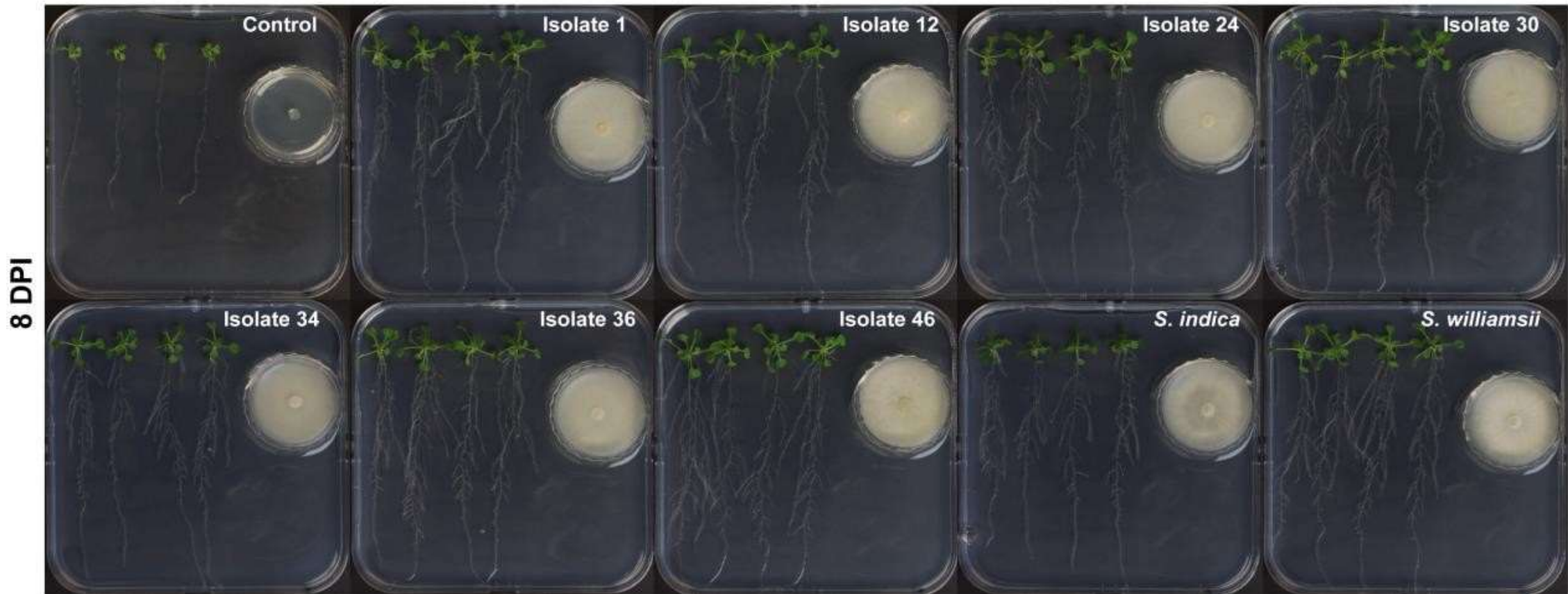
Biostimulante werking Serendipita

In vitro: direct contact assays (*Arabidopsis*)



