

BIOSTIMULANTS AND ASSESING THE ROOTING OF STEM CUTTINGS



Bachelor's thesis (15 ECTS) in Agrobiology - Plant and Environmental Science

Student: Mads Rønby Priess Sørensen, 201510372, Department of Agroecology, Aarhus University

Head Supervisor: Karen Koefoed Petersen, Department of Food Science, Aarhus University

Co-supervisor: Inge Ulsted Sørensen, GartneriRådgivningen A/S, Agro Food Park



AARHUS UNIVERSITET



Abstract

This paper reviews some of the current scientific publications on the subject of biostimulants in relation to their ability to encourage rooting in plants. Furthermore, a study on two biostimulants was carried out in order to assess the biostimulants' ability to encourage and enhance rooting on stem cuttings. The two biostimulants used in this study was the seaweed extract from the algae *Ascophyllum nodosum*, Acadian® and the potassium phosphite Resibase. The test plants were *Petunia* and two strains of *Osteospermum ecklonis*. The aim was to see how the biostimulants behaved in three different situations. First, how the biostimulants supplied individually affected the rooting of the plants. Secondly, if supplied together, then assessing the additive effect. Thirdly, to determine if the biostimulants had a greater effect on strains of plant known to be bad at rooting than another strain from same species, known to have normal rooting. The study showed that the *Ascophyllum nodosum* extract, in fact, had a significant positive effect on *Petunia* and one *Osteospermum ecklonis* strain. However, potassium phosphite showed no significant effect.

Mads Rønby Priess Sørensen

Århus Juni 2018

Indhold:

Abstract.....	1
Indhold.....	2
1. Introduktion.....	4
1.1 Problemformulering.....	5
1.2 Hypoteser.....	5
2. Baggrund.....	6
2.1 Roddannelse.....	6
2.1.1 Auxin.....	6
2.2 Biostimulanter.....	7
2.2.1 Tangekstrakt.....	8
2.2.2 Kalifosfit.....	9
3. Materialer og metoder.....	12
3.1 Plantemateriale.....	12
3.2 Dyrkningsbetingelser.....	12
3.3 Drivhusklima.....	12
3.4 Behandlinger og forsøgsdesign.....	13
3.5 Bedømmelser af rodning.....	14
3.6 Tilvækstmålinger.....	15
3.7 Databehandling.....	15
3.7.1 Distribution.....	16
3.7.2 Homogenecitet.....	16
3.7.3 Analyse af varianser.....	17
3.7.4 Post hoc analyse.....	17
3.8 Pressevandsprøve.....	17
4. Resultater.....	19
4.1 Rodvækst.....	19
4.1.1 Petunia.....	19
4.1.2 Osteospermum ecklonis B.....	20
4.1.3 Osteospermum ecklonis C.....	20
4.2 Tørstofs målinger.....	20

4.3 Pressevandsprøve.....	22
5. Diskussion.....	23
6. Konklusion.....	26
7. Referencer.....	27

1. Introduktion

Gartneribranchen er udfordret af forskellige faktorer når det kommer til produktionen af eksotiske pryddplanter under danske forhold. Danmarks geografiske position betyder færre soltimer og lavere temperaturer i vinter og forårsperioden op til sommersæsonen og salgsperioden. Det er derfor vigtigt mål for gartneriet at få etableret sunde og robuste planter så tidligt som muligt. Normal praksis er at benytte syntetiske væksthormoner og pesticider, for at imødekomme dette mål. Med den stigende interesse for økologi, og med ønsket om innovative bæredygtige løsninger rettes blikket nu mod alternative produktionsformer og væksthæmmende midler.

I dette øje med, har biostimulanter et stort potential. Biostimulanter er stoffer som på den ene eller den anden måde, har en virkning på fysiologiske processer i planten. Biostimulanter har vist sig at have væksthæmmende- og jordforbedrende-effekter samt at kunne inducere forsvarsmekanismer i planter (Jardin 2015). Blandt biostimulanterne har tangekstrakter og mineralisk udvundet kalium fosfit vist sig at have de ovenstående egenskaber i større eller mindre grad.

Hvis tangekstrakt for alvor viser sig at have en positiv effekt i gartneribranchen, vil der her blive åbnet for en mulighed for en hidtil underudnyttet ressource. Økologisk tangproduktionen vil give muligheden for at producere en naturlig kilde til gødning, foder og biostimulanter i form af tangekstrakt. Det er tanken at naturligt ekstrakt fra tang vil give producenter muligheden for at opretholde et højt produktionsniveau, men med et mindre klimaaftryk. Desuden vil brugen af tangekstrakt og kalifosfit formentligt nedbringe risikoen for menneskelige skader, for de gartnerier der håndterer ellers ville have benyttet konventionelle syntetiske væksthormoner, og pesticider.

Denne opgave er lavet som et led i forbindelse med forfatterens bacheloruddannelse, Agrobiologi - Plante og Miljøvidenskab fra Aarhus Universitet. Opgaven er desuden et led i en undersøgelse, 'Forbedring af roddannelse', der er en del af GartneriRådgivningen A/S' projekt 'Bedre sundhed og kvalitet i potteplanter'.

Forsøget der danner grundlag for opgave, er opstillet som et praksisforsøg, der har til formål at undersøge, hvordan Acadian® og Resibase vil kunne bruges i forbindelse med produktionen på et gartneri.

Forsøget har fundet sted i perioden 8/02/2018-02/03/2018, på gartneriet Nordic Ornamentals ApS der er hjemmehørende i Brabrand DK 8220, Skibyvej 40. De to Biostimulanter er leveret af Kirsten Starkey, Technical manager hos Azelis Danmark A/S.

1.1 Problemformulering

Formålet med dette bachelorprojekt er at undersøge om der er en positiv virkning af tangekstraktet Acadian samt kalifosfit på dannelsen og udviklingen af stiklingers rødder. Dette formål imødekommes ved at teste tangekstraktet og kalifosfit hver for sig på to plantearter; *Petunia* og *Osteospermum*. Der indgår 2 sorter af *Osteospermum*, en med vanskelig og en med normal roddannelse. Derudover undersøges om der er en eventuel synergieffekt mellem tangekstrakt og kalifosfit ved at tilføre begge på samme tid.

1.2 Hypoteser

1. Tangekstraktet Acadian® og Resibase stimulerer hver for sig udviklingen af rødder i stiklinger af *Petunia* og *Osteospermum ecklonis*.
2. Samtidig tilførsel af tangekstraktet Acadian® og Resibase stimulerer udviklingen af rødder i stiklinger mere end den additive virkning af de to.
3. Tangekstraktet Acadian® og Resibase har større virkning i sorter med vanskelig roddannelse end i sorter med normal roddannelse.

Afgrænsning:

Denne opgave er afgrænset til at fokusere på, Acadian®'s og Resibase's potentielle rodforbedrende evner. Der er inddraget andre data, såsom forsøgsplanternes overjordiske vækst samt pressevandsanalyser. Disse data vil indgå i diskussionen, men konklusionen vil være baseret på dataene for rodningen af forsøgsplanterne

2. Baggrund

I dette afsnit redegøres der for nogle af de faktorer der spiller ind på planters roddannelse, i tråd med hvordan biostimulanterne kan indvirke på roddannelse. Desuden præsenteres to definitioner på ordet biostimulant og der gives en generel præsentation af hvad biostimulanter er. Derudover præsenteres de to biostimulanter som er udvalgt til dette projekt og der gives, på baggrund af hidtil forskning, en præsentation af deres biostimulerende effekter.

2.1 Roddannelse

Roden er et organ der har flere forskellige funktioner for planten. For det første virker roden som et anker og er dermed med til at holde planten forankret til vækstmediet. For det andet er roden det organ der sørger for optag af vand og næringsstoffer, og i nogle tilfælde oplagring af næringsstoffer. Roden er det organ der dannes, som det første fra et udviklende embryo. Den første rod der dannes kaldes primærroden, som vokser fra embryonet og vertikalt nedad i vækstmediet.

Fra den primære rod, dannes der sekundære laterale rødder. Væksten af disse, initieres fra celler i pericyklen, hvorfra de penetrerer corteks og epidemis. På den primære rod, og de sekundære laterale rødder, findes der rodhår som er lange tubulære celler med et stort overfladeareal, med det formål at kunne absorbere både vand og næringsstoffer optimalt (Hossain et al. 2015).

Af de 6 mest almindelige plantehormoner, auxiner, cytokininer, ethylener, abscisinsyrer, gibberiliner og brassinosteroider, bliver nogle af disse syntetiseret i roden. Roden er derfor også et vigtigt organ i forhold til vækst, ikke kun i rodregionen, men også i nye skud, ved sideknopper og andet væv (Evert & Eichhorn 2013)¹. Af disse plantehormoner har auxin, cytokinin og gibberilin, vækstoffremmende egenskaber. Studier af auxiner og cytokininer har vist at disse spiller en central rolle i roddannelsen.

2.1.1 Auxin

Auxin syntetiseres i områder i planten hvor, der sker cellevækst og celledelinger herunder skud regioner, i rodspidserne, spirende frø og unge blade. Auxiners hormonelle virkning på planten er initiering af celledeling, apical dominans og inhibering eller promovning af blomstring.

I forhold til roddannelse, er det auxin der kontrollerer væksten af laterale rødder. Auxin transporteres basipetalt og acropetalt. Når auxin transporteres fra skud spidserne gennem floemet til rodspidsen af den primære rod transporteres det basipetalt (Evert & Eichhorn 2013)².

