



***Bacillus subtilis* som biostimulant i sallatsodling**

En experimentell undersökning av mikrobiella
biostimulanter påverkan i växthusmiljö

Martin Ornstein Fredlund

Examensarbete/Självständigt arbete • 15 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institutionen för Biosystem och teknologi
Trädgårdsingenjör: odling – kandidatprogram
Alnarp 2025



***Bacillus subtilis* som biostimulant i sallatsodling. En experimentell undersökning av mikrobiella biostimulanter påverkan i växthusmiljö.**

Bacillus subtilis as a biostimulant in lettuce cultivation. An experimental investigation of the impact of microbial biostimulant in a greenhouse environment.

Martin Ornstein Fredlund

Handledare:	Anna Karin Rosberg, Sveriges lantbruksuniversitet Alnarp, Institutionen för Biosystem och teknologi
Examinator:	Samar Khalil, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för Biosystem och teknologi
Omfattning:	15 hp
Nivå och fördjupning:	Grundnivå, G2E
Kurstitel:	Självständigt arbete i biologi
Kurskod:	EX0855
Program/utbildning:	Trädgårdsingenjör: odling - kandidatprogram
Kursansvarig inst.:	Institutionen för biosystem och teknologi
Utgivningsort:	Alnarp
Utgivningsår:	2025
Nyckelord:	<i>Bacillus subtilis</i> , Biomassa, Biostimulant, <i>Lactuca sativa</i> , Mikrobiell biostimulant

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för landskapsarkitektur, trädgårds- och växtproduktionsvetenskap
Institutionen för biosystem och teknologi

Sammanfattning

Denna studie syftade till att undersöka om tillsats av *Bacillus subtilis* som mikrobiell biostimulant påverkar produktivitet och kvalitet i sallatsodling i växthusmiljö. För att besvara frågan genomfördes ett kontrollerat odlingsförsök där tre grupper av sallatsplantor behandlades med olika koncentrationer av en kommersiell biostimulant (0,01 %, 0,0001 % och 0 %, kontroll). Försökets metodik omfattade tillförsel av biostimulant 21 dagar efter sådd samt mätning av biomassa och klorofyllhalt som indikatorer för tillväxt och kvalitet. Totalt ingick 30 plantor, och försöket genomfördes i ett kommersiellt växthus i södra Sverige.

Resultaten visade inga signifikanta skillnader i biomassa eller klorofyllhalt mellan grupperna, vilket tyder på att biostimulanten inte gav någon mätbar positiv effekt under de odlingsförhållanden som rådde i försöket. Diskussionen lyfter möjliga orsaker, såsom låg stressnivå, substratets egenskaper och biostimulantens livskraft. Tidigare forskning tyder på att biostimulanter ofta har störst effekt under abiotisk stress, vilket saknades i detta försök.

Studien visar vikten av att utvärdera biostimulanter i relation till odlingsförhållanden. För framtida forskning rekommenderas fler mätvariabler, som näringsanalyser i substratet, verifiering av bakteriekulturens livskraft och upprepade inokulering, för att bättre förstå under vilka förhållanden mikrobiella biostimulanter är mest effektiva.

Nyckelord: Bacillus subtilis, Biomassa, Biostimulant, Lactuca sativa, Mikrobiell biostimulant

Abstract

This study aimed to investigate whether the addition of *Bacillus subtilis* as a microbial biostimulant affects productivity and quality in greenhouse-grown lettuce cultivation. To address this question, a controlled cultivation trial was conducted in which three groups of lettuce plants were treated with different concentrations of a commercial biostimulant (0.01%, 0.0001%, and 0% as control). The experimental method involved the application of the biostimulant 21 days after sowing, followed by measurements of biomass and chlorophyll content as indicators of growth and quality. A total of 30 plants were included, and the trial was carried out in a commercial greenhouse in southern Sweden.

The results showed no significant differences in biomass or chlorophyll content between the groups, suggesting that the biostimulant did not produce any measurable positive effect under the conditions of the experiment. The discussion highlights possible reasons, such as low stress levels, substrate characteristics, and the viability of the biostimulant. Previous research suggests that biostimulants often have the greatest effect under abiotic stress, which was absent in this trial.

The study underscores the importance of evaluating biostimulant effects in relation to cultivation conditions. Future research is recommended to include more variables, such as nutrient analyses of the substrate, verification of microbial viability, and repeated applications, to better understand the conditions under which microbial biostimulants are most effective.

