

# EFFECT VAN BIOSTIMULANTEN OP PERKPLANTEN ONDER BESCHERMING

Sybren Van Houte

Studentennummer: 01909516

Promotoren: Prof. dr. ir. Emmy Dhooghe, ir. Els Pauwels

Tutor: ir. Paulien De Clercq

Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad in Master of Science in de biowetenschappen: land- en tuinbouwkunde

Academiejaar: 2023-2024



## AUTEURSRECHTELIJKE BESCHERMING

De auteur en de promotor geven de toelating deze masterproef voor consultatie beschikbaar te stellen en delen van de masterproef te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit de masterproef.

The author and the promotor give permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using results from this thesis.

**24/05/2024**

De auteur:

**Sybre Van Houte**

De promotoren:

**Prof. dr. ir. Emmy Dhooghe  
ir. Els Pauwels**

De tutor:

**ir. Paulien De Clercq**

## VOORWOORD

Vijf jaar geleden maakte ik de keuze om te studeren aan de faculteit bio-ingenieurswetenschappen in Gent. Die keuze werd vanaf het begin gemotiveerd door een gevoel van verantwoordelijkheid om als mens actie te ondernemen tegen klimaatverandering. Ik raakte dan ook geïnteresseerd in onderwerpen die gaan over het duurzamer maken van de manier waarop we aan land- en tuinbouw doen. Een thesis schrijven over biostimulanten viel dan ook binnen die interesse en vormt een mooi sluitstuk van de afgelopen vijf jaar waarin mijn inzet werd beloond met kennis en vriendschap. Er zijn heel wat mensen die me in dit avontuur hebben ondersteund en die ik graag wil bedanken.

Allereerst wil ik mijn promotoren prof. dr. ir. Emmy Dhooghe en ir. Els Pauwels bedanken voor de kans die ik kreeg aan dit onderwerp te werken. Het was mijn eerste keuze en als ik op het afgelopen jaar terugkijk ben ik heel gelukkig dat ik die gemaakt heb. Vooral omdat ik heel goed begeleid werd en daar heeft mijn tutor ir. Paulien De Clercq een belangrijke rol in gehad. Ik kon jullie altijd bereiken en kreeg heel snel feedback. Bedankt voor de fijne samenwerking! Jullie leerden me niet alleen meer over biostimulanten maar ook over mezelf.

Deze thesis was in samenwerking met het Proefcentrum voor Sierteelt dat ondertussen na een fusie met PCA en PCG werd omgedoopt tot Viaverda. Deze samenwerking was voor mij een grote meerwaarde om kennis te maken met wetenschappelijk onderzoek bij een onafhankelijke onderzoeksinstelling. Er zijn heel wat werknemers die ik wil bedanken om ervoor te zorgen dat mijn proeven niet in het honderd liepen. Ik kreeg in het bijzonder veel hulp van Sara die me steeds bijstond bij de metingen. De leuke samenwerking zorgde dat die lange meetdagen toch wat korter leken. Daarnaast kon ik ook rekenen op de ervaring van Koen en David om me te helpen bij het scoren van de plantkwaliteit en wortelontwikkeling van de planten. Samen met Bruno hielpen ze me ook bij het opstellen van de proeven en zorgden ze wekelijks voor de behandelingen van de planten. Ook zonder de medewerking van deze mensen had mijn thesis niet mogelijk geweest.

Ten slotte was dit avontuur niet gelukt zonder de onvoorwaardelijke steun van mijn ouders en mijn broer. Bedankt om er altijd voor me te zijn en me te ondersteunen in alles wat ik onderneem! De steun van familie en vrienden hebben me steeds in mezelf doen geloven.

Sybren Van Houte

Gent, 24 mei 2024

## INHOUDSOPGAVE

Auteursrechtelijke bescherming	3
Voorwoord	4
Inhoudsopgave	5
Lijst van afkortingen	6
Abstract	7
1 Inleiding	8
2 Literatuurstudie	9
Sierteelt algemeen	9
Perkplanten	10
2.1.1 Viola	10
2.1.2 Primula	11
2.1.3 Pelargonium	11
2.1.4 Salvia	11
Biostimulanten	12
2.1.5 Definitie en afbakening	12
2.1.6 Indeling	13
2.1.7 Microbiële producten	13
2.1.8 Niet-microbiële producten	14
3 Materiaal en methoden	19
Hulpmiddelen literatuurstudie	19
Plantmateriaal en groeiomstandigheden	19
Proef 1: Uittesten van diverse biostimulanten op beworteling van perkplanten	20
Proef 2: Uittesten van diverse biostimulanten op droogtetolerantie	21
Metingen en plantkwaliteitsparameters	24
3.1.1 Proef 1: Uittesten van diverse biostimulanten op beworteling van perkplanten	25
3.1.2 Proef 2: Uittesten van diverse biostimulanten op droogtetolerantie	29
Statistische dataverwerking	29
4 Resultaten	30
Proef 1: Uittesten van diverse biostimulanten op bevordering van groei en wortelontwikkeling van <i>Primula</i> en <i>Viola</i>	30
Proef 2: Uittesten van diverse biostimulanten op <i>Salvia</i> en <i>Pelargonium</i> bij droogtestress	39
5 Discussie	41
Bevorderen biostimulanten de groei en wortelontwikkeling bij <i>Primula</i> en <i>Viola</i> ?	41
Verbeteren biostimulanten de droogtetolerantie van <i>Salvia</i> en <i>Pelargonium</i> ?	42
6 Conclusie	43
7 Referenties	45

## LIJST VAN AFKORTINGEN

<b>Afkorting</b>	<b>Betekenis</b>
AMF	Arbusculaire mycorrhiza-schimmels
CEC	Kationuitwisselingscapaciteit
DG	Drooggewicht
EC	Elektrische geleidbaarheid
EFSA	Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid
GA3	Gibberellinezuur
GI	Groei-index
IAA	Indolazijnzuur
IBA	Indool-3-boterzuur
KVE	Kolonie vormende eenheid
PGPB	Plantgroei bevorderende bacteriën
PH	Eiwithydrolysaat
ROS	Reactieve zuurstofsoorten
RWC	Relatieve waterinhoud
SWE	Zeewierextracten
UTC	Onbehandelde controle
VG	Versgewicht
VWC	Volumetrisch vochtgehalte
WUE	Watergebruiksefficiëntie

## ABSTRACT

De groeiende druk op het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen en kunstmeststoffen, samen met de toenemende invloed van klimaatverandering, versterkt de vraag naar plantversterkende middelen. Zo kunnen biostimulanten de weerstand, de efficiëntie van het gebruik van nutriënten en de abiotische stresstolerantie van planten verbeteren. Voor deze masterproef werden in een serre van het Proefcentrum voor Sierteelt (Destelbergen, België) acht verschillende biostimulanten getest op hun effect op de wortelontwikkeling van *Primula acaulis* 'Cabaret' en *Viola x wittrockiana* 'Carrera Orange'. Gedurende negen weken werden diverse parameters gemeten om de invloed van de biostimulanten te beoordelen. Hoewel het effect bij *Viola* vooral bovengronds zichtbaar was en bij *Primula* ondergronds, resulteerden de verschillende producten niet in significante verbeteringen in groei of wortelontwikkeling.

In een tweede proef werd onderzocht of acht andere biostimulanten de tolerantie van *Pelargonium zonale* 'Dark Lorena Salmon' en *Salvia farinacea* 'Rhea' tegen droogtestress konden verhogen. De biostimulanten hadden geen effect op de natuurlijke droogtetolerantie van *Pelargonium*, maar Nutricin, BlueN, en Impuls TD + Instant TD konden het kwaliteitsverlies van *Salvia* beperken, zij het zonder significant verschil met onbehandelde planten.

Deze masterproef biedt waardevolle inzichten in de werkzaamheid, efficiëntie en toepassingsmethoden van de geteste biostimulanten, wat telers kan helpen bij het maken van keuzes in een groeiende markt.

# 1 INLEIDING

Met de toenemende dreigingen van de klimaatverandering en de aantasting van het milieu heeft de Europese Commissie tijdens de internationale klimaatop van 2019 (COP25 in Madrid) haar klimaatplan gelanceerd. Daarvoor heeft het diverse beleidsinitiatieven op vlak van klimaat, energie, vervoer en belastingen gebundeld in de Europese Green Deal. Zo wil Europa tegen 2050 klimaatneutraal zijn en tegen 2030 de CO<sub>2</sub>-uitstoot met 55% verminderen ten opzichte van 1990. Duurzame voedselproductie staat hierin centraal. Daarvoor wil de EU de milieu- en klimaatvoetafdruk van het huidige voedselsysteem verkleinen. Eén van de centrale pijlers van de Europese Green Deal is de “van boer tot bord”-strategie (Farm to Fork Strategy). Daarin worden aparte doelstellingen voor de landbouw voorzien waarbij de Europese Commissie streeft naar een duurzaam gebruik van (i) nutriënten en (ii) gewasbeschermingsmiddelen. Dit betekent (i) een vermindering van het nutriëntenverlies met ten minste 50% tegen 2030, zonder dat de vruchtbaarheid van de bodem verslechtert. Naar verwachting zorgt dit voor een vermindering van het gebruik van meststoffen met ten minste 20%. Bijkomend (ii) is de ambitie dat tegen 2030 het gebruik en het risico van chemische en gevaarlijke pesticiden in de EU met 50% moeten worden verminderd. Begin 2024 kwamen gedurende meerdere weken in zowat de helft van de Europese lidstaten, ook in België, landbouwers op straat om te protesteren. Onder meer de Europese milieunormen baart hen zorgen. Daarop heeft de Commissie in februari 2024 enkele toegevingen gedaan en is ook de halvering van het pesticidengebruik tegen 2030 geschrapt. Desalniettemin komt er in de toekomst een nieuw voorstel waarvoor in dialoog wordt gegaan met al de betrokken partijen, incl. de landbouwers. Een reductie van gewasbeschermingsmiddelen en meststoffen komt er dus zeker (Lemaire, 2024; Merckx, 2024; *Waarom de Landbouwers in Europa En Bij Ons Actievoeren*, 2024). Een mogelijke manier om het gebruik van meststoffen en gewasbeschermingsmiddelen te verminderen zonder de opbrengst negatief te beïnvloeden, is door het gebruik van biostimulanten.

Du Jardin stelde reeds in 2015 een van de meest geaccepteerde wetenschappelijke definities van een biostimulant voor: “Een plantbiostimulant is elke stof of micro-organisme dat op planten wordt toegepast met het doel de nutriëntengebruiksefficiëntie, abiotische stresstolerantie en/of gewasqualiteitseigenschappen te verbeteren, ongeacht het gehalte aan nutriënten” (Baltazar et al., 2021; du Jardin, 2015). Ze kunnen dus een rol spelen als aanvulling op gewasbeschermingsmiddelen en meststoffen doordat ze de groei van planten kunnen beïnvloeden, zonder rechtstreeks te beschermen tegen plagen, en de opname-efficiëntie van nutriënten kunnen verhogen, zonder rechtstreeks voedingstoffen te leveren (Caradonia et al., 2019). Deze eigenschappen zijn dan ook de drijfveren voor een toenemende toepassing van biostimulanten. Zo werd de wereldwijde markt voor biostimulanten in 2023 geschat op 3,57 miljard euro en zal deze naar verwachting 6,22 miljard euro bedragen in 2028, met een samengesteld jaarlijks groeipercentage (CAGR) van 11,8% van 2023 tot 2028 (Marketsandmarkets.com, 2022). Europa heeft de grootste markt voor biostimulanten, goed voor ongeveer 42% van het wereldwijde marktaandeel (Caradonia et al., 2019). Met de recente EU-verordening (EU 2019/1009) inzake meststoffen moedigt de Europese Unie het gebruik van biostimulanten aan als onderdeel van duurzame landbouwpraktijken en stimuleert het boeren en telers om biostimulanten te gebruiken, wat bijdraagt aan de groei van de markt.

In de Belgische sierteeltsector worden duizenden verschillende bloemen en planten geteeld. Om de beste kwaliteit te bekomen, zijn input van nutriënten, gewasbeschermingsmiddelen en water nodig. Het geschatte kunstmestgebruik van de bedrijven gespecialiseerd in sierteelt onder glas kwam in 2021 uit op 208 ton stikstof (N), 34 ton fosfor (P) en 204 ton kalium (K) (Agentschap Landbouw en Zeevisserij, 2024). Door de grotere ziektedruk van schimmels en plaaginsecten kent de sierteelt ten opzichte van het areaal een hoog gewasbeschermingsmiddelengebruik (Departement Landbouw en Visserij, 2021). Zo is de sierteelt goed voor 3% van het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen. Dit gebruik kon voor 2020 op basis van een extrapolatie van de gegevens van het Landbouwmonitoringsnetwerk (LMN) geschat worden op 3,4 miljoen kg actieve stof (Departement Landbouw en Visserij, 2023). De sierteeltsector wordt onderverdeeld in twee deelsectoren: (i) boomkwekerij enerzijds en (ii) bloemen en sierplanten anderzijds. Het overgrote deel van het sierteeltareaal (86%) wordt in beslag genomen door boomkwekerijen. Het areaal bloemen en sierplanten neemt slechts 14% van het totaal in maar een groot deel (42%) daarvan is onder glas. Azalea's zijn daar de belangrijkste planten en nemen 33% van het areaal onder glas voor hun rekening. Ze worden kort gevolgd door perk- en balkonplanten die 29% voor hun rekening nemen en daarmee onder glas de tweede belangrijkste teelt van bloemen en sierplanten zijn (Statbel, 2022). Daarom focust deze thesis zich op de teelt van perkplanten. **In het eerste deel van deze masterproef worden diverse biostimulanten getest op hun effect op de inworteling van *Viola x wittrockiana* 'Carrera Orange' en *Primula acaulis* 'Cabaret White'.** Een beter wortelsysteem leidt namelijk tot een betere opname van voedingstoffen, stresstolerantie en gezondheid van de plant, waardoor er minder synthetische meststoffen en gewasbeschermingsmiddelen nodig zijn (Franzoni et al., 2022).



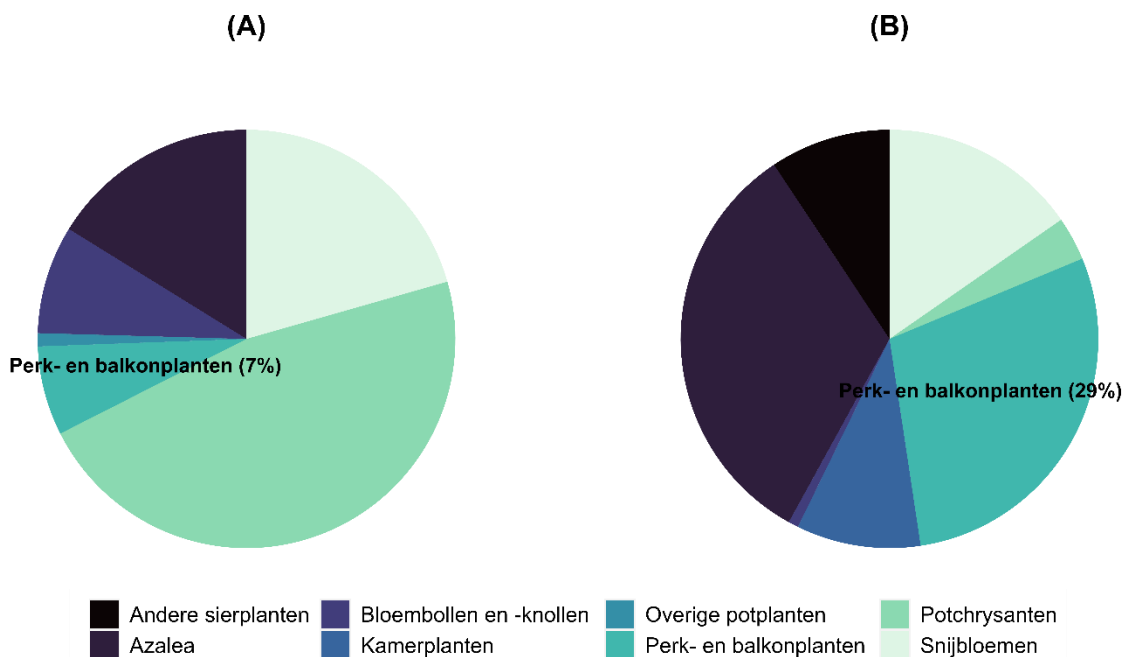
Het totale watergebruik werd in de land- en tuinbouw in Vlaanderen in 2019 geschat op 66,2 miljoen m<sup>3</sup>, exclusief het hemelwater dat rechtstreeks op landbouwpercelen valt en het privégebruik. De glastuinbouw is goed voor 20% van het totale watergebruik en kan opgesplitst worden in groenten en sierteelt onder glas. De deelsector sierteelt onder glas neemt 3% van het totale watergebruik voor zijn rekening. In de glastuinbouw is 72% van het water duurzaam door de opvang van regen in grote hemelwaterbassins (Departement Landbouw en Visserij, 2019). Dit hoge watergebruik kan verklaard worden doordat het een piekjaar was op vlak van neerslagtekort en op vlak van gemiddelde zomertemperatuur. Het gebruik van water is afhankelijk van de weersomstandigheden. Door de klimaatverandering zullen we in de toekomst meer neerslag krijgen in de winter maar minder in de zomer. Daarbij nemen de droogteperiodes in de lente en zomer toe (KMI, 2020). Net daarom moet er zuinig omgesprongen worden met water. Het kan dus belangrijk zijn om planten toleranter te maken voor droogtestress. Ook daarvoor tonen biostimulanten potentieel. Door hun gebruik kan stress veroorzaakt door klimaatverandering, zoals droogte-, zout- en temperatuurstress, worden tegengegaan (Bhupenchandra et al., 2022). **Het tweede deel van deze masterproef focust op het effect van biostimulanten op de droogtetolerantie van *Pelargonium zonale* 'Dark Lorena Salmon' en *Salvia farinacea* 'Rhea' tijdens periodiek aangelegde droogtestress.**

## 2 LITERATUURSTUDIE

### Sierteelt algemeen

De sierteeltsector in België is een kleine sector met een grote waarde. Ze is voornamelijk gesitueerd in Vlaanderen met de grootste concentratie in Oost-Vlaanderen, rond Gent (Departement Landbouw en Visserij, 2022). De landbouwooppervlakte in Vlaanderen is 619.806 hectare. Minder dan 1% daarvan gaat naar de sierteelt, dit komt neer op 5.800 hectare. Het overgrote deel daarvan wordt gebruikt voor productie in openlucht en 500 hectare is sierteelt in serres. Ondanks de kleine oppervlakte zorgt de sierteeltsector voor een productiewaarde van 580 miljoen euro. Van de totale omzet is 64% afkomstig uit de boomkwekerij en 36% van bloemen en sierplanten (Agentschap Landbouw en Zeevisserij, 2024). De bloem- en sierplantsector omvat o.a. perk- en balkonplanten, azalea, potchrysanthen, kamerplanten, bloembollen en -knollen enz. De boomkwekerijsector omvat o.a. bloeiende en niet-bloeiende heesters, vaste planten, solitaire en laanbomen, rozelaars en fruitkweek, bos- en haagplantsoen (VLAM Marketingdienst, 2022c). In de streek rond Lochristi worden voornamelijk potplanten gekweekt. De azalea neemt hier een prominente rol in. De overige sierteelten (chrysanthen, boomkwekerij, vaste planten, heesters, snijbloemen en -planten) komen verspreid voor in Vlaanderen (Departement Landbouw en Visserij, 2022).

Het aantal bedrijven met sierteelt in België in 2022 stond op 1.496 (VLAM Marketingdienst, 2022a). Voor Vlaanderen alleen waren dit 921 bedrijven, ofwel 4,1% van de Vlaamse landbouwbedrijven. Daarvan zijn 664 bedrijven gespecialiseerde sierteeltbedrijven. Gemiddeld wordt er 6,31 ha siergewassen geteeld per bedrijf. Voor gespecialiseerde bedrijven is dit gemiddeld 7,31 ha (Agentschap Landbouw en Zeevisserij, 2024). De handel in sierteeltproducten vertoont een positief handelssaldo van 96,7 miljoen euro. De boomkwekerijproducten dragen het meest bij aan het positief saldo (79,5 miljoen euro). Enkel snijbloemen vertonen een handelstekort (-69,1 miljoen euro). 68% van de import van sierteeltproducten komt uit Nederland. Wat betreft de export gaat 46% naar Frankrijk en 30% naar Nederland. Dit toont aan dat de sierteeltsector in België hoofdzakelijk een Europese aangelegenheid is (VLAM Marketingdienst, 2022b). De totale particuliere sierteeltbestedingen in België bedroegen in de periode juli 2021 tot juni 2022 421 miljoen euro of 37,10 euro per capita. Hiervan wordt 62% gerealiseerd in Vlaanderen. Met een stijging van 5% gedurende deze periode wordt de opmars na een dip tijdens de corona lockdown voortgezet. Binnen de totale sierteeltcategorie zijn de snijbloemen met een omzetaandeel van 31% de belangrijkste categorie, gevolgd door kamerplanten met 21% en de balkon- en perkplanten met 18%. Het aantal kopende huishoudens in België stijgt boven de 70 op 100. In Vlaanderen ligt dat aantal iets hoger (73 op 100). De meeste kopers zijn terug te vinden bij de kamerplanten (48 op 100), gevolgd door de snijbloemen (42 op 100). Daarna komen bomen en tuinplanten met 33 kopers op 100 en op de hielen gevolgd door balkon- en perkplanten met 32 kopers. Tenslotte volgen bloemstukken (20) en bloembollen (15) (VLAM Marketingdienst, 2022d).



Figuur 1. Verdeling van sierteelt in open lucht (A) en in serres (B) over verschillende plantensoorten (Bron: Statbel, 2022).

## Perkplanten

Met perkplanten wordt de verzameling van diverse kruidachtige planten aangeduid die in drie groepen kan worden ingedeeld: éénjarige, tweejarige en vaste planten. De termen terrasplant, kuipplant en balkonplant kunnen ook gebruikt worden aangezien perkplanten creatief kunnen worden toegepast in allerlei recipiënten zoals potten, bakken en kuipen. Het assortiment perkplanten is zeer uitgebreid en elk jaar komen er nog nieuwe soorten en cultivars bij. Tegelijkertijd verdwijnen sommige cultivars ook snel: enerzijds omdat ze te gevoelig blijken voor de klimaats- of groeiomstandigheden, anderzijds omdat ze snel vervangen worden door betere cultivars. Deze hebben bijvoorbeeld nieuwere kleuren of een betere groeiwijze, ziekteresistentie of commerciële achtergrond. Naast de klassieke soorten als *Begonia*, *Viola*, *Petunia*, *Lobelia*, *Ageratum*, leeuwenbekjes, Oost-Indische kers, *Fuchsia*, *Pelagonium*, *Sanvitalia*, afrikaantje, *Verbena* en *Portulaca* bieden tuincentra nu tal van minder bekende perkplanten aan. De klassiekers ondervinden concurrentie via substitutie door nieuwere soorten zoals *Calibrachoa*, *Sutera* (*Bacopa*), *Anagallis*, *Osteospermum*, *Scaevola*, nieuwe selecties *Nemesia* en *Diascia*, *Bidens* en *Laurentia*. Bovendien zijn er tientallen varianten per soort. Zo bestaan er petunia's met enkele en dubbele bloemen in een groot aantal kleuren en tinten (Blindeman & Volckaert, 2009).