Den acropetale transport sker, når auxin når til det apicale meristem ved rodspidsen. Her transporteres auxin nu opad gennem epidermis mod celler i pericyklen, hvor auxin aktiveres, og danner laterale rødder (Overvoorde et al. 2010). Det er derfor også en almindelig anerkendt metode at benytte syntetisk og naturligt syntetiseret auxin, heraf IAA og IBA, på stiklinger til formering af nye rødder. Forsøg med auxin i forhold til roddannelse har vist at auxin har en positiv virkning på roddannelsen (Mahipal & Manokari 2016). Auxin stimulerer også transskriptionen af visse gener ved at degraderer repressor proteiner. Disse gener kaldes SAUR *small auxin upregulated RNAs*, som findes i regioner af planten der normalt responderer på auxin (Hopkins & Hüner 2009)². Studier af SAUR gen familien har fundet frem til, at visse ektopisk udtrykte SAUR gener er med til at regulere positiv meristematisk aktivitet i planterødder på *Arabidopsis thaliana* (Markakis et al. 2013).

2.2 Biostimulanter

Biostimulanter er stoffer, der har en positiv effekt på plantevækst eller forsvarsmekanismer, og adskiller sig fra gødning og pesticider, da den positive effekt opnås gennem en stimulering af plantens fysiologiske processer. Definitionen på ordet biostimulant blev første gang givet af Zhang and Schmidt 1997, ”materials, other than fertilizers, that promote plant growth when applied in small quantities” (Jardin 2015). En anden definition er givet af Patrick du Jardin, ”Plant biostimulants are substances and materials, with the exception of nutrients and pesticides, which, when applied to plant, seeds or growing substrates in specific formulations, have the capacity to modify physiological processes of plants in a way that provides potential to growth, development and/or stress response” (Jardin 2012). Det vil sige, at en biostimulant godt kan have en næringsværdi, eller have en funktion som pesticid, men ud over dette skal stoffet have en stimulerende effekt på plantens egne fysiologiske processer.

Biostimulanter opdeles i tre overordnede kategorier, humic substances (HS), hormon containing products(HCP) og amino acid containing products(AACP). Her hører tangekstrakt til grupperne HCP og AACP. Kalifosfit falder lidt uden for disse kategorier da det hører til en gruppe af abiotiske fungicider, herunder klorid, fosfat, fosfit, silikat og karbonat. Ud over deres effekt som fungicider har de vist væksthæmmende effekt på planter derfor kan de accepteres som biostimulanter (Jardin 2015).

2.2.1 Tangekstrakt

Tang er blevet udnyttet af mennesker til forskellige formål siden præhistorisk tid og tang har længe spillet en rolle i landbruget. Det er dog først i det seneste århundrede at forskningen i tangs væksthemmende effekter på planter for alvor har taget fart (Craigie 2010).

I dette forsøg benyttes tangekstraktet Acadian®, jf. Materialer og metoder, som er et ekstrakt fra algen *Ascophyllum nodosum*. *Ascophyllum nodosum* tilhører ordnen *Fucales* under klassen *Phaeophyceae*, også kaldet brunalger, og er hjemmehørende i det meste af Atlanterhavet (Evert & Eichhorn 2013)³.

Brunalger indeholder flere forskellige elementer, her iblandt polysacariderne laminarin, fucoidan, manitol og alginate, samt 13 forskellige aminosyrer, der er tilgængelige i Acadian ekstraktet (Evert & Eichhorn 2013³; Starkey 2018). Desuden indeholder tangekstrakter fytohormonerne auxin, gibberilin, cytokinin og ethylen. Af disse er auxin og cytokin væksthormoner der fremmer cellevækst og potentielt rodvækst (Jardin 2015; Nabti et al. 2017; Sanderson et al. 1987.)

Det er veldokumenteret, at planter responderer positivt på behandling med tangekstrakt på en række forskellige områder, herunder plantevækst.

Specielt i forhold til øget rodvækst, er der masser af studier der peger på at behandling med tangekstrakt har en positiv effekt. Eksperimenter med *Ascophyllum nodosum* ekstrakt 0,5% tilført med spray til *Lycopersicon esculentum* (tomater) viste en øgning af rodmassens tørvægt på 99% relativt til kontrollen. Forsøget viste desuden en markant positiv effekt på en række andre områder, herunder rod:skud ratio, skud tørvægt og andelen af blomster pr. plante (Ali et al. 2016).

Lignende forsøg med *Ecklonia maxima* ekstrakt også tilført *Lycopersicon esculentum* viste ligesom (Ali et al. 2016), øget rodmasse og rod:skud ratio (Crouch & Van Staden 1992). Det har vist sig at tangekstrakts plantevækst forbedrende evner virker over en bred vifte af afgrøder. Indenfor hortikultur, har forsøg med *Ecklonia maxima* ekstrakt på *Tagetes patula* var. *Janie* (Fransk morgenfrue) og *Brassica oleracea* var. *capitata* (kål), vist at have rodforbedrende effekt. De Franske morgenfruer fik lov at vokse til 4 blads vækststadium hvorefter de blev omplantet og behandlet med forskellige koncentrationer af tangekstraktet Kelpak 66, herefter blev den rodforbedrende effekt evalueret. Tangekstraktets rodforbedrende effekt på planterne kan potentielt

nedbringe stress i forbindelse med omplantning, eller stikning, givet den effektive rodvækst (Aldworth & Van Staden 1987).

Fælles for mange af de nyere undersøgelser, der er lavet med tangekstrakt i forbindelse med roddannelse er, at forfatterne peger på den auxin lignende effekt tangekstrakten har på planterne. Rayorath et al. 2008 fandt frem til resultater, der pegede på øgede mængder auxin i planter behandlet med ekstrakt fra *Ascophyllum nodosum*. I forsøget blev en transgenetisk stamme af *Arabidopsis thaliana* (Almindelig gåsemad) med genet DR5:GUS, behandlet med destilleret vand (kontrol), IAA (auxin) samt *Ascophyllum nodosum* ekstrakt. DR5:GUS er et rapportergens, der responderer på auxin ved at promotoren DR5 udtrykker β -D-glucuronidase (GUS). På den måde kan man undersøge om planten responderer på eksogent auxin ved at undersøge GUS aktiviteten (Pozhvanov et al. 2013). *Arabidopsis* behandlet med IAA og *Ascophyllum nodosum* ekstrakt, viste tydelige spor af GUS aktivitet. For IAA behandlingen, var aktiviteten tydelig i hele planten og for tangekstrakt behandlingen var GUS aktiviteten størst i rødder, men der var også spor i skudspidserne (Rayorath et al. 2008).

2.2.2 Kalifosfit

Fosfit ($H_2PO_3^-$) er et uorganisk stof, bestående af et centralt placeret fosfor atom med en dobbelt binding til et oxygen atom, en enkelt binding til et oxygen atom O^- , en hydroxylgruppe, og en binding til et hydrogen (Gómez-Merino & Trejo-Téllez 2015). Kalifosfit er fosfit, med tre kalium atomer K^+ bundet til de tre oxygenatomer (K_3O_3P).

Fosfor som er den centrale del af fosfit, er et essentielt makronæringsstof. I planten findes fosfor i nukleinsyrene DNA og RNA, hvor fosfor i form af fosfat og sammen med deoxyribose, udgøre rygraden hvorpå baseparrene i DNA og RNA sidder. I metaboliske processer indgår fosfor i mange af intermediere, for eksempel som sukkerfosfater i calvin cyklen, der er nødvendig for kulstoffiksering. I plantens cellevæg, indgår fosfor i form af fosfat i fosfolipidets hoved, hvor det er bindeleddet mellem glycerol, og en alkohol (Berg et al. 2015).

Fosfor optages gennem rødderne, oftest i form af fosfat, enten monovalent, ($H_3PO_4^-$) eller divalent ($H_3PO_4^{2-}$) (Hopkins & Hüner 2009)² via proteiner i cellemembranen. Det viser sig at gen familien der koder for fosfat transport-proteinerne heriblandt Pht1, også er aktive i de dele af planten der er

over jorden og at fosfor dermed også kan tilføres via vanding af blade. Desuden viser det sig at fosfor transport-proteinerne også er i stand til at transportere fosfat analoge stoffer, heriblandt fosfit. (Nussaume et al. 2011).

På trods af at fosfit er en analog til fosfat, har fosfit meget begrænset til ingen næringsværdi for planter. Dette skyldes at planter mangler de biokemiske egenskaber der skal til for at oxidere fosfit til fosfat.