Keywords: *Bacillus subtilis*, Biomass, Biostimulant, *Lactuca sativa*, Microbial biostimulant

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	6
Figurförteckning	7
Förkortningar	8
1. Inledning	9
1.1 Syfte	9
1.2 Frågeställning och hypotes	9
2. Bakgrund	11
2.1 <i>Bacillus subtilis</i> som biostimulantprodukt	11
2.2 Tidigare studier om biostimulanter	11
2.3 Sallat	12
2.3.1 Sallatsodling	12
2.3.2 Produktivitet i sallatsodling	13
3. Metod.....	14
3.1 Förutsättningar och planering	14
3.2 Tillförsel av biostimulant.....	15
3.3 Mätning av indikatorer.....	16
3.4 Statistisk behandling av resultatet	18
4. Resultat och statistisk analys.....	19
4.1 Biomassa	19
4.1.1 Bladens biomassa	19
4.1.2 Rötternas biomassa.....	20
4.2 Klorofyll	20
5. Diskussion och slutsats.....	22
5.1 Slutsats	23
Referenser.....	24
Bilaga 1 Produktblad.....	26
Bilaga 2 Fullständiga resultat	27

Tabellförteckning

Tabell 1 Koncentration biostimulant i vattenblandning per grupp.	16
Tabell 2 Uppmätt biomassa för bladens färskvikt och torrvt i gram.	20
Tabell 3 Uppmätt biomassa för rötternas färskvikt och torrvt i gram.	20
Tabell 4 Relativ klorofyllhalt.	21

Figurförteckning

Figur 1 Testplanter som ingick i odlingsförsöket.	14
Figur 2 Spädning av koncentrat i vattenblandning.	15
Figur 3 Bevattning med vattenblandning.....	16
Figur 4 Avspolade rötter från testgrupp 1.	17
Figur 5 Klorofyllmätning av sallatsblad.....	17
Figur 6 Vägning torr biomassa.	18
Figur 7 Planter 57 dagar från sådd.	19

Förkortningar

Förkortning	Betydelse
ANOVA	Anlysis Of Variance
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
CCI	Chlorophyll content index
CFU	Colony forming units
<i>L. sativa</i>	<i>Lactuca sativa</i>
MGS	Moving gully system
SLU	Sveriges lantbruksuniversitet

1. Inledning

Biostimulanter är en produkttyp med ökande popularitet som marknadsförs med löfte om att verka som en katalysator för näringsupptag och ökad motståndskraft mot biotisk och abiotisk stress genom att förbättra växtens naturliga processer. Det stöds av litteraturen, vilket redovisas i en studie av Calvo m. fl. (2014) där en genomgång av publikationer pekar på att det finns gemensamma drag i växters svar på biostimulanter, så som ökad rottillväxt, förbättrat näringsupptag och ökad stresstolerans mot exempelvis torka eller saltsstress. Dessutom har biostimulanter potential att ersätta användandet av gödningsmedel (Han m. fl., 2024).

Biostimulanter potential att stärka växtens motståndskraft, främja tillväxt i plantan och även minska behovet av gödningsmedel kan bidra till en ökad hållbarhet inom odling.

I teorin är kombinationen av biostimulant, gröda och odlingsförhållanden oändlig. För att få en korrekt bild av biostimulanter potential krävs en omfattande uppsättning försök med olika kombinationer. Denna rapport syftar till att bidra till kunskapsbanken genom att testa en specifik kommersiell biostimulant på en vanlig kommersiell gröda i en inomhusodlingsmiljö. Försöksuppsättningen bygger på antagandet att det kan finnas ett betydande kommersiellt intresse för just denna, eller liknande, kombinationer av biostimulant, gröda och odlingsförhållanden.

1.1 Syfte

En av Sveriges vanligaste grödor för kommersiell odling i växthus är kruksallat (Jordbruksverket, 2024). En planta i växthusmiljö utsätts för både abiotisk och biotisk stress, så som höga temperaturer, patogena svampar och insekter. Denna studie undersöker hur tillsats av *B. subtilis* (*Bacillus subtilis*) påverkar en sallatsodlings produktivitet och kvalitet, med särskilt fokus på tillväxt av biomassa och klorofyllmängd. Den produkt som användes i studien var en biostimulant med produktnamn DCM VITACT® R. Produkten är godkänd av EU som biostimulant, se Bilaga 1.

Studien syftar till att bidra till en förbättrad förståelse för produktens potentiella användning i kommersiell sallatsproduktion.

1.2 Frågeställning och hypotes

Kan *B. subtilis* bidra till en sallatsodlings produktivitet och kvalitet?

Frågeställningen besvaras i studien genom följande hypotes:

- Nollhypotes: $H_0: \mu_A = \mu_B$ Tillsats av biostimulanten ger ingen skillnad i medelvärdet av biomassa (färsk och torr) eller klorofyllhalt.
- Alternativhypotes: $H_1: \mu_B > \mu_A$ Tillsats av biostimulanten ger ett ökat medelvärde av biomassa (färsk och torr) eller klorofyllhalt.

2. Bakgrund

2.1 *Bacillus subtilis* som biostimulantprodukt

Det finns flera typer av biostimulantprodukter, ofta bestående av svampar eller bakterier. *B. subtilis* är en vanligt förekommande mikroorganism bland kommersiella biostimulantprodukter (Alori m. fl., 2017). Bakteriesläktet *Bacillaceae* finns naturligt i jord och i växters rotzon (*rhizosfär*) samt inuti vävnaden (*endosfär*). Dessa bakterier spelar en viktig roll i markens ekosystem genom att bryta ner organiskt material och frigöra näringsämnen. Inom bakteriesläktet finns flera stammar som verkar och trivs olika bra beroende på omgivningens förutsättningar. Till följd av bakteriesläktets storlek och komplexitet finns inte full kännedom kring vilka synergieffekter olika sammansättningar av biostimulanter med *B. subtilis* kan ha. Det är alltså svårt att förutsäga effektiviteten en viss biostimulant har, särskilt i fältförsök då det finns många olika faktorer som kan leda till biotisk- och abiotiskstress (Etesami m. fl., 2023).