### 2.1.1 Viola

Violen behoren tot de familie van de Violaceae en het geslacht *Viola*. Dit geslacht omvat meer dan 500 verschillende soorten winterharde, eenjarige en overblijvende kruidachtige planten. De geteelde soorten zijn overblijvend. *Viola x wittrockiana* Gams, het tuinvioltje wordt het meest geteeld. Dankzij hun koudebestendigheid en vroege bloei, van midden herfst tot laat voorjaar, zijn tuinvioltjes uitgegroeid tot een belangrijk tuinbouwgewas (Blacquièrre, 2001; Desmet et al., 2023). *Viola x wittrockiana* is een hybride ontstaan uit de kruising van drie verschillende soorten: *Viola tricolor*, *Viola lutea* en *Viola altaica* (Hazar et al., 2023). Door de hybride oorsprong is er een enorm aanbod aan bloemvormen, kleuren en maten beschikbaar in het hedendaagse assortiment. Dat assortiment kan worden onderverdeeld volgens verschillende criteria zoals zaadoorsprong (open bestuiving, F1 hybriden, F2 hybriden, S1 synthetische hybriden), bloemgrootte, bloeikenmerken (overvloed en vroegheid in de herfst of lente) en aanpassingsvermogen aan teelt in de grond of in potten (Vissers, n.d.). Vermeerdering gebeurt uitsluitend door het zaaien van normale of voorgekiemde zaden, daarom behoren tuinvioltjes tot zaaiperkgoed. Veel commerciële cultivars zijn tegenwoordig F1 hybriden die een goede uniformiteit in groei en bloei hebben (Desmet et al., 2023). Violtjes hebben niet alleen sierwaarde maar worden ook geteeld als eetbare bloemen. Door de fluweelachtige textuur, verschillende kleuren en zoete, geurige smaak worden ze gebruikt om desserts, salades, dranken etc. te garneren. Deze planten kunnen daarvoor niet gewassen worden waardoor het gebruik van meststoffen en pesticiden beperkt moet worden. Dat kan door het toepassen van biostimulanten (Hazar et al., 2023).

## 2.1.2 Primula

*Primula* is het meest wijdverspreide geslacht binnen de Primulaceae familie en bestaat uit 400-500 soorten die zijn ingedeeld in 7 subgenera. Ze komen voornamelijk voor in de gematigde en koude streken van het noordelijk halfrond (Alam et al., 2024). Verscheidene *Primula* soorten worden geproduceerd en gebruikt als perkplanten of bloeiende potplanten. De belangrijkste daarvan zijn de *P. vulgaris*, *P. x polyantha*, *P. malacoides*, *P. obconica* en *P. veris* (Karlsson, 2001). De *P. vulgaris* ook bekend als *P. acaulis* is een harige, overblijvende, kruidachtige plant met een korte, opstijgende wortelstok. Het is een rozet-hemicryptofyt, wat wil zeggen dat de overwinteringsknoppen zich op bodemhoogte bevinden. De bladeren komen voort uit de vlezige wortelstok en groeien dus in een losse rozet. Ze hebben een langwerpige tot ovale vorm die aan de bovenkant afgerond is en geleidelijk smaller wordt naar de basis toe. De bladrand is gezaagd tot getand en het bladoppervlak is bedekt met haren aan de onderkant en soms aan de bovenkant. De bladsteel is gevleugeld en varieert in grootte van 5-25 cm lang en 2-6 cm breed, vaak bijna gelijk aan de grootte van het blad. *Primula acaulis* heeft bloemen met een bleekgele kleur en doffe oranje vlekken aan de basis van elk bloemblad. De bloemen zijn geurig en hebben een buisvormige structuur iets langer dan de kelk. De kroon heeft een diameter van 2-4 cm met overlappende lobben (Jacquemyn et al., 2009). De plant vertoont florale heteromorfie waarbij verschillende individuen groeien in verschillende mogelijke vormen van bloemen, die worden geïdentificeerd als "thrum" en "pin". Dit betekent dat sommige bloemen lange meeldraden hebben en andere lange stijlen (Alam et al., 2024).

## 2.1.3 Pelargonium

*Pelargonium* is een geslacht binnen de Geraniaceae waarvan sommige soorten en hybriden tuinbouwkundig worden gebruikt als pot- of perkplanten van aanzienlijk economisch belang (Winkelmann et al., 2005). Het geslacht bevat ongeveer 300 soorten, waarvan de meeste inheems zijn in Zuid-Afrika. Pelargoniumsoorten vormen een van de populairste groepen bloeiende potplanten ter wereld (Dunbar, 1993). Op de Europese en Noord-Amerikaanse markt zijn de vegetatief vermeerderde perkplanten van de *Pelargonium zonale* hybriden en *Pelargonium peltatum* hybriden overheersend (Winkelmann et al., 2005). De meeste geteelde *Pelargonium* planten worden gekweekt voor hun kleurrijke, opzichtige bloemen, andere voor hun geurige gebladerte en exotische bladvormen (Dunbar, 1993).

## 2.1.4 Salvia

*Salvia* is het grootste geslacht binnen de familie van de Lamiaceae, met ongeveer 900 soorten. Omdat ze rijk zijn aan essentiële oliën, flavonoïden en fenolzuren worden ze gebruikt in voeding, farmacie en cosmetica. Echte salie of *Salvia farinacea* is een meerjarige struik afkomstig uit de Amerikaanse staat Texas. Ze wordt meestal 45-90 cm hoog en heeft afhangende, grijsgroene bladeren die onregelmatig gezaagd en eirond-lancetvormig zijn. De bloemen lijken op die van lavendel en staan in compacte, meervoudig vertakte, rijk violetblauwe aren (Afonso et al., 2019; Hamad et al., 2021).

## Biostimulanten

### 2.1.5 Definitie en afbakening

Een **biostimulant** voor planten is volgens EU-verordeningen (EU 2019/1009 artikel 47 en EG 1107/2009 artikel 3.34) gedefinieerd als een product dat de voedingsprocessen van een plant stimuleert, onafhankelijk van het gehalte aan nutriënten van het product, met als enige doel een of meer van de volgende eigenschappen van de plant of de rhizosfeer van de plant te verbeteren:

- a) de efficiëntie van het gebruik van nutriënten;
- b) de tolerantie voor abiotische stress;
- c) kwaliteitskenmerken;
- d) de beschikbaarheid van in de bodem of in de rhizosfeer vastgehouden nutriënten.

Met het in werking treden van de EU-verordening EU 2019/1009 voor bemestingsproducten is er een duidelijke afbakening tussen biostimulanten, meststoffen, bodemverbeteraars, gewasbeschermingsmiddelen en basisstoffen. Belangrijk hierbij is het onderscheid op basis van de werking en het doel van de werkzame stoffen (Schöll et al., 2022). Werkzame stoffen zijn gedefinieerd als stoffen, met inbegrip van micro-organismen, met een algemene of specifieke werking tegen schadelijke organismen of op planten, delen van planten of plantaardige producten (Verordening EG 1107/2009, 2022). Hieronder worden de definities van de aanverwante producten opgesomd. Deze definities geven duidelijk aan dat er fundamentele verschillen zijn tussen de bovengenoemde middelen. Producten die een effect hebben op ziekten en plagen vallen niet onder de definitie van biostimulanten. Producten die dat wel hebben zoals basisstoffen en (natuurlijke) gewasbeschermingsmiddelen dienen een toelating te hebben door het EFSA (Long et al., 2021). In de praktijk bestaat er echter een schermgebied van producten die als biostimulanten op de markt zijn maar niet voldoen aan de EU-definitie bijvoorbeeld door het feit dat zij stoffen bevatten waar je van aan mag nemen dat zij ook een werking hebben tegen ziekten en plagen (Long et al., 2021).

Een **meststof** is een EU-bemestingsproduct dat tot doel heeft nutriënten aan planten of paddenstoelen toe te voegen (Verordening EU 2019/1009, 2023).

Een **bodemverbeteraar** is een EU-bemestingsproduct dat tot doel heeft de fysische of chemische eigenschappen, de structuur of de biologische activiteit van de bodem waaraan het wordt toegevoegd, in stand te houden, te verbeteren of te beschermen (Verordening EU 2019/1009, 2023).

**Gewasbeschermingsmiddelen** (Verordening EG 1107/2009, 2022) zijn middelen die geheel of gedeeltelijk bestaan uit werkzame stoffen, beschermstoffen of synergisten, en die bestemd zijn voor een van de volgende toepassingen:

- a) de bescherming van planten of plantaardige producten tegen alle schadelijke organismen of het verhinderen van de werking van dergelijke organismen;
- b) het beïnvloeden van de levensprocessen van planten, zoals het beïnvloeden van hun groei, voor zover het niet gaat om nutriënten of biostimulanten voor planten;
- c) de bewaring van plantaardige producten;
- d) de vernietiging van ongewenste planten of delen van planten;
- e) de beperking of voorkoming van de ongewenste groei van planten.

Onder een **basisstof** (Verordening EG 1107/2009, 2022) wordt verstaan een werkzame stof die:

- a) geen tot bezorgdheid aanleidende stof is; en
- b) geen intrinsiek vermogen heeft om hormoonontregelende, neurotoxische of immunotoxische effecten teweeg te brengen; en
- c) niet voornamelijk voor gewasbeschermingsdoeleinden wordt gebruikt, maar niettemin nuttig is op het gebied van gewasbescherming, hetzij wanneer zij direct wordt gebruikt, hetzij in een middel dat bestaat uit de stof en een gewone verdunner; en
- d) niet als gewasbeschermingsmiddel op de markt wordt gebracht.

## 2.1.6 Indeling

Biostimulanten kunnen in twee grote groepen gecategoriseerd worden: microbiële biostimulanten en niet-microbiële biostimulanten. Deze paragraaf is gebaseerd op een veel gebruikte indeling van du Jardin (2015) aangevuld met meer recente ontwikkelingen.

## 2.1.7 Microbiële producten

Micro-organismen kunnen schadelijk zijn, maar er bestaan ook veel soorten die nuttig zijn voor planten. Deze micro-organismen spelen een belangrijke rol in de fyllosfeer (op bovengrondse delen), rhizosfeer (op ondergrondse delen) en endosfeer (inwendig) van planten door de beschikbaarheid en de opname van bepaalde nutriënten te verbeteren (Baltazar et al., 2021).

Een microbiële biostimulant bestaat uit een micro-organisme of een consortium van micro-organismen zoals bedoeld in CMC 7 (Component Material Categories, nummer 7), dat vier verschillende geslachten omvat: mycorrhiza, *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp. (Verordening EU 2019/1009, 2023).

### 2.1.7.1 Mycorrhiza

Mycorrhiza zijn schimmels die een symbiotische relatie aangaan met planten. De meeste mycorrhiza behoren ofwel tot de ectomycorrhiza ofwel tot de arbusculaire mycorrhiza (endomycorrhiza) (Long et al., 2021). Arbusculaire mycorrhizaschimmels (AMFs) zijn de meest voorkomende en relevante symbiotische schimmels. Zo wordt gerapporteerd dat 80-90% van de landplanten in staat is om gunstige interacties aan te gaan met AMFs (Castiglione et al., 2021; Rouphael et al., 2015). Het zijn obligate biotrofe symbionten die behoren tot het fyllum van de *Glomeromycota* dat meer dan 200 soorten omvat. AMFs verschillen van ectomycorrhiza doordat ze binnen het wortelweefsel van de plant zitten in plaats van op het wortelweefsel. De hyfen dringen namelijk binnen in de cellen van de wortelcortex en vormen daar gespecialiseerde, vertakte structuren die 'arbuscules' genoemd worden. Deze arbuscules zorgen voor de uitwisseling van voedingsstoffen tussen de symbionten (Behie & Bidochka, 2014; Giovannini et al., 2020). Parallel met de kolonisatie, verkennen de hyfen de omringende bodem waar ze voedingsstoffen kunnen opnemen, interageren met andere micro-organismen en wortels van naburige planten koloniseren. Op deze manier worden er gemeenschappelijke netwerken gevormd tussen planten en hun AMFs (Giovannini et al., 2020).

Biostimulanten kunnen verschillende soorten en stammen van mycorrhiza bevatten. De meeste commercieel toegepaste soorten arbusculaire mycorrhiza behoren tot de geslachten *Rhizophagus* en *Funneliformis* (Giovannini et al., 2020).

### 2.1.7.2 Bacteriën

Bacteriën zijn de meest voorkomende micro-organismen in de rhizosfeer. Ze zijn in staat om op alle mogelijke manieren te interageren met de plant. Bacteriën die in staat zijn om de groei van planten te bevorderen en ze te beschermen tegen ziekten en abiotische stress worden plantgroei bevorderende bacteriën (PGPBs) genoemd. Deze micro-organismen staan in een directe of indirecte werking met de plant en kunnen zowel vrijlevende bacteriën als rhizobacteriën zijn (Baltazar et al., 2021; Souza et al., 2015). De werkingsmechanismen zijn uitlopend. Directe bevordering van de plantgroei kan onder andere door de opname van essentiële nutriënten te vergemakkelijken door bijvoorbeeld het verbeteren van de oplosbaarheid van anorganische voedingsstoffen. Andere bacteriën kunnen dan weer door synthese van plantengroeieregulatoren of van enzymen de hormoonspiegels moduleren. Indirecte bevordering treedt bijvoorbeeld op wanneer PGPBs zorgen voor de remming van een fytopathogeen. Zo verminderen ze de schade na infectie (Souza et al., 2015). De Europese regelgeving (Verordening EU 2019/1009, 2023) staat toe dat bacteriën van de geslachten *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. en *Azospirillum* spp. in biostimulanten gebruikt worden. Echter, uit wetenschappelijk onderzoek blijkt dat nog meer bacteriële geslachten een positieve bijdrage leveren aan groei en kwaliteit van verschillende gewassen. Zo worden *Pseudomonas* en *Bacillus*soorten ook al gebruikt in producten die op de markt zijn (Long et al., 2021).

## 2.1.8 Niet-microbiële producten

### 2.1.8.1 Zeewierextracten

Biostimulanten op basis van zeewier zijn het meest bestudeerd en gecommmercialiseerd (Ma et al., 2022). Deze groep omvat macroscopische en meercellige algen die in drie brede groepen verdeeld kunnen worden: *Phaeophyta*, *Rhodophyta* en *Chlorophyta* (bruine, rode en groene algen respectievelijk) (Long et al., 2021). Extracten verkregen uit verschillende zeewiersoorten werden vele jaren geleden al op grote schaal toegepast in de moderne landbouw omwille van de groeibevorderende effecten op planten en het verbeteren van bodemgezondheid en -vruchtbaarheid. Ondertussen worden zeewierextracten (SWE) nu ook erkend als biostimulanten en gebruikt om de beschikbaarheid van water en voedingsstoffen te verbeteren en om abiotische en biotische stress te verminderen (du Jardin, 2015). De meeste commerciële producten zijn afgeleid van rode (bv. *Lithothamnium calcareum*) en bruine (bv. *Ascophyllum nodosum*, *Durvillaea potatorum*) macroalgen (Van Oosten et al., 2017). Verschillende methoden worden gebruikt om de extracten in vloeibare of vaste vorm te verkrijgen: (i) basische, neutrale of zure extracties; (ii) processen waarbij het zeewier wordt gebroken door malen onder hoge of lage druk, met toevoeging van een zuur, base of water; (iii) en het breken van bevroren zeewier om een suspensie van fijne deeltjes te verkrijgen (Alvarez et al., 2023; Baltazar et al., 2021). De samenstelling is voor een groot deel afhankelijk van de gebruikte extractiemethode en door de variabele en complexe aard van deze stoffen is het moeilijk om precies te bepalen welke componenten een sleutelrol spelen in de werkingsmechanismen (Van Oosten et al., 2017). Zo bevatten SWE hormonen (bv. auxinen en cytokininen), polyfenolen (bv. floroglucinol en eckol), polysacchariden (bv. fucoidan, laminarine, carrageen en alginaat), micro- en macronutriënten, sterolen, N-bevattende verbindingen zoals betaïnes als potentieel bioactieve componenten (De Clercq et al., 2023; du Jardin, 2015; Ma et al., 2022). Hormonen in SWE, zoals auxinen, abscisinezuur en gibberellines, worden beschouwd als de belangrijkste oorzaken van biostimulerende activiteit op planten. De hormonale effecten kunnen de ontkieming van zaden, vestiging van planten en verdere groei en ontwikkeling beïnvloeden (De Clercq et al., 2023). Echter blijken de concentraties van deze hormonen in SWE vaak te laag om fysiologische reacties in planten uit te lokken. Daarom worden er nu ook andere mechanismen overwogen om de biostimulerende activiteit te verklaren. Zo kunnen andere componenten in zeewier, zoals polysacchariden, verantwoordelijk zijn voor de groeibevorderende effecten. Polysacchariden zijn belangrijke bestanddelen van bruinwieren zoals *A. nodosum* (Baltazar et al., 2021). Extracten van dit wier moduleren een breed scala aan processen, voornamelijk gekoppeld aan de up- en downregulatie van hormoonbiosynthese genen, resulterend in verbeterde stresstolerantie en groei (Baltazar et al., 2021; De Clercq et al., 2023; du Jardin, 2015). Het is nog niet volledig duidelijk hoe zeewierextracten abiotische stress verlichten, maar bioactieve moleculen zoals betaïnen en cytokininen in de extracten spelen waarschijnlijk een rol. Bovendien verhogen zeewierextracten de concentraties van stressgerelateerde moleculen, zoals cytokininen, proline, antioxidanten en antioxidantenzymen in behandelde planten (De Clercq et al., 2023).

*A. nodosum* is één van de meest bestudeerde macroscopische algen en wordt gebruikt in diverse beschikbare producten omwille van zijn positieve eigenschappen gelinkt aan het hoge gehalte polysacchariden en fenolen. De effectiviteit van deze biostimulanten is afhankelijk van hoe ze vervaardigd worden (extractiemethode), hun bestanddelen, hun bioactieve samenstelling en de typen plantenstress die betrokken zijn. Verschillende commerciële extracten kunnen een verschillende effect hebben (Baltazar et al., 2021). Er is aangetoond dat SWE verschillende abiotische stressfactoren verlichten, waaronder droogte-, zout-, hitte- en nutriëntenstress (De Clercq et al., 2023). Veel abiotische stressfactoren leiden tot ophoping van reactieve zuurstofsoorten (ROS) in planten. Dit is schadelijk en veroorzaakt vanaf bepaalde niveaus oxidatieve stress wat onomkeerbare schade aan cel componenten kan veroorzaken en de groei en opbrengst van planten kan belemmeren (Baltazar et al., 2021). *A. nodosum* extracten kunnen de productie van ROS remmen en zo planten als *Arabidopsis thaliana*, tomaat en paprika beschermen tegen oxidatieve stress veroorzaakt door droogte (Staykov et al., 2021). Verder vertonen behandelde planten een afname van elektrolyten lekkage en een afname in relatief watergehalte (RWC). Priming met *A. nodosum* kan dus leiden tot een betere tolerantie tegen droogtestress (Baltazar et al., 2021). Ook soja die blootgesteld werd aan droogtestress en behandeld met deze biostimulant kon zijn watergehalte herstellen. Bovendien werd ook de groei van het wortelstelsel bevorderd en namen de efficiëntie van fotosynthese en het chlorofylgehalte toe. Extracten van *A. nodosum* kunnen ook onder beperkte fosforomstandigheden de groei verbeteren bij maïs. Daarbij neemt ook het gehalte fotosynthetische pigmenten, oplosbare suikers, fenolische verbindingen, flavonoïden en aminozuren toe in vergelijking met een plant zonder nutriëntenstress (Shukla & Prithiviraj, 2021). Bij tomaten zijn er dan weer effecten waargenomen op de verbetering van de thermotolerantie, vooral in de levensvatbaarheid van stuifmeel en het chlorofylgehalte (Rouphael et al., 2020).

*Ecklonia maxima* is ook een bruinwier dat gelijkaardige eigenschappen heeft als *A. nodosum* wanneer het als biostimulant wordt gebruikt. Mogelijk doordat ze verbindingen zoals aminozuren, alginaten en fytohormonen bevatten. Gebruik van deze extracten heeft aangetoond dat het de opbrengst, antioxidantpotentie en stressrespons van gewassen zoals spinazie, baby sla en courgette verbetert (Di Mola et al., 2020; Kulkarni et al., 2019; Roupael et al., 2017). Deze extracten verhogen de concentratie van belangrijke componenten zoals fenolen, flavonoiden, chlorofyl, carotenoiden, eiwitten en fytohormonen, wat resulteert in een verbeterde opbrengst, kwaliteit en stressbestendigheid van de gewassen, vooral onder stressvolle omstandigheden zoals bijvoorbeeld zoutstress (Baltazar et al., 2021). Ook de roodwieren *Kappaphycus alvarezii* en *Gracilaria edulis* hebben gunstige effecten als biostimulant. Hun toepassing verbetert de kieming van rijst en bladbehandeling leidt tot een verbetering van de plantengroei en biomassa (Layek et al., 2018). Bovendien resulteert toepassing van deze biostimulant in een toename van het gehalte aan nutriënten zoals stikstof, fosfor, zink, koper, ijzer, mangaan en kalium. Dit is mogelijks te verklaren doordat de extracten van zowel *Kappaphycus* spp. als *Gracilaria* spp. glycine-betaine, choline en plantgroeiregulatoren zoals IAA, zeatine, GA3 en verschillende macro- en micronutriënten bevatten. Onder zout- en/of droogtestress verbetert het gebruik van *K. alvarezii* extract in tarwe de plantengroei, wortelgroei, fotosynthetische pigmentengehalte en relatieve waterinhoud (RWC), terwijl ook een hogere accumulatie van osmoprotectanten zoals proline, aminozuren en oplosbare suikers wordt waargenomen (Patel et al., 2018). Bovendien wijst de moleculaire invloed van deze SWE op stress responsieve genen in planten op een directe invloed op genexpressie die de planten helpt om stress te weerstaan (Baltazar et al., 2021).

### 2.1.8.2 Plantextracten

Ook extracten van planten kunnen dienen als ingrediënt in biostimulanten. De meest voorkomende plantenextracten worden verkregen uit bladeren, olie en zaden van planten (Long et al., 2021). In vergelijking met zeewieren is er echter minder bekend over hun biostimulerende activiteiten. Tot nu toe lag de nadruk voornamelijk op hun eigenschappen als pesticiden (du Jardin, 2015). Deze extracten zijn rijk aan bioactieve verbindingen die specifieke fysiologische processen in planten kunnen activeren en zo hun prestaties kunnen verbeteren (Ma et al., 2022). Plantextracten kunnen effecten op de algemene plantgroei en chlorofylbiosynthese hebben (Long et al., 2021). Bijvoorbeeld is aangetoond dat wortelextracten van wortelen en zoethout de groei van cowpea, bonen, perenbomen en venkel verbeterden (Ma et al., 2022). Het bladextract van de moringaboom (*Moringa oleifera*) wordt ook gebruikt om de groei van verschillende gewassen te verhogen, zoals pompoenen, erwten en gewone bonen. Dit extract heeft een positief effect op de biomassa productie vanwege het hoge gehalte aan cytokininen, die de biosynthese van chlorofyl bevorderen, waardoor ook de fotosynthetische activiteit toeneemt (Del Buono, 2021). Moringa-extracten tonen ook effectiviteit in het verbeteren van de prestaties van gewassen, zoals pompoen, onder droogtestress. De voordelen omvatten een hogere opbrengst, watergebruiksefficiëntie (WUE), relatieve waterinhoud (RWC), verhoogde niveaus van proline en verminderde elektrolytlekkage. De aanwezigheid van osmoprotectanten zoals suikers en proline in de extracten kan de capaciteit van planten vergroten om zich te beschermen tegen stress. Bovendien verminderen proline en antioxidanten de schadelijke effecten van oxidatieve stress door reactieve zuurstofsoorten (ROS) te neutraliseren (Del Buono, 2021). Naast droogtestress kunnen plantenextracten ook helpen bij het verminderen van zoutstress. Bijvoorbeeld, alfalfa-extracten in maïs of zeegras-extracten gebruikt in tomatenplanten (Long et al., 2021; Ma et al., 2022). De positieve effecten van plantenextracten op de weerbaarheid kunnen worden verklaard door hun samenstelling. Ze bevatten verhoogde concentraties van verbindingen die van nature in planten voorkomen, zoals aromaten en secundaire metabolieten zoals fenolen, fenolzuren, chinonen, flavonen, flavonoiden, flavonolen, tannines en coumarines. Polyfenolen kunnen bijvoorbeeld de weerstand tegen ziekten en plagen verhogen en zijn te vinden in extracten van eikenbomen. Bovendien zijn er plantenextracten die het niveau van ethyleen verlagen of plantafweerhormonen zoals jasmijn- en salicylzuuren verhogen (Long et al., 2021). Veel plantenextracten hebben ook antimicrobiële werking of zijn effectief tegen plagen, schimmel- en bacteriepathogenen. Een voorbeeld hiervan is de antimicrobiële werking van knoflook extracten tegen plantparasitaire aaltjes, vanwege het gehalte aan alliline (Long et al., 2021). Plantenextracten zijn per definitie soorten organische stof waardoor ze ook bepaalde effecten op de nutriëntinhoud in de bodem en planten hebben. Ze bieden voordelen zoals verbeterde bodemstructuur, een voedselbron voor micro-organismen en een bron van voedingsstoffen voor de plant. Zelfs onder omstandigheden met beperkte nutriënten kan toevoeging van plantenextracten de nutriëntenopname verbeteren en de nutriëntengehalten in de plant (Long et al., 2021).