I et studie på algen *Chlamydomonas reinhardtii* blev det vist at der på vækstmedier hvor der var tilført lige mængder eller mere fosfit relativt til fosfor, var der en signifikant lavere vækst af alger. Studiet peger på at grunden til den hæmmede vækst kan være en konkurrence mellem fosfat og fosfit om at blive optaget i planten (Loera-Quezada et al. 2015). (López-Arredondob & Herrera-Estrella 2012) har vist at der dog er et stort potentiale i at benytte fosfit som alternativ P kilde hos transgenetiske planter der har fået inkorporeret genet *ptxD* der koder for en oxidoreduktase der gør planten i stand til at oxidere fosfit. På den måde kan fosfit benyttes som alternativ P kilde samtidig med at det virker som et bredspektret herbicid, og ukrudtsplanter vil blive udkonkurreret da de ikke er i stand til at metabolisere fosfitten. Andre studier med fosfit vist at hvis fosfit tilføres som fosfor kilde, uden andre plantetilgængelige fosfor kilder, kan dette have en direkte toksisk effekt på planten, og dermed hæmme væksten massivt. Gøder man kun sin plante med fosfit snyder man plantecellerne fordi, fosfit afbryder plantes respons på fosfat mangel, ved at inhibere produktionen af fosfatase enzymer. Plante cellen registrerer et tilpas fosfor niveau, men dette fosfor er ikke tilgængeligt (McDonald et al. 2001). Planter der gror under forhold med mangel på fosfor, responderer ved at øge rodvæksten i forsøget på at finde fosfor kilder, ved nærvær af fosfit i sådanne situationer, hæmmes rodvæksten markant (Varadarajan et al. 2002). Rodvæksten hæmmes dog ikke under optimale fosfor forhold.

Fosfits biostimulerende virkning på plantevækst er meget diskuteret, (Thao & Yamakawa 2009) fandt ligeledes frem til at fosfit ikke har en positiv effekt på plantevækst, tværtimod, i takt med at mængden af fosfit øgedes, blev plantevæksten hæmmet. (Thao & Yamakawa 2009) peger på at i studier hvor der vises en positiv effekt af fosfit i forhold til plantevækst er det derfor mere sandsynligt at det er mikroorganismer i jorden der har oxideret fosfit til fosfat, og dermed gør det tilgængeligt for planter som en fosfor kilde

På trods af de mange negative resultater i forbindelse med fosfits biostimulerende virkning på

rodvækst er der dog også positive resultater, i forbindelse med behandling af kaliumfosfit baserede formuleringer. (Glinicki et al. 2010) viste at behandling med Resistim havde en positiv effekt på rodudviklingen hos jordbærplanter. Resistim er dog ikke ren kaliumfosfit, selvom indholdet af kalium og fosfit, nogenlunde er det samme som Resibase. Resistim indeholder også biostimulanter, derfor er det uvist hvor stor del af rodvæksten, der skyldes den biostimulerende effekt, kontra kaliumfosfitten Ronglan-Azelis. På '*The 2nd World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture*' viste Dr. Ranjan Swarup positive resultater på rodvækst i forbindelse med behandling med produktet Kickstart® der er et fosfit baseret formulering med kalium og nitrogen (Omex 2018). Det har ikke været muligt at få fat i Dr. Ranjan Swarups artikel, derfor refereres der til Azelis power point præsentation om fosfit, samt conferenceprogrammet, (Ronglan-Azelis; Provesional Conference Program 2015).

Kaliumfosfit kan have biostimulerende effekter på planten i forhold til forsvar overfor patogener, og i forbindelse med stressresponser. Under optimale makro- og mikro-næringsstofforhold i jorden, øges mængden af antocyaniner hos jordbær (Estrada-Ortiz et al. 2013). Antocyaniner er et plantepigment, der blandt andet giver jordbærrene deres røde farve, derudover er antocyanin en antioxidant, der binder sig til aktive oxygen radikaler og dermed gør dem ufarlige for planten (Gould et al. 2002). Dermed kan fosfit ved at øge koncentrationen af antocyaniner, potentielt være med til at forsvare planten i forbindelse med oxidativt stress, som kan forekomme under suboptimale klimaforhold. Ved angreb fra mikroorganismer som svampe og bakterier responderer nogle planter ved at syntetiserer fytoalexiner der er et stof som virker antimikrobielt. (Lobato et al. 2011) viste at behandling med fosfit på kartofler, øgede koncentrationen af fytoalexiner i kartofler inkuberet med *Phytophthora infestans*. Fosfits evne til at øge syntesen af fytoalexiner bekræftes også af (Thao & Yamakawa 2009) der ifølge (Glinicki et al. 2010) også fandt frem til lignende resultater.

3. Materialer og metoder

3.1 Plantemateriale

Der er blevet udført forsøg på to forskellige plantearter, henholdsvis *Petunia* 'Raspberry Stripe' (PET) og *Osteospermum ecklonis*. Af *Osteospermum ecklonis* er der yderligere valgt to forskellige sorter, hvoraf den ene sort roder normalt 'Cape Daisy Magic Sunrise' (OSTB) og den anden sort har en vanskeligere rodning 'Cape Daisy Purple Eyecatcher' (OSTC).

De to sorter OSTB og OSTC er valgt, for at undersøge om biostimulanterne har større virkning i sorter med vanskelig roddannelse end i sorter med normal roddannelse. Plantematerialet er bestilt fra udenlandske importører; *Osteospermum ecklonis* er importeret fra Etiopien, og *Petunia* er importeret fra Israel. Plantematerialet ankom som stiklinger i partier af 900 for hver af PET, OSTB og OSTC.

3.2 Dyrkningsbetingelser

Der blev stukket af to omgange, da stiklingerne af PET ankom først, og OSTB og OSTC stiklingerne ankom en uge senere.

PET blev stukket den 8. februar 2018. 900 stiklinger blev stukket i papirpotter og puttet i ellepot plantebakke med plads til 84 planter fordelt på 7x12 pladser. Der blev stukket 75 stiklinger pr. bakke. Efter stikning var der i alt tolv bakker, der blev behandlet med 4 forskellige behandlinger med tre gentagelser pr. behandling. De tolv bakker blev placeret i tilfældig orden i forhold til behandling, på et rullebord for at minimere systematiske fejl. Herefter blev de tildækket med et vædet filtklæde, og igen tildækket med plastfilm.

OSTB og OSTC stiklingerne blev stukket den 14. februar. Der blev ligeledes stukket i papirbakker og stiklingerne blev overført til ellepot plantebakker. Da der for forsøgene med OSTB og OSTC var en behandling mere end for PET, blev der kun stukket 60 planter pr. bakke så der i alt var 15 bakker pr. sort, med 5 forskellige behandlinger med tre gentagelser pr. behandling. I alt 30 OSTB og OSTC bakker blev som PET placeret i tilfældig orden i forhold til behandling på et rullebord, og tildækket med vædet filt og plastfilm.

3.3 Drivhusklima

Klimabetingelser i drivhusproduktion varierer efter efterårstiderne, med hensyn til temperatur, lysindstråling etc. I perioden 8. februar - 5 marts 2018 var klimabetingelserne i Nordic Ornamentals ApS som følger;

Der var en gennemsnits temperatur på 20 °C med udsving mellem 19-22 °C. I tiden op til dataindsamling, hvor stiklingerne var dækket med vædet filt og plastfilm, var den relative luftfugtighed omkring planter i princippet omkring 100%, men dette blev ikke målt. Efter afdækning var den relative luftfugtighed mellem 60-65%. Stiklingerne har haft en 14 timers fotoperiode, herunder naturligt dagslys, og tilskudslys når det har været nødvendigt. Vanding er foretaget med et vandingssystem der benytter en vandingsbom oven over planterne. Vanding er foretaget 1-3 gange om dagen.

3.4 Behandlinger og forsøgsdesign

I dette forsøg testes to forskellige biostimulanter, kalifosfit Resibase og tangekstraktet Acadian®. Resibase er en ren kalifosfit med NPK forhold, 0-13-17 svarende til 13,1% fosfor og 16,6% kalium. Acadian® er et ekstrakt af brunalgen *Ascophyllum nodosum* og ekstraheres ved hydrolysering med kaliumhydroxid af producenten Acadian Seaplants Ltd Canada. Acadian® og Resibase markedsføres i Danmark af Azelis Denmark A/S (Starkey 2018).

I forsøget testes de to biostimulanter virkning hver for sig, og for en eventuel synergieffekt hvis de to biostimulanter påføres sammen. For forsøgene med PET benyttes der én kontrol der behandles med rent vand. For OSTB og OSTC, benyttes der to kontroller, en der behandles med rent vand, og en der behandles med gartneriets normale praksis, det vil sige der behandles med væksthormoner samt fungicider. Behandlingerne mærkes således at første bogstavet refererer til plantegruppe;

Plantearter:

- A. *Petunia*, Raspberry Stripe
- B. *Osteospermum ecklonis*, Cape Daisyr Magic Sunrise, med normal rodning
- C. *Osteospermum ecklonis*, Cape Daisyr Purple Eyecatcher, med vanskelig rodning

Behandlinger og kontroller

Rent vand (kontrol A), Gartneriets praksis Signum, fungicid + Pomoxon (kontrol B), Acadian® (behandling C), Resibase (behandling D) og Acadian+Resibase (behandling E).

Der blev vandet med 1L vand/behandling/gentagelse. For hver behandling blev der fremstillet vandige opløsninger; 3ml/L Acadian® og 1.5ml/L Resibase. For behandlingen med

Acadian®+Resibase 1:1, bruges samme koncentrationer, som for behandlingerne hver for sig. Der laves tre gentagelser pr. behandling mærket med 1, 2 og 3.