B. subtilis är en art inom släktet *Bacillus* och familjen *Bacillaceae*. Arten är den mest studerade inom släktet och består av många olika stammar. I en kommersiell biostimulantprodukt kan det ingå olika stammar som verkar bäst under olika förhållanden, så som temperatur, näringssammansättning och tillgång till syre och vatten. Enligt Gauvry m. fl. (2021) sker tillväxten av *B. subtilis* i temperaturer mellan 5,5 °C - 55,7 °C, och i pH 4,8 - pH 9,2.

2.2 Tidigare studier om biostimulanter

Det finns flertalet studier som undersöker biostimulanterns effekt i odlingssystem med olika grödor. I en litteraturstudie av Mahapatra m. fl. (2022) undersöktes effekterna av inokulerad *B. subtilis* på tillväxt och jordhälsa. Samband mellan jordens struktur, sammansättning, pH och bakteriekoncentration kunde framhävas som avgörande för regleringen av ett antal processer i samband med inokulering, där ibland rottillväxt. Resultatet av studien visade att det fanns både positiva och negativa effekter på tillväxt och jordhälsa av inokulering.

Bakterierna bryter ner organiska föreningar i jorden, detta sker genom att bakterierna producerar enzymer som bryter ner cellulosa, proteiner och fetter, vilket gör att näringsämnen så som fosfor och kväve frigörs för växten att ta upp (Kiprotich m. fl., 2025). Förmågan hos *B. subtilis* att frigöra hårt bunden fosfor undersöktes i en studie av Bini m. fl. (2024). Studien, som genomfördes på

majsodlingar fann att *B. subtilis* var effektiv på lösa upp föreningar av kalciumfosfat och att mineralisera organiska fosforföreningar.

I en ytterligare studie studerades förmågan hos *B. subtilis* att tillgängliggöra fosfor. Studien genomfördes i en melonodling. Vid låga halter av fosfor fanns den största förbättringen vid inokulering, som visade sig genom ökad biomassa och näringsinnehåll. Studien föreslog *B. subtilis* som lämpligt alternativ till konstgödsel i syfte att motverka fosforbrist i grödor (Han m. fl., 2024).

I en annan studie undersöktes rhizobakterier, bland annat *B. subtilis* med fokus på att minimera saltstress hos sallat i hydroponisk odling. Studien visade på att inokulering gav en ökad tillväxt hos den stressade sallatsplantan, samt att tillväxten till och med var bättre än för kontrollgruppen som inte utsatts för saltstress (Moncada m. fl., 2020).

Alla studier pekar inte på samma tydliga positiva effekter av biostimulantprodukter. I en vetenskaplig artikel jämfördes effekten av flertalet produkter (dock inte specifikt *B. subtilis*) på sallat i hydroponisk odling. Resultatet av studien fann inga positiva effekter på biomassa eller plantans kvalitet av att använda någon av de biostimulantprodukter som utvärderades. Studien analyserade likheter och skillnader med tidigare studier som behandlat samma växt och odlingsmiljö och fann att en tydlig skillnad var att tidigare studier inkluderade betydande stressfaktorer. När en betydande stressfaktor fanns syntes störst effektivitet från biostimulanten (Gomez m. fl., 2022).

2.3 Sallat

2.3.1 Sallatsodling

Sallat (*Lactuca sativa*) är en snabbväxande bladgrönsak. *L. sativa* är en av de viktigaste bladgrönsakerna som odlas världen över och konsumeras året runt (Wani m. fl., 2020). Sett till odlingsytan är det för växthusodling i Sverige den fjärde mest producerade grödan efter tomat, gurka och kryddväxter. Totalt odlas kruksallat på 39 400 kvadratmeter i Sverige (Jordbruksverket, 2024). Sallat odlas ofta i rörliga system. Ett rörligt system för odling av kruksallat, ofta kallat MGS (moving gully system) är ett system med rännor som roterar automatiserat. Det innebär att den effektiva ytan för kruksallat större än den faktiska ytan som anges i statistiken, som mäts i växthusets kvadratmeter.

En växthusodling kan, precis som frilandsodling, utsättas för abiotisk och biotisk stress. Abiotisk stress orsakas av icke-levande faktorer så som höga temperaturer, ljusintensitet, salthalt och torka eller övervattning, medan biotisk stress orsakas av levande organismer så som insekter och svampar eller bakterier. När växter utsätts för stress ändras dess biologiska processer, vilket kan visa sig i form av hämmad tillväxt eller inducerad blomning (Han, 2021).