### 2.1.8.3 Humusbestanddelen

Humusbestanddelen zijn natuurlijk voorkomende bestanddelen van organisch bodemmateriaal die ontstaan tijdens het humificatieproces. Dit proces is een combinatie van chemische, biologische en fysische activiteiten waarbij plantenresten, dieren en microbiële residuen uit de omgeving worden afgebroken. Op basis van hun oplosbaarheid in water en molecuulgewicht kunnen

ze opgedeeld worden in verschillende categorieën waaronder huminen, humuszuren (HA) en fulvinezuren (FA) (Bulgari et al., 2019; Long et al., 2021; Rai et al., 2021). De dichtheid van de moleculen is afhankelijk van de snelheid van de afbraak van het organisch materiaal. Bij snelle afbraakprocessen, zoals bij het composteren, zullen laagmoleculaire fulvo- en huminezuren ontstaan. Humusbestanddelen werken in op de fysische, fysico-chemische, chemische en biologische eigenschappen van de bodem en zorgen zo voor een essentiële bijdrage aan de bodemvruchtbaarheid (du Jardin, 2015). Ze dragen bij aan de vorming en stabiliteit van bodemaggregaten en bijgevolg de beluchting en hydratatie van de bodem. Door in te werken op de CEC (Cation Exchange Capacity) van de bodem zorgen ze voor betere adsorptie en beschikbaarheid van voedingsstoffen. Daarnaast helpen ze ook bij aan chemische reacties zoals de productie van secundaire carbonaten die bijdragen aan de koolstofvastlegging in de bodem. Ten slotte wordt er ook voor een hogere microbiële respiratie gezorgd (du Jardin, 2012).

#### 2.1.8.4 Gehydrolyseerde eiwitten en andere N-houdende componenten

Op de markt zijn tal van biostimulanten verkrijgbaar die zijn vervaardigd uit bijproducten van de landbouw, veeteelt en industrie. Door chemische, enzymatische of thermische eiwithydrolyse van zowel plantaardige (gewasresten) als dierlijke bronnen (collageen, epitheliaal weefsel) worden eiwithydrolysaten verkregen. Dat zijn mengsels van poly- en oligopeptiden, aminozuren en diverse eiwitten, die nuttige effecten op gewassen hebben (Bulgari et al., 2019; du Jardin, 2015; Long et al., 2021). Omdat deze producten gemaakt zijn uit afval van andere industrieën, draagt dit bij aan een circulaire economie en landbouw: ze bieden een duurzame oplossing voor veel afvalstoffen (Ma et al., 2022). De meerderheid van deze producten is van dierlijke oorsprong zoals veren, bloed, collageen, caseïne, enz. De op planten gebaseerde producten zijn nieuwer en worden over het algemeen verkregen uit groente- of fruitafval maar ook specifiek uit peulvruchten (Long et al., 2021; Rai et al., 2021). Het peptide en vrij aminozuurgehalte van deze hydrolysaten varieert afhankelijk van het productieproces en het uitgangproduct. De belangrijkste aminozuren zijn alanine, arginine, glycine, proline, glutamaat, glutamine, valine en leucine (Calvo et al., 2014). Zo zijn proline en glycine de meest voorkomende componenten in eiwit hydrolysaat biostimulanten gebaseerd op collageen, terwijl glutaminezuur overvloediger is in biostimulanten afgeleid van plantaardige bronnen (Ma et al., 2022). Hydrolysaten bevatten ook andere stikstofhoudende moleculen zoals betaïnen, polyaminen en 'niet-eiwit aminozuren' (du Jardin, 2015). Ten slotte kunnen niet-eiwitcomponenten aanwezig in de hydrolysaten ook bijdragen aan de stimulerende effecten op planten. Deze stoffen omvatten vetten, koolhydraten, macro- en micronutriënten en fytohormonen (Calvo et al., 2014).

Biostimulanten gebaseerd op eiwithydrolysaten hebben een meervoudige werking op de groei van planten (du Jardin, 2015). Bij de indirecte invloed speelt de aanwezigheid van aminozuren in de producten een belangrijke rol. Aminozuren vervullen namelijk verschillende belangrijke functies in planten en zijn rechtstreeks opneembaar. Zo zijn ze in de meeste planten de belangrijkste transportvorm voor organische stikstof en kunnen ze direct gebruikt worden voor eiwitsynthese en andere essentiële stikstofverbindingen. Individuele aminozuren aanwezig in eiwithydrolysaten, zoals glutamine, kunnen fungeren als signaal moleculen bij het reguleren van de stikstofopname (Calvo et al., 2014). Ook bij het transport van micronutriënten zijn aminozuren betrokken, wat leidt tot een verbeterde efficiëntie van het gebruik van voedingsstoffen. Specifieke aminozuren zoals asparagine, glutamine, cysteine en proline, evenals peptiden, hebben de capaciteit om schadelijke zware metalen (Zn, Ni, Cu, As en Cd) te cheleren, waardoor ze minder schadelijk zijn voor planten (Long et al., 2021). Dat chelerende effect kan ook bijdragen aan de mobiliteit en opname van micronutriënten (du Jardin, 2015). Naast chelatie van metalen is ook aangetoond dat proline planten beschermt tegen zware metalen door zijn antioxidante werking, osmoregulatie en regulering van genexpressie. Als antioxidant neutraliseert proline reactieve zuurstofsoorten (ROS) en beschermt het zo de cellen tegen oxidatieve schade veroorzaakt door zware metalen. Door de osmotische balans in plantencellen te handhaven helpt proline de plant omgaan met de water deficiëntie die vaak gepaard gaat met stress door zware metalen. Ten slotte kan proline de expressie van genen reguleren die betrokken zijn bij stressresponsen en detoxificatie van zware metalen. Door de genexpressie te moduleren, kan proline helpen bij het activeren van beschermingsmechanismen zoals tegen zware metalen (Sharma & Dietz, 2006).

Aminozuren kunnen ook een indirecte invloed uitoefenen door de structuur van de bodem te verbeteren en de microbiële biomassa en activiteit te verhogen (du Jardin, 2015; Long et al., 2021). Verhoging van de microbiële activiteit in de bodem leidt ook tot een verbetering van de mobiliteit, oplosbaarheid en opname van micronutriënten zoals Fe, Zn, Mn en Cu evenals wijzigingen in de wortelarchitectuur van planten (Long et al., 2021). Naast indirecte effecten ondervinden planten ook directe effecten. Het is aangetoond dat eiwithydrolysaten koolstof- en stikstofmetabolisme stimuleren en stikstofassimilatie verhogen. Biostimulanten van dit type kunnen de activiteit van belangrijke enzymen die betrokken zijn bij Krebscyclus verhogen door opregulatie van de betrokken genen. Verhoogde activiteit van malaat dehydrogenase, isocitraat dehydrogenase en citraat synthase van de



citroenzuurcyclus resulteert in een verbeterde synthese en recyclage van aminozuren en heeft bijgevolg een positief effect op de energieproductie en metabole processen in plantencellen. Daarnaast beïnvloeden eiwithydrolysaten ook de stikstofreductie en -assimilatie door opregulatie van genen betrokken bij de productie van nitraatreductase, nitriet reductase, glutamine synthetase, glutamaat synthase en aspartaat aminotransferase (Calvo et al., 2014; du Jardin, 2015).

### 2.1.8.5 Chitosan en andere nutriënt polymeren

Natuurlijke polymeren zoals polysacchariden, cellulose, peptiden en zetmeel kunnen als biostimulanten fungeren en worden vaak aangeduid als "coatings". Chitosan-achtige stoffen zijn één van de meest voorkomende stoffen die in deze categorie gebruikt worden (Long et al., 2021). Chitosan is een lineaire polysaccharide verkregen uit de deacetylering van chitine, een biopolymeer dat van nature voorkomt als bestanddeel van schimmelcelwanden, exoskeletten van insecten en schalen van schaaldieren (Alvarez et al., 2023; Long et al., 2021). De karakterisatie en toepassing ervan zijn al tientallen jaren aan de gang, waardoor het wereldwijd wordt gebruikt in verschillende sectoren zoals, landbouw, industrie en geneeskunde (Pichyangkura & Chadchawan, 2015). Chitine en chitosan zijn co-polymeren van N-acetyl-d-glucosamine en D-glucosamine die aan elkaar gekoppeld zijn via  $\beta$ -1,4-glycosidebindingen, analoog aan cellulose. De verhouding van elk monomeer in de polymeerketen bepaalt de fysische, chemisch en biologische eigenschappen, en of het materiaal wordt gekarakteriseerd als chitine of chitosan (Pichyangkura & Chadchawan, 2015). Hoewel chitine van nature in verschillende bronnen voorkomt, wordt het doorgaans gewonnen uit garnalen- of krabscalen door demineralisatie en deproteïnisatie. Chitosan is niet overvloedig aanwezig in de natuur, maar wordt dus verkregen via een heterogeen deacetyleringsproces uit chitine. Beide zijn onoplosbaar in water. Om ze praktisch toe te passen, worden vaak zouten van chitosan gebruikt die wel oplosbaar zijn in water (Long et al., 2021). Het chitosan afgeleid van vergelijkbare startmaterialen of bereidingswijzen kan behoorlijk verschillend zijn. De interactie met de plantrespons is voornamelijk afhankelijk van de herkomstbron, deacetyleringsgraad en -patroon, moleculair gewicht, oplosbaarheid en modificatie. Deze parameters moeten goed worden gekarakteriseerd voordat het wordt toegepast (Pichyangkura & Chadchawan, 2015).

Omdat er nog geen receptor geïdentificeerd is, lijkt chitosan plantencellen te activeren door middel van interacties tussen zijn positief geladen aminogroepen en de negatief geladen fosfolipiden, en niet via een receptor-specifieke interactie. De interactie tussen chitosan en plantencellen veroorzaakt een signaal naar de chloroplasten en resulteert in de productie van waterstofperoxide ( $H_2O_2$ ) en stikstofoxide (NO) als secundaire boodschappers. Daarom worden chloroplasten voorgesteld als de primaire organellen voor de werking van chitosan. Bovendien zijn de enzymen betrokken bij de octadecanoïde signaalroute, waaronder lipoxygenase (LOX), allene oxide synthase en allene oxide cyclase, gelokaliseerd in chloroplasten. Deze pathway is vereist om  $H_2O_2$  te genereren, maar produceert in de eerste plaats ook jasmijnzuur (JA) dat andere genen kan activeren die betrokken zijn bij plantafweer, zoals voor chitinase en glucanase, en leidt tot systemisch verworven resistentie (SAR). Echter, stoffen die  $H_2O_2$  opruimen, remmen de expressie van pathogenese gerelateerde eiwitten (PRP's). Bovendien kan  $H_2O_2$  ook fungeren als boodschapper voor reacties op abiotische stress, wat leidt tot een toename van de tolerantie voor abiotische stress bij verschillende plantensoorten door behandeling met chitosan. Zo induceert het fenylalanine ammonium lyase (PAL), een belangrijk enzym in de biosynthese van fenolverbindingen. Voorts activeert de generatie van  $H_2O_2$  het ROS-afvangsysteem en de expressie van andere genen die gevoelig zijn voor oxidatieve stress. Van verschillende enzymen in het ROS-afvangsysteem is bekend dat ze verhoogd worden door behandeling met chitosan, waaronder superoxidisedismutase (SOD), peroxidase (POX) en katalase (CAT). Ten slotte stimuleert  $H_2O_2$  de abscisinezuur (ABA) synthese pathway. Daartegenover is de productie van NO een voorwaarde voor de productie van fosfatidisch zuur (PA) dat interageert met de negatieve regulator van ABA, ABI1, wat leidt tot de activering van een ABA-respons (Alvarez et al., 2023; Pichyangkura & Chadchawan, 2015). ABA heeft een rol in het sluiten van de huidmondjes. Bladtoepassingen met chitosan verminderen de transpiratiesnelheid en verbeteren de watergebruiksefficiëntie (WUE) waardoor de planten beter tegen periodes van droogte of waterstress kunnen (du Jardin, 2015; Long et al., 2021).

Naast activering van plantenafweersystemen zoals hierboven beschreven wordt, heeft chitosan ook verschillende gunstige effecten op plantengroei en bodemgezondheid. Daar komt bij dat het voordelen biedt voor het bodemleven. Bepaalde polysacchariden die in chitosan aanwezig zijn, kunnen gunstig zijn voor micro-organismen zoals *Bacillus* spp., mycorrhiza en rhizobacteriën. Voorts kan toevoeging van chitosan in de bodem de afbraak van organische stoffen versnellen door de activiteit van saprotrofen te verhogen. Dit kan leiden tot een verbetering van de bodemgezondheid en de nutriëntenopname door planten. Daarnaast kan chitosan ook zware metalen cheleren waardoor het zowel de gezondheid van de planten als van de bodem verbetert. Ook andere nutriëntpolymeren kunnen de bodemstructuur verbeteren door de vorming van sterkere aggregaten. Dit resulteert in voordelen zoals waterafstotendheid en verminderde erosie, die de weerbaarheid van planten tegen droogte kan

verbeteren (Long et al., 2021). Toevoeging van chitosan kan ook de fotosynthese stimuleren door het verhogen van de chlorofylgehaltes, wat leidt tot verbeterde groei bij planten (Kisvarga et al., 2022; Long et al., 2021; Pichyangkura & Chadchawan, 2015). Tot slot helpt chitosan ook bij het genezen van wonden die zijn veroorzaakt door plagen, ziekten of fysieke schade. Dit wordt bereikt door de eiwitsyntheseroutes te activeren die betrokken zijn bij weefselregeneratie, waardoor de planten sneller kunnen herstellen van beschadigingen (Long et al., 2021).

#### 2.1.8.6 Anorganische verbindingen en zouten

De belangrijkste anorganische zouten die voorkomen in biostimulanten zijn chloorverbindingen, fosfaten, fosfieten, silicaten, carbonaten en sporenelementen (Long et al., 2021). Fosfiet verwijst specifiek naar zouten die zijn afgeleid van fosforigzuur ( $H_3PO_3$ ) wat meteen ook het verschil is met fosfaten die afgeleid zijn van fosforzuur ( $H_3PO_4$ ). Fosfiet heeft naast een schimmeldodende werking, ook gunstige effecten op de groei en kwaliteit van planten. Deze omvatten het verbeteren van de opname en assimilatie van voedingsstoffen, het verhogen van de tolerantie tegen stressomstandigheden en het stimuleren van wortelgroei, opbrengst en voedingswaarde van planten (Alvarez et al., 2023). Het is belangrijk om op te merken dat fosfiet niet door planten kan worden omgezet in fosfaat en dus niet rechtstreeks als fosforbron kan dienen. Wanneer fosfiet wordt toegepast op de bodem is het wel mogelijk dat het door micro-organismen geoxideerd wordt tot fosfaat en zo beschikbaar kan worden voor de plant (Gómez-Merino & Trejo-Téllez, 2015). Het effect van fosfiet is sterk afhankelijk van het fosfaatgehalte in de plant. Onder voldoende fosfaatvoorziening kan fosfiet bijdragen aan opbrengst en plantkwaliteit, echter bij een tekort of bij beperkte beschikbaarheid van fosfaat kan er toxiciteit optreden door accumulatie van fosfiet (du Jardin, 2012; Thao & Yamakawa, 2009). Net als fosfieten hebben ook chloriden, fosfaten, silicaten en carbonaten ook fungicide effecten en stimuleren ze plantenverdediging (du Jardin, 2012). Ondanks dat de precieze werkingsmechanismen nog niet volledig zijn vastgesteld, hebben deze anorganische verbindingen invloed op de osmotische, pH- en redoxhomeostase, hormoonsignalering en enzymen die een rol spelen bij stressrespons, zoals peroxidasen (du Jardin, 2015).

Sporenelementen zijn elementen die nuttig zijn, maar niet noodzakelijk voor (alle) planten om te kunnen groeien en overleven. In hoge concentraties kunnen ze toxisch zijn, sommige zelfs in lage concentraties. In zeer lage concentraties laten ze voordelen zien. De meest voorkomende sporenelementen in biostimulanten zijn: aluminium (Al), kobalt (Co), koper (Cu), ijzer (Fe), mangaan (Mn), natrium (Na), selenium (Se) en silicium (Si) (Long et al., 2021). Vooral silicium is interessant doordat het toegepast kan worden om weerstand te bieden tegen meerdere stressfactoren terwijl het niet giftig is voor mens en milieu. Het gebruik ervan is echter nog beperkt. De positieve invloed van Si op planten omvat het verminderen van zout-, droogte- en voedingsstress, evenals stress door ongunstige klimatologische omstandigheden, het verminderen van de toxische effecten van metalen en metalloïden, en het vertragen van het verouderingsproces bij planten. De belangrijkste mechanismen betrokken bij de verlichting van abiotische stress door Si omvatten: (1) afzetting van silica in de plantenweefsels, wat zorgt voor mechanische stevigheid van celwanden en moduleert de mobiliteit van voedingsstoffen en water in de planten, (2) stimulatie van antioxidant systemen, (3) complexatie van toxische metalen en (4) modulatie van genexpressie en signalering door fytohormonen op indirecte wijze. Naast weerstand tegen abiotische stress kan Si ook weerstand bieden tegen ziekten en plagen (Savvas & Ntatsi, 2015).

### 3 MATERIAAL EN METHODEN



#### Hulpmiddelen literatuurstudie

In deze thesis werden traditionele zoekmethoden zoals Web of Science en Google Scholar gebruikt om de literatuur te verkennen. Met Connected Papers en Consensus werd er gericht gezocht naar relevante artikels. ChatGPT werd toegepast om een betere vormelijke en grammaticale tekst te krijgen en ChatPDF om efficiënt info uit artikels te halen. De gegenereerde tekst werd kritisch bekeken en niet ondoordacht overgenomen.



#### Plantmateriaal en groeiomstandigheden

Het proefwerk werd uitgevoerd in serre 1.7 van het Proefcentrum voor Sierteelt (PCS) gelokaliseerd in Destelbergen, België (51°3' N; 3°48' E). Er werd gekozen voor vier verschillende perkplanten. De achtergrond van deze planten werd reeds besproken in sectie 0. Voor de eerste proef werden in september 2023 gewortelde plugplanten van *Viola x wittrockiana* 'Carrera Orange' en *Primula acaulis* 'Cabaret White' verplant in containers met een volume van resp. 470 cm<sup>3</sup> en 510 cm<sup>3</sup> gevuld met een professioneel turfsubstraat (LP106T, Agaris, België) (Tabel 1). Voor de tweede proef werden in februari 2024 geworteld stekgoed van *Pelargonium zonale* Dark Lorena Salmon en gewortelde plugplanten van *Salvia farinacea* 'Rhea' verplant in containers met hetzelfde volume van 470 cm<sup>3</sup> gevuld met een professioneel turfsubstraat (LP106T, Agaris, België) (Tabel 2). De experimenten werden opgezet in een serre met gemiddelde luchttemperatuur van 14,9 °C en gemiddelde relatieve vochtigheid van 78,5%. De planten werden één keer per week geïrrigeerd via serreberegening en kregen voedingsstoffen mee met het water. Voor de fertigatie werd een recept voor bloeiende planten met een EC van 0,8 mS/cm toegepast.

Tabel 1: Proefplantgegevens proef 1 – najaar 2023

Plantmateriaal	<i>Viola x wittrockiana</i> 'Carrera Orange'	<i>Primula acaulis</i> 'Cabaret White'
		
	(bron: Rudy Raes Bloemzaden nv., n.d.)	(bron: Rudy Raes Bloemzaden nv., n.d.)
Leverancier	Rudy Raes Bloemzaden nv	
Potgrootte	Viool: Diameter: 10,5 cm; Hoogte: 7,9 cm; Volume: 470 cm <sup>3</sup> Primula: Diameter: 10,5 cm; Hoogte: 9 cm; Volume: 510 cm <sup>3</sup>	
Densiteit	1 plant per pot	
Plantdata	27 – 28 september 2023	
Substraat	Professioneel substraat samengesteld uit 55% zwartveen, 40% witveen, 5% klei met 4 kg kalk en 1,3 kg/m <sup>3</sup> PGMIX (NPK: 14-16-18) bijgemengd als basisbemesting (pH-zone: 5-6,5)	
Bemesting	Fertigatie recept voor bloeiende planten, EC van 0,8 mS/Cm	

Tabel 2: Proefplantgegevens proef 2 – voorjaar 2024

<b>Plantmateriaal</b>	<i>Pelargonium zonale</i> 'Dark Lorena Salmon'	<i>Salvia farinacea</i> 'Rhea'
		
	(bron: Rudy Raes Bloemzaden nv., n.d.)	(bron: Rudy Raes Bloemzaden nv., n.d.)
<b>Leverancier</b>	Rudy Raes Bloemzaden nv	
<b>Potgrootte</b>	Diameter: 10,5 cm; Hoogte: 7,9 cm; Volume: 470 cm <sup>3</sup>	
<b>Densiteit</b>	1 plant per pot	
<b>Plantdata</b>	13 februari 2024	
<b>Substraat</b>	Professioneel substraat samengesteld uit 55% zwartveen, 40% witveen, 5% klei met 4 kg kalk en 1,3 kg/m <sup>3</sup> PGMIX (NPK: 14-16-18) bijgemengd als basisbemesting (pH-zone: 5-6,5)	
<b>Bemesting</b>	Fertigatie recept voor bloeiende planten, EC van 0,8 mS/cm	

### Proef 1: Uittesten van diverse biostimulanten op beworteling van perkplanten

Deze proef werd eind september 2023 opgezet in een serre van het Proefcentrum voor Sierteelt. In deze proef werden acht verschillende behandelingen met commerciële biostimulanten getest en vergeleken met een negatieve, onbehandelde controle en een positieve (bio)controle waarbij de planten met Asperello T34 behandeld werden. Asperello T34 is een biofungicide op basis van *Trichoderma asperellum* T34 dat ook een gezonde wortel- en plantengroei bevordert. Zo werden er dus tien verschillende behandelingen (Tabel 3) toegepast op twee verschillende soorten perkplanten, nl. *Viola x wittrockiana* 'Carrera Orange' en *Primula acaulis* 'Cabaret White'. Tabel 3 geeft meer informatie over de toegepaste dosis en toepassingsfrequentie van de biostimulanten. Op Trianium-G, Vivisol en Rhizofeed (behandelingen 3, 4 en 8) na zijn alle producten toegepast door aangieten. Dit werd steeds gedaan aan 10% van het potvolume. Trianium-G en Vivisol werden ondergemengd in het substraat bij het planten en Rhizofeed werd steeds met een Birchmeier rugsproeier over het gewas verdeeld met een werkdruk van twee bar en een spuitvolume van tien liter per are. Alle tien de behandelingen werden vier keer herhaald in een gerandomiseerde blokkenproef. Figuur 1 (links) toont de opstelling in de serre en Figuur 3 geeft een schematisch overzicht van de proefopstelling. Per behandeling werden er dertig planten van elke soort opgesteld op vloeimatten. Zo waren er dus in totaal veertig blokken met elk dertig violen en dertig primula's. In totaal waren er 2400 planten aanwezig. Figuur 1 (midden en rechts) geeft de opstelling van een experimentele plot weer met 12 meetplanten en 18 randplanten van elke soort. Gedurende twee maanden werden tweewekelijks vier dezelfde planten opgemeten, resp. plant 1, 6, 7 en 12 op de figuur. Tussentijdse destructieve metingen werden uitgevoerd op andere meetplanten. Deze proef werd voltooid op 01/12/2023.