3.5 Bedømmelse af rodning

For at kunne kvantificere biostimulanternes virkning på roddannelsen blev der udarbejdet et karaktersystem, baseret på en visuel bedømmelse af enkelte papirpotter. Karakterskalaen går fra 1-5 ud fra følgende kriterier figur 1:

1. Ingen synlige rødder
2. 1-2 synlige rødder
3. > 3 synlige rødder på én side af papirpotten
4. > 3 synlige rødder på alle sider af papirpotten
5. > 3 synlige rødder på alle sider af papirpotten, samt synligt rodnet på underside af papirpotten

Bedømmelsen blev hele vejen igennem foretaget af den samme person, for at minimere systematiske fejl. Der blev foretaget to bedømmelser pr. kultur. Petunia blev bedømt 11 og 14 dage efter de blev stukket. Der blev under første måling bedømt 20 planter pr. behandling pr. gentagelse. Under anden måling blev der bedømt 40 planter pr. behandling pr. gentagelse.



Figur 1: *Osteospermum ecklonis* stiklinger med karakterer 1-5 fra venstre. Disse er stiklinger, udvalgt som referencer for den pågældende *Osteospermum ecklonis* sort, og lever op til karakterskalaen.

OSTB blev bedømt 13 og 19 dage efter stikning. OSTC blev bedømt markant senere end OSTB da det blev vurderet at ingen konstruktive målinger ville komme ud af at bedømme OSTC på samme tid som OSTB, grundet den sene rodning. OSTC blev derfor bedømt 23 og 29 dage efter stikning. For både OSTC og OSTB blev der ved første og anden måling bedømt 30 planter pr. behandling pr. gentagelse.

3.6 Tilvækstmålinger

Efter dataindsamlingen af rodudviklingen var afsluttet, blev biomassen af det overjordiske plantemateriale indsamlet. Der blev indsamlet biomasse fra 20 planter for hver gentagelse og behandling, af alle plantegrupper PET, OSTB og OSTC og bestemt friskvægt og tørvægt.

I tråd med opgavens afgrænsning, præsenteret i introduktionen, vil der ikke blive lavet dybdegående statistik på disse prøver, og der vil derfor ikke kunne drages nogle konklusioner på baggrund af resultaterne. Dog vil resultaterne give en ide omkring behandlingernes effekt på skud- stængel- og blad-vækst.

3.7 Databehandling

Dataindsamling blev foretaget på stedet og noteret på en papirblok, og efterfølgende indtastet i et excel ark, i programmet Microsoft® Excel til Mac Version 16.13. Statistisk analyse af datasættene blev foretaget i programmet RStudio Version 1.0.143 © - Inc.

I henhold til problemformuleringen og de tre hypoteser, som blev præsenteret i introduktionen, blev følgende statistiske arbejdshypoteser opstillet:

For OSTB og OSTC

$$H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D = \mu_E$$

H_1 : en eller flere af behandlingerne er forskellig fra hinanden.

For PET

$$H_0: \mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D = \mu_E$$

H_1 : en eller flere af behandlingerne er forskellig fra hinanden.

Hvor μ_x er middelværdierne for behandlingerne.

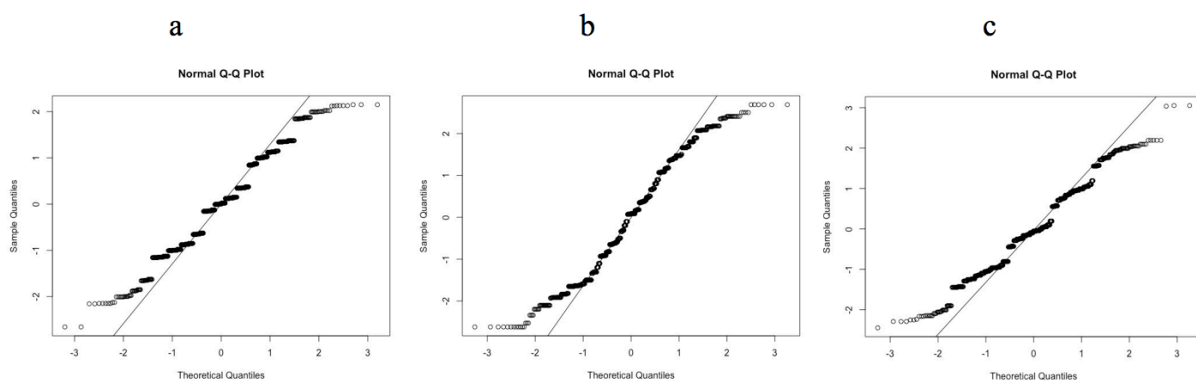
3.7.1 Distribution

Først blev der foretaget normaldistributionens test Shapiro-Wilk normality test, for at undersøge dataenes distribution. For Shapiro-Wilk testen var hypoteserne;

H_0 : Ikke forskellig fra normal distribution.

H_1 : Forskellig fra normaldistribution.

Med et signifikansniveau $p = 0.05$ blev nulhypotesen forkastet for alle datasættene, PET $p = 7.054 \cdot 10^{-09}$, OSTB $p = 1.304 \cdot 10^{-12}$ og OSTC $p = 9.637 \cdot 10^{-10}$. Det antages dermed at dataene ikke er normalfordelt, og dermed må være poisson fordelt. Denne antagelse bakkes op af qqnorm plottene i figur 2, der viser en grafisk fordeling af dataene.



Figur 2: Quantile-quantile graferne a, b og c vise distributionen af dataene for henholdsvis PET, OSTB og OSTC. Hvis dataene havde været normalfordelt ville de følge den diagonale linje. Det er dog ikke tilfældet, da de for alle tre sæt falder ud i enderne. Dermed antages det at dataene ikke er normalfordelt, og der benyttes poisson fordeling i den generelle lineære model.

3.7.2 Homogenecitet

Efter antagelsen at det er behandlingerne der har indflydelse på rodudviklingen, foretages der en homogenitets test for varianserne, Bartlett test of homogeneity of variance. For Bartlett testen var hypoteserne;

H_0 : varianserne er ens.

H_1 : varianserne er ikke ens.

Med et signifikansniveau $p = 0.05$ blev nulhypotesen godkendt for alle datasæt, PET $p = 0.4131$, OSTB 0.7117 og OSTC $p = 0.9439$. Dermed antages det at variationer i datasættene kan tilskrives behandlingerne.

3.7.3 Analyse af varianser

For at teste om der er en signifikant forskel mellem behandlingerne foretages der en ANOVA test jf. bilag 1. I henhold til nulhypoteserne for PET, OSTB og OSTC benyttes følgende model i en ANOVA test. Da forsøget ikke foregik i sterile laboratorie omgivelser, kan det ikke udelukkes at gentagelserne har haft en indvirkning på resultaterne, derfor tillægges denne faktor:

$$\text{lm}(\text{observation} \sim \text{behandling} + \text{gentagelser})$$

ANOVA testene viste med p værdierne, PET $p = 2.97 \cdot 10^{-12}$, OSTB $p = 8.84 \cdot 10^{-12}$ og OSTC $p = 2 \cdot 10^{-16}$ at der var en klar tendens til forskellighed mellem behandlingerne for alle plantegrupper. Dermed forkastes nulhypotesen og der er signifikante forskelle mellem behandlingerne for både PET, OSTB og OSTC. ANOVA tabellerne vises i bilag 1 og de lineære modeller i bilag 2

3.7.4 Post hoc analyse

Efter at have fastslået at der er signifikante forskelle på behandlingerne, er det interessante for dette forsøg at finde ud af hvilke behandlinger der er forskellige fra hindanden. Dette gøres med en multiple comparison test, eller Tukey's method. Tukey's method, er en test der sammenligner hver responsvariabel med hindanden. Det vil sige at i de tilfælde hvor gennemsnittene for behandlinger ligger uden for et bestemt interval, vil der være signifikante forskelle mellem gennemsnittene jf. bilag 3. Resultaterne af Tukey testen, vil blive præsenteret i resultatafsnittet.

3.8 Pressevandsprøve

Resultaterne af rodbedømmelsen, viste en tendens til forringet rodning i behandlingerne der havde fået Resibase, figur 3 resultater. På den baggrund var der grundlag for mistanke om forhøjede ledningstal for disse behandlinger og en pressevandsprøve blev indsamlet og sendt til analyseinstituttet AB Lennart Månsson International til videre analyse. AB Lennart Månsson International foretog en analyse af vandet og bestemte pH værdier, ledningstal samt diverse makro

og mikro-næringsstoffer for en gentagelse af behandlingerne A, C, D og E i PET. Optimalt skulle der laves analyser på alle gentagelser for alle behandlinger for både PET, OSTB og OSTC, dette var der dog ikke penge til. Derfor blev der tilfældigt udvalgt blandt gentagelserne for behandlingerne blandt Petunia.

Der blev den 14/6, umiddelbart inden aflevering af projektet, målt ledtal for behandlingerne.

Acadian®, Resibase og Acadian®+Resibase, blev opløst i destilleret vand, i samme koncentrationer som i fosøget. Ledtallene blev målt med en CWO Voltmatic Mesur. Ledningstallet i jorden er et udtryk for ioner i jorden, og et højt ledningstal kan give et højt osmotisk tryk på planteceller. Ledtal på 1 er normale for gødede jorde, høje lednings tal på 2-3 kan være skadelige for planten (Inge Ulsted).

4. Resultater

I dette afsnit præsenteres resultaterne for rodbedømmelse tabel 1, samt resultaterne af tørstofs målingerne figur 3, 4, 5 og pressevandsanalysen tabel 2. Gennemsnitskaraktererne for alle gentagelser præsenteres i tabel 1. Derudover gives der en redegørelse for hver enkelt plantegruppe hvor behandlingerne evalueres i forhold til deres respektable kontrolgruppe/grupper.