2.3.2 Produktivitet i sallatsodling

Biomassa är en indikator för växters tillväxt och utveckling, vilket påvisar produktivitet hos grödan. Biomassan påverkas av genetik, fysiologi och miljöfaktorer och kan användas som ett index för att uppskatta avkastning och ekonomiska fördelar i jordbruket (Lui, 2019).

Klorofyll finns i kloroplasten i växtcellerna. Det absorberar den ljusenergi som omvandlas till glukos och syre i fotosyntesen. I en studie har man visat att klorofyllinnehållsindex, Chlorophyll content index (CCI) kan vara en god indikator för en växts biomassa ovan jord. Exempelvis finns studier som visar ett linjärt samband mellan CCI och klorofyll för vete och päron. CCI bör vara hög, men inte nödvändigtvis så högt som möjligt. Ett högt CCI indikerar god klorofyllhalt och effektiv fotosyntes, men för höga värden indikerar övergödning. CCI kan också variera under växtens olika tillväxtstadier. (Lui m. fl, 2019).

3. Metod

Odlingsförsöket gick ut på att biostimulant tillfördes till plantor i olika koncentrat utblandat med kranvatten. Odlingsförsöket utfördes i fyra steg:

1. Sådd av sallat i kruka (dag 1)
2. Tillförsel av biostimulant till planta (21 dagar efter sådd)
3. Mätning av biomassa och klorofyll (57 dagar efter sådd)
4. Mätning av torr biomassa (4 dagar i torkskåp)

3.1 Förutsättningar och planering

Plantorna som ingick i testet var av arten *L. sativa* (var. Capitata 'Caipira') från producenten Enza Zaden och odlades i ett kommersiellt växthus med underbevattnings i krukor. Substratet som användes var uppgödslad torv (av en receptbeställd blandning som inte kan specificeras i denna rapport på grund av att den klassas som företagshemlighet). Odlingssystemet i växthuset vattnades dagligen efter behov, utifrån bevattningspersonalens erfarenhet om ljusinstrålning och temperatur. Totalt ingick 30 sallatsplantor i försöket, där 10 plantor ingick i respektive provgrupp 1-3, se Figur 1. Växthuset, och platsen för försöket, är beläget utanför Malmö.

Dag 1 inföll den 3 februari 2025. Datumet för inokulering av biostimulant valdes utifrån när plantorna flyttades från förgroning till växthuset. Datumet för mätning bestämdes baserat på företagets beräknade produktionstid för plantan att, under den aktuella årstiden, uppnå säljbar storlek.



Figur 1 Testplantor som ingick i odlingsförsöket. Varje kruka har en etikett med numrering 1-3.

3.2 Tillförsel av biostimulant

Biostimulant

Biostimulanten som användes var DCM VITACT® R. Enligt leverantör innehåller den 10^9 CFU (colony forming units) /g samt 9% komplexa kolledjor av vegetabiliskt ursprung. Se fullständigt produktblad i Bilaga 1.

De utlovade effekterna av produkten är förbättrad rotutveckling med kraftigt förgrenade och längre rötter samt en ökad odlingssäkerhet. Detta genom att frigöra fosfor i jorden.

Biostimulanten ska också bidra till att skydda bioaktiva komponenter mot nedbrytning, bättre näringsupptag som ska leda till förbättrad motståndskraft samt ökad tillväxt både under och över jord.

Den rekommenderade doseringen är två applikationer med ett intervall på fyra till sex veckor.

Beredning av biostimulantkoncentrat i vattenblandning

Biostimulanten späddes enligt flaskans instruktioner för substratkulturer, vilket var 10 ml biostimulant/ m³ vatten. Koncentrat till provgrupp 1 togs fram genom att späda 1 ml biostimulant på 10 l vatten, se Figur 2. Vidare bereddes koncentration till provgrupp 2 genom att 100 ml av den första koncentrationen späddes i ytterligare 9,9 l kranvatten, vilket gav den rekommenderade koncentrationen.



Figur 2 Spädning av koncentrat i vattenblandning.

Bevattning

Samtliga tre grupper bevattnades med 0,5 dl av respektive beredd vattenblandning, se Tabell 1. Bevattningen gjordes ovanifrån intill plantans stam med ett decilitermått, se Figur 3.

Tabell 1 Koncentration biostimulant i vattenblandning per grupp.

	Koncentration biostimulant per 0,5 dl vattenblandning.
Grupp 1	0,01%
Grupp 2	0,0001%
Grupp 3	0%



Figur 3 Bevattning med vattenblandning.

3.3 Mätning av indikatorer

De totalt 30 plantorna markerades 1-10 inom respektive plantgrupp (1-3). Se exempel från grupp 1 i Figur 4 nedan.

Mätning biomassa

Den färdigväxta sallaten skördades genom att plantan klipptes av vid jordytan med en sax. Därefter togs rotklumpen ur plastkrukan och rötterna spolades rena från substrat i en vask.

Sallaten och de renspolade rötterna vägdes på en digital våg med tre decimalers noggrannhet. Den gröna biomassan mättes för samtliga 30 plantor. Rötternas massa vägdes för plantnummer 1-3 i respektive mätgrupp, totalt 9 plantor.



Figur 4 Avspolade rötter från testgrupp 1.

Mätning klorofyll

Klorofyllmätaren (Apogee MC 100) kalibrerades. Maskinen lyser med LED-lampor på vävnaden för att mäta den relativa klorofyllhalten, se Figur 5. Ett blad från varje planta mättes för klorofyllhalt, totalt 30 mätningar. Det blad som mättes var det tredje bladet från nyttillväxten. Halten mättes cirka en centimeter från bladkanten.



Figur 5 Klorofyllmätning av sallatsblad.

Mätning torr biomassa

Foliepaket förbereddes genom att vägas. Vikten av samtliga foliepaket noterades på respektive paket. Samtliga växtdelar lades därefter i ett varsitt foliepaket som markerades med sitt plantnummer. Foliepaketen placerades i en torkugn. Efter fem dagar togs paketen ut och den torra substansen vägdes, se Figur 6.



Figur 6 Vägning torr biomassa.

3.4 Statistisk behandling av resultatet

Den uppställda hypotesen undersöktes genom att genomföra statistisk analys ANOVA (Analysis Of Variance) med antagen signifikansnivå $P \geq 0,05$. Därefter genomfördes post-hoc tester med metoden Tukey för att identifiera medelvariationen. Testerna genomfördes i statistikprogrammet Minitab.

4. Resultat och statistisk analys

De färdigväxta plantorna efter 57 dagar visas i Figur 7. Ingen synlig skillnad kunde bedömas på plantornas tillväxt.



Figur 7 Plantor 57 dagar från sådd.

4.1 Biomassa

4.1.1 Bladens biomassa

Resultatet visar att kontrollgruppen (grupp 3) hade det högsta medelvärdet för färsk bladmassa, 55,09 g, följt av grupp 2 med 52,38 g och grupp 1 med 46,75 g. För torrsubstans var medelvärdet 3,46 g i grupp 3, 3,31 g i grupp 2 och 3,08 g i grupp 1.

P-värdet från ANOVA-testet var 0,187 för färskvikt och 0,298 för torrsvikt, vilket innebär att inga statistiskt signifikanta skillnader kunde påvisas mellan grupperna. Tukey-testet med 95 % konfidensintervall bekräftade att skillnaderna i medelvärde inte var signifikanta.

Fullständiga mätvärden redovisas i Bilaga 2.1 och 2.2. Tabell 2 visar gruppernas medelvärden och standardavvikelser.

Tabell 2 Uppmätt biomassa för bladens färskvikt och torrsvikt i gram. Grupperna var bevattnade med följande koncentration biostimulant: grupp 1 (0,01%), grupp 2 (0,0001%), grupp 3 (0 %). I tabellen presenteras gruppernas medelvärde samt standardavvikelse. Siffror som följs av samma bokstav är ej signifikant skilda från varandra enligt Tukey's test vid $P \leq 0.05$. För både färskvikt och torrsvikt är antalet mätvärden, $n=10$, ($P= 0,187$ färskvikt, $P=0,298$ torrsvikt).

Grupp	Medelvärde färskvikt (g)	Medelvärde torrsvikt (g)
1	46,75±7,99 a	3,08±0,457 a
2	52,38±11,96 a	3,31±0,588 a
3	55,09±9,89 a	3,46±0,559 a

4.1.2 Rötternas biomassa

Resultatet visar att den högsta medelvärdet för rötternas färsk biomassa återfanns i grupp 2 (20,22 g), följt av grupp 3 (18,30 g) och grupp 1 (17,56 g). För torrsvikt var medelvärdet i grupp 2 1,59 g, i grupp 3 1,47 g och i grupp 1 1,48 g.

P-värdet från ANOVA-testet var 0,480 för färskvikt och 0,671 för torrsvikt, vilket innebär att inga statistiskt signifikanta skillnader kunde påvisas. Resultaten från Tukey-testet med 95 % konfidensintervall visade inte heller någon signifikant skillnad mellan grupperna för varken färsk- eller torrsvikt.

Fullständiga mätvärden redovisas i Bilaga 2.3 och 2.4. Tabell 3 presenterar gruppernas medelvärden och standardavvikelser.

Tabell 3 Uppmätt biomassa för rötternas färskvikt och torrsvikt i gram. Grupperna var bevattnade med följande koncentration biostimulant: grupp 1 (0,01%), grupp 2 (0,0001%), grupp 3 (0 %). I tabellen presenteras gruppernas medelvärde samt standardavvikelse. Siffror som följs av samma bokstav är ej signifikant skilda från varandra enligt Tukey's test vid $P \leq 0.05$. För både färskvikt och torrsvikt är antalet mätvärden, $n=10$, ($P= 0,480$ färskvikt, $P=0,671$ torrsvikt).

Grupp	Medelvärde färskvikt (g)	Medelvärde torrsvikt (g)
1	17,56±3,13 a	1,483±0,21 a
2	20,22±1,96 a	1,592±0,20 a
3	18,30±2,63 a	1,465±0,24 a

4.2 Klorofyll

Resultatet visar att samtliga grupper hade liknande värden för klorofyllinnehåll (CCI). Medelvärdet för grupp 1 var 5,31, för grupp 2 var det 5,21 och för kontrollgruppen (grupp 3) 4,88. Resultaten visar en viss variation inom grupperna, men inga signifikanta skillnader kunde påvisas mellan dem.

P-värdet från ANOVA-testet var 0,581. Tukey-testet med 95 % konfidensintervall visade ingen signifikant skillnad i medelvärdet för

klorofyllhalten mellan testgrupperna. Fullständiga mätvärden redovisas i Bilaga 2.5.

Fullständiga mätvärden redovisas i Bilaga 2.5. Tabell 4 visar respektive grupps medelvärde och standardavvikelse.

Tabell 4 Relativ klorofyllhalt. Grupperna var bevattnade med följande koncentration biostimulant: grupp 1 (0,01%), grupp 2 (0,0001%), grupp 3 (0 %). I tabellen presenteras gruppernas medelvärde samt standardavvikelse. Siffror som följs av samma bokstav är ej signifikant skilda från varandra enligt Tukey's test vid $P \leq 0.05$. För både färskvikt och torr vikt är antalet mätvärden, $n=3$, ($P= 0,581$).

Grupp	Medelvärde klorofyllhalt (CCI)
1	5,310±0,93 a
2	5,210±0,99 a
3	4,880±0,95 a

5. Diskussion och slutsats

Syftet med denna studie var att bidra till en förbättrad förståelse för biostimulantens potentiella användning i kommersiell sallatsproduktion genom att undersöka om tillsats av *Bacillus subtilis* kunde förbättra produktiviteten och kvaliteten i sallatsodling. Den statistiska analysen visade inga signifikanta skillnader mellan behandlingsgrupperna vad gäller biomassa (färsk eller torr) eller klorofyllhalt, vilket innebär att nollhypotesen inte kunde förkastas. Resultaten tyder därmed på att den testade biostimulanten, under de aktuella odlingsförhållandena, inte gav någon mätbar positiv effekt. Syftet med den ökade förståelsen anses därmed uppfyllt.

Tidigare forskning, som analyserats inom ramen för denna rapport, visar att biostimulanter effekter är beroende av odlingsmiljön och växtens stressnivå (Etesami et al., 2023). Majoriteten av de studier som analyserats rapporterar positiva effekter i form av förbättrad rottillväxt och ökad tolerans mot abiotisk stress (Mahapatra et al., 2022; Kiprotich et al., 2025; Han et al., 2024; Moncada et al., 2020). Den aktuella produktens produktblad utlovar liknande effekter. Att effekten uteblev i denna studie kan bero på flera faktorer, som beskrivs nedan.

Brister vid inokuleringen på grund av defekt produkt. Det är möjligt att mängden levande bakterier (CFU) i produkten var för låg, eller att bakterierna inte var livskraftiga vid tillförsel. En parallell bakterieodling hade kunnat verifiera detta. En ytterligare aspekt är valet av inokuleringsmetod. I denna studie tillfördes bakterien via bevattning, men alternativa metoder som fröinokulering kan eventuellt få ett annat utfall. Framtida försök bör därför jämföra olika inokuleringsstrategier.

Substratets sammansättning och andra miljöparametrar kan ha påverkat bakteriernas aktivitet negativt. Tidigare forskning (Mahapatra et al., 2022) pekar på att substratets egenskaper är avgörande för effekten av inokulering.

En tredje orsak är den som Gómez m. fl. (2022) också lyft i sin rapport, vilket var frånvaron av betydande stressfaktorer. I samtliga av de studier som analyserats inom ramen för denna rapport har biostimulanter utvärderats i relation till specifika stressfaktorer, så som temperatur, salinitet eller näringsbrist (t.ex. Han m. fl., 2024; Moncada m. fl., 2020). De två återkommande relevanta stressfaktorerna i de studier som analyserades var växtens tillgänglighet till fosfor och salinitet. Det är två stressfaktorer som en växthusodling med ett receptblandat substrat vanligtvis inte har, jämfört med en frilandsodling. Det fanns inte heller någon observation av inducerad blomning, som enligt Han (2014) är ett tecken på stress hos plantan. Annan abiotisk stress som kan finnas i ett växthus är höga temperaturer. Då testet utfördes under mars månad i ett klimatstyrt växthus i Skåne anses det inte sannolikt att temperaturerna kunnat variera utöver det

normala. För att utesluta att stressfaktorer inte var aktuella under experimentet hade en jordanalys samt inhämtning av klimatdata kunnat genomföras.

Inokuleringen skedde vid ett tillfälle, 21 dagar efter sådd. Det hade varit möjligt att tillföra en ytterligare inokulering efter 4 veckor så som angivet i produktens instruktioner, se Bilaga 1. En förlängning av testet hade dock inneburit en förlängning av kulturtiden, vilket motverkar syftet med att tillföra biostimulant till en kommersiell produkt.

Klorofyllhalten har enligt Lui m. fl, (2019) ett linjärt samband med biomassan, men inga slutsatser kring relationen kan dras då det inte fanns någon signifikant skillnad inom respektive mätning. Mätresultaten för klorofyllhalten kan ha varit bristfälliga. I studien från Lui m. fl, (2019) togs minst tre mätpunkter per blad. I detta experiment togs endast en provtagning per blad. Möjligtvis kan en mer detaljerad undersökning ge ett säkrare resultat som också kan relateras till mätningar på biomassa.

Utöver biomassa och klorofyllhalt finns det andra parametrar som kan användas för att mäta biostimulering, exempelvis att mäta enzymaktivitet i rotsystemet kan ge en mer heltäckande bild av produktens verkan.

Att undersöka förutsättningar för biostimulanter påverkan på produktivitet i kommersiell sallatsodling är relevant för att möjliggöra kunskapsunderlag för hantering av abiotisk och biotisk stress. Biostimulanter potential att minska resursanvändning av exempelvis gödsel är en del av hållbar odling.

5.1 Slutsats

Denna studie kunde inte påvisa någon signifikant effekt av *B. subtilis* på produktivitet eller kvalitet i sallatsodling under växthusförhållanden. Varken biomassa eller klorofyllhalt påverkades av behandlingen jämfört med kontrollgruppen. Resultatet tyder på att biostimulanten inte gav mätbar effekt under de gynnsamma och relativt stressfria odlingsförhållanden som rådde i försöket.

Flera tidigare studier visar att biostimulanter främst ger positiva resultat under abiotisk stress eller vid näringsbrist, vilket stärker tolkningen att effekterna uteblev på grund av låg stressnivå i denna odlingsmiljö. Det går därför inte att utesluta att produkten kan vara verksamt under andra förhållanden.

För att bättre kunna bedöma biostimulanter effekt i kommersiell odling rekommenderas att framtida studier genomförs med att inledningsvis säkerställa produktens vitalitet med en odling, genomföra jordanalyser för att undersöka förändringar i näringshalt eller enzymhalt, samt att utföra fler provpunkter vid mätning av klorofyll i bladen. Olika inokuleringsmetoder bör också undersökas.

Fler studier bör genomföras då det är relevant att förstå biostimulanter potential att bidra till ökad tillväxt som en del av hållbar odling.

Referenser

- Alori, E.T., Dare, M.O. & Babalola, O.O., 2017. Microbial inoculants for soil quality and plant health. In: E. Lichtfouse, ed. *Sustainable Agriculture Reviews*, vol. 22. Cham: Springer, pp. 279–307. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48006-0_9
- Bini, D., Mattos, B.B., Figueiredo, J.E.F., Dos Santos, F.C., Marriel, I.E., Dos Santos, C.A. & de Oliveira-Paiva, C.A., 2024. Parameter evaluation for developing phosphate-solubilizing *Bacillus* inoculants. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(1), pp. 737–748. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-01182-0>
- Calvo, P., Nelson, L. & Kloepper, J.W., 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383, pp. 3–41. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>
- Etesami, H., Jeong, B.R. & Glick, B.R., 2023. Potential use of *Bacillus spp.* as an effective biostimulant against abiotic stresses in crops—A review. *Current Research in Biotechnology*, 5, 100128. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2023.100128>
- Gauvry, E., Mathot, A.G., Couvert, O., Leguérinel, I. & Coroller, L., 2021. Effects of temperature, pH and water activity on the growth and sporulation abilities of *Bacillus subtilis* BSB1. *International Journal of Food Microbiology*, 337, 108915. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108915>
- Gómez, S. & Gómez, C., 2022. Evaluating the use of biostimulants for indoor hydroponic lettuce production. *HortTechnology*, 32(4), pp. 348–355. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH05045-22>
- Han, R., Truco, M. J., Lavelle, D. O., and Michelmores, R. W. (2021). A composite analysis of flowering time regulation in lettuce. *Front. Plant Sci.* 12:632708. doi: 10.3389/fpls.2021.632708
- Han, S.E., Kim, K.Y. & Maung, C.E.H., 2024. *Bacillus subtilis* PE7-mediated alleviation of phosphate starvation and growth promotion of netted melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud.). *Microorganisms*, 12(12), 2384. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122384>
- Jordbruksverket, 2024. *Trädgårdsodlingens produktion 2024*. [online] Jordbruksverket. Available at: <https://jordbruksverket.se> [Accessed 3 May 2025].
- Kiprotich, K., Muema, E., Wekesa, C. et al., 2025. Unveiling the roles, mechanisms and prospects of soil microbial communities in sustainable agriculture. *Discover Soil*, 2, 10. <https://doi.org/10.1007/s44378-025-00037-4>
- Liu, C., Liu, Y., Lu, Y., Liao, Y., Nie, J., Yuan, X. & Chen, F., 2019. Use of a leaf chlorophyll content index to improve the prediction of above-ground biomass and productivity. *PeerJ*, 6, e6240. <https://doi.org/10.7717/peerj.6240>
- Mahapatra, S., Yadav, R. & Ramakrishna, W., 2022. *Bacillus subtilis* impact on plant growth, soil health and environment: Dr. Jekyll and Mr. Hyde. *Journal of Applied Microbiology*, 132(6), pp. 3543–3562. <https://doi.org/10.1111/jam.15480>

- Moncada, A., Vetrano, F. & Miceli, A., 2020. Alleviation of salt stress by plant growth-promoting bacteria in hydroponic leaf lettuce. *Agronomy*, 10(10), 1523.
<https://doi.org/10.3390/agronomy10101523>
- Wani, S.A., Tantray, Y.A., Jan, I., Singhal, V. & Gupta, R.C., 2020. *Lactuca L.*; world distribution and importance. In: *Vegetables: Volume 1: Asteraceae, Apiaceae, Brassicaceae, and Chenopodiaceae*. Houston: Studium Press, pp. 47–61.

Bilaga 1 Produktblad



DCM VITACT® R

Biostimulant

Identification

What	Biostimulant
Composition	Inoculum of <i>Bacillus</i> and complex carbon chains of vegetable origin Bacteria (<i>Bacillus</i> spp.) 10 ⁹ CFU/g Content of complex carbon chains of vegetable origin: 9%
Form	Liquid



Authorized product, sold on the Belgian market under derogation number EM735.D, marketed in other European countries by application of Regulation (EU) 2019/515 (mutual recognition).

Characteristics

- This biostimulant consists of a combination of a microbial component and a component of organic origin; namely special bacteria strains (*Bacillus* sp.) mixed with specific complex carbon chains of vegetable origin.
- Trials have shown that this unique combination provides the following major benefits:
 - The bacteria (*Bacillus* sp.) colonize the rhizosphere and release the phosphorus present in the soil, which makes it uptakeable for the plant roots.
This will help to obtain:
 - o better root development: strongly branched and longer roots, in open field as well as in organic (potting soils) and mineral (rock wool) substrates;
 - o a higher survival rate when sowing, planting out cuttings, repotting... and improved anchoring.
 - Enhanced stability of the soil aggregates and stimulation of the soil life.
 - The carbon chains in DCM VITACT® R can bind nutrients present in the soil or the substrate. As a consequence, these nutrients become and remain available for the plants and are less susceptible to leaching.
 - Protects the bioactive components against decomposition.
 - A better nutrient uptake (N, P, K + trace elements...) stimulates the aboveground and underground growth and optimizes the health of roots and plants.
 - Stronger plants and improved resistance to external stressors thanks to a more efficient nutrient uptake.
 - Tested on various crops: tuberous and root crops (carrots, potatoes...), lawn ...

Packaging

5 L container (5,30 kg) – 4 containers/carton (= 20 L)

1 L bottle (1,06 kg) – 8 bottles/carton (= 8 L)

Bilaga 2 Fullständiga resultat

1.1 Totalvikt bladmassa

	Bladmassa (g)		
Plantnummer	Grupp 1	Grupp 2	Grupp 3
1	44,443	61,850	62,179
2	50,739	65,059	45,790
3	34,330	73,048	51,001
4	44,070	51,160	77,210
5	41,876	49,557	56,540
6	47,791	38,760	61,609
7	59,926	56,617	43,786
8	58,355	46,430	53,729
9	39,070	34,061	48,971
10	46,878	47,253	50,064

1.2 Totalvikt torr bladmassa

	Torrs substans blad (g)		
Plantnummer	Grupp 1	Grupp 2	Grupp 3
1	3,022	3,941	4,264
2	3,530	4,234	2,830
3	2,307	3,867	3,104
4	2,864	3,423	4,333
5	3,261	2,887	3,638
6	3,016	2,561	3,818
7	3,861	3,292	2,821
8	3,200	2,935	3,607
9	2,504	2,506	2,950
10	3,268	3,408	3,277

1.3 Totalvikt rötter

	Rötter (g)		
Plantnummer	Grupp 1	Grupp 2	Grupp 3
1	21,170	18,378	20,740
2	15,597	22,280	15,521
3	15,899	20,014	18,632

1.4 Totalvikt torkade rötter

	Biomassa rötter (g)		
Plantnummer	Grupp 1	Grupp 2	Grupp 3
1	1,679	1,368	1,730
2	1,267	1,650	1,275
3	1,369	1,759	1,390

1.5 Klorofyllhalt

	Relativ klorofyllhalt (CCI)		
Plantnummer	Grupp 1	Grupp 2	Grupp 3
1	5,6	5,4	3,5
2	6	4,3	4,7
3	5,6	5,8	4,7
4	5,1	6,2	5,6
5	6,4	5,8	4,5
6	3,4	6,7	4,4
7	5,4	3,9	4,6
8	4,7	3,8	5,2
9	6,4	5,5	7,1
10	4,5	4,7	4,5

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

☒ JA, jag, Martin Ornstein Fredlund har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta