

Bibliografische synthese : biopesticiden, aanvullingen en alternatieven voor chemische fytosanitaire produkten

Deravel J., Krier F. & Jacques P., *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2017, 18(2), 220-232

Samenvatting

Biopesticiden, «levende organismen of produkten afkomstig uit deze organismen met de partikulariteit de vijand te verdelgen of te beperken op de gewassen» worden sinds eeuwen gebruikt door de land- en tuinbouwers. Dezer dagen worden zij in drie grote categorieën gerepertorieerd naar gelang hun origine (microbiële, plantaardige of dierlijke) en vertonen zij meerdere voordelen. Zij kunnen zowel in conventionele landbouw als biologische landbouw gebruikt worden, sommige laten aan de planten toe om weerstand te bieden aan abiotische stress en op een algemene wijze zijn ze minder toxisch dan de gehomologeerde chemische produkten. Zelfs als ze de reputatie hebben dat ze minder doeltreffend zijn dan deze laatsten, kennen biopesticiden een steeds grotere interesse van de exploitanten voornamelijk in het kader van geïntegreerde strategische strijd. Het op de markt brengen van biopesticiden wordt vergemakkelijkt in zekere regio's zoals de USA, waar in zekere oost-europese landen de homologatieprocedures veel tijd in beslag nemen en afhankelijk zijn van verschillende factoren zoals, de gouvernementele politiek zowel wat betreft de ondersteuning aan het onderzoek als de reglementatie, de strategies van grote industriën in de fytosanitaire sector en de evolutie van de keuze van de consumenten.

Trefwoorden : biopesticiden, geïntegreerde strijd, reglementatie

1. Inleiding

Het gebruik van chemische fytosanitaire produkten heeft sterk de zwaarte van het werk op de velden verminderd met een voldoende opbrengst en een mindere kost om zodoende ook de consumentenmarkt te voldoen. In een recente publikatie wordt het verlies van de produktie, voor de oogst van de belangrijkste mondiale gewassen door verwoestende elementen (insekten, micro-organismen) en toevalligheden geschat op 35% (Popp en al. 2013). Zonder een doeltreffende bescherming van de gewassen zouden deze verliezen kunnen oplopen tot 70% (Popp en al.2013). Als

we de industriële leiders moeten geloven, zou de produktievermindering van de mondiale levensmiddelen, veroorzaakt door het niet-gebruik van fytosanitaire produkten, aan de oorsprong liggen van de hongersnood in de reeds gefragiliseerde bevolkingsgroepen.

Al deze argumenten in overweging genomen, is het onontkenbaar dat de chemische fytosanitaire produkten veel voordelen inhouden. Nochtans, kan hun gebruik de oorzaak zijn van omgevingsproblemen en de publieke gezondheid raken ; daarbij ook dat de inherente risico's van enkele onder hen slecht geëvalueerd zijn. Zich van dit probleem bewust zijnde, heeft de Europese Unie zekere maatregelen getroffen. Zodoende, bezorgd voor een verbetering, werd de Europese richtlijn 91/414/CEE ingetrokken door het Reglement (CE) 1107/2009 (Officieel verslag van de Europese Unie, L309.2009).

Deze richtlijn oogde op een harmonisatie van de op de markt te brengen fytosanitaire produkten en maakte een lijst op met de toegelaten stoffen, alsook een evaluatieprogramma van de reeds op de markt zijnde produkten. In dit nieuwe reglement zijn de goedkeuringscriteria van de actieve stoffen zeer strikter dan voorheen. De co-formulatie van de samenstelling van de produkten zijn onderworpen aan homologatieprocedures gelijkaardig aan actieve stoffen en stoffen met een hoog risico worden vervangen door een homoloog met een zwak risico.

Een andere richtlijn, zijnde 128/2009/CE, van 21 oktober 2009, maakt de geïntegreerde bescherming van de gewassen verplicht sinds 2014. (Officieel verslag van de Europese Uni, L,309.2009). In deze richtlijn moet elk lid van de Europese Unie een actieplan opstellen met kwantitatieve doelstellingen en gedefinieerd worden in tijd om de impact van chemische fytosanitaire produkten op de gezondheid en de omgeving te beperken.

In Frankrijk zijn maatregelen getroffen om het gebruik van fytosanitaire produkten te begeleiden. Zo beoogt het "Ecophyto 2018" plan, besproken tijdens de Grenelle omgeving van 2007, het gebruik van chemische fytosanitaire produkten tot 50% te verminderen in 2018 (<http://agriculture.gouv.fr/ecophyto>).

Dit programma loopt van 2005 tot 2010 en oogt de impact van de landbouwpesticiden op de omgeving met 25% te verminderen in 2012 en met 50% voor andere pesticiden en biocides. Deze doelstellingen, gesteld voor 2012, deden verschillende partijen optreden zoals publieke instellingen, professionele organisaties alsook consumentenverenigingen en omgevingsverenigingen. België wenst

zich conform te stellen aan de Europese wetgeving door namelijk een nationaal actieplan op te stellen (Nationaal Actie Plan d'Action National (NAPAN)) om zo de ondernomen acties van PRPB voort te zetten

(http://www.health.belgium.be/eportal/Environment/Chemicalsubstances/PRPB/index.htm?fo_dnlang=fr#.Ul_atlDgSH4).

Eén van de manieren om het gebruik van pesticiden in de landbouw te verminderen, alsmede het gepromote Ecophyto plan van 2018 van de PRPB in te lassen, is het gebruik van biologische fyto-santaire producten.

2. De verschillende categorieën van biopesticiden

Het concept « biopesticide » is niet nieuw. Sinds de 7de eeuw voor Christus, gebruikten Chinese boeren planten zoals *Illicium lanceolatum* om hun gewassen tegen insecten te beschermen (Leng et al., 2011). Zo ook in de Middeleeuwen, werden gewassen zoals de monnikskap gebruikt tegen knaagdieren, en Indische reizen uit de 17de eeuw melden ons het gebruik van *Derris* en *Lonchocarpus* wortels voor hun pesticide eigenschappen. Deze dagen zijn verschillende biopesticiden gecommercialiseerd. Een juiste definitie van de oorsprong van deze producten en hun geschiedenis is noodzakelijk. Zo, zelfs als er geen juiste officiële definitie bestaat, kunnen in het domein van de landbouw de pesticiden als volgt gedefinieerd worden : « **Levende organismen of producten afkomstig van deze organismen met de eigenschap de vijanden van de culturen te beperken of uit te schakelen.** » (Thakore 2006).

De producten die als biopesticiden beschouwd worden door de Europese en wereld reglementerings organisaties zijn verschillend. Zij kunnen in drie categorieën opgesplitst worden aangaande hun natuur : microbiële, plantaardige of dierlijke biopesticiden (Chandler et al., 2011 ; Leng et al., 2011).

2.1. Microbiële biopesticiden

Deze categorie bestaat uit bacteriën, schimmels, oomyceten, virussen en protozoïeren. De doeltreffendheid van een belangrijk aantal van hen berust op de actieve stoffen afgeleid uit micro-

organismen. Het zijn, in principe, deze actieve stoffen die werken tegen de bio-aanvallers in plaats van het micro-organisme zelf.

2.1.1. De bacteriën

De biopesticiden op basis van *Bacillus thuringiensis* zijn het meest gecommercialiseerd. Zij hebben een insecticide actie. *Bacillus thuringiensis* is een positieve Gram bacterie die gedurende zijn groeifase kristaline proteïnen produceert, delta-endotoxinen of pro-toxines Cry genaamd. Deze proteïnen komen vrij in de natuur na de lysis van de bacteriele wanden tijdens de sporulatie en zijn actief, éénmaal ingeslikt door de knaagdieren, tegen lepidoptera, diptera en de larven van kevers (Rosas-Garcia, 2009).

Bacteriële soorten van *Bacillus* gebruiken aktiemecanismes die verschillen van deze gebruikt door de *Bacillus thuringiensis* en beschermen eveneens de planten. Er zijn, onder deze soorten, stammen *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefacians* of *Bacillus subtilis*. *Bacillus amyloliquefacians* en *Bacillus subtilis* die in staat zijn wortels te koloniseren en lipopeptide moleculen te produceren welke surfactines, iturines of fengycines zijn. Deze laatsten kunnen oftewel de verdediging van de planten aktiveren, of een direct anti-bacterieel of anti-fongisch effect hebben. (Pérez-Garcia et al., 2011).

Bacteriën die tot een andere groep dan de *Bacillus* behoren werden ook ontwikkeld als biopesticiden. Zo wordt de stam *Pseudomonas chlororaphis* MA342 gebruikt in de preventie en bestrijding van zekere graanschimmels *Drechslera teres*, veroorzaker van de helminthosporium in gerst (Tombolini et al., 1999). *Pseudomonas chlororaphis* MA342 beschermt tevens de tarwe en rogge tegen fusarium en septoria. Verschillende aktiemethoden worden voorgesteld om zijn doeltreffendheid te bewijzen. Deze bacterie zou reactief kunnen zijn tegen schimmel fytopathogenen door directe antibiose, door spatiale of nutritieve concurrentie of door de verdediging van de planten te aktiveren.

2.1.2. Virussen

Baculoviridae zijn virussen met een dubbele cirkelvormige ADN streng, met een genoom tussen 100 en 180kb, beschermd door een wand van eiwitten (Chen et al., 2002). Zij tasten de geleedpotigen of larven aan. Zij hebben een laag sanitair risico want geen ander gelijkwaardig virus is tot op heden

gerepertorieerd voor de infectie van de gewervelden of planten. Deze eigenschap maakt hen zeer interessant voor een kwaliteitsgebruik van bio-insecticide daar te meer zij hun ongewenste gast in enkele dagen kunnen doden.

Deze virussen zijn geklasseerd in functie van hun specifieke morfologie. Zo zijn er de *Granulovirus*, alsook *Cydia pomonella granulosis*, met ovale of ovoïde korrels en de *nucleopolyhedrovirus*, alsook *Helicoverpa zea* (HzSNPV) en *Spodoptera exigua nucleopolyhedrosis* welke een polyhydrale vorm hebben, rond, kubiek of hexagonaal (Chen et al., 2002). De *nucleopolyhedrovirus* besmetten de lepidoptera larven op een atypische wijze. Inderdaad, 2 virale vormen, genetisch identiek maar structureel verschillend zijn noodzakelijk voor een complete besmettingscyclus. De vorm "inbegrepen virion" besmet de cellen van de darmen na inname van de gast. Een andere vorm "groeïend virion" draagt de infectie over van cel naar cel. De lichamelijke insluitingen zijn samengesteld uit kristalijne proteïnen die de virions beschermen tegen een afbraak welke veroorzaakt kan worden door de omgeving maar zijn opgelost door het alkaline pH van de maag van de larven. Eenmaal de kristalijne proteïnen opgelost, worden de virions bevrijd. De besmetting begint in de middendarm en maakt de groeiende vormen die zich voortbegeven naar de basale membraan tot het weefsel van de gast. Gedurende deze voortuitgang, worden er vormen van groeiende virions en inbegrepen virions gemaakt. De verspreiding duurt ongeveer 4 dagen. De weefsels sterven en worden vloeibaar. Dit vloeibaar worden, typisch voor ziekten veroorzaakt door een *nucleopolyhedrovirus* infectie, bevrijdt miljoenen vormen die nieuwe gasten besmetten (Washburn et al., 2003).

2.1.3. De schimmels

Naast de bacteriën en de virussen, zijn er zekere schimmels die activiteiten vertonen tegen bio-aanvallers en worden geëxploiteerd als biopesticide. *Coniothyrium minitans* is bekend om de schimmels van het genre *Sclerotinia* spp te parasiteren. Deze fungale vorm bevindt zich in de grond en is verantwoordelijk voor de ziekte "witte verrotting" genaamd welke verscheidene gewassen kan aantasten zoals wortelen, bonen, colza en zonnebloemen. *Coniothyrium minitans* is bekend om door te dringen in de sclerotica van de *Sclerotinia sclerotiorum* ofwel door barsten gesitueerd aan de buitenkant van deze bewaringsvorm van de schimmel, ofwel door het binnendringen in de buitenschors door het volgen

van een intercellulaire weg. Zij vervolgt haar intercellulaire weg door het binnendringen in de cortex en het intramedullaire kanaal. Het intercellulaire parcours van *Coniothyrium minutans* is mogelijk want hij produceert afbrekingsenzymen van de wanden zoals chitines of β -1,3 glucanasen. Temeer deze extracellulaire enzymen werden er verscheidene moleculen die tussenkomen in het aktiemecanisme tegen *Sclerotinia* spp. geïdentificeerd in de gewassen van *Coniothyrium minutans*. Onder deze moleculen zijn er 3(2H)-benzofuranones, chromanes, anti-fungale metabolieten alsook de macrospheliden A, bekend om de toetreding van genetische cellen te remmen en welke lage concentraties voor de groei van *Sclerotinia sclerotiorum* en *Sclerotinia cepivorum* remt (McQuilken et al., 2003) hebben.

Verschillende stammen van de vezelschimmel *Trichoderma* spp. worden gebruikt voor de biologische bescherming van planten. Zij hebben meestal een anti-fungale activiteit tegen verscheidene bodempathogenen of bladpathogenen (Dodd et al., 2003). *T. atroviride* wordt namelijk gebruikt voor de biologische bescherming van de druiventeelt (Longa et al., 2009). De bio-controle activiteit van deze stam is toegekend door meerdere mecanische activiteiten die in synergie handelen. Onder deze aktiemecanismen is er een competitie voor de voedingsstoffen, de antibiose of de produktie van specifieke afbrekingsenzymen van de celulaire wanden zoals de chitines of proteases (Brunner et al., 2005).

Ongeveer 10% van de cultuurverliezen worden veroorzaakt door de rondwormen *Meloidogyne* spp., de meest verdelgende op de wereld (Anastasiadis et al., 2008). De meest efficiënte chemische nematociden tegen hen werden progressief gewijs van de markt teruggetrokken omwille van hun impact op de omgeving (Anastasiadis et al., 2008). De schimmel *Paecilomyces lilacinus* is één van de meest bestudeerde alternatieve produkten tegen de biologische strijd tegen rondwormen. Hij heeft de mogelijkheid verschillende fasen van de ontwikkeling van de parasiet te besmetten. Hij is vooral bekend om oviciëde eigenschappen te hebben. *Paecilomyces lilacinus* dringt in de eieren van de rondwormen binnen door het uitscheiden van chitinen en proteases (Dong et al., 2007). Hij kan ook de wortelnoduli besmetten waar de eieren zich bevinden. De reeds gevormde fungale hyphae kunnen binnendringen in de volwassen rondwormen via hun natuurlijke openingen. In elk geval van besmetting, voedt de *Paecilomyces lilacinus* zich met de rondwormweefsels om zich te kunnen ontwikkelen (<http://www.prophyta.de/fr/protection-des-plantes/anti-nematicide/mode-operatoire/>).

2.2.Plantaardige biopesticiden

De planten produceren actieve stoffen met insecticide aseptische eigenschappen of groeiregulatoren van planten en insecten. Meerendeels zijn deze actieve stoffen van secundaire metaboliëte aard, welke oorspronkelijk de vegetatie van de graasdieren beschermt. De meest gebruikte biopesticide van plantaardige oorsprong is de neem-olie, een insecticide bekomen uit de granen van *Azadirachta indica* (Schmutterer, 1990). Meerdere moleculen zoals azadirachtine, nimbidine, solanine, déacétylazadirchtinol en méliantriol werden geïdentificeerd als biologisch actief in de graanextractie van de neem-olie. Azarachtine, een mengeling van zeven tétranortritarpinoïde isomeren is het belangrijkste actieve ingrediënt van deze olie en heeft de bijzonderheid de morfogenese en de ontwikkeling van de embryonnaire insecten te verstoren (Srivastava et Raizada, 2007 ; Correia et al., 2013).

Andere planextracten hebben ook insecticideactiviteiten ; zoals *Tanacetum (Chrysanthemum cinerariaefolium)* meer bekend onder de naam van pyrethrum, is een levende kruidenplant gecultiveerd voor zijn bloemen uit welke een insecticide poeder wordt genomen. Zijn actieve eigenschappen, pyrétrhines genaamd, vallen het zenuwstelsel van de insecten aan. De natuurlijke moleculen worden echter vlug afgebroken door het licht. Op de markt vinden we dan ook synthetische pyrétrhinoïdes die veel stabiel zijn dan hun natuurlijke homologe. *Quassia amara* is een Amerikaanse boom uit dewelke men quassine haalt, een insecticide met een lage toxiciteit voor de mens, de huisdieren en de de nuttige insecten.

Sommige plantaardige oliën, die geen anti-parasitaire intrinsieke activiteit hebben, kunnen op de markt worden teruggevonden als biopesticide. In dit geval worden hun fysische eigenschappen geëxploiteerd. Zo is de colzaolie het belangrijkste ingrediënt van sommige producten zoals VegOil® want besproeid op de bladeren en knagers vormt zij een olieachtige film die deze laatsten doet stikken.

De planten met geïntegreerde pesticiden (Plant Incorporated-Protectants, PIPs) zijn genetische genie gemodificeerde organismen, in staat zijnde pesticide stoffen te produceren en te gebruiken om zich te verdedigen tegen insecten, virussen en schimmels. De meest bekende PIPs zijn de aardappelplant, maïs en katoen met de bijzonderheid de proteïne Cry de *Bacillus thuringiensis* te produceren. Voor het

amerikaanse agentschap voor de stoffen van milieubescherming (United States, Environmental Protection Agency, US.EPA), zijn de PIPs een categorie van biopesticiden. De eerste PIPs werden in Amerika gecultiveerd in 1995/1996. Op wereldvlak zijn de gecultiveerde oppervlaktes met PIPs van 11,4 hectare in 2000 naar meer dan 80 miljoen in 2005 gerezen. (Shelton et al., 2002 ; Bates et al., 2005). Sommige landen van de Europese Unie stellen hun bedenkingen in het gebruik hiervan. Inderdaad, om ethische en morale redenen en hun terughoudendheid aangaande de biologische zekerheid, hebben slechts 5 van de 27 lidstaten van de Europese Unie voor hun gebruik geopteerd (Kumar et al., 2008). Zo wordt de maïs Bt (*Bacillus thuringiensis*) vaak gecultiveerd in Spanje, Portugal, Roemenie, Polen en Slowakije daar waar de maïslijn Bt MON810 formeel verboden is in sommige landen zoals Frankrijk, Oostenrijk, Duitsland, Griekenland, Luxemburg en Hongarije (Meissle et al., 2011).

2.3.Dierlijke biopesticiden

Deze biopesticiden zijn dieren zoals roofdieren of parasieten, of moleculen gederiveerd van ongewervelde dieren zoals het gif van spinnen, schorpioenen, insekthormonen, feromonen (Goettel et Hajek, 2001 ; Laura et Francesca, 2010 ; Saidenberg et al., 2009).

Het lieveheersbeestje is het meest bekende ondersteunende insect. Het *Rodolia cardinalis* lieveheersbeestje van Australië wordt dikwijls gebruikt als verdelger voor de *Icerya purchasi* lieveheersbeestje. Zelfs als ze in de 19de eeuw in Californië werd geïntroduceerd ter bestrijding van de citrusvruchten, hebben de Galapagoseilanden hun intrede enkel goedgekeurd in 2002 (Calderón Alvarez et al., 2012). Het effect van dierlijke biopesticiden en meer bepaald van ondersteunende insecten op de lokale fauna worden minitieuws bestudeerd alvorens hun gebruik.

Zoals de lieveheersbeestjes, gebruiken de mijten de predatie om zich te voeden met sommige insecten van verdelgende planten. Het is de parasitaire activiteit van de rondwormen zoals *Phasmarhabditis hermaphrodita* die gebruikt wordt tegen de strijd van slakken en buikpotigen in het algemeen. De juveniele grondwormen van het derde stadia *P. hermaphrodita* zullen de besmetting inzetten door binnen te dringen in de schelpopeningen onder de mantel van hun gast. Na deze penetratie, gaan de juveniele grondwormen de geassocieerde bacteriën overbrengen die zich gaan ontwikkelen en

die endotoxines bevrijden, welke de dood van de buikpotigen met zich meebrengt binnen de 4 tot 7 dagen. De juveniele rondwormen zullen hun hermaphrodiete vorm bekomen in deze opening en zullen er zich voortplanten. Zij zullen zich verder ontwikkelen tot heel het lichaam van de buikpotige geconsommeerd is en de nieuwe generatie van rondwormen nieuwe gasten heeft gevonden om te parasiteren (Grewal et al., 2003).

De biopesticiden van dierlijke oorsprong, welke chemische signalen zijn geproduceerd door een organisme en die het gedrag van de individuen van dezelfde soort, of van een andere soort veranderen, zijn eveneens gerepertorieerd onder de benaming "semio-chemisch". We kunnen niet stellen dat de semio-chemische, pesticiden zijn. Inderdaad, ze zullen niet de dood van bio-aanvallers veroorzaken, maar eerder een verwarring teweeg brengen bij deze laatsten. Deze verwarring zal hen beletten hun voort te planten in de behandelde zone. De feronome insecten zijn een goed voorbeeld van semio-chemische moleculen die gebruikt worden als alternatief in het gebruik van insecticiden. Het betreft kleine natuurlijke geproduceerde moleculen door de insecten en die opgespoord worden op het niveau van de antennes van hun soortgenoten. Deze molucules kunnen vluchtig of persistent zijn, maar in elk geval brengen zij een boodschap over. Zij kunnen een territorium markeren, waarschuwen voor de voedselvoorraad of een signaal zijn voor de paring. De feronome insecten worden breeduit gebruikt, zowel om de verwoestende insecten te limiteren via foptechnieken of om een sexuele verwarring te creëren om hun aantal te beheersen.

Voorbeelden van gecommmercialiseerde biopesticiden, behorend tot de drie verschillende categoriën, zijn weergebracht in tabel 1.

3. De voordelen van biopesticiden

Biopesticiden hebben veel voordelen. Hun natuur maakt hun gebruik zowel in biologische landbouw als in conventionele landbouw mogelijk. Men moet echter opmerken dat in sommige landen de in dienst zijnde reglementatie het gebruik van sommige gecommmercialiseerde biopesticiden in de biologische landbouw niet toelaat. Als de actieve substantie van deze produkten geen probleem stelt in

de reglementatie, kunnen hun coformulanten niet in overeenstemming zijn met dit type landbouw. Zo wordt er aan de biologische landbouwers aanbevolen om de door de keuringsdienst de lijst van erkende gecommmercialiseerde bioproducten te raadplegen alvorens hun gebruik. Zoöök, als genetisch veranderde organismen, zijn de PIPs niet gebruikt in de biologische landbouw.

Sommige microbiële pesticiden vertonen bijkomende voordelen aangaande hun beschermingsrol. De schimmels *Trichoderma* hebben de bijzonderheid om de opname van nutritieve bodemelementen door de planten te vergemakkelijken (Harman, 2011). Zo werd er ook recent aangetoond dat sommige endofyte micro-organismen en/of sommige rhizobacteriën welke de groei van planten bevorderen (Plant Growth Promoting Rhizobacteria ou PGPR), aan sommige gewassen een abiotische stresstolerantie kunnen verlenen, zoals droogte (Compant et al., 2010 ; Wang et al., 2012). Het grotendeels van de gecommmercialiseerde bacteriën als zijnde biopesticiden maken deel uit van de groep PGPR, *Bacillus subtilis*, en zijn gekend om hun bekwaamheid om de groei van de planten te bevorderen. In sommige gecommmercialiseerde producten, gebruiken de bio-actieve moleculen verschillende aktiemethodes welke hen bijzonder interessant maken om het verschijnen van resistente bio-aanvallers te limiteren. Zo kunnen de cyclische lipopeptides gemaakt door de bacterie *Bacillus* tegelijkertijd de kolonisatie van de omgeving door de micro-organisme productoren vergemakkelijken (surfactines en iturines), een directe anti-fungale aktie hebben (iturines en fengycines) en een verdedigingssysteem in planten inbrengen (surfactines, fengycines) (Ongena et Jacques 2008).

In de zoektocht naar nieuwe bio-insecticiden is er een aandacht naar het gif van spinnen sinds de laatste 10 jaar. Inderdaad, deze bestaan uit honderden toxinen en aktieve stoffen die het zenuwstelsel van insecten raken na een beet, maar ze zijn het ook na inname, welke hen bijzonder interessant maken. De verscheidene stoffen van deze giften hebben verschillende doelwitten. Zij kunnen zowel het geleidsvermogen van verschillende ionische kanalen veranderen (calcium, kalium, sodium), de bepaling van de dubbele lipidische lagen verwarren, een werking hebben op het einde van de pre-synaptische zenuwen alsook op de ontvangers N-méthyl-D-aspartate. De verschillende doelwitten van de giften zullen de verschijning van resistente insecten beperken. Daartegenover vinden we conventionele insecticiden terug welke geformuleerd zijn om te reageren met één van de vijf belangrijkste doelwitten welke spanningsgevoelige natriumkanalen, de zuurontvangers gamma aminobutyrique (GABA),

glutamaat, nicotine acétylcholine en de ontvangers acetylcholine estérase zijn. Het gebruik van één doelwit door de conventionele insecticiden zal leiden tot de weerstand bij de insecten welke hun detoxificatie van de metabolieten kunnen verhogen, hun gevoeligheid voor het doelwit doen verminderen en/of de sekwestratie verhogen en de biobeschikbaarheid van de doelwitten (Windley et al., 2012).

Biopesticiden zoals pyrèthres, insecticide getrokken uit de plant *Tanacetum (Chrysanthemum cinerariaefolium)* hebben een snelle werking, een lage toxiciteit voor de gewervelden alsook een lage weerstand na hun toepassing (Silverio et al., 2009).

Bij vergelijking van de datagegevens van "Système d'Intégration des Risques par Intégration des Scores pour les Pesticides (SIRIS) van l'INERIS (http://www.ineris.fr/siris-pesticides/bdd_siris_pesticides), blijkt dat de gemiddelde afbrekingstijd in de grond (DT50) van 126 chemische gerepertorieerde insecticiden 39,38 dagen bedraagt variërend met 4,8 uren voor de vamidothion (een organofosfaten), tot 1001 dagen voor de chlothianidine (een nicotinezuur). De gemiddelde afbrekingstijd in de grond van de 8 biologische insecticiden opgenomen in deze database is van 6,49 dagen met een variatie van 2 dagen voor de nicotine tot 14 dagen voor de spinosad. Op fytosanitaire basis zijn de molecules afkomstig van levende organismen in het algemeen minder vasthoudend in de grond dan hun chemische homologen.

4. De ongemakken van biopesticiden

Sommige van de ecologische voordelen van de biopesticiden, zoals hun zwakke remanentie of het feit dat een produkt actief is tegen een beperkt spectrum van verdelgers, kunnen beschouwd worden als een ongemak. Inderdaad, deze twee ecologische voordelen gecombineerd aan hun activiteit, welke dikwijls afhankelijk is van het klimaat en de omgevingscondities, maken de biopesticiden minder doeltreffend dan hun chemische homologen. Sommige professionelen in de landbouw vinden dat de biopesticiden hen niets bijdragen omdat ze niet voldoende doeltreffend zijn. Zij beoordelen de resultaten van de biopesticiden op korte termijn alsof het om een fytosanitair chemisch substituut produkt gaat.

Nochthans, de werking en doeltreffendheid van een biologische controle moet over een bepaalde duur bestudeerd worden (Popp et al., 2013).

5. Stimulatoren van de Natuurlijke Verdediging van planten (SNV) en biopesticiden

De Stimulatoren van de Natuurlijke Verdediging van planten (SNV) zijn stoffen, die éénmaal aangebracht op de plant, de verdediging van deze laatste zal ontlokken. Dit zal de mogelijkheid geven aan de plant om weerstand te bieden tegen een pathogeen waarvoor ze normalerwijze gevoelig was. Deze definitie herrinert ons aan des éliciteurs, maar de SNV mogen niet beperkt worden tot elicitors. Het conceptgebruik van SNV voor de bescherming van planten werd geïntroduceerd in 1975 door Anderson-Prouty en Alberstein. Deze twee medewerkers hebben ontdekt dat een polysaccharide, afkomstig van een schimmelpathogeen *Colletotrichum lindemuthianum*, aangebracht op de hypocotyle en de kiembladeren van de erwt (*Phaseolus vulgaris*) in staat is de productie van defensiemoleculen te verhogen bij de plant zoals phytoalexines (Anderson-Prouty et Alberstein, 1975).

SVN kennen meerdere origines. Zo zijn er de synthetische, zoals het β -amino butyrique zuur (BABA) of de functionele analoge salicylzuur (acibenzolar-S-méthyl (ASM)). Er zijn ook natuurlijke minerale stoffen zoals rotspoeders, natuurlijke plantaardige stoffen zoals laminarin, microbiële stoffen zoals een harpine en dierlijke zoals chitosan.

In deze drie laatste gevallen, beantwoorden de SVN aan de gegeven definitie van biopesticide. Het logo SVN kan tot verwarring leiden want men zou kunnen denken dat deze stoffen alleen van natuurlijke oorsprong zijn. Dit is waarom het logo SVP voor Stimulator van Verdediging van Planten meer gebruikt wordt. De SVN hebben gevarieerde aktiemodaliteiten die afhangen van de toegepaste dosis, de behandelde plant en de geviseerde aanvaller.

Er bestaat een paradox op de markt voor SVN. Daar waar er weinig formuleringen een goedkeuring hebben voor het op de markt brengen voor het gebruik van verdedingsstimulatoren voor planten, vele gecommmercialiseerde formuleringen zoals meststoffen zogezegde of gesugereerde SVN

aktiviteiten bezitten. Zo zal men op de produktiefiche de termen fytostimulerend, weerstandsstimulatoren, versterker voor planten, biostimulatoren, bioaktivators, verdedingsaktivators, fytoaktivatoren, gezondheidsvoeding voor de plant of ook nog versterking van de verdediging terugvinden, welke laten geloven dat het om een SVN aktiviteit gaat.

6. De biopesticiden en de strategie van geïntegreerde strijd

De geïntegreerde strijd is een beheersstrategie op lange termijn van de bio-aanvallers die het risico voor de bevolking, het ecosysteem en de omgeving minimaliseren. In dit concept worden akties ondernomen om te beletten dat de bio-aanvallers een probleem worden. Daarom worden de velden minutieus geobserveerd om de ziektes en hun oorsprong te identificiëren, de bio-aanvallers te tellen en hun levenscyclus op te stellen. De ongunstige omgevingsfactoren worden tevens bestudeerd. In functie van de drempelwaarde opbrengst van de boeren, kunnen de gerepertorieerde bio-aanvallers geduld worden of behandeld worden. In het geval dat een controle noodzakelijk is, worden de verkregen gegevens tijdens het toezicht op de velden geëxploiteerd voor de toediening van de behandelingen.

De geïntegreerde strijd combineert verschillende praktijken zoals het gebruik van een variëteit van weerstandige planten aan de ziekte en de geïdentificeerde verdelgers, een irrigatie van de geschikte gewassen, de rotatie of inter-cultuur, de manuele onkruidbestrijding of ook nog het gebruik van fysische preventiebarrières tegen de verdelgers. De chemische pesticiden worden enkel gebruikt als dit noodzakelijk blijkt. Zij worden gekozen met als doel hun impact op de omgeving maximaal te limiteren. De geïntegreerde strijd privilegieert de toepassing van biopesticiden.

Inderdaad, de verschillende voordelen van biopesticiden, zoals hun verminderde toxiciteit ten opzichte van bestuivers, mogen niet genegeerd worden in de socio-politieke context die meer en meer verontrust is voor het milieu. Het is daarom dat de agri-industrie zich enerzijds interesseert in de geïntegreerde strijdstrategieën door het voorstellen bijvoorbeeld van bewakingsartikelen voor de bio-aanvallers of anderzijds door het overkopen van kleine en middelgrote bedrijven die biopesticiden ontwikkelen, zoals de firma Bayer Crop Science SA welke onlangs de maatschappij Agraquest

SA (www.agraquest.com) overnam. Als voorbeeld, deze firma beveelt de behandeling van sojagranen en maïs aan in combinatie met Poncho® en VOTiVO® produkten om te strijden tegen de rondwormen. Het fytosanitair chemisch produkt Poncho® laat een onmiddellijke verdediging toe van granen op het ogenblik dat ze geplant worden, daar waar de biopesticide VOTiVO® op basis van *Bacillus firmus* sneller werkt door een levende verdedingsbarrière te creëren rond de wortels (<http://www.bayercropscience.us/products/seed-treatments/poncho-votivo/>).

Het gebruik van zekere biopesticiden door rotatie of in combinatie met andere biopesticiden of met chemische produkten laat toe de hoeveelheid chemische produktiemiddelen te verminderen alsook de verschijning van nieuwe resistente stammen tegen ongedierte te creëren (Xu et al., 2011). De bekomen resultaten met het instellen van de ingintegreerde strijdstrategie in de peergewassen in Californië (USA) tonen de doeltreffendheid van deze aanpak aan. In de jaren 1960 werden elk seizoen meer dan 14 chemisch fytosanitaire produkten aangebracht om de peregewassen te behandelen tegen mijten en insekten. Om de verhoogde afhankelijkheid aan deze chemische pesticiden te verminderen, hebben landbouwers, onderzoekers, gouvernementele instanties en privé-consulenten hand in hand gewerkt. In 2008 behandelen de meeste van de peregewassen in deze regio nog slechts met 3 tot 5 actieve stoffen per seizoen. Deze stoffen zijn grotendeels bruikbare biopesticiden in de biologische landbouw (Weddle et al., 2009).

7. De reglementering van biopesticiden

In Europa en in de meeste landen moeten de fytosanitaire produkten gehomologeerd worden alvorens ze op de markt worden gebracht of gebruikt kunnen worden. De goedkeuringscriteria van een produkt kunnen variëren van één land tot een ander in functie van de wetgeving, de periode, de wetenschappelijke voortgang en het effect door het uit de handel nemen van sommige produkten.

7.1. De Europese Unie en de reglementering van pesticiden

De Europese reglementering van pesticiden bestaat uit 4 wetteksten die de wet maken op de fytosanitaire producten in de EU. Deze teksten zijn Reglementen (CE) 1107/2009 betreffende de op de markt brengen van fytopharmaceutische producten (Officieel Rapport van de Europese Unie, L309.2009), en (CE) 1185/2009 voor de pesticide statistieken (Officieel Rapport van de Europese Unie, L324.2009), de Directieven 2009/128 (CE) aangaande de duurzame ontwikkeling en gebruik van de pesticiden (Officieel Rapport van de Europese Unie, L309.2009) en 2009/127 (CE) betreffende de machines voor de toepassing van pesticiden (Officieel Rapport van de Europese Unie, L310.2009).

Het Reglement (CE) 1107/2009 meldt geen biopesticiden als groep of familie van stoffen. Daarentegen, zij berust op de micro-organismen, de biologische producten met plantaardige oorsprong, zoals de oliën, alsook de producten van dierlijke oorsprong zoals de extracten of feromonen. Zij maakt tevens een zinspeling op genetisch gewijzigde organismen. In dit reglement zijn de micro-organismen en de producten van biologische oorsprong onderworpen aan dezelfde homologatieprocedure als de stoffen die deel uit maken van de conventionele fytosanitaire producten. De procedure voor de toekenning voor het op de markt brengen van een fytosanitair product door de aanvrager gebeurt op 2 niveaus.

De evaluatie en de goedkeuring van de actieve stoffen gebeurt op Europees vlak. De aanvrager dient een evaluatieverzoek in bij de Europese voedingsveiligheidsagent (European and Food Safety Authority (EFSA)). Deze laatste mandateert een lidstaat om de evaluatie uit te voeren. De gemandateerde staat brengt rapport uit bij de EFSA welke, na analyse, zijn bedenking geeft aan de Europese Commissie. Deze laatste is belast met het risicobeheer voor actieve stoffen. De Europese Commissie ligt de aanvrager in van zijn beslissing en parallel hiermee schrijft de geëvalueerde substantie in op de lijst van goedgekeurde actieve stoffen of op de lijst van stoffen welke niet goedgekeurd werden. De evaluatie en de goedkeuring voor het op de markt brengen van de geformuleerde producten gebeurt op zonaal vlak. De Europese Unie is verdeeld in 3 goedkeuringszones voor fytosanitaire producten. Zone A "Noord" bestaat uit Denemarken, Estonië, Lettonië, Finland en Zweden, zone B (Centrum) bestaat uit België, Tsjecho-Slowakije, Duitsland, Ierland, Luxemburg, Hongarije, Nederland, Oostenrijk, Polen, Roemenië, Slovenië, Slowakije en het Verenigd Koninkrijk en tenslotte zone C "Zuid" bestaande

uit Bulgarije, Griekenland, Spanje, Frankrijk, Italië, Cyprus, Malta en Portugal. Indien een aanvrager een goedkeuring voor het op de markt brengen van zijn produkt wenst in één van deze 3 zones, brengt hij een aanvraag binnen bij het evaluatieagentschap bij één van deze landzones. Het gekozen land doet zijn evaluatie in overleg met andere beoordelingsinstanties van de zone. Eénmaal de goedkeuring voor het op de markt brengen van het produkt bekomen op het grondgebied van het depositoland, kan zij ook erkend worden door de andere landen van dezelfde zone door wederkerige erkenning of uitgesloten worden door een land. In dit laatste geval zal de nationale souvereiniteit domineren.

Ongeacht het niveau van de goedkeuringsaanvraag van het produkt of het geformuleerde produkt, moeten de ingediende dossiers van de aanvrager hun doeltreffendheid vertonen en een volledig evaluatierapport van deze laatste op de gezondheid van de mens, dieren en milieu bevatten. Zij moet ook een afwezigheid voor besmetting op de voedingsketen vertonen. Behalve tegengesteld goed geargumenteed geval, al de nodige experimenten van deze evaluaties volgen de officiële directielijnen in termen van goede labo-praktijken (BPL) en goede experimentele praktijken (BPE).

De biologische origine van de voorgestelde stoffen en produkten ter homologatie verzekert niet de goedkeuring. Zo bevinden de biopesticiden van microbiële, plantaardige en dierlijke oorsprong zich in de lijst van 783 fytosanitaire stoffen, die geupdated werd op 21 oktober 2013, en welke niet-goedgekeurd werden door de Europese Unie; en andere in de 440 goedgekeurde stoffen. De tweede tabel vertoont een overzicht van een paneel van biologische stoffen in functie van hun goedkeringsstatuut in de EU.

De natuurlijke verdedigingsstimulators van planten zijn onderworpen aan dezelfde reglementering als des andere fytosanitaire produkten. De macro-organismen zoals hulpinsekten worden niet vermeld in het Reglement (CE) 1107/2009. In Frankrijk hangt het gebruik van niet-indigene macro-organismen nuttig voor de planten af van het decreet n° 2012-140 (Officieel Verslag van de Franse Republiek 2012).

7.2.De lidstaten van de OSEO

De Organisatie van Samenwerking en Economische Ontwikkeling (OSEO) heeft zich geïnvesteerd in het domein van landbouw pesticiden en biociden door het publiceren van de directielijnen voor goede labopraktijken en experimenten om zodoende de toxicologische en ecotoxicologische risico's inherent aan deze producten te testen. De OSEO nodigt de "4 lidstaten uit om deze directielijnen te volgen om de evaluaties te harmoniseren teneinde de regeringen te helpen samen te werken voor de kennis van de risico's verbonden aan deze producten (<http://www.oecd.org/env/ehs/pesticides-biocides/>). De OSEO erkent officieel de term van biopesticide en neemt in deze groep de micro-organismen (bacterieel, algen, protozoaires, virussen, schimmels) op, de pheromonen en semio-chemische, de macro-organismen (insekten en rondwormen) en de plantextracten (<http://www.oecd.org/env/ehs/pesticides-biocides/biologicalpesticideregistration.htm>). Het werk aangaande de voorstellen van directielijnen gebonden aan de homologatie van biopesticiden begon in 1999 in deze organisatie.

Men moet er echter nota van nemen dat zelfs indien meerdere landen van de Europese Unie deel uit maken van de OSEO, dat de Europese Unie de term biopesticide niet officieel erkent. Daartegenover, de Verenigde Staten en Canada, twee andere lidstaten van de OSEO erkennen het statuut van biopesticide. In de Verenigde Staten hangt de homologatie van fytosanitaire producten af van het milieu beschermings agentschap (US.EPA). Documenten dienend als hulpmiddel bij de registratie van specifieke biopesticiden zijn beschikbaar op de internetsite van het agentschap (<http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticiden/>). In Canada is het het Agentschap van Reglementatie tegen Antiparasitaire strijd (ARLA) die de reglementering van fytosanitaire producten beheert. Zonder de normale vereisten voor de homologatie te verminderen, erkent ARLA zoals de US.EPA en in het kader van het Akkoord voor Vrije-Uitwisseling Noord-Amerika (ALENA) de toekenning van biopesticiden als riscoverminderde producten en zet zich in om de proceduretijden van hun examen te versnellen (ARLA, 2002).

7.3. De zones Zuid-Azië en Afrika

De FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) stelt aan de landen, die een onduidelijke reglementatie voor fytosanitaire producten hebben, directielijnen voor voor de harmonisering van hun reglementatie en voor de homologatie ervan. In deze directielijnen worden de biopesticiden duidelijk omschreven. Er wordt ook staat gemaakt van de te geven gegevens voor de registratie. Sommige Afrikaanse landen, zoals Ghana of Kenia, denken aan de FAO voor een reglementering van de biopesticiden. Deze organisatie heeft een handleiding gepubliceerd van 480 pagina's welke de te volgen directielijnen voor de harmonisering van de reglementering van fytosanitaire producten in de zone Zuid-Azië suggereert, zonder enige inmenging in deze (FAO, 2012).

8. De markt van biopesticiden

Het gebruik van biopesticiden is lange tijd gereserveerd geweest voor de biologische landbouw. Deze producten werden progressief gebruikt in de conventioneel landbouw want de landbouwers zijn meer en meer bezorgd op de ecologische impact (Frost et Sullivan, 2009). De markt van biopesticiden ligt sterk onder deze van de chemische fytosanitaire producten. Maar ze is in permanente stijging. In 2008, in de Verenigde Staten en West-Europa, werd hij geschat op 594,8 miljoen dollar (Frost et Sullivan 2009). Met een jaarlijkse renteverhoging van 8%, wordt er verwacht dat de markt 10820 miljoen dollar zal bedragen in 2015 (Frost et Sullivan, 2009). Het merendeel van gecommmercialiseerde biopesticiden zijn van microbiële oorsprong. Het betreft voornamelijk insecticides op basis van *B. thuringiensis* (Rosas-Garcia, 2009).

De leveranciers van biopesticiden zijn voornamelijk kleine en middelgrote bedrijven welke begrijpelijke problemen kennen om nieuwe producten te ontwikkelen en de reeds bestaande volledig te commercialiseren (Farm Chemical International, 2010). 225 microbiële pesticiden zijn gecommmercialiseerd in de 30 landen van de OSEO (Kabaluk et Gazdik, 2007). Er zijn veel meer biopesticiden beschikbaar in de Verenigde Staten dan in Europa. Studies tonen aan dat dit verschil komt door de hoge prijs en de lange wachttijd van het Europese goedkeuringsstelsel voor actieve principes

en de complexiteit voor de homologatie van de procedures (Kiewnick, 2007). De homologatieprocedures in de Verenigde Staten zijn vergemakkelijkt en de goedkeuringen zijn normaal afgeleverd na één procedurejaar (Frost et Sullivan, 2009). Het homologatieproces in zekere Europese landen is veel langer want ze volgen de reglementeringsmodellen voor de chemische pesticiden. In de visie van deze homologatie is een een produkt van biologische oorsprong niet noodzakelijk zonder risico. Een aanpak voor de homologatie als zijnde "Natuurlijke niet zorgwekkende voorbereidingen" voor een aantal mogelijke produkten welke de planten (Heermoes, Witte wilg, boerenwormkruid, officinale rubarber, Absint, Azijn, Suiker, Talk) tegen aanvallers beschermen, zijn momenteel lopende (NZZV) » (artikel 23 van het reglement (CE) 1107/2009). Als zij hierin slaagt dan kan deze aanpak een nieuwe homologatiepiste vormen welke minder kostelijk is dan zekere biopesticiden.

In West-Europa is de prijs van biopesticiden in het algemeen 25 maal hoger dan de chemische fytosanitaire produkten. Volgens de economen zal dit verschil nog geaccentueerd worden want een prijsvermindering van conventionele produkten is voorzien, daar waar de verkoopprijs van microbiële biopesticiden stagneert (Frost et Sullivan, 2009). Evenwel wordt West-Europa als een regio beschouwd waar de markt voor biopesticiden het meest zal evolueren. Inderdaad, de meer striktere wetgeving op de fytosanitaire produkten heeft geleid tot de intrekking van verschillende chemische stoffen welke de sektor van de biopesticiden moet aanmoedigen (Frost et Sullivan, 2009).

Men moet echter noteren dat er verschillen zijn in het gebruik van biopesticiden binnen de landen van de Europese Unie. Deze verschillen hangen af van verschillende factoren zoals overheidsbeleid, publieke opinie en industriële onderzoeksprogramma's (Bailey et al., 2010).

9. Conclusies

Het algemene gebruik en de afhankelijkheid aan chemische fytosanitaire produkten heeft geleid tot de verschijning van resistente bio-aanvallers. Het slechte antwoord om tegen deze te strijden is door de hoeveelheid en de toepassingfrequentie van het minder efficiënte fytosanitaire produkt te verhogen. Dit antwoord is meestal anders dan de wetgeving welke het gebruik van fytosanitaire produkten

omkadert en aan de "Goede Landbouw Praktijken" gedefinieerd door de reglementatie, waarbij een maximaal aantal toepassingen en een maximale niet te overschrijden dosis opgelegd wordt. Het alternatief is nieuwe chemische moleculen te ontwikkelen. Dit systeem heeft een dubbel antwoord, geïdentificeerd in de jaren 1970, en « pesticide treadmill » genaamd door de entomologen is steeds actueel (Weddle et al., 2009 ; Popp et al., 2013). Ondanks alle ongewenste effecten op het milieu en de gezondheid is het voorzien dat deze cyclus slechts einde zal nemen als het niet meer mogelijk is om nieuwe chemische pesticiden te ontwikkelen. De biopesticiden betonen een alternatief aan deze afhankelijkheid. Zelfs indien alleen gebruikt, zijn ze in het algemeen minder efficiënt op korte termijn tegenover hun chemische homologen, ze hebben meerdere ecologische voordelen welke niet mogen ontken worden. Gebruikt in een gïntegreerde strategieë strijd met de chemische pesticiden maken ze het mogelijk het aantal produktiemiddelen te limiteren alsook de verschijning van resistent ongedierte.

De ontwikkeling voor het gebruik van biopesticiden varieert van regio tot regio in de wereld. Zij hangen af van verschillende factors zoals :

- de landbouwers : hun terughoudendheid tegenover de doeltreffendheid van dit type produkt, hun vormingsniveau alsook de middelen waarover ze beschikken in werkkrachten en machines.
- het milieu : de doeltreffendheid van biopesticiden is dikwijls geconditionneerd door klimaatsomstandigheden.
- het onderzoek en de ontwikkeling van nieuwe meer efficiënte biopesticiden dan diegene beschikbaar.
- het in plaats stellen van een homologatieproces en een wetgeving gewijd aan dit type produkt.
- de logistiek voor de stokage en verdeling van levende organismen die ze samenstellen.
- de voorkeur van de consument (landbouwers, verdelers en finale consumenten).
- de nationale politiek zoals het uitschrijven van wetprojekten op de vermindering van het aantal gebruikte chemische pesticiden, de promotie van gïntegreerde strijdstrategieën door akties zoals het toekennen van loonbelastingsverklaring in het voordeel van biologische landbouw.

Bibliografie

- Anastasiadis I, Giannakou I, Prophetou-Athanasiadou D, Gowen S, 2008. The combined effect of the application of a biocontrol agent *Paecilomyces lilacinus*, with various practices for the control of root knot nematodes. *Crop Prot.* 27: 352-361.
- Anderson-Prouty A.J, Albersheim P, 1975. Host-pathogen interactions: VII. Isolation of a pathogen-synthesized fraction rich in glucan that elicits a defense response in the pathogen's host. *Plant Physiol.* 56(2):286-291.
- ARLA (Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire), 2002. Directive d'homologation DIR2002-02. ISBN : 0-662-87233-9, numéro de catégorie : NH113-3/2002-2F-IN.
- Bailey K, Boyetchko S, Längle T, 2010. Social and economic drivers shaping the future of biological control: A Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. *Biol. Control.* 52: 221-229.
- Bates S, Zhao J-Z, Roush R, Shelton A, 2005. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. *Nat. Biotechnol.* 23:57-62.
- Boulon J-P, 2010. Qu'est-ce que? *Pseudomonas chlororaphis* souche MA342 bio-fongicide en traitement de semences de blé, triticale et seigle. *Phytoma-La défense des végétaux* mars 2010.10-12.
- Brunner K, Zeilinger S, Ciliento R., Woo S.L, Lorito M, Kubicek C.P, Mach R.L, 2005. Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:3959–3965.
- Calderón-Alvarez C, Causton C, Hoddle M, Hoddle C, Van Driesche V, Stanek E, 2012. Monitoring the effects of *Rodolia cardinalis* on *Icerya purchasi* on the Galapagos Islands. *BioControl* 57: 167-179.
- Chandler D, Bailey A, Tatchell M, Davidson G, Greaves J, Grant W, 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 366(1573):1987-1998.
- Chen X, Zhang W-J, Wong J, Chun G, Lu A, McCutchen B, Presnail J, Herrmann R, Dolan M, S Tingey S, Hu Z, Vlak J, 2002. Comparative analysis of the complete genome sequences of *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedroviruses. *J. Gen. Virol.* 83:673–684.

Compant S, Clément C, Sessitsch A, 2010. Plant growth promoting rhizobacteria in the rhizo and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* 42:669-678.

Correia A, Wanderley-Teixeira V, Teixeira A, Oliveira J, Gonçalves G, Cavalcanti M, Brayner F, Alves L, 2013. Microscopic analysis of *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera:Noctuidae*) embryonic development before and after treatment with azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin. *J. Econ. Entomol.*106(2):747-55.

Dodd S, Lieckfeldt E, Samuels G, 2003. *Hypocrea atroviridis* sp. nov., the teleomorph of *Trichoderma atroviride*. *Mycologia.* 95(1):27-40.

Dong L, Yang J, Zhang K, 2007. Cloning and phylogenetic analysis of the chitinase gene from the facultative pathogen *Paecilomyces lilacinus*. *J. Appl. Microbiol.* 103(6):2476-88.

FAO, 2012. *Guidance for harmonizing pesticide regulatory management in Southeast Asia*. Bangkok: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific.

Farm Chemical Internationals. 2010. Biological pesticide on the rise, www.farmchemicalsinternational.com/magazine

Frost and Sullivan, 2009. North American and Western European biopesticiden market. M472-39.

Goettel M, Hajek, A, 2001. Evaluation of non-target effects of pathogens used for management for arthropods. *In: Wajnberg E, Scott JK, Qimby PC. eds. Evaluating indirect ecological effects of biological control.* Wallingford, Oxon, UK: CABI Publisher, 81-97.

Grewal P, Grewal S, Tan L, Adams B, 2003. Parasitism of Molluscs by Nematodes: Types of Associations and Evolutionary Trends. *J. Nematol.* 35(2):146–156.

Harman G, 2011. *Trichoderma* not just for biocontrol anymore. *Phytoparasitica.*39: 103-108.

Journal Officiel de la République Française. 2012. 48 :1803. 30 janv. 2012

Journal Officiel de l'Union Européenne.2009. L309, 52^{ème} année, 24 nov.2009

Journal Officiel de l'Union Européenne.2009. L310, 52^{ème} année, 25 nov.2009

Journal Officiel de l'Union Européenne.2009. L324, 52^{ème} année, 10 dec.2009

- Kabaluk T, Gazdik K, 2007. Directory of microbial pesticides for agricultural crops in OEDC countries. Agriculture and Agri-Food Canada, http://publications.gc.ca/collections/collection_2009/agr/A42-107-2007E.pdf
- Kiewnick S, 2007. Practicalities of developing and registering microbial biological control agents. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, <http://www.cabi.org/bni/FullTextPDF/2007/20073085842.pdf>
- Kumar S, Chandra A, Pandey KC, 2008. *Bacillus thuringiensis* (Bt) transgenic crop: an environment friendly insect-pest management strategy. J. Environ. Biol. 29(5): 641-653.
- Laura A, Francesca G, 2010. The use of sex pheromones for the control of invasive populations of the crayfish *