4.1 Rodvækst

Tabel 1 viser gennemsnits rodkarakteren for alle behandlingerne. Acadian® har for alle plantegrupper scoret højest i forhold til kontrolgrupperne.

For PET score Acadian®+Resibase næsthøjest, men klare sig stadig værre end kontrolgruppe A, herefter kommer Resibase der klare sig værst.

For OSTB score Acadian®+Resibase igen næsthøjest, men klare sig dårligere end både kontrolgruppe A og B. Resibase klare sig værre end både kontrolgruppe A og B.

For OSTC score Acadian®+Resibase næsthøjest, og klare sig dermed bedre end kontrolgruppe A og B. Resibase får laveste score og klare sig værre end kontrolgruppe A, men dog bedre end kontrolgruppe B.

Tabel 1 viser gennemsnitskaraktererne for behandlingerne i alle grupperne. Gennemsnitskarakteren er fundet ved at tage gennemsnittet af middelværdierne for hver af gentagelserne for hver enkelt behandling jf. bilag 4. Bogstaverne karraktergennemsnit noteret med samme bogstav er ikke signifikant forskellige fra hindanden.

	Gennemsnitskarakterer for rødder		
Behandling	PET	OSTB	OSTC
Kontrol A	3,14 b	2,81 b c	3,11 a b
Kontrol B	-	3,07 b	1,91 c
Acadian®	3,64 a	3,49 a	3,39 a
Resibase	2,86 b	2,47 c	3,00 b
Acadian®+Resibase	3,00 b	2,79 b c	3,19 a b

4.1.1 Petunia

Igennem ANOVA analysen blev det fastslået at der var signifikante forskelle på behandlingerne, Post Hoc analysen viste at der var signifikante forskelle på mellem nogle af behandlingerne jf. bilag 3. Hermed kan det fastslås at Acadian®, $p = 0.0000296$, havde en signifikant effekt på

roddannelsen. Resibase, havde ikke en effekt på roddannelsen. Acadian®+Resibase havde heller ikke en effekt på roddannelsen.

4.1.2 *Osteospermum ecklonis* B

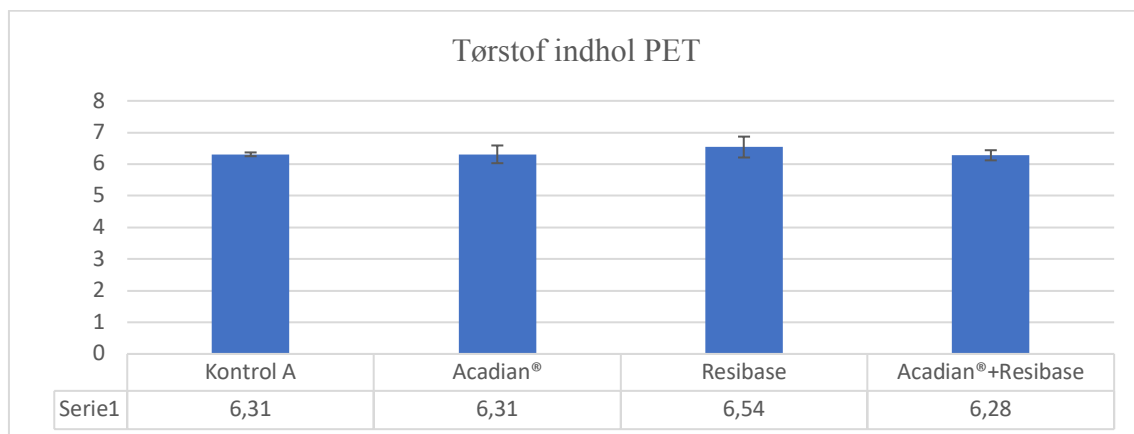
For OSTB blev der også signifikante forskelle mellem mindst en eller flere af behandlingerne. Acadian® havde en signifikant positive effekter på både kontrol A $p = 0,0000114$ og kontrol B $p = 0,0230496$. Resibase havde ikke en signifikant effekt i forhold til kontrol A, men viste sig dog at have en effekt i forhold til kontrol B $p = 0,0001795$. Acadian®+Resibase viste ingen effekt i forhold til hverken kontrol A eller B.

4.1.3 *Osteospermum ecklonis* C

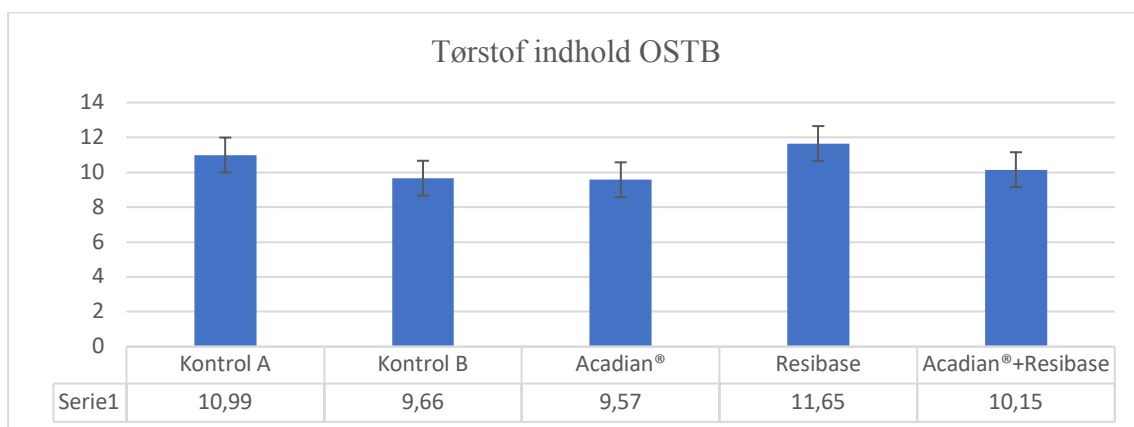
For OSTC viste Acadian® ingen signifikant effekt i forhold til kontrol A, men dog over for kontrol B $p = 0,0...0$. Resibase viste ingen effekt overfor kontrol A, men viste sig at have en effekt i forhold til kontrol B $p = 0,0...0$. Acadian®+Resibase viste sig, som både Acadian® og Resibase, ikke at have en effekt i forhold til kontrol af, men som de to andre, have denne behandling en effekt i forhold til kontrol B $p = 0,0...0$.

4.2 Tørstof målinger

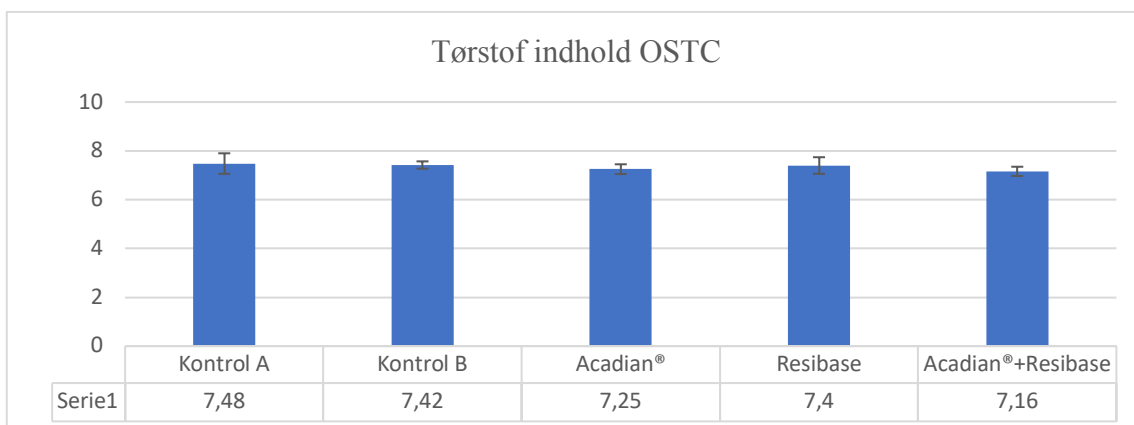
Der blev indsamlet plantemateriale til tørstof målinger, for at give en ide om hvilken effekt de forskellige behandlinger eventuelt kunne have på de overjordiske plantedele. Som det fremgår af figur 3, 4 og 5, er der ikke en stor tendens til øget vægts mellem behandlingerne. Acadian® klare sig på linje med, eller marginalt værre end kontrollerne i alle figurerne. Resibase klare sig bedre eller marginalt værre end kontrollerne i alle figurerne. Acadian®+Resibase, klare sig værre end kontrol A og B i PET og OSTC, men klare sig bedre end kontrol B i OSTB.



Figur 3 viser gennemsnits tørvægten af petunia. Med udgangspunkt i kontrol A, har Resibase givet en øgning af biomassen på 3.6% og Acadian®+Resibase har givet et fald i biomasse på 0.5%.



Figur 4 viser gennemsnits tørvægten af OSTB. Med udgangspunkt i kontrol A har Acadian® givet et fald i biomasse på 12.1%, Resibase har øget biomassen med 6% og Acadian®+Resibase har givet et fald på 7,6%.



Figur 5 viser gennemsnits tørvægten af OSTC. Med udgangspunkt i Kontrol A har Acadian® givet et fald i biomasse på 3.1%, Resibase har givet et fald på 1.1% og Acadian®+Resibase har givet et fald i biomasse på 4.3%.

