

Samenstelling, Functioneren en Toepassing van Plantmicrobiomen in de Landbouw



Lilian Abreu, Wietse de Boer, Jos Raaijmakers

Samenstelling, Functioneren en Toepassing van Plantmicrobiomen in de Landbouw

Een deskstudie naar de huidige wetenschappelijke inzichten over samenstelling en functioneren van microbiomen bij de teelt van gewassen en de mogelijkheden voor toepassingen om weerbaarheid van gewassen te verhogen.

© Februari 2023, NIOO-KNAW

Samenstelling, functioneren en toepassing van plant microbiomen in de landbouw.

Lilian S. Abreu Soares Costa¹, Wietse de Boer^{1,2}, Jos M. Raaijmakers^{1,3}

¹Nederlands Instituut voor Ecologie (NIOO-KNAW), ²Bodembiologie (SBL), Wageningen University & Research, ³Instituut Biologie Leiden (IBL), Leiden Universiteit

NIOO-KNAW Rapport, 52 pagina's

<https://nioo.knaw.nl>

communicatie@nioo.knaw.nl

Deze deskstudie is gefinancierd door het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Voedselkwaliteit, namens de directie Plantaardige Agroketens en Voedselkwaliteit

Korte Samenvatting

Dit rapport beschrijft de resultaten van een deskstudy naar de huidige stand van kennis over plantmicrobiomen en mogelijke benutting in gewasteelten. Er wordt met name ingegaan op de rol die plantmicrobiomen spelen bij de weerbaarheid van gewassen tegen abiotische en biotische stress. Om een goede inschatting te kunnen geven van de mogelijkheden die microbiomen bieden om de weerbaarheid van gewassen te verhogen is het essentieel een goed begrip te hebben van (1) de factoren die weerbaarheid-gerelateerde samenstelling en functies van microbiomen bepalen en (2) de manier waarop deze kennis in de praktijk door telers kan worden toegepast. Voor zowel de fundamenteel wetenschappelijke- als praktische aspecten worden op basis van literatuuronderzoek en een enquête onder praktijkgerichte onderzoekers de belangrijkste kennislacunes aangegeven en aanbevelingen gedaan voor onderzoek.

Summary

This report describes the results of a deskstudy on the current state of knowledge about plant-associate microbiomes and the possible practical implementation in sustainable cropping systems. Special attention is given to the role of plantmicrobiomes in establishing resilience of crops against abiotic and biotic stresses. For a thorough evaluation of the importance of plantmicrobiomes for resilience of crops, it is crucial to have comprehensive understanding of (1) factors that determine composition and functions of microbiomes associated with crop resilience and (2) the translation of the knowledge into practical application by growers. Based on screening of scientific literature and a questionnaire filled by applied researchers the most important knowledge gaps are indicated for both basic scientific- and applied aspects.

Verklarende Woordenlijst (Betekenis van termen zoals ze in dit rapport bedoeld zijn):

Antagonistisch: Onderdrukkend effect van micro-organismen op andere micro-organismen.

Assemblage: Totstandkoming van samenstelling van microbiomen.

Biostimulanten: Stoffen met een bioactieve component (chemisch, micro-organismen of combinatie) die efficiëntie van nutriënten gebruik en/of tolerantie tegen abiotische en biotische stress verhogen. (Definities kunnen strikter zijn, met name uitsluiting van biotische stress i.v.m registratie, zie De Long et al., 2021, <https://edepot.wur.nl/551140>)

Core plantmicrobioom: Deel van de microbiële soorten die altijd voorkomen bij een plantensoort en dus niet verdwijnen/verschijnen bij verschillende groeiomstandigheden.

Diversiteit: Soortenrijkdom

Endosfeer: Interne weefsels van plant waar micro-organismen groeien

Endofyten: Micro-organismen die in de interne delen van planten groeien.

Epifyten: Micro-organismen die op bovengrondse oppervlakken (blad, stengel) van planten groeien.

Functionele redundantie: Functies die door verschillende microbiële soorten kunnen worden vervuld.

Fyllosfeer: Bovengrondse plantoppervlakken waar micro-organismen groeien.

Hulpstoffen: Stoffen die microbiële inoculanten helpen te overleven of actief te zijn.

Geïnduceerde systemische resistentie (ISR): een fysiologische 'staat van versterkt afweer vermogen' van de gehele plant tegen diverse ziekteverwekkers en vraatinsecten.

Genomics: Onderzoek aan het totaal van microbiële genen, voornamelijk via DNA-analyse (sequencing) en bioinformatica.

Transcriptomics: Onderzoek naar de activiteit van genen (gen-expressie) voornamelijk via RNA-analyse (sequencing) en bioinformatica

Metabolomics: Onderzoek naar chemische stoffen (metabolieten) die door micro-organismen en planten geproduceerd worden. In dit rapport vooral gericht op metabolieten die betrokken zijn bij microbe-microbe interacties en plant-microbe interacties.

Microbiële inoculanten: Voorgekweekte micro-organismen die in bodem of op planten worden toegevoegd meestal in een product dat als biostimulant of gewasbeschermingsmiddel beschikbaar is voor telers.

Microbiologische middelen/ Microbiologische gewasbeschermingsmiddelen: Gewasbeschermingsmiddel waarvan het werkzame bestanddeel een micro-organisme is.

Mycoparasitaire schimmels: Schimmels die kunnen groeien op andere schimmels.

Plantmicrobioom: Het geheel van microbiële soorten en- functies die in rhizosfeer, fyllosfeer en endosfeer aanwezig zijn.

Rhizosfeer: Nauwe zone rond wortels met een hogere hoeveelheid micro-organismen dan in de bodem.

SynComs: Kunstmatige samengestelde microbiomen

Weerbare gewassen: Gewassen met een hoge tolerantie tegen abiotische en biotische stress. Maatregelen om weerbaarheid te verhogen zijn vooral preventief van karakter.

Inhoudsopgave

		Pagina
	Samenvatting	6
H1	Inleiding	
	1.1 Weerbare teelten en microbiomen	7
	1.2 Deskstudy	8
H2	Samenstelling van plantmicrobiomen	9
	2.1 Assemblage	9
	2.2 Kennislacunes I	15
H3	Functioneren van plantmicrobiomen	16
	3.1 Gunstige effecten van plantmicrobiomen	17
	3.2 Symbiotische plant-microbe relaties in een microbioom context	19
	3.3 Rol van microbiomen in plant verdediging	20
	3.4 Rol van microbiomen in tolerantie van planten tegen droogte	21
	3.5 Kennislacunes II	23
H4	Verbeteren van plantmicrobioom functies met behulp van microbiële inoculanten	24
	4.1 Selectie van micro-organismen voor inoculatie	25
	4.2 Uitdagingen bij toepassing van microbiële inoculanten in de praktijk	26
	4.3 Mogelijkheden om werkbaarheid van microbiële inoculanten te verbeteren	29
	4.4 Kennislacunes III	32
H5	Verbeteren plantmicrobioom functies: Beïnvloeden van natuurlijke microbiomen	33
	5.1 Beïnvloeden van microbiomen met organische stoffen	33
	5.2 Beïnvloeden van microbiomen met aanpassing waardplanten en gewasdiversificatie	35
	5.3 Kennislacunes	38
H6	Enquête praktijkgerichte onderzoekers	39
H7	Conclusies en aanbevelingen voor onderzoek	41
H8	Dankwoord	44
H9	Geraadpleegde literatuur	45

Samenvatting

Dit rapport is gebaseerd op een deskstudie uitgevoerd in juni-december 2022 met als doel de huidige staat van kennis te geven over samenstelling en werking van plantmicrobiomen en de implicatie daarvan voor toepassingen van micro-organismen om de weerbaarheid van gewassen te verhogen. Deze verkenning is gedaan op basis van recente wetenschappelijke artikelen, deelname aan relevante symposia en gesprekken met wetenschappers.

In het rapport komen zowel fundamentele als praktische aspecten van plantmicrobiomen aan de orde. De fundamentele aspecten betreffen samenstelling en functioneren van plantmicrobiomen. Deze kennis is essentieel om gunstige effecten van plantmicrobiomen in de praktijk te benutten. De vertaalslag naar de praktijk en de mogelijkheden om benutting van plantmicrobiomen te verbeteren worden bediscussieerd voor toediening van microbiële inoculanten en management-gestuurde stimulatie van gewenste microbiële functies in de natuurlijk voorkomende plantmicrobiomen. Voor al deze onderdelen zijn de belangrijke kennislacunes aangegeven.

Met een enquête hebben we de mening van praktijkgerichte onderzoekers gevraagd over hun kijk op het belang van plantmicrobiomen en de kennis die nodig is om benutting te verbeteren. De door ons gesignaleerde kennislacunes zijn hiermee vergeleken.

Duidelijk is dat veel van de kennislacunes verband houden met het algemene gevoel, zeker bij praktijkgerichte onderzoekers, dat er een kloof is tussen gecontroleerd microbiom onderzoek en de praktijk. Op basis van de conclusies die we uit alle verzamelde informatie hebben getrokken komen we tot de volgende aanbevelingen voor onderzoek:

Aanbeveling 1: Bij door LNV gefinancierde onderzoeksprojecten aan plantmicrobiomen moet de koppeling met de praktijk expliciet worden vormgegeven in de experimentele opzet en planning.

Aanbeveling 2: In nieuwe fundamentele onderzoeksprojecten over plantmicrobiomen is integratie van ecologische, moleculair biologische en chemische onderzoeksdisciplines cruciaal.

Aanbeveling 3: Kennis over ecologische processen en de regulatie van gunstige functies in het microbiom zijn belangrijk voor verbetering van de werking van geïntroduceerde microbiële inoculanten en van het al aanwezige (natuurlijke) microbiom in de praktijk.

Aanbeveling 4: Veldonderzoek naar de relatie tussen plantweerbaarheid, chemische samenstelling van organische meststoffen/bodemverbeteraars en plantmicrobiomen is nodig om een betere voorspelling van de te verwachten effecten te kunnen geven.

Aanbeveling 5: Veldonderzoek naar de relatie tussen plantweerbaarheid, chemische samenstelling van blad- en wortellexudaten en plantmicrobiomen is nodig om een betere voorspelling van de te verwachten effecten te kunnen geven.

Aanbeveling 6: Er moet meer onderzoek worden gedaan naar effecten van aangebrachte wijzigingen in het plantmicrobiom op het pathobioom en op vorming van toxische metaboliëten in de plant.

H1. Inleiding

1.1 Weerbare teelten en microbiomen

Intensivering van de landbouw is gepaard gegaan met het gebruik van grote hoeveelheden kunstmest en pesticiden om hoge opbrengsten te leveren en verliezen door ziekteverwekkers en plagen laag te houden. Dit heeft geleid tot ongewenste neveneffecten op het milieu zoals verminderde kwaliteit van grond- en oppervlaktewater en verlies aan biodiversiteit. Er wordt daarom veel aandacht gegeven aan ontwikkeling van managementpraktijken die duurzame landbouw bevorderen. De visie van het ministerie van LNV ten aanzien van duurzame gewasbescherming zoals aangegeven in de “Toekomst gewasbescherming 2030” is dat de land- en tuinbouw in Nederland in 2030 bestaat uit duurzame productie met weerbare planten en teeltsystemen. Om dit te verwezenlijken wordt ook gekeken naar de rol die microbiomen kunnen hebben op verhoging van weerbaarheid van gewassen tegen abiotische en biotische stressfactoren.

Het geheel van micro-organismen in een bepaalde omgeving en hun interacties wordt het microbioom genoemd. Hierbij dient ook het totaal aan microbiële genen en functies te worden inbegrepen, hoewel dat vaak nog niet het geval is in microbioom-onderzoek. Planten vormen een leefomgeving voor micro-organismen zowel aan de buitenkant (blad- en worteloppervlakken) als in de interne weefsels (endosfeer). Plant-geassocieerde microbiomen (hier verder aangeduid als plantmicrobiomen) kunnen een positieve invloed hebben op de groei en ontwikkeling van gewassen, door middel van verbetering van opname van minerale voedingsstoffen en weerbaarheid tegen abiotische (bijvoorbeeld droogte) en biotische (bijvoorbeeld pathogenen) stress factoren. Daarentegen kunnen ook schadelijke microben deel uitmaken van plantmicrobiomen.

In de bodem is de invloed van plantmicrobiomen vooral merkbaar in de rhizosfeer, een nauwe zone rondom wortels. Door organische verbindingen in de rhizosfeer af te scheiden (via wortellexudaten), stimuleren planten de groei van een deel van de in de bodem aanwezige microben. Planten kunnen via de samenstelling van wortellexudaten een selectieve invloed hebben op de aantallen en soorten microben die de rhizosfeer gaan koloniseren. Dit geselecteerde rhizosfeer-microbioom kan gunstige effecten hebben op de groei, voeding en weerbaarheid van gewassen in agro-ecosystemen. Veel microbiële soorten kunnen hieraan bijdragen, en interacties tussen microben onderling en tussen microben en plantenwortels spelen een belangrijke rol bij het uiteindelijke effect op de plant. Gunstige effecten van micro-organismen kunnen worden veroorzaakt door directe activiteiten, waaronder verhoging van de beschikbaarheid van minerale voedingsstoffen door mycorrhiza schimmels en bescherming van plantenwortel tegen pathogene infecties door de productie van metabolieten met antimicrobiële activiteit. De voordelen voor de plant kunnen ook indirect zijn, bijvoorbeeld door microbiële stimulatie van de algehele weerbaarheid van een plant tegen stress. Hoewel het belang van het microbioom in de rhizosfeer voor de plant algemeen wordt erkend, is er over de mechanismen van deze gunstige effecten van microbiomen op planten nog veel onbekend. Om een goede inschatting te kunnen geven van de mogelijkheden die microbiomen bieden om de weerbaarheid van gewassen te verhogen is het essentieel een goed begrip te hebben van (1) de factoren die weerbaarheid-gerelateerde samenstelling en functies van microbiomen bepalen en (2) de manier waarop deze kennis in de praktijk door telers kan worden toegepast.

Met de in dit rapport beschreven deskstudie komen deze aspecten aan de orde. Achtereenvolgens gaan we in i) op de factoren die de samenstelling van soorten (assemblage) van plantmicrobiomen beïnvloeden, ii) op microbiom functies die plantprestaties beïnvloeden en iii) op mogelijkheden om gunstige effecten van microbiomen voor weerbaarheid van gewassen in de praktijk te bevorderen. Bij elk van deze elementen geven we aan welke lacunes er zijn in onze huidige kennis.

1.2 Deskstudie

De voor de deskstudie gebruikte bronnen zijn wetenschappelijke artikelen en rapporten, symposium presentaties (Micrope 2022, Wenen; Plant-Microbe Interactions 2022, Kopenhagen) en gesprekken met plantmicrobioom-onderzoekers. De geraadpleegde bronnen worden aan het eind van het rapport vermeld. Bij de kennislacunes, figuren en tabellen wordt ook een directe verwijzing naar de bronnen gegeven. We gaan in op recente ontwikkelingen in het onderzoek aan microbiomen van rhizosfeer, endosfeer en fyllosfeer (bladoppervlak). We zoomen in op de belangrijkste factoren die van invloed zijn op de assemblage en het functioneren van deze microbiomen en de relatie met groei en weerbaarheid van gewassen. Vervolgens gaan we dieper in op de mogelijkheden om de samenstelling van microbiomen ten gunste van de plant te veranderen, met name het gebruik van microbiële inocula en het selectief stimuleren van al aanwezige gunstige micro-organismen. Tot slot hebben we onze bevindingen vergeleken met meningen van onderzoekers die zich met praktijkgericht onderzoek bezighouden. In het afsluitende hoofdstuk trekken we onze voornaamste conclusies en geven aanbevelingen voor prioriteiten in onderzoek aan plantmicrobiomen.

H2. Samenstelling van plantmicrobiomen

2.1. Assemblage

Plantmicrobiomen kunnen een grote verscheidenheid aan microbiële soorten herbergen. De samenstelling van plantmicrobiomen kan een sterk effect hebben op het functioneren en dus ook op de bijdrage aan weerbaarheid van gewassen. Toch kan het functioneren van plantmicrobiomen slechts voor een deel begrepen worden op basis van samenstelling omdat veel soorten eenzelfde functie kunnen leveren (functionele redundantie) en omdat interacties tussen soorten het uitvoeren van functies kan beïnvloeden. Ook voor de bijdrage aan weerbaarheid van gewassen kan de samenstelling van plantmicrobiomen slechts gedeeltelijk een verklaring geven. Maar omdat verreweg het meeste onderzoek aan plantmicrobiomen gebaseerd is op soortensamenstelling, vormt dit wel een belangrijke basis voor de kennis over de relatie tussen microbiomen en plantweerbaarheid. Dit taxonomische aspect van microbiomen is het onderwerp van dit hoofdstuk; het functionele aspect wordt verder uitgewerkt in **H3**.

High-throughput DNA-sequencing technieken hebben de kennis over de samenstelling van micro-organismen die zich nabij, in en op planten bevinden aanzienlijk vergroot. Dit heeft nieuwe inzichten opgeleverd over de factoren die de samenstelling van microbiomen voor verschillende plantcompartimenten bepalen. De fyllosfeer verwijst naar de bovengrondse delen van de planten, met name het blad. Ondergrondse delen van de plant omvat de rhizosfeer (dun laagje grond in de nabije omgeving van wortel), en het worteloppervlak (rhizoplane). Daarnaast is de endosfeer, het weefsel in de plant, een belangrijk reservoir voor pathogenen en nuttige micro-organismen (endofyten), zowel boven- als ondergronds. (**Figuur 1**).

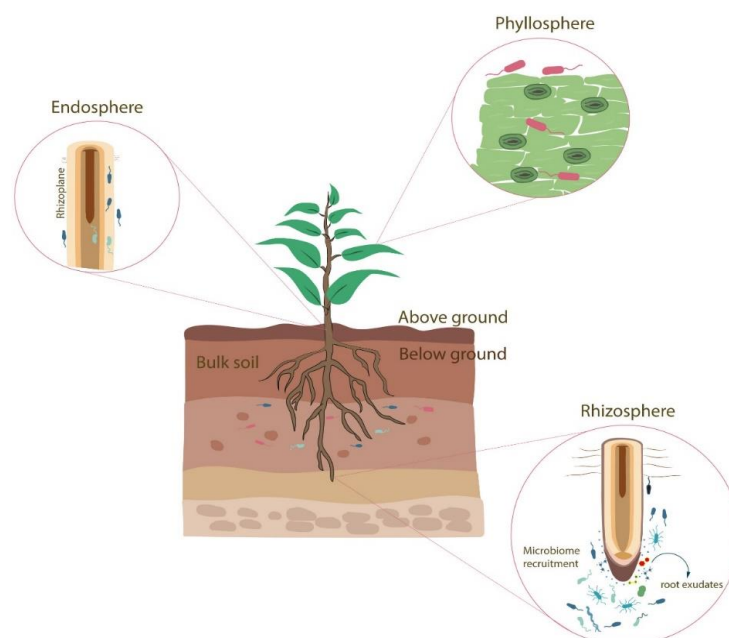


Figure 1. Microbiome composition varies depending on the plant compartment. The above-ground surface compartment is known as the phyllosphere, which most commonly refers to the leaf surface. The below-ground compartments are the rhizosphere and rhizoplane. Microbes can also reside within intercellular spaces (endosphere), either in above- or below-ground tissues as endophytes. The host genetics and environmental factors can shape distinct microbiome structures in the plant compartments (illustration from Hacquard et al., 2017).

De samenstelling van het microbioom varieert aanzienlijk tussen de rhizosfeer, endosfeer en de fyllosfeer, wat aangeeft dat het plantencompartiment een selectieve druk uitoefent op microbiële soorten. Over het algemeen neemt het aantal soorten in microbiomen af van grond naar wortel, fyllosfeer en endosfeer. Het aandeel (relatieve abundantie of procentueel aandeel) van de belangrijkste bacteriële groepen (fyla) in microbiomen zijn vergelijkbaar in grond en rhizosfeer, met een toename in de rhizosfeer van bacteriën die behoren tot het fyllum Proteobacteria (**Figuur 2**). In de endosfeer is het microbioom vaak verrijkt met bacteriën behorende tot de Proteobacteria en Firmicutes en in mindere mate met Bacteroidetes. Het fyllosfeer-microbiom bestaat voornamelijk uit bacteriën die behoren tot fyla Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes en Actinobacteria, waarvan Proteobacteria ~ 50% van de gemeenschap kunnen uitmaken (**Figuur 2**). De enorme diversiteit aan schimmels die zowel boven- als ondergrondse plantendelen koloniseren, wordt vooral bepaald door de fyla Ascomycota en Basidiomycota met daarnaast de aanwezigheid van de subfyla Mucoromycotina en Glomeromycota (**Figuur 2**).

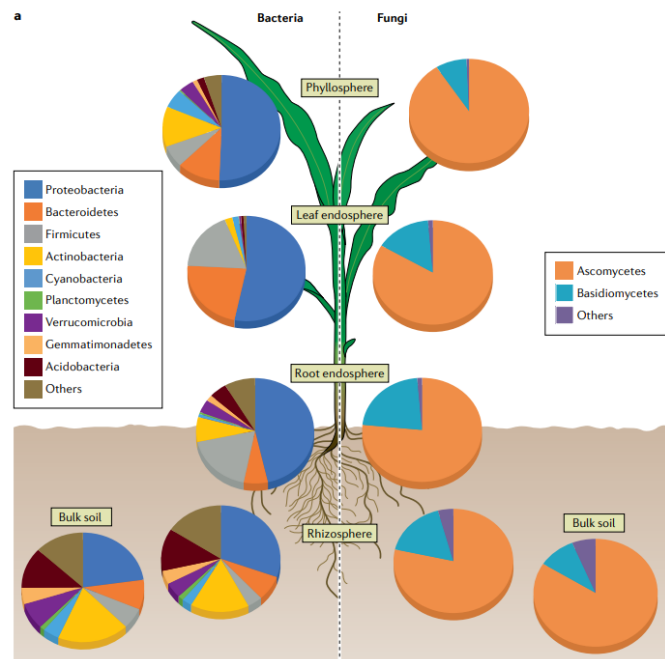


Figure 2. General structure of the bacterial and fungal communities from various plant-associated niches (in a single study). Microbiome composition varies depending on the plant compartment. Pie charts show averages of the relative abundances (% of total) of the major bacterial (left) and fungal (right) phyla that are detected in the bulk soil, rhizosphere, root, endosphere, leaf endosphere and phyllosphere of various plant species (sugarcane, grapes, cactus species and Agave species). Abundances were estimated by 16S rRNA for bacteria and ITS for fungi (illustration from Trivedi et al., 2020).

De samenstelling van bovengrondse microbiomen is meer variabel dan die van ondergrondse microbiomen vanwege blootstelling aan diverse factoren en sterk fluctuerende weersomstandigheden. Microbiële kolonisatie van de fyllosfeer verloopt via aërosolen, insecten, stuifmeel en/of migratie vanuit andere plantencompartimenten. Het bodemreservoir kan echter ook bijdragen

aan bovengrondse microben, bijvoorbeeld via spatten na regenval of via transportweefsel (xyleem) in de plant. Factoren, zoals omgeving, interactie tussen micro-organismen (concurrentie, samenwerking) en tussen plant en micro-organismen, hebben effect op de opbouw en ruimtelijke en temporele dynamiek van plantmicrobiomen. Een belangrijk onderzoeksresultaat is dat plantmicrobiomen geen willekeurige verzamelingen van micro-organismen zijn, maar via “assembly-rules” worden samengesteld. Deze assemblage regels worden bepaald door plant, micro-organismen en omgeving en interacties daartussen. De invloed van deze 3 factoren wordt hieronder nader uitgewerkt.

Invloed van de genetica van de plant

Het plant-genotype (plantensoort, cultivar), samen met het ontwikkelingsstadium (kiemplant, vegetatief, bloeiend) en externe omgevingsomstandigheden, zijn belangrijke factoren die de samenstelling van het microbiom bepalen. Die samenstelling kan zeer dynamisch zijn in vroeg vegetatieve fases en stabiliseert tijdens de bloei en zaadontwikkeling. Een klein deel van de microbiële taxa die tot het zogenaamde “core microbiom” behoren, is echter continu vertegenwoordigd tijdens de ontwikkeling van de plant. Genome-wide association studies (GWAS) hebben aangetoond dat verschillen in de samenstelling van microbiomen tussen verschillende plantensoorten gerelateerd zijn aan verschillen in planten-genomen, en veel van deze “erfelijke taxa” behoren tot het “core microbiom”. Dit wijst op een positieve terugkoppeling van plantensoorten met microbiomen over evolutionaire tijdschalen. Er zijn verschillende plantengenen (op basis van QTL analyses) geïdentificeerd die gecorreleerd zijn met variatie in de samenstelling van microbiële soorten en microbiële functionele genen in rhizosfeer en fylosfeer. Veel van deze plantengenen zijn betrokken bij stress-aanpassingen of morfologische en fysiologische kenmerken. Deze genetische effecten van planten op microbiom samenstelling is uitgebreid onderzocht voor de fylosfeer-microbiomen van Arabidopsis, tabak en maïs. Dat onderzoek laat zien dat allelvariatie in bepaalde plantengenen het aandeel van specifieke microbiële soorten in het “core microbiom” beïnvloedt. Een interessant aspect van plant genetica voor toepassing in de landbouw zijn de verschillen in microbiom samenstelling die worden gevonden tussen gewassen en hun wilde verwanten. Mogelijk zijn tijdens domesticatie en veredeling op opbrengst bepaalde interacties tussen plant en microbiomen verloren gegaan die van belang zijn voor weerbaarheid tegen biotische en abiotische stress factoren (zie H3).

Invloed van morfologische en chemische planteneigenschappen

Plantengenetica ligt aan de basis van morfologische kenmerken, waaronder wortelarchitectuur, groei- en exudatiepatronen, die op hun beurt een aanzienlijke invloed kunnen hebben op de samenstelling en functionaliteit van microbiomen. Het wortelfenotype regelt de opname van water en nutriënten, evenals het transport van fytohormonen en signaalmoleculen. Dit heeft invloed op de bladfysiologie en daarmee ook op de samenstelling van endofytische en epifytische microbiomen in en op bovengrondse plantendelen. Daarnaast zijn andere plantkenmerken zoals bladmassa per oppervlakte, ligninegehalte en bladstikstof- en fosforconcentraties gecorreleerd met de microbiom structuur op en in bladeren.

Involed van het plant immuunsysteem

Het samenspel tussen het microbiom, afweermechanismen (bijvoorbeeld celwand en cuticula, toxische stoffen) en aaneengeschakelde bewakingssystemen voor de detectie van ziekteverwekkers en plaaginsecten (waarbij patroonherkenningsreceptoren (PRR's) en hormonen betrokken zijn) speelt een cruciale rol bij de kolonisatie van de endosfeer door micro-organismen. Het immuunsysteem van de plant kan zgn. micro-organisme-geassocieerde moleculaire patronen (MAMP's) herkennen, zoals flagelline, lipopolysacchariden, chitine en "elongation factors" (betrokken bij eiwitsynthese). Het waarnemen van dergelijke moleculen kan een fysiologische reactie activeren die hechting en biofilmvorming van bepaalde microbiële soorten bevordert. Microbiële genen die betrokken zijn bij motiliteit, chemotaxis, adhesie en biofilm productie dragen verder bij aan kolonisatie van oppervlakken en van de endosfeer (**Figuur 3**).

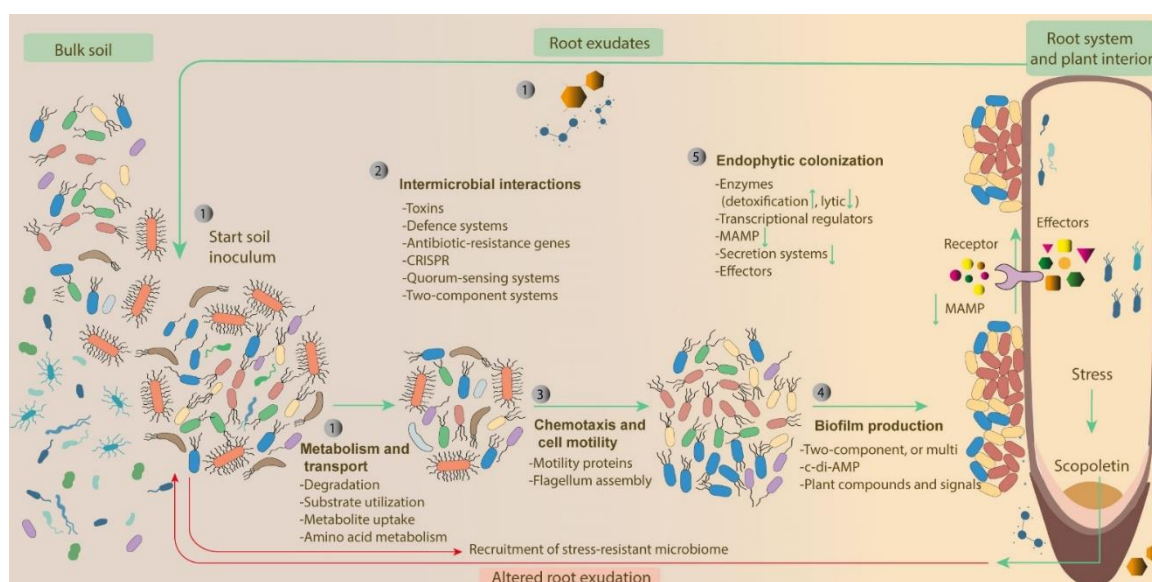


Figure 3. Microbial-mediated processes, pathways and proteins that are related to colonization of surface and interior of roots (metabolism and transport; intermicrobial interactions; chemotaxis and cell motility; biofilm production; and effector-mediated colonization and stress responses) are shown (illustration adapted from Trivedi et al., 2020).

Het binnendringen in plantenweefsels wordt vergemakkelijkt door de productie van lytische enzymen die de plantencelwand deels afbreken. Gunstige of onschadelijke endofyten lijken lagere hoeveelheden van lytische enzymen produceren in vergelijking met pathogenen, waardoor wordt voorkomen dat de immunrespons van de plant wordt geactiveerd. Daarnaast is effector-gemedieerde kolonisatie van de endosfeer gerapporteerd voor *Rhizobium* bacteriën en mycorrhiza-schimmels. De kolonisatie door deze symbiotische micro-organismen kan het immuunsysteem van de plant versterken en daarmee de weerstand tegen ziekteverwekkers bevorderen.

Invloed van wortellexudaten

Bodem micro-organismen reageren op het vrijkomen van wortellexudaten (bijvoorbeeld organische zuren, suikers en secundaire metabolieten). Verschillen in samenstelling van wortellexudaten tussen plantensoorten en zelfs cultivars van dezelfde plantensoort kan een basis vormen voor selectieve aantrekking van microbiële soorten die kunnen voorzien in de behoeften van de gastheerplant. De samenstelling van de wortellexudaten verschilt niet alleen tussen plantensoorten maar wordt ook beïnvloed door het groeistadium, stressomstandigheden, nutriëntenbeschikbaarheid en bodemeigenschappen. Vergelijkende genomics en metabolomics analyses voor verschillende plantensoorten laten zien dat het verloop van samenstelling van exudaten samen gaat met veranderingen in microbioom samenstelling in de rhizosfeer.

Invloed abiotische stress

Planten kunnen "om hulp roepen" om een "stress-microbioom" te rekruteren dat de gevolgen van abiotische stress bij planten verlicht. Bijvoorbeeld de aantrekking van arbusculaire mycorrhiza-schimmels (AM) bij gebrek aan fosfaat of van stikstofbindende rhizobia bij te kort aan stikstof. Onder fosfaat-beperkte groeicondities verhoogt de plant de productie van strigolactonen om AM-infectie en het ontstaan van symbiose te bevorderen. De fosfaat uithongeringsreactie (PSR) van planten heeft daarnaast ook invloed op de samenstelling van het microbioom in de rhizosfeer van niet-mycorrhiza planten zoals *Arabidopsis*. Het PSR-regulerende netwerk van planten omvat genen die betrokken zijn bij de productie van antimicrobiële secundaire metabolieten, zoals glucosinolaten en organische zuren die verantwoordelijk zijn voor selectieve verrijking van microbiële groepen in rhizosfeer en endosfeer. Plantensoorten hebben echter verschillende microbiële associaties ontwikkeld bij lage fosfaat beschikbaarheid, wat wijst op een specifieke controle van de opbouw van een "stress-tolerant microbioom". Ook ijzergebrek veroorzaakt een gewijzigde productie van wortellexudaten welke wordt geïnduceerd door bepaalde wortel-koloniserende bacteriën. Dit resulteert in de afscheiding door planten van scopoletine dat niet alleen de ijzermobilisatie en opname door wortels stimuleert, maar ook antimicrobiële activiteiten heeft tegen ziekteverwekkers. Recent werk heeft verder aangetoond dat door droogte veroorzaakte verschuivingen in de samenstelling van plantmicrobiomen gecorreleerd zijn met droogte tolerantie van planten. Over het algemeen leidt droogte tot een verminderde microbiële diversiteit in het rhizosfeer-microbioom met een hoger aandeel van Gram-positieve bacteriën (d.w.z. Actinobacteria, Firmicutes) die een andere celwandstructuur hebben en daarmee beter bestand zijn tegen droogte.

Invloed biotische stress

Ziekte van gewassen gaat vaak samen met verschuivingen in microbioom samenstelling in verschillende plantencompartimenten. Significante relaties tussen de samenstelling van het aanwezige microbioom en ziekte-intensiteit geven aan dat de samenstelling van plantmicrobiomen de ziektedruk kan versterken of verzwakken (zie **Sectie 3**). Over het algemeen veroorzaakt infectie door pathogenen een afname in de diversiteit van niet-pathogene bacteriën wat de kans op invasies door secundaire pathogenen kan vergroten, aangezien minder diverse microbiële ge-

meenschappen vaak minder weerstand bieden aan invasieve soorten. Ook ondergrondse en bovengrondse vraatinsecten kunnen de samenstelling van plantmicrobiomen ondergronds beïnvloeden door veranderingen in de samenstelling van wortellexudaten.

Invloed agrarisch beheer

Veranderingen in de microbiële samenstelling in de bodem die worden veroorzaakt door agrarische activiteiten, zoals bemesting, grondbewerking en gebruik van pesticiden, beïnvloeden ook de samenstelling van plantmicrobiomen. Intensivering van de landbouw vermindert de netwerkconnectiviteit (zie **H3**) wat een negatief effect kan hebben op weerbaarheid tegen omgevingsstress. Met name belangrijke schimmelgroepen zoals saprotrofen (afbrekers van organisch materiaal) en mycorrhizas zijn qua aantallen en/of diversiteit vaak ondervertegenwoordigd in intensief bewerkte landbouwbodems. Door de vermindering van interacties met andere bodemorganismen en planten heeft dit invloed op het bodem voedselweb (minder complex) en factoren die samenstelling van microbiomen kunnen beïnvloeden (minder bacterie – schimmel interacties) (zie **H5**).

2.2 Kennislacunes I

De samenstelling van soorten in plantmicrobiomen kan slechts voor een deel een verklaring geven voor plant-ondersteunende functies waarmee weerbaarheid wordt gestimuleerd. Toch kan (abundante) aanwezigheid van bepaalde soorten/groepen van micro-organismen hiervoor wel een aanwijzing geven. Daarom is verder begrip van de factoren die samenstelling van soorten in plantmicrobiomen bepalen nodig om gericht stimuleren in de praktijk via gewaskeuze of teeltmaatregelen mogelijk te maken. Een aantal aspecten waar meer kennis voor nodig is, zijn hier aangegeven.

- Studies die aangeven welke plantgenen betrokken zijn bij de samenstelling van het rhizosfeer- en endosfeermicrobioom zijn vooral gedaan onder gecontroleerde omstandigheden en met één bodem. Het is niet bekend of het effect van deze genen ook consistent is bij fluctuerende fysisch-chemische bodemomstandigheden (bijvoorbeeld vochtgehalte) en in verschillende bodemtypes (de Faria et al., 2021; Hartman et al., 2018; Trivedi et al., 2020).
- Functies van plantgenen die correleren met microbioom assemblage zijn meestal nog niet gevalideerd. (Arif et al., 2020; de Faria et al., 2021; Hacquard et al., 2017).
- Er is nog maar weinig bekend over de rol die plant signaal-stoffen spelen bij selectieve aantrekking van microbiële soorten in de rhizosfeer (Eichman et al., 2021; Rodriguez et al., 2019; Trivedi et al., 2020).
- Er is weinig bekend over de rol van virussen en micro-predatoren (protisten en nematoden) op de samenstelling van plantmicrobiomen (Debray et al., 2022; Gao et al., 2019; Rossmann et al., 2020)
- Kennis over effecten van teeltmaatregelen op samenstelling van plantmicrobiomen is nog beperkt (de Faria et al., 2021; Hartman et al., 2018)

H3. Functioneren van plantmicrobiomen

Zoals aangegeven in **H2** geeft de samenstelling van microbiomen op basis van soorten een beperkt inzicht in het functioneren en dus ook in de relatie met plantweerbaarheid. Informatie over functionele eigenschappen van plantmicrobiomen is daarom een belangrijke aanvulling, omdat het voor effecten op planten interessanter is om te weten 'wat micro-organismen doen (of kunnen doen)' dan 'wie ze zijn'. Het meeste onderzoek naar plantmicrobiomen in veldsituaties is echter nog steeds vooral gericht op de taxonomische structuur van microbiomen en niet op de functionele eigenschappen. Toch zijn er sterke aanwijzingen dat planten kunnen selecteren op eigenschappen in plaats van op taxonomie, aangezien veel functies in het microbiom door verschillende microbiële soorten kunnen worden uitgevoerd (functionele redundantie). In **Tabel 1** worden een aantal belangrijke microbiom-gerelateerde functies voor de plant beschreven.

Table 1. Examples of microbial functional traits (genotypic or phenotypical) important to processes in agroecosystems (Krause et al., 2022).

Component	Microbial mechanism	Simple and integrative traits	Trait category	Plant benefit	Reference
Plant nutrient acquisition	N ₂ fixation	Nitrogenase, Fe protein (<i>NifH</i> gene)	Genome	Nitrogen (N) is an important component of Rubisco and determines the maximum photosynthetic rate	Escalas et al. (2019), Ormeño-Orrillo et al. (2013)
	Phosphorous (P) uptake	Root-to-hyphae ratio; root-to-hyphae distance	Phenotype	Increase efficiency of nutrient uptake by plants through mycorrhizal fungi	Smith et al. (2009)
	P uptake	Phosphatases (<i>PhoD</i> and <i>PhoX</i>)	Genome	Hydrolyze organic P to orthophosphate, which makes phosphorous available to plants	Neal et al. (2017), Rodríguez and Fraga (1999)
Soil fertility	Soil organic carbon sequestration	Microbial carbon use efficiency (CUE)	Indicator	Higher nitrogen availability under fertilization improves CUE thereby stabilizing carbon storage and losses to the soil	Kallenbach et al. (2019), Poeplau et al. (2019)
Soil fertility	Decomposition, recalcitrant carbon deposition, N and P transformations	Variety of functional genes	Genome	Plant nutrition	Treseder and Lennon (2015)
Plant growth, pathogenicity	Phytohormone production, Indole-3-acetic acid (IAA)	Indolepyruvate decarboxylase (<i>IpdC</i>), Tryptophan monooxygenase (<i>IaaM</i>), Phenylacetaldoxime dehydratase (<i>Oxd</i>) and Nitrile hydratase (<i>Nhd1</i>)	Genome	Modulating plant growth and development; but can also facilitate phytopathogenicity	Duca et al. (2014)
Plant growth	Volatile production	Dimethyl trisulfides	Indicator	increase in shoot weight at 1 μM and negative effects on plant biomass at concentrations >1 mM	Cordovez et al. (2018)
Plant defense	Stress protection (e.g., salt, drought, plant pathogen)	1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (<i>AcdS</i>)	Genome	Synthesis of enzymes such as ACC deaminase that modulate the level of plant hormones	Singh et al. (2015)
Plant defense	N-acyl homoserine lactone (AHL) degradation	AHL lactonase (e.g., <i>aiiA</i>), AHL acylase (e.g., <i>aiiD</i>)	Genome	Can interfere with pathogen-pathogen communication and prevent virulence gene expression	Kalia et al. (2011)
Plant defense	Soil suppression	Chitinase genes, nonribosomal peptide synthetases (NRPSs) and polyketide synthases (PKSs)	Genome	Suppressed fungal root disease	Carrión et al. (2019)
Plant toxicity	Mercury (Hg) methylation	Corrin and ferro-reduced protein (<i>hgcAB</i> genes)	Genomic	Transformation of inorganic Hg to methylmercury under anaerobic conditions (with accumulation in crops)	Wu et al. (2020), Zhao et al. (2020)

Beter inzicht in het potentieel aan functies in microbiomen kan belangrijke informatie opleveren over de mogelijke mechanismen die plantmicrobiom-interacties aansturen. Deze informatie is van belang om te begrijpen hoe plant-ondersteunende functies in microbiomen tot stand komen

en hoe dat kan worden gemodelleerd en aangestuurd. Het aantonen van koppelingen tussen plantfenotypes en functies van het microbioom door middel van “Genome-Wide Association Studies” kan plantengenen identificeren die verantwoordelijk zijn voor de associatie van planten met microbiomen die gunstige functies uitvoeren. De huidige beschikbare methoden voor het bestuderen van microbiomen, de zogenaamde multi-omics, variëren van “high-throughput” isolatie (culture-omics) en visualisatie (microscopie), tot analyses van taxonomische samenstelling (metabarcoding taxonomische marker genen), metabolisch potentieel (metabarcoding van functionele genen, metagenomics) en functionele microbiële activiteit (metatranscriptomics, metaproteomics, metabolomics) (**Figuur 4**). Deze gegevens moeten worden aangevuld met chemische identificatie van metabolieten die betrokken zijn bij interacties tussen micro-organismen in het microbioom en tussen micro-organismen en planten. Op basis van de verzamelde data kunnen modellen worden ontwikkeld waarmee het functioneren van plantmicrobiom-interacties beter kan worden begrepen en daarmee ook beter kan worden aangestuurd.

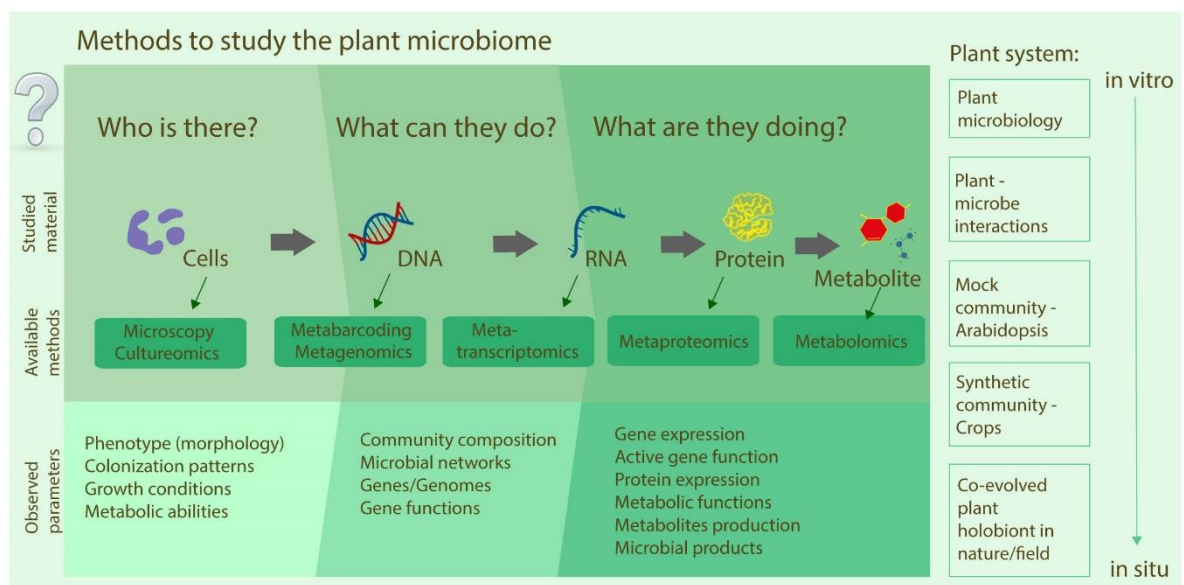


Figure 4. Methods for plant microbiome analyses and modes of action at different levels and in different systems (illustration adapted from Köhl & Ravensberg., 2021).

3.1 Gunstige effecten van plantmicrobiomen

Plantmicrobiomen kunnen fitness voordelen voor de plant bieden via directe en indirecte mechanismen. Bekende voordelen zijn groeibevordering (**Figuur 5 (2)-blauw**), stresscontrole (**Figuur 5 (2)-groen**) en afweer tegen ziekteverwekkers en plagen (**Figuur 5 (2)-rood**). Microbiom-gestuurde voordelen kunnen worden geïnitieerd in elk deel van een plant en kunnen worden overgedragen naar andere delen van de plant via intern transport van effectieve stoffen of signalen (in **Figuur 5** weergegeven als **blauw, groen en rood gestippelde pijlen**). Directe effecten met betrekking tot voorziening in minerale voedingsstoffen voor de plant zijn onder andere stikstofbinding, het ontsluiten van minerale voedingsstoffen uit bodem organische stof en het verbeteren van het vermogen van planten om voedingsstoffen uit de bodem op te nemen. Andere directe effecten zijn het stimuleren van plantengroei via stressverlichting, bijvoorbeeld door verhoging van aminocyclopropan-1-carboxylaat (ACC) deaminase-expressie, en de productie van plantenhormonen, detoxificerende enzymen en osmoprotectanten. Een voorbeeld van een indi-

rect voordeel is het induceren van systemische resistentie in planten. Zowel bij directe als indirecte effecten op planten zijn interacties in het microbiom van belang om het evenwicht tussen verschillende leden van de microbiële gemeenschap ten gunste van nuttige micro-organismen te behouden (**Figure 5 geel**). Rhizosfeer microbiomen kunnen plantengroei stimuleren door fytohormonen te produceren, waaronder auxines, gibberellines, cytokinines. Auxines kunnen transcriptie induceren van het ACC-synthase dat de vorming van ACC katalyseert. ACC, de directe voorloper van ethyleen, wordt door bacteriën omgezet via het enzym ACC-deaminase, waarbij abiotische stress wordt verminderd. Verschillende soorten in plantmicrobiomen kunnen enzymen produceren die zuurstofradicalen onschadelijk maken waardoor oxidatieve stress in planten wordt verlaagd. Plantmicrobiomen kunnen ook een bijdrage leveren aan de bescherming van planten tegen ziekteverwekkers door de productie van antibiotica, lytische enzymen, vluchtige stoffen en sideroforen. Microbiële structuren - zoals secretiesystemen, flagella en pili - dragen samen met eiwitten zoals effector-eiwitten indirect bij aan de afweer van de plant door een geïnduceerde systemische weerstandsreactie op gang te brengen.

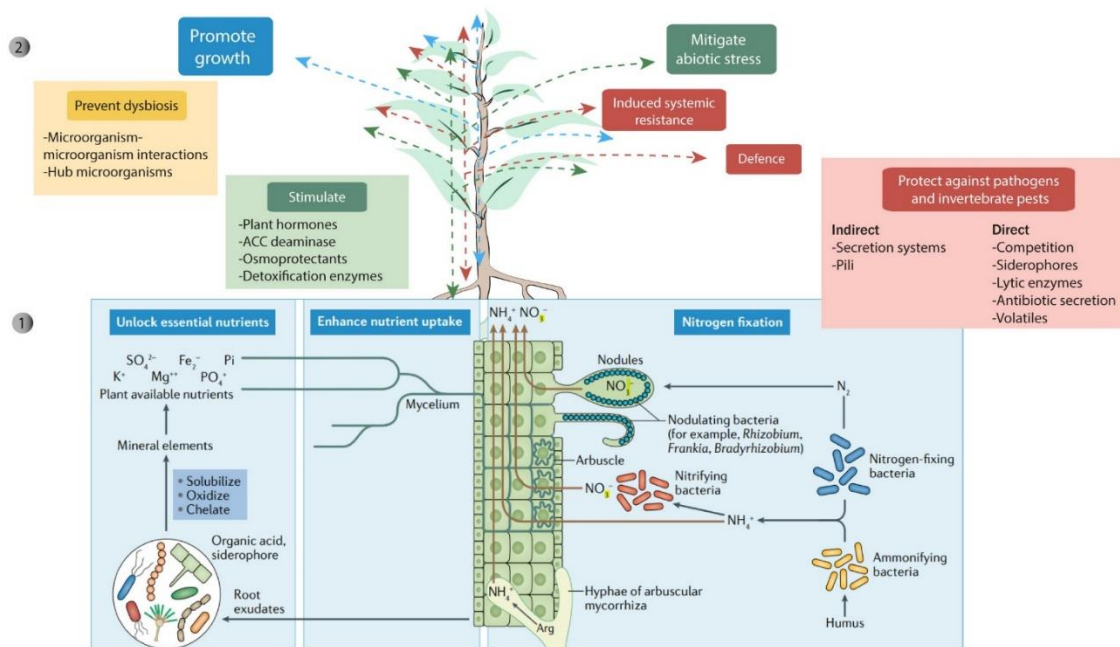


Figure 5. Beneficial effects of the plant-associated microbiome (illustration adapted from Trivedi et al., 2020).

Er wordt veel aandacht besteed aan structuren van interacties in microbiomen en het belang daarvan voor het functioneren van microbiomen (**Figuur 6**). Met name de centrale rol (hubs, connectors) die bepaalde microbiële soorten daarin hebben is een onderwerp waar veel onderzoek aan gedaan wordt. Zo zouden hub-microben belangrijk zijn om signalen van de plant te induceren en daarmee de opbouw van een voor de plant gunstig microbiom te bevorderen. Hierbij moet wel worden aangetekend dat de netwerken die tot dusver geconstrueerd zijn, vooral taxonomisch zijn en gebaseerd op correlaties tussen soorten met betrekking tot aanwezigheid/afwezigheid of procentueel aandeel in het microbiom.

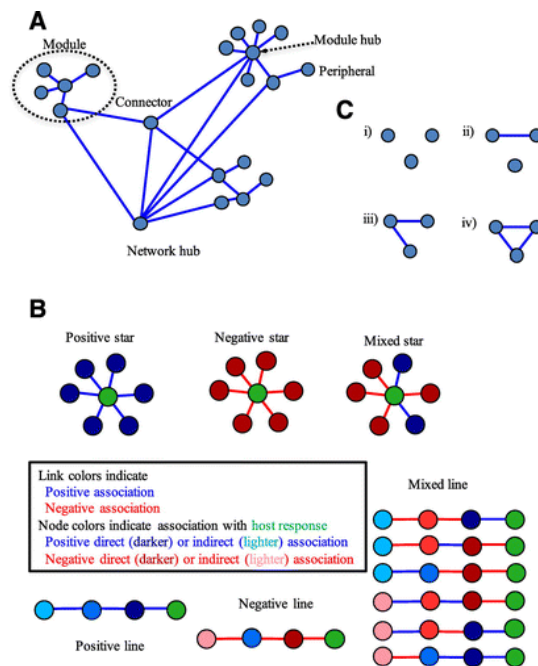


Figure 6. Illustration of potential network structures and interpretations. A, A network with links that represent positive associations, illustrating nodes that can be classified as a peripheral, a modular hub, a connector, and a network hub. B, Network motifs that may be observed in plant-focused network analyses, and the candidate taxa identified in them. Green nodes represent a desirable plant response variable, blue nodes indicate microbial taxa with positive direct or indirect associations with the plant response, and red nodes indicate microbial taxa with negative direct or indirect associations with the plant response. The darkest shaded blue or red nodes indicate direct associations with the plant response (“first degree association”), while lighter shaded blue or red nodes indicate indirect associations with the plant response (“second degree or third degree associations”). (Note that if, instead of desirable host responses, the green nodes were to represent an undesirable response such as pathogen frequency, then the candidate taxa would be those with a negative association that are red). (Poudel, et al. 2016)

3.2 Symbiotische plant-microbe relaties in een microbiom context

Voor de landbouw zijn fixatie van atmosferische stikstof in vlinderbloemigen via *Rhizobium* bacteriën en fosfaat-opname van gewassen met behulp van arbusculaire mycorrhiza schimmels (AM) belangrijke processen die bij kunnen dragen aan duurzame gewassenteelt. Vlinderbloemigen (peulvruchten) voorzien rhizobia van energie (afbreekbare koolstof-verbindingen) en een beschermde, anaërobe omgeving (in wortelknobbeltjes) die nodig is voor nitrogenase-activiteit. De door rhizobia gefixeerde stikstof wordt door de plant gebruikt voor groei. Naast rhizobia zijn er ook vrijlevende bacteriën die stikstof kunnen fixeren bijvoorbeeld in de genera *Azoarcus*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Azotobacter* en *Azospirillum*. In principe zouden deze bacteriën ook niet-vlinderbloemigen van stikstof kunnen voorzien. Een bekend voorbeeld is het belang van endofytische *Herbaspirillum* soorten voor de stikstof voorziening van suikerriet. Toch is de ontwikkeling van strategieën om vrije stikstofbinders te laten bijdragen aan stikstof voorziening voor gewassen nog steeds heel beperkt.

Arbusculaire mycorrhiza-schimmels kunnen de beschikbaarheid van fosfaat voor planten verbeteren door fosfaat vrij te maken uit bodemfracties die niet toegankelijk zijn voor plantenwortels, gevolgd door transport van fosfaat via het mycelium naar de wortel en overdracht naar de plant in gespecialiseerde structuren (arbuscules) in de wortel-endosfeer.

De aanwezigheid van AM-schimmeldraden en mycorrhiza-bevattende wortels heeft effect op andere bodemmicroben en kan daarmee ook de beschikbaarheid van voedingsstoffen voor planten beïnvloeden. Zo hebben recente studies aangetoond dat de associaties van AMF met fosfaat-oplossende bacteriën (PSB) een rol kunnen spelen bij het beschikbaar maken van fosfaat voor planten. Een verhoogde expressie van genen betrokken bij fosfaat transport kan hier een rol bij spelen. Bacteriële kolonisatie van wortels door bacteriën uit de familie Oxalobacteraceae, Bacillaceae en Streptomycetaceae wordt gestimuleerd na infectie van de wortels met AM. Dit kan bijdragen aan onderdrukking van pathogenen.

Bodem-microbiomen kunnen echter ook een negatief effect hebben op groei en activiteit van AM. Dit kan het gevolg zijn van productie van schimmelgroei-remmende stoffen of van het voorkomen van mycofage (schimmel-etende) bacteriën. De verschillende effecten die AM in het microbiom kunnen ondergaan of uitoefenen suggereren dat het belang van AM voor groei en weerbaarheid van gewassen sterk kan worden beïnvloed door de samenstelling van het bodem- en rhizosfeer-microbiom.

3.3 Rol van microbiomen in plant verdediging

Het belang van micro-organismen voor de stimulatie van natuurlijke afweer van gewassen tegen bodemziektes komt het duidelijkst tot uiting in ziekte-onderdrukkende bodems. Het is niet duidelijk in hoeverre samenstelling van microbiomen gebruikt kan worden om ziekte-onderdrukking te voorspellen. Volgens een recente modeleringsstudie kan het aandeel van bacteriële fyta Actinobacteria en Firmicutes in bodemmicrobiomen worden gebruikt als voorspellende indicator voor *Fusarium* onderdrukkende bodems. Andere microbiom analyses van ziekte-onderdrukkende bodems geven aan dat geen enkel fyllum consistent geassocieerd is met ziekte-onderdrukking. Zoals aangegeven in **H2**, is dit waarschijnlijk het gevolg van verschillende selectieve verrijking van microbiële soorten in de rhizosfeer door verschillende gewassen en in verschillende bodems. Wel is duidelijk dat verschillende microbiële soorten die bijdragen aan ziekteonderdrukking dit met vergelijkbare mechanismen doen, zoals de productie van antischimmel-metabolieten. Als de ziekteverwekker de eerste lijn van rhizosfeer-microbiom gemedieerde ziekteresistentie weet te doorbreken, kan het endosfeer microbiom een tweede beschermingszone bieden. Interessant is dat de MAMP-getriggerde immuniteitsroute (zie **H2**) tot hogere niveaus geïnduceerd wordt in ziekte-onderdrukkende bodems. In het algemeen kan worden gesteld dat de gezondheidsstatus van gewassen bepaald wordt door de genetische eigenschappen van de plant, abiotische omgevingsfactoren, pathogeen dichtheid en bodem- en plantmicrobiom.

Geïnduceerde systemische resistentie (ISR) is een fysiologische 'staat van versterkt afweervermogen' van de hele plant tegen diverse ziekteverwekkers en vraatinsecten. Verschillende microbiële structuren zoals secretiesystemen, flagella en pili kunnen samen met effectoreiwitten bijdragen aan de geïnduceerde systemische weerstandsreactie. Opmerkelijk is dat ISR-inductie door rhizosfeer-microbiomen de wortel-exudatie van selectieve antimicrobiële stoffen zoals coumarine en benzoxazinoïden stimuleert. Dit bevordert de rekrutering van ISR-stimulerende bacteriën die ongevoelig zijn voor deze stoffen (**Figuur 7**). Dit betekent dat de samenstelling van het rhizosfeer-microbiom een belangrijke factor is voor de sterkte van ISR. Maar over de frequentie van het ISR-inducerend vermogen in taxonomisch diverse microbiomen en het mogelijk belang van microbiële interacties bij het ontstaan van ISR is nog maar weinig bekend.

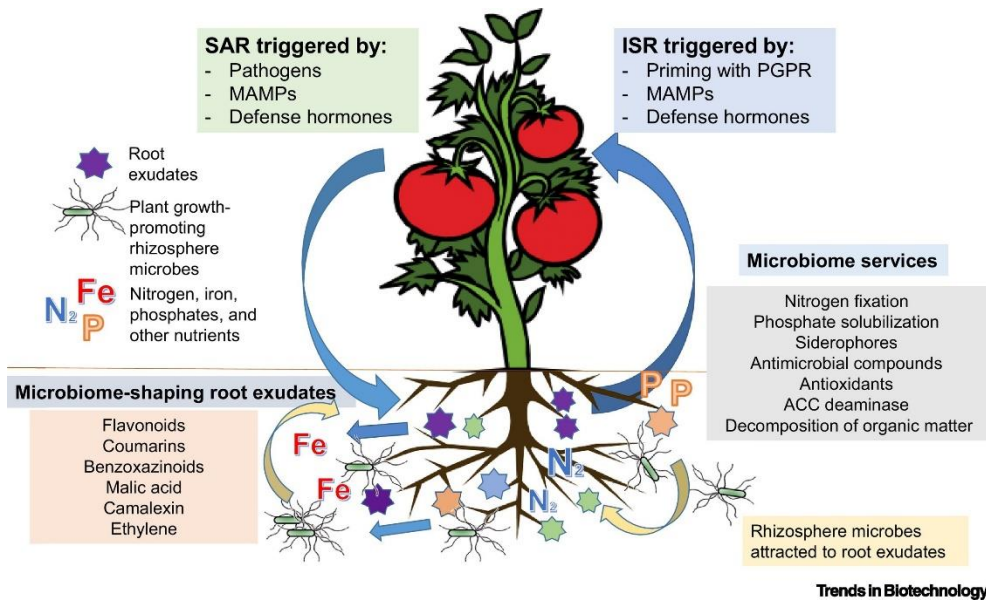


Figure 7. Plant Microbiome Services Provided by Beneficial Plant–Microbe Interactions. Systemic acquired resistance (SAR) and induced systemic resistance (ISR) against plant pathogens can be achieved by microbe-associated molecular patterns (MAMPs) from either plant pathogens or beneficial plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Microbiome services assist plants with growth, disease resistance, and stress tolerance, leading to up to fourfold higher biomass production (Arif et al., 2020)

3.4 Rol van microbiomen in tolerantie van planten tegen droogte

Plantmicrobiomen spelen een belangrijke rol bij de vermindering van stress voor de plant ten gevolge van droogte (**Figuur 8**).

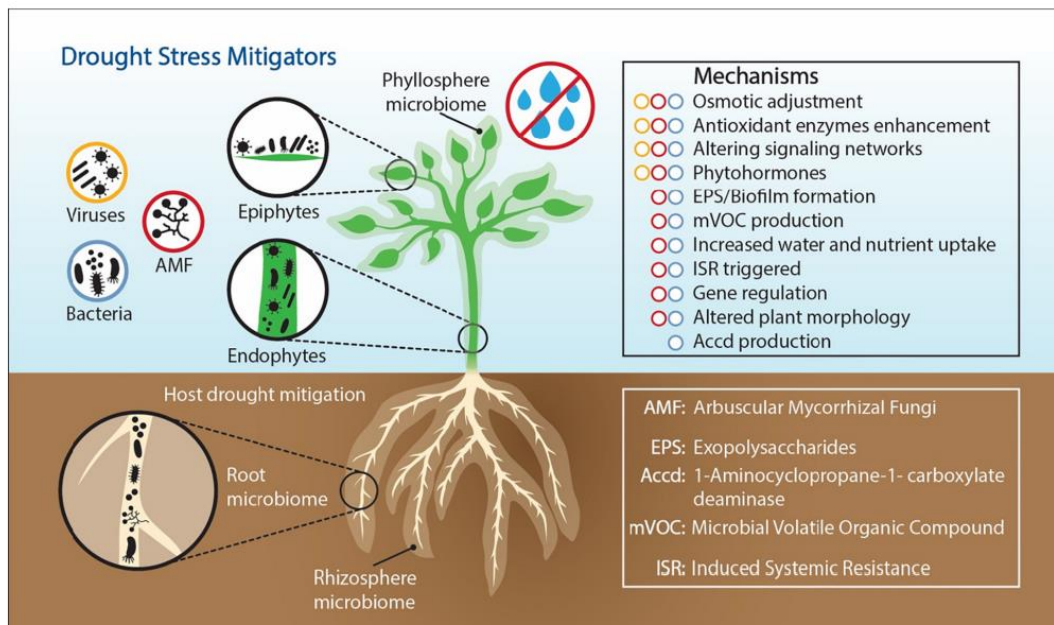


Figure 8. Drought stress alleviating mechanisms employed by plant-associated bacteria, fungi, and viruses. Bacteria, fungi, and viruses are members of the plant microbiome living in different plant compartments, on plant surfaces (epiphytes) and inside plant tissues (endophytes) (illustration from Poudel et al., 2021).

Droogte stimuleert microbiële reacties zoals biofilm-vorming die gepaard gaat met productie van exopolysaccharides (EPS) en productie van osmolyten. Monoderm-bacteriële geslachten zoals Actinobacteria en Firmicutes staan erom bekend dat ze toleranter zijn voor uitdroging vanwege hun dikkere celwanden. Door droogte geïnduceerde accumulatie van plantaardige stoffen - waaronder suikers, aminozuren en vooral glycerol-3-fosfaat (G3P) - worden gebruikt door deze bacteriesoorten en fungeren als precursors in de biosynthese van celwanden en EPS. Naast deze bacteriën kunnen ook AMF en endofytische schimmels bijdragen aan verlaging van droogtestress. Mechanismen die voor vermindering van droogtestress door AMF zijn aangegeven zijn o.a. opname van water uit bodemdelen die niet toegankelijk zijn voor wortels, productie van osmolyten en anti-oxidanten.

3.5 Kennislacunes II

De verschuiving van focus van taxonomisch microbiom onderzoek (**H2**) naar functioneel microbiom onderzoek is nog steeds gaande. Het wordt steeds duidelijker dat deze verschuiving nieuwe perspectieven biedt om plant-ondersteunende effecten van microbiomen te kunnen stimuleren. Maar het is ook duidelijk dat er in het onderzoek nog veel stappen gezet moeten worden voordat kan worden aangegeven hoe microbiomen bijdragen aan weerbaarheid van gewassen en hoe dat kan worden benut. Een aantal aspecten waar meer kennis voor nodig is, zijn hier aangegeven.

- Het is onduidelijk in hoeverre het construeren van netwerk interacties voor microbiomen bij zal dragen aan een beter inzicht in de plant-ondersteunende functies die worden geleverd. Verschuiving van de aandacht van taxonomie-gebaseerde netwerken naar metabolisch-gebaseerde netwerken lijkt een goede richting, maar staat nog aan het begin (Berg et al., 2020; Michalska-Smith et al., 2022; Poudel et al., 2016).
- De relatie tussen plantweerbaarheid en microbiom functies zoals gevonden met “genome-wide association” analyses bieden perspectief om selectie van microbiom functies door planten te begrijpen. Maar verdere uitwerking is nodig om aan te geven wat de belangrijkste planteigenschappen en genen (plant, microbe) zijn die hierin een cruciale rol spelen. Belangrijk is ook om te weten of die eigenschappen zich lenen voor veredeling of gereguleerd kunnen worden middels CRISPR-Cas. (Bergesol et al., 2021; Leveau, 2019; Trivedi et al., 2020; Zancarini et al., 2021).
- Om een beter inzicht te krijgen in de mechanismen waarmee microbiomen plantweerbaarheid kunnen stimuleren is niet alleen kennis van de betrokken genen maar ook van de genproducten essentieel. Metabolomics kan een doorslaggevende rol spelen bij opheldering van de communicatie tussen plant en microbiom (o.a. identificatie signaalstoffen) maar ook bij het begrijpen van pathogeen onderdrukking door metabolieten (o.a. antibiotica, vluchtige stoffen) die door microbiomen in ziekteonderdrukkende bodems geproduceerd worden (Kellog and Kahn, 2020; Kohl en Ravensberg, 2021; Zancarini et al., 2021).
- Van de rol van het microbiom op het functioneren van belangrijke plant-symbionten (AM, rhizobia) is weinig bekend. (Bruna et al., 2021; Jeff and Rillig, 2018).

H4. Verbeteren van plantenmicrobiom functies met behulp van microbiële inoculanten

Om verbeterde gewasproductie en/of -weerbaarheid met behulp van veranderingen in microbiomen mogelijk te maken, worden tot op heden vooral de volgende opties onderzocht (i) introductie (inoculatie) van nuttige microben, (ii) veranderingen via 'planten' (bijv. gewaskeuze, strokenteelt of vruchtwisseling), (iii) verandering via de 'bodemmanagement' (bijv. organische meststoffen of minder intensieve grondbewerking (**Figuur 9**). In dit hoofdstuk worden de ontwikkelingen in het onderzoek naar de toepassing van microbiële inoculanten besproken, terwijl de strategieën om selectieve stimulatie te geven aan nuttige microben binnen de al aanwezige planten bodem-microbiomen het onderwerp is van **H5**. Microbiële inoculanten kunnen worden gebruikt als biostimulanten of als gewasbeschermingsmiddelen. Uitgebreide definities van beide types middelen zoals gebaseerd op EU-verordeningen is te vinden in: De Long et al., 2021, <https://edepot.wur.nl/551140>. Biostimulanten zijn geen werkelijke voedingsstoffen, maar stimuleren wel de natuurlijke voedingsprocessen van planten. Daarmee kunnen ze ook bijdragen aan een verhoogde weerbaarheid van planten tegen abiotische stress. Biostimulanten kunnen bestaan uit chemische stoffen (zoals humuszuren en zeewierextracten), micro-organismen (AM-mycorrhiza, bacterien) of een combinatie. Biostimulanten vallen wat betreft toelatingseisen onder meststoffen (<https://www.ctgb.nl/gewasbeschermingsmiddelen/vraag-en-antwoord/zijn-biostimulantia-en-groeiregulators-gewasbeschermingsmiddelen>). Microbiële inoculanten die worden gebruikt om ziektes te voorkomen of te onderdrukken (microbiologische middelen) vallen voor wettelijke registratie onder de gewasbeschermingsverordening (<https://www.ctgb.nl/onderwerpen/wet--en-regelgeving/eu-wetgeving-gewasbeschermingsmiddelen>). Microbiële inoculanten in zowel biostimulanten als microbiologische middelen kunnen bijdragen aan verhoging van de plantweerbaarheid. Die werking wordt in belangrijke mate bepaald door interacties met de aanwezige plantmicrobiomen. Daarnaast zijn strategieën om microbiële inoculanten te verkrijgen vergelijkbaar voor beide types van toepassing. Daarom wordt er in dit overzicht geen onderscheid gemaakt tussen microbiologische biostimulanten en microbiologische middelen.

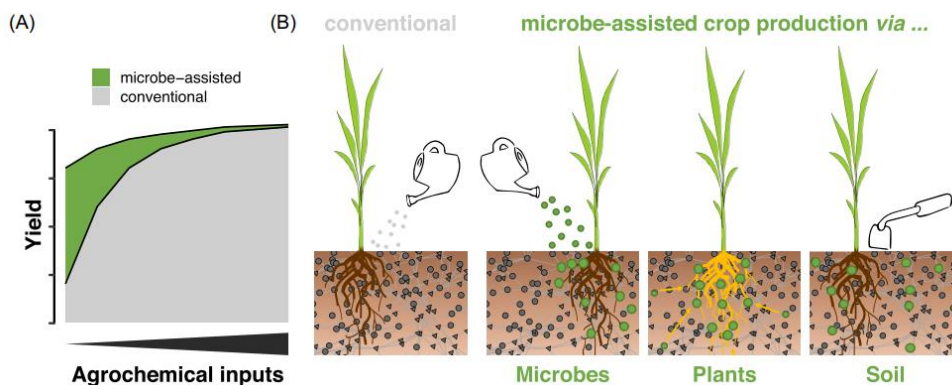


Figure 9 Approaches of microbe-assisted crop production | (A) Crop yields as a function of agrochemicals inputs. Conventional crop production (grey) relies on agrochemical inputs such as fertilizers and pesticides. Microbe-assisted crop production (green) is designed to maintain yields but at reduced agrochemical inputs. (B) Conventional agriculture is compared to microbe-assisted crop production, where three players of the agroecosystem can be managed so that beneficial microbes (indicated as green dots) assist crop production. Beneficial microbes or their products are added to soil or plants/seeds (microbial inoculations). Specific plant species or cultivars recruit/enrich microorganisms from the surrounding soil. Dedicated soil management practices create conducive conditions for beneficial microbes (Hohmann et al., 2020).

4.1 Selectie van micro-organismen voor inoculatie

Ecologische kennis van micro-organismen en met name hun relatie met planten vormt een goede basis om potentieel nuttige micro-organismen te identificeren. Isolatie van micro-organismen afkomstig van het beoogde gewas is een veelgebruikte strategie om een eerste collectie van microbiële stammen te verkrijgen voor verdere screening op plant-ondersteunende activiteiten. Nu duidelijk is geworden dat door domesticatie en veredeling de samenstelling van plantmicrobiomen is veranderd, worden wilde verwanten van moderne planten als interessante bron voor isolatie van gunstige microben gezien. Het achterliggende idee hierbij is dat selectie op gewasopbrengst ten koste kan zijn gegaan van selectie op weerbaarheid. De micro-organismen die bijdragen aan die weerbaarheid zijn daardoor mogelijk verdwenen in het microbioom van moderne gewassen.

Een andere ecologisch-gebaseerde strategie is isolatie vanuit het "pathobioom", het microbioom van door ziekteverwekkers aangetaste planten. Het onderliggende idee is dat pathogenen zelf ook een voedselbron kunnen vormen voor andere micro-organismen of dat de aangetaste plant wortel-exudaten gaat produceren die pathogeen-onderdrukkende micro-organismen aantrekt (cry-for-help hypothese). Verrijking van pathogeen-onderdrukkende micro-organismen is al langer bekend voor tarwe die continu op dezelfde percelen wordt verbouwd. Na aantasting door een pathogene bodemschimmel (tarwehalmdoder; *Geaumannomyces*) in de eerste jaren vindt er een natuurlijke afname van de ziekte plaats die lijkt te worden veroorzaakt door verrijking van bepaalde *Pseudomonas* stammen. Ook is gevonden dat een hoger percentage antagonistische stammen kan worden geïsoleerd uit suikerbietenvelden met hoge ziektedruk. Pathogene schimmels zelf vormen een interessante bron om mycoparasitaire schimmels te isoleren die de betreffende pathogeen kunnen infecteren.

Bodems die bekend staan om hun lage ziektedruk (ziektewerende bodem) en composten die ziektevermindering stimuleren vormen ook een belangrijke bron voor isolatie van micro-organismen die pathogenen kunnen onderdrukken. Bekende pathogeen-onderdrukkende micro-organismen, zoals mycoparasitaire *Trichoderma* schimmels en antagonistische *Pseudomonas*- en *Bacillus*-stammen, zijn aanwezig in ziekte-onderdrukkende compost. Gewassen kunnen genotype-specifieke micro-organismen uit deze bronnen te selecteren. Al met al zijn er dus veel mogelijkheden om geschikte bronnen te vinden voor nieuwe nuttige microbiële stammen. Na isolatie moeten microbiële stammen verschillende screenings ondergaan om vast te stellen of ze gunstige eigenschappen hebben voor gewassen en wat de mechanismen daarvan zijn. Dat laatste is, zoals hierboven aangegeven, ook belangrijk voor de registratieprocedure die moet worden gevolgd (biostimulant of gewasbeschermingsmiddel).

Initiële screeningsmethoden zijn meestal gebaseerd op zogenaamde *in vitro* testen waarbij effecten op groei van zaailingen en/of pathogenen in kunstmatige media (agar, glasparels, steriel zand etc.) worden onderzocht. Micro-organismen die een interessant effect laten zien worden vervolgens onderzocht op uitscheiding van enzymen, zoals chitinase, cellulase en protease, van plantengroeihormonen zoals auxines en van pathogeen-remmende secundaire metabolieten. Moleculaire methoden (genomics, transcriptomics) en metabolomics kunnen een belangrijke aanvulling geven om het volledige potentieel van interessante stammen te beoordelen. Micro-organismen die na de eerste screening overblijven moeten verder wordt onderzocht met meer natuurlijke bioassays waarbij planten worden gekweekt in niet-steriele grond, aangezien interacties met andere microben een sterke invloed kunnen hebben op de effecten van inoculanten.

Bij de normaal gehanteerde initiële 1:1 screeningsmethoden (testen van effecten van afzonderlijke micro-organismen) worden mogelijke interacties tussen de microbiële isolaten niet meegenomen. Maar ondertussen is bekend dat interacties gunstige effecten op gang kunnen brengen (genexpressie door aanwezigheid van ander micro-organisme), kunnen versterken of kunnen afzwakken. Testen waarbij interacties worden meegenomen zijn met name ook van belang om nieuwe secundaire metabolieten te ontdekken.

Het combineren van verschillende stammen in consortia is een goede benadering om de diversiteit en daarmee de werkbaarheid van het inoculum onder verschillende milieuomstandigheden te vergroten (zie 4.3). Hier kunnen interacties ook een belangrijke rol spelen. Zogenaamde "helperstammen" kunnen worden gebruikt om de werkzaamheid van individuele gunstige microben te verbeteren.

4.2 Uitdagingen bij toepassing van microbiële inoculanten in de praktijk

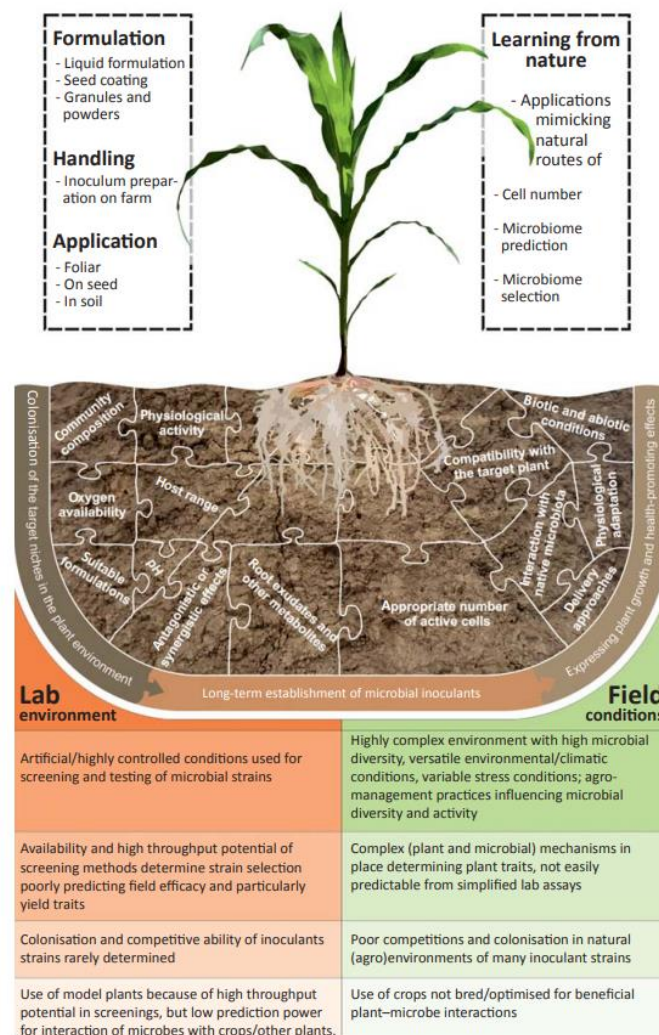


Figure 10. Challenges of microbial inoculation (Sessitsch et al., 2019).

Na selectie van microbiële stammen voor een specifieke toepassing, worden ze getest in kasexperimenten, waarbij vaak significante positieve effecten worden aangetoond. Wanneer ze vervolgens onder veldomstandigheden worden getest, zijn de effecten echter variabel, wat de toepasbaarheid van de microbiële inocula beperkt (**Figuur 10**).

De ondersteunde werking die microbiële inoculanten aan gewassen kunnen geven hangt af van het vermogen om zich te vestigen binnen het bestaande microbioom in de beoogde plant omgeving (wortel, blad, endosfeer), van het werkingsmechanisme en van activering van de genen die betrokken zijn bij stimulatie van groei en weerbaarheid van de plant. Daarnaast moeten microbiële inoculanten na productie in grootschalige kweken, kunnen worden bewaard in producten die door telers kunnen worden gebruikt. Dit vereist geschikte bewaarcondities, die bescherming moeten geven tegen uitdroging. Voor sommige micro-organismen, zoals endosporeproducerende *Bacillus*-stammen, is dit relatief eenvoudig omdat de endosporen een langere levensduur hebben en resistent zijn tegen droogte, hitte en UV. Ook sporen van mycoparasitaire schimmels kunnen goed bewaard worden. Veel plant-groei-stimulerende bacteriën behoren echter tot de Gram-negatieve bacteriën, en vereisen een speciale formulering en/of toedieningsprocedure. Om een natte of droge formulering te verkrijgen met een aanvaardbare houdbaarheid en die geschikt is voor toepassing, worden bacteriën gemengd met een geschikte drager met daarbij hulpstoffen. Verschillende monosacchariden (glucose, fructose), disacchariden (trehalose, sucrose, lactose) en trisacchariden (melezitose, raffinose, stachyose) zijn gebruikt om cellen en eiwitten te beschermen tegen schade door uitdroging. Trehalose wordt algemeen beschouwd als het meest effectief bij het handhaven van de conformatie van eiwitten, cellen en andere biomoleculen wanneer water wordt verwijderd tijdens vriesdroogproces. Toch zijn vrijwel alle commerciële biocontrole producten die momenteel verkrijgbaar zijn, gebaseerd op sporen van Gram-positieve bacteriën (bacilli, actinomyceten) of mycoparasitaire schimmels. Dit betekent dus ook dat activering van deze micro-organismen bij toepassing moet plaats vinden vanuit een overlevingsstructuur (spore). Hier zijn spore-specifieke eiwitten bij betrokken, die met name reageren op de aanwezigheid van eenvoudige suikers en aminozuren in de omgeving. Maar over het activeringproces zelf is nog steeds veel onbekend.

De vestiging, activiteit en overleving van geïntroduceerde micro-organismen wordt naast de dosering beïnvloed door tal van factoren, zoals compatibiliteit met de waardplant en abiotische en biotische groeiomstandigheden. Voor grootschalige productie van micro-organismen worden meestal optimale kweekcondities (rijke vloeibare media, hoge temperatuur etc.) gebruikt waarbij geen rekening wordt gehouden met de werkelijke veldomstandigheden. Aanpassing aan kunstmatige groeiomstandigheden kan het concurrentievermogen van geïntroduceerde micro-organismen verminderen en de vestiging ervan beperken. Voor vestiging op plantoppervlakken moeten koloniserende micro-organismen organische stoffen die door plant worden uitgescheiden als signaalstof herkennen of als energiebron kunnen gebruiken. Ze moeten ook kunnen omgaan met wisselende omstandigheden, zoals vochtgehalte en zuurstofbeschikbaarheid. Verder moeten toegediende micro-organismen kunnen concurreren met de al aanwezige micro-organismen. Onderzoek met bodemmodelsystemen heeft aangetoond dat een hoge diversiteit en de daarmee gepaard gaande complexe interacties in het al aanwezige microbioom een negatief effect heeft op vestiging van microbiële inoculanten. Bij succesvolle vestiging is overigens nog niet gezegd dat dan ook de plantengroei bevorderende activiteit gaat plaatsvinden. Interacties met andere micro-organismen kunnen deze activiteit namelijk beïnvloeden. Context-afhankelijke interacties met de plant kunnen invloed hebben op gunstige effecten van microben die plantreacties kunnen opwekken, zoals ISR. Dit komt omdat planten de neiging hebben hun reacties aan te passen op basis van de informatie die ze ontvangen via meerdere signaalroutes. Daarom is het bijvoorbeeld mogelijk dat een microbe met het potentieel om ISR te triggeren, dit niet activeert

omdat de plant onder de heersende omstandigheden prioriteit geeft aan een andere stressfactor. Het begrijpen van de processen die dergelijke prioriteringen door planten bepalen is nodig om de abiotische en biotische teeltomstandigheden te identificeren die de kans maximaliseren dat een gewenste eigenschap van microbiële inoculanten tot uiting komt. Een ander aspect van succesvolle vestiging is dat geïntroduceerde soorten zelf ook invloed hebben op de samenstelling en activiteit van de aanwezige microben (**Figuur 11**).

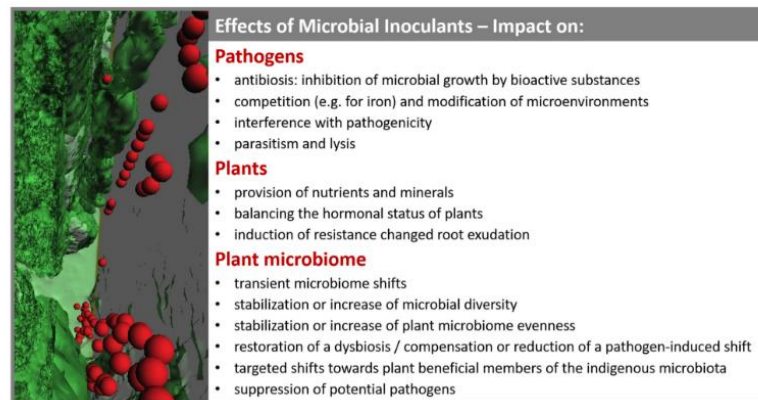


Figure 11. Summary of known effects elicited by microbial inoculants on pathogens, plants and the plant-associated microbiome. Various effects of inoculants on native plant microbiomes are connected to their modes of actions related to plant health and disease prevention. The included 3D reconstruction of a micrograph shows the colonization of a microbial inoculant in plant tissues (Berg et al., 2021).

Direct na toediening van microbiële inoculanten worden vaak verschuivingen in de samenstelling van het microbioom waargenomen. Na een aantal weken zijn dergelijke verschuivingen vaak al niet meer zichtbaar. Toch zouden veranderingen in het microbioom veroorzaakt door microbiële inoculanten positief voor de plant kunnen uitpakken (**Figuur 12**). Welke keuzes daarvoor gemaakt moeten worden m.b.t. de keuze en toediening van het inoculum is onbekend. Effecten van microbiële inoculanten die de endosfeer koloniseren verdienen extra aandacht omdat de aanwezigheid in interne plantcompartimenten mogelijk ook effect kan hebben op chemische samenstelling van plantdelen die voor voeding worden gebruikt.

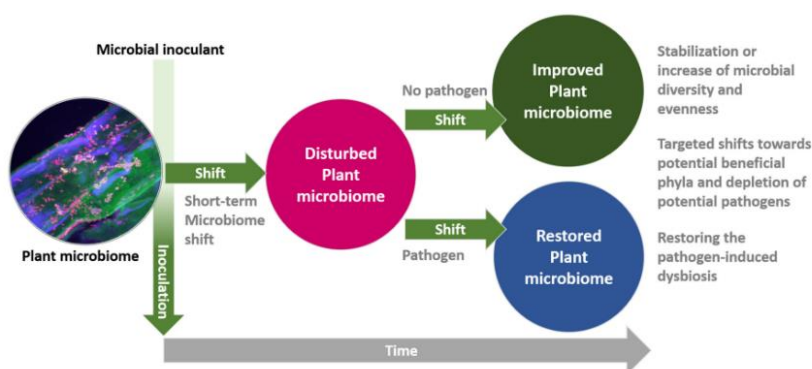


Figure 12. A “Theoretical Model” for plant microbiome responses to microbial inoculants. Inoculation of microbial inoculants induces short-shifts and improves or restores a healthy plant microbial community on a long term (Berg et al. 2021).

4.3 Mogelijkheden om werkbaarheid van microbiële inoculanten te verbeteren

Er zijn verschillende mogelijkheden om de werkbaarheid van microbiële inoculanten te verbeteren. Hier bespreken we achtereenvolgens isolatie-strategieën, combinatie met hulpstoffen, wijze van toediening, combinatie met microbiom-veranderend management en gebruik van consortia van inoculanten (SynComs).

Zoals aangegeven in 4.1 is de strategie die wordt gekozen om isolaten te verkrijgen met gunstige effecten op gewassen vooral gebaseerd op het voorkomen in een relevante leefomgeving (plant-geassocieerd, ziekte-onderdrukkende bodem etc.). Daarnaast kan met de samenstelling van het medium al worden geselecteerd op het verkrijgen van isolaten met eigenschappen die van belang kunnen zijn voor een gewenste plant-ondersteunende functie (bijvoorbeeld isolatie op chitine-medium voor selectie op chitinase-producerende micro-organismen). Waar weinig aandacht aan besteed wordt, is de mogelijkheid om met isolatie al te anticiperen op een verbetering van de kans voor microbiële inoculanten om zich te vestigen onder praktijkomstandigheden. Een van de mogelijkheden daarvoor is om verder in te zoomen op de samenstelling van plant-exudaten en daaruit een component te kiezen die specifieke metabolische eigenschappen vereist, bijvoorbeeld aromatische verbindingen. Isolaten die dergelijke verbindingen kunnen afbreken hebben toegang tot een door de plant uitgescheiden energiebron die voor veel micro-organismen niet afbreekbaar is. Dit kan de kans op verdringing door competitieve interacties verlagen.

De combinatie van microbiële inoculanten met substraten die hen een competitief voordeel kunnen bieden (hulpstoffen) kan ook worden toegepast in bijvoorbeeld zaadcoatings. Dat competitief voordeel kan weer gebaseerd zijn op het vermogen om te kunnen groeien op een stof die door veel andere soorten micro-organismen niet kan worden gebruikt, of op een stof die geen effect heeft op de groei van een microbiële inoculant maar een remmende werking heeft op groei van veel andere soorten micro-organismen. Een andere manier om hulpstoffen te gebruiken is het voorkweken van microbiële inoculanten in een substraat dat vervolgens in de bodem wordt ingewerkt, op pootgoed wordt aangebracht of over bladoppervlakten wordt gespreid. Daarmee kunnen de hoeveelheden toegediende micro-organismen sterk worden verhoogd en ze zijn dan bovendien al in een actieve staat. Een interessante ontwikkeling hierbij zijn poreuze en biologisch afbreekbare matrixmaterialen voor hechting of inkapseling van micro-organismen. Deze materialen worden gemaakt van (nano-) gefibrilleerde polymeren zoals cellulose, zetmeel en algiनाат. Dergelijke biologisch afbreekbare matrices met bioactieve ingrediënten kunnen vervolgens direct met microbiële inoculanten op planten worden aangebracht.

De kennis die is verkregen over kolonisatie van planten door micro-organismen kan een bijdrage leveren aan ontwikkeling van nieuwe strategieën voor toediening. Een van die nieuwe benaderingen is het introduceren van nuttige micro-organismen in het microbiom van zaden. Bij deze benadering worden bacteriële formuleringen op bloemen van gewasplanten gespreid en wordt onderzocht of deze worden opgenomen tijdens de vorming van zaden. Als dat het geval is vormt de inoculant een onderdeel van het zaad-microbiom en kan zich na zaaien ontwikkelen in en op de zaailingen. Bij het aanbrengen van microbiële inoculanten op bloemen kan gebruik worden gemaakt van bestuivende insecten zoals bijen.

Het vergroten van de kans voor microbiële inoculanten om zich te vestigen en actief te zijn kan ook worden benaderd vanuit het perspectief van het concurrerend vermogen van de al aanwezige microbiomen. Dit concurrerend vermogen kan namelijk door verstoringen of veranderingen

sterk achteruitgaan en dat is een gunstige situatie waarin het toedienen van microbiële inoculanten tot een betere kolonisatie kan leiden. Een dergelijke situatie doet zich voor bij het bereiden van compost. Na de initiële thermofiele fase wordt compost gekoloniseerd door micro-organismen die zijn aangepast aan lagere temperaturen. Dat is een overgangsfase waarin microbiële inoculant succesvol kunnen worden geïntroduceerd, zoals bijvoorbeeld is aangetoond voor mycoparasitaire *Trichoderma* schimmels. Situaties met een verlaagd concurrerend vermogen van het aanwezige microbioom doen zich ook voor na stomen van grond in kassen en na inundatie, biologische grondontsmetting of verhitting (solarisatie) van bodems. Al deze maatregelen worden genomen om pathogenen te elimineren, maar daarbij vinden grote veranderingen plaats van de aantallen en samenstelling van micro-organismen. Gedurende de herstelperiode van de bodem-microbiomen is er eerst weinig concurrentie door overmaat aan beschikbare voedingsstoffen (o.a. gedode micro-organismen). Ook dit is dus een situatie waarin de kansen voor microbiële inoculant om zich te vestigen gunstig zijn.

Een andere benadering om de werking van microbiële inoculant te verbeteren is het gebruik van microbiële consortia in plaats van één enkele microbiële soort. In de literatuur worden de consortia vaak aangeduid als SynComs (Synthetic Communities). Onderzoek aan SynComs is in eerste instantie vooral gedaan om een beter inzicht te krijgen in de rol van interacties in het functioneren van microbiomen. Op basis van die resultaten is interesse gewekt om SynComs toe te gaan passen voor ondersteuning van gewassen. Genoemde voordelen van consortia ten opzichte van inoculatie met één microbiële soort zijn (i) het bij elkaar brengen van verschillende plant-ondersteunende functies, (ii) betere kolonisatie van planten en betere overleving (best aangepaste soorten in consortia gaan koloniseren), en (iii) versterking van functies door interacties en bredere werking tegen pathogenen. Syncoms kunnen worden samengesteld uit micro-organismen die al als inoculant worden gebruikt of kunnen worden samengesteld vanuit een natuurlijk microbioom uit een gunstige leefomgeving (bijvoorbeeld van plantenwortels in een ziek-tewerende bodem) waarbij ook de opbouw (netwerk) van dat microbioom kan worden meegenomen (**Figuur 13**).

Onderzoek naar toepassingen met Syncoms bevindt zich vooral nog in het stadium van lab- en kasexperimenten. Daar wordt vaak gevonden dat de werking van SynComs op een functie (ziektewerenheid, nutriëntenvoorziening etc.) consistentere en beter is dan die van de individuele soorten die aanwezig zijn in het consortium. Maar inconsistente resultaten zoals bekend voor één-soortige microbiële inocula worden ook gevonden. Een complicerende factor bij SynComs is dat er verschillende kweken voor de verschillende micro-organismen moeten worden gemaakt, die elk hun eigen eisen hebben m.b.t. groeiomstandigheden en bewaring. Bij voorkweken als consortium vinden er al interacties plaats wat de samenstelling sterk kan veranderen. Daarnaast blijft, net als bij de huidige microbiële inoculant, het probleem bestaan dat grootschalige kweken in een groeimedium sterk afwijkt van de groeiomstandigheden in de praktijk.

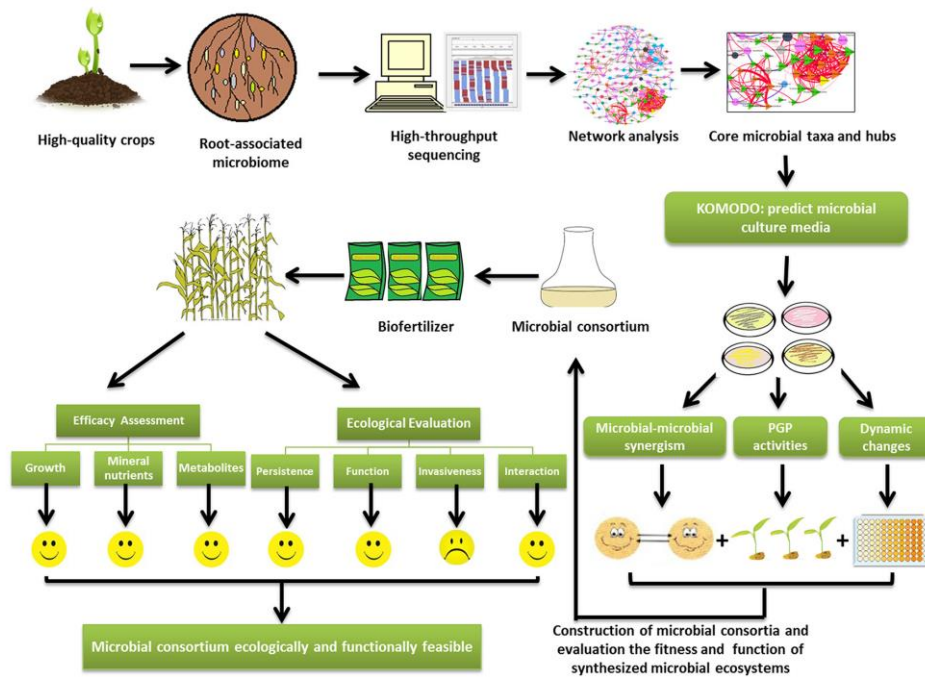


Figure 13. The diagram of technical flow of artificial construction of synthetic microbial consortia (SMC) targeting to augment crop quality. The crops with good quality can be a good origin of SMC. The core microbes can be isolated from the rhizospheric soils or the plant roots of crops with good quality, and their composition can be predicted by next generation sequencing and network analysis. The network analysis will provide the core microbial taxa and hubs which are needed to fulfill ecological services to plants. The web-based platform KOMODO (Known Media Database) can be used to predict the proper medium for the core microbes. The synergism among the microbial members in SMC will be analyzed based on the crop quality (metabolites and nutrients). Plant growth promotion activities and population dynamic changes of the core microbiome are tested to provide reference for constructing the SMC. After the assessment of efficacy and ecological impacts of SMC, they can be utilized in field (Kong et al., 2018).

4.4 Kennislacunes III

Het introduceren van micro-organismen in, op of bij gewassen heeft zeker perspectief om een bijdrage te leveren aan verhoogde weerbaarheid van gewassen tegen abiotische en biotische stress. Introductie betekent echter ook dat microbiële inoculanten deel uit gaan maken van de al aanwezige microbiomen. Dit heeft consequenties voor de werkbaarheid van microbiële biostimulanten en microbiologische middelen, wat in de praktijk duidelijk is vanwege inconsistente werking van deze middelen. Dit is algemeen bekend maar onderzoek om daar mee om te gaan loopt achter.

- In gecontroleerde experimenten met geconstrueerde simpele microbiomen (Syn-Coms) zijn duidelijke effecten van interacties op functies aangetoond, maar of deze interacties ook zo verlopen in complexe, natuurlijke microbiomen is onbekend.
- Onderzoek naar Syncoms bevindt zich nog in het stadium van ontwikkeling van optimale samenstelling; over effecten in praktijksituaties is heel weinig bekend
- De mogelijkheden om via ecologisch-gebaseerde benaderingen het succes van toepassing van microbiële inoculanten te verbeteren zijn onvoldoende onderzocht.
- Ontwikkeling van bewaar-methoden voor niet-sporen-vormende bacteriën heeft nog maar weinig opgeleverd voor praktische toepassing.
- Er is meer kennis nodig over mogelijke neveneffecten (o.a. chemische samenstelling plant) van microbiële inoculanten die de endosfeer koloniseren.

H5. Verbeteren van plantmicrobioom functies via beïnvloeding van natuurlijke microbiomen.

Vanwege de onzekerheid over de effectiviteit van geïntroduceerde microben (**H4**), is er steeds meer aandacht voor mogelijkheden om gunstige effecten van de al aanwezige plantmicrobiomen te stimuleren. Het achterliggende idee om te focussen op natuurlijk voorkomende microbiomen is dat deze bestaan uit microben die zijn aangepast aan het doelgewas en de lokale bodemgesteldheid. Met andere woorden, deze microben vertegenwoordigen degenen die al competitief sterk zijn onder de heersende veldcondities.

Hier bespreken we de ontwikkeling van twee belangrijke strategieën om selectief nuttige microben te verrijken binnen plantmicrobiomen, namelijk (1) via toediening van organische stoffen, en (2) via planten (bijv. cultivars met verschillend exudatie patroon, mengteelten en groenbemesters). Dit zijn dus ook strategieën die direct in teeltplannen kunnen worden opgenomen om de weerbaarheid van gewassen te verhogen.

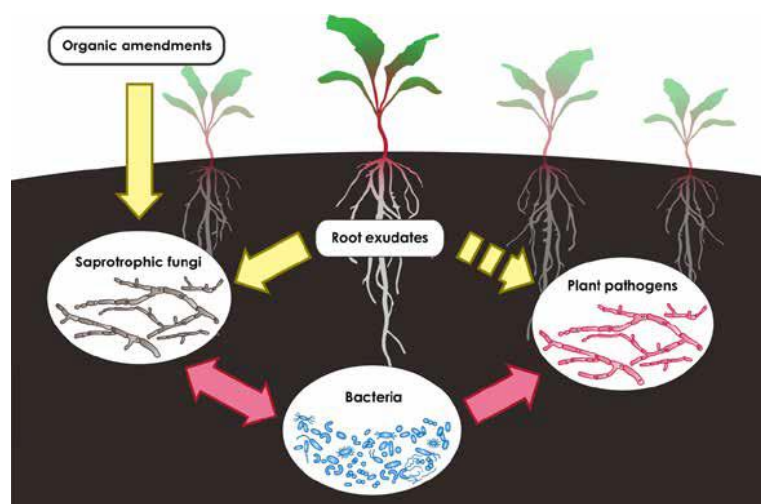
5.1 Beïnvloeden van microbiomen met organische stoffen

De samenstelling van het bodem-microbioom wordt in belangrijke mate bepaald door de chemische eigenschappen van de bodem, met als belangrijkste factoren bodemorganische stof, wortel-exudaten, plantenresten en toegediende organische meststoffen. Daarom is de meeste aandacht voor strategieën om nuttige plant-geassocieerde microben in bodem-microbiomen te verrijken, gericht op het gebruik van organische materialen als groeisubstraat. Een aspect van het gebruik van organische stoffen dat veel aandacht heeft gekregen, is het stimuleren van de onderdrukking van pathogene bodemschimmels. Er zijn vier hoofdmechanismen voorgesteld om ziekte-onderdrukkende effecten van organische bemestingen te verklaren: (i) verhoging van de microbiële concurrentie om voedingsstoffen, (ii) stimuleren van antibiose en hyperparasitisme, (iii) stimuleren van microbiële geïnduceerde systemische resistentie in gewassen, en (iv) direct schimmel-onderdrukkend effect van organische verbindingen die vrijkomen bij de afbraak organische meststoffen. Om selectief microben te stimuleren die betrokken zijn bij een of meer van deze onderdrukkende mechanismen, is kennis over de chemische samenstelling van de organische meststoffen essentieel.

De samenstelling van organische meststoffen kan nogal ongedefinieerd zijn, zoals voor compost, of goed gedefinieerd, zoals voor garnalenschalen of verenmeel. De verwachte toename van (functionele) microbiële groepen is duidelijker als de chemische samenstelling bekend is. Zo is bij chitine-bevattende garnalenschalen een toename te verwachten van bacteriën die chitinases produceren, en dit is ook in veel veldonderzoek is aangetoond. Vaak gaat dit samen met een verhoogde bescherming tegen schimmelpathogenen, die chitine bevatten als onderdeel van hun celwand. De verwachting dat verrijking van bacteriën met chitinase-genen dan ook zal leiden tot een verhoogde biologische bestrijding van schimmelziekten is echter minder vanzelfsprekend dan vaak wordt aangenomen. Bij inzoomen op het mechanisme van schimmel-onderdrukking wordt duidelijk dat niet alleen chitinases betrokken zijn bij de aanval van ziekteverwekkende schimmels, maar ook andere enzymen (zoals glucanases) en verbindingen die de schimmelmembraan destabiliseren. Combinaties van dergelijke eigenschappen zijn niet aanwezig in alle chitinytische bacteriesoorten en daarom zal de samenstelling van de bacteriesoorten die worden verrijkt met een chitine-bevattende meststof, zoals garnalenschalen, bepalen of onderdrukking

van schimmelpathogenen zal optreden. Verdere afstemming van de samenstelling van chitine-bevattende meststoffen en de selectieve verrijking van pathogeen-onderdrukkende, chitinolytische bacteriesoorten en/of genen in het microbioom is daarom nodig. In gevallen waarin chitine-toevoegingen resulteren in verhoogde ziekteonderdrukking, is vaak een toename te zien van actinobacteriën (bijv. *Streptomyces*-soorten) en bacterien van de familie Oxalobacteraceae (vooral *Massilia*- en *Janthinobacterium*-soorten). Er is dus meer inzicht nodig om te zien welke andere factoren naast chitine effect hebben op selectieve stimulatie van pathogeen-onderdrukkende bacteriën. Bij deze afstemming moet ook rekening worden gehouden met de rol van planten, via wortellexudaten, en van bodemeigenschappen.

Een ander voorbeeld van gerichte stimulatie van een onderdrukkend microbioom is het gebruik van cellulose-rijke materialen, zoals zaagsel, om saprotrofe schimmels te stimuleren (**Figuur 14**). Door dit te doen, werd aangetoond dat saprotrofe schimmels niet alleen actief zijn bij het afbreken van cellulose, maar ook de rhizosfeer koloniseren en wortellexudaten gebruiken als voeding. Dit verhoogt de concurrentiedruk op ziekteverwekkers om wortellexudaten te gebruiken in het initiële infectiestadium met als gevolg een verlaging van de ziektedruk. Bovendien raken bacteriën betrokken bij de onderdrukking van pathogenen, aangezien de toename van saprotrofe schimmels en hun opname van wortellexudaten resulteert in een toename van bacteriën met schimmelwerende eigenschappen. Daarnaast nemen fungivore aaltjes toe als gevolg van de toegenomen saprotrofe schimmelbiomassa en die kunnen ook bijdragen aan de vermindering van pathogene schimmels. Dit voorbeeld illustreert dat het stimulerende effect van een organische bemesting op een doelgroep gevolgen kan hebben voor het hele bodemvoedselweb en voor de interacties binnen microbiomen. Dit kan positief maar ook negatief zijn. In het voorbeeld van het gebruik van cellulose-rijke materialen kan stikstofbeperking voor gewassen ontstaan omdat de schimmels veel stikstof inbouwen. Hoewel dat later ook weer vrijkomt, zal het nodig zijn voor de inbouw te compenseren met een stikstof-bevattende meststof.



Figuur 14. Stimuleren van saprotrofe bodemschimmels kan leiden tot een verhoogde onderdrukking van pathogene schimmels door directe concurrentie om wortellexudaten of door toename van rhizosfeer bacteriën met anti-schimmel eigenschappen (De Boer et al., 2021).

De behoefte aan verdere afstemming op de relatie tussen de chemische samenstelling van bodemverbeteraars en het stimuleren van gewenste gunstige microben of -functies in het plantgeassocieerde microbiom is nog uitdagender voor ongedefinieerde bodemverbeteraars zoals compost. Toevoeging van compost aan de bodem kan de weerbaarheid van gewassen tegen ziektes verhogen, wat wordt toegeschreven aan een stimulering van diversiteit en activiteit van microben. Dit resulteert in een grotere concurrentie tussen nuttige microben en ziekteverwekkers. Meta-analyses van studies met compost laten echter zien dat de uitkomst van het effect van compost op ziekte-tolerantie van gewassen onzeker is, met zelfs gevallen van toename van ziekte-uitbraken. Het effect van toegevoegde compost op de samenstelling van het microbiom wordt als belangrijke factor gezien voor de mate waarin ziekteonderdrukking zich gaat ontwikkelen. Om het effect van compost voor ondersteuning van gewassen beter te kunnen voorspellen zijn studies nodig waarin geavanceerde chemische karakterisering van compost wordt gecombineerd met analyses van de samenstelling en functie van het microbiom. Voor de functies kunnen netwerkbenaderingen gericht op functionele genen een belangrijke bijdrage leveren.

Stoffen die worden gebruikt om plantprestaties en -weerstand te verhogen, worden chemische biostimulanten genoemd. Verbindingen die door telers worden gebruikt als biostimulant zijn bijvoorbeeld plantaardige eiwithydrolysaten, aminozuren, aromatische verbindingen, humuszuren en chitosan. Vaak worden dergelijke verbindingen gebruikt in bladsprays. Over werkingsmechanismen en slagingspercentage bij het gebruik van dergelijke verbindingen is echter weinig bekend. Al deze verbindingen zijn afbreekbaar en zullen een effect hebben op de samenstelling en werking van het fylosfeer-microbiom. Tot nu toe heeft de rol van microbiomen bij het gebruik van chemische biostimulanten echter erg weinig aandacht gekregen.

5.2 Beïnvloeden van microbiomen met aanpassingen waardplant en gewasdiversificatie

Wortelexudaten

Zoals besproken in **H2**, hebben de hoeveelheid en samenstelling van wortellexudaten een sterk effect op de samenstelling en functie van plantmicrobiomen. Dit begint met de kolonisatie door microben van de rhizosfeer van wortels van opkomende zaailingen en van daaruit kan een deel van de microbiële soorten ook inwendige delen van de plant koloniseren. Via selectie door wortellexudaten kunnen planten nuttige micro-organismen rekruteren. Rekrutering door van wortels afkomstige signaalstoffen is goed beschreven voor plantenmutualisten zoals AM-schimmels en Rhizobia, inclusief de verantwoordelijke plantengenen en signaal-verwerkende microbiële genen. Voor vrij levende, plantengroei-bevorderende bacteriën en schimmels bevindt dit zich echter nog in de beginfase. Het is belangrijk om meer mechanistisch inzicht te hebben in het rekruteren van nuttige microben in de rhizosfeer, omdat dit nieuwe perspectieven opent voor het kweken van gewasvariëteiten die beter kunnen omgaan met biotische en abiotische stress door ondersteuning van selectief gerekruteerde rhizosfeer microben. Twee interessante onderzoeklijnen die inzicht geven in de plantengenen en metaboliëten die betrokken zijn bij selectieve rekruteringen zijn (1) vergelijking van plantengenomen, wortellexudaat samenstelling en rhizosfeer-microbiomen van stress-tolerante voorouders van moderne gewassen met die van stressgevoelige moderne gewasvariëteiten en (2) de wijziging van de samenstelling van wortellexudaten en van rhizosfeer-microbiomen bij abiotische of biotische stress (**Figuur 15**). Het rekruteren van stress-verlagende microben staat bekend als de 'cry-for-help'-hypothese.

Beter inzicht in het wervingsproces dat nuttige microben in staat stelt een prominente positie in te nemen in rhizosfeer- en endosfeer-microbiomen, vereist integratie van verschillende omics-

onderzoekdisciplines voor zowel de planten als de microben. Er is informatie nodig over de chemie, dynamiek en mechanismen die ten grondslag liggen aan door stress veroorzaakte rekrutering, evenals over de functionele eigenschappen en genen van de gerekruteerde microben. Die kennis ontbreekt momenteel. Bovendien bestaat er een kennislacune met betrekking tot de mate waarin de 'cry-for-help'-strategie van toepassing is op verschillende stress types. Daarnaast moet er ook rekening mee worden gehouden dat door stress uitgescheiden plantmetabolieten niet alleen informatie kunnen verstrekken aan nuttige microben die helpen stress te verlichten, maar ook aan plantpathogenen of "aaseters", die kunnen profiteren van de gestreste plant.

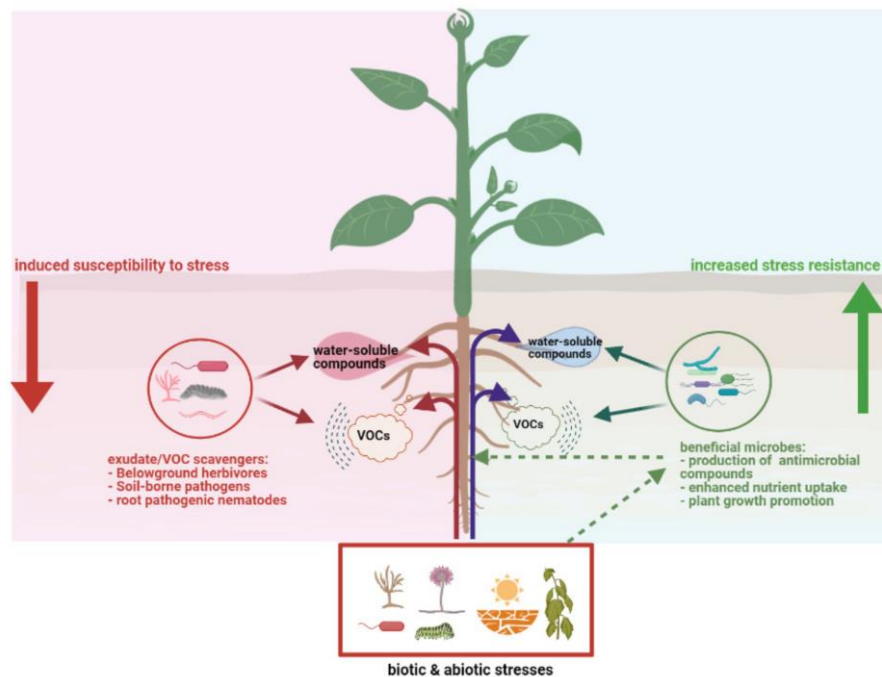


Figure 15. Schematic overview of how plants under siege can attract via exudation of specialized volatile and water-soluble root exudates, beneficial microorganisms which in turn can enhance plant fitness (**right panel**). At the same time, the exudates can also be used by scavengers such as belowground pathogens and pests as chemical information to locate and benefit from the stressed plants, leading to induced susceptibility to stresses (**left panel**). Furthermore, the biotic and abiotic stresses such as drought, salinity, nutrient limitations and pathogens, pests are stress factors not only for the plants but also for the root-associated microbiome (right panel) which can provide early warning and protection to the plant (Rizaludin et al. 2021).

Gewasdiversificatie

Onder gewasdiversificatie kan het gelijktijdig telen van verschillende soorten worden verstaan (o.a. mengteelten, strokenteelt), maar het wordt ook gebruikt voor temporele diversificatie (o.a. vruchtwisseling, groenbemesters). Voor verschillende vormen van gewasdiversificatie is aangetoond dat ze het functioneren van ecosystemen verbeteren, zoals verbeterde en stabielere opbrengst, efficiënter gebruik van hulpbronnen, verbeterde bodemvruchtbaarheid en vermindering van ziektes en plagen. Kennis over de rol van microbiomen bij gewas-gewas interacties krijgt steeds meer aandacht, maar is voorsnog verkennend. Bij mengteelten zijn competitie en facilitatie de belangrijkste interacties tussen gewassen (**Figuur 16**). Bij ondergrondse competitieve interacties tussen gewassoorten kunnen allopathische effecten van wortel-exudaten een rol spelen en micro-organismen kunnen deze effecten versterken of verminderen. Interessanter vanuit

agrarisch perspectief zijn faciliterende interacties, dus de situatie waarin gewassen profiteren van elkaars aanwezigheid. Het faciliteren van N- en P-beschikbaarheid door peulvruchten voor andere gewassen is een bekend fenomeen waarbij niet alleen stikstofbindende bacteriën en mycorrhiza-schimmels betrokken zijn, maar ook andere microben, zoals P-oplossende bacteriën. Het gelijktijdig telen van meerdere gewassen kan ook biotische stress verminderen die wordt veroorzaakt door plaag- en ziekteverwekkers. Naast directe toxische effecten van allelopathische exudaten op wortelinfecterende organismen wordt ook stimulatie van antagonistische microben als een belangrijke factor aangegeven. De aanwezigheid van een gewas dat de groei van een ziekteverwekker stimuleert waarvoor het zelf niet gevoelig is, kan echter ook de ziektedruk voor andere gewassen verhogen. Om de juiste keuze te maken voor combinaties van gewassen, moet het inzicht in de rol van het microbiom en de selectieve stimulering van schadelijke en nuttige microben daarom verder worden onderzocht.

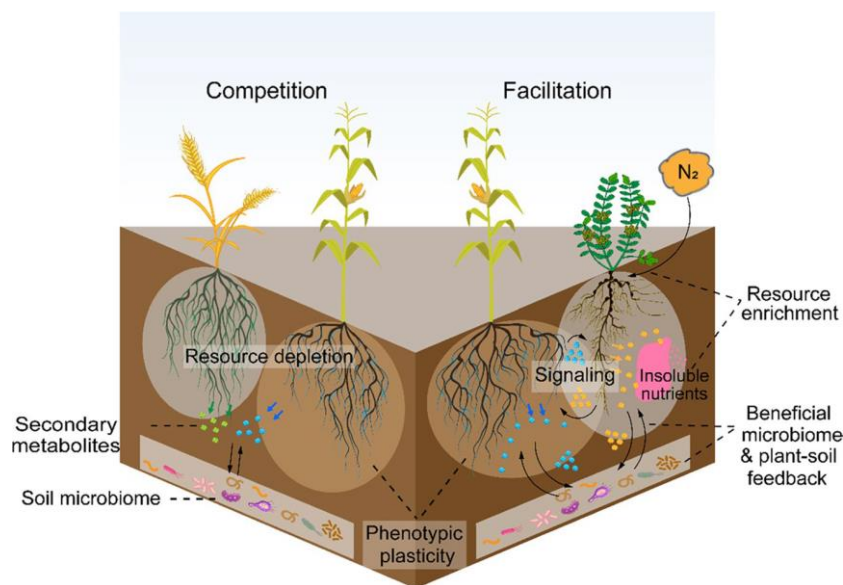


Figure 16. Mechanisms that drive interspecific competition and facilitation in intercropping. (Yu et al., 2022).

De teelt van groenbemesters vindt plaats in periodes dat er geen hoofdgewassen kunnen worden geteeld. Belangrijke redenen voor landbouwers om bodembedekkers te telen, zijn het verminderen van het verlies aan minerale voedingsstoffen, met name stikstof, het verkleinen van de voorraad overlevende bodempathogenen en het verhogen van het organische stofgehalte in de bodem. Groenbemesters worden in de bodem ingewerkt voordat de hoofdgewassen worden gezaaid of geplant. In zandbodems is de tijd tussen inwerken van de groenbemester en zaaien van het hoofdgewas kort, in kleibodems kan daar enige maanden tussen zitten. De impact van groenbemesters op het plantmicrobiom van het hoofdgewas loopt via veranderingen in het bodem-microbiom. Het is bijvoorbeeld bekend dat de samenstelling van microbiomen geassocieerd met wortels van ui-, peen- en bietenzaailingen sterk verandert wanneer er in die bodem afbraak van groenbemesters plaats vindt. Deze veranderingen lijken vooral te worden veroorzaakt door de elementaire samenstelling van de ingewerkte groenbemesters en in mindere mate door de soort groenbemester. Wijziging van microbiom in de rhizosfeer door afbraak van gewasresten kan gepaard gaan met de onderdrukking van zaailingziekten veroorzaakt door *Rhizoctonia*, maar ook met een toename van de ziektedruk veroorzaakt door *Fusarium*. Dit geeft aan dat het mogelijk is om de samenstelling van plantmicrobiomen van gewassen met groenbemesters te veranderen, maar dat er meer inzicht nodig is in de functionele aspecten van de gewijzigde microbiomen.

5.3 Kennislacunes IV

Teeltmaatregelen zoals raskeuze, gewasrotatie, mengteelten, groenbemesters, organisch meststoffen en grondbewerking hebben invloed op de samenstelling van bodem- en plantmicrobiomen. Een beter inzicht in de relatie tussen teeltmaatregelen en gewenste microbiom functies, zoals verhoging plantweerbaarheid, is belangrijk voor telers om de beste keuze te kunnen maken.

- Er is weinig kennis over het gericht stimuleren van gewenste functies van plantmicrobiomen door middel van specifieke componenten in bemestingen of wortellexudaten (Bonanomi et al., 2018,2021; Pascale et al., 2020; Rizaludin et al., 2021).
- Er is meer kennis nodig over de belangrijkste plantsignalen voor het rekruteren en activeren van gunstige micro-organismen die de weerbaarheid van planten tegen abiotische en biotische stress verhogen (Mendes et al., 2018; Pascale et al., 2020; Rizaludin et al., 2021).
- Het is onduidelijk welke combinaties van agrarisch management het meest succesvol zijn om gewassen te laten profiteren van plant microbiomen (Arif et al., 2020; De Corato et al., 2020; Bonanomi et al., 2018,2021; Milan er al., 2020; Pineda et al., 2017).
- Welke rol spelen microbiomen bij effecten van chemische biostimulanten op gewassen (Lau et al., 2022)?
- Wat zijn de mogelijkheden om via microbiomen de hoeveelheid overlevingsstructuren van pathogenen in de bodem af te laten nemen?
- Kan de keuze voor succesvolle combinaties van gewassen worden gebaseerd op de effecten op samenstelling van microbiomen (De Corato, 2020)?

H6. Enquête Praktijkgerichte Onderzoekers

Met een schriftelijke enquête hebben we gecheckt of de door ons geconstateerde kennislacunes in het onderzoek naar plantmicrobiomen overeenkomt met de mening van personen die ervaring hebben met praktijkgericht onderzoek in land- en tuinbouw. De enquête bevatte 3 vragen en de strekking van de antwoorden is hier weergegeven, inclusief het aantal personen dat zo'n antwoord gaf. In totaal hebben 19 deskundigen hun mening gegeven. Bedrijf/onderzoeksinstelling zijn vermeld in het dankwoord.

Welke kennis over bodemmicroben/-microbioom is nodig om het gebruik voor agrarische doeleinden te verbeteren?

- Relatie tussen agrarisch management en microbioom samenstelling/functioneren (10)
- Relatie tussen microbiële functies en plant prestaties (10)
- Relatie tussen samenstelling en functioneren van microbiomen (7)
- Relatie tussen bodemeigenschappen en plantmicrobioom samenstelling (5)
- Relatie microbioom met andere bodemorganismen/ diversiteit/ voedselweb (5)
- Effect extreme weersomstandigheden op microbioom samenstelling (5)
- Beter inzicht in de belemmeringen voor microbiële inoculanten om zich te vestigen en actief te zijn onder praktijkomstandigheden (4)
- Relatie tussen microbioom samenstelling en nutriënten-voorziening voor gewassen (4)
- Effecten van veranderingen in microbioom op de aanwezige bodempathogenen (3)
- Relatie tussen microbioom samenstelling en broeikasgas-emissie (3)
- Veldproeven die de gevonden stimulatie door rassen/variëteiten van plant-ondersteunende micro-organismen bevestigen (2)
- Kennis over microbiomen in niet grondgebonden teelten (2)
- Aantonen van het bestaan van microbiële indicatoren: micro-organismen die een sleutelrol spelen bij plant-ondersteunende functies (2)
- Ontwikkeling statistische methoden om verschillende microbioom analyses goed met elkaar te kunnen vergelijken (1)
- Verdere ontwikkeling van cultiveren van micro-organismen (1)

Welke strategieën/methoden om micro-organismen in de land- en tuinbouw te benutten hebben de grootste kans van slagen?

- Combinatie microbiële inoculanten met hulpstoffen of bodem-management (9)
- Microbioom-functies beïnvloeden via agrarisch management (7)
- Betere aansluiting van onderzoek bij de praktijksituatie (5)
- Meer aandacht voor endofyten (3)
- Ontwikkelen van eenvoudig interpreteerbare meetsystemen voor agrariërs (3)
- Ontwikkelen van praktijk-relevante biotoetsen waarmee veel isolaten kunnen worden getest (2)
- Onderzoek naar de beste manier om microbiële inoculanten toe te dienen (2)
- Meer onderzoek aan producten/ managementstrategieën die al worden toegepast (2)
- Integratie van chemische en biologische bestrijding (1)

Zijn er naast effect op gezondheid/opbrengst van gewassen andere aspecten m.b.t. toepassing van bodemmicroben/-microbioom in land- en tuinbouw die onderzocht moeten worden?

- Vereenvoudiging van het registratieproces voor microbiële inoculanten (4)
- Humane gezondheidsaspecten (4)
- Risicoanalyse van geproduceerde microbiële metabolieten in praktijksituaties (3)
- Kosten/baten analyses voor telers (2)
- Effecten bodemtransplantaties (1)
- Houdbaarheid van microbiële producten (1)
- Kwaliteit/bewaarbaarheid van geoogste gewassen (1)
- Rol microbiomen bij afbraak pesticide residuen/ andere verontreinigen (1)
- Effect microbiomen op bodemeigenschappen (1)
- Effect op microbiomen op gewas-kwaliteit (1)

H7. Conclusies en aanbevelingen voor onderzoek

Diverse van de door ons gesignaleerde kennislacunes (I - IV) op basis van literatuuronderzoek en gesprekken met microbiom-onderzoekers worden ook door praktijkgerichte onderzoekers genoemd. Op basis hiervan hebben we de volgende kennislacunes samengevat als zijnde beperkend voor verdere voortgang in het benutten van plantmicrobiomen voor de land- en tuinbouw:

- De relatie tussen belangrijke gewassenmerken (groei, kwaliteit, weerbaarheid) en het plantmicrobioom (samenstelling en functies).
- Het ontrafelen van specifieke functies en genen die een sleutelrol spelen in de communicatie tussen plant en microbiom.
- Effect van agrarische management maatregelen op plantmicrobiomen.
- Hulpstoffen identificeren die specifieke microorganismen en gunstige functies in het microbiom activeren
- Beter begrip nodig over de interacties tussen microbiom en andere bodem-organismen (o.a. voedselweb).
- Verbetering van werking en consistentie van microbiële inoculanten in de praktijk.

Veel van deze kennislacunes houden verband met het algemene gevoel, zeker bij praktijkgerichte onderzoekers, dat er een kloof is tussen gecontroleerd microbiom onderzoek en de praktijk. Wat betreft de discrepantie tussen resultaten uit wetenschappelijk onderzoek en resultaten in de praktijk geeft een van de geënquêteerden (Aad Termorshuizen) de volgende mogelijke verklaringen:

- a) Resultaten van mislukte experimenten worden vaak niet gepubliceerd (*publication bias*)
- b) Er wordt onvoldoende robuust getest
- c) De experimentele set-up is geoptimaliseerd richting werkzaamheid (en daarmee afwijkend van de praktijkomstandigheden)
- d) De wetenschap kent andere prioriteiten, nl. vaak de moleculaire of ecologische aspecten van de microbiële interactie *sec* en niet de toepassingen; anders gezegd, wetenschappelijk onderzoek trekt zich terug zodra significante resultaten zijn gemeten. Ergens is daar ook wel wat voor te zeggen, het idee is dat de commercie het op een gegeven moment overneemt. Maar dat gebeurt klaarblijkelijk niet of onvoldoende.

Aanbeveling 1: Bij door LNV gefinancierde onderzoeksprojecten aan plantmicrobiomen moet de koppeling met de praktijk expliciet worden vormgegeven in de experimentele opzet en planning.

Ontwikkelingen in het fundamentele onderzoek aan plant-microbiomen geven wel richtingen aan die voor praktische benutting van plantmicrobiomen interessant kunnen zijn:

- Verschuiving van taxonomisch gericht onderzoek naar functie-gericht onderzoek, met daarbij focus op (plant) signaal-stoffen die gunstige microbiële functies stimuleren.
- Koppeling tussen plantengenen en rekrutering alsook activering van gunstige micro-organismen met plant-ondersteunende functies.
- Meer aandacht voor de rol die micro-organismen in fylosfeer en endosfeer hebben bij de weerbaarheid van planten.

Voor volgende stappen in doorgronden van functionaliteit van plantmicrobiomen is de koppeling tussen metagenomics, metatranscriptomics en chemie (identificatie, kwantificering metabolieten) essentieel.

Aanbeveling 2: In nieuwe fundamentele onderzoeksprojecten over plantmicrobiomen is integratie van ecologische, moleculair biologische en chemische onderzoeksdisciplines cruciaal om een beter inzicht te krijgen in de mechanismen waarmee microbiomen plantweerbaarheid kunnen stimuleren.

De meest onderzochte benaderingen om de werking van plantmicrobiomen ten gunste van gewassen in de praktijk te verbeteren, zijn het gebruik van microbiële inoculanten en het gericht stimuleren van al aanwezige gunstige micro-organismen. Beide benaderingen geven momenteel nog onvoldoende garantie op succes, maar er zijn nog veel mogelijkheden om dit te verbeteren. Met name kennis over ecologische processen die een regulerende rol spelen bij vestiging, overleving en activiteit van plant-ondersteunende micro-organismen kan daarbij helpen.

Aanbeveling 3: Kennis over ecologische processen en de regulatie van gunstige functies in het microbioom zijn belangrijk voor verbetering van de werking van geïntroduceerde microbiële inoculanten en van het al aanwezige natuurlijk microbioom in de praktijk.

Een aantal richtingen voor microbiële inoculanten die vanuit een ecologisch benadering onderzocht kunnen worden zijn:

- Gebruik maken van de metabolische capaciteiten van microbiële inoculanten om de kans op vestiging te vergroten via hulpstoffen of plant-exudaten.
- Verstoring van competitief vermogen van het aanwezige microbioom voorafgaand aan toediening van microbiële inoculanten.
- Aansluitend op het vorige punt: combineren van toediening van microbiële inocula met specifieke bodemmanagement strategieën.
- Meer aandacht voor de functionaliteit van endosfeer micro-organismen.
- Model-gebaseerd design en testen van syncoms in veldsituaties.

Bij het gebruik van teeltmaatregelen bestaat de discrepantie tussen het onderzoek en praktijk vooral uit het achterblijven van onderzoek. Successen en mislukkingen van teeltmaatregelen om weerbaarheid van gewassen te verhogen zijn vaak niet gekoppeld met onderzoek aan microbiomen. Vooral over de relatie tussen chemische samenstelling van bemestingen/ bodemverbeteraars en microbiom samenstelling en – functie is weinig bekend. Maar dat is juist de kennis die nodig is om te bepalen of gericht stimuleren van gewenste functies van plantmicrobiomen kan worden bereikt.

Aanbeveling 4: Veldonderzoek naar de relatie tussen plantweerbaarheid, chemische samenstelling van organische meststoffen/bodemverbeteraars en plantmicrobiomen is nodig om een betere voorspelling van de te verwachten effecten te kunnen geven.

Voor de rol die plantmicrobiomen spelen bij verschillen in weerbaarheid tussen cultivars wordt er steeds meer inzicht verkregen in de relatie tussen samenstelling wortellexudaten en plantmicrobioom functies. Voor de veldsituatie is dit echter nauwelijks onderzocht.

Aanbeveling 5: Veldonderzoek naar de relatie tussen plantweerbaarheid, chemische samenstelling van blad- en wortellexudaten en plantmicrobiomen is nodig om een betere voorspelling van de te verwachten effecten te kunnen geven.

Naast gewenste effecten kunnen veranderingen in plantmicrobiomen mogelijk ook ongewenste effecten (off-target effects) hebben. Stimulatie van pathogenen moet worden voorkomen evenals productie van toxische metabolieten in plantdelen die geoogst worden.

Aanbeveling 6: Er moet meer onderzoek worden gedaan naar effecten van aangebrachte wijzigingen in het plantmicrobioom op het pathobioom en op vorming van toxische metabolieten in de plant.

Naast deze algemene aanbevelingen zijn er in de verschillende hoofdstukken meer gedetailleerde onderzoeksvragen en onderwerpen aangegeven die een bijdrage kunnen leveren aan inzicht in het functioneren van microbiomen en de relevantie voor praktische toepassing. Praktische toepassing van microbiomen is niet alleen gebaat bij het voorgestelde (veelal fundamentele) onderzoek maar ook bij een verbetering/versimpeling van de registratie-procedure voor microbiologische producten. Dit valt buiten de scope van deze deskstudie.

8. Dankwoord

Voor het invullen van de enquête gaat onze hartelijk dank naar deelnemers van de volgende bedrijven en onderzoeksinstituten:

- Aad Termorshuizen Consultancy
- Bejo Zaden
- Ecostyle
- Germains
- Groen Agro Control
- Joordens Zaden
- Koppert
- Maan Group
- Protix
- Rijk Zwaan
- Soiltech
- WUR Plant Research, Biointeractions and Plant Health
- WUR Glastuinbouw & Bloembollen
- WUR Open Teelten

We thank Rodrigo Mendes, Veronica Massena Reis, Gabriel Barth, Samuel Julio Martins and Angela Sessitsch for sharing their knowledge on plantmicrobiomes with us.

9. Geraadpleegde literatuur

Microbiom: Samenstelling en Functie (H2 en H3)

- Arruda, Bruna., Paul B. L. George, Agnès Robin, Denise de L. C. Mescolotti, Wilfrand F. B. Herrera, Davey L. Jones, and Fernando D. Andreote. 2021. 'Manipulation of the Soil Microbiome Regulates the Colonization of Plants by Arbuscular Mycorrhizal Fungi'. *Mycorrhiza* 31: 545–58. <https://doi.org/10.1007/s00572-021-01044-3>.
- Arif, Inessa., Maria Batool, and Peer M. Schenk. 2020. 'Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience'. *Trends in Biotechnology* 38: 1385–96. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.015>.
- Ballhausen, Max-Bernhard and Wietse de Boer. 2016. 'The Sapro-Rhizosphere: Carbon Flow from Saprotrophic Fungi into Fungus-Feeding Bacteria'. *Soil Biology and Biochemistry* 102: 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.06.014>.
- Banerjee, Samiran and Marcel G. A. van der Heijden. 2022. 'Soil microbiomes and one health'. *Nature Reviews Microbiology* 21: 6-20 <https://www.nature.com/articles/s41579-022-00779-w>
- Berg, Gabriele., Daria Rybakova, Doreen Fischer, Tomislav Cernava, Marie-Christine Champomier Vergès, Trevor Charles, Xiaoyulong Chen, et al. 2020. 'Microbiome Definition Re-Visited: Old Concepts and New Challenges'. *Microbiome* 8: 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>.
- Bergelson, Joy., Benjamin Brachi, Fabrice Roux, and Fabienne Vaillau. 2021. Assessing the Potential to Harness the Microbiome through Plant Genetics. *Current Opinion in Biotechnology* 70: 167-173. <https://drive.google.com/file/d/1hU9Ax80l9FZz2FAMH2Xw0XqeqKYd-WaU/view>
- Bulgarelli, Davide., Ruben Garrido-Oter, Philipp C. Münch, Aaron Weiman, Johannes Dröge, Yao Pan, Alice C. McHardy, and Paul Schulze-Lefert. 2015. 'Structure and Function of the Bacterial Root Microbiota in Wild and Domesticated Barley'. *Cell Host & Microbe* 17: 392–403. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.01.011>.
- Clocchiatti, Anna., S. Emilia Hannula, Marlies van den Berg, Gerard Korthals, and Wietse de Boer. 2020. 'The Hidden Potential of Saprotrophic Fungi in Arable Soil: Patterns of Short-Term Stimulation by Organic Amendments'. *Applied Soil Ecology* 147: 103434. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103434>.
- Debray, Reena., Robin A. Herbert, Alexander L. Jaffe, Alexander Crits-Christoph, Mary E. Power, and Britt Koskella. 2022. 'Priority Effects in Microbiome Assembly'. *Nature Reviews Microbiology* 20: 109–21. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00604-w>.
- Eichmann, Ruth., Luke Richards, and Paul Schafer. 2021. Hormones as Go-Betweens in Plant Microbiome Assembly. *The Plant Journal* 105: 518-541. <https://doi.org/10.1111/tpj.15135>
- Faria, Mírian Rabelo de., Lilian Simara Abreu Soares Costa, Josiane Barros Chiaramonte, Wagner Bettiol, and Rodrigo Mendes. 2021. 'The Rhizosphere Microbiome: Functions, Dynamics, and Role in Plant Protection'. *Tropical Plant Pathology* 46: 13–25. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00390-5>.

- Hacquard, Stéphane., Stijn Spaepen, Ruben Garrido-Oter, and Paul Schulze-Lefert. 2017. 'Interplay Between Innate Immunity and the Plant Microbiota'. *Annual Review of Phytopathology* 55: 565–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035623>.
- Gao, Zhilei., Ida Karlsson, Stefan Geisen, George Kowalchuk and Alexandre Jousset. 2019. Protists: Puppet Masters of the Rhizosphere Microbiome. *Trends in Plant Science* 24: 165-176. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.10.011>
- Hartman, Kyle., Marcel G. A. van der Heijden, Raphaël A. Wittwer, Samiran Banerjee, Jean-Claude Walser, and Klaus Schlaeppi. 2018. 'Cropping Practices Manipulate Abundance Patterns of Root and Soil Microbiome Members Paving the Way to Smart Farming'. *Microbiome* 6: 14. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9>.
- Kobae, Yoshihiro. 2019. 'Dynamic Phosphate Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Under Field Conditions'. *Frontiers in Environmental Science* 6: 159 <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00159>.
- Krause, Sascha M.B., Stefan Bertilsson, Hans-Peter Grossart, Paul L.E. Bodelier, Peter M. van Bodegom, Jay T. Lennon, Laurent Philippot, and Xavier le Roux. 2022. 'Microbial Trait-Based Approaches for Agroecosystems'. *Advances in Agronomy* 175, 259–99. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2022.04.002>.
- Kellogg, Joshua., Seogchan Khan. 2020. Metabolomics, an Essential Tool in Exploring and Harnessing Microbial Chemical Ecology. *Phytobiomes Journal* 4: 195-210. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-04-20-0032-RVW>
- Kohl, Jürgen., and Ravensberg, Willem J. 2021. *Microbial Bioprotectants for Plant Disease Management*. Burleigh Dodds Science Publishing. <https://doi.org/10.19103/AS.2021.0093>.
- Lajoie, Geneviève., and Steven W. Kembel. 2019. 'Making the Most of Trait-Based Approaches for Microbial Ecology'. *Trends in Microbiology* 27: 814–23. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.06.003>.
- Leveau, Johan H.J. 2019. A brief from the leaf: latest research to inform our understanding of the phyllosphere microbiome. *Current Opinion in Microbiology* 49: 41-49 <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.002>
- Liu, Xiaojiao., S. Emilia Hannula, Xiaogang Li, Maria P.J. Hundscheid, Paulien J.A. Klein Gunnewiek, Anna Clocchiatti, Wei Ding, and Wietse de Boer. 2021. 'Decomposing Cover Crops Modify Root-Associated Microbiome Composition and Disease Tolerance of Cash Crop Seedlings'. *Soil Biology and Biochemistry* 160: 108343. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108343>.
- Ma, Ying., Maria Celeste Dias, and Helena Freitas. 2020. 'Drought and Salinity Stress Responses and Microbe-Induced Tolerance in Plants'. *Frontiers in Plant Science* 11: 591911. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591911>.
- Mendes, Rodrigo., Paolina Garbeva, and Jos M. Raaijmakers. 2013. 'The Rhizosphere Microbiome: Significance of Plant Beneficial, Plant Pathogenic, and Human Pathogenic Microorganisms'. *FEMS Microbiology Reviews* 37: 634–63. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>.
- Michalska-Smith, Matthew., Zewei Song, Seth A. Spawn-Lee, Zoe A. Hansen, Mitch Johnson *et al.* 2022. Network Structure of Resource Use and Niche Overlap within the Endophytic Microbiome. *ISME Journal* 16: 435-446 <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01080-z>
- Poudel, Mousami., Rodrigo Mendes, Lilian A. S. Costa, C. Guillermo Bueno, Yiming Meng, Svetlana Y. Folimonova, Karen A. Garrett, and Samuel J. Martins. 2021. 'The Role of Plant-Associated Bacteria,

- Fungi, and Viruses in Drought Stress Mitigation'. *Frontiers in Microbiology* 12:743512
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743512>.
- Poudel, R., A. Jumpponen, D. C. Schlatter, T. C. Paulitz, B. B. McSpadden Gardener, L. L. Kinkel, and K. A. Garrett. 2016. 'Microbiome Networks: A Systems Framework for Identifying Candidate Microbial Assemblages for Disease Management'. *Phytopathology* 106: 1083–96.
<https://doi.org/10.1094/PHTO-02-16-0058-FI>.
- Powell, Jeff R., and Matthias C. Rillig. 2018. 'Biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Ecosystem Function'. *New Phytologist* 220 : 1059–75. <https://doi.org/10.1111/nph.15119>.
- Raaijmakers, Jos M., and Mark Mazzola. 2016. 'Soil Immune Responses'. *Science* 352 1392–93.
<https://doi.org/10.1126/science.aaf3252>.
- Rodriguez, Patricia., Michael Rothballer, Soumitra P. Chowdhury, Thomas Nussbaumer, Caroline Gutjahr, and Pascal Falter-Braun. 2019. Systems Biology of Plant-Microbiome Interactions. *Molecular Plant* 12: 804–821. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.05.006>
- Rossmann, Maike., Juan E. Pérez-Jaramillo, Vanessa N. Kavamura, Josiane G. Chiamonte, Kenneth Dumack *et al.* 2020. Multitrophic Interactions in the Rhizosphere Microbiome of Wheat: from Bacteria and Fungi to Protists. *FEMS Microbiology Ecology* 96, fiae032
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiae032>
- Ryan, Megan H. and James H. Graham. 2018. 'Little Evidence That Farmers Should Consider Abundance or Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi When Managing Crops'. *New Phytologist* 220: 1092–1107.
<https://doi.org/10.1111/nph.15308>.
- Tao, Jiemeng., Xueduan Liu, Yili Liang, Jiaojiao Niu, Yunhua Xiao, Yabing Gu, Liyuan Ma, et al. 2017. 'Maize Growth Responses to Soil Microbes and Soil Properties after Fertilization with Different Green Manures'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 101: 1289–99. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7938-1>.
- Thiem, Dominika., Marcin Gołębiewski, Piotr Hulisz, Agnieszka Piernik, and Katarzyna Hryniewicz. 2018. 'How Does Salinity Shape Bacterial and Fungal Microbiomes of *Alnus Glutinosa* Roots?' *Frontiers in Microbiology* 9. 651 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00651>.
- Trivedi, Pankaj., Jan E. Leach, Susannah G. Tringe, Tongmin Sa, and Brajesh K. Singh. 2020. 'Plant–Microbiome Interactions: From Community Assembly to Plant Health'. *Nature Reviews Microbiology* 18 (11): 607–21. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>.
- Tsiknia, Myrto, Daniela Tsikou, Kalliope K Papadopoulou, and Constantinos Ehaliotis. 2021. 'Multi-Species Relationships in Legume Roots: From Pairwise Legume-Symbiont Interactions to the Plant – Microbiome – Soil Continuum'. *FEMS Microbiology Ecology* 97: fiae222.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiae222>.
- Vandenkoornhuysse, Philippe, Achim Quaiser, Marie Duhamel, Amandine le Van, and Alexis Dufresne. 2015. 'The Importance of the Microbiome of the Plant Holobiont'. *New Phytologist* 206): 1196–1206.
<https://doi.org/10.1111/nph.13312>.
- Vorholt, Julia A. 2012. 'Microbial Life in the Phyllosphere'. *Nature Reviews Microbiology* 10: 828–40.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2910>.
- Voort, Menno van der., Marcel Kempenaar, Marc van Driel, Jos M. Raaijmakers, and Rodrigo Mendes. 2016. 'Impact of Soil Heat on Reassembly of Bacterial Communities in the Rhizosphere Microbiome and Plant Disease Suppression'. *Ecology Letters* 19: 375–82. <https://doi.org/10.1111/ele.12567>.

Zancarini, Anouk., Johan A. Westerhuis., Age K. Smilde, Harro J. Bouwmeester. 2021. Integration of Omics Data to Unravel Root Microbiome Recruitment. *Current Opinion in Biotechnology*.70: 255-261. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.06.016>

Zhang, Wen-wen., Chong Wang, Rui Xue, and Li-jie Wang. 2019. 'Effects of Salinity on the Soil Microbial Community and Soil Fertility'. *Journal of Integrative Agriculture* 18: 1360–68. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62077-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62077-5).

Microbiële Inoculanten (H4)

Berg, Gabriele., Peter Kusstatscher, Ahmed Abdelfattah, Tomislav Cernava, and Kornelia Smalla. 2021. 'Microbiome Modulation—Toward a Better Understanding of Plant Microbiome Response to Microbial Inoculants'. *Frontiers in Microbiology* 12: 650610. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.650610>.

Berg, Gabriele., Jos M. Raaijmakers. 2018. Saving Seed Microbiomes. *ISME Journal* 12: 1167-1170. <https://doi.org/10.1038/s41396-017-0028-2>

De Long, Jonathan R., Marta A. Streminska and Caroline van der Salm (2021) Biostimulanten: Soorten en Werkingsmechanismen. Rapport WPR-1076. <https://edepot.wur.nl/551140>

Christie, Graham and Peter Setlow. 2020. *Bacillus* spore germination: Knowns, unknowns and what we need to learn. *Cellular Signaling* 74: 109729. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109729>

Czajkowski, Robert., Tomasz Maciag, Dorota M. Krzyzanowska and Sylwia Jafra, 2020. Biological Control Based on Microbial Consortia – From Theory to Commercial Products. In: A. De Cal et al. (eds.), *How Research Can Stimulate the Development of Commercial Biological Control Against Plant Diseases*, Progress in Biological Control 21. https://doi.org/10.1007/978-3-030-53238-3_12

Johns, Nathan I., Tomasz Blazejewski, Antonio LC Gomes and Harris H Wang. 2016. Principles for designing synthetic microbial communities. *Current Opinion in Microbiology* 2016, 31:146–153. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2016.03.010>

Hohmann, Pierre., Klaus Schlaeppli, and Angela Sessitsch. 2020. 'MiCROPe 2019 - Emerging Research Priorities towards Microbe-Assisted Crop Production'. *FEMS Microbiology Ecology* 96: fiae177 <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae177>.

Kaminsky, Laura M., Ryan V. Trexler, Rony J. Malik, Kevin L. Hockett,1 and Terrence H. Bell. 2019. The Inherent Conflicts in Developing Soil Microbial Inoculants. *Trends in Biotechnology* 37: 140-151. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.11.011>

Khan, Shams Tabrez. 2022. Consortia-based microbial inoculants for sustaining agricultural activities. *Applied Soil Ecology* 176: 104503. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104503>

Kohl, Jürgen., and Ravensberg, Willem J. 2021. *Microbial Bioprotectants for Plant Disease Management*. Burleigh Dodds Science Publishing. <https://doi.org/10.19103/AS.2021.0093>.

Kong, Zhaoyu., Miranda Hart and Hongguang Liu. 2018. Paving the Way From the Lab to the Field: Using Synthetic Microbial Consortia to Produce High-Quality Crops. *Frontiers in Plant Science* 9:1467.

Kusstatscher, Peter., Tomislav Cernava, Karsten Harms, Johann Maier, Herbert Eigner, Gabriele Berg, and Christin Zachow. 2019. 'Disease Incidence in Sugar Beet Fields Is Correlated with Microbial Diversity

- and Distinct Biological Markers'. *Phytobiomes Journal* 3: 22–30. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-01-19-0008-R>.
- Malusà, Eligio., Gabriele Berg, Arjen Biere, Anne Bohr, Loredana Canfora, Anne D. Jungblut, Wojciech Kepka, et al. 2021. 'A Holistic Approach for Enhancing the Efficacy of Soil Microbial Inoculants in Agriculture'. *Global Journal of Agricultural Innovation, Research & Development* 8: 176–90. <https://doi.org/10.15377/2409-9813.2021.08.14>.
- Marín, Olga., Bernardo González, and María Josefina Poupin. 2021. 'From Microbial Dynamics to Functionality in the Rhizosphere: A Systematic Review of the Opportunities With Synthetic Microbial Communities'. *Frontiers in Plant Science* 12, 650609. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.650609>.
- Mawarda, Panji Cahya., Xavier Le Roux, Jan D van Elsas, Joana Falcao Salles. 2020. 'Deliberate introduction of invisible invaders: A critical appraisal of the impact of microbial inoculants on soil microbial communities'. *Soil Biology & Biochemistry* 148: 107874 <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107874>
- Mitter, Birgit., Nikolaus Pfaffenbichler, Richard Flavell, Stéphane Compant, Livio Antonielli, Alexandra Petric, Teresa Berninger, et al. 2017. 'A New Approach to Modify Plant Microbiomes and Traits by Introducing Beneficial Bacteria at Flowering into Progeny Seeds'. *Frontiers in Microbiology* 8: 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00011>.
- Niu, Ben., Weixiong Wang, Zhibo Yuan, Ronald R. Sederoff, Heike Sederoff, Vincent L. Chiang and Rainer Borriss. 2020. Microbial Interactions Within Multiple-Strain Biological Control Agents Impact Soil-Borne Plant Disease. *Frontiers in Microbiology* 11: 585404. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.585404>
- Pirzada, Tahira., Barbara v. de Farias, Reny Mathew, Richard H. Guenther, Medwick v. Byrd, Tim L. Sit, Lokendra Pal, Charles H. Opperman, and Saad A. Khan. 2020. 'Recent Advances in Biodegradable Matrices for Active Ingredient Release in Crop Protection: Towards Attaining Sustainability in Agriculture'. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 48: 121–36. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.05.002>.
- Qiu, Zhiguang., Eleonora Egidi, Hongwei Liu, Simranjit Kaur, Brajesh K. Singh. 2019. 'New frontiers in agriculture productivity: Optimised microbial inoculants and in situ microbiome engineering. *Biotechnology Advances*' 37: 107371 <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.010>
- Ramezani, Moazzameh., Fatemeh Ramezani, and Mahyar Gerami. 2019. 'Nanoparticles in Pest Incidences and Plant Disease Control'. In *Nanotechnology for Agriculture: Crop Production & Protection*, 233–72. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9374-8_12.
- Roy, Karen de., Massimo Marzorati, Andrea Negroni, Olivier Thas, Annalisa Balloi, Fabio Fava, Willy Verstraete, Daniele Daffonchio, and Nico Boon. 2013. 'Environmental Conditions and Community Evenness Determine the Outcome of Biological Invasion'. *Nature Communications* 4 (1): 1383. <https://doi.org/10.1038/ncomms2392>.
- Sanches Santos., Mariana., Marco A. Nogueira¹ and Mariangela Hungria. 2019. 'Microbial inoculants: reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture'. *AMB Express* 9:205 <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0932-0>
- Salomon, M.J., R. Demarmels, S.J. Watts-Williams, M.J. McLaughlin, A. Kafle, C. Ketelsen, A. Soupire, H. Bücking, R. Cavagnaro, M.G.A. van der Heijden. 2022. 'Global evaluation of commercial arbuscular mycorrhizal inoculants under greenhouse and field conditions'. *Applied Soil Ecology*. 169: 104225. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104225>

- Shayanthan, Ambihai., Patricia Ann C. Ordoñez, and Ivan John Oresnik. 2022. 'The Role of Synthetic Microbial Communities (SynCom) in Sustainable Agriculture'. *Frontiers in Agronomy* 4: 896307 <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.896307>.
- Snelders, Nick C., Hanna Rovenich, Gabriella C. Petti, Mercedes Rocafort, Grardy C. M. van den Berg, Julia A. Vorholt, Jeroen R. Mesters, Michael F. Seidl, Reindert Nijland, and Bart P. H. J. Thomma. 2020. 'Microbiome Manipulation by a Soil-Borne Fungal Plant Pathogen Using Effector Proteins'. *Nature Plants* 6 : 1365–74. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00799-5>.
- Sergaki, Chrysi., Beatriz Lagunas, Ian Lidbury, Miriam L. Gifford, and Patrick Schäfer. 2018. 'Challenges and Approaches in Microbiome Research: From Fundamental to Applied'. *Frontiers in Plant Science* 9:1205. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01205>.
- Sessitsch, Angela., Nikolaus Pfaffenbichler, and Birgit Mitter. 2019. 'Microbiome Applications from Lab to Field: Facing Complexity'. *Trends in Plant Science* 24: 194–98. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.12.004>.
- Souza, Rafael Soares Correa de., Jaderson Silveira Leite Armanhi, and Paulo Arruda. 2020. 'From Microbiome to Traits: Designing Synthetic Microbial Communities for Improved Crop Resiliency'. *Frontiers in Plant Science* 11: 1179. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01179>.
- Trivedi, Pankaj .,Peer M. Schenk, Matthew D. Wallenstein and Brajesh K. Singh. 2017. 'Tiny Microbes, Big Yields: enhancing food crop production with biological solutions'. *Microbial Biotechnology* 10: 999-1003. <https://doi:10.1111/1751-7915.12804>
- Trivedi, Pankaj, Jan E. Leach, Susannah G. Tringe, Tongmin Sa, and Brajesh K. Singh. 2020. 'Plant–Microbiome Interactions: From Community Assembly to Plant Health'. *Nature Reviews Microbiology* 18: 607–21. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>.
- Vorholt, Julia A., Christine Vogel, Charlotte I. Carlström, and Daniel B. Müller. 2017. 'Establishing Causality: Opportunities of Synthetic Communities for Plant Microbiome Research'. *Cell Host & Microbe* 22: 142–55. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.004>.
- Wicks, A.S. and G.E Pinchuk. 2015. Porous matrices for culture and formulation of agriculture biopesticide and chemicals, issued 2015.USA patent 2015/03035347
- Worrall, Elizabeth., Aflaq Hamid, Karishma Mody, Neena Mitter, and Hanu Pappu. 2018. 'Nanotechnology for Plant Disease Management'. *Agronomy* 8: 285. <https://doi.org/10.3390/agronomy8120285>.

Verbeteren van plantenmicrobioom functies (H5)

- Andreo-Jimenez, Beatriz, Mirjam T. Schilder, Els H. Nijhuis, Dennis E. te Beest, Jaap Bloem, Johnny H. M. Visserd Gera van Os, Karst Brolsma, Wietse de Boer, Joeke Postma. 2021. Chitin- and Keratin-Rich Soil Amendments Suppress *Rhizoctonia solani* Disease via Changes to the Soil Microbial Community. *Applied and Environmental Microbiology* 87: e00318-21. <https://doi.org/10.1128/AEM.00318-21>
- Arif, Inessa., Maria Batool and Peer M. Schenk. 2020. Plant Microbiome Engineering: Expected Benefits for Improved Crop Growth and Resilience. *Trends in Biotechnology* 38: 12. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.015>

- Bonanomi, Giuliano., Mohamed Idbella and Ahmed M. Abd-ElGawad. 2021. Microbiota Management for Effective Disease Suppression: A Systematic Comparison between Soil and Mammals Gut. *Sustainability* 13: 760. <https://doi.org/10.3390/su13147608>
- Bonanomi, Giuliano., Matteo Lorito, Francesco Vinale and Sheridan L. Woo. 2018. Organic Amendments, Beneficial Microbes, and Soil Microbiota: Toward a Unified Framework for Disease Suppression. *Annual Review of Phytopathology* 56:1-20. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100046>
- De Boer, Wietse., Xiaogang Li, Annelein Meisner and Paolina Garbeva. 2019. Pathogen suppression by microbial volatile organic compounds in soils. *FEMS Microbiology Ecology* 95: fiz105. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz105>
- De Boer, Wietse., S. Emilia Hannula, Gerard Korthals, Maria Hundscheid, Anna Clocchiatti. 2021. Saprotröfe schimmels bieden perspectief voor verduurzaming landbouw. *Gewasbescherming* 52: 40-45 <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/545998>
- De Corato, Ugo. 2020. Soil microbiota manipulation and its role in suppressing soil-borne plant pathogens in organic farming systems under the light of microbiome-assisted strategies. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 7: 17. <https://doi.org/10.1186/s40538-020-00183-7>
- De Corato, Ugo. 2020. Disease-suppressive compost enhances natural soil suppressiveness against soil-borne plant pathogens: A critical review. *Rhizosphere* 13: 100192. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100192>
- Lau, Su-Ee., Wee F. A. Teo, Ee Y. Theoh, and Boon C. Tan. 2022. Microbiome Engineering and Plant Biostimulants for Sustainable Crop Improvement and Mitigation of Biotic and Abiotic stresses. *Discover Food*. 2-9 <https://link.springer.com/article/10.1007/s44187-022-00009-5>
- Mahmud, Kishan., Ali Missaoui, Kendall Lee, Bhawana Ghimire, Holly W. Presley, Shiva Makaju. 2021. Rhizosphere microbiome manipulation for sustainable crop production. *Current Plant Biology* 27: 100210. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100210>
- Mazzola, Mark and Shiri Freilich. 2017. Prospects for Biological Soilborne Disease Control: Application of Indigenous Versus Synthetic Microbiomes. *Phytopathology* 107: 256-263. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-16-0330-RVW>
- Mendes, Lucas W., Rodrigo Mendes, Jos M. Raaijmakers, Siu Mui Tsai. 2018. Breeding for soil-borne pathogen resistance impacts active rhizosphere microbiome of common bean. *ISME Journal* 12: 3038-3042. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0234-6>
- Panth, Milan., Samuel C. Hassler and Fulya Baysal-Gurel. 2020. Methods for Management of Soilborne Diseases in Crop Production. *Agriculture* 10:16. <https://doi.org/10.3390/agriculture10010016>
- Pascale, Alberto., Silvia Proietti, Iakovos S. Pantelides and Ioannis A. Stringlis. 2020. Modulation of the Root Microbiome by Plant Molecules: The Basis for Targeted Disease Suppression and Plant Growth Promotion. *Frontiers in Plant Science* 10: 1741. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01741>
- Pineda, Ana., Ian Kaplan, and T. Martijn Bezemer. 2017. Steering Soil Microbiomes to Suppress Aboveground Insect Pests. *Trends in Plant Science* 22: 9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2017.07.002>
- Raaijmakers, Jos M. and E. Toby Kiers. 2022. Rewilding Plant Microbiomes: Microbiota of crop ancestors may offer a way to enhance sustainable food production. *Science* 378: 599-600. <https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.abn6350>

- Rizaludin, Muhammad Syamsu., Nejc Stopnisek, Jos M. Raaijmakers and Paolina Garbeva. 2021. The Chemistry of Stress: Understanding the 'Cry for Help' of Plant Roots. *Metabolites* 11: 357. <https://doi.org/10.3390/metabo11060357>
- Toju, Hirokazu., Kabir G. Peay, Masato Yamamichi, Kazuhiko Narisawa, Kei Hiruma, Ken Naito, Shinji Fukuda, Masayuki Ushio et al. 2018. Core microbiomes for sustainable agroecosystems. *Nature Plants* 4: 247-257. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0139-4>
- Wallenstein, Matthew D. 2017. Managing and manipulating the rhizosphere microbiome for plant health: A systems approach. *Rhizosphere* 3: 230-232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.004>
- Yu, Rui-Peng., Hao Yang, Yi Xing, Wei-Ping Zhang, Hans Lambers, Long Li. 2022. Belowground processes and sustainability in agroecosystems with intercropping. *Plant & Soil* 476: 263-288. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05487-1>