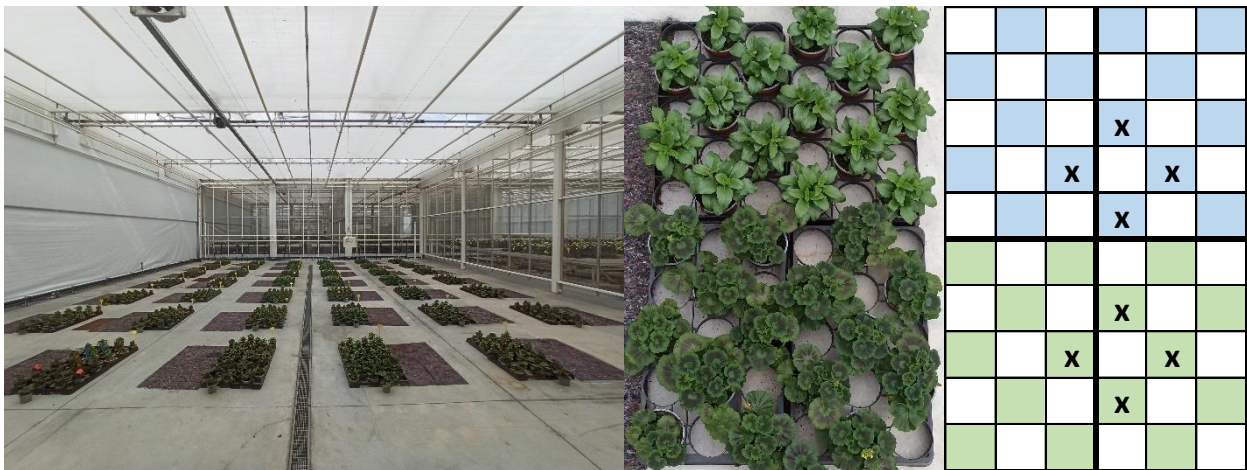
Figuur 1 Links: Proefopstelling proef 1. Midden en rechts: experimentele plot proef 1 (blauw: Primula, groen: Viola, x: randplant, 1-12: meetplanten).

Tabel 3: Product, soort biostimulant, dosis en toepassingsfrequentie van de behandelingen getest in proef 1.

Behandeling	Product	Soort biostimulant	Dosis	Toepassingsfrequentie
1	UTC	Nvt.	Nvt.	Nvt.
2	Asperello T34 biocontrole	Nvt	0,1 g/l	Eenmalig 2 dagen na planten
3	Trianium-G	Microbieel	75 g per 100 l substraat	Ondermengen in het substraat
4	Rhizofeed	Micro-organismen en fulvozuren	1 <sup>ste</sup> toepassing: 1 g/l; 2 <sup>de</sup> toepassing: 0,5 g/l	1 <sup>ste</sup> toepassing na het planten; 2 <sup>de</sup> toepassing na 4 weken
5	Stymbion	Aminozuren	3 ml/l	1 <sup>ste</sup> toepassing 2 weken na het planten, daarna elke 14 dagen herhalen (toepassen in late namiddag); 6 toepassingen
6	Vidi Terrum	Aminozuren	5 ml/l	1 <sup>ste</sup> toepassing 2 weken na het planten, daarna elke 14 dagen herhalen; 6 toepassingen
7	Optima Root	Zeewierextracten en huminezuren	10 ml/l	1 <sup>ste</sup> toepassing 2 weken na het planten, 2 <sup>de</sup> toepassing 4 weken na het planten
8	Vivisol + Vitact R	Microbieel	1 ml/l	Vivisol ondermengen bij substraat; Vitact R: 1 <sup>ste</sup> toepassing na het planten, 2 <sup>de</sup> toepassing 4 weken na het planten
9	Vitanica RZ	Zeewierextract en micro-organismen	0,8 ml/l	1 <sup>ste</sup> toepassing 2 dagen na het planten, daarna elke 14 dagen herhalen; 4 toepassingen
10	ArgicinPlus	Anorganische verbindingen en plantextract	1 <sup>ste</sup> toepassing: 2 ml/l; Daarna: 1 ml/l	1 <sup>ste</sup> toepassing 2 dagen na het planten, daarna elke 7 dagen herhalen

## Proef 2: Uittesten van diverse biostimulanten op droogtetolerantie

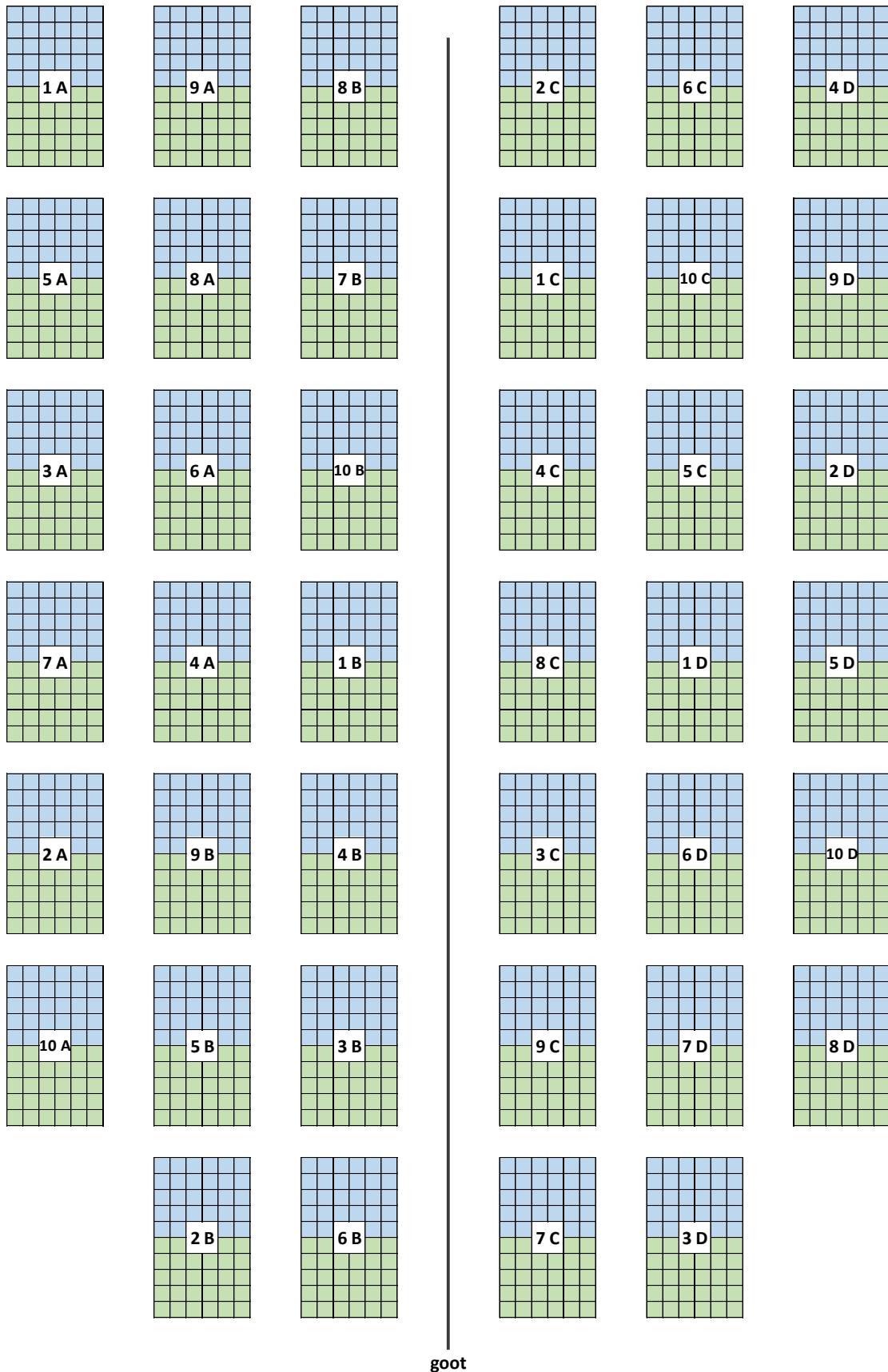
Voor het tweede deel van deze masterproef werd in februari 2024 een proef opgezet waarbij het effect van biostimulanten op perkplanten die onder abiotische stress staan, nl. droogtestress, werd onderzocht. Deze proef ging opnieuw door in een serre van het Proefcentrum voor Sierteelt. Nu werden acht andere behandelingen met commerciële en deze keer ook experimentele biostimulanten uitgetest op hun effect op de verhoging van tolerantie van *Pelargonium zonale* 'Dark Lorena Salmon' en *Salvia farinacea* 'Rhea' tegen droogtestress. Deze behandelingen werden vergeleken met een onbehandelde geïrrigeerde controle en een onbehandelde stress controlebehandeling. Om periodieke droogtestress te creëren werd de irrigatie op 15/03/2024 uitgezet, ongeveer een maand na inpotten. Deze droogte werd aangehouden tot 02/04/2024 om zo een droogteperiode van twee weken te bekomen. De tien behandelingen (Tabel 4) werden vier keer herhaald in een gerandomiseerde blokkenproef met in totaal dus veertig blokken. Deze biostimulanten werden, op behandelingen 9 en 10 na, toegepast met een Birchmeier rugsproeier met een werkdruk van drie bar en een spuitvolume van tien liter per are. Behandeling 9 werd aangegoten en de producten van behandeling 10 werden gemengd met de potgrond bij het planten. De proefopstelling is analoog aan die van proef 1 (Figuur 2; links en Figuur 3). In tegenstelling tot de opstelling ziet de experimentele plot van deze proef er wel anders uit (Figuur 2; rechts). Voor de 2<sup>de</sup> proef werden per plot 15 planten van elke soort opgesteld op vloeimatten, in totaal waren er 1200 planten aanwezig. Op de laatste dag van de droogteperiode werden een aantal stressmetingen gedaan op de vier meetplanten per plot (Figuur 2; rechts), daarover meer in sectie 0.



Figuur 2 Links: Proefopstelling proef 2. Midden en rechts: experimentele plot proef 2 (blauw: Salvia, groen: Pelargonium, x: meetplant)

Tabel 4: Product, soort biostimulant, dosis en toepassingsfrequentie van de behandelingen getest in proef 2.

Behan deling	Product	Soort biostimulant	Dosis	Toepassingsfrequentie
1	UTC – optimaal water	Nvt.	Nvt.	Nvt.
2	UTC - stress	Nvt	Nvt.	Nvt.
3	Aphasol + Actirob (uitvloeier)	Aminozuren + plantextract	Aphasol: 3 ml/l; Actirob: 1 ml/l	2 weken na planten; 1-2 dagen voor start droogte, 2-3 dagen na eerste bewatering
4	SilicaPower	Anorganische verbindingen (Si)	1 ml/l	Elke 7 dagen spuiten
5	Nutricin	Zeewier- en plantextract, aminozuren en anorganische verbindingen	4 ml/l	Elke 7 dagen spuiten
6	Stymbion	Aminozuren	3 ml/l	Elke 14 dagen: 1 <sup>ste</sup> toepassing al voor de droogtestress
7	Blue-N	Microbieel	0,33 g/l	Toepassen voor 10 uur 's ochtends (minimum bij 13 °C)
8	Basfoliar Si	Anorganische en stikstof verbindingen	1 l/ha	1 <sup>ste</sup> toepassing 2 weken voor stressperiode, 2 <sup>de</sup> toepassing 2-3 dagen voor stressperiode.
9	Experimenteel product	Zeewierextract	5 ml/l	Elke 7 dagen, start 2 weken na planten
10	Instant TD + Impuls TD	Microbieel	Instant TD: 1 g/l substraat; Impuls TD: 0,25 g/l	Instant TD: ondermengen in substraat; Impuls TD: eenmalig aangieten 2 weken voor stressperiode



goot

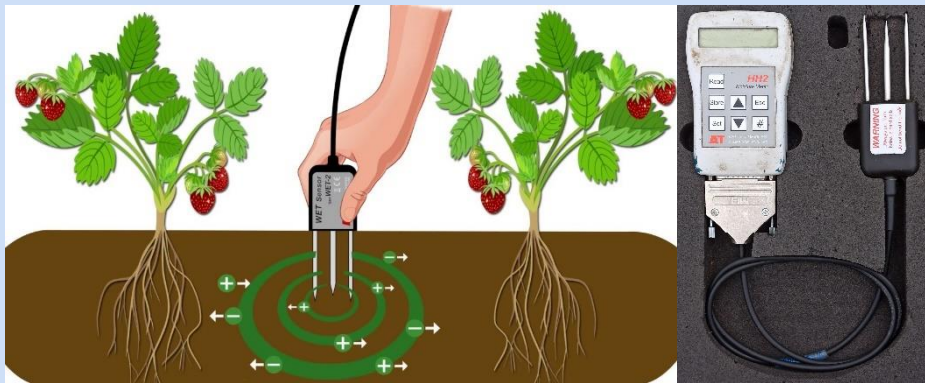
Figuur 3: Schematisch proefopstelling van proef 1 en 2 (1-10: behandeling, A-D: herhaling, blauw: resp. *Primula* of *Salvia*, groen: resp. *Viola* of *Pelargonium*)

## Metingen en plantkwaliteitsparameters

### Kaderstuk: Meettechnieken

#### WET-sensor voor monitoring volumetrisch vochtgehalte van het substraat

De WET-sensor (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK) is een diëlektrische sensor die bestaat uit drie pinnen voor gebruik in bodems, compost en andere kunstmatige groeimmedia. Diëlektrische sensoren werken door een alternerend elektrisch veld in het omringende medium te induceren (Figuur 4; links). De WET-sensor genereert daarvoor een signaal van 20 MHz wanneer deze in de bodem wordt geplaatst en een meting wordt uitgevoerd. Dit signaal wordt toegepast op de centrale staaf van de sensor (Delta-T Devices Ltd, 2018). Door de spanningen en stromen te meten die door dit veld in de meetstaven worden opgewekt, wordt de complexe impedantie verkregen voor het medium. Deze impedantie staat in verband met de complexe permittiviteit ( $\epsilon$ ) die de respons op het polariserend effect van het aangelegd elektrisch veld karakteriseert en daarmee de diëlektrische eigenschappen van het materiaal kwantificeert (Pardossi et al., 2009). De diëlektrische eigenschappen van de grond rond de pinnen van de sensor worden bepaald door het vochtgehalte, de elektrische geleidbaarheid en de bodemsamenstelling. Vervolgens maakt het HH2-apparaat gebruik van standaard kalibratie tabellen in functie van het medium om de diëlektrische eigenschappen om te zetten naar volumetrische vochtgehalte van het medium ( $\theta$  of VWC) over het volledige bereik van 0 – 80%, rekening houdend met de verschillende diëlektrische constanten van water, grond en lucht (resp.  $\epsilon = 80$ ;  $\epsilon = 4$  en  $\epsilon = 1$ ). Gelijktijdig met de permittiviteit wordt ook de elektrische geleidbaarheid (EC) van de bodem gemeten bij dezelfde frequentie (Delta-T Devices Ltd, 2018).



Figuur 4 Links: Werking van de WET-sensor (Delta-T Devices Ltd, 2018), Rechts: gebruikte WET-sensor (bron: Auteur)

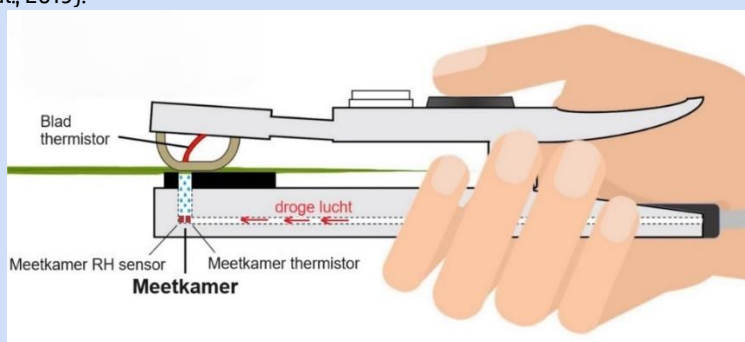
#### Porometer voor monitoring van droogtestress

Bij droogtestress wordt het waterpotentiaal in bladcellen te laag waardoor de huidmondjes dicht gaan om zo waterverlies door transpiratie te verminderen. Doordat water de meest limiterende factor is bij het openen van de huidmondjes zal watertekort onvermijdelijk leiden tot een versnelde sluiting (Martin-StPaul et al., 2017). De AP4 porometer (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK) is ontworpen voor het meten van de stomatale weerstand, wat verwijst naar de weerstand die waterdamp ondervindt wanneer het het blad verlaat via de huidmondjes. Deze meting is een indicator van de openingsgraad van de huidmondjes en weerspiegelt de reactie op verschillende omgevingsfactoren zoals licht, CO<sub>2</sub> en waterstress (Bragg et al., 1991). Eerst moet de porometer nauwkeurig gekalibreerd worden door gebruik te maken van een kalibratieplaat met bekende weerstands- en geleidingswaarden. Deze plaat bevat zes sets van poriën met bekende afmetingen die gebruikt worden om de waterabsorptie te karakteriseren. Deze informatie wordt vervolgens gebruikt in de Monteith-vergelijking om automatisch de weerstand te berekenen. Hierdoor kan de porometer nauwkeurige metingen verrichten over een breed temperatuurbereik, zonder frequent opnieuw te moeten kalibreren.

Daarna kan de weerstand van de stomata op een blad worden bepaald door het sensorhoofd op een blad te klemmen zoals weergegeven in Figuur 5. Als het blad waterdamp afgeeft, neemt de relatieve vochtigheid (RV) in de meetkamer toe. Het instrument meet de tijd die de RV nodig heeft om een kleine stap te stijgen, meestal 2,3% RV. Deze verandering in RV is een weerspiegeling van de stomatale geleiding van het blad, het omgekeerde van de weerstand van de huidmondjes tegen waterdampdiffusie. Aangezien het resultaat kan beïnvloed worden door de RV geschiedenis van de meetkamer, kan het nodig zijn om het proces meerdere keren te herhalen om de condities te stabiliseren. De meetkamer



doorloopt meerdere cycli van bevochtiging en uitdroging totdat de RV niveaus zich stabiliseren, wat meestal drie tot vier cycli in beslag neemt. Daarvoor brengt een pomp droge lucht in de meetkamer (Figuur 5) na elke tijdmeting, waardoor de RV ongeveer 5% onder het ingestelde niveau daalt. Deze cycli rond de RV minimaliseren fouten in de metingen (Bragg et al., 2019).



Figuur 5: Bouw van de AP4 porometer (Bragg et al., 2019).



Figuur 6: AP4 porometer in de praktijk (bron: Auteur).

### 3.1.1 Proef 1: Uittesten van diverse biostimulanten op beworteling van perkplanten

Tweewekelijks werden verspreid over twee dagen verscheidene parameters opgemeten (Tabel 5). De eerste metingen werden gedaan in de derde groeiweek. Van de vier meetplanten van zowel de violen als de primula's werd de planthoogte en -diameter gemeten met een vouwmeter. Ook het volumetrisch vochtgehalte (VWC) van het substraat van de vier meetplanten werd dan bepaald met de WET-sensor (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK). Vervolgens werd er van elk object één plant van elke soort geoogst. Aan deze planten werd een score (Figuur 7 en Figuur 8) gegeven op de plantkwaliteit. Daarna werden de planten aan de basis net boven het substraat afgeknipt om zo het versgewicht (VG) van het bovengrondse deel te wegen. Daarvoor werden deze planten in zakjes gestopt om ze vervolgens in droogstoofoven bij 75 °C te plaatsen om nadien het drooggewicht (DG) te bepalen. Tot slot werden de potten van deze planten omgedraaid en verwijderd zodat ook de beworteling beoordeeld kon worden met een score (Figuur 9 en Figuur 10). Bij de eindmetingen werden dezelfde parameters (VWC van het substraat, plantafmetingen, VG, DG, beworteling en plantbeoordeling) gemeten op de vier meetplanten die gedurende het verloop van de proef werden opgevolgd.

Tabel 5: Overzicht metingen proef 1. De week van het meetmoment is het aantal weken na planten.

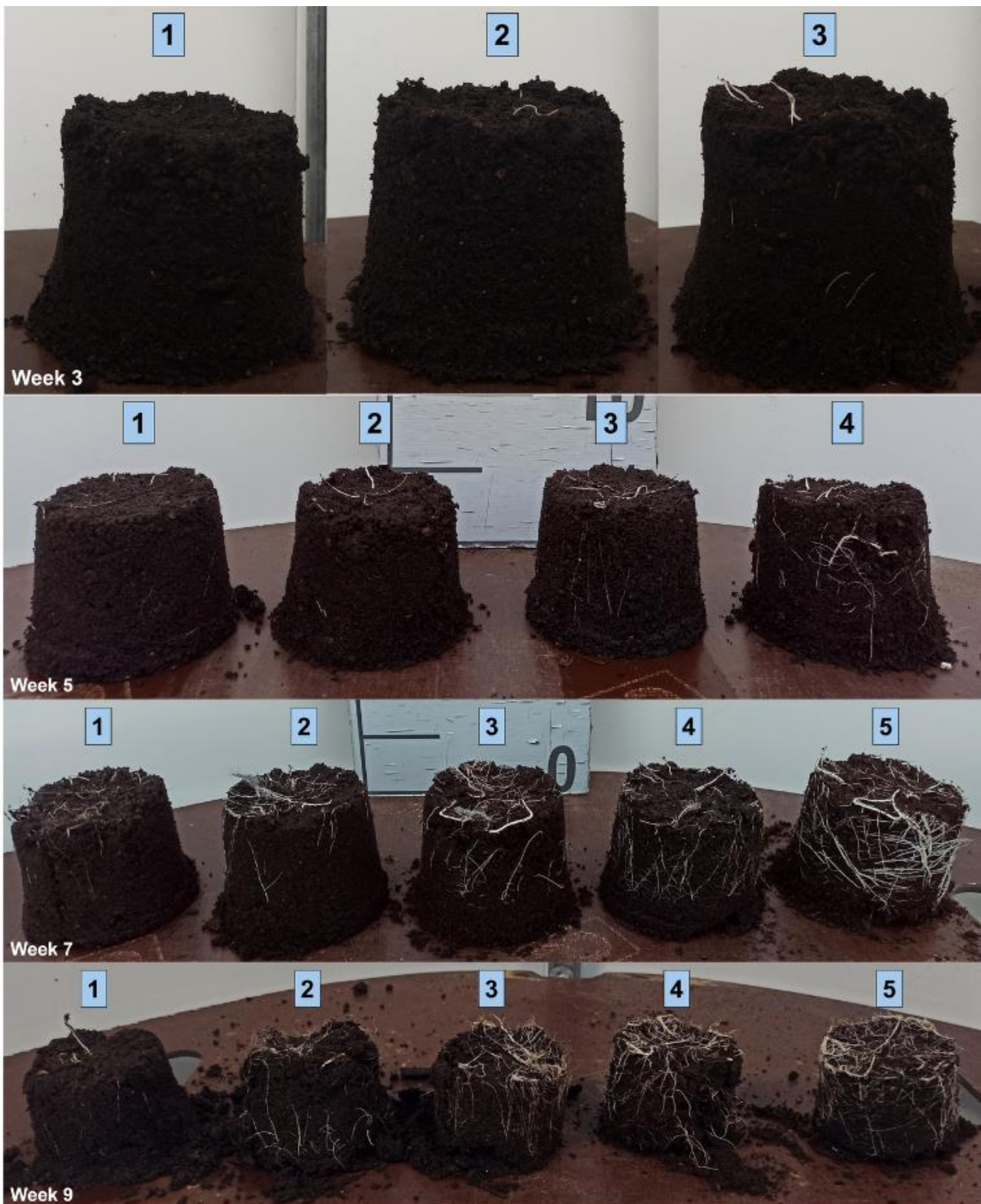
Parameter	Eenheid	Planten	Meetmomenten
WET-sensor	vol%	4 meetplanten per plot per soort	1. Week 3:
Plantafmetingen	cm	4 meetplanten per plot per soort	19/10/2023 – 20/10/2023
Vers- en drooggewicht	g	Week 3, 5 en 7: 1 plant per plot per soort; Eindmeting: 4 meetplanten per plot per soort	2. Week 5: 2/11/2023 – 3/11/2023
Beworteling	score	Week 3, 5 en 7: 1 plant per plot per soort; Eindmeting: 4 meetplanten per plot per soort	3. Week 7: 15/11/2023 en 17/11/2023
Plantkwaliteit	score	Week 5: 4 meetplanten per plot per soort; Eindmeting: 4 meetplanten per plot per soort	4. Week 9 (eindmeting): 29/11/2023 – 1/12/2023



Figuur 7: Plantkwaliteit van *Primula* op een relatieve schaal van 1 tot 5 voor week 5 en week 9 van proef 1. Rangschikking gebeurde op basis van grootte en algemeen uitzicht van de plant. Als de plant op basis van zijn groei een bepaalde score kreeg maar beschadigd was door bijvoorbeeld *Botrytis* dan werd een lagere score toegekend. 1 – klein en licht groene bladeren; 5 – groot met donkerder groene bladeren.