4.3 Pressevandsprøve

Formålet med pressevandsprøverne var at underbygge en mistanke om forhøjet ledtal i jordvæsken, for behandlinger hvor Resibase indgik. Pressevandsprøverne viste at der for behandlingerne AD2 Resibase og AE1 Acadian®+Resibase rent faktisk var tegn på højere ledtal i forhold til kontrollen og Acadian®. Ledtallene, målt mS/cm, var henholdsvis 0.95, 0.90, 0.79 og AC3 for Resibase, Acadian®+Resibase, kontrol A og Acadian® tabel 2.

Tabel 2 er udarbejdet af AB Lennart Månsson International, og viser pH, Ledtal og næringsstof indhold for fire pressevandsprøver



VATTEN-analys

Ospecifiserat

Datum: 2018-03-26

Gartnerirådgivningen A/S
Agro Food Park 15
DK-8200 HORNSLET
DANMARK

Analysnummer: Provnamn:	21550 AA2 kontrol	21551 AC3 acadian	21552 AD2 resibase	21553 AE1 acadian + resibase
pH	6,7	6,8	6,6	6,6
Ledningstal mS/cm	0,79	0,73	0,95	0,90
Nitrat-N mg/l	32	31	51	52
Ammonium-N mg/l	4,9	2,9	4,5	3,0
Fosfor mg/l	3,3	3,7	8,6	7,8
Kalium mg/l	9,7	9,2	11	12
Magnesium mg/l	36	33	42	41
Svavel mg/l	38	35	39	33
Kalcium mg/l	97	92	120	110
Mangan mg/l	0,15	0,20	0,30	0,22
Bor mg/l	0,17	0,15	0,19	0,18
Koppar mg/l	0,72	0,89	0,79	0,65
Järn mg/l	0,59	0,61	0,64	0,61
Zink mg/l	0,62	0,62	0,58	0,43
Molybden mg/l	0,020	0,018	0,020	0,017
Kisel mg/l	9,8	10	10	9,5
Hårdhet dH	19	18	22	21
Natrium mg/l	13	10	14	15
Klorid mg/l	7,7	6,1	7,8	8,0
Aluminium mg/l	0,023	0,040	0,025	0,032

Umiddelbart op til afleveringen for projektet, blev ledtallene for de tre behandlinger Acadian®, Resibase og Acadian®+Resibase, målt, når de blev opløst i demineraliseret vand, i samme koncentrationer som i forsøget. Her viste behandlingerne følgende ledtal 0.62, 0.88 og 1.5 for henholdsvis Acadian®, Resibase og Acadian®+Resibase.

5. Diskussion

I det følgende afsnit evalueres resultaterne af forsøget i forhold til hypoteserne, præsenteret i introduktionen. Desuden diskuteres resultaterne i forhold til lignende undersøgelser præsenteret i baggrundsafsnittet.

Hypotese 1

Tangekstraktet Acadian® og kalifosfit, Resibase stimulerer hver for sig udviklingen af rødder i stiklinger af *Petunia* og *Osteospermum ecklonis*.

Acadian®

Acadian® havde for plantegrupperne PET og OSTB en signifikant positiv effekt på rodudviklingen hos stiklingerne, i forhold til kontrol A. Acadian® scorede højeste karakterer, når det blev tilført til PET, og næsthøjeste når det blev tilført OSTB. Dog skal resultaterne ses i lyset af at den indsamlede datamængden, blandt plantegrupperne, ikke er den samme. For PET blev der ved første karaktergivning bedømt 20 planter/behandling/gentagelse, og ved anden karaktergivning blev der bedømt 40 planter/behandling/gentagelse. For OSTB og OSTC blev der ved begge karaktergivninger bedømt 30 planter/behandling/gentagelse. Dette kan have påvirket resultaterne, og i fremtidige forsøg bør dataindsamlingen være ens for alle plantegrupper. For OSTB og OSTC viste det sig, at Acadian havde en signifikant positiv effekt i forhold til gartneriets egen praksis kontrol B. Der var dog også en signifikant forskel på kontrol A og B for OSTC, hvor kontrol B scorede meget lave rodkarakterer. Dette kunne tyde på, at der muligvis er forsøgstekniske fejl såsom overdosering. Forsøget bør derfor gentages for at teste dette.

Resultaterne for PET og OSTB stemmer overens med lignende forsøg lavet med tangekstrakter, både af *Ascophyllum nodosum* ekstrakt Acadian® (Ali et al. 2016), og ekstrakter af *Ecklonia maxima* (Crouch & Van Staden 1992). Disse forsøg er dog baseret på tomatplanter og ikke *Petunia* eller *Osteospermum ecklonis*. Det har ikke været muligt at finde artikler, der ligesom nærværende tekst, benytter PET, OSTB og OSTC som plantemateriale. Der er i det hele taget ikke lavet mange undersøgelser på pryddplanter og biostimulanter. Det sagt, så viste (Aldworth & Van Staden 1987) rodforbedrende effekter på *Tagetes patula* var. *Janie* (Franske morgenfruer). (Aldworth & Van Staden 1987) brugte dog Kelpak 66, der er en anden tangekstrakt baseret på *Ecklonia maxima* ekstrakt.

Den rodforbedrende effekt, Acadian® har vist på PET og OSTB, kan skyldes auxin fra tangekstraktet. Auxin er et nøgleelement i rodudviklingen, og syntetisk tilført auxin (IAA) har før vist sig at have rodforbedrende evner på planter (Mahipal & Manokari 2016). Det er derfor ikke usandsynligt, at planter responderer positivt på auxin tilført gennem Acadian®. *Arabidopsis* stiklinger har gennem bioessays vist positive responser på auxin aktivitet i rødder, efter tilførsel af Acadian® (Rayorath et al. 2008).

Resibase

For Resibase var der ingen signifikant forskel mellem behandlingerne i plantegrupperne PET, OSTB og OSTC i forhold til kontrol A. Dog viste det sig at der var signifikante forskelle mellem Resibase behandlingerne og kontrol B i plantegrupperne OSTB og OSTC. Resibase klarede sig værre end kontrol B hos OSTB, men klarede sig bedre end kontrol B hos OSTC. For OSTC kan forskellen muligvis forklares med samme argument som ved Acadian®. Der kan være tale om nogle forsøgstekniske elementer der er gået galt, hvilket har gjort at kontrol B klarede sig signifikant værre end kontrol A.

I forbindelse med forsøg med kalifosfit har det vist sig at fosfit har en toksisk effekt, hvis det påføres i for høje koncentrationer, eller i forbindelse med lave plantetilgængelige fosforværdier (Thao & Yamakawa 2009; McDonald et al. 2001). Pressevandsanalysen taget i betragtning, er der ikke noget der tyder på at fosforværdierne har været for lave, dog viser samme analyse at ledtallene har været højere i Resibase behandlingerne end for behandlingen af kontrollen og for Acadian®. Ledtallene er dog ikke så høje at de er på et kritisk niveau. Pressevandsprøverne blev indsamlet på et sent tidspunkt, derfor kan værdierne have været højere i starten af forsøget. Resibases dårlige resultater i forhold til rodforbedring kan være konsekvensen af en for høj koncentration af fosfitten. Det kunne i den forbindelse være interessant at undersøge forskellige laverer koncentrationer og evaluere resultaterne af disse.

Tørvægts målingerne viser en svag tendens til at Resibase kunne have en positiv effekt på vægsten af de overjordiske plantedele.

Hypotese 2

Samtidig tilførsel af tangekstraktet Acadian® og Resibase stimulerer udviklingen af rødder i stiklinger mere end den additive virkning af de to

Behandlingen Acadian®+Resibase viste sig ikke at være signifikant forskellig fra kontrol A for alle tre plantegrupper. Det viste sig dog at denne behandling var signifikant forskellig fra kontrol B i for OSTC. Dette kan skyldes fornævnte mistanke om forsøgstekniske elementer der er gået galt.

Acadian®+Resibase behandlingen er heller ikke signifikant forskellig fra nogle af Resibase behandlingerne, det er dog værd at bemærke at de i gennemsnit score højere karakterer. Dette kan skyldes at den potentielt negative effekt Resibase behandlingen har på planterne, opvejes af de positive effekter fra Acadian®.

Hypotese 3

Tangekstraktet Acadian og kalifosfit har større virkning i sorter med vanskelig roddannelse end i sorter med normal roddannelse.

OSTC var *Osteospermum ecklonis* sorten, kendt for vanskelig rodning, dét stod allerede klart første gang der skulle bedømmes rødder for OSTB og OSTC, hvor der i ingen af behandlinger for OSTC viste sig nogen rødder. Bedømmelsen blev derfor udskudt yderligere 6 dage. Resultaterne viser at ingen af behandlingerne havde en signifikant effekt i forhold til kontrol A. Dog var alle behandlingerne signifikant forskellige fra kontrol B. For OSTB sorten med normal rodning viste Acadian® en signifikant forskel overfor både kontrol A og B. Resibase viste ikke en signifikant forskel overfor Kontrol A, men det viste sig at denne behandling havde klaret sig værre i forhold til Kontrol B. Det tyder ikke på at biostimulanter har haft en større virkning i sorter med vanskelig rodning i forhold til sorter med normal rodning.

6. Konklusion

Biostimulanterne Acadian® og Resibase har vist varierende resultater i forhold til deres evner som rodvækst fremmere.

