

Application of Biostimulants in Agriculture

مقدمه:

لمه محرک رشد زیستی ظاهراً توسط متخصصان باغبانی برای توصیف موادی ابداع شده است که رشد گیاه را بدون داشتن مواد مغذی با بهبود دهنده خاک یا آفت‌کش‌ها افزایش می‌دهند. این محققین محرک‌های زیستی را به عنوان "موادی که در مقادیر اندک، رشد گیاه را تقویت می‌کنند" تعریف نمودند. هدف دانشمندان از استفاده از کلمات "مقادیر اندک" برای توصیف محرک‌های زیستی، متمایز نمودن محرک‌های زیستی از مواد مغذی و اصلاح‌کننده‌های خاک بود که رشد گیاه را افزایش می‌دهند و در مقادیر بیشتری استفاده می‌شوند (Du Jardin, 2015). در سال‌های اخیر، محرک‌های زیستی علاقه بسیاری از تولیدکنندگان محصولات کشاورزی را برانگیخته است چرا که اخیراً، بخش کشاورزی با چالش‌های همزمان افزایش بهره‌وری برای تغذیه جمعیت رو به رشد جهانی و افزایش کارایی استفاده از منابع و در عین حال کاهش اثرات زیست محیطی بر اکوسیستم و سلامت انسان مواجه است (Rouphael and Colla, 2020).

در سه دهه گذشته، چندین نوآوری تکنولوژیکی برای افزایش پایداری سیستم‌های تولید کشاورزی از طریق کاهش قابل توجه مواد شیمیایی کشاورزی مصنوعی مانند آفت‌کش‌ها و کودها پیشنهاد شده‌اند. یک نوآوری امیدوارکننده و سازگار با محیط زیست، استفاده از محرک‌های زیستی طبیعی گیاهی (PBS) است که گلدهی، رشد گیاه، تشکیل میوه، بهره‌وری محصول و کارایی مصرف مواد مغذی (NUE) را افزایش می‌دهد و همچنین قادر به بهبود تحمل در برابر طیفی گسترده از عوامل استرس‌زای زنده و غیر زنده است (Colla and Rouphael, 2015). در واقع محرک‌های زیستی گیاهی (PBS) به عنوان ابزاری برای افزایش عملکرد محصول، انعطاف‌پذیری در برابر تنش‌های محیطی و کارایی مصرف مواد مغذی در کشاورزی مدرن جذب علاقه می‌کنند.

PBها شامل مواد آلی و معدنی متنوع (اسیدهای هیومیک، اسیدهای آمینه و پروتئین هیدرولیزات) و همچنین پروکاریوت‌ها (به عنوان مثال، باکتری‌های محرک رشد گیاه) و یوکاریوت‌هایی مانند میکوریزا و ماکرو جلبک‌ها (جلبک‌های دریایی) هستند. ریزجلبک‌ها که شامل سیانوباکتری‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی (جلبک‌های سبز آبی) هستند، به دلیل ساختار تک سلولی ساده، راندمان فتوسنتزی بالا، توانایی رشد هتروتروفی، سازگاری با فاضلاب خانگی و صنعتی، قابلیت دست‌ورزی در مهندسی متابولیک و امکان تولید محصولات جانبی ارزشمند، توجه فزاینده‌ای را از سوی دانشمندان، متخصصان ترویج، صنایع خصوصی و پرورش‌دهندگان گیاهان به خود جلب کرده‌اند (Chiaiese et al. 2018).

همانطور که ذکر شد محرک‌های زیستی رشد و نمو گیاه را در طول چرخه زندگی محصول از جوانه‌زنی بذر تا بلوغ گیاه به روش‌های متعددی، از جمله: بهبود کارایی متابولیسم گیاه برای القای افزایش عملکرد و افزایش کیفیت محصول؛ افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی و بهبود آن، تسهیل جذب، انتقال و استفاده از مواد مغذی؛ افزایش ویژگی‌های کیفی محصول از جمله محتوای قند، رنگ، بذر میوه و غیره؛ بهره‌وری بیشتر مصرف آب؛ افزایش برخی خواص فیزیکوشیمیایی خاک و تقویت

رشد میکروارگانیزم‌های مکمل خاک تقویت می‌کنند. در ادامه به بررسی و نقش برخی از محرک‌های زیستی از جمله مایه تلقیح‌های میکروبی، هیومیک اسید، اسیدهای آمینه و عصاره جلبک‌های دریایی به طور اجمالی پرداخته می‌شود.

استفاده از عوامل میکروبی مفید

عوامل مفید میکروبی که به عنوان کودهای زیستی عمل می‌کنند به عنوان محرک‌های زیستی در بررسی حاضر در نظر گرفته می‌شوند. کودهای زیستی محصولات بیولوژیکی حاوی میکروارگانیزم‌های زنده هستند که وقتی روی بذر، سطوح گیاه یا خاک اعمال می‌شوند، با مکانیزم‌های متعددی مانند افزایش عرضه مواد مغذی، افزایش زیست توده ریشه یا سطح ریشه و افزایش ظرفیت جذب مواد مغذی گیاه، رشد گیاه را افزایش می‌دهند (Vessey, 2003). عوامل مفید میکروبی عمدتاً شامل باکتری‌های آزاد، قارچ‌ها و قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (AMF) هستند.

در طول توسعه مایه تلقیح‌های میکروبی مؤثر، عوامل متعددی باید در نظر گرفته شود. به عنوان مثال، گونه‌ها و تنوع گیاه گاهی می‌تواند عامل تعیین‌کننده‌ای در به دست آوردن مزایای استفاده از کودهای زیستی باشد (Dalmastri et al, 1999). گونه‌ها یا ارقام مختلف گیاهی می‌توانند انواع مختلفی از ترشحات ریشه تولید کنند که از فعالیت میکروارگانیزم‌های تلقیح شده حمایت می‌کنند و همچنین بستری را برای تشکیل مواد فعال بیولوژیکی توسط میکروارگانیزم‌ها به کار می‌برند (Khalid et al, 2004). اثرات مایه تلقیح‌های میکروبی باید در طیف وسیعی از انواع خاک و شرایط محیطی آزمایش شود. یکی دیگر از عوامل کلیدی برای توسعه مایه تلقیح‌های میکروبی، فرمول تجاری است (Bashan et al, 2014). میکروارگانیزم‌های تلقیح شده باید در فرمول انتخاب شده زنده بمانند و پس از تلقیح در مزرعه فعالیت مورد نظر را ایجاد کنند. همچنین، هنگامی که در کشاورزی متعارف استفاده می‌شود، میکروارگانیزم‌ها باید با کودهای شیمیایی و مواد شیمیایی حفاظتی که به طور استاندارد روی دانه‌ها یا شاخ و برگ محصول مورد استفاده قرار می‌گیرند سازگار باشند.

استفاده از PB های میکروبی مانند PGPR (باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاهان) و AMF نه تنها به عنوان ابزارهای پایدار و کارآمد برای تضمین ثبات عملکرد در شرایط کم‌ورودی به ویژه کمبود نیتروژن و فسفر (به عنوان مثال، اثرات کود زیستی) بلکه به عنوان یک فناوری نوآورانه برای بهبود تحمل محصول در برابر عوامل استرس‌زای غیر زنده در دماهای شدید، خشکسالی و شوری بسیار مورد توجه قرار می‌گیرند (Rouphael and Colla, 2020).

مکانیزم‌های متعددی از جمله تثبیت غیر همزیستی نیتروژن، محلول کردن عناصر غذایی، کلات کردن آهن با تولید سیدروفور و تولید ترکیبات فرار آلی برای افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش رشد گیاه بوسیله مایه تلقیح میکروبی عنوان شده است (غفاری نژاد و همکاران، ۱۳۹۹).

تانوار و همکاران (۲۰۱۴) اعلام کردند که استفاده از باکتری‌های PGPR گونه *Pseudomonas fluorescens strain MTCC103* برای کلم بروکلی در شرایط گلخانه سبب افزایش رشد گیاه، جذب مواد غذایی و عملکرد کلم بروکلی در صورت ترکیب با دوز توصیه شده کود سوپر فسفات شده است.

در یک مطالعه مزرعه ای سه ساله با ذرت، PGPR، AMF و ترکیبی از این دو باعث افزایش عملکرد و افزایش محتوای کل مواد مغذی دانه در کرت شد (Adesemoye et al, 2008). (Karlidag et al, 2013) از تلقیحات میکروبی برای کاهش استرس شوری استفاده نمودند. تلقیح با برخی از PGPR، از جمله سویه های *B. subtilis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus sphaericus* و *Staphylococcus kloeosii* سبب افزایش محتوای کلروفیل، محتوای مواد مغذی و عملکرد گیاهان توت فرنگی (*Fragaria ananassa*) رشد کرده در خاکهای با شوری بالا شده است.

به همین ترتیب، تلقیح کلزا تحت تنش شوری با *A. lipoferum* باعث افزایش معنی دار وزن اندام هوایی و ریشه شد. *Azospirillum lipoferum* همچنین سطح آنتی اکسیدان را در گیاهان افزایش داد. فرض بر این قرار گرفت که اثرات مثبت ناشی از تولید ACC-deaminase بوسیله باکتری است که باعث کاهش سطح اتیلن ناشی از شرایط شوری می شود (Baniaghil et al, 2013).

مواد هیومیک:

مواد هیومیک (HS) از طریق دگرگونی های شیمیایی و بیولوژیکی مواد گیاهی و حیوانی و از متابولیسم میکروبی تشکیل می شوند و مخزن اصلی کربن آلی در سطح زمین را نشان می دهند. آنها به تنظیم بسیاری از فرآیندهای مهم اکولوژیکی و زیست محیطی کمک می کنند. مواد هیومیک مخلوط های پیچیده و غیرهمگون با اندازه های مختلف می باشند. از اجزاء اصلی مواد آلی طبیعی در خاک، آب و همچنین ته نشست های آلی زمین شناسی مانند رسوبات دریاچه، پیت، زغال قهوه ای و شیلها هستند. آنها در ایجاد رنگ قهوه ای یا سیاه در خاک سطحی مشارکت دارند و رنگ قهوه ای بقایای گیاهی پوسیده بدلیل حضور مواد هیومیک است (Canellas, et al 2015). هیومیک و فولویک اسید در مقادیر زیاد از هوماتها استخراج شده که بطور طبیعی در انواع سنگ های آلی با مواد هیومیک بالا مانند لئوناردیت یا زغال سنگ نارس یافت میشوند. تقسیم بندی تعریف شده عملیاتی از مواد هیومیک بر اساس حلالیت آنها است و اولین بار توسط اسپرنگل در سال ۱۸۳۷ معرفی شد. دانشمندان خاک، اسیدهای هیومیک (HA) را به عنوان مواد هوموسی تعریف می کنند که در محلول های آبی قلیایی محلول هستند اما زمانی که pH در ۱-۲ تنظیم می شود رسوب می کنند. در مقابل، اسیدهای فولویک (FA) پس از اسیدی شدن عصاره های آبی قلیایی در محلول باقی می مانند (Hayes, 2006).

مواد هیومیک محلول، در روابط خاک مانند قابلیت دسترسی عناصر غذایی، تبادل اکسیژن و کربن بین خاک و اتمسفر و تغییر و تبادلات مواد شیمیایی سمی نقشهایی کلیدی انجام داده و فیزیولوژی گیاهی، ترکیب و روابط میکروارگانیسمهای ریزوسفر را نیز در خاک تحت تأثیر قرار میدهند (Piccolo and Spiteller, 2003).

Nardi et al, 2009، عنوان کردند که چگونگی تأثیر مواد هیومیک بر جذب یونها به نوع و غلظت مواد هیومیک، نوع گونه گیاهی و pH محیط بستگی دارد. مواد هیومیک سبب بهبود توسعه سیستم ریشه گیاه میگردند در نتیجه جذب عناصر غذایی کم و پرمصرف، افزایش میابد. پلی آنیونهای مواد هیومیک، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک را افزایش داده و سبب افزایش

جذب مواد مغذی میگردند (غفاریزاد و همکاران، ۱۳۹۹). خصوصیات ساختمانی ویژه مواد هیومیکی به گونه‌ای است که می‌تواند با کلات کردن یونهای فلزی در جذب آنها توسط گیاه موثر باشد (Berbara and García, 2014).
Asik et al, 2009 اعلام کرد هومیک اسید با کاهش معنی‌دار تبخیر، ظرفیت نگهداری آب در خاک را بخصوص در خاکهای خشک، با درصد رس کم، افزایش و مصرف آب را ۲۵ تا ۵۰ درصد کاهش داد که این مسئله از لحاظ اقتصادی در مناطق خشک بسیار مورد توجه است. مواد هیومیکی با ابقا و نگه داشتن عناصر غذایی حاصل از مواد آلی و یا کودهای شیمیایی به بهبود و حاصلخیزی خاک کمک میکنند به همین دلیل بسیاری از مواقع از آن به عنوان بهبود دهنده رشد گیاهان استفاده می‌گردد.

اسیدهای آمینه:

ترکیبات اسیدهای آمینه و مخلوط پپتیدها از هیدرولیز شیمیایی و آنزیمی پروتئینهای محصولات جانبی کشاورزی صنعتی، هم از منابع گیاهی (بقایای گیاهی) و هم حیوانی (مانند کلاژن، بافت های اپیتلیال) به دست می‌آیند (Du Jardin, 2012; Calvo et al., 2014; Halpernet al., 2015).

اثرات کلات کنندگی برای برخی از اسیدهای آمینه (مانند پرولین) گزارش شده است که ممکن است گیاهان را در برابر فلزات سنگین محافظت کند، اما به تحرک و جذب ریز مغذی‌ها نیز کمک می‌کند. فعالیت آنی‌اکسیدانی با از بین بردن رادیکال‌های آزاد توسط برخی از ترکیبات نیتروژن دار، از جمله گلیسین بتائین و پرولین، ایجاد می‌شود که به کاهش استرس محیطی کمک می‌کند. اثرات غیرمستقیم بر تغذیه و رشد گیاه هنگامی که هیدرولیزهای پروتئینی روی گیاهان و خاک اعمال می‌شود، مهم است. هیدرولیزهای پروتئینی سبب افزایش مقدار و فعالیت زیست توده میکروبی، تنفس خاک و به طور کلی حاصلخیزی خاک می‌گردد. به نظر می‌رسد اسیدهای آمینه و پپتیدهای خاص با کلات کردن و کمپلکس سازی عناصر غذایی به در دسترس بودن و جذب مواد مغذی توسط ریشه کمک می‌کنند (Calvo et al, 2014).

محصولات تجاری متعددی از پروتئین هیدرولیزات با منشا گیاهی و حیوانی در بازار عرضه شده است. اما در بسیاری از موارد بهبود قابل توجهی در عملکرد و صفات کیفی در محصولات کشاورزی و باغی گزارش شده است (Corte et al, 2014). بر اساس مطالعات انجام شده از طریق نشاندار کردن اسیدهای آمینه، مشخص شده که ریشه و برگ گیاهان قادر به جذب اسیدهای آمینه و پپتیدها است (Nardi et al, 2016).

عصاره جلبکهای دریایی

عصاره جلبکهای دریایی مخلوط پیچیده‌ای از موادی است که ترکیب آن بسته به منبع جلبک، فصل جمع آوری و روش عصاره‌گیری متفاوت است (Sharma et al, 2012)

عصاره جلبک به طور گسترده‌ای به عنوان مواد مورد استفاده برای کاهش تنش غیر زنده و افزایش بهره وری گیاه شناخته می‌شود. عصاره جلبک های دریایی از استخراج چندین گونه جلبک به دست می‌آید که بسته به روش استخراج منجر به تولید

مخلوط‌های پیچیده‌ای از ترکیبات فعال بیولوژیکی می‌شود (El Boukhari et al, 2020). جلبک‌های بزرگ یا ماکرو جلبکها همچنین محرک‌های زیستی موثری بر روی گیاهانی هستند که در شرایط تنش رشد می‌کنند (Petropoulos et al, 2020). اثرات مفید کاربرد عصاره جلبک دریایی، که به مکانیسم‌های متعدد نسبت داده می‌شود، شامل بهبود استقرار نهال، گلدهی و میوه‌دهی، و همچنین تحمل به طیف وسیعی از تنش‌های غیر زنده است. (Khan et al., 2009; Craigie, 2011; Battacharyya et al., 2015; De Pascale et al., 2018; Ertani et al., 2018).

طیف گسترده‌ای از مواد شیمیایی در عصاره جلبک دریایی شناسایی شده است، از جمله پلی ساکاریدها، فنولیک‌ها، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها، اسمولیت‌ها، فیتوهورمون‌ها و ترکیبات هورمون مانند که در سیگنال دهی واکنش گیاه به استرس غیرزیستی نقش دارند. (Khan et al., 2009; Battacharyya et al., 2015) گزارش شده است که استفاده از عصاره جلبک دریایی، جذب عناصر غذایی پرمصرف (نیترژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و گوگرد) و عناصر کم مصرف (آهن، منگنز و روی) را در گیاهانی مانند کاهو، انگور، سویا و گوجه فرنگی بهبود بخشیده است (Zodape et al, 2011). عنوان شده است که عصاره جلبک‌های دریایی به عنوان کلات کننده عمل می‌کند و جذب عناصر غذایی توسط گیاه، ساختمان خاک و تهویه خاک را بهبود می‌بخشد (González, 2013). Khan et al, 2009 عنوان کردند که استفاده از عصاره جلبک دریایی سبب افزایش عملکرد در گیاهان گردیده که این عمل ممکن است در اثر حضور هورمون‌های رشد نظیر سیتوکینین در آنها باشد. همچنین عصاره جلبک دریایی موجب گلدهی و تشکیل میوه زود هنگام در برخی گیاهان می‌گردد.

سایر مواد محرک رشد

پلیمرهای زیستی کیتوزان شکل استیل زدایی شده از بیوپلیمر کیتین است که به صورت طبیعی و صنعتی تولید می‌شود. پلی و الیگومرهای با اندازه‌های متغیر و کنترل شده در بخش‌های غذایی، آرایشی، پزشکی و کشاورزی استفاده می‌شود. ظاهراً کیتین و کیتوزان از گیرنده‌ها و مسیرهای سیگنالینگ مجزا استفاده می‌کنند. در میان پیامدهای سلولی اتصال کیتوزان به گیرنده‌های سلولی کم و بیش خاص، تجمع پراکسید هیدروژن و نشأت Ca^{2+} به سلول نشان داده شده است که انتظار می‌رود تغییرات فیزیولوژیکی بزرگی ایجاد کند، زیرا اینها نقشی کلیدی در سیگنال دهی به پاسخ‌های استرس و تنظیم توسعه بر عهده دارند (2015 Du Jardin, در نتیجه، مصارف کشاورزی کیتوزان در طول سال‌ها با تمرکز بر حفاظت از گیاهان در برابر پاتوژن‌های قارچی توسعه یافته است اما کاربردهای آن در کشاورزی گسترده تر بوده و جهت تحمل تنش غیرزیستی (خشکسالی، شوری، تنش سرما) و صفات کیفی مربوط به متابولیسم‌های اولیه و ثانویه نیز به کار می‌رود.

عناصر مفید، عناصر شیمیایی هستند که باعث رشد گیاه می‌شوند و ممکن است برای گونه‌های خاصی ضروری باشند اما برای همه گیاهان مورد نیاز نیستند. پنج عنصر مفید اصلی عبارتند از Al, Co, Na, Se, Si, که در خاک و گیاهان به صورت نمک‌های معدنی مختلف و به صورت فرم‌های نامحلول مانند سیلیس آمورفوس ($SiO_2 \cdot nH_2O$) در گونه‌های دانه دار وجود دارند.

عناصر مفید سبب ایجاد اعمالی در گیاهان مانند تقویت دیواره‌های سلولی برای رسوب سیلیس، یا در شرایط محیطی تعریف شده به عنوان مثال حمله پاتوژن برای سلنیوم و استرس اسمزی برای سدیم میشوند که میتواند برای گیاه سازنده باشد. بنابراین، تعریف عناصر مفید به ماهیت شیمیایی آنها محدود نشده و باید به زمینه‌ها و شرایط خاصی که در آن اثرات مثبت بر رشد گیاه و پاسخ به تنش ممکن است مشاهده شود نیز اشاره گردد.

زیست فعالی برخی از محرک‌های زیستی پیچیده، مانند عصاره جلبک‌های دریایی، بقایای گیاهان یا ضایعات حیوانی نیز ممکن است شامل عملکردهای فیزیولوژیکی عناصر مفید موجود در آنها باشد (Pilon-Smits et al, 2009).

منابع:

1. سید علی غفاریزاد، س. ع. نورقلیپو، ف و غیبی، م. ۱۳۹۹. محرک‌های رشد گیاهی، نقش آنها در فیزیولوژی گیاه، جذب عناصر غذایی و مقابله با تنش‌های محیطی. نشریه مدیریت اراضی، جلد ۸ شماره ۱۰ صفحه ۴۷ تا ۶۸. [10.22092/LMJ.2020.122310](https://doi.org/10.22092/LMJ.2020.122310)
2. Adesemoye, AO., Torbert, HA., Kloepper, JW. 2008. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant Soil* 272:201–209. doi:10.1007/s11104-004-5047-x
3. Baniaghi, IN., Arzanes, MH., Ghorbanli, M., Shahbazi, M. 2013. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters, antioxidant enzymes and microelements of canola under salt stress. *J Appl Environ Biol Sci* 3:17–2
4. Bashan, Y., De-Bashan, LE., Prabhu, SR., Hernandez, J-P. 2014. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology-formulations and practical perspectives (1998– 2013). *Plant Soil*. doi:10.1007/s11104-013-1956-x
5. Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P., Prithiviraj, B. 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic.* 196: 39–48. doi: 10.1016/j.scienta.2015.09.012
6. Berbara, R.L.L., García. A. C. 2014. Humic substances and plant defense metabolism. pp 297–319. In: Ahmad, P., Wani, M.R (eds) *Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment: volume 1*. Springer Science + Business Media, New York.
7. Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383(1-2): 3–41.
8. Canellas, L.P., Olivaresa, F.L., Aguiara, N.O., Jones, D.L., Nebbioso, A., Mazzei, P., Piccolo, A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013>
9. Colla, G., and Rouphael, Y. 2015. Biostimulants in horticulture. *Sci. Hortic.* 196: 1–2. doi: 10.1016/j.scienta.2015.10.044
10. Corte, L., Dell'Abate, M.T., Magini, A., Migliore, M., Felici, B., Roscini, L., Sardella, R., Tancini, B., Emiliani, C., Cardinali, G., Benedetti, A. 2014. Assessment of safety and efficiency of nitrogen organic fertilizers from animal-based protein hydrolysates—a laboratory multidisciplinary approach. *J. Sci. Food Agric.* 94:235–245.
11. Craigie, J. S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23: 371–393. doi: 10.1007/s10811-010-9560-4
12. Dalmastri, C., Chiarini, L., Cantale, C., Bevinino, A., Tabacchioni, S. 1999. Soil type and maize cultivar affect the genetic diversity of maize root-associated Burkholderia cepacia populations. *Microb Ecol* 38:273–284
13. De Pascale, S., Rouphael, Y., Colla, G. 2018. Plant biostimulants: innovative tool for enhancing plant nutrition in organic farming. *Eur. J. Hortic. Sci.* 82,277–285. doi: 10.17660/eJHS.2017/82.6.2
14. Du Jardin, P. 2012. The Science of Plant Biostimulants—A bibliographic analysis. Adhoc Study Report to the European Commission DG ENTR. http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/fertilizers/final_report_bio_2012en.pdf
15. El Boukhari, M.E.M.; Barakate, M.; Bouhia, Y.; Lyamlouli, K. 2020. Trends in seaweed extract based biostimulants: manufacturing process and beneficial effect on soil-plant systems. *Plants.* 9: 359. <https://doi.org/10.3390/plants9030359>
16. Ertani, A., Francioso, O., Tinti, A., Schiavon, M., Pizzeghello, D., Nardi, S. 2018. Evaluation of seaweed extracts from *Laminaria* and *Ascophyllum nodosum* spp. as biostimulants in *Zea mays* L. Using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. *Front. Plant Sci.* 9:428. doi: 10.3389/fpls.2018.00428

17. González A., J. Castro, J. Vera, A. Moenne. 2013. Seaweed oligosaccharides stimulate plant growth by enhancing carbon and nitrogen assimilation, basal metabolism, and cell division. *Journal of Plant Growth Regulations*. 32:443–448
18. Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., Yermiyahu, U. 2015. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*, Vol. 129, pp. 141–174.
19. Hayes, M.H.B. 2006. Solvent systems for the isolation of organic components from soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70, 986–994.
20. Karlidag, H., Turan, M., Pehlivan, M., Donmez, F. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria x ananassa*). *Hort Science* 48:563–567
21. Khalid, A., Arshad, M., Kahir, Z.A. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Appl Soil Ecol*, 96:473–480
22. Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A.T. Craigie, J.S., Norrie, J., Prithiviraj, B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulations*. 28:386–399.
23. Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A., Craigie, J., Norrie, J., Prithiviraj, B. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28: 386–399. doi: 10.1007/s00344-009-9103-x
24. Nardi, S., Carletti, P., Pizzeghello, D., Muscolo, A. 2009. Biological activities of humic substances. In: Senesi N, Xing B, Huang PM, editors. *Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems*. Vol 2. Hoboken, NJ: Wiley; p. 305–340
25. Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., Ertani, A. 2016. Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola* 73: 8-23.
26. Petropoulos, S.A. Practical applications of plant biostimulants in greenhouse vegetable crop production. *Agronomy* 2020, 10, 1569. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101569>
27. Piccolo, A., Spiteller, M. 2003. Electro spray ionization mass spectrometry of terrestrial humic substances and their size fractions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 377:1047–1059.
28. Pilon-Smits, E.A.H., Quinn, C.F., Tapken, W., Malagoli, M., Schiavon, M. 2009. Physiological functions of beneficial elements. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12,267–274
29. Roupheal, Y., Colla, G. 2020. Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Plant Sci.* doi: 10.3389/fpls.2020.00040
30. Sharma, S. H. S., Lyons, G., Mc Roberts, C., Mc Call, D., Carmichael, E., Andrews, F., Swan, R. McCormack, R., Mellon, R. 2012. Biostimulant activity of brown seaweed species from Strangford Lough: compositional analyses of polysaccharides and bioassay of extracts using mung bean (*Vigna mungo* L.) and pak choi (*Brassica Rapa chinensis* L.). *Journal of Applied Phycology*. 24:1081–1091.
31. Tanwar, A., Aggarwal, A., Parkash, V. 2014. Effect of bioinoculants and superphosphate fertilizer on the growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). *New Zealand J. Crop Horticul. Sci.* 42 (4), 288–302.
32. Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255:571–586. doi: [10.1023/a:1026037216893](https://doi.org/10.1023/a:1026037216893)
33. Zodape, S.T., Gupta, A., Bhandari, S. C. 2011. Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J. Sci. Ind. Res.* 70:215–219.