Biostimulante werking Serendipita

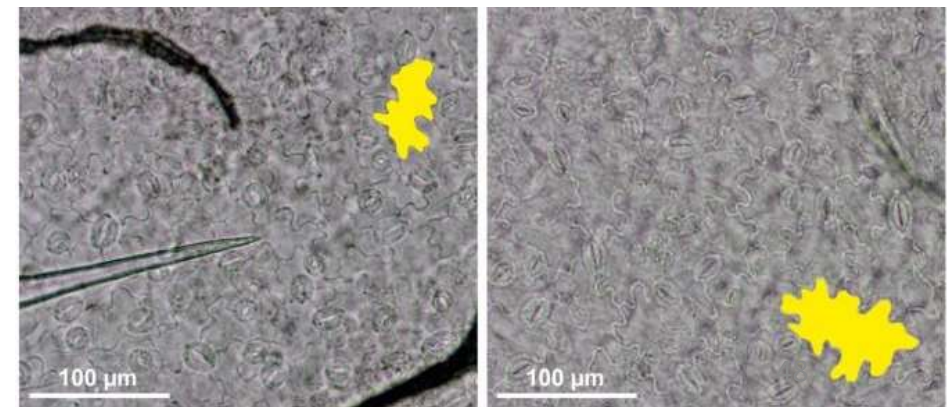
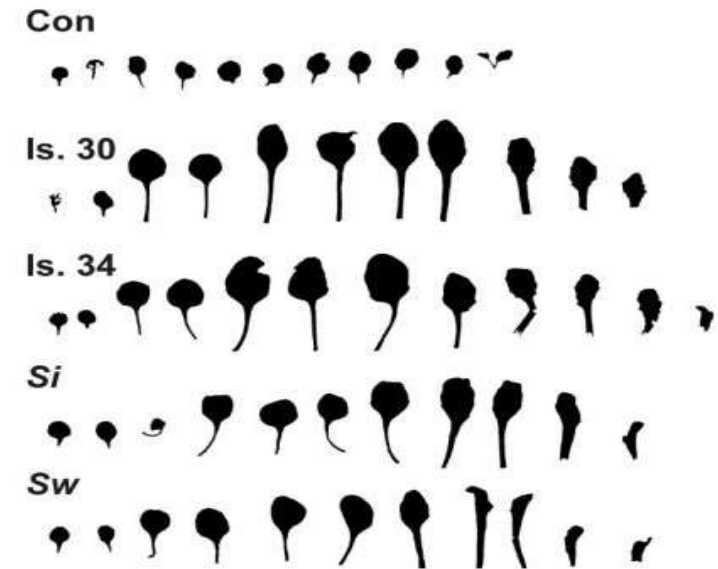
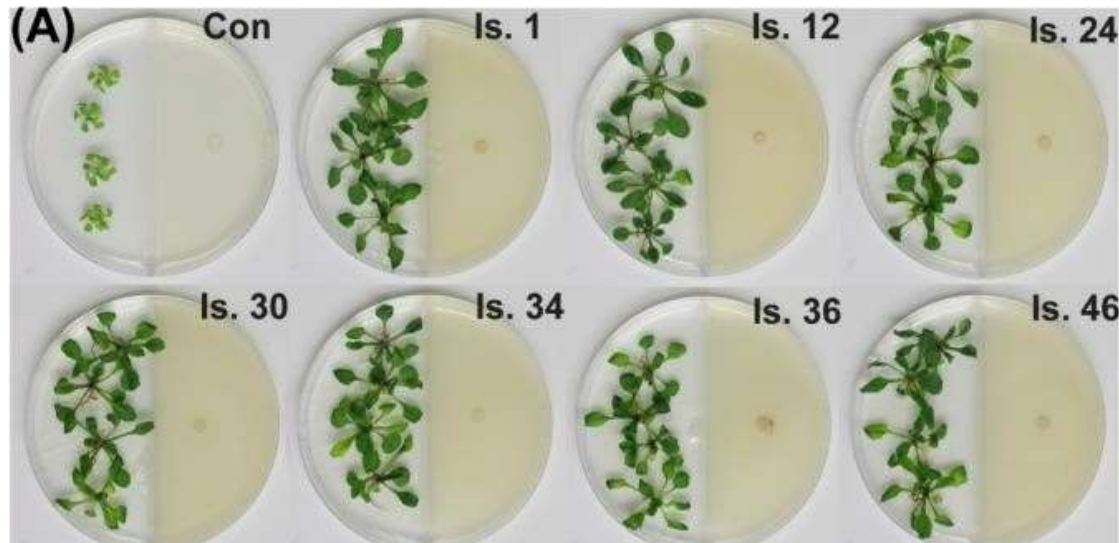
In vitro: indirect assays: volatielen (*Arabidopsis*)