Resultaterne af denne opgave viser en klar positiv tendens til at Acadian® kan benyttes som rodforbedrende middel i forbindelse med produktion af prydplanter. Denne tendens viser sig når Acadian® bruges på PET og OSTB. Acadian® viser ikke tegn på at kunne fremme væksten bedre på hos sorter med vanskelig rodning, og derfor bør sortsvalget overvejes hvis Acadian skal benyttes som væksthjælper. Resultaterne af denne opgave viser dog At Acadian er signifikant bedre end gartneriets egen praksis, men der er tvivl om hvorvidt dette resultat er en konsekvens af forsøg tekniske fejl. Set i lyset af resultaterne for Resibase kan denne biostimulant ikke anbefales at bruges som rodvæksthjælper på plantegrupperne PET OSTB og OSTC. Om dette er grundet en forhøj koncentration af Resibase står ikke klart.

Der har ikke vist sig at være nogen signifikant additiv effekt ved behandling med Acadian® og Resibase sammen, dette gælder for alle plantegrupperne i dette forsøg.

7. Referencer

- Aldworth S.J., Van Staden J. (1987) The effect of seaweed concentrate on seedling transplants. *South African Journal of Botany*, 53, 187- 189
- Ali N., Farrell A., Ramsubhag A., Jayaraman J. (2016) The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology*, 28, 1353-1362 DOI 10.1007/s10811-015-0608-3
- Berg J.M., Tymoczko J.L., Gatto, Jr G.J., Stryer L. (2015) Chapter 4 DNA, RNA, and the Flow of Genetic Information. Kate Ahr Parker. *Biochemistry eight edition*. 105-134. United States of Amerika, W. H. Freeman and Company Publishers
- Craigie J.S. (2010) Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*. (2011) 23:371–393 DOI 10.1007/s10811-010-9560-4
- Crouch I.J., Van Staden J. (1992) Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Journal of Applied Phycology*, 4, 291-296
- Estrada-Ortiz E., Trejo-Téllez L. I., Gómez-Merino F. C., Núñez-Escobar R., Sandoval-Villa M. (2013) The effects of phosphite on strawberry yield and fruit quality. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13, 612-620, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162013005000049>
- Evert R.F., Eichhorn S.E., (2013)¹ Chapter 24 The Root: Structure and Development. Peter Marshall, *Raven Biology of Plants eighth edition*, 558-578. United States of America, W. H. Freeman and Company Publishers
- Evert R.F., Eichhorn S.E., (2013)² Chapter 21 Regulating Growth and Development: The Plant Hormones. Peter Marshall, *Raven Biology of Plants eighth edition*, 558-578. United States of America, W. H. Freeman and Company Publishers
- Evert R.F., Eichhorn S.E., (2013)³ Chapter 15 Protists: Algae and Heterotrophic Protists. Peter Marshall, *Raven Biology of Plants eighth edition*, 317-365. United States of America, W. H. Freeman and Company Publishers
- Glinicki R., Sas-Paszt L., Jadczyk-Tobjasz E. (2010) The effect of plant stimulant/fertilizer “Resistim” on growth and development of strawberry plants. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 18(1), 111-124,
- Gómez-Merino F.C., Trejo-Téllez L.I. (2015) Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 196, 82-90, <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.035>
- Gould K. S., Mckelvie J., Markham K.R. (2002) Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant, Cell and Environment*. 25, 1261–1269

Hopkins G.W., Hüner N.A. (2009)¹ 18 Hormones I: Auxins. Kaye Pace, *Introduction to Plant Physiology Fourth edition*. 305-321. United States of America, Wiley - John Wiley & Sons, Inc.

Hopkins G.W., Hüner N.A. (2009)² 4 Plants and Inorganic Nutrients. Kaye Pace, *Introduction to Plant Physiology Fourth edition*. 305-321. United States of America, Wiley - John Wiley & Sons, Inc.

Hossain MD S., Joshi T., Stacey G. (2015) System approaches to study root hairs as a single cell plant model: current status and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*. 6, DOI:[10.3389/fpls.2015.00363](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00363)

Jardin P. (2012) The Science of Plant Biostimulants - A bibliographic analysis. *Final Report for EU*. Contract 30-CEO455515/00-96. p. 37

Jardin P. (2015) Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*. 196, 3–14

Jones B., Gunnera S.A., Petersson S.V., Tarkowski P., Graham N., May S., Dolezal K., Sandberg G., Ljungb K. (2010) Cytokinin Regulation of Auxin Synthesis in Arabidopsis Involves a Homeostatic Feedback Loop Regulated via Auxin and Cytokinin Signal Transduction. *The Plant Cell*, 22, 2956-2969

Lobato M.C., Machinandiaarena M.F., Tambascio C., Dosio G.A.A., Caldiz D.O., Daleo G.R., Andreu A.B., Olivieri F.P. (2011) Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *European Journal of Plant Pathology*. 130, 155–163, DOI 10.1007/s10658-011-9741-2

Loera-Quezada M.M., Leyva-González M.A., López-Arredondob D., Herrera-Estrella L. (2015) Phosphite cannot be used as a phosphorus source but is non-toxic for microalgae. *Plant Science*. 231, 124–130, <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.11.015>

Overvoorde P., Fukaki H., Beeckman T. Auxin Control of Root Development. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2, doi: [10.1101/cshperspect.a001537](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001537)

López-Arredondob D., Herrera-Estrella L. (2012) Engineering phosphorus metabolism in plants to produce a dual fertilization and weed control system. *Nature Biotechnology*. 30, 889–893, doi:10.1038/nbt.2346

Mahipal S.S., Manokari M. 2016 Impact of Auxins on Vegetative Propagation through Stem Cuttings of *Couroupita guianensis* Aubl.: A Conservation Approach. *Scientifica*, 2016, Article ID 6587571, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6587571>

Markakis M.N., Boron A.K., Van Loock B., Saini K., Cirera S., Verbelen J., Vissenberg K. (2013) Characterization of a Small Auxin-Up RNA (SAUR)-Like Gene Involved in Arabidopsis thaliana Development. *PLoS ONE*. 8(11), e82596. doi:10.1371/journal.pone.0082596

- McDonald A.E., Grant B.R., Plaxton W.C. (2001) Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *Journal of Plant Nutrition* 24(10), 1505-1519
- Moyo M., Aremu A.O., Plačková L., Plíhalová L., Pěňčík A., Novák O., Holub J., Doležal K., Van Staden J. (2018) Deciphering the growth pattern and phytohormonal content in Saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia*) in response to in vitro cytokinin application. *New BIOTECHNOLOGY* 42, 85–94
- Nabti E., Jha B., Hartmann A. (2017) Impact of seaweeds on agricultural crop production as biofertilizer. *International Journal of Environmental and Technology*. 14, 1119–1134, DOI 10.1007/s13762-016-1202-1
- Nussaume L., Kanno S., Javot H., Marin E., Pochon N., Ayadi A., Nakanishi T.M., Thibaud M. (2011) Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. *Frontiers in Plant Science*. 2, 83, <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00083>
- Omex (2018) <http://www.omex.co.uk/product/Kickstart/>
- Pozhvanov G.A., Shavarda A.L., Medvede S.S. (2013) Quantitative Analysis of IAA in *DR5::GUS* Transgenic Arabidopsis Plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 60, 431–436.
- Provesional Conference Program (2015) The 2nd World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Monday 16th - Thursday 19th November, 2015 Florence Convention Centre, Italy
- Rayorath P., Jithesh M.N., Farid A., Khan W., Palanisamy R., Hankins S.D., Critchley A.T., Prithiviraj B. (2008) Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Journal of Applied Phycology*, 20:423–429 DOI 10.1007/s10811-007-9280-6
- Rongland E. Fosfittgjødsel. *Azelis Norway AS - ppt*. [Fosfitt](#)
- Sanderson K.J., Jameson P.E., Zabkiewicz J.A. (1987) Auxin in a Seaweed Extract: Identification and Quantitation of Indole-3-acetic acid by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Plant Physiology*. 129, 363-367
- Starkey K.R. (2018) Technical Manager Azelis Denmark, email Kirsten.starkey@azelis.dk
- Thao H.T.B., Yamakawa T. (2009) Phosphite (phosphorous acid): Fungicide, fertilizer or bio-stimulator? *Soil Science and Plant Nutrition*. 55, 228-234, doi: 10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x
- Varadarajan D.K., Karthikeyan A.S., Matilda P.C., Raghothama K.G. (2002) Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. *Plant Physiol.* 129, 1232-1240, <https://doi.org/10.1104/pp.010835>

Bilag 1 ANOVA tabeller

PET

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Behandling	3	62.7	20.901	19.658	2.97e-12 ***
gentagelse	2	0.1	0.054	0.051	0.95
Residuals	714	759.2	1.063		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

OSTB

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Behandling	4	106.0	26.496	14.883	8.84e-12 ***
Gentagelse	2	12.2	6.098	3.425	0.033 *
Residuals	893	1589.8	1.780		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

OSTC

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Behandling	4	245.7	61.43	57.088	<2e-16 ***
Gentagelse	2	4.4	2.22	2.064	0.128
Residuals	893	960.9	1.08		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Bilag 2 liniære modeller

PET

Call:

```
lm(formula = observation ~ behandling + gentagelse, family = poisson(link = "identity"))
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.65694	-0.87083	0.00139	0.87222	2.15000

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	3.12778	0.09413	33.228	<2e-16 ***
behandlingC	0.50000	0.10869	4.600	5e-06 ***
behandlingD	-0.27778	0.10869	-2.556	0.0108 *
behandlingE	-0.15000	0.10869	-1.380	0.1680
gentagelseG2	0.02917	0.09413	0.310	0.7568
gentagelseG3	0.02083	0.09413	0.221	0.8249

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.031 on 714 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.07642, Adjusted R-squared: 0.06995

F-statistic: 11.81 on 5 and 714 DF, p-value: 5.363e-11

Bilag 2 liniære modeller

OSTB

Call:

```
lm(formula = observation ~ behandling + gentagelse, family = poisson(link = "identity"))
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.61889	-1.10333	0.08333	1.08667	2.68889

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	2.83667	0.11767	24.106	< 2e-16 ***
behandlingB	0.26667	0.14065	1.896	0.0583 .
behandlingC	0.68889	0.14065	4.898	1.15e-06 ***
behandlingD	-0.33889	0.14065	-2.410	0.0162 *
behandlingE	-0.01667	0.14065	-0.119	0.9057
gentagelseG2	0.09333	0.10894	0.857	0.3918
gentagelseG3	-0.18667	0.10894	-1.713	0.0870 .

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.334 on 893 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.06919, Adjusted R-squared: 0.06294

F-statistic: 11.06 on 6 and 893 DF, p-value: 6.366e-12

Bilag 2 liniære modeller

OSTC

Call:

```
lm(formula = observation ~ behandling + gentagelse, family = poisson(link = "identity"))
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.44667	-0.90111	-0.05778	0.83667	3.05333

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	3.14667	0.09148	34.396	< 2e-16 ***
behandlingB	-1.20000	0.10934	-10.975	< 2e-16 ***
behandlingC	0.28333	0.10934	2.591	0.00972 **
behandlingD	-0.10556	0.10934	-0.965	0.33463
behandlingE	0.08889	0.10934	0.813	0.41648
gentagelseG2	0.01667	0.08470	0.197	0.84405
gentagelseG3	-0.14000	0.08470	-1.653	0.09870 .

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 1.037 on 893 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.2066, Adjusted R-squared: 0.2012

F-statistic: 38.75 on 6 and 893 DF, p-value: < 2.2e-16

Bilag 3 Tukey multiple comparison of means

PET

Behandling	diff	lwr	upr	p adj
C - A	0.5000000	0.2201062	0.779893770	0.0000296
D - A	-0.2777778	-0.5576715	0.002115992	0.0526207
E - A	-0.1500000	-0.4298938	0.129893770	0.5123015
D - C	-0.7777778	-1.0576715	-0.497884008	0.0000000
E - C	-0.6500000	-0.9298938	-0.370106230	0.0000000
E - D	0.1277778	-0.1521160	0.407671548	0.6424934

OSTB

Behandling	diff	lwr	upr	p adj
B - A	0.26666667	-0.11777044	0.65110377	0.3201601
C - A	0.68888889	0.30445179	1.07332599	0.0000114
D - A	-0.33888889	-0.72332599	0.04554821	0.1136515
E - A	-0.01666667	-0.40110377	0.36777044	0.9999555
C - B	0.42222222	0.03778512	0.80665933	0.0230496
D - B	-0.60555556	-0.98999266	-0.22111845	0.0001795
E - B	-0.28333333	-0.66777044	0.10110377	0.2597706
D - C	-1.02777778	-1.41221488	-0.64334067	0.0000000
E - C	-0.70555556	-1.08999266	-0.32111845	0.0000063
E - D	0.32222222	-0.06221488	0.70665933	0.1486740

OSTC

Behandling	diff	lwr	upr	p adj
B - A	-1.20000000	-1.49887736	-0.90112264	0.0000000
C - A	0.28333333	-0.01554402	0.58221069	0.0728138
D - A	-0.10555556	-0.40443291	0.19332180	0.8706442
E - A	0.08888889	-0.20998847	0.38776625	0.9266921
C - B	1.48333333	1.18445598	1.78221069	0.0000000
D - B	1.09444444	0.79556709	1.39332180	0.0000000
E - B	1.28888889	0.99001153	1.58776625	0.0000000
D - C	-0.38888889	-0.68776625	-0.09001153	0.0036209
E - C	-0.19444444	-0.49332180	0.10443291	0.3869265
E - D	0.19444444	-0.10443291	0.49332180	0.3869265

Bilag 4 Means, Shapiro-Wilk test, Bartlett Test

Means					
PET	A	C	D	E	
G1	3.216667	3.616667	2.733333	3.016667	
G2	3.250000	3.600000	2.833333	3.016667	
G3	2.966667	3.716667	3.033333	2.950000	
OSTB	A	B	C	D	E
G1	2.883333	2.833333	3.883333	2.033333	3.150000
G2	3.316667	3.383333	2.933333	2.916667	2.700000
G3	2.216667	3.000000	3.666667	2.450000	2.516667
OSTC	A	B	C	D	E
G1	2.900000	2.200000	3.333333	3.100000	3.266667
G2	3.150000	1.816667	3.500000	3.150000	3.266667
G3	3.266667	1.700000	3.333333	2.750000	3.050000

Shapiro-Wilk normality test	
PET	
data: Residuals	
W = 0.9782, p-value = 7.054e-09	
OSTB	
data: Residuals	
W = 0.97019, p-value = 1.304e-12	
OSTC	
data: Residuals	
W = 0.98008, p-value = 9.637e-10	

Bartlett test of homogeneity of variances	
PET	
data: observation by behandling	
Bartlett's K-squared = 2.8635, df = 3, p-value = 0.4131	
OSTB	
data: observation by behandling	
Bartlett's K-squared = 2.1309, df = 4, p-value = 0.7117	
OSTC	
data: observation by behandling	
Bartlett's K-squared = 0.75875, df = 4, p-value = 0.9439	

Bilag 5 tørstof målinger

		02/03/2018		05/03/2018				
		FW		DW				
		Prøve 'våd'		Prøve 'tør'		middelv		stdafv
		tom bakke	+ bakke	+ bakke				
nr.	Art	Prøve ID	+ etiket	+ etiket	+ etiket	tørstof	tørstof	tørstof
			gram	gram	gram	%	%	%
1	Petunia	AA1	13,03	49,64	15,32	6,26		
2	Petunia	AA2	12,95	48,49	15,19	6,30		
3	Petunia	AA3	14,33	49,89	16,60	6,38	6,31	0,06
4	Petunia	AC1	13,58	50,12	15,78	6,02		
5	Petunia	AC2	14,27	48,05	16,45	6,45		
6	Petunia	AC3	14,30	52,41	16,56	5,93	6,13	0,28
7	Petunia	AD1	14,33	45,59	16,44	6,75		
8	Petunia	AD2	14,54	40,94	16,31	6,70		
9	Petunia	AD3	13,95	48,25	16,06	6,15	6,54	0,33
10	Petunia	AE1	12,88	40,87	14,67	6,40		
11	Petunia	AE2	13,05	47,48	15,15	6,10		
12	Petunia	AE3	13,06	42,75	14,94	6,33	6,28	0,16
13	Osteospermum	BA1	12,95	45,54	16,57	11,11		
14	Osteospermum	BA2	12,94	47,02	16,28	9,80		
15	Osteospermum	BA3	12,89	42,64	16,48	12,07	10,99	1,14
6	Osteospermum	BB1	13,06	45,22	16,16	9,64		
17	Osteospermum	BB2	13,07	45,33	16,18	9,64		
18	Osteospermum	BB3	13,00	44,78	16,08	9,69	9,66	0,03
19	Osteospermum	BC1	12,93	60,03	17,19	9,04		
20	Osteospermum	BC2	12,97	49,57	16,69	10,16		
21	Osteospermum	BC3	13,11	57,07	17,29	9,51	9,57	0,56
22	Osteospermum	BD1	12,95	37,37	16,15	13,10		
23	Osteospermum	BD2	12,93	42,9	16,18	10,84		
24	Osteospermum	BD3	12,97	40,27	15,97	10,99	11,65	1,26
25	Osteospermum	BE1	12,96	50,22	16,59	9,74		
26	Osteospermum	BE2	12,94	44,19	16,09	10,08		
27	Osteospermum	BE3	13,05	45,13	16,46	10,63	10,15	0,45
28	Osteospermum	CA1	13,00	83,89	18,17	7,29		
29	Osteospermum	CA2	12,98	90,64	18,56	7,19		
30	Osteospermum	CA3	13,02	79,9	18,34	7,95	7,48	0,42
31	Osteospermum	CB1	13,07	73,47	17,49	7,32		
32	Osteospermum	CB2	13,04	71,41	17,33	7,35		
33	Osteospermum	CB3	13,05	69,06	17,3	7,59	7,42	0,15
34	Osteospermum	CC1	13,04	83,45	18,11	7,20		
35	Osteospermum	CC2	13,08	83,74	18,08	7,08		
36	Osteospermum	CC3	12,97	86,74	18,48	7,47	7,25	0,20
37	Osteospermum	CD1	12,98	84,82	18,15	7,20		
38	Osteospermum	CD2	12,92	84,03	18,46	7,79		
39	Osteospermum	CD3	12,90	85,69	18,15	7,21	7,40	0,34
40	Osteospermum	CE1	12,86	86,37	18,01	7,01		
41	Osteospermum	CE2	12,92	76,81	17,63	7,37		
42	Osteospermum	CE3	12,93	82,88	17,9	7,11	7,16	0,19