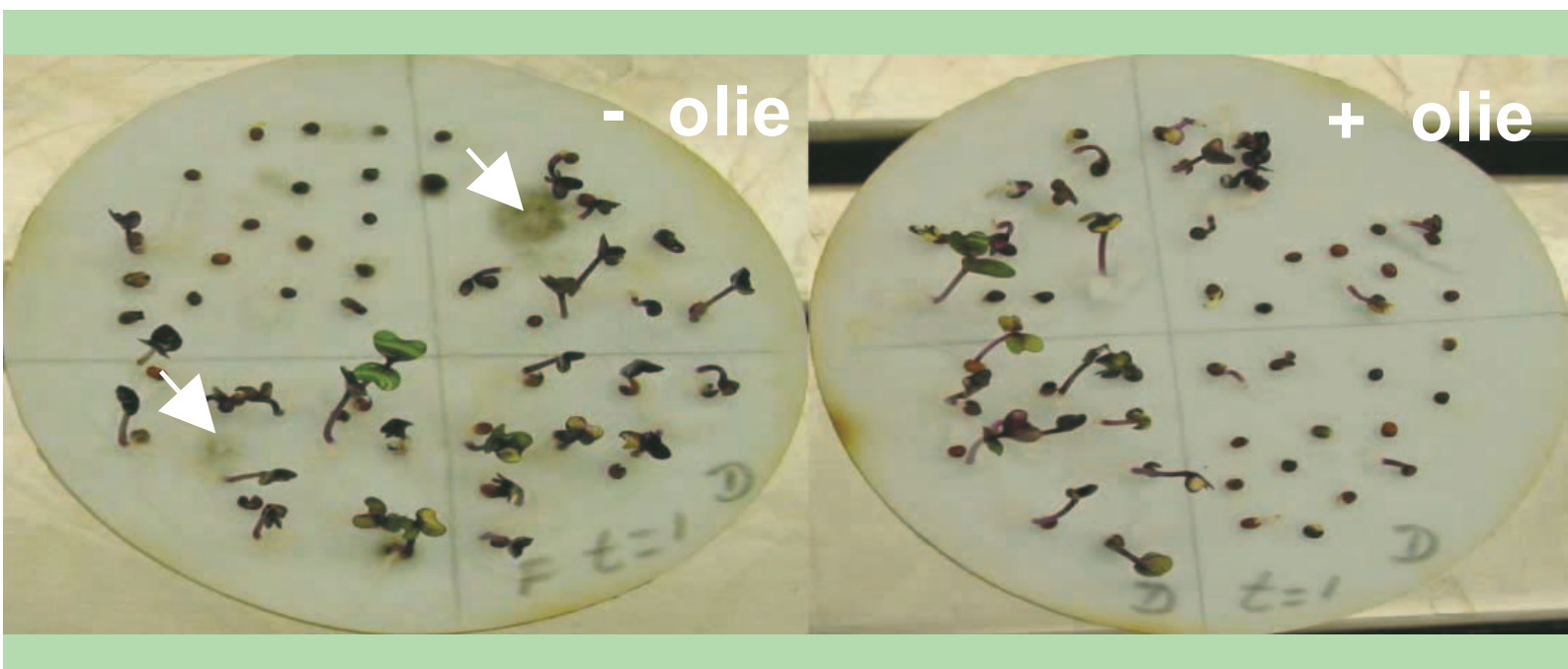


Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad

J.M. van der Wolf



Rapport 67



Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad

J.M. van der Wolf

Plant Research International B.V., Wageningen
februari 2004

Nota 67

© 2004 Wageningen, Plant Research International B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van Plant Research International B.V.

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de auteur worden verkregen.

Plant Research International B.V.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, Wageningen
: Postbus 16, 6700 AA Wageningen
Tel. : 0317 - 47 70 00
Fax : 0317 - 41 80 94
E-mail : postkamer.pri@wur.nl
Internet : <http://www.plant.wur.nl>

Inhoudsopgave

	pagina
Voorwoord	1
Samenvatting	3
1. Doel van deze studie	5
2. Situatieschets	7
3. Toelating en acceptatie van natuurlijke middelen in de biologische landbouw	9
3.1 De bestrijdingsmiddelenwet	9
3.2 Regelgeving binnen de biologische landbouw in Europa	10
3.3 De rol van Skal	11
3.4 Acceptatie door zaadproducenten	12
3.5 Acceptatie door biologische boeren	12
4. Commerciële haalbaarheid van behandelingen met natuurlijke middelen	13
5. Groepen natuurlijke middelen	15
5.1 Ruwe plantenextracten	15
5.2 Etherische oliën	15
5.3 Organische zuren	17
5.4 Antimicrobiële peptiden en eiwitten	18
5.5 Overige producten	18
5.5.1 Melkproducten	18
5.5.2 Fenolzuren	19
5.5.3 Suikers	19
5.5.4 Antibiotica	19
5.5.5 Surfactants	20
5.5.6 Hulpstoffen uitgezonderd van toelating	20
6. Combinaties van middelen en methoden	21
7. Conclusies en discussie	23
8. Literatuur	25
Bijlage 1. Bestrijdingsmiddelen	3 pp.
Bijlage 2. Middelen met de hoogste potentie van toepassing	2 pp.
Bijlage 3. Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen	1 p.
Bijlage 4. Format voor het verzoek om natuurlijke middelen te plaatsen in Bijlage IIB van EEG verordening 2092/91	2 pp.

Voorwoord

Dit rapport is het resultaat van een studie uitgevoerd in opdracht van en betaald door het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (DLO programma 388, 'Gezond en vitaal uitgangsmateriaal voor biologische en andere vormen van duurzame landbouw'). Binnen dit onderzoeksprogramma wordt ook experimenteel onderzoek verricht naar gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong die voor zaadbehandeling ingezet kunnen worden.

Een concept van het rapport werd besproken tijdens een workshop in Wageningen op 29 januari 2004 die door 26 deelnemers, afkomstig uit het beleid, onderzoek en bedrijfsleven, werd bijgewoond. Tijdens de bijeenkomst werd stilgestaan bij de noodzaak van natuurlijke middelen, de beschikbaarheid van effectieve, geaccepteerde middelen, de huidige en toekomstige regelgeving m.b.t. de toelating en het gebruik van middelen, en de organisaties die daarin een rol spelen. Een elektronische versie van het verslag van de workshop is bij de auteur opvraagbaar. Het commentaar op het conceptrapport werd verzameld en verwerkt in deze uiteindelijke versie.

De auteur is zijn collega's Dr. R.W. van den Bulk en Dr. S.P.C. Groot van Plant Research International dankbaar voor het kritische commentaar op de tekst, en voor de organisatie van de workshop die heeft geresulteerd in een aanscherping van de inhoud van dit rapport. Verder is dank verschuldigd aan Mw. W. Reerink (LNV, Den Haag), Ir. C.M.M. van Winden (LNV, Den Haag) en Ir. J.G. Mulder (CTB, Wageningen) voor hun correcties en aanvullingen.



Impressie van de workshop 'Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad' gehouden op 29 januari 2004 in Wageningen.

Samenvatting

Achtergrond en doel van de studie

Vanaf 1 januari 2004 moet volgens EU-regels de biologische landbouw gebruik maken van op biologische wijze geproduceerd zaad. Alleen als voor gewassen en teeltwijzen onvoldoende biologisch zaaizaad beschikbaar is, wordt er onder bepaalde voorwaarden een ontheffing verleend. Er wordt door zaadproducenten intensief gewerkt aan de productie van voldoende gezond uitgangsmateriaal. Mocht uitgangsmateriaal tijdens de productie toch met ziekteverwekkers geïnfecteerd raken, dan is er behoefte aan methoden waarmee zaden effectief ontsmet kunnen worden. Hiervoor komen fysische middelen (bijv. warmwaterbehandelingen), biologische middelen (bijv. antagonisten) en middelen van natuurlijke oorsprong in aanmerking. Voor zaadbehandeling is slechts een zeer beperkt aantal natuurlijke middelen toegestaan. Het gebruik hiervan wordt belemmerd door een gebrek aan informatie over effectiviteit en toediening. Introductie van nieuwe natuurlijke middelen wordt verhinderd door de hoge registratiekosten en de onzekerheid over de regelgeving, die steeds meer door de Europese Commissie wordt bepaald. De bereidheid van de industrie om in natuurlijke middelen te investeren, is dan ook gering. In deze studie worden de mogelijkheden voor ontsmetting van biologisch zaaizaad met natuurlijke middelen geïnterviewd. Hierbij wordt niet alleen aandacht gegeven aan de effectiviteit en de toepasbaarheid van de middelen, maar ook aan de acceptatie door de biologische sector en de registratie van middelen.

Toelating en acceptatie

In EEG verordening 2092/91 is de Europese regelgeving voor de Biologische Productiemethoden vastgelegd. De natuurlijke middelen die volgens deze regelgeving mogen worden toegepast staan vermeldt in Bijlage IIB van deze verordening (www.Skal.nl/Nederlands/PDFjes/pu1b2.pdf, Bijlage 1). Voor gebruik van de middelen moeten deze echter ook op nationaal niveau zijn toegelaten voor de betreffende toepassing. In Nederland geldt hiervoor de Bestrijdingsmiddelenwet, waarover het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen waakt. Sommige natuurlijke middelen zijn voor specifiek gebruik buiten toepassing van de Bestrijdingsmiddelenwet geplaatst. Deze middelen staan vermeld in de 'Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelenwet'. De regelgeving binnen Europa is sterk in beweging, zo wordt in EU-verband gewerkt aan een eenvoudiger toelatingsprocedure voor middelen met een laag risicoprofiel.

Voor de middellange termijn lijken er goede perspectieven te zijn voor toepassing van sommige producten die in de andere lijsten van Bijlage II van de EEG verordening genoemd worden, met name op lijst IIA ('Meststoffen en Bodemverbeteraars'), lijst IIC (Voedermiddelen) en lijst IID (Toevoegingsmiddelen). Verder hebben natuurlijke middelen die binnen de (vee)voedingsindustrie worden gebruikt voor conservering en ontsmetting perspectief. Voor dergelijke middelen bestaan er reeds dossiers waarin de toxicologische risico's in kaart zijn gebracht en ze kunnen naar verwachting zonder hoge (onderzoeks)kosten inzetbaar gemaakt worden binnen de gewasbescherming. Verder zijn er veelbelovende nieuwe natuurlijke middelen geïdentificeerd met sterk anti-microbiële eigenschappen die op de langere termijn perspectieven bieden. Met name die middelen die breed toepasbaar zijn, lijken kansrijk voor toepassing binnen de biologische gewasbescherming.

Natuurlijke middelen

Van de middelen die zowel in Bijlage IIB van EEG verordening 2092/91, als in de 'Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelenwet' staan, lijken de etherische oliën het meest interessant voor zaadontsmetting. Etherische oliën bevatten relatief hoge concentraties anti-microbiële verbindingen, waarmee duurdere zaden tegen een aanvaardbare prijs (behandelingskosten ca. 0.1 - 2 Euro per kg zaad) kunnen worden behandeld. Ze zijn breedwerkend tegen bacteriën en schimmels, weinig persistent en het gevaar van resistentie-ontwikkeling is gering. Met etherische oliën kan het zaad in principe snel en effectief ontsmet worden. Snelheid is belangrijk om een primingseffect met de in water

verdunde middelen tegen te gaan. Potentiële nadelen van sommige van deze oliën zijn fytotoxische effecten en een lage oplosbaarheid in water.

Toevoeging van natuurlijke hulpstoffen, zoals detergentia, emulgatoren en chelatoren, kan de oplosbaarheid en effectiviteit van deze oliën verbeteren. Echter dit verandert de wijze van formulering, waardoor de producten niet meer vallen onder de in de 'Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelenwet' vermelde toepassing, en daarmee wettelijk nog niet zijn toegestaan. Verder zou toepassing in dampvorm interessant kunnen zijn, om dat hierna de zaden niet teruggedroogd hoeven te worden. Ook dit is onder de 'Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen' nog niet toegestaan, maar bij behandeling van zaden in een afgesloten ruimte, waarbij de toepasser niet in aanraking komt met het middel, lijkt een eenvoudige toelatingsprocedure waarschijnlijk.

(Nog) niet geaccepteerde natuurlijke middelen

Voor de korte en middellange-termijn wordt het gebruik van organische zuren kansrijk geacht voor zaadontsmetting. Deze staan in Bijlage II van EEG verordening 2092/91 al vermeld voor gebruik als conserveermiddel en als additief in diervoeders. Organische zuren, zoals mierenzuur, azijnzuur, melkzuur en propionzuur, zijn met name effectief tegen bacteriën. Het werkingsmechanisme is vooral gebaseerd op verlaging van de pH, maar de anionen hebben ook een direct effect op het metabolisme van het micro-organisme. Organische zuren zijn goed in water oplosbaar, weinig persistent en goedkoop. Voor de (vee)voedingssector worden er al verschillende commerciële producten geleverd. Een mogelijk nadeel van het gebruik van deze zuren is schade aan het zaaizaad.

Ook zijn melkproducten mogelijk aanvaardbaar. Deze worden genoemd in Bijlage II bij de meststoffen, maar hebben ook een anti-microbiële werking. Melkeiwitten stimuleren de groei van specifieke bacteriën, waardoor de zuurstofspanning lager wordt en ziekteverwekkers geëlimineerd worden. Verder is bekend dat melkeiwitten virussen kunnen inactiveren door inkapseling.

Tenslotte worden anti-microbiële suikers of suikeranalogen kansrijk geacht, omdat binnen de voedingsindustrie dergelijke middelen binnen de VS reeds een toelating hebben. Verder maakt nisine, een bacteriocine dat in de levensmiddelenindustrie gebruikt wordt en waarvan uitgebreide toxicologische rapporten bestaan, een kans op acceptatie. Nisine wordt op natuurlijke wijze geproduceerd, werkt met name goed tegen Gram-positieve bacteriën, kan goedkoop geproduceerd worden en is weinig persistent.

Combinaties van middelen en methoden

Voor verbetering van de werking van natuurlijke middelen en het tegengaan van een resistentie-opbouw kunnen deze middelen ook in combinatie toegepast worden, met name met stoffen die synergistisch werken, of samen met fysische methoden. Geregistreerde middelen mogen wel na elkaar worden toegepast, maar het combineren van natuurlijke middelen leidt tot een 'nieuwe formulering'. Dit resulteert weer in nieuwe dossiervereisten voor toelating. Combinaties met warmtebehandelingen, die nu al binnen de biologische sector worden toegepast, lijken wel een goede optie. Verwacht wordt dat bijvoorbeeld de toepassing van vluchtige etherische oliën, en ook organische zuren, met een warmtebehandeling de effectiviteit van de behandeling verder kan vergroten en het risico op fytotoxische effecten kan verminderen.

1. Doel van deze studie

In deze studie worden de mogelijkheden voor ontsmetting van biologisch zaaizaad met natuurlijke middelen in kaart gebracht. Hierbij wordt aandacht gegeven aan de toelating van de middelen door de hiervoor verantwoordelijke instanties, de acceptatie van de zaaizaadontsmetting door de biologische sector, de commerciële haalbaarheid van de ontwikkeling, de productie en het gebruik van natuurlijke middelen, en de effectiviteit van de middelen.

In de studie wordt alleen ingegaan op natuurlijke middelen die een direct (toxisch) effect op de ziekteverwekkers hebben en niet op middelen die de afweer van de kiemplant kunnen bevorderen, of op de mogelijke toepassing van levende micro-organismen en virussen als antagonist.

Dit rapport bouwt voort op het project 'Naar gewasbescherming met toekomst', waarin een inventarisatie is gemaakt van 'Gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong' en het project 'GENOEG', in het kader waarvan een inventarisatie van natuurlijke gewasbeschermingsmiddelen voor de glastuinbouw is gemaakt (Dik *et al.*, 2001; www.gewasbescherming.nl/main_thema_genoeg_brochure.html).

2. Situatieschets

Het beleid van de Nederlandse overheid is erop gericht om in 2010 ca. 10% van het landbouwareaal in Nederland te gebruiken voor de productie van biologische landbouwproducten. Ook in andere Europese landen, zoals in de Scandinavische landen en Duitsland, is het overheidsbeleid erop gericht om de biologische sector in de komende jaren sterk te laten groeien. Het succes van de biologische teelt hangt samen met het beschikbaar zijn van kwalitatief goed biologisch uitgangsmateriaal. Vanaf 1 januari 2004 moet volgens EU-regels de biologische landbouw gebruik maken van op biologische wijze geproduceerde landbouwzaden. Niet voor alle gewassen en teeltwijzen zal dan voldoende zaaizaad aanwezig zijn, daarom staat de EU onder bepaalde voorwaarden ontheffing toe, zoals vastgelegd in Verordening (EEG) nr. 1452/2003. Om het ontheffingssysteem zo eenvoudig mogelijk te maken zijn de gewassen in drie categorieën ingedeeld, (1) gewassen waarvoor geen ontheffingen worden afgegeven omdat er voldoende biologisch zaaizaad of pootgoed aanwezig is ('nationale annex', www.biodatabase.nl), (2) gewassen waarvoor ontheffing mogelijk is, omdat er weliswaar biologisch teeltmateriaal aanwezig is, maar niet in voldoende mate voor alle teeltwijzen en (3) gewassen waarvoor een algemene ontheffing wordt gegeven omdat geen biologisch teeltmateriaal beschikbaar is. Vanaf 2004, zal deze informatie gebruikt gaan worden. Er wordt nog gewerkt aan een EU annex ('Communautaire Annex'). Om Nederlandse overheden zicht te laten krijgen op de noodzaak voor ontheffingen wordt voor LNV een databank opgezet door de Naktuinbouw.

Productie van uitgangsmateriaal onder biologische teeltomstandigheden geeft bij een aantal gewassen, met name bij de twee-jarigen, een hoger risico op de aanwezigheid van pathogenen. Daarbij speelt dat er bij de veredeling van de gangbare cultivars weinig gekeken is naar eigenschappen die extra van belang zijn in biologische teelten, zoals ziekte- en plaagresistentie (Lammerts van Bueren *et al.*, 2002). Ondanks het feit dat producenten van biologisch uitgangsmateriaal veel aandacht besteden aan preventieve maatregelen en gebruik maken van het ziektevermogen van het natuurlijk ecosysteem, komen ziektes regelmatig voor. In tegenstelling tot de gangbare zaaizaadproductie, waar pathogenen tijdens de productieperiode in het veld vaak afdoende chemisch kunnen worden bestreden, is het aantal effectieve bestrijdingsmethoden voor de biologische landbouw beperkt. Hierdoor dreigen ziekten die beheersbaar waren terug te keren in de biologische landbouw met als risico's opbrengstderiving, kwaliteitsverlies, een gezondheidsrisico (bij besmetting met toxine-producerende schimmels of humaan en veterinair pathogene micro-organismen) en schade aan het gezonde imago van de biologische landbouw (Groot, 2002). Er is dus vooralsnog een grote behoefte aan behandelingen die de weerbaarheid van het zaad verhogen en aan alternatieve ontsmettingsmethoden die de ziekteverwekker effectief onderdrukken of elimineren, maar die de vitaliteit van zaad, bol of knol niet aantasten. Voor biologische ontsmetting van zaden kan een aantal fysische methoden gebruikt worden, zoals warmte behandelingen, en biologische of natuurlijke middelen, of combinaties hiervan. Chemisch synthetische middelen zijn uitgesloten van gebruik.

De chemische industrie heeft voor het ontwikkelen van synthetisch chemische gewasbeschermingsmiddelen indrukwekkende R&D-afdelingen beschikbaar, waar zeer effectief in relatief korte tijd interessante verbindingen kunnen worden geselecteerd en gekarakteriseerd. Ook is er een groot budget (miljoenen euro's) beschikbaar voor (eco)toxicologische analyses. Het budget voor onderzoek aan natuurlijke middelen bedraagt minder dan één procent hiervan en is sterk versnipperd. Hierdoor is de kans op succesvolle introducties van nieuwe natuurlijke middelen gering. Het onderzoek stopt veelal nadat de effectiviteit op experimenteel niveau bewezen is of het onderzoek richt zich noodgedwongen op (combinaties van) reeds toegelaten natuurlijke middelen. De industrie aarzelt met het registreren van natuurlijke middelen vanwege een onduidelijke regelgeving en omdat de registratiekosten bij kleine toepassingen niet opwegen tegen de baten. Een convenant tussen industrie, telersorganisaties en overheid waarin ontwikkeling van natuurlijke middelen d.m.v. subsidies wordt bevorderd en de registratie en patenteerbaarheid van nieuwe introducties helder zijn geregeld, zal de introductie van nieuwe

middelen en het gebruik hiervan zeker een impuls geven. LNV werkt momenteel aan een subsidie-regeling voor gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong binnen het project 'Genoeg'. Voor het verlenen van subsidies is toestemming vanuit de Europese Commissie nodig. Verwacht wordt dat medio 2004 deze subsidieregeling opengesteld wordt. De projectgroep heeft een selectie gemaakt van vijf natuurlijke middelen, waarvan zij in een pilot de aanvraag begeleidt. De lijst van 5 middelen is niet openbaar, omdat de aanvragen door bedrijven zijn gedaan. De projectgroep inventariseert welke knelpunten optreden bij de registratie van deze middelen en onderzoekt of er ook alternatieve manieren zijn om hindernissen te nemen. GENOEG komt binnenkort met een handleiding voor aspirant-aanvragers.

3. Toelating en acceptatie van natuurlijke middelen in de biologische landbouw

3.1 De bestrijdingsmiddelenwet

De Bestrijdingsmiddelenwet regelt dat een bestrijdingsmiddel alleen gebruikt mag worden als het een toelating heeft. Het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen (CTB) speelt een cruciale rol bij de toelating van middelen voor gewasbescherming. Het CTB is een zelfstandig bestuursorgaan verantwoordelijk voor het nemen van beslissingen over de toelating van bestrijdingsmiddelen. In algemene kaders en toezicht wordt voorzien door de betrokken ministeries (LNV, VWS SZW en VROM). Het College, dat uit onafhankelijke deskundigen bestaat, wordt ondersteund door een Collegesecretariaat, dat beslissingen wetenschappelijk en administratief voorbereidt.

Het CTB beslist over toelating op basis van dossiers waarin de effectiviteit en de toxicologische risico's in kaart zijn gebracht. Het College maakt bij de beoordeling een onderscheid tussen microbiologische en chemische middelen, maar niet tussen middelen van synthetische of natuurlijke oorsprong. Ook zgn. plantversterkers, zoals bijvoorbeeld Rhizopon dat voor beworteling wordt gebruikt, vallen onder de Bestrijdingsmiddelenwet. Een aantal gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong zijn door het CTB toegelaten als bestrijdingsmiddel. Het CTB maakt daarbij onderscheid tussen de volgende categorieën: (1) micro-organismen en virussen; (2) feromonen; (3) plantaardige en dierlijke extracten; en (4) overige werkzame stoffen, zoals bijvoorbeeld mineralen en gassen (<http://www.ctb-wageningen.nl/>). De lijst met toegelaten gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong betreft vooral insecticiden. Voor gebruik als fungicide zijn twee micro-organismen toegestaan (*Coniothyrium minitans* en *Streptomyces griseoviridis*) en een zestal middelen op basis van zwavel als werkzame stof. De toegelaten plantaardige extracten op deze lijst bevatten alleen gewasbeschermingsmiddelen met een insecticide of kiemremmende werking (d-karvon).

Er wordt binnen EU-verband gewerkt aan speciale bepalingen voor feromonen, plantversterkers (hiervoor is reeds een EU-draft guideline opgesteld) en gewasbeschermingsmiddelen van natuurlijke oorsprong. De lidstaten verschillen echter aanzienlijk van mening over de te volgen koers en de ontwikkelingen gaan langzaam. Bij de registratie van nieuwe middelen is samenwerking tussen EU-landen binnen een zgn. 'task force' van groot belang, om te voorkomen dat in individuele landen aparte dossiervereisten nodig zijn. Het CTB verwacht dat het nog wel minimaal vijf jaar zal duren voordat een gezamenlijk beleid op dit punt is geformuleerd.

Hoewel de dossiervereisten voor een biologisch middel iets minder zwaar zijn dan van een chemisch middel, zijn de kosten in beide gevallen, bij afwezigheid van toxicologische gegevens, vele miljoenen Euro's. De dossiervereisten voor een chemisch middel zijn vastgelegd in Annex II en III van EU richtlijn 91/414/EEG. Het dossier moet gegevens bevatten over de werkzaamheid van de stof, de fysische, chemische en biologische eigenschappen, de humane toxicologie en de effecten op het milieu (aan de hand van bioindicatoren). Het dossier wordt aangeleverd voor het geformuleerde middel. Er is een aparte lijst van hulpstoffen die bij de formulering van gewasbeschermingsmiddelen gebruikt mogen worden. Verandering van de formulering is niet zonder meer toegestaan, omdat dit kan resulteren in een veranderd (eco-)toxicologisch risico. De behandeling van een nieuwe aanvraag door het CTB zal bij overhandiging van een compleet dossier ca. 1 jaar duren. Het CTB beschikt over een bereidwillige helpdesk die potentiële aanvragers kan adviseren over de te volgen stappen.

De Bestrijdingsmiddelenwet biedt de mogelijkheid om bepaalde bestrijdingsmiddelen of groepen van bestrijdingsmiddelen buiten toepassing van deze wet te verklaren. Dit is geregeld in de 'Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen' (RUB). Een overzicht van de gewasbeschermingsmiddelen die zijn toegelaten op basis van de RUB zijn als bijlage bij dit rapport gevoegd (Bijlage 3). In de RUB is

expliciet aangegeven welke middelen, onder welke condities, en voor welke toepassing ze uitgezonderd zijn voor de verplichting tot aanvraag van toelating. Alle overige toepassingen van een middel vallen daarmee nog steeds onder de Bestrijdingsmiddelenwet en dus moet voor deze toepassingen een reguliere toelating worden aangevraagd. Van de middelen die zijn opgenomen in de RUB veronderstelt men dat deze een laag risicoprofiel hebben. Men is tot dit oordeel gekomen op basis van een lange ervaringsperiode. Ook gaat men ervan uit dat deze slechts op kleinschalige wijze ingezet worden, zoals bijvoorbeeld door particulieren en binnen de biologische landbouw. Vooral de middelen uit deze lijst zijn potentieel inzetbaar voor biologische zaadontsmetting. Over plaatsing van middelen en hun toepassing op de RUB lijst beslist de minister van LNV. De procedure voor dit laatste loopt via de Plantenziektenkundige Dienst en het CTB adviseert. De middelen worden beoordeeld op toxicologische- en milieu-aspecten. De minister stuurt na acceptatie een formele notificatie naar de Europese Commissie. Het is onduidelijk wat er bij een gezamenlijk Europees beleid met dergelijke middelen gaat gebeuren. Dit temeer omdat op termijn de RUB zal vervallen i.v.m. strijdigheid met de EU-regelgeving (waarin staat dat alles beoordeeld moet worden conform de Uniforme Beginselen). De verwachting is dat de RUB op zal gaan in een speciale EU-verordening, die Europees breed zal gelden.

Op dit moment vinden op EU niveau discussies plaats over een aangepaste procedure voor opname van middelen met een laag risicoprofiel, waaronder middelen die nu reeds in Annex 1 van EU richtlijn 91/414 staan, maar hun toelating dreigen te verliezen, omdat handhaving niet kosteneffectief is. Het gaat hierbij om middelen van plantaardige- of dierlijke oorsprong, welke binnen de EU reeds zijn toegestaan voor gebruik in voedsel of diervoeding of bij bewaring van planten of plantaardige producten. Een deel van dergelijke middelen staan in Nederland op de RUB lijst. Beslissingen over opname of handhaving van middelen in Annex I worden genomen door de European Food Safety Authority (EFSA). Toetsing van de middelen blijft nodig. De middelen met een laag risicoprofiel zullen ook getoetst worden op toxicologische- en milieu-aspecten, maar de dossiers mogen pragmatisch samengesteld worden met verwijzingen naar literatuur of bestaande dossiers (bijv. FDA informatie). Nieuw onderzoek is dan niet altijd nodig zijn. Echter, resultaten van toxicologische studies zijn niet altijd openbaar. Van middelen die in voeding toegepast worden beschikken waarschijnlijk de voedingsmiddelen-industrieën over de benodigde dossiers. Die zijn overigens niet verplicht om die dossiers gratis ter beschikking te stellen. Er is een EU werkgroep (project 'Minor uses') die zich richt op het inventariseren en toegankelijk maken van alle (openbare) bronnen en informatie binnen de EU ter bevordering van het aanvragen van kleine toepassingen waarbij alle landen elkaars resultaten accepteren. Resultaten m.b.t. werkzaamheid en residue-gegevens mogen beperkt geëxtrapoleerd worden. De discussies op EU niveau kunnen echter nog jaren duren; 2008 is mogelijk het jaar van invoering van de lichtere procedure. Tot die tijd blijft de RUB in werking op Nederlands niveau.

3.2 Regelgeving binnen de biologische landbouw in Europa

De toelating van natuurlijke middelen als gewasbeschermingsmiddelen binnen de biologische landbouw wordt op Europees niveau geregeld binnen 'Verordening (EEG) Nr. 2092/91 inzake de biologische productiemethode en aanduiding dienaangaande op landbouwproducten en levensmiddelen'. De verordening bevat een bijlage (IIB), waarin een lijst is opgenomen met de toegelaten gewasbeschermingsmiddelen en hun toepassingsgebieden. Aanvragen voor opname van een middel op Bijlage IIB door Nederlandse belanghebbenden moeten bij voorkeur via Biologica bij LNV ingediend worden. Biologica is de beleids- en promotieorganisatie voor biologische landbouw en voeding. Binnen Biologica wordt bekeken of de biologische sector het gebruik van een bepaald biologisch middel wenselijk en passend binnen de biologische landbouw acht. Er wordt naar gestreefd om de lijst beperkt te houden tot alleen de meest noodzakelijke middelen. Eerst wordt gekeken of er geen alternatieven zijn om via systeembenadering de knelpunten op te lossen. Ook moet worden aangetoond dat een specifieke biologische teelt zonder dit middel echt niet mogelijk is. Voor de beoordeling van middelen zijn binnen Biologica werkgroepen actief, waarvan voor de zaaizaadproductie de werkgroep 'Bedeekte teelten' (glasgroenten en sierteelt) en de werkgroep 'Open teelten' van belang zijn. Een middel dat men

wil registreren moet eerst de steun krijgen van deze werkgroepen. Indien dit zo is, kan zij dit aan het Ministerie van LNV voorleggen. LNV zal verzoeken die bij haar binnenkomen voor opname van stoffen op Bijlage IIB voor (niet bindend) advies aan de Werkgroep Wetgeving voorleggen. In deze werkgroep zijn vertegenwoordigd: Biologica, EC-LNV, het Hoofdproductschap Akkerbouw, LNV, LTO Nederland, Skal en de Vereniging Biologische Productie- en Handelsbedrijven. Uiteindelijk beslist LNV of een biologisch middel bij de Europese Commissie wordt aangemeld voor opname op Bijlage IIB. Dit gebeurt m.b.v. een formulier dat in Bijlage 4 van dit rapport is weergegeven. De Commissie beslist of en wanneer het verzoek ter besluitvorming aan het Permanent Comité Biologische Landbouw voorgelegd wordt. Indien de Commissie hiertoe besluit, stemmen de lidstaten over het al dan niet opnemen van de stof op Bijlage IIB.

Er zijn slechts enkele middelen en toepassingsgebieden die op Bijlage IIB staan en tevens vallen onder de RUB. In andere Europese landen zijn andere middelen uitgezonderd. Hierdoor komt het voor dat biologisch zaaizaad in een ander Europees land wordt behandeld met een natuurlijk middel dat wel op Bijlage IIB staat, maar in Nederland verboden is. Een Europese regeling is derhalve zeer gewenst.

3.3 De rol van Skal

De nationale overheden van de EU-lidstaten zijn verantwoordelijk voor het toezicht op de naleving van de wetgeving voor de biologische productie. Elke lidstaat bepaalt zelf hoe zij hier uitvoering aan geeft. De overheid kan het toezicht zelf uitoefenen of één of meerdere particuliere controleorganisaties daartoe aanwijzen of daartoe toestemming geven. Deze organisaties moeten dan wel aan de door de EU gestelde eisen voldoen. De EU-verordening bevat een overzicht met alle erkende controle-organisaties in de EU-lidstaten. Ook in landen buiten de EU zijn diverse controle-organisaties actief. Het ministerie van LNV (Laser) bepaalt of deze organisaties voldoen aan de eisen die de EU stelt bij import van biologische producten.

In Nederland is Skal door het ministerie van LNV aangewezen als toezichthouder op de biologische productie in Nederland. Skal houdt toezicht door middel van inspectie en certificatie. Ze heeft daarbij ook de opdracht om de ondernemers te informeren over de regelgeving. Dat gebeurt o.a. via informatiebladen en via een periodiek bulletin (Skal Actueel). Skal controleert ook of gewasbeschermingsmiddelen in de biologische landbouw gebruikt mogen worden. Een lijst van middelen die nu binnen de biologische landbouw gebruikt mogen worden, staat vermeld op de website van Skal www.Skal.nl/Nederlands/PDFjes/pu1b2.pdf. Dit document bevat de Nederlandstalige tekst van Bijlage II van de EU verordening 2092/91 inzake biologische productiemethoden. Die bijlage vermeldt de vanuit verordening 2092/91 toegestane meststoffen, gewasbeschermingsproducten (Bijlage 1) en overige middelen voor biologische productie. Hoewel niet expliciet gemeld op de Skal website, geldt als restrictie hierbij dat het middel ook toegelaten moet zijn in het land waar men het wil gebruiken. Deze verordening regelt dus niet de toelating van de middelen voor de biologische landbouw, maar geeft in feite slechts een lijstje van potentiële middelen. Zonder toelating van het middel en de condities van toepassing, mogen deze middelen niet gebruikt worden. Zo staat lecithine in EEG verordening 2092/91, Bijlage II, met gebruiksvoorwaarde fungicide, maar het CTB staat dit middel alleen toe voor het afweren van insecten. Het middel mag daarom in Nederland niet in de biologische productie gebruikt worden om schimmels te bestrijden. Skal controleert bij aanvraag alleen of het middel op deze lijst staat. Is een middel door het CTB toegelaten, maar valt deze buiten de lijst (Bijlage IIB) dan wordt door Stichting Skal dit middel afgekeurd en mag het niet gebruikt worden in de biologische landbouw.

In de toekomst wordt volgens Skal de aanvraag voor gebruik van gewasbeschermingsmiddelen voor biologische productie mogelijk beoordeeld worden door een EU-commissie, maar nationale organisaties als Skal houden een eigen verantwoordelijkheid waar het de invulling van de regeling betreft (Westerdijk, Skal, persoonlijke mededeling). Daarbij wordt ook gecontroleerd of het gebruik van het kandidaat-middel toegestaan is volgens de Warenwet. De Warenwet is nationaal geregeld. Het is dus

mogelijk dat er in Bijlage IIB middelen staan vermeld die door de Europese Commissie zijn goedgekeurd, maar in Nederland volgens de Warenwet niet zijn toegelaten.

3.4 Acceptatie door zaadproducenten

Voor de productie van biologische zaad worden nu al fysische methoden, zoals warmwaterbehandelingen, toegepast. Zaadproducenten lijken geen bezwaar te hebben tegen het gebruik van natuurlijke en biologische middelen voor zaadbehandeling. Bij navraag bleek dat de meeste producenten van biologisch zaad, door de sector aanvaardbare zaadontsmettingsmethode zullen toepassen, mits het middel effectief is en reproduceerbaar de zaadgezondheid bevordert, de kiemkracht niet aantast en kosteneffectief is. Uiteraard zijn de zaadproducenten weer afhankelijk van de acceptatie van de behandeling door de EU en de nationale regelgevingen.

3.5 Acceptatie door biologische boeren

Uit een enquête die recentelijk onder 21 prei- en kooltelers is gehouden, bleek dat ca. 25% nooit, 50% slechts bij (hoge) uitzondering en ca. 25% wanneer wenselijk natuurlijke en biologische middelen zal inzetten voor beheersing van ziekten en plagen (Meekes & Den Belder, 2003). Een groot deel van deze telers achtte de inzet van deze middelen strijdig met de biologische gedachte. Verder werd genoemd het gevaar voor het imago ('een spuitende biologische boer') en het gebrek aan vertrouwen in de effectiviteit van de middelen. Deze uitkomst is onafhankelijk van het bedrijfstype (BD of EKO) en van de afzetkanalen, en slechts in geringe mate afhankelijk van de bedrijfsgrootte. Er zal daarom aandacht besteed moeten worden aan de vraag of telers behandeld zaad zullen accepteren. Ook moet er rekening gehouden worden met een beperkte afzet van deze middelen in de biologische landbouw, namelijk als laatste redmiddel. Overigens zijn deze middelen ook gewenst voor toepassing in de gangbare landbouw, die geconfronteerd wordt met een steeds kleiner scala aan toegestane producten.

De zaadbehandeling zal voornamelijk door de zaadproducenten en niet of weinig door de telers zelf worden toegepast. Bij zaadbehandeling staat derhalve het imagogevaar minder op het spel, omdat de consument de behandeling niet ziet. Verder is een potentieel negatief effect van een zaadbehandeling op plant en omgeving veel minder groot dan bij het gebruik van natuurlijke middelen voor gewasbespuitingen, wat mogelijk de acceptatie zal verhogen. Er is ook een groeiend besef dat voor de korte tot middellange termijn dit soort middelen als laatste redmiddel nodig zijn, omdat biologische rassen en teeltmaatregelen nog onvoldoende ontwikkeld zijn om ziekteproblemen te kunnen beheersen. Verwacht mag worden dat het gebruik van schoon uitgangsmateriaal de risico's op calamiteiten zal reduceren en de noodzaak van maatregelen als gewasbespuiting met natuurlijke of biologische middelen verder zal verkleinen. Wel moet vastgesteld worden dat de kennis over de rol van micro-organismen in en op zaden bij plantontwikkeling en plantgezondheid zeer gering is. Veel natuurlijke middelen hebben een brede werking en doden niet alleen de ziekteverwekkers, maar ook saprofytische micro-organismen. Mogelijk dat de weerbaarheid van kiemplanten uit ontsmette zaden hierdoor negatief beïnvloed wordt. Deze weerbaarheid kan na behandeling misschien verbeterd worden door het steriele zaadoppervlak microbiel te bufferen met antagonisten en micro-organismen die de groei van de plant kunnen bevorderen. Hierbij kan ook gedacht worden aan bacteriën die het vaatsysteem van wortel of bovengrondse delen van de plant koloniseren (endofyten). Een voorbeeld hiervan is Cedemon, een preparaat met de bacterie *Pseudomonas chlororaphis* dat in Zweden na ontsmetting van tarwezaad wordt toegepast.

4. Commerciële haalbaarheid van behandelingen met natuurlijke middelen

Bij acceptatie van natuurlijke middelen door de biologische sector en een ontheffing van het CTB zou de introductie van natuurlijke middelen voor zaadbehandeling weinig commerciële belemmeringen hoeven te kennen. Zeker niet als middelen reeds verkrijgbaar zijn vanwege andere toepassingen. Voorbeelden hiervan zijn etherische oliën (zie 5.2), organische zuren (zie 5.3) en melkproducten (zie 5.5.1) die voor conservering van levensmiddelen en in de veevoederindustrie gebruikt worden en waarvan een voortdurende toevoer en kwaliteitsbewaking gegarandeerd is.

Voor het vermarkten van nieuwe natuurlijke- en biologische middelen zijn er reeds verschillende firma's in Nederland actief, zoals Koppert B.V. en Certis Europe. De infrastructuur voor commerciële productie van geselecteerde middelen is derhalve aanwezig. Natuurlijke middelen kunnen alleen kosten-effectief geproduceerd worden als de totale kosten van registratie, transport, opslag, verpakken, marketing, etc., opwegen tegen de baten. Dit kan alleen verwacht worden wanneer er voldoende omzet is. Verder is de mogelijkheid van (wettelijke) bescherming van middelen of protocollen via geheimhouding of patenten in veel gevallen een belangrijke voorwaarde bij de (verdere) ontwikkeling en productie van nieuwe middelen. Over registratiekosten is in paragraaf 3.1 uitvoeriger geschreven. Commercialisering zal gemakkelijker gaan als de middelen toegepast kunnen worden op zaden die in bulk worden geproduceerd, wanneer de natuurlijke middelen ook in de gangbare landbouw afzet vinden, en/of niet alleen toegepast kunnen worden op zaden, maar ook op andere plantendelen of voedingsproducten.

Het bedrijfsleven ervaart de grote tegenstellingen in regelgeving tussen verschillende landen binnen Europa, maar ook bijvoorbeeld tussen Noord-Amerika en Nederland als zeer hinderlijk. Zo mag in verschillende EU landen het middel *Trichoderma T-22* wél op de markt gebracht worden, maar niet in Nederland. Voor een commerciële haalbaarheid van zaadbehandelingen is een uniformering van de regelgeving (mondiaal) essentieel.

Graanzaden zijn relatief goedkope bulkproducten. Toepassing van natuurlijke middelen op graanzaden zal snel te kostbaar zijn. Bij behandeling met waterige middelen moeten zaden teruggedroogd worden. Voor graanzaden is terugdrogen kostbaar. Groentezaden kunnen wel kosteneffectief teruggedroogd worden, maar de behandelingsduur met waterige middelen mag bij voorkeur de 30 minuten niet overschrijden om een 'primings' effect te voorkomen. De middelen die geselecteerd worden moeten derhalve een snelle werking hebben.

De kans op toepassing van natuurlijke middelen in de gangbare landbouw lijkt vooralsnog klein, omdat de extractie vanuit ruw microbiel, plantaardig of dierlijk materiaal in de regel duurder zal zijn dan de productiekosten van synthetische middelen. Wellicht zal een verbod op (breed werkende) pesticiden het gebruik van natuurlijke middelen in de gangbare landbouw wat dichterbij brengen.

Er bestaat wel een reële kans dat er natuurlijke middelen op de markt komen die een brede toepassing kennen. Zo zijn er nu al etherische oliën geselecteerd die niet alleen voor behandeling van zaden toepasbaar lijken, maar ook voor de behandeling van bovengrondse plantendelen (L. Stevens, Plant Research International, persoonlijke mededeling). Dezelfde oliën worden ook al toegepast als 'natuurlijk antibioticum' in de veevoer- en voedingsindustrie (Van Krimpen, PVE, Lelystad, persoonlijke mededeling). De kosten van het middel zullen, afhankelijk van de gebruikte olie en formulering, variëren tussen de 0,10 en 2,00 Euro per kg zaad.

Geconcludeerd kan worden dat er, in verband met commerciële haalbaarheid, bij de selectie van natuurlijke middelen gekeken moet worden naar middelen op de RUB-lijst van het CTB, en naar middelen die door EEG verordening 2092/91 zijn toegelaten en breed in de (biologische) landbouw en voedingsindustrie ingezet kunnen worden.

5. Groepen natuurlijke middelen

5.1 Ruwe plantenextracten

Binnen de biologische landbouw mogen volgens Bijlage IIB van EEG-verordening 2092/91 alleen ruwe extracten (waterige oplossingen) van tabak gebruikt worden. Echter, tabaksextracten staan niet op de RUB lijst van het CTB. Daar staan wel knoflook, soja en of ui-extracten genoemd voor aangieten of dompelen, maar deze middelen staan weer niet in Bijlage IIB. Dit betekent dat er op dit moment voor geen enkel ruw extract een officiële toelating is voor ontsmetting van biologisch zaad.

In de VS is het middel Citrex ontwikkeld, een afvalproduct uit de citrusverwerkende industrie, waaraan organische zuren zijn toegevoegd. Citrex stimuleert de natuurlijke afweer van de plant, maar heeft ook een direct remmend effect op bacteriën en schimmels. Het middel is effectief gebleken bij veldbespuitingen tegen *Phytophthora* in aardappel en dompelbehandelingen van tulpenbollen tegen *Fusarium*, maar niet tegen *Botrytis*. Het middel blijkt ook effectief tegen verschillende zaadovergaande bacteriën en schimmels (Van der Wolf, niet gepubliceerd). In Nederland is er nog geen toelating.

Ruwe (aceton) extracten van de composiet *Inula viscosa* (0,4%) hebben een sterk effect tegen *Plasmopora viticola* op druif en *Botrytis cinerea* op tomaat (Cohen, Ramat-Gan, Israël niet gepubliceerd). De actieve component is nog niet geïdentificeerd. Een Israëlisch bedrijf heeft interesse getoond voor het op de markt brengen (en de registratie) van het product. Het preparaat is binnen de EU (nog) niet toegelaten voor gebruik binnen de biologische landbouw.

Ook ruwe (methanol) extracten van bladeren en zaden van *Warburgia ugandensis*, *Azadirachta indica* (neem), *Tagetes minuta* (Mexicaans afrikaantje), maar niet van *Urtica massaiica* (brandnetel), waren in een plaat-assay actief tegen *Fusarium oxysporum* and *Alternaria passiflorae* in minder dan 1 mg extract (<http://www.epa.gov/ozone/mbr/airc/2000/69ndalut.pdf>). De anti-microbiële werking van sommige van deze extracten is gebaseerd op de aanwezigheid van terpenen (zie 5.2).

5.2 Etherische oliën

De anti-microbiële eigenschappen van veel planten geëxtraheerd d.m.v. stoom en methanol zijn gebaseerd op de aanwezigheid van etherische oliën. Etherische oliën zijn sterk geurende plantenextracten, die een mengsel van specifieke secundaire metabolieten (terpenen) bevatten, die vluchtig zijn. Etherische oliën zijn zeer interessante kandidaten voor zaadbehandeling, omdat in de Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen van het CTB vermeld staat dat deze zijn toegestaan bij dompelen en aangieten van plant en plantproduct. Dit geldt alleen voor de etherische oliën die toegelaten zijn via het Warenwetbesluit 'aroma's'. Het gaat hier dus om oliën van kruiden die in de voedingsindustrie worden gebruikt. Plantaardige oliën staan ook in de Bijlage IIB van EEG richtlijn 2092/91 genoemd voor gebruik als insecticide, acaricide, fungicide en kiemvertragend middel, waarbij als voorbeelden muntolie en karwij-olie worden gegeven. Verder worden sommige van de oliën ook als antimicrobieel middel gebruikt in de medische en levensmiddelensector. Zo wordt tijmolie door de US Food and Drug Administration (FDA) beschreven als 'generally recognized as safe (GRAS) component' (<http://vm.cfsan.fda.gov/%7Edms/eafus.html>). De oliën zijn via een goedkope (hydro)destillatie eenvoudig te produceren uit het ruwe plantenmateriaal. De lage kosten die samenhangen met registratie en productie maken de kans op commercialisering van etherische oliën voor gewasbescherming relatief groot. De middelen zijn door hun vluchtigheid weinig persistent en makkelijk afbreekbaar door (micro) organismen, waardoor de kans op residuen en accumulatie van actieve componenten in het milieu laag is.

Etherische oliën grijpen aan op verschillende levensfuncties van het micro-organisme, waardoor de kans op resistentieontwikkeling tegen deze groep van middelen relatief laag is (Ohno *et al.*, 2003). Zo wordt de celwand van micro-organismen permeabel gemaakt en de ademhaling geremd (Walsh *et al.*, 2003). Hierdoor is ook bijvoorbeeld de MRSA (Multiple Resistant *Staphylococcus aureus*) bacterie gevoelig voor relatieve lage concentraties tea tree oil (0,25%) (Carson, Perth, unpublished results). Deze multi-target middelen zijn in het algemeen weinig selectief, hoewel schimmels en bacteriën wel sterk kunnen verschillen in gevoeligheid en terpenen ook verschillen in effectiviteit tegen Gram-positieve en -negatieve bacteriën (Abram *et al.*, 2002). Door de weinig selectieve werking worden niet alleen de ziekteverwekkers geëlimineerd, maar ook veel van de micro-organismen op en deels in het zaad. Onduidelijk is of deze achtergrondmicroflora een belangrijke rol speelt bij de weerbaarheid van het kiemende zaad of de gezondheid en groei van (kiem)planten.

Etherische oliën kunnen wel fytotoxisch zijn, zodat een juiste dosering essentieel is (Mucciarelli *et al.*, 2001). Carvon, een etherische olie dat uit karwei geëxtraheerd wordt, is een bekend middel dat de spruitvorming bij aardappelen tegen gaat. Ook van tijmolie is bekend dat dit in hoge dosering de kiemkracht remt. Bij een optimale toediening van de oliën kon de kieming van rijstzaad juist gestimuleerd worden (Leth, 2002). Soms is de fytotoxiciteit selectief voor bepaalde gewassen. Zo werd kiemkracht van de zaden van struisgras (*Agrostis palustris*) wel, maar van slazaad niet beïnvloed (Kobaisy *et al.*, 2002). Dit maakt in potentie het gebruik van etherische oliën als herbicide ook mogelijk (Mucciarelli *et al.*, 2001).

Een ander (potentieel) nadeel van etherische oliën is de lage oplosbaarheid in water, waardoor voor applicatie een formulering noodzakelijk is. De geaccepteerde hulpstoffen zijn veelal synthetisch en derhalve niet aanvaardbaar voor de biologische landbouw. Voor nieuwe, natuurlijke hulpstoffen voor het formuleren van hydrofobe actieve stoffen is een kostbare registratie noodzakelijk. Bovendien leidt formulering tot nieuwe dossiereisen. Dit kan een knelpunt gaan vormen bij het toepassen van oliën.

Voor een betrouwbare toepassing van het middel moet ook de kwaliteit gegarandeerd kunnen worden. Omdat de samenstelling van de terpeenmengsels in de etherische oliën van batch tot batch kan variëren, vereist de teelt en destillatie bijzondere aandacht. Zo is bijv. de compositie van terpenen afhankelijk van de genetische variatie in de populatie van de plantensoort (Ngassapa *et al.*, 2003), de nutriëntensamenstelling tijdens de groei van de plant (Economakis *et al.*, 2002) en de droogprocedures (Di Cesare *et al.*, 2003). Verwacht mag worden dat de plantaardige oliën op biologische wijze geproduceerd dienen te worden!

In onderzoek uitgevoerd binnen Plant Research International bleken van de ca. 30 getoetste etherische oliën, tijmolie, oregano-olie, pepermuntolie en kruidnagelolie het meest effectief te zijn tegen twee belangrijke zaadovergaande bacteriën: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Gram-positief) en *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Gram-negatief). Tijmolie en kruidnagelolie bleken ook effectief tegen diverse zaadovergaande schimmels, zoals *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnose) and *Alternaria solani* (stem canker) in tomatenzaden. Ook in veel andere studies werden deze oliën, wanneer geëmulgeerd in waterige oplosmiddelen, beschreven als de (meest) actieve etherische oliën tegen een scala aan schadelijke bacteriën en schimmels in de fytopathologie en in de medische, veterinaire en levensmiddelensector (Kritzinger *et al.*, 2002; Ranasinghe *et al.*, 2002; Pradhanang *et al.*, 2003; Fabio *et al.*, 2003; Leuschner & Ielsch, 2003; Harpaz *et al.*, 2003; Friedman *et al.*, 2002; Soliman & Badaea, 2002). In de studie van Kritzinger *et al.* (2002) werd een remmend effect van beide oliën gevonden op de bewaarschimmels *Fusarium oxysporum* en *Penicillium chrysogenum* en van tijmolie ook op *Fusarium equiseti*. De behandeling van de besmette zaden met 1 g per kg had een positief effect op de kiemkracht van het zaad.

Een alternatief voor tijmolie is de olie van de Ajowan zaden (*Trachyspermum ammi*). Deze vermalen zaden wordt wel als goedkoop substituut voor thijm gebruikt in de keuken en bevatten net als thijm een hoog percentage thymol. Ajowan-olie bleek *in vitro* actief te zijn tegen *Alternaria*, *Aspergillus*,

Cladosporium, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Heminthosporium* en *Penicillium* (Shukla *et al.*, 2002). De olie had in de geteste concentratie geen negatief effect op de zaadkieming, hoewel thymol bekend staat als een germicide. Toepassing in een concentratie van 10% (v/v) voorkwam verwelkingsziekte bij kikkererwt.

Andere mogelijke interessante kandidaten voor zaadbehandeling zijn mosterdolie, oregano-olie en basilicumolie. Mosterdolie bevat een hoog percentage isothiocyanaten en thiocyanaten, multitarget middelen met een effect op de zuurstofopname en eiwitconformatie, waardoor intracellulaire enzymen worden geïnactiveerd (Delaquis & Mazza, 1995). De effectiviteit van mosterdolie is al vastgesteld voor remming van humaanpathogenen op vlees (Lemay *et al.*, 2002).

Etherische oliën kunnen, omdat deze vluchtig zijn, ook in dampvorm worden toegepast. Dit heeft als potentiële voordelen dat zaden niet hoeven worden teruggedroogd en de kosten relatief laag kunnen zijn. Met name kleinere terpenen van mosterd en citroengras bleken in dampvorm effectief tegen roggenbrood-bedervende schimmels. Oliën die volgens het Warenwetbesluit 'aroma's' toegepast mogen worden in levensmiddelen, zoals bijvoorbeeld tijmolie, staan in de RUB voor toepassing van dompelen en aangieten van planten(delen) en kunnen dus in Nederland voor behandeling van zaden gebruikt worden. Wel geldt hier dat de oliën sec gebruikt moeten worden en niet gemengd mogen worden. Er mag momenteel niet met damp gewerkt worden, omdat deze wijze van toepassing niet benoemd is. Hier stuit een interessante mogelijkheid direct op de juridische beperkingen. Toelating van etherische oliën in dampvorm voor behandeling van zaaizaad, zal waarschijnlijk niet al te ingewikkeld hoeven te zijn, zolang de behandelaar maar zelf niet in contact komt met de actieve stof (opmerking van Ir. J.G. Mulder, CTB, tijdens de workshop 'Natuurlijke middelen voor ontsmetting van biologisch zaad' op 29 januari 2004).

5.3 Organische zuren

De organische zuren mierenzuur, azijnzuur, melkzuur en propionzuur zijn in Bijlage II van de EEG verordening 2092/91 genoemd als conserveermiddel voor veevoeder. Organische zuren en derivaten van organische zuren worden in de (vee)voedingsindustrie al veel gebruikt voor het remmen van schimmel- en bacteriegroei, ook met het oog op de productie van mycotoxinen (Bloukas *et al.*, 1997). Organische zuren, zoals azijnzuur, melkzuur, citroenzuur en propionzuur, zijn goedkoop, gemakkelijk afbreekbaar en goed in water oplosbaar. De werking is gedeeltelijk gebaseerd op een pH-effect en gedeeltelijk op een nog niet begrepen directe anti-microbiële werking. De activiteit is sterk pH-afhankelijk. De pH-verlaging, waardoor mogelijk beschadiging van het zaad kan ontstaan, is een potentieel nadeel van gebruik van organische zuren, zeker omdat relatief hoge concentraties (naar verwachting ca. 5%) moeten worden gebruikt. Een combinatie van organische zuren met andere natuurlijke middelen, waarmee een synergistisch effect kan worden verkregen, ligt voor de hand.

De firma Purac Biochem levert geregistreerde producten van (gederivatiseerde) melkzuurverbindingen voor o.a. conservering van plantaardige en dierlijke producten. Melkzuur bleek effectief tegen diverse bacteriën die verantwoordelijk zijn voor voedselbederf en humane en veterinaire ziekten. Combinatie van melkzuur met azijnzuur, dat met name actief is tegen schimmels en gisten, levert een synergistisch effect op. Verder levert Purac derivaten van natuurlijk (L+) melkzuur, bestaande uit natrium- of kaliumlactaat. Deze producten zijn pH-neutraal en hebben ook een antibacteriële werking. Deze producten zijn bacteriostatisch en niet bactericide. Mogelijk dat dergelijke derivaten minder fytotoxisch zijn dan de zuren en ook gemakkelijker te combineren met andere natuurlijke middelen.

De firma Franklin Products International BV levert het geregistreerde product FRA[□] Mould, dat een combinatie van propionzuur, sorbinezuur en citroenzuur bevat en dat werkt tegen *Fusarium* schimmels in granen.

Salicylzuur, dat uit de bast van de wilg kan worden gewonnen, is een ander organisch zuur met schimmelremmende eigenschappen. De effectiviteit hiervan is reeds aangetoond voor *Entypha lata*, een pathogeen van de druif (Amborabe *et al.*, 2002)

Azijnzuur en melkzuur mogen in Nederland alleen gebruikt worden voor zaadontsmetting indien deze middelen een reguliere toelating hebben of toepassing alsnog geplaatst wordt op de RUB (of vergelijkbare EU-lijst in de toekomst). Gezien het karakter van azijnzuur is het goed voorstelbaar dat volstaan kan worden met een 'beperkt' dossier en veel vragen middels statements of argumentaties beantwoord kunnen worden. Melkzuur is in de RUB-lijst alleen uitgezonderd voor toepassing als varroamijtbestrijdingsmiddel in bijenvolken.

5.4 Anti-microbiële peptiden en eiwitten

Er zijn ook talloze eiwitten uit diverse organismen geïsoleerd en gekarakteriseerd met een sterk antimicrobiologische werking. Van al deze eiwitten is op dit moment nisine het meest veelbelovend voor zaadbehandeling. Nisine is een bacteriocine dat door de bacterie *Lactococcus lactis* wordt geproduceerd. Nisine behoort tot de GRAS-componenten en wordt toegepast voor het conserveren van voedingsmiddelen, met name vlees. Nisine staat echter niet op de RUB-lijst van het CTB. Uit onderzoek in de levensmiddelensector is gevonden dat nisine met name Gram-positieve bacteriën onderdrukt. Onderzoek binnen Plant Research International liet inderdaad zien dat de groei van de Gram-positieve bacterie *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, die bacteriekanker in tomaat veroorzaakt, wordt geremd, maar niet de Gram-negatieve bacterie *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Gram-negatieve bacteriën worden alleen geremd wanneer de celwand permeabel wordt gemaakt. Dit kan bijvoorbeeld door het toevoegen van een chelator en/of een detergent. De werking van nisine is wel sterk pH-afhankelijk. Verder is nisine gevoelig voor proteolyse. Tenslotte kan tegen deze 'single-site' component resistentie optreden. Het is dus aan te bevelen nisine te combineren of af te wisselen met andere behandelingsmethoden om risico op resistentievorming te verminderen.

Er zijn naast nisine andere veelbelovende peptiden en eiwitten geïsoleerd en gekarakteriseerd, waarvan verwacht mag worden dat deze op middellange termijn ook in Europa in de gewasbescherming gebruikt kunnen worden. Gedacht wordt aan thionine, een eiwit geproduceerd in de plant *Vitex negundo*, en eiwitten geproduceerd door *Lyophyllum shimeji*, een mycorrhiza-schimmel. Beide stoffen kunnen tegen lage kosten op grote schaal worden geproduceerd en zijn gepatenteerd.

5.5 Overige producten

5.5.1 Melkproducten

Van verschillende melkproducten is reeds een anti-microbiële werking aangetoond. Deze producten zijn interessant, omdat deze volgens Bijlage II (EEG verordening 2092/91) toegepast mogen worden als meststof. Magere melkpoeder en ook ondermelk zijn al getoetst voor beheersing van *Tilletia laevis* en *T. tritici* op tarwezaad (El-Naimi *et al.*, 2000). Behandeling met 160 g melkproduct (verdund in 100 ml water) leverde een reductie van steenbrand met een percentage van meer dan 90% en was even effectief als thiram. Het effect van deze middelen werd verklaard uit een stimulering van het antagonisme in de grond. Verder is van melkeiwitten bekend dat deze virusdeeltjes kunnen inactiveren door encapsulatie.

Microgard™ 100, een gefermenteerd en gepasteuriseerd product van melk dat verschillende anti-microbiële stoffen bevat, zoals azijnzuur, propionzuur en een 'eiwit-achtige' remmer (Boudreaux *et al.*, 1988) is relatief effectief tegen Gram-negatieve, maar niet tegen Gram-positieve bacteriën. Een combinatie met nisine, dat vooral Gram-positieve bacteriën remt, ligt voor de hand. Microgard™ is wel in de levensmiddelenindustrie, maar niet als gewasbeschermingsmiddel toegelaten. Omdat de vereiste

dossiers voor registratie aanwezig zijn, lijkt - bij een (kosten)effectief gebruik voor zaadbehandeling - een toelating op de middellange termijn te verwezenlijken.

DMV International maakt op commerciële basis een antibacterieel product uit melk, dat gebaseerd is op het lactoperoxidase-systeem. Het enzym is zelf niet antimicrobieel, maar zet met behulp van H₂O₂, SCN⁻ om in hypothiocynaat, dat functionele sulfhydryl-groepen van vitale microbiële enzymen oxideert en daarmee inactieveert. SCN⁻ is in het algemeen van nature al aanwezig in dierlijk weefsel en toevoeging van het lactoperoxidase is dan vaak al voldoende voor een effect. H₂O₂ kan in het systeem gebracht worden door toevoeging van catalase-negatieve melkzuurbacteriën. Lactoperoxidase is stabiel en ongevoelig voor hitte en pH. Het systeem is in de levensmiddelensector geaccepteerd, maar staat niet op de RUB-lijst.

DMV International heeft ook lactoferrine op de markt gebracht, een eiwit dat o.a. uit melk kan worden geïsoleerd. Lactoferrine is een bactericide en viricide en werkt direct via binding aan membranen en indirect via binding aan ijzer. Voor een bacteriedodend effect moeten relatief hoge concentraties van het lactoferrine worden toegevoegd (ca. 2 g/l).

5.5.2 Fenolzuren

Fenolzuren zijn secundaire metabolieten van planten en hebben sterke anti-microbiële eigenschappen. Voorbeelden zijn caffeic acid en chlorogenic acid (Wen *et al.*, 2003). De anti-microbiële eigenschappen zijn sterk pH-afhankelijk. Er is geen toelating voor deze middelen.

5.5.3 Suikers

Sommige suiker-analogen hebben een negatief effect op de groei en ontwikkeling van pathogene schimmels door een reductie van de ATP synthese, hoewel een indirect effect via het afweermecanisme van de plant niet kan worden uitgesloten. Zo werd 1% 2-deoxy-D-glucose gebruikt voor het reduceren van rot op appel en perzik door *Botrytis*, *Penicillium* en *Rhizopus* (Ghaouth *et al.*, 1995). Toevoeging van deze analogen kon ook de werking van antagonistische verbeterers (Janisiewicz, 1994). Dit is ook gevonden voor fructo-oligosacchariden in de veevoedingsindustrie, die de groei van Bifidobacteriën en Lactobacillen stimuleren. Deze bacteriën zijn antagonistisch voor humane pathogenen. Deze analogen worden gebruikt in de medische sector en daar beschouwd als veilig voor menselijke consumptie. Voor de veevoeding worden ze bijvoorbeeld geleverd door Speerstra Feed Ingredients BV (Lemmer) onder de merknaam Intibo 9.

5.5.4 Antibiotica

Er zijn zeer veel antibiotica tegen micro-organismen beschikbaar, waarvan vele op natuurlijke wijze worden geproduceerd. Toch is men zeer terughoudend in het gebruik van antibiotica in de landbouw, vanwege het risico op resistenties, waardoor antibiotica niet meer effectief kunnen worden in de humane en veterinaire gezondheidszorg. Streptomycine en kasugamycine zijn bekende antibiotica voor gebruik tegen bijvoorbeeld *Erwinia amylovora*, de veroorzaker van plevuur (www.health.gov.au/nhmrc/publications/fullhtml/dp15p2.htm). Tegen streptomycine is snel resistentie opgetreden (Sholberg *et al.*, 2001). Hieronder wordt een aantal antibiotica vermeld die eenvoudig te extraheren zijn. De kans dat deze ingezet kunnen worden tegen plantpathogenen wordt echter klein geacht.

Oocydine A is een gechlorineerd macrocyclisch lacton uit een endofytische *Serratia marcescens* dat zeer actief is tegen de oomyceten *Pythium* en *Phytophthora* (Strobel, 2002).

Gamma-thujaplicin wordt geïsoleerd uit de bast van de thuja en heeft extreem sterke fungicide eigenschappen (Inamori *et al.*, 1999). Het remt *Penicillium*, *Aspergillus* en *Fusarium oxysporum* in concentraties van 2 µg/ml mogelijk door binding aan metalloproteases.

Ambuic acid uit de endofytische schimmel *Pestalotiopsis microspora*, aanwezig in alle regenwouden, heeft een sterk fungicide werking (Strobel, 2002).

Cryptocandine is een peptide met fungicide eigenschappen uit de endofytische schimmel *Cryptosporiopsis cf. quercina* die wereldwijd voorkomt en die actief is tegen de zaadovergaande schimmels *Sclerotinia sclerotiorum* en *Botrytis cinerea* (Strobel, 2002). Cryptocine een andere verbinding die ook door *Cryptosporiopsis cf. quercina* wordt geproduceerd, is actief tegen *Pyricularia oryzae* (Strobel, 2002).

Uit *Ganoderma*-soorten die in Bogor (Indonesië) op bomen groeien, worden ook verbindingen geëxtraheerd die sterk antimicrobieel zijn tegen Gram-positieve bacteriën (Sudirman, 2002).

5.5.5 Surfactants

Door veel micro-organismen worden surfactants, oppervlaktespanning-verlagende stoffen, geproduceerd die ook een fungicide werking kunnen hebben. Zo werd een *Pseudomonas fluorescence* stam geïsoleerd die een surfactant produceerde met een sterke werking tegen de zoösporen van Oomyceten (pers. meded. Raaijmakers, Wageningen Universiteit). Deze stoffen kunnen bij toelating, als single component of in een formulering met andere fungiciden, gebruikt worden.

5.5.6 Hulpstoffen uitgezonderd van toelating

Hulpstoffen zijn voor wat betreft de Bestrijdingsmiddelenwet, in tegenstelling tot vroeger, uitgezonderd van toelating. Er hoeft geen toelating aangevraagd te worden voor hulpstoffen. Wel moeten gegevens geleverd worden over de hulpstoffen in de vorm van een Material Safety and Data Sheet (MSDS) en in de vorm van proeven waarin het middel, de formulering van werkzame stof en hulpstoffen, getoetst is. In principe mag dus elke olie-achtige component gebruikt worden, waarbij wel getoetst moet worden of deze componenten toxicologisch relevant zijn. Zo ja, dan moeten gegevens over deze stoffen of componenten geleverd worden.

Lecitine mag bijvoorbeeld slechts gebruikt worden als onderdeel van een middel op basis van kokos- en zonnebloemolie, lecitine en water ten behoeve van het afweren van insecten ter voorkoming van overlast voor de mens. Alle andere combinaties en toepassingen moeten een reguliere toelating hebben.

In Bijlage II van dit rapport is een overzicht gegeven van de meest belovende middelen met betrekking tot perspectieven voor toepassing als middel voor ontsmetting van biologische zaden.

6. Combinaties van middelen en methoden

Natuurlijke middelen die elkaar versterken of completeren kunnen ook met elkaar of met fysische of biologische middelen worden gecombineerd om een additioneel of synergistisch effect te sorteren. Behandelingen kunnen gelijktijdig, maar ook in sequentie worden uitgevoerd. Belangrijk is dat de populatiedichtheden beneden de schadedrempels worden gebracht zonder schadelijke effecten van de behandeling op het zaad. Zo is er een synergisme gevonden van combinaties van anti-microbiële terpenen aanwezig in etherische oliën tegen bacteriële pathogenen (Filipowicz *et al.*, 2003). Mengsels van etherische oliën zouden derhalve beter kunnen werken dan één specifieke olie. Middelen mogen volgens de Bestrijdingsmiddelenwet wel vlak voor applicatie gemengd worden, maar de leverancier van de middelen mag op de etiketten geen richtlijnen hiervoor geven.

In onderzoek dat binnen Plant Research International is uitgevoerd, werd een sterk synergistisch effect gevonden van thijm- en oregano-olie met natuurlijke detergentia en een synthetische chelator (Van der Wolf & Birnbaum, 2003). De detergentia maken de oliën beter oplosbaar in water en bevorderen de penetratie door de wand van bacterie- en schimmelcel. Chelatoren binden tweewaardige kationen als calcium, waardoor de celwand instabiel en permeabel wordt gemaakt en gemakkelijker toegankelijk wordt voor de actieve stoffen in de etherische oliën. De minimale concentratie waarbij een bactericide werking werd verkregen daalde van 0,5 naar 0,01%. Overigens kan het wegvangen van calcium-ionen een negatief effect hebben op de werking van antagonist. Dit zal meegewogen moet worden. Er wordt nog gezocht naar een natuurlijke chelator die voldoende effectief is. Lecithine is een natuurlijke chelator die als bestrijdingsmiddel al toegepast mag worden als insecticide, en mogelijk in combinatie met etherische oliën gebruikt zou kunnen worden. Een voordeel van lecithine is dat het ook fungeert als een natuurlijke emulgator en dus zorgt voor een betere verdeling van de olie. Deze werking wordt echter door de aanwezigheid van tweewaardige kationen verminderd, zodat lecithine in aanwezigheid van calcium werkt als chelator en in afwezigheid van calcium als emulgator. Lecithine vermindert de bactericide werking van etherische oliën (Burt & Reinders, 2003). Een andere natuurlijke emulgator, die mogelijk in combinatie met tijmolie gebruikt zou kunnen worden, is Gum Ghati, een exudaat van de (Aziatische) boom *Anogeis Latifolia*. Deze emulgator wordt in de voedingsindustrie al volop gebruikt (http://www.geocities.com/sdeep_us/ghatti.html).

Een additief effect op de gezondheid van wortelzaad (kiemkracht en besmetting met *Alternaria dauci*) werd gevonden met een combinatie van kaneelolie en (biologische geproduceerde) azijn (Lizot *et al.*, 2002). In eigen onderzoek binnen Plant Research International werd ook een fungicide werking van azijn gevonden. De pH-verlaging kan ook aan het versterkende effect hebben bijgedragen, want een positief effect van een verlaagde pH werd ook gevonden bij conservering van Griekse salades met oregano-olie tegen de beruchte darmbacterie *E. coli* O157H7 (Skandamis *et al.*, 2002).

Een sterk additioneel effect werd gevonden van een sequentiële behandeling van alfalfa-kiemen met chloorine dioxide, geïozoneerd water en tijmolie voor de bestrijding van *E. coli* O157:H7 (Singh *et al.*, 2003).

Etherische oliën kunnen ook gebruikt worden in combinatie met andere antibiotica. Zo werd een synergistisch effect gevonden van de etherische olie van *Agastache rugosa*, dat voornamelijk estragole bevat met ketoconazole dat de ergosterol (celwandcomponent) synthese van schimmels remt (Shin & Kang, 2003).

De activiteit van met name vluchtige natuurlijke middelen kan naar verwachting nog verbeterd worden in combinatie met een warmtetherapie (warm water, stoom of hete lucht) (Grondeau & Samson, 1994). Warmtebehandelingen worden nu al op biologisch zaad uitgevoerd voor eliminatie van schimmels en bacteriën. Hoe langer de warmwaterbehandeling en hoe hoger de temperatuur, des te effectiever de

schimmels geëlimineerd kunnen worden. Hiermee gaat echter ook de kiemkracht van het zaad achteruit. Het bruikbare temperatuursinterval waarin de behandeling tot reductie of eliminatie van pathogenen leidt, zonder dat de vitaliteit van het zaad wordt aangetast, is daarom vaak smal of zelfs te gering. Onderzocht moet worden of een combinatie van een warmtebehandeling met natuurlijke middelen kan leiden tot effectiviteit bij lagere temperatuur of kortere behandelingsperiodes en op die manier de effectiviteit van de behandeling kan verbeteren. In dit verband wordt binnen het EU-STOVE project (QLRT-2001-02239) een interessante optie uitgewerkt, waarin een systeem wordt gebruikt dat door de Zweedse firma Acanova AB is ontwikkeld. Hierin wordt het zaad onder sterk gecontroleerde omstandigheden behandeld met vochtige hete lucht (Forsberg *et al.*, 2002). De methode is met name voor bulkproducten als graanzaden interessant, omdat terugdrogen niet noodzakelijk is. De methode heeft al bewezen effectief te zijn voor eliminatie van *Drechslera teres* op gerstzaad, maar door toevoeging van vluchtige stoffen als terpenen zou de effectiviteit nog verder vergroot kunnen worden (zie 5.2).

7. Conclusies en discussie

1. Verwacht wordt dat ontsmetting van zaaizaad voor gebruik in de biologische landbouw niet op grote weerstanden in de sector stuit. De ontsmettingsbehandeling is niet zichtbaar voor de consument, het gebruik van ontsmet materiaal kan veel ziekteproblemen tijdens de gewasgroei voorkomen en er wordt bij zaaizaadontsmetting relatief weinig van de natuurlijke middelen gebruikt. Tevens verwacht de biologische sector zelf ook niet dat op korte tot middellange termijn andere oplossingen (bijvoorbeeld via geschikte biologische rassen of teeltmaatregelen) beschikbaar en voldoende effectief zijn.
2. Op korte termijn hebben alleen de natuurlijke middelen die vermeld zijn in Bijlage IIB van EEG verordening 2092/91 perspectief voor toepassing bij biologische zaadontsmetting. Sommige van deze middelen zijn door het College voor de Toelating van Bestrijdingsmiddelen (CTB) goedgekeurd voor bepaalde toepassingen. Ook worden deze middelen door de biologische sector in Nederland, zoals vertegenwoordigd in Biologica, geaccepteerd. Aanpassing van de RUB ten behoeve van gebruik als zaadbehandeling zal meestal eerst geregeld moeten worden.
3. Van deze middelen lijken, na raadpleging van de literatuur en evaluatiestudies binnen Plant Research International, vooral etherische oliën effectief als ontsmettingsmiddel. Met name tijm-, oregano-, pepermunt- en kruidnagelolie hebben een sterk bactericide en fungicide werking, zijn relatief goedkoop te produceren, zijn vluchtig en worden gemakkelijk afgebroken. Etherische oliën grijpen in op diverse targets van het pathogeen, waardoor resistentie-ontwikkeling onwaarschijnlijk is. Nadelen zijn de geringe selectiviteit van de middelen en de slechte oplosbaarheid, waardoor een goede formulering met natuurlijke hulpstoffen gewenst is (Bijlage 2 van dit rapport).
4. Op de middellange termijn wordt een relatief goede kans op acceptatie verwacht van de natuurlijke stoffen die genoemd zijn in EEG verordening 2092/91 (Bijlage II) als meststof of voedingsadditief. Een aantal van deze stoffen is al opgenomen in de RUB voor andere toepassingen, zoals middelen voor de bevordering van de conservering van kuilvoer (organische zuren) en melk. Een procedure voor opname van deze stoffen op de RUB-lijst wordt door het Ministerie van LNV als relatief eenvoudig omschreven. Organische zuren en mogelijk melk(producten) zijn interessante kandidaten vanwege respectievelijk de bactericide werking en de stimulering van het antagonisme op de zaadhuid (Bijlage 2 van dit rapport).
5. Een tweede groep natuurlijke middelen die op de middellange termijn perspectief bieden wordt gevormd door de middelen die in de voedingsindustrie voor conservering en ontsmetting worden gebruikt. Van deze middelen zijn reeds registratiedossiers en commerciële producten beschikbaar. Voor toepassing moeten deze stoffen wel door de EU en de biologische sector worden geaccepteerd en toelating verkrijgen van het CTB.
6. Er dienen meer verschillende natuurlijke gewasbeschermingsmiddelen voor gebruik in de biologische landbouw beschikbaar te komen. Veel van de middelen genoemd in Bijlage IIB zijn ineffectief (bijv. lecithine) en andere zijn niet voor gewasbespuitingen geschikt (zoals etherische oliën). Uitbreiding van het pakket wordt tegengehouden door de sector (strijdbaar met het biologische gedachtengoed) en met name vanwege de hoge registratiekosten. Als de overheid haar streven serieus neemt om in 2010 10% van het areaal beschikbaar te hebben voor "biologische teelt", dan zal zij actief moeten meewerken aan de uitbreiding van het pakket natuurlijke middelen om ziekten en plagen te weren.
7. De auteur is van mening dat voor middelen die in gesloten ruimtes kunnen worden toegepast, zoals bij zaadbehandeling, de dossiereisen lichter kunnen worden. Immers, restmaterialen kunnen opgevangen en verwerkt worden, zodat (eco-)toxicologische risico's sterk worden gereduceerd. Ook kunnen maatregelen genomen worden om de toepasser van het middel niet in contact te laten komen met de actieve stof. In EU-verband wordt gewerkt aan een eenvoudige toelatingsprocedure voor middelen met een laag risico profiel.
8. De implementatie van natuurlijke middelen voor zaadontsmetting in de praktijk wordt vertraagd door de leemtes in kennis. Aanvullend onderzoek is gewenst naar de effecten van zaaizaad-

ontsmetting op de weerbaarheid van de kiemende zaden, met name tegen bodempathogenen en de mogelijkheid om ontsmet zaad microbiëel te bufferen. Verder moet veel aandacht besteed worden aan het ontwikkelen van natuurlijke hulpstoffen voor een goede formulering van met name hydrofobe middelen (oliën).

8. Literatuur

- Abram, V., M. Donko, A. Plaper, M. Sentjurc & M. Nemeč, 2002.
Antimicrobial and antioxidant activity of some phenolic compounds. Technology Food Nutrition Health CEFOOD congress, Ljubljana, 22-25 September 2002.
- Amborabe, B.E., P. Fleurat-Lessard, J.F. Chollet & G. Roblin, 2002.
Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*; Structure-activity relationship. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 1051-1060.
- Bloukas, J.G., E.D. Paneras & G.C.A. Fournitzis, 1997.
Sodium lactate and protective culture effects on quality characteristics and shelf-life of low-fat frankfurters produced with olive oil. *Meat Science* 45: 223-238.
- Boudreaux, D.P., M.W. Lingle, E.R. Vedamutu & C.A.F. Gonzales, 1988.
Methods for the preservation of creamed cottage cheese. US Patent Chapter 4, 728-516.
- Burt, S.A. & R.D. Reinders, 2003.
Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 36: 162-167.
- Delaquis, P. & G. Mazza, 1995.
Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. *Food Technology* 49: 73-84.
- Di Cesare, L.F., E. Forni, D. Viscardi & R.C.A. Nani, 2003.
Changes in the chemical composition of basil caused by different drying procedures. *Journal of Agricultural and Food* 51: 3575-3581.
- Dik, A.J., J.J. Amsing, C.A.M.J. Bloemhard, B.C.A. Boertjes & Van der Gaag, 2001.
Inventarisatie van natuurlijke gewasbeschermingsmiddelen voor de glastuinbouw. Interne nota Praktijkonderzoek Plant & Omgeving sector glastuinbouw, Aalsmeer.
- Economakis, C., H. Skaltsa, C. Demetzos, M. Sokovic & C.A. Thanos, 2002.
Effect of phosphorus concentration of the nutrient solution on the volatile constituents of leaves and bracts of *Origanum dictamnus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6276-6280.
- El Naimi, M., H. Toubia-Rahme & O.F. Mamluk, 2000.
Organic seed-treatment as a substitute for chemical seed-treatment to control common bunt of wheat. *European Journal of Plant Pathology* 106: 433-437.
- Fabio, A., A. Corona, E. Forte & P. Quaglio, 2003.
Inhibitory activity of spices and essential oils on psychrotrophic bacteria. *Microbiologica* 26: 115-120.
- Filipowicz, N., M. Kaminski, J. Kurlenda, M. Asztemborska & J.R. Ochocka, 2003.
Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytotherapy Research* 17: 227-231.
- Forsberg, G., S. Andersson & L. Johnsson, 2002.
Evaluation of hot, humid air seed treatment in thin layers and fluidized beds for seed pathogen sanitation. *Journal of Plant Diseases and Protection* 109: 357-370
- Friedman, M., P.R. Henika & R.E. Mandrell, 2002.
Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection* 65: 1545-1560.
- Ghaouth, A.E., C.L. Wilson & M.E. Wisniewski, 1995.
Sugar analogs as potential fungicides for postharvest pathogens of apple and peach. *Plant Disease* 79: 254-258.
- Grondeau, C.A. & R. Samson, 1994.
A review of thermotherapy to free plant materials from pathogens, especially seeds from bacteria. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13: 57-75.

Groot, S.P.C., 2002.

Gezond en vitaal uitgangsmateriaal voor de biologische landbouw: een knelpuntenanalyse (2e druk). Rapport 44, Plant Research International, Wageningen, 28 pp.

Harpaz, S., L. Glatman, V. Drabkin & A. Gelman, 2003.

Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection* 66: 410-417.

Inamori, Y, S. Shinohara, H. Tsujibo, T. Okabe, Y. Morita, Y. Sakagami, Y. Kumeda & N. Ishida, 1999.

Antimicrobial activity and metalloprotease inhibition of hinokitiol-related compounds, the constituents of *Thuyopsis dolabrata* S. and *Z-hondai* MAK. *Biol Pharm Bull* 22: 990-993.

Janisiewicz, W.J., 1994.

Enhancement of biocontrol of blue mold with nutrient analog 2-deoxy-D-glucose on apples and pears. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 2671-2676.

Kobaisy, M., M.R. Tellez, F.E. Dayan & S.O. Duke, 2002.

Phytotoxicity and volatile constituents from leaves of *Callicarpa japonica*. *Phytochemistry* 61: 37-40.

Kritzinger, Q., T.A.S. Aveling & W.F.O. Marasas, 2002.

Effect of essential plant oils on storage fungi, germination and emergence of cowpea seeds. *Seed Science and Technology* 30: 609-619.

Lammerts van Bueren, E.T., P.C.A. Struik & E. Jacobsen, 2002.

Ecological concepts in organic farming and their consequences for an organic crop ideotype. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 50: 1-26.

Lemay, M., J. Choquette, P.J. Delaquis, C.A. Gariépy, N. Rodrigue & L. Saucier, 2002.

Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *International Journal of Food Microbiology* 78: 217-226.

Leth, V., 2002.

Use of essential oils as seed treatment/ IPGRI Newsletter –September 2002, p. 15, 16.

Leuschner, R.G.K. & V. Ielsch, 2003.

Antimicrobial effects of garlic, clove and red chilli on *Listeria monocytogenes* in broth model systems and soft cheese. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 54: 127-133.

Lizot, J.F., B. Griboval & M. Guenard, 2002.

Mise au point d'une technique de désinfection des semences applicable en agriculture biologique – *Alternaria dauci* sur semences de carottes. 2nd Conference internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux Lille, 4-7 Mars 2002, 8 pp.

Meekes, E.T.M. & E. den Belder, 2003.

Visie biologische boeren op inzet van biologische en natuurlijke middelen. Rapport 62, Plant Research International, Wageningen, 27 pp.

Mucciarelli, M., W. Camusso, C.M. Berteà, S. Bossi & M. Maffei, 2001.

Effect of (+)-pulegone and other oil components of *Mentha piperita* on cucumber respiration. *Phytochemistry* 57: 91-98.

Ngassapa, O., D.K.B. Runyoror, E. Harvala & I.B. Chinou, 2003.

Composition and antimicrobial activity of essential oils of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burm. f.) Spreng. *Flavour and Fragrance Journal* 18: 221-224.

Ohno, T., M. Kita, Y. Yamaoka, S. Imamura, T. Yamamoto, S. Mitsufuji, T. Kodama, K. Kashima & J. Imanishi, 2003.

Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 8: 207-215.

Pradhanang, P.M., M.T. Momol, S.M. Olson & J.B. Jones, 2003.

Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *Plant Disease* 87: 423-427.

Ranasinghe, L., B. Jayawardena & K. Abeywickrama, 2002.

Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology* 35: 208-211.

- Shin, S. & C.A. Kang, 2003.
Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with ketoconazole. Letters in Applied Microbiology 36: 111-115.
- Sholberg, P.L., K.E. Bedford, P. Haag & P. Randall, 2001.
Survey of *Erwinia amylovora* isolates from British Columbia for resistance to bactericides and virulence on apple. Canadian Journal of Plant Pathology 23: 60-67.
- Shukla, A.C.A., S.K. Shahi, D.S. Stewar & A. Dikshit, 2002.
Control of Fusarial wilt diseases of pigeon pea by *Trachyspermum ammi*. Tropical Agriculture 79: 88-93.
- Singh, N., R.K. Singh & A.K. Bhunia, 2003.
Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water and thyme essential oil. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 36: 235-243.
- Skandamis, P.N., K.W. Davies, P.J. McClure, K. Koutsomanis & C. Tassou, 2002.
A vitalistic approach for non-thermal inactivation of pathogens in traditional greek salads. Food Microbiology 19: 405-421.
- Soliman, K.M. & R.I. Badeaa, 2002.
Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology 40: 1669-1675.
- Strobel, G.A., 2002.
Useful products from rainforest microorganisms. Part 2. Unique active molecules from endophytes. Phytopharmaceuticals May/June, p. 30-32.
- Sudirman, L.I., 2002.
Preliminary detection of antimicrobial activity of fruiting bodies extracts of tropical *Ganoderma* sp. www.kyotan.com/lectures/lectures/lecture12.html
- Walsh, S.E., J.Y. Maillard, A.D. Russell, C.A.E. Catrenich, D.L. Charbonneau & R.G. Bartolo, 2003.
Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and negative bacteria. Journal of Applied Microbiology 94: 240-247.
- Wen, A.M., P. Delaquis, K. Stanich & P. Toivonen, 2003.
Antilisterial activity of selected phenolic acids. Food Microbiology 20: 305-311.
- Wolf, J.M. van der & Y. Birnbaum, 2003.
Compounds of natural origin for seed treatment. 8th International Conference of Plant Pathology, 2 - 7 February 2003. Christchurch, New Zealand. Poster.

Bijlage 1.

Annex IIB (Gewasbeschermingsmiddelen) van EEG Verordening 2092/91

B. BESTRIJDINGSMIDDELEN

1. GEWASBESCHERMINGSPRODUCTEN

Algemene voorwaarden voor alle producten die uit de volgende werkzame stoffen bestaan of deze bevatten:

- te gebruiken in overeenstemming met de in bijlage I vermelde voorschriften;
- uitsluitend te gebruiken in overeenstemming met de specifieke bepalingen van de in de betrokken lidstaat geldende wetgeving inzake gewasbeschermingsproducten (in voorkomend geval(*)).

I. Stoffen van dierlijke of plantaardige oorsprong

Omschrijving	Beschrijving; samenstellingseisen; gebruiksvoorwaarden
Azadirachtine, geëxtraheerd uit Azadirachta indica (neemboom)	Insecticide De behoefte moet door de controle instantie of de controleorganisatie zijn erkend.
(*) Bijenwas	Afdekkingsmiddel voor snoeiwonden
Gelatine	Insecticide
(*) Gehydrolyseerde eiwitten	Lokmiddel Uitsluitend gecombineerd met andere geschikte producten van deze bijlage II, deel B, bij erkende toepassingen.
Lecithine	Fungicide
Extract (waterige oplossing) van Nicotiana tabaccum	Insecticide Alleen ter bestrijding van bladluis op subtropische fruitbomen (b.v. sinaasappelen, citroenen) en tropische gewassen (b.v. bananen); alleen te gebruiken bij het begin van de groeiperiode. De behoefte moet door de controle instantie of de controleorganisatie zijn erkend. Mag slechts tot en met 31 maart 2002 worden gebruikt.
Plantaardige oliën (bv. muntolie, pijnolie, karwij-olie)	Insecticide, acaricide, fungicide en kiemvertragend middel.
Pyrethrine, geëxtraheerd uit Chrysanthemum cinerariaefolium	Insecticide De behoefte moet door de controle instantie of de controleorganisatie zijn erkend.
Quassia, geëxtraheerd uit Quassia amara	Insecticide, afweermiddel

Omschrijving	Beschrijving; samenstellingseisen; gebruiksvoorwaarden
Rotenon, geëxtraheerd uit <i>Derris</i> spp., <i>Lonchocarpus</i> spp. en <i>Terphrosia</i> spp.	Insecticide De behoefte moet door de controle instantie of de controleorganisatie zijn erkend.
(*) In bepaalde lidstaten worden de producten die van een (*) zijn voorzien, niet als gewasbeschermingsmiddelen beschouwd; zij vallen dus niet onder de wetgeving inzake gewasbeschermingsproducten.	

II. Micro-organismen voor biologische ziektebestrijding

Omschrijving	Beschrijving; samenstellingseisen; gebruiksvoorwaarden
Micro-organismen (bacteriën, virussen en schimmels) b.v. <i>Bacillus thuringensis</i> , <i>Granulosis virus</i> , enz.	Geen genetisch gemodificeerde producten in de zin van Richtlijn 90/220/EEG van de Raad ⁽¹⁾ .

⁽¹⁾ PB nr. L 117 van 8.5.1990, blz. 15.

III. Alleen in vallen en/of verstuiers te gebruiken stoffen

Algemene voorwaarden:

- De vallen en/of verstuiers zijn zo ontworpen dat de stoffen niet in het milieu kunnen terecht komen en niet met de geteelde gewassen in contact kunnen komen.
- De vallen moeten na gebruik worden verzameld en veilig worden vernietigd.

Omschrijving	Beschrijving; samenstellingseisen; gebruiksvoorwaarden
(*) Diammonfosfaat	Lokmiddel In vallen
Metaldehyde	Slakkendodend middel Alleen in vallen met een afweermiddel voor hogere diersoorten. Mag slechts tot en met 31 maart 2006 worden gebruikt.
Feromonen	Lokmiddel; ontregelaars van sexueel gedrag. Alleen in vallen en verstuiers.
Pyrethrumderivaten (deltamethrine en lambda-cyhalothrine)	Insecticide Alleen in vallen met specifieke lokmiddelen Uitsluitend ter bestrijding van <i>Batrocera oleae</i> en <i>Ceratitis capitata</i> wies De behoefte moet door de controle instantie of controleorganisatie zijn erkend.
(*) In bepaalde lidstaten worden de producten die van een (*) zijn voorzien, niet als gewasbeschermingsmiddelen beschouwd; zij vallen dus niet onder de wetgeving inzake gewasbeschermingsmiddelen.	

III.bis Aan de oppervlakte tussen de planten te dispergeren bereidingen

<i>Omschrijving</i>	<i>Beschrijving; samenstellingseisen; gebruiksvoorwaarden</i>
Ijzertrifosfaat	Molluscicide

IV. Andere stoffen die traditioneel in de biologische landbouw worden gebruikt

<i>Omschrijving</i>	<i>Beschrijving; samenstellingseisen; gebruiksvoorwaarden</i>
Koperverbindingen in de vorm van koperhydroxide, koperoxychloride, tribasisch kopersulfaat, koperoxyde	<p>Fungicide</p> <p>Tot en met 31 december 2005 maximaal 8 kg koper per hectare per jaar, en vanaf 1 januari 2006 maximaal 6 kg koper per hectare per jaar, tenzij op grond van specifieke bepalingen in de algemene wetgeving inzake gewasbeschermings-middelen van de lidstaat waar het product zal worden gebruikt een kleinere hoeveelheid geldt.</p> <p>Voor blijvende teelten mogen de lidstaten, in afwijking van het bovenstaande, bepalen dat de maximumhoeveelheden als volgt worden toegepast:</p> <ul style="list-style-type: none"> - de totale gebruikte maximum-hoeveelheid vanaf 23 maart 2002 tot en met 31 december 2006 mag niet groter zijn dan 38 kg koper per hectare – vanaf januari 2007 wordt de maximum-hoeveelheid die jaarlijks per hectare mag worden gebruikt, berekend door de in de voorafgaande vier jaar daadwerkelijk gebruikte hoeveelheden af te trekken van de totale maximumhoeveelheid van respectievelijk 36, 34, 32 en 30 kg koper per hectare voor respectievelijk 2007, 2008, 2009 en 2010 en volgende jaren <p>De behoefte moet door de controle-instantie of controleorganisatie zijn erkend.</p>

Bijlage 2.

Middelen met de hoogste potentie van toepassing

Product	Status	Effectiviteit	Economische haalbaarheid	Opmerkingen
Direct inzetbaar				
Lecithine	Verordening 2092/91/Gewasbeschermingsproduct	Als fungicide beschreven, maar effectiviteit zeer gering. In sommige gevallen schimmelgroei bevorderend	Klein (zuivere vorm 25 €/ml)	Kan als emulgator bij toepassing oliën gebruikt worden
Plantaarde oliën	Verordening 2092/91/Gewasbeschermingsproduct	Afhankelijk van de olie, effectief tegen bacteriën, schimmels, insecten en nematoden	Groot (zuivere vorm 0.05 – 4 €/ml) Concentraties van ca. 0,1% zijn vaak al effectief	Thijmolie, kruidnagel, oregano-olie Slecht in water oplosbaar, gevaar voor fytotoxiciteit alleen toegelaten voor dompelen en aangieten
Op korte of middellange termijn inzetbaar				
Organische zuren	Verordening 2092/91/conservenmiddel	Effectief tegen bacteriën, matig tegen schimmels	Groot (0,002 – 0,0002 €/per g) Concentraties van > 2% zijn vaak effectief	Gevaar fytotoxiciteit, azijnzuur (> 5%) wordt in VS ook als herbicide gepromoot
Melk	Verordening 2092/91/meststof	effectiviteit afhankelijk van stimulering antagonisme	Groot (0.001 €/ml). Concentratie van ..	Fytotoxiciteit door lage zuurstofspanning
Citrex	Geregistreerd in VS, maar niet in Nederland	Effectief tegen diverse (met zaad overgaande) pathogene bacteriën en schimmels en insecten	Groot (0.0015 €/ml)	Gevaar fytotoxiciteit
Nisine	Geregistreerd voor gebruik als conserveringsmiddel in levensmiddelenindustrie	Effectief tegen Gram-positieve bacteriën	Goed, middel kost 0,2 €/g. Effectieve dosis < 0,003 mg/ml	Gevaar van resistentie-ontwikkeling

Bijlage 3.

Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen

De Regeling Uitzondering Bestrijdingsmiddelen (RUB) benoemd bepaalde (groepen) bestrijdingsmiddelen die uitgezonderd zijn voor de verplichting tot aanvraag van toelating in het kader van de Bestrijdingsmiddelenwet (<http://www.ctb-wageningen.nl>). De RUB is in 2000 gewijzigd. Hier volgt een opsomming van de wijzigingen (<http://www.minlnv.nl/pd/nwsbrf/nbr00-03.htm#toc4>). De nota 'Genoeg', (http://www.gewasbescherming.nl/main_thema_genoeg_brochure.html#tabel), bevat een korte toelichting op de middelen die in de RUB zijn vermeld.

Middel	Restricties	Doel
Bier		Bestrijden slakken
Calciumchloride	Concentratie 0.5%	Voorkomen bruinverkleuring champignons
Celkalk en ongebluste kalk		Bestrijden schimmels
Componenten van etherische oliën van plantaardige oorsprong	Dompelen of aangieten, toegelaten via Warenwetbesluit aroma's	Bestrijden ziekten en plagen bij planten en plantaardige producten
Kalk en bijenwas		Wondafdekmiddel
Kalkstikstof	Stofvrij granulaat, direct onderwerken	Bestrijden onkruiden en schimmels
Knoflook-, soja- en/of ui-extracten	Aangieten, toevoegen aan voedingswater of dompelen	Planten beschermen tegen insecten en schimmels
Kokos- en zonnebloemolie	Concentratie max. 0.1%	Bestrijden insecten op fruit-groente- en siergewassen
Koolzuurgas	Concentratie max. 1500 ppm	Verbeteren groei gewassen onder glas
Magere melk (producten)	Planten, plantmateriaal of handen onderdompelen	Voorkomen verspreiding plantenvirussen
Natriumchloride		Bestrijden onkruiden
Natriumchloride		Bestrijden schimmels in champignonteelt
Pijpzwavel	Via zwavelverdamer	Bestrijden meeldauw in teelten onder glas
Spiritus en/of zeep		Bestrijden insecten en mijten op planten
Suiker in water		Bestrijden oortjesziekte in boomkwekerijgewassen
Uiensap		Afweren van mieren
Waterglas (natrium- of kaliumsilicaat)		Bestrijden ziekten en insecten op planten
Zand of gesteentemeel		Bestrijden insecten mijten, bacteriën en schimmels op planten
Zeewier-en/of algenextract	Aangieten, toevoegen aan voedingswater of dompelen	Stimuleren groei planten
Zilvernitraat		Groei regulatie in de teelt van komkommer en augurken, zaadontsmettingsmiddel
Zwavelzuur		Bestrijden onkruiden

Bijlage 4.

Format voor het verzoek om natuurlijke middelen te plaatsen in Bijlage IIB van EEG verordening 2092/91

REQUEST TO AMEND ANNEX II B - Pesticides

Delete 2 of 3 :

Inclusion	Introduced by ¹ :
Deletion	Date :
Change disposition	Contact e-mail :

Name	Description, compositional requirements, conditions for use

1. Identification

Chemical name(s) of active substance
Other names
Trade names
CAS ² name
IUPAC ³ name
Other code(s)

¹ Name of Member State

² Chemical Abstracts Systematic Names

³ International Union of Pure and Applied Chemistry

2. Characterisation

Composition
Concentration of active substance
Physical properties
Origin, production method
Formulation (emulsifiable, concentrate, wettable powder)
Effect on harmful organism and action mechanism
Selectivity

3. Uses

Use category (insecticide, fungicide, etc.)
Application method
Dosage
Stage of plant development
Application frequency

4. Status

Historic use
Regulatory status

5. Criteria article 7

Necessity ⁴
Contact with crop
Environment (effects, contaminants)

6. Other aspects

Human health and quality
Various aspects (ethical, animal welfare, socio-economic)
Alternatives

7. Conclusion

⁴ See article 7.1 (a) : essential for the control of a harmful organism or a particular disease for which other biological, cultural, physical or breeding alternatives are not available