Figuur 8: Plantkwaliteit van *Viola* op een relatieve schaal voor week 5 en week 9 van proef 1. **Week 5:** 1 – plant niet vertakt; 2 – plant weinig vertakt met een duidelijke hoofdstengel; 3 – plant vertakt met een duidelijke hoofdstengel; 4 – compacte plant met veel vertakkingen die goed ontwikkeld zijn. **Week 9:** 1 – klein en weinig vertakt; 2 – weinig vertakt, al meer uitgelopen; 3 – klein maar goed vertakt en compact; 4 – al meer uitgelopen, goed vertakt en compact; 5 – groot, compact en eventueel al in een verder stadium (met bloem).



*Figuur 9: Wortelontwikkeling van Primula op een relatieve schaal bepaald voor elk meetmoment tijdens proef 1. **Week 3:** 1 – geen zichtbare wortels; 2 – beperkt zichtbare wortels onderaan; 3 – wortels onderaan zichtbaar en beperkt zichtbaar langs de rand. **Week 5:** 1 – bijna geen zichtbare wortels; 2 – beperkt zichtbare wortels aan de onderkant; 3 – wortels zichtbaar aan de onderkant en beperkte ontwikkeling langs de zijkant; 4 – wortelontwikkeling rondom de pot en aan de bodem. **Week 7:** 1 – wortels zichtbaar aan de onderkant en beperkte ontwikkeling langs de zijkant; 2 – goede wortelontwikkeling aan de onderkant en meerdere wortels zichtbaar langs de zijkant; 3 – goed ontwikkelde wortels, maar niet rondom de pot; 4 – goede wortelontwikkeling rondom de pot; 5 – goede wortelontwikkeling. **Week 9:** 1 – beperkt zichtbare wortels; 2 – beperkte wortelontwikkeling zowel aan de zijkant als de onderkant; 3 – onderaan 50% wortels zichtbaar, wortels langs de zijkant in zones goed zichtbaar; 4 – goede wortelontwikkeling maar nog niet volledig rondom de pot; 5 – goede wortelontwikkeling, volledig rondom de pot.*



*Figuur 10: Wortelontwikkeling van Viola op een relatieve schaal bepaald voor elk meetmoment van proef 1. **Week 3:** 1 – bijna geen zichtbare wortels; 2 – beperkt zichtbare wortels (minimum vijf zichtbaar); 3 – meer vertakte plaatsen zichtbaar; 4 – wortelontwikkeling rondom de pot en beperkt aan de onderkant. **Week 5:** 1 – enkele wortels zichtbaar; 2 – wortels langs de zijkant in zones goed zichtbaar; 3 – wortelontwikkeling rondom de pot; 4 – wortelontwikkeling rondom de pot en beperkt aan de onderkant; 5 – goede wortelontwikkeling rondom de pot en op de bodem. **Week 7:** 1 – beperkte wortelontwikkeling aan zowel de zijkant als de onderkant; 2 – wortels meer vertakt in verschillende zones rond de pot; 3 – goede wortelontwikkeling aan de onderkant, 50% rondom de pot; 4 – goede wortelontwikkeling, nog niet volledig rondom de pot; 5 – uitstekende wortelontwikkeling. **Week 9:** 1 – beperkt zichtbare wortels; 2 – beperkte wortelontwikkeling zowel aan de zijkant als de onderkant; 3 – onderaan 50% wortels zichtbaar, wortels langs de zijkant in zones goed zichtbaar; 4 – goede wortelontwikkeling maar nog niet volledig rondom de pot; 5 – goede wortelontwikkeling, volledig rondom de pot.*

### 3.1.2 Proef 2: Uittesten van diverse biostimulanten op droogtetolerantie

In deze proef werd één meetmoment voorzien op het verste punt in de stress aan het einde van de droogteperiode (2 april 2024). Op dat moment werden op de vier meetplanten per plantensoort metingen uitgevoerd met de WET-sensor, om het vochtgehalte van het substraat te bepalen, en met de AP4 porometer (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK), om het effect van de droogte en de biostimulanten op de huidmondjes te bepalen. Daarnaast werden ook de planthoogte en -diameter van deze meetplanten gemeten met een vouwmeter en werd tenslotte van elk object de plantkwaliteit beoordeeld. Daarvoor werd bij de salvia's gekeken naar het aantal verwelkte planten per object en voor de pelargoniums werd het aantal bloeistengels geteld.

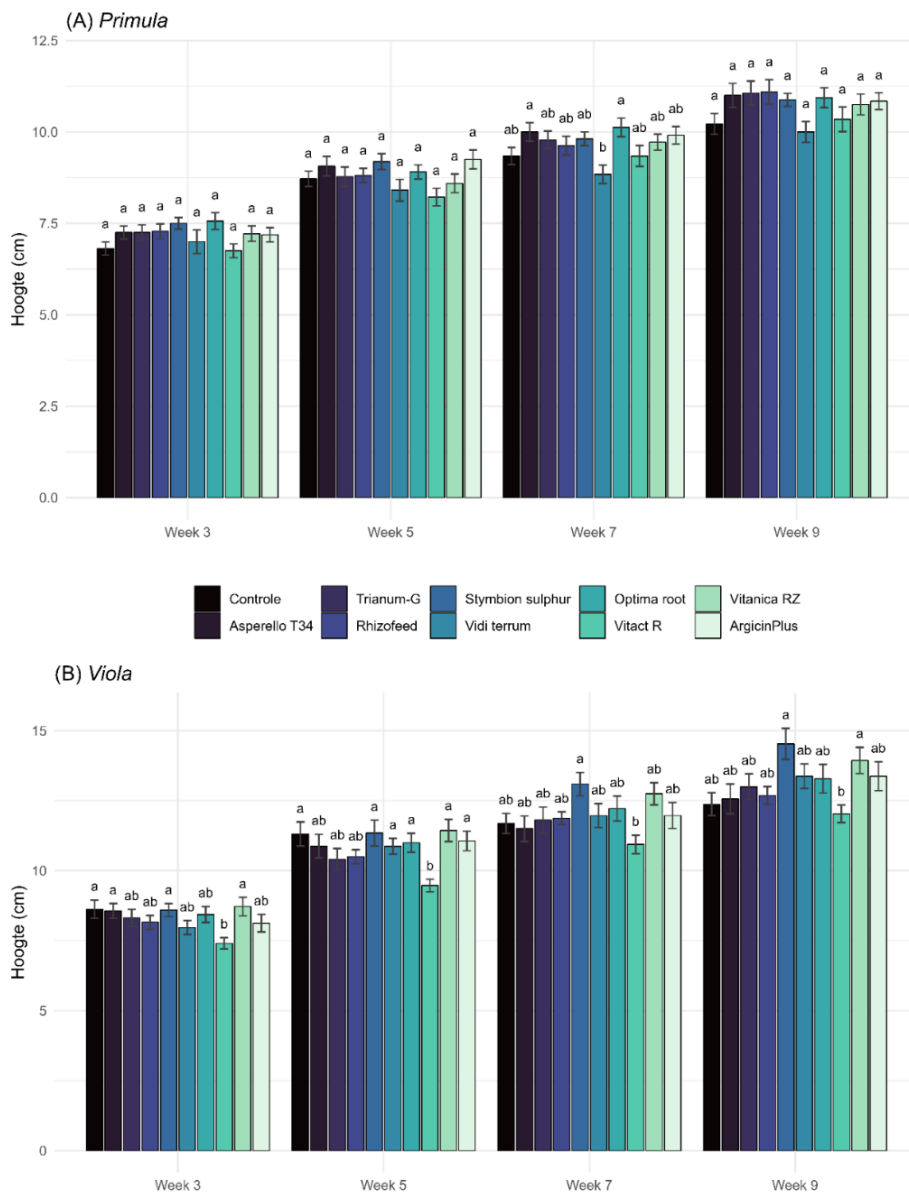
### Statistische dataverwerking

De dataverwerking werd uitgevoerd in Rstudio (R versie 4.2.2). Eerst werd de data voor elke meetmoment getest op normaliteit (Shapiro-Wilks test) en homoscedasticiteit (Levene's Test). Vervolgens werd op een 5% significantieniveau getest of er tussen de verschillende behandelingen met biostimulanten significante verschillen zijn. Indien de data normaal verdeeld en homoscedastisch was, werd gewerkt met een Two-Way Anova waarna met een Tukey HSD test ( $p = 0,05$ ) werd bepaald welke behandelingen significant met elkaar verschillen. Daarbij werd ook gekeken naar de herhalingen aangelegd in blokken om na te gaan of er blokeffecten waren in dit proefdesign. Als de gegevens niet normaal verdeeld en/of heteroscedastisch waren, werd de Scheirer-Ray-Hare-test (SRH) toegepast, waarbij zowel het verschil tussen behandelingen als herhalingen werd onderzocht. Als er geen significante verschillen waren voor de herhalingen, werd met behulp van een Dunnett's test ( $p = 0,05$ ) gecontroleerd op significante verschillen tussen behandelingen. Als bleek dat er significante verschillen waren voor de herhalingen, wat duidt op een blokeffect, werd de data eerst getransformeerd. Dit werd gedaan door de wortel, het Briggse logaritme of de inverse toe te passen. Indien de getransformeerde data parametrisch was, werden de Two-Way ANOVA en Tukey HSD-test toegepast. Als de getransformeerde data niet parametrisch was, werden deze testen toch uitgevoerd, maar met minder sterke conclusies als gevolg.

## 4 RESULTATEN

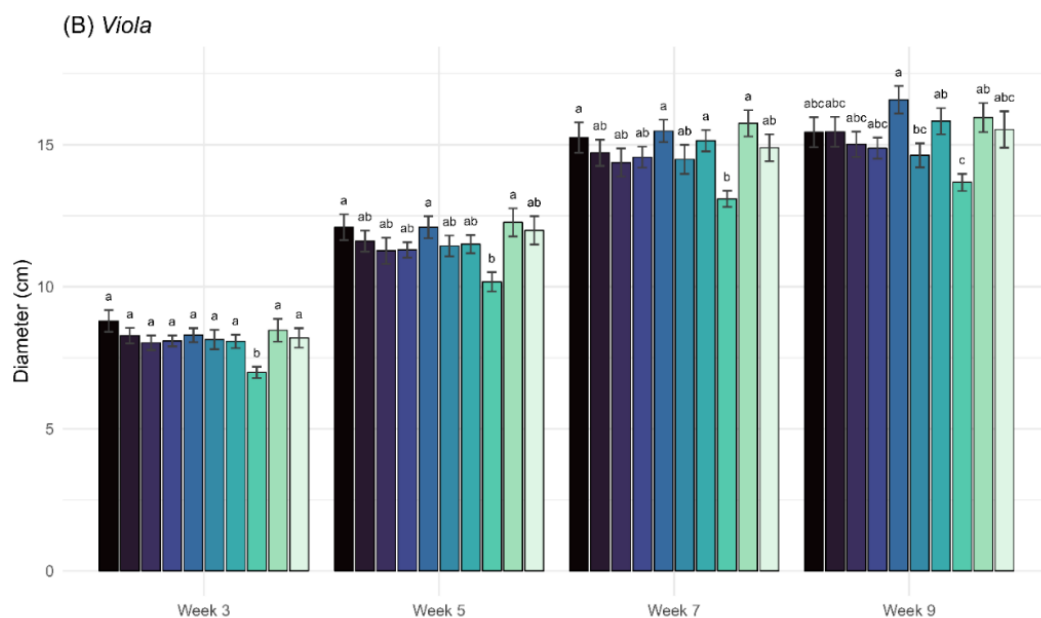
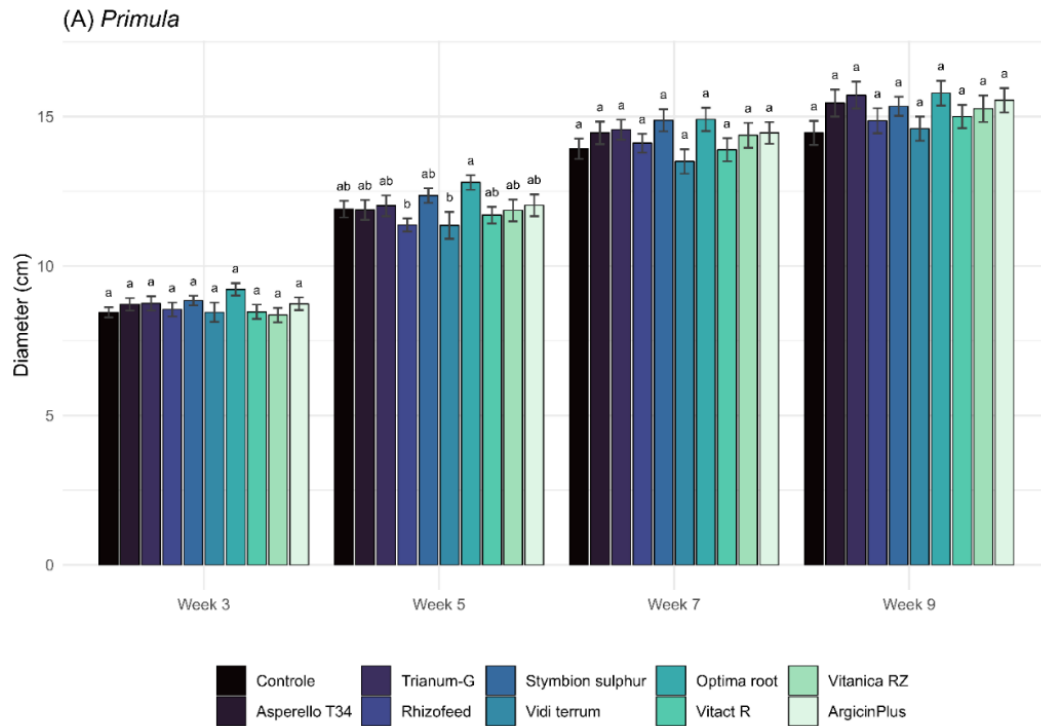
### Proef 1: Uittesten van diverse biostimulanten op bevordering van groei en wortelontwikkeling van *Primula* en *Viola*

De toepassing van verschillende biostimulanten had geen significant effect op de planthoogte van *Primula* (Figuur 11 (A)) in week 3, 5 en 9. Echter de primula's behandeld met Asperello T34 (positieve controle) en Optima root waren in week 7 significant hoger dan degenen die behandeld waren met Vidi terrum. Geen van deze behandelingen was significant verschillend met de onbehandelde controle (UTC). Bij de planthoogte van *Viola* (Figuur 11 (B)) viel op dat in week 3 en week 5 de planten behandeld met Vitact R significant lager waren dan de UTC. In week 7 was het effect van Vitact R dan weer significant lager dan dat van Stymbion sulphur. Echter, deze behandelingen vertoonden geen significante verschillen met zowel de positieve controle (Asperello T34) als de onbehandelde controle. Dit was ook zo in week 9, waarbij de planten behandeld met Vitact R bovendien ook significant lager waren dan die behandeld met Vitanica RZ.



Figuur 11: Effect van verschillende biostimulanten op de planthoogte van (A) *Primula acaulis* en (B) *Viola x wittrockiana* ten opzichte van een negatieve onbehandelde controle en een positieve controle behandeld met Asperello T34. Gemiddelde  $\pm$  SE;  $n = 16$ . Verschillende letters (a en b) per meetdag geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$ . ((A) Scheirer-Ray-Hare test gevolgd door Dunn's test in week 3 en 7. In week 5 en 9 een blokeffect en geen effect van transformatie van data, daarom een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test; (B) Scheirer-Ray-Hare test gevolgd door een Dunn's test. Blokeffect in week 7 en geen effect van transformatie van data, daarom een two-way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD-test.)

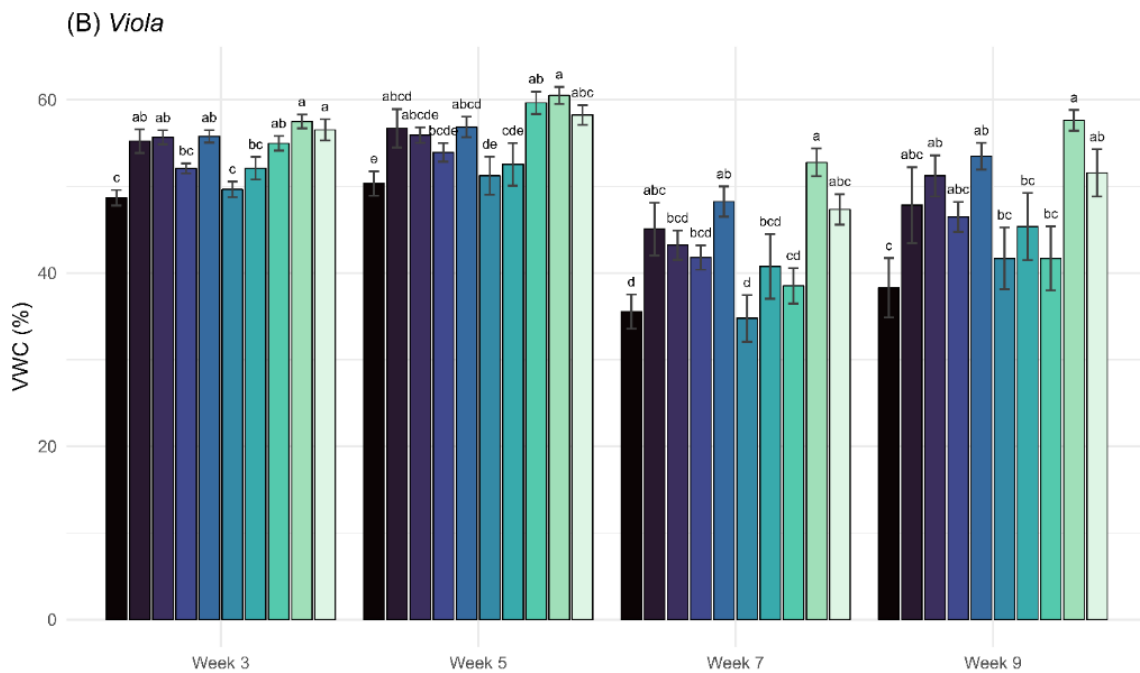
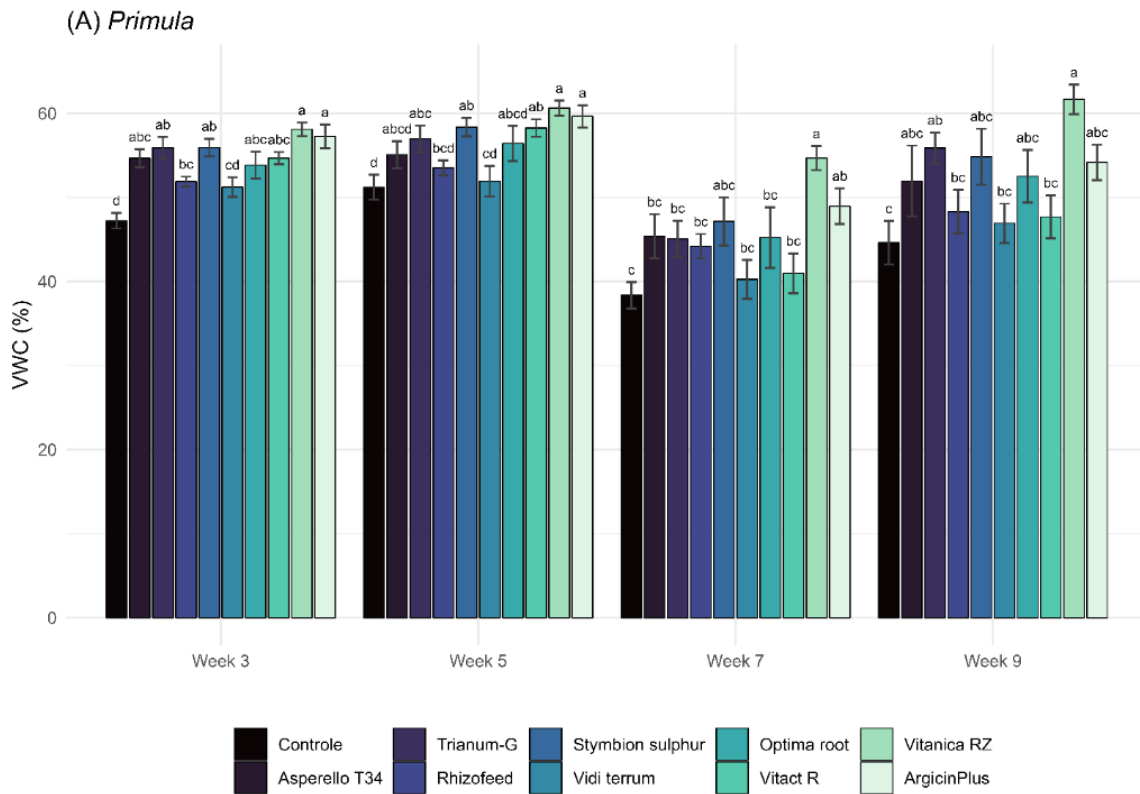
Vergelijkbaar met de planthoogte vertoonden ook de gemiddelde plantdiameters van *Primula* weinig significante verschillen tussen de verschillende behandelingen (Figuur 12 (A)). In week 5 waren de diameters van de primula's behandeld met Rhizofeed en met Vidi terrum significant kleiner dan diegenen die behandeld waren met Optima root. Er waren geen significante verschillen met de onbehandelde controle (UTC) of met de positieve controle (Asperello T34). Bij *Viola* was het effect van Vitact R op de diameter significant lager dan de UTC in week 3, 5 als 7 (Figuur 12 (B)). In week 9 was het effect van Vitanica R niet meer significant lager dan de UTC, maar vertoonde wel een significant verschil met de planten behandeld met Stymbion sulphur, die significant groter waren dan zowel de planten behandeld met Vitanica R als diegenen behandeld met Vidi terrum.



Figuur 12: Effect van verschillende biostimulanten op de plantdiameter van (A) *Primula acaulis* en (B) *Viola x wittrockiana* ten opzichte van een negatieve onbehandelde controle en een positieve controle behandeld met Asperello T34. Gemiddelde  $\pm$  SE;  $n = 16$ . Verschillende letters (a, b, en c) per meetdag geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$ . ((A) Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test in week 7 en 9. In week 3 en 5 een blokeffect en geen effect van transformatie van data, daarom een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test; (B) In week 3 en week 9 een Scheirer-Ray-Hare test gevolgd door Dunn's test. In week 5 en 7 een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test.)