Biostimulante werking Serendipita

In vitro: indirect assays: volatielen (*Arabidopsis*)

- Grotere bladeren, niet meer bladeren
- Gotere cellen, niet meer cellen



Biostimulante werking Serendipita

Serreproef onder droogte stress bij maïs

PHENOVISION platform VIB



mycelium in substraat

Biostimulante werking Serendipita

Serreproef onder droogte stress bij maïs

PHENOVISION platform VIB



Planten groeiden in **nutrient-arm** substraat & **droogte stress** (25% FC) vanaf 5 bladstadium (controle planten aan 85% FC)



Source: <https://www.psb.ugent.be/phenotyping/phenovision>

Biostimulante werking Serendipita

Serreproef onder droogte stress bij maïs

PHENOVISION platform VIB

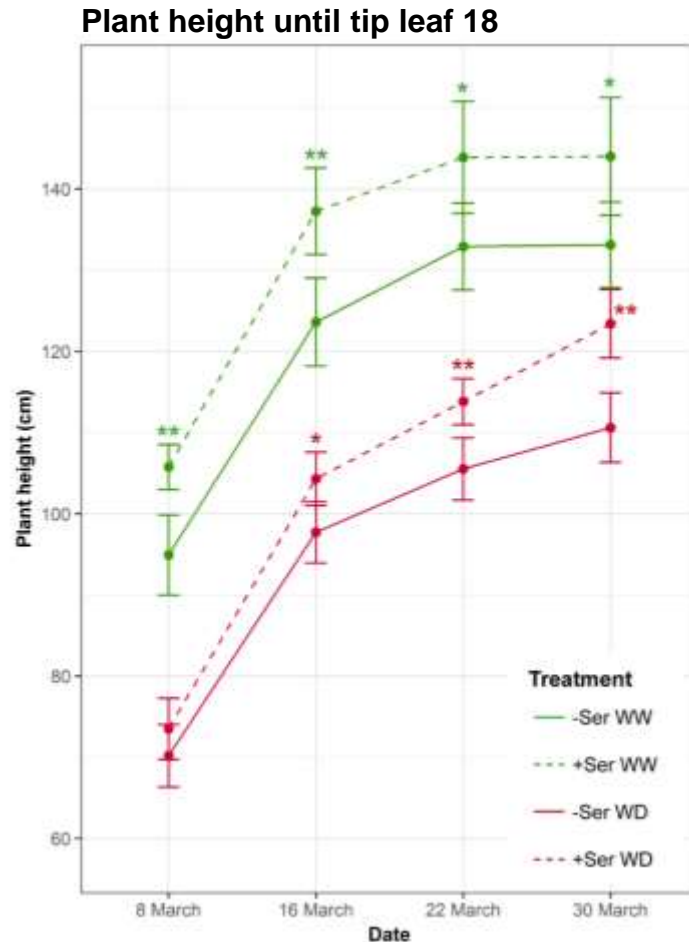


Planten groeiden in **nutrient-arm** substraat & **droogte stress** (25% FC) vanaf 5 bladstadium (controle planten aan 85% FC)

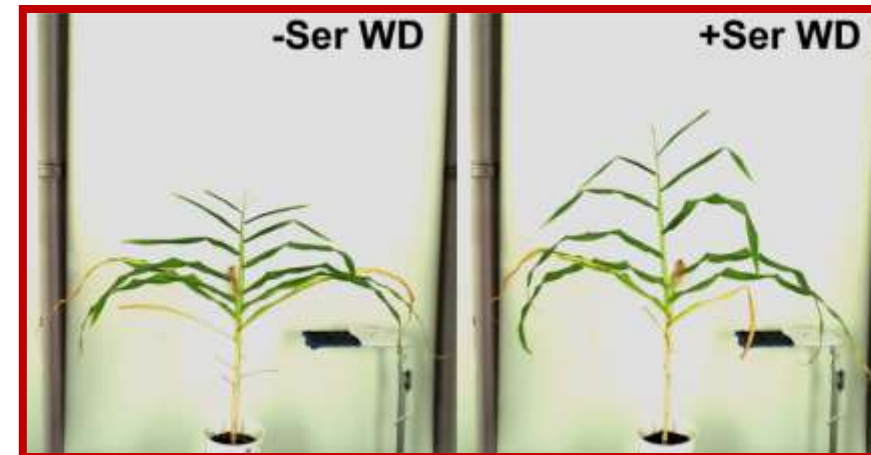


Biostimulante werking Serendipita

Serreproef onder droogte stress bij maïs

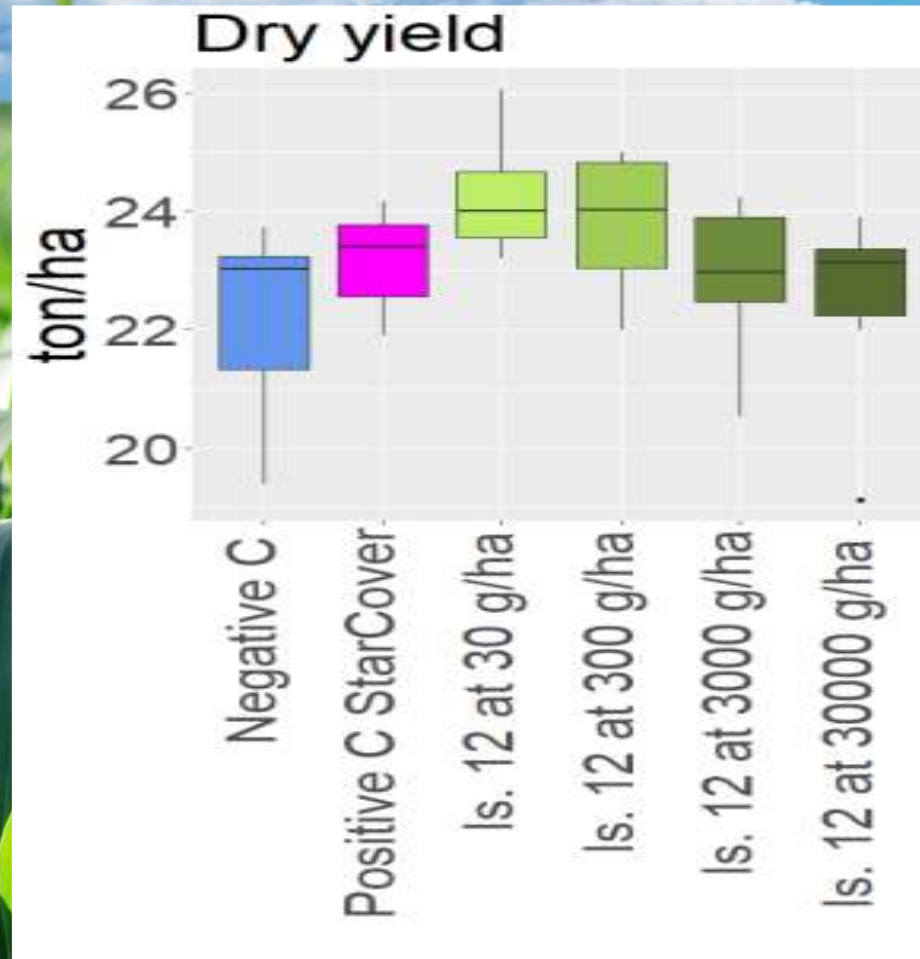


Two-sided Student's *t*-tests (* < 0.05, ** < 0.01)



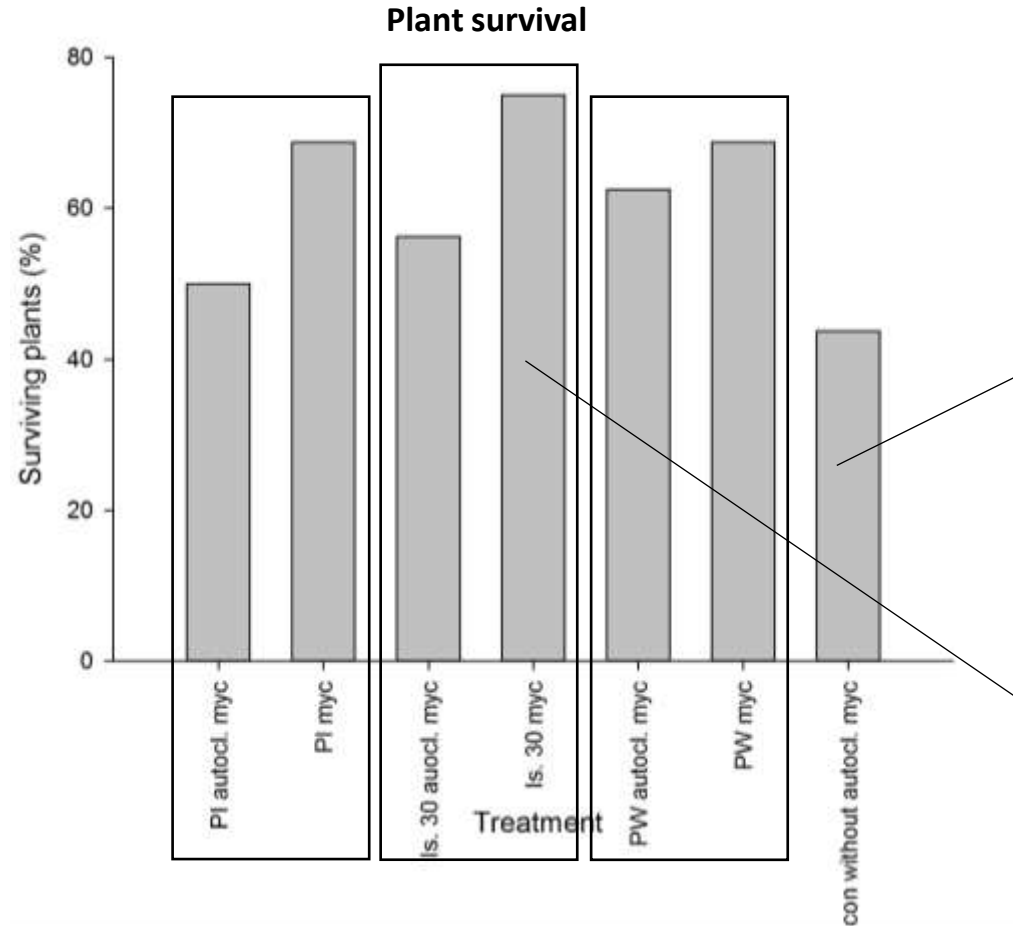
Biostimulante werking Serendipita

Veldproef Bottelare met maïs



Biostimulante werking Serendipita: effect tegen schimmels

Fusarium graminearum, serreproef



FUS control (without autoclaved mycelium)

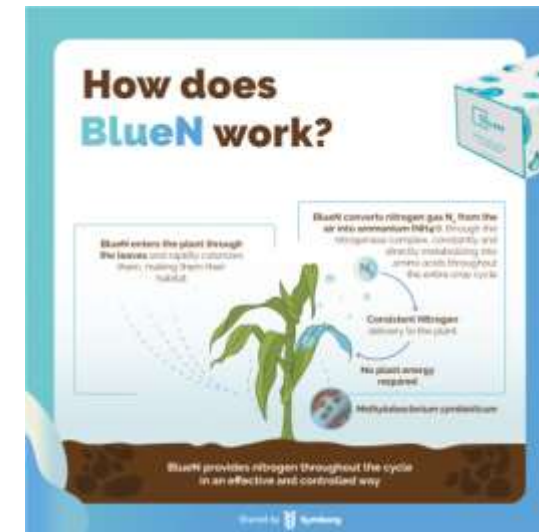
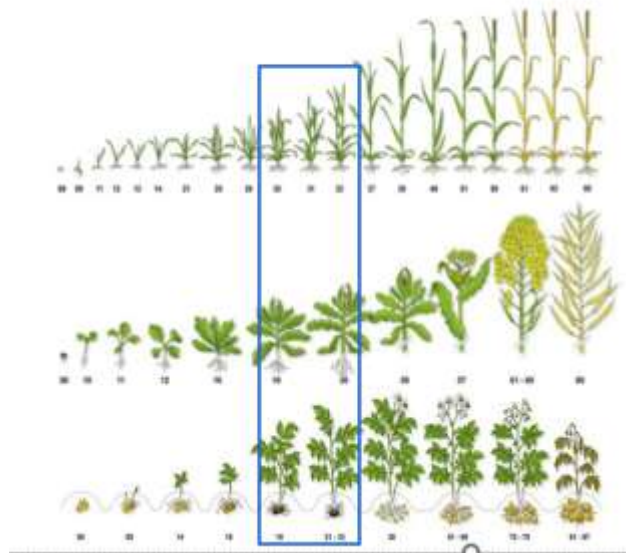


FUS + mycelium isolate 30



Methylobacterium symbioticum

- BlueN[®]
 - Leeft op en in de filosfeer (bovengrondse plantendelen)
 - Is in staat om stikstof te fixeren in stomatale holte: stikstofeffect -> fotosynthese effect
 - Toepassingstijdstip is cruciaal



Enkele hersenspinsels

- Nog steeds een gevecht tegen “snake-oil-products”: wakkert het sceptisime van landbouwers aan ...
- Bewezen effecten zijn verschillend van gegarandeerde effecten: tijdstip van toediening is cruciaal alsook omgevingsfactoren
- ‘Mode of action’ van biostimulanten is verschillend: de te verwachten effecten ook: moeten we naar mengsels met gecombineerde werking?
- Betere groei - zeker onder abiotische stress – leidt tot robuustere planten en verhoogde ziekte/plaag tolerantie
- Microbieel leven in wortelzone kan gestuurd worden en draagt bij tot gezondere planten

Inductie van resistentie is niet uit te sluiten

Expertise & infrastructure

- Isotope analysis (NUE)
- Formulation technologies
- Phenotyping platform + drones
- Plant & soil sensors
- Research station Bottelard
- Libraries / collection
- 150 researchers /20 onderzoeksgroepen

Natural molecules

- Humic and fulvic acids
- Plant extracts & hormones
- Amino acids – peptides
- Secondary metabolites

Macrobials - insects

- Beneficial insects & mites + rearing
- Sustainable pollination – bumble bees
- Habitat management
- Compatibility study

**Maaïke Perneel is de Business Developer,
Cropfit omvat:**

35 professoren

> 20 onderzoeksgroepen

> 150 onderzoekers

Semiochemicals

- Plant volatiles
- Micro-organism volatiles

Microbials

- Mycorrhiza
- Serendipita (see piriformospora)
- P- solubilizing bacteria
- N fixating bacteria
- Pseudomonas biocontrol
- Streptomyces biocontrol

Chemical growth regulators

- Stress alleviating molecules
- Root inducing chemicals

Em. prof Geert Haesaert & prof Kris Audenaert
Vakgroep Plant en Gewas
Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen
Universiteit Gent

Geert.Haesaert@ugent.be

Kris.Audenaert@ugent.be

Cropfit Consortium: Valorisatie consortium rond biostimulanten en biocontrole

Maaike Perneel

Maaike.perneel@ugent.be