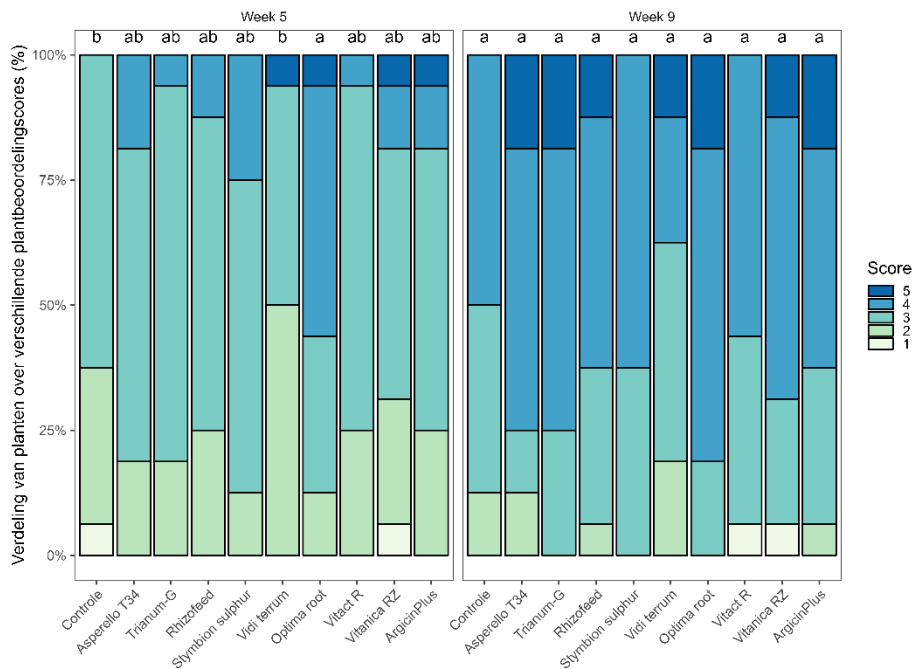
Het gemiddelde volumetrische vochtgehalte van het substraat vertoonde duidelijk hogere waarden in week 3 en week 5 in vergelijking met week 7 en week 9 (Figuur 13). Dit valt te verklaren doordat de frequentie van watergift hoger lag in de eerste weken (één keer per week) dan in de laatste weken (iedere twee weken). Bij *Primula* (Figuur 13 (A)) vertoonde het substraat in week 3 bij de behandelingen met Trianum-G, Stymbion sulphur, Vitanica RZ en ArgicinPlus significant hogere vochtgehaltenes dan bij de UTC. In week 5 werd dit effect opnieuw waargenomen bij deze behandelingen, met daarnaast ook een significant hoger vochtgehalte bij de behandeling met Vitact R. In week 7 bleef het vochtgehalte van het substraat significant hoger bij behandelingen met Vitanica RZ en ArgicinPlus ten opzichte van de UTC. Tot slot vertoonden behandelingen met Trianum-G en Vitanica RZ in week 9 significant hogere vochtgehaltenes in het substraat ten opzichte van de UTC. Bij *Viola* (Figuur 13 (B)) waren in week 3 en 5 alleen behandelingen met Rhizofeed, Vidi terrum en Optima root niet significant verschillend aan de UCT. Ook behandeling met Trianum-G vertoonde in week 5 geen significante ten opzichte van de UCT. In week 7 had het substraat bij toepassing van Asperello T34, Stymbion sulphur, Vitanica RZ en ArgicinPlus significant hogere vochtgehaltenes dan bij de UTC. Ten slotte waren in week 9 de vochtgehaltenes van het substraat significant hoger bij toepassing van Trianum-G, Stymbion sulphur, Vitanica RZ en ArgicinPlus.



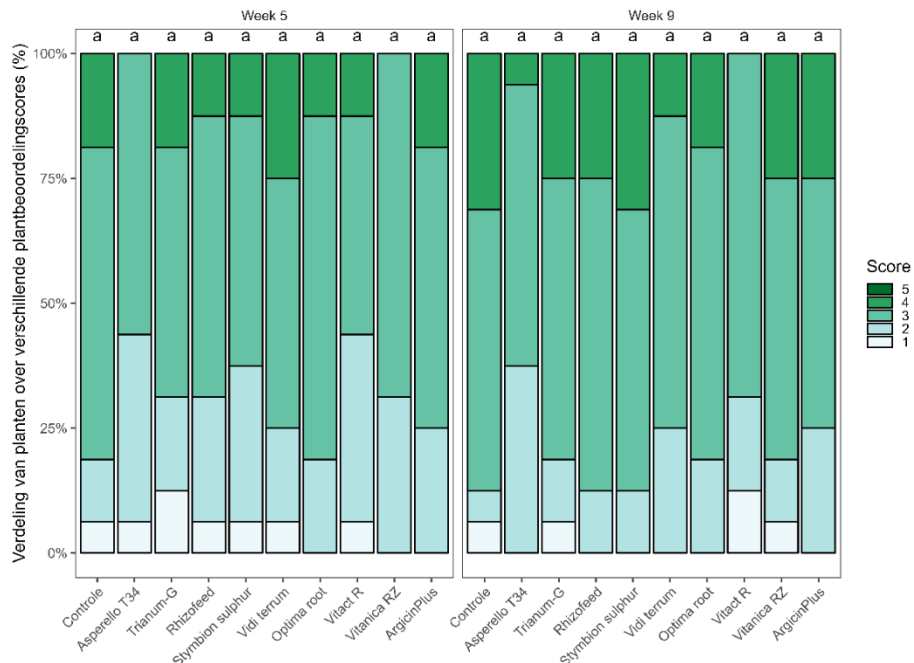


Figuur 13: Effect van verschillende biostimulanten op het volumetrische vochtgehalte (VWC) van het substraat bij (A) *Primula acaulis* en (B) *Viola x wittrockiana* ten opzichte van een negatieve onbehandelde controle en een positieve controle behandeld met Asperello T34. Gemiddelde  $\pm$  SE;  $n = 16$ . Verschillende letters (a, b, c en d) per meetdag geven significante verschillen aan bij  $p < 0,05$ . ((A) Blokeffecten in week 3, 5, 7 en 9. Resultaten in week 3 waren parametrisch dus Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test. Resultaten in week 5, 7 en 9 waren niet-parametrisch en transformatie bracht niets op dus een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test.; (B) Niet-parametrisch en blokeffecten dus Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test.)

Figuur 14 toont het percentage van primula's die een bepaalde score kregen op basis van hun plantkwaliteit. Enkel in week 5 waren de scores van planten behandeld met Optima root significant beter dan de onbehandelde controle en de primula's behandeld met Vidi terrum met meer planten die een score 5 toebedeeld kregen. Bij de violen (Figuur 15) waren er geen significante verschillen voor de plantkwaliteit.

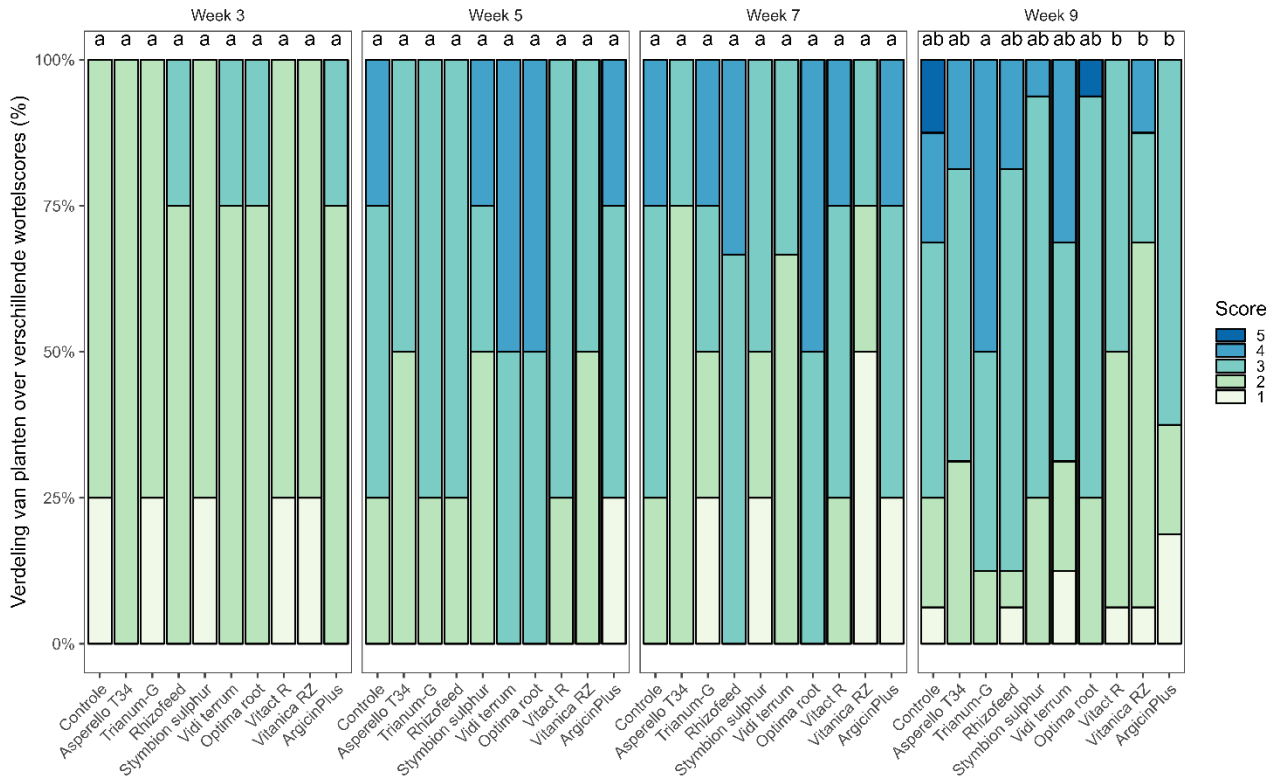


Figuur 14: Effect van verschillende biostimulanten op de algemene plantkwaliteit van *Primula acaulis* bepaald op een relatieve schaal van 1 tot 5 per meetmoment (Figuur 7). Deze figuur geeft de verdeling van planten over verschillende plantbeoordelingscores per behandeling per meetmoment weer. Verschillen in behandelingen voor week 5 werden geanalyseerd met een Scheirer-Ray-Hare test, gevolgd door een Dunn's test vanwege niet-parametrische resultaten zonder blokeffect. Voor week 9 werden de verschillen geanalyseerd met een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test vanwege het blokeffect en de niet-parametrische aard van de data, ook na transformatie. Verschillende letters (a en b) per meetmoment geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$  ( $n = 16$ ).



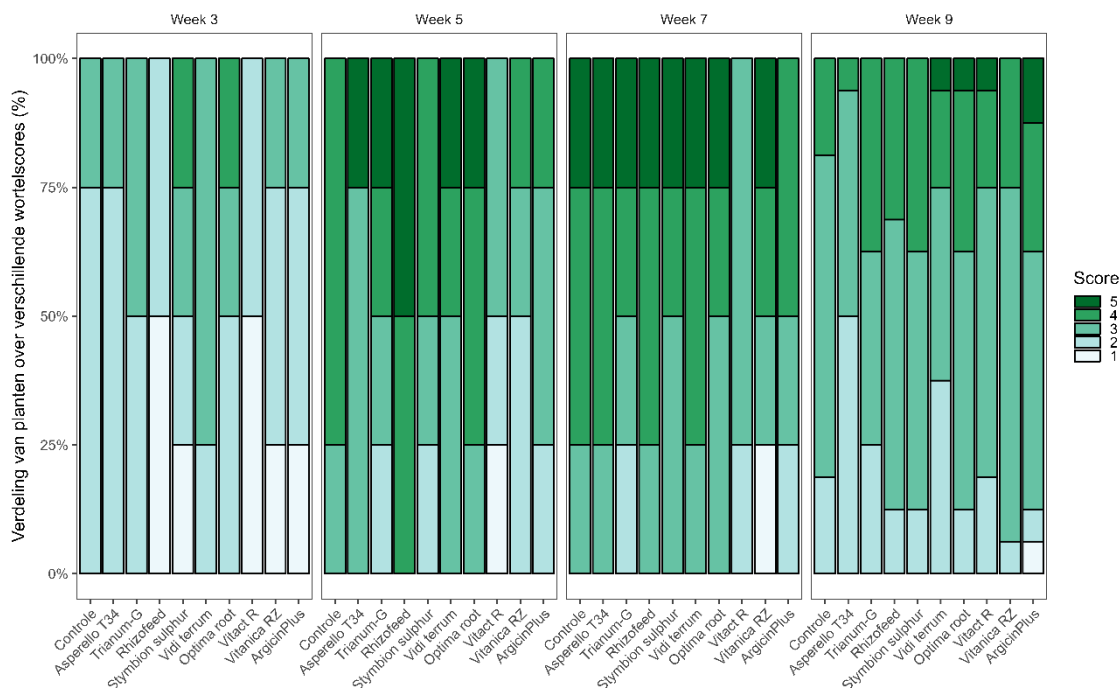
Figuur 15: Effect van verschillende biostimulanten op de algemene plantkwaliteit van *Viola x wittrockiana* bepaald op een relatieve schaal van 1 tot 5 per meetmoment (Figuur 8). Deze figuur geeft de verdeling van planten over verschillende plantbeoordelingscores per behandeling per meetmoment weer. Voor week 5 werden behandelingen geanalyseerd met een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test vanwege het blokeffect en de niet-parametrische data. Voor week 9 werden de verschillen beoordeeld met een Scheirer-Ray-Hare en Dunn's test vanwege de niet-parametrische data zonder blokeffect. Zoals de letters aanduiden waren er geen significante verschillen per meetmoment ( $n = 16$ ).

De toepassing van verschillende biostimulanten vertoonden bij de tussentijdse beoordelingen in week 3, 5 en 7 geen significant verschillende invloed op de wortelontwikkeling van *Primula* (Figuur 16). Echter, in week 9 was de wortelontwikkeling van primula's behandeld met Trianum-G significant beter dan degenen behandeld met Vitact R, Vitanica RZ en ArgicinPlus. Verder was er geen significant verschil tussen deze behandelingen en de onbehandelde controle (UTC) of de positieve controle met Asperello T34.



*Figuur 16: Effect van verschillende biostimulanten op de wortelontwikkeling van Primula acaulis bepaald op een relatieve schaal van 1 tot 5 per meetmoment (Figuur 9). Deze figuur geeft de verdeling van planten over verschillende wortelscores per behandeling per meetmoment weer. De resultaten waren niet-parametrisch. Bij week 3 en week 7 was er geen sprake van een blokeffect dus werden verschillen tussen behandelingen geëvalueerd met een SRH-test gevolgd door een Dunn's test. In week 5 en week 9 was er wel sprake van een blokeffect dus werd er gekozen om verschillen te evalueren met een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test. Verschillende letters (a en b) per meetmoment geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$  (week 3, 5 en 7:  $n = 4$ ; week 9:  $n = 16$ ).*

De wortelontwikkeling van *Viola x wittrockiana* vertoonde geen significante verschillen tussen de verschillende toepassingen van biostimulanten (Figuur 19). In week 3 was de wortelontwikkeling van de violen behandeld met Vidi terrum gemiddeld beter dan bij de andere toepassingen. Op dat moment scoorden Rhizofeed en Vitact R minder goed dan de onbehandelde controle (UTC). In week 5 scoorde Rhizofeed dan weer beter dan de andere producten. In week 7 scoorden Rhizofeed en Vidi terrum even goed als de onbehandelde controle en de positieve controle met Asperello. De andere behandelingen resulteerden in een gemiddeld lagere score waarbij Vitact R het minst goed scoorde. Ook op het laatste meetmoment in week 9 waren er geen significante verschillen tussen de behandelingen. Asperello T34 had een net iets lagere gemiddelde score dan de andere behandelingen, incl. de onbehandelde controle (Tabel 6).

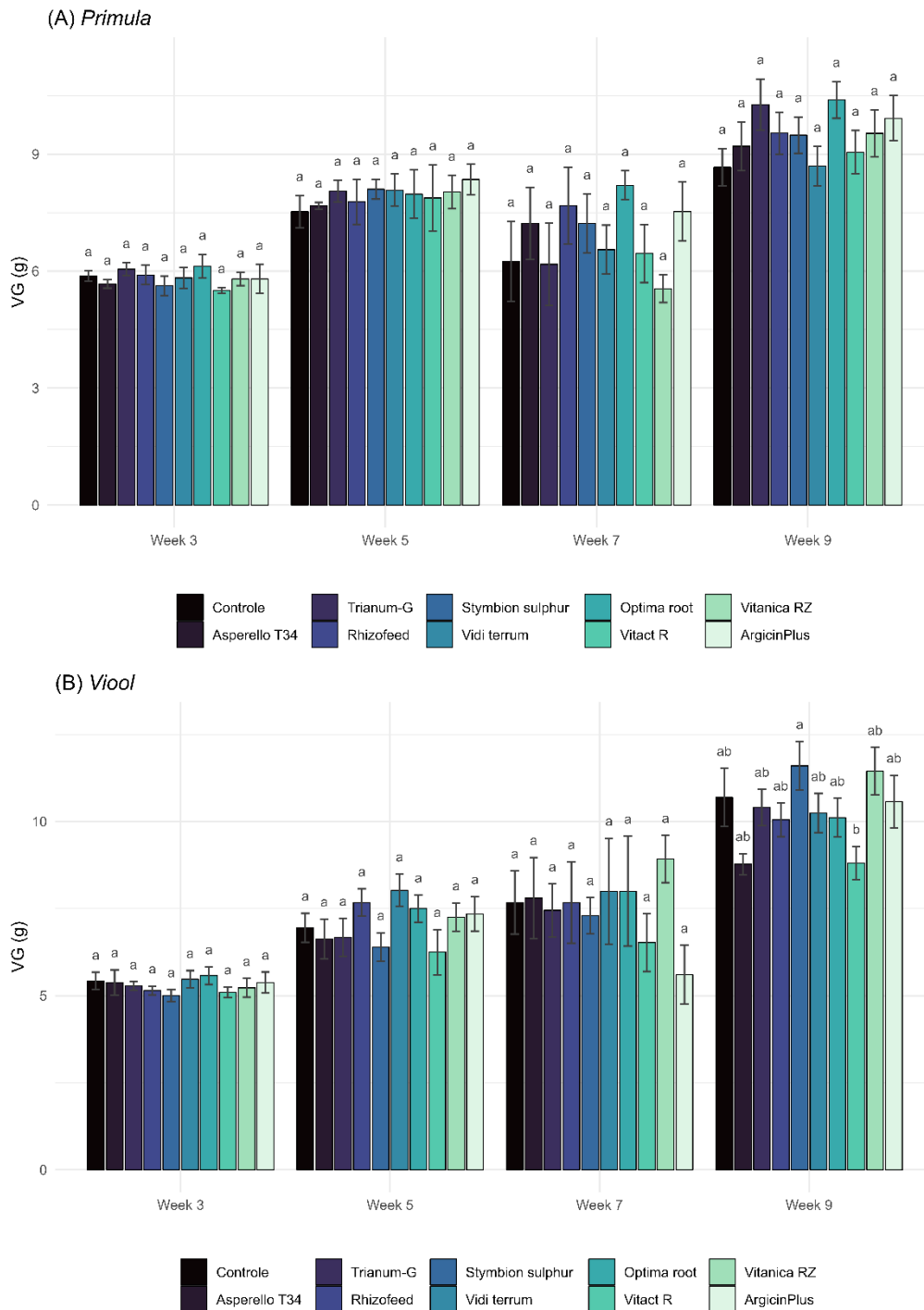


Figuur 17: Effect van verschillende biostimulanten op de wortelontwikkeling van *Viola x wittrockiana* bepaald op een relatieve schaal van 1 tot 5 per meetmoment (Figuur 10). Deze figuur geeft de verdeling van planten over verschillende wortelscores per behandeling per meetmoment weer. De resultaten waren niet-parametrisch en er was nergens sprake van blokeffecten. Verschillen in behandelingen werden geëvalueerd met een Scheirer-Ray-Hare test gevolgd door een Dunn's test. Er waren geen significante verschillen per meetmoment (week 3, 5 en 7:  $n = 4$ ; week 9:  $n = 16$ ).

Tabel 6: Gemiddelde wortelscore in week 9 voor *Primula* en *Viola* per behandeling. Gemiddelde  $\pm$  SE; ( $n = 16$ ).

Behandeling	Wortelscore <i>Primula</i>	Wortelscore <i>Viola</i>
Controle	3,12 $\pm$ 0,27 ab	3,00 $\pm$ 0,16 a
Asperello T34	2,88 $\pm$ 0,18 ab	2,56 $\pm$ 0,16 a
Trianum-G	3,38 $\pm$ 0,18 a	3,12 $\pm$ 0,20 a
Rhizofeed	3,00 $\pm$ 0,18 ab	3,19 $\pm$ 0,16 a
Stymbion sulphur	2,81 $\pm$ 0,14 ab	3,25 $\pm$ 0,17 a
Vidi terrum	2,88 $\pm$ 0,26 ab	2,94 $\pm$ 0,23 a
Optima root	2,88 $\pm$ 0,18 ab	3,31 $\pm$ 0,20 a
Vivisol + Vitact R	2,44 $\pm$ 0,16 b	3,12 $\pm$ 0,20 a
Vitanica RZ	2,38 $\pm$ 0,20 b	3,19 $\pm$ 0,14 a
ArgicinPlus	2,44 $\pm$ 0,20 b	3,31 $\pm$ 0,25 a

Figuur 18 toont het gemiddelde versgewicht (VG) per behandeling voor de vier meetmomenten. Voor *Primula* waren er geen significante verschillen tussen de verschillende toegepaste biostimulantia. Voor *Viola* was het versgewicht in week 9 van de planten behandeld met Stymbion sulphur significant hoger dan dat van de violen behandeld met Vitact R.

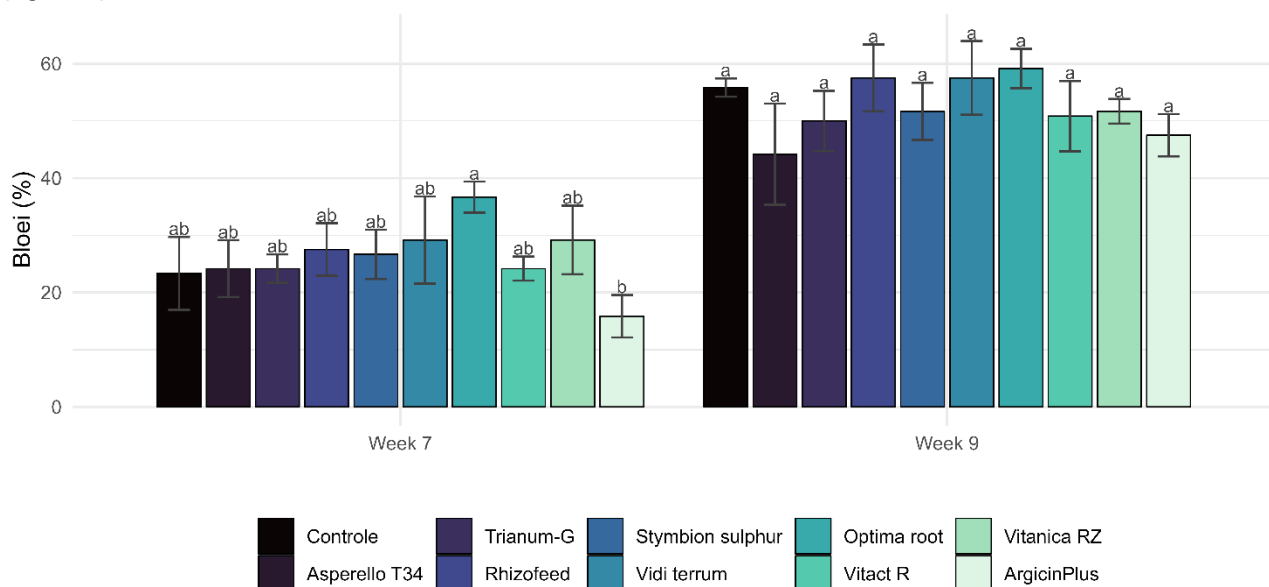


Figuur 18: Effect van verschillende biostimulanten op het versgewicht (VG) van (A) *Primula acaulis* en (B) *Viola x wittrockiana* ten opzichte van een negatieve onbehandelde controle en een positieve controle behandeld met Asperello T34. Gemiddelde  $\pm$  SE; week 3, 5 en 7:  $n = 4$ ; week 9:  $n = 16$ . Verschillende letters (a en b) geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$ . (A) Parametrisch dus een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test. Blokeffecten in week 7 en week 9. (B) Parametrisch dus een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test.)

Tabel 7: Resultaten drooggewicht (DG) van Primula en Viool bij de eindmeting. Gewicht van vier meetplanten per herhaling samen. Gemiddelde  $\pm$  SE; n = 4. Er zijn geen significante verschillen o.b.v. evaluatie met een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test.

Behandeling	DG Primula (g)	DG Viola (g)
Controle	7,45 $\pm$ 0,21 a	7,97 $\pm$ 0,47 a
Asperello T34	7,70 $\pm$ 0,27 a	7,12 $\pm$ 0,16 a
Trianum-G	7,97 $\pm$ 0,39 a	7,38 $\pm$ 0,12 a
Rhizofeed	7,70 $\pm$ 0,23 a	7,35 $\pm$ 0,21 a
Stymbion sulphur	7,78 $\pm$ 0,25 a	7,85 $\pm$ 0,25 a
Vidi terrum	7,53 $\pm$ 0,31 a	7,62 $\pm$ 0,36 a
Optima root	8,05 $\pm$ 0,18 a	7,55 $\pm$ 0,17 a
Vivisol + Vitact R	7,58 $\pm$ 0,19 a	6,95 $\pm$ 0,28 a
Vitanica RZ	7,55 $\pm$ 0,37 a	7,70 $\pm$ 0,15 a
ArgicinPlus	7,75 $\pm$ 0,36 a	7,72 $\pm$ 0,22 a

Betreffende de bloei van *Viola x wittrockiana* was er in week 7 een significant hoger percentage van de violen behandeld met Optima root in bloei dan degenen die behandeld waren met ArgicinPlus. Verder waren er echter geen significante verschillen (Figuur 19).



Figuur 19: Effect van verschillende biostimulanten op de bloei van *Viola x wittrockiana*. Verschillen tussen behandelingen werden geëvalueerd met een Two-Way ANOVA gevolgd door een Tukey HSD test. Verschillende letters (a en b) geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$  (Gemiddelde  $\pm$  SE; n = 4).

## Proef 2: Uittesten van diverse biostimulanten op *Salvia* en *Pelargonium* bij droogtestress

Het effect van de droogtestress op de plant gerelateerde parameters van *Salvia* is duidelijk zichtbaar in Tabel 8. De gemiddelde plantdiameter en -hoogte van de onbehandelde salvia's die niet onder droogtestress stonden, was steeds groter dan de andere planten. Desondanks was er dankzij toepassing van Aphasol + Actirob, Nutricin, Blue-N en Instant TD + Impuls TD geen significant verschil in plantdiameter met de planten zonder stress. Enkel de planthoogte van salvia's behandeld met Aphasol + Actirob, SilicaPower en het experimenteel product was significant kleiner dan de UTC zonder stress. Opvallend is ook dat de plantafmetingen van de planten behandeld met het experimenteel product significant lager zijn dan de UTC die wel onder stress stond. Het volumetrisch vochtgehalte (VWC) van het substraat van planten die met dit product behandeld zijn, is significant hoger dan de andere biostimulant-toepassingen en is zelfs hoger dan de UTC zonder stress die wel nog water kreeg. Verder was er ook geen significant verschil tussen toepassing met Instant TD + Impuls TD en de UTC zonder stress. Er waren geen significante verschillen in stomatale geleiding. Op SilicaPower na zorgde de toepassing van biostimulantia ervoor dat er geen significant verschil was in het aantal verwelkte planten met de onbehandelde controle zonder stress.

*Tabel 8: Effect van verschillende biostimulanten op de substraat- en plantgerelateerde parameters van Salvia farinacea onder droogtestress. Het gemiddelde van elke parameter over de proef wordt weergegeven ± SE. Verschillende letters (a, b en c) geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$  (n diameter = 16; n hoogte = 16; n VWC = 16; n stomatale geleiding = 4). <sup>z</sup>Behandelingseffect geëvalueerd door Two-Way ANOVA en Tukey HSD test. <sup>y</sup>Behandelingseffect geëvalueerd door SRH-test en Dunn's test. <sup>x</sup>Volumetrisch vochtgehalte van het substraat. <sup>w</sup>Onbehandelde controle.*

Behandeling	Diameter <sup>z</sup> (cm)		Hoogte <sup>y</sup> (cm)		VWC <sup>x</sup> (vol%)		Stomatale geleidbaarheid <sup>y</sup> (mmol m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	Aantal verwelkte planten <sup>y</sup>		
UTC <sup>w</sup> - geen stress	13,72 ± 0,54	a	10,16 ± 0,27	a	21,06 ± 2,68	ab	311,25 ± 79,54	a	0,75 ± 0,75	a
UTC <sup>w</sup> - stress	10,94 ± 0,45	bc	9,53 ± 0,48	ab	10,64 ± 0,43	c	98,17 ± 39,96	a	7,25 ± 1,03	b
Aphasol + Actirob	11,39 ± 0,62	abc	8,81 ± 0,33	b	11,63 ± 0,80	c	109,00 ± 24,86	a	2,50 ± 0,96	ab
SilicaPower	9,98 ± 0,41	bc	8,94 ± 0,36	b	10,06 ± 0,54	c	61,17 ± 40,16	a	8,00 ± 1,22	b
Nutricin	12,12 ± 0,74	ab	9,50 ± 0,31	ab	11,62 ± 0,60	c	153,25 ± 46,91	a	6,50 ± 1,76	ab
Stymbion	11,20 ± 0,52	bc	9,25 ± 0,35	ab	10,93 ± 0,76	c	138,25 ± 62,27	a	6,50 ± 1,04	ab
Blue-N	11,42 ± 0,37	abc	9,28 ± 0,25	ab	11,52 ± 0,54	c	166,50 ± 47,66	a	4,50 ± 0,87	ab
Basfoliar Si	10,94 ± 0,74	bc	9,12 ± 0,29	ab	11,64 ± 1,02	c	156,48 ± 85,15	a	4,50 ± 1,71	ab
Experimenteel product	9,67 ± 0,52	c	6,31 ± 0,30	c	28,82 ± 1,23	a	261,00 ± 14,15	a	0 ± 0	a
Instant TD + Impuls TD	11,66 ± 0,48	abc	9,44 ± 0,41	ab	12,31 ± 0,66	bc	151,30 ± 63,86	a	4,75 ± 2,06	ab

De toepassing van de verschillende biostimulanten op *Pelargonium zonale* onder droogtestress zorgde niet voor significante verschillen tussen de plantdiameter en -hoogte (Tabel 9). Aangezien de onbehandelde controle onder stress ook niet significant verschilt van de onbehandelde controle zonder stress, lijken de biostimulantia geen bijkomend effect te hebben. Ook hier zorgde aangieten van het experimenteel product voor een hoger volumetrisch vochtgehalte (VWC) van het substraat. Het verschil is significant met de andere biostimulant-toepassingen en de UTC onder stress. De stomatale geleiding van de planten behandeld met biostimulanten is duidelijk steeds hoger dan de UTC onder stress. Er is echter geen significant verschil waargenomen. Wel doen de pelargonium's behandeld met Stymbion het significant minder goed dan degenen die behandeld zijn met Nutricin en Instant TD + Impuls TD. Opnieuw zorgde het experimenteel product voor een stomatale geleiding die niet significant verschilde van de UTC zonder stress en significant hoger is dan bij de andere producten. De toepassing van de verschillende biostimulantia van deze proef lijken geen bijkomend effect te hebben op het aantal bloeistengels van *Pelargonium*. Er werden namelijk geen significante verschillen vastgesteld, ook niet tussen de onbehandelde controles zonder en met stress.

*Tabel 9: Effect van verschillende biostimulanten op de substraat- en plantgerelateerde parameters van Pelargonium zonale onder droogtestress. Het gemiddelde van elke parameter over de proef wordt weergegeven  $\pm$  SE. Verschillende letters (a, b en c) geven significante verschillen aan bij  $p \leq 0,05$  (n diameter = 16; n hoogte = 16; n VWC = 16; n stomatale geleiding = 4). <sup>z</sup>Behandelingseffect geëvalueerd met SRH-test en Dunn's test. <sup>y</sup>Behandelingseffect geëvalueerd met Two-Way ANOVA en Tukey HSD test. <sup>x</sup>Volumetrisch vochtgehalte van het substraat. <sup>w</sup>Onbehandelde controle.*

Behandeling	Diameter <sup>z</sup> (cm)		Hoogte <sup>z</sup> (cm)		VWC <sup>zx</sup> (vol%)		Stomatale geleidbaarheid <sup>z</sup> (mmol m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	Aantal bloeistengels <sup>y</sup>		
UTC <sup>w</sup> - geen stress	15,97 $\pm$ 0,45	a	8,56 $\pm$ 0,23	a	22,73 $\pm$ 2,27	a	209,00 $\pm$ 39,03	a	8,50 $\pm$ 1,04	a
UTC <sup>w</sup> - stress	16,14 $\pm$ 0,42	a	9,12 $\pm$ 0,37	a	7,59 $\pm$ 0,31	bc	13,45 $\pm$ 2,34	bc	9,00 $\pm$ 0,82	a
Aphasol + Actirob	16,02 $\pm$ 0,41	a	8,47 $\pm$ 0,39	a	7,03 $\pm$ 0,30	bc	20,98 $\pm$ 4,25	bc	8,00 $\pm$ 0,71	a
SilicaPower	15,98 $\pm$ 0,38	a	9,00 $\pm$ 0,30	a	7,86 $\pm$ 0,69	bc	53,33 $\pm$ 38,64	bc	8,25 $\pm$ 0,75	a
Nutricin	15,06 $\pm$ 0,41	a	8,12 $\pm$ 0,43	a	8,49 $\pm$ 0,40	b	45,10 $\pm$ 32,00	b	10,00 $\pm$ 0,71	a
Stymbion	14,89 $\pm$ 0,72	a	8,62 $\pm$ 0,20	a	6,40 $\pm$ 0,25	c	40,08 $\pm$ 15,90	c	9,75 $\pm$ 0,95	a
Blue-N	16,02 $\pm$ 0,36	a	8,12 $\pm$ 0,20	a	7,02 $\pm$ 0,32	bc	20,75 $\pm$ 6,62	bc	7,50 $\pm$ 1,04	a
Basfoliar Si	15,89 $\pm$ 0,28	a	8,66 $\pm$ 0,29	a	7,85 $\pm$ 0,62	bc	17,45 $\pm$ 2,33	bc	9,75 $\pm$ 1,55	a
Experimenteel product	15,86 $\pm$ 0,45	a	8,38 $\pm$ 0,30	a	17,02 $\pm$ 1,10	a	62,88 $\pm$ 14,67	a	9,00 $\pm$ 1,00	a
Instant TD + Impuls TD	16,00 $\pm$ 0,41	a	8,25 $\pm$ 0,31	a	7,79 $\pm$ 0,40	b	30,00 $\pm$ 9,67	b	9,75 $\pm$ 0,85	a



## 5 DISCUSSIE

### Bevorderen biostimulanten de groei en wortelontwikkeling bij *Primula* en *Viola*?

In het eerste luik van het praktijkdeel van deze thesis werden verschillende biostimulanten toegepast om te testen of ze de plantengroei en wortelontwikkeling van *Primula acaulis* en *Viola x wittrockiana* onder optimale omstandigheden beïnvloeden.

Over het algemeen zorgden de meeste biostimulanten voor een groeibevordering, maar deze was niet significant ten opzichte van de onbehandelde controle (UTC). De resultaten van de planthoogte en -diameter demonstreren dat de invloed van de toegepaste biostimulanten voornamelijk onderling verschillen toonde bij *Viola*. Bij *Primula* waren enkel de resultaten van de hoogte na zeven weken en de diameter na vijf weken significant beter bij Optima root ten opzichte van Vidi terrum, een verschil dat bij de eindmeting niet meer terugkwam.

Behandeling met Vitact R + Vivisol gaf bij viool een negatief effect op de plantafmetingen en resulteerde in de kleinste hoogte en diameter. Dit negatieve effect op de afmetingen was significant in week 3, 5 en in week 7 enkel voor de diameter. Deze producten zijn op basis van *Bacillus* spp., plantgroei-regulerende bacteriën die normaal een positief effect hebben op de groei (Lin & Jones, 2022). Echter Gruda et al. (2008) konden in hun onderzoek ook geen positieve effecten vaststellen op de groei en plantkwaliteit van *Begonia semperflorens* na inoculatie met *B. subtilis* FZB24. Ook in de studie van Lin & Jones (2022) werden meerdere biostimulanten met *Bacillus subtilis* opgenomen, welke niet allen een groeibevorderend effect gaven. De onderzoekers stellen dat de effectiviteit van de microbiële biostimulanten niet alleen wordt bepaald door de individuele ingrediënten, maar ook wordt beïnvloed door de compatibiliteit tussen de microben, de toegevoegde ingrediënten, de toedieningssnelheden en -methoden en de stabiliteit van de producten. Dit kan al een groot deel verklaren waarom in deze thesis ook violen behandeld met Vitanica RZ significant groter zijn dan degenen behandeld met Vitact R + Vivisol. Deze producten bevatten beiden bacteriën van het geslacht *Bacillus*. Echter Vitanica RZ is een mengsel van *Bacillus* spp. met zeewierextracten van *E. maxima* en bevat bovendien ook nog meststof (5-0-5 NPK). Een mogelijke verklaring is dat de verschillende ingrediënten van Vitanica RZ elkaar kunnen versterken. Long et al. (2021) verwijst al naar het potentieel van deze synergetische werking en haalt aan dat meer onderzoek nodig is naar extra voordelen van combinaties van zowel microbiële als niet-microbiële biostimulanten.

Ten slotte leverde ook de behandeling met Stymbion sulphur grotere violen op dan de behandeling met Vitact R + Vivisol. Dit significante verschil kwam ook terug in het volumetrisch vochtgehalte van het substraat en het versgewicht van de planten behandeld met deze producten. Echter het drooggewicht (Tabel 7) verschilde niet tussen de behandelingen wat mogelijks een indicatie is dat het verschil in afmetingen een gevolg is van het watergehalte in de planten. Toch waren er geen significante verschillen tussen de verschillende behandelingen (resultaten niet weergegeven). Er waren enkel significante verschillen tussen de herhalingen omwille van een blokeffect. In week vijf waren er door oneffenheden in de vloer van de serre duidelijk enkele plassen zichtbaar. In de resultaten van het volumetrisch vochtgehalte van het substraat waren er dan ook duidelijke blokeffecten (niet weergegeven). Daarbij stonden planten aan de linkse kant van de serre, waar ook de plassen werden waargenomen, significant vochtiger dan aan de rechtse kant (op Figuur 3 zijn dit respectievelijk de plotten met letter A en B enerzijds en D anderzijds). Ditzelfde significante verschil tussen de herhalingen kwam terug voor het watergehalte van de violen dat hoger was bij planten links in de serre en lager bij planten rechts in de serre. Een verklaring voor de groeibevordering van de violen door Stymbion sulphur ten opzichte van Vitact R + Vivisol is dan eerder te vinden in hun verschillende samenstelling.

Stymbion sulphur is een biostimulant op basis van eiwithydrolysaat en bevat dus aminozuren die snel opneembaar zijn door de plant. In deze proef kon groeibevordering worden vastgesteld door dit product al was dit niet significant ten opzichte van de UTC. Dit effect was ook meer uitgesproken waarneembaar bij *Viola* dan bij *Primula* wat erop wijst dat de verbetering in groei met dit product afhankelijk is van de soort. Cirillo et al. (2018) toonde reeds aan dat de toename in groei en sierkwaliteit van de met eiwithydrolysaat behandelde perkplanten afhankelijk is van de soort. Ze stelden een positief effect vast bij *Begonia tuberhybrida*, *Pelargonium peltatum* en *Viola cornuta*, de groeibevordering was meer uitgesproken bij *Pelargonium* en kon in verband gebracht worden met een verbetering van de N-assimilatie.

Betreffende de wortelontwikkeling waren er bij *Viola x wittrockiana* geen significante verschillen. Echter voor *Primula acaulis* was de wortelontwikkeling van primula's behandeld met Trianium-G in week 9 significant beter dan die behandeld met Vitact R, Vitanica RZ en ArgicinPlus (Tabel 6). Maar er waren geen significante verschillen met de controles. Trianium-G, Vitact R + Vivisol en Vitanica RZ kunnen allen geclassificeerd worden onder de microbiële biostimulanten. Toch geeft Trianium-G een significant beter resultaat voor de wortelontwikkeling. Trianium-G (Koppert) bestaat uit sporen van de schimmel *Trichoderma harzianum* T-22 ( $1,5 \cdot 10^8$  KVE/g)

terwijl Vitact R (DCM), Vivisol (DCM) en Vitanica RZ (Compo expert) bacteriën van het geslacht *Bacillus* als hoofdbestanddeel hebben. Een hypothese voor de werkingwijze van *Trichoderma harzianum* T-22 (T22) werd ondersteund door het werk van Sofo et al. (2011). Zij tonen aan dat door verandering in niveaus van plantenhormonen een direct mechanisme is waarmee T22 de beworteling en scheutgroei stimuleert. De wortelgroei kon verklaard worden doordat de cytokinine/auxine verhouding kantelde in het voordeel van auxine. Ook voor *Bacillus* spp. zoals *B. subtilis* wordt in literatuur gerapporteerd dat ze auxinen produceren en zo de vorming van zijwortels stimuleren (Lim & Kim, 2009). De positieve controle met Asperello T34 (Biobest) bevat ook sporen van een *Trichoderma* spp., namelijk *T. asperellum* T34. De wortelontwikkeling bij deze behandeling toont noch een significant verschil met Trianum-G, noch met de bacteriële producten. Het effect van deze producten kan dus niet verklaard worden op basis van hun werkingwijze. Desalniettemin hadden deze producten (Trianum-G en Vitact R, Vivisol en Vitanica RZ) geen significant effect ten opzichte van de UTC, er werd dus geen bijkomend positief effect gevonden van deze producten op de beworteling van *Primula*.

## Verbeteren biostimulanten de droogtetolerantie van *Salvia* en *Pelargonium*?

In het tweede luik van de proeven werd het effect van verschillende biostimulanten op planten onder droogtestress getest. Een manier waarop planten een afname in waterpotentiaal compenseren is door hun huidmondjes te sluiten, waardoor ze minder water verliezen door transpiratie. Het sluiten van de huidmondjes vermindert echter ook de CO<sub>2</sub>-opname door het blad, waardoor de fotosynthese afneemt en de groei wordt onderdrukt (Taiz et al., 2015). Verminderde biomassa is een veel voorkomend fenomeen bij droogte. Onderzoek door Liu et al. (2011) toonde reeds aan dat droogte het drooggewicht van zowel scheuten als wortels verminderde bij *Salvia miltiorrhiza*, het effect op scheuten was groter waardoor de wortel/scheutverhouding verbeterde. Omdat de proef uit deze thesis nog bleef doorlopen na de stressmetingen, werd het drooggewicht niet bepaald. Wat wel bepaald werd zijn de plantdiameter en -hoogte. Deze parameters zitten vaak vervat in de groei-index (GI). Deze werd onder andere gebruikt door Caser et al. (2018) om effecten van droogtestress op *Salvia sinaloensis* te onderzoeken. De droogtestress verlaagde de groei significant en niet geïrrigeerde planten hadden de laagste GI. Dat de groei-index daalt met het toenemen van droogtestress werd ook al vastgesteld door Caser et al. (2012). In deze thesis kon dit verband aan de hand van de plantafmetingen ook voor *Salvia farinacea* bevestigd worden (Tabel 8). De onbehandelde controle zonder droogtestress had een significant grotere diameter (13,72 ± 0,54 cm) dan de onbehandelde controle met droogtestress (10,94 ± 0,45 cm). Ook de hoogte was groter bij planten zonder droogtestress (10,16 ± 0,24 cm) al was dit niet significant ten opzichte van de controle met stress (9,53 ± 0,48 cm). Droogtestress resulteerde over het algemeen dus in kleinere planten.

Echter de salvia's die behandeld waren met Nutricin, BlueN en Impuls TD + Instant TD hadden geen significant verschillende afmetingen, van zowel de hoogte als de diameter, ten opzichte van de positieve controle (UTC-zonder stress). Dit kan dus een indicatie zijn dat deze biostimulanten het negatieve effect van droogtestress op de groei kunnen verminderen. Toch waren de afmetingen bij deze behandelingen ook niet significant verschillend van de negatieve controle (UTC-met stress) of van de andere biostimulanten, behalve het experimenteel product dat resulteerde in significant kleinere planten.

De biostimulant Nutricin (PlantoSys Nederland B.V.) combineert wilgenbastextract, silicium, zeewierextract en twintig plantaardige aminozuren. Enkel het wilgenbastextract komt niet voor in één van de andere biostimulanten die in deze proef gebruikt werden. Een hoofdbestanddeel van dat extract is salicylzuur (SA) dat volgens Wise et al. (2020) geassocieerd kan worden met het versnellen van de vermeerdering van chrysanten- en lavendelstekken. Bovendien bevat het extract ook indool-3-boterzuur (IBA) wat een auxine is (Mutlu-Durak & Yildiz Kutman, 2021). In het onderzoek van Hayat et al. (2008) verhoogde salicylzuur de activiteit van antioxiderende enzymen zoals peroxidase en superoxide dismutase wanneer het exogeen werd toegediend aan tomatenplanten (*L. esculentum*) onder droogtestress. Ten slotte suggereren Abreu & Munné-Bosch (2008) dat salicylzuur samen met andere fytohormonen een rol spelen in het aanpassingsvermogen van *Salvia officinalis* aan droogtestress door bladsenescentie te bevorderen. Het wilgenbastextract heeft dus potentieel om de tolerantie van *Salvia* tegen droogtestress te bevorderen en geeft mogelijks de doorslag ten opzichte van de andere producten die wel significant kleinere planten gaven dan de UTC zonder stress.

BlueN (Corteva™ agriscience) is een biostimulant uit de groep van de PGPBs want het bevat de bacterie *Methylobacterium symbioticum* (MS). Dit is een recent ontdekte bacteriesoort geïsoleerd uit sporen van de arbusculaire mycorrhiza-schimmel *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum* (Pascual et al., 2020). De onderzoekers die hierin zijn geslaagd, toonden ook aan dat deze bacterie in staat is om stikstof uit de lucht te fixeren waardoor de behoefte aan chemische stikstofmeststoffen verminderde zonder dat de opbrengst of de groei van rijst, maïs en druiven afnam. Ook Torres Vera et al. (2024) konden aantonen dat *Methylobacterium symbioticum* voor een extra toevoer van stikstof zorgt waardoor de stikstofbemesting van maïs en aardbeien respectievelijk met 50% en 25% verlaagd konden worden. Droogte vermindert de opname van nutriënten zoals stikstof, fosfor en kalium in planten

doordat het de oplosbaarheid en het transport van deze voedingsstoffen in de bodem belemmert. De beperkte beschikbaarheid van water vertraagt de diffusiesnelheid van nutriënten naar de wortels en verstoort enzymen die betrokken zijn bij de assimilatie van voedingsstoffen, wat ook de opname van voedingsstoffen verstoort (Aroca, 2013). Een mogelijke verklaring van het positief effect van BlueN op de groei-index is de symbiose en stikstoffixatie met MS waardoor er extra N in de plant aanwezig was en de groei meer gestimuleerd werd. Xing et al. (2023) toonde aan dat hogere N-giften de plantengroei van *Salvia miltiorrhiza* verhoogde. In de toekomst zou het dus interessant zijn om ook een idee te krijgen van het N-gehalte met behulp van SPAD-metingen.

De producten Impuls TD en Instant TD (DCM) zijn op basis van *Trichoderma* spp. verrijkt met NPK (3-1-2,5) basisvoeding. De extra gift van stikstof zal dus zoals bevestigd door Xing et al. (2023) resulteren in meer groei bij *Salvia*. Daarenboven zorgen *Trichoderma* spp. voor een betere opname van nutriënten aangezien ze auxinen, kleine peptiden, vluchtige stoffen en andere actieve metaboliëten in de rhizosfeer afgeven (López-Bucio et al., 2015). Dit kan dus verklaren waarom de plantafmetingen van salvia's behandeld met Impuls TD + Instant TD niet significant verschillen.

Naast een mogelijks positief effect van eerder genoemde producten op de tolerantie van *Salvia* tegen droogte kon er worden vastgesteld dat SilicaPower geen positief effect op de droogtetolerantie. De plantafmetingen waren significant kleiner dan de UTC zonder stress, de stomatale geleidbaarheid was het laagst en het aantal verwelkte planten het hoogst van alle behandelingen (Tabel 8).

Waar er bij *Salvia* wel nog verschillen waren bij de plantafmetingen zijn die van *Pelargonium* er niet (Tabel 9). Zowel de hoogte als de diameter van planten onder droogtestress die al dan niet behandeld waren met biostimulanten verschilden niet significant van de onbehandelde planten zonder droogtestress. Bovendien waren er geen verwelkte planten bij de pelargoniums. Het is duidelijk dat *Pelargonium zonale* los van de biostimulanten beter bestandig is tegen droogte dan *Salvia farinacea*. Bij de pelargoniums waren er wel al heel wat met bloeistengels. Droogtestress kan de bloei beïnvloeden waardoor er een verschil in bloeitijdstip of aantal bloeistengels kan ontstaan (Chen et al., 2023). Het is ook mogelijk dat biostimulanten bloei induceren (Kisvarga et al., 2022) maar dit kon niet worden waargenomen in deze proef. Er waren geen significante verschillen in het gemiddelde aantal bloeistengels in een plot per behandeling.

Ondanks dat er duidelijk droogtestress aanwezig was, waren er geen significante verschillen bij de stomatale geleidbaarheid van *Salvia* (Tabel 8). Dit is te wijten aan de grote standaardfout. Bij *Pelargonium* (Tabel 9) is de standaardfout kleiner en resulteerde deze parameter wel in significante verschillen tussen de controle onder droogtestress en de controle zonder stress. De verschillende biostimulanten hebben echter geen positief effect op de stomatale geleidbaarheid aangezien ze significant verschillend zijn met de positieve controle en niet significant verschillen met de negatieve controle. Alleen het experimentele zeewierextract had geen significant verschil in stomatale geleidbaarheid ( $62,88 \pm 14,67 \text{ mmol m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) ten opzichte van de positieve controle ( $209,00 \pm 39,03 \text{ mmol m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). Dit product werd wekelijks aangegoten. Enkel Impuls TD werd ook aangegoten maar dit was eenmalig en twee weken voor de stressperiode. Het experimentele product is ook het enige product dat zowel voor *Salvia* als *Pelargonium* (Tabel 8 en Tabel 9) geen verschil gaf in het volumetrische vochtgehalte van het substraat ten opzichte van de positieve controle. Verwacht wordt dan dat de planten een normale groei vertonen en geen droogtestress hebben. Toch waren deze planten het kleinst en verschillen ze significant van de positieve controle. Dit kan verklaard worden doordat in de periode voor de droogtestress deze planten te veel water kregen door de combinatie van de wekelijkse beregening en het wekelijks aangieten van de planten met de biostimulant. De laatste twee weken voor de droogteperiode werd de frequentie van watergift verhoogd van één keer per week naar twee keer per week.

## 6 CONCLUSIE

De resultaten van de eerste proef demonstreren dat onder normale/optimale groeiomstandigheden de meerderheid van de toegepaste biostimulanten niet resulteerden in significante groeiverbetering of plantkwaliteit. Bovendien zorgde Vitact R + Vivosol op basis van *Bacillus* spp. voor significant kleinere violen. Ten slotte konden de biostimulanten uit proef 1 de wortelontwikkeling van *Primula* en *Viola* niet significant verbeteren. Wel kon vastgesteld worden dat de bacteriële producten op basis van *Bacillus* spp. de minst goede resultaten gaven bij *Primula* die significant slechter beworteld waren dan na behandeling met *Trichoderma harzianum*T-22 (Triatum-G). Bij *Viola* werd er geen effect vastgesteld op de wortelontwikkeling. Het effect van de biostimulanten op *Viola* was met andere woorden eerder bovengronds zichtbaar en bij *Primula* ondergronds. Andersom was er bij *Primula* bovengronds en bij *Viola* ondergronds geen effect zichtbaar van de biostimulanten.

Ook onder abiotische stress bleek het effect van de biostimulanten afhankelijk van het gewas waarop ze werden toegepast. Zo werd in de tweede proef duidelijk dat *Pelargonium zonale* van nature tolerant is voor droogtestress terwijl *Salvia farinacea* duidelijk minder bovengrondse groei vertoonde bij droogtestress. Bij gevolg hadden de biostimulanten uit de tweede proef geen effect op de droogtetolerantie van *Pelargonium*. Daarentegen konden drie behandelingen, namelijk Nutricin, BlueN en Impuls TD + Instant TD de negatieve effecten van droogte op *Salvia farinacea* beperken. Zo was er bij de planten behandeld met deze producten geen significant verschil in de planthoogte en -diameter en het aantal verwelkte planten ten opzichte van planten die niet onder droogtestress stonden (UTC zonder stress). Desalniettemin gaven ze ook geen significant verschil met de negatieve controle (UTC met stress). SilicaPower verhoogde de tolerantie van *Salvia* tegen droogtestress dan weer duidelijk niet.

In deze thesis kwam naar voor dat de effecten van biostimulanten kunnen variëren tussen gewassen en niet altijd overeen komen met wat er op het etiket van de fabrikant staat. Daarom is het belangrijk om de werkzaamheden in verschillende gewassen te testen. Steeds meer biostimulanten worden op de markt gebracht, wat het voor telers lastig maakt om te bepalen welke nuttig zijn voor hun gewassen. De resultaten uit deze masterproef kunnen dienen als informatie voor telers over de effectiviteit, toepassingsmethoden en de werkzaamheid in verschillende perkplanten van de in deze thesis uitgeteste producten.

## 7 REFERENTIES

- Abreu, M. E., & Munné-Bosch, S. (2008). Salicylic acid may be involved in the regulation of drought-induced leaf senescence in perennials: A case study in field-grown *Salvia officinalis* L. plants. *Environmental and Experimental Botany*, *64*(2), 105–112. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2007.12.016>
- Afonso, A. F., Pereira, O. R., Fernandes, Â. S. F., Calheta, R. C., Silva, A. M. S., Ferreira, I. C. F. R., & Cardoso, S. M. (2019). The Health-Benefits and Phytochemical Profile of *Salvia apiana* and *Salvia farinacea* var. Victoria Blue Decoctions. *Antioxidants*, *8*(8). <https://doi.org/10.3390/antiox8080241>
- Agentschap Landbouw en Zeevisserij. (2024). *Landbouwrapport 2024 (LARA)*. <https://www.vlaanderen.be/publicaties/landbouwrapport-lara>
- Alam, F., Din, K. M., Sarfraz, M., Qudoos, A., & Malik, S. (2024). Genus *Primula* and its role in phytomedicine; a systematic review. In *Phytomedicine Plus* (Vol. 4, Issue 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2023.100510>
- Alvarez, I. Z., Ahmed, M., McSorley, G., Dunlop, M., Lucas, I., & Hu, Y. (2023). An overview of biostimulant activity and plant responses under abiotic and biotic stress conditions. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. <https://doi.org/10.1007/s43393-023-00182-3>
- Aroca, R. (2013). Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features. In *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0>
- Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R., & Gonçalves, B. (2021). Recent Advances in the Molecular Effects of Biostimulants in Plants: An Overview. *Biomolecules*, *11*(8). <https://doi.org/10.3390/biom11081096>
- Behie, S. W., & Bidochka, M. J. (2014). Nutrient transfer in plant–fungal symbioses. *Trends in Plant Science*, *19*(11), 734–740. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2014.06.007>
- Bhupenandra, I., Chongtham, S. K., Devi, E. L., R., R., Choudhary, A. K., Salam, M. D., Sahoo, M. R., Bhutia, T. L., Devi, S. H., Thounaojam, A. S., Behera, C., M. N., Harish, Kumar, A., Dasgupta, M., Devi, Y. P., Singh, D., Bhagowati, S., Devi, C. P., Singh, H. R., & Khaba, C. I. (2022). Role of biostimulants in mitigating the effects of climate change on crop performance. *Frontiers in Plant Science*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.967665>
- Blacquièrre, T. (2001). *Bloeisturing bij violen en een aantal stekperkplanten; literatuuronderzoek*. Praktijkonderzoek Plant & Omgeving, Sector Glastuinbouw. <https://edepot.wur.nl/294597>
- Blindeman, L., & Volckaert, E. (2009). Perkplanten. In *Van hofbouwkundige tot groenmanager: Sierteelt en groenvoorziening in West-Vlaanderen*.
- Bragg, T., Webb, N., Spencer, R., Wood, J., Nicholl, C., & Potter, E. (1991). *User Manual for the AP4 Porometer Version 4.0*.
- Bragg, T., Webb, N., Spencer, R., Wood, J., Nicholl, C., & Potter, E. (2019). *Technical Manual for the Porometer type AP4*.
- Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants Application in Horticultural Crops under Abiotic Stress Conditions. *Agronomy*, *9*(6). <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, *383*(1), 3–41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>
- Caradonia, F., Battaglia, V., Righi, L., Pascali, G., & La Torre, A. (2019). Plant Biostimulant Regulatory Framework: Prospects in Europe and Current Situation at International Level. *Journal of Plant Growth Regulation*, *38*(2), 438–448. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9853-4>
- Caser, M., D'Angiolillo, F., Chitarra, W., Lovisolo, C., Ruffoni, B., Pistelli, L., Pistelli, L., & Scariot, V. (2018). Ecophysiological and phytochemical responses of *Salvia sinaloensis* Fern. to drought stress. *Plant Growth Regulation*, *84*(2), 383–394. <https://doi.org/10.1007/s10725-017-0349-1>
- Caser, M., Ruffoni, B., & Scariot, V. (2012). SCREENING FOR DROUGHT TOLERANCE IN SALVIA SPP. AND HELICHRYSUM PETIOLARE: A WAY TO SELECT LOW MAINTENANCE ORNAMENTAL PLANTS. *Acta Horticulturae*, *953*, 239–246. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.953.33>
- Castiglione, A. M., Mannino, G., Contartese, V., Berteà, C. M., & Ertani, A. (2021). Microbial Biostimulants as Response to Modern Agriculture Needs: Composition, Role and Application of These Innovative Products. *Plants*, *10*(8). <https://doi.org/10.3390/plants10081533>
- Chen, M., Zhang, T. L., Hu, C. G., & Zhang, J. Z. (2023). The Role of Drought and Temperature Stress in the Regulation of Flowering Time in Annuals and Perennials. In *Agronomy* (Vol. 13, Issue 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/agronomy13123034>

- Cirillo, C., Roupael, Y., Pannico, A., El-Nakhel, C., Colla, G., & De Pascale, S. (2018). Application of protein hydrolysate-based biostimulant as new approach to improve performance of bedding plants. *Acta Horticulturae*, 1215, 443–447. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1215.80>
- De Clercq, P., Pauwels, E., Top, S., Steppe, K., & Van Labeke, M.-C. (2023). Effect of Seaweed-Based Biostimulants on Growth and Development of *Hydrangea paniculata* under Continuous or Periodic Drought Stress. *Horticulturae*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040509>
- Del Buono, D. (2021). Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. *Science of The Total Environment*, 751, 141763. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141763>
- Delta-T Devices Ltd. (2018). *User Manual for the WET Sensor type WET-2*. [www.delta-t.co.uk](http://www.delta-t.co.uk)
- Departement Landbouw en Visserij. (2019). *Watergebruik*. <https://landbouwcijfers.vlaanderen.be/landbouw/totale-landbouw/watergebruik>
- Departement Landbouw en Visserij. (2021). *Landbouwrapport 2020 (LARA)*.
- Departement Landbouw en Visserij. (2022, December 5). *Ruimtelijke spreiding sierteelt*. Landbouwcijfers. <https://landbouwcijfers.vlaanderen.be/landbouw/sierteelt/ruimtelijke-spreiding-sierteelt>
- Departement Landbouw en Visserij. (2023, May 30). *Gewasbeschermingsmiddelengebruik*. Landbouwcijfers. <https://landbouwcijfers.vlaanderen.be/landbouw/totale-landbouw/gewasbeschermingsmiddelengebruik>
- Desmet, S., De Keyser, E., Leus, L., Van Huylenbroeck, J., Geelen, D., & Dhooghe, E. (2023). Improved compact growth habit of *Viola × wittrockiana* through *Rhizobium rhizogenes* transformation. *Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s10725-023-01073-2>
- Di Mola, I., Cozzolino, E., Ottaiano, L., Giordano, M., Roupael, Y., El-Nakhel, C., Leone, V., & Mori, M. (2020). Effect of seaweed (*Ecklonia maxima*) extract and legume-derived protein hydrolysate biostimulants on baby leaf lettuce grown on optimal doses of nitrogen under greenhouse conditions. *Australian Journal of Crop Science*, 14(9), 1456–1464. <https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.09.p2511>
- du Jardin, P. (2012). *The Science of Plant Biostimulants - A bibliographic analysis, Ad hoc study report*.
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Dunbar, K. B. (1993). *Regeneration of Plants from Protoplasts of Pelargonium spp. (Geranium)*.
- Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A., & Espen, L. (2022). Biostimulants on Crops: Their Impact under Abiotic Stress Conditions. *Horticulturae*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030189>
- Giovannini, L., Palla, M., Agnolucci, M., Avio, L., Sbrana, C., Turrini, A., & Giovannetti, M. (2020). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Associated Microbiota as Plant Biostimulants: Research Strategies for the Selection of the Best Performing Inocula. *Agronomy*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/agronomy10010106>
- Gómez-Merino, F. C., & Trejo-Téllez, L. I. (2015). Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 82–90. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.035>
- Gruda, N., Maher, M. J., & Prasad, M. (2008). THE EFFECT OF MICROBIAL ADDITIVES IN ORGANIC SUBSTRATES ON PLANT GROWTH AND SOME QUALITY PARAMETERS. *Acta Horticulturae*, 779, 79–84. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.779.7>
- Hamad, G. M., Mohdaly, A. A. A., El-Nogoumy, B. A., Ramadan, M. F., Hassan, S. A., & Zeitoun, A. M. (2021). Detoxification of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A Using *Salvia farinacea* and *Azadirachta indica* Water Extract and Application in Meat Products. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(10), 3098–3120. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03581-1>
- Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q., & Ahmad, A. (2008). Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*, 3(4), 297–304. <https://doi.org/10.1080/17429140802320797>
- Hazar, D., Boyar, I., Dincer, C., & Ertekin, C. (2023). Investigation of Color and Bioactive Compounds of Different Colors from Pansy (*Viola × wittrockiana* Gams.) Dried in Hot Air Dryer. *Horticulturae*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020186>
- Jacquemyn, H., Endels, P., Brys, R., Hermy, M., & Woodell, S. R. J. (2009). Biological flora of the british isles: *Primula vulgaris* Huds. (*P. acaulis* (L.) Hill). *Journal of Ecology*, 97(4), 812–833. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01513.x>
- Karlsson, M. G. (2001). *Primula Culture and Production*. *HortTechnology Horttech*, 11(4), 627–635. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.11.4.627>
- Kisvarga, S., Farkas, D., Boronkay, G., Neményi, A., & Orlóci, L. (2022). Effects of Biostimulants in Horticulture, with Emphasis on Ornamental Plant Production. *Agronomy*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/agronomy12051043>
- KMI. (2020). *Klimaatrapport 2020*. [www.meteo.be](http://www.meteo.be)

- Kulkarni, M. G., Rengasamy, K. R. R., Pendota, S. C., Gruz, J., Plačková, L., Novák, O., Doležal, K., & Van Staden, J. (2019). Bioactive molecules derived from smoke and seaweed *Ecklonia maxima* showing phytohormone-like activity in *Spinacia oleracea* L. *New Biotechnology*, *48*, 83–89. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.08.004>
- Layek, J., Das, A., Idapuganti, R. G., Sarkar, D., Ghosh, A., Zodape, S. T., Lal, R., Yadav, G. S., Panwar, A. S., Ngachan, S., & Meena, R. S. (2018). Seaweed extract as organic bio-stimulant improves productivity and quality of rice in eastern Himalayas. *Journal of Applied Phycology*, *30*(1), 547–558. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1225-0>
- Lemaire, G. (2024, February 6). *Europa schrapt halvering pesticidengebruik tegen 2030*. VILT Vzw. <https://vilt.be/nl/nieuws/europa-schrapt-halvering-pesticidengebruik-tegen-2030>
- Lim, J.-H., & Kim, S.-D. (2009). Synergistic plant growth promotion by the indigenous auxins-producing PGPR *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, *52*(5), 531–538. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2009.090>
- Lin, Y., & Jones, M. L. (2022). Evaluating the Growth-promoting Effects of Microbial Biostimulants on Greenhouse Floriculture Crops. *HortScience*, *57*(1), 97–109. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16149-21>
- Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z., & Liang, Z. (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Industrial Crops and Products*, *33*(1), 84–88. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2010.09.006>
- Long, J. R. De, Streminska, M. A., & Salm, C. van der. (2021). *Biostimulanten: soorten en werkingsmechanismen* (Rapport / Stichting Wageningen Research, Wageningen Plant Research, Business Unit Glastuinbouw : WPR-1076). Wageningen Plant Research. <https://edepot.wur.nl/551140>
- López-Bucio, J., Pelagio-Flores, R., & Herrera-Estrella, A. (2015). Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae*, *196*, 109–123. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2015.08.043>
- Ma, Y., Freitas, H., & Dias, M. C. (2022). Strategies and prospects for biostimulants to alleviate abiotic stress in plants. *Frontiers in Plant Science*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1024243>
- Marketsandmarkets.com. (2022). *Biostimulants market*. <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biostimulant-market-1081.html>
- Martin-StPaul, N., Delzon, S., & Cochard, H. (2017). Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. In *Ecology Letters* (Vol. 20, Issue 11, pp. 1437–1447). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ele.12851>
- Mercx, V. (2024, February 6). *Europese Commissie stelt nieuwe tussentijdse klimaatdoelstelling voor: 90 procent minder uitstoten tegen 2040*. VRT NWS. <https://www.vrt.be/vrtnws/nl/2024/02/05/europese-commissie-klimaatdoelstelling-2040-90-procent/>
- Mutlu-Durak, H., & Yildiz Kutman, B. (2021). Seed treatment with biostimulants extracted from weeping willow (*Salix babylonica*) enhances early maize growth. *Plants*, *10*(7). <https://doi.org/10.3390/plants10071449>
- Pardossi, A., Incrocci, L., Incrocci, G., Malorgio, F., Battista, P., Bacci, L., Rapi, B., Marzalletti, P., Hemming, J., & Balendonck, J. (2009). Root Zone Sensors for Irrigation Management in Intensive Agriculture. In *Sensors* (Vol. 9, Issue 4, pp. 2809–2835). MDPI. <https://doi.org/10.3390/s90402809>
- Pascual, J. A., Ros, M., Martínez, J., Carmona, · Francisco, Antonio Bernabé, · Torres, R., Lucena, T., Rosa Aznar, · David, ·, Arahal, R., & Felix Fernández, ·. (2020). *Methylobacterium symbioticum* sp. nov., a new species isolated from spores of *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum*. *77*, 2031–2041. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02101-4>
- Patel, K., Agarwal, P., & Agarwal, P. K. (2018). *Kappaphycus alvarezii* sap mitigates abiotic-induced stress in *Triticum durum* by modulating metabolic coordination and improves growth and yield. *Journal of Applied Phycology*, *30*(4), 2659–2673. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1423-4>
- Pichyangkura, R., & Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, *196*, 49–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.031>
- Rai, N., Rai, S. P., & Sarma, B. K. (2021). Prospects for Abiotic Stress Tolerance in Crops Utilizing Phyto- and Bio-Stimulants. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.754853>
- Rouphael, Y., De Micco, V., Arena, C., Raimondi, G., Colla, G., & De Pascale, S. (2017). Effect of *Ecklonia maxima* seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf anatomy of zucchini squash grown under saline conditions. *Journal of Applied Phycology*, *29*(1), 459–470. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0937-x>
- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., Pascale, S. De, Bonini, P., & Colla, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, *196*, 91–108. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.002>

- Rouphael, Y., Shukla, P. S., Bonini, P., Lucini, L., Carmody, N., Goñi, O., Łangowski, Ł., & O'Connell, S. (2020). *Ascophyllum nodosum* Extract Biostimulant Processing and Its Impact on Enhancing Heat Stress Tolerance During Tomato Fruit Set. *11*, 807. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00807>
- Rudy Raes Bloemzaden nv. (n.d.). *[Overzicht producten van Rudy Raes Bloemzaden nv]*. Retrieved April 12, 2024, from <https://www.raes.be/en/products>
- Savvas, D., & Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Scientia Horticulturae*, *196*, 66–81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.010>
- Schöll, L. van, Postma, R., Ehlert, P., Veenemans, L., & Bussink, W. (2022). *Opties voor opname van plantbiostimulanten in de Nederlandse Meststoffenwet : WP-2 Implementatie van VO-EU 2019/1009 in de Meststoffenwet* (W0t-Technical Report : 208). Wettelijke Onderzoekstaken Natuur & Milieu. <https://edepot.wur.nl/549882>
- Sharma, S. S., & Dietz, K. J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 57, Issue 4, pp. 711–726). <https://doi.org/10.1093/jxb/erj073>
- Shukla, P. S., & Prithiviraj, B. (2021). *Ascophyllum nodosum* Biostimulant Improves the Growth of Zea mays Grown Under Phosphorus Impoverished Conditions. *Frontiers in Plant Science*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.601843>
- Sofo, A., Scopa, A., Manfra, M., de Nisco, M., Tenore, G., Troisi, J., Fiori, R. Di, & Novellino, E. (2011). Trichoderma harzianum strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (Prunus cerasus × P. canescens). *Plant Growth Regulation*, *65*(2), 421–425. <https://doi.org/10.1007/s10725-011-9610-1>
- Souza, R. de, Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and Molecular Biology*, *38*.
- Statbel. (2022). *Landbouwcijfers 2022*.
- Staykov, N. S., Angelov, M., Petrov, V., Minkov, P., Kanojia, A., Guinan, K. J., Alseekh, S., Fernie, A. R., Sujeeth, N., & Gechev, T. S. (2021). An *Ascophyllum nodosum*-Derived Biostimulant Protects Model and Crop Plants from Oxidative Stress. *Metabolites*, *11*(1). <https://doi.org/10.3390/metabo11010024>
- Taiz, L. (viaf)39523320, Zeiger, E. (viaf)64151551, Møller, I. M. (viaf)24905106, & Murphy (viaf)159891964, A. S. (2015). *Plant physiology and development* (Sixth edition.). Sunderland (Mass.): Sinauer associates. <http://lib.ugent.be/catalog/rug01:002371218>
- Thao, H. T. B., & Yamakawa, T. (2009). Phosphite (phosphorous acid): Fungicide, fertilizer or bio-stimulator? In *Soil Science and Plant Nutrition* (Vol. 55, Issue 2, pp. 228–234). <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x>
- Torres Vera, R., Bernabé García, A. J., Carmona Álvarez, F. J., Martínez Ruiz, J., & Fernández Martín, F. (2024). Application and effectiveness of *Methylobacterium symbioticum* as a biological inoculant in maize and strawberry crops. *Folia Microbiologica*, *69*(1), 121–131. <https://doi.org/10.1007/s12223-023-01078-4>
- Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., & Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *4*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>
- Verordening EG 1107/2009 (2022). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02009R1107-20221121>
- Verordening EU 2019/1009 (2023). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02019R1009-20230316>
- Vissers, M. (n.d.). *Teeltfiche Viola x wittrockiana*.
- VLAM Marketingdienst. (2022a). *Aantal bedrijven met sierteelt (in hoofd- en nevenberoep) in België*. Sierteeltbarometer 2023. <https://www.vlaanderen.be/vlam/sites/default/files/publications/2023-05/Aantal%20bedrijven%202013-2022.pdf>
- VLAM Marketingdienst. (2022b). *Belgische handelssaldo voor niet-eetbare tuinbouwproducten*. Sierteeltbarometer 2023. [https://www.vlaanderen.be/vlam/sites/default/files/publications/2023-05/Belgisch%20handelssaldo%20voor%20sierteeltproducten%202013-2022\\_0.pdf](https://www.vlaanderen.be/vlam/sites/default/files/publications/2023-05/Belgisch%20handelssaldo%20voor%20sierteeltproducten%202013-2022_0.pdf)
- VLAM Marketingdienst. (2022c). *Belgische sierteeltoppervlakte*. Sierteeltbarometer 2023. <https://www.vlaanderen.be/vlam/sites/default/files/publications/2023-05/Belgische%20sierteeltoppervlakte%202013-2022.pdf>
- VLAM Marketingdienst. (2022d). *Sierteeltbestedingen juli 2021 tot juni 2022*. <https://www.vlaanderen.be/vlam/sites/default/files/publications/2022-09/sierteeltbestedingen%20GfK%20juli%202021-juni%202022.pdf>
- Waarom de landbouwers in Europa en bij ons actievoeren*. (2024, January 29). VRT NWS. <https://www.vrt.be/vrtnws/nl/2024/01/29/waarom-voeren-de-landbouwers-in-europa-en-bij-ons-actie/>



- Winkelmann, T., Kaviani, K., & Serek, M. (2005). *Development of a shoot regeneration protocol for genetic transformation in Pelargonium zonale and Pelargonium peltatum hybrids*.
- Wise, K., Gill, H., & Selby-Pham, J. (2020). Willow bark extract and the biostimulant complex Root Nectar® increase propagation efficiency in chrysanthemum and lavender cuttings. *Scientia Horticulturae*, 263, 109108. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2019.109108>
- Xing, Z., Bi, G., Li, T., Zhang, Q., & Knight, P. R. (2023). Nitrogen Fertilization Improves Growth and Bioactive Compound Content for *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Horticulturae*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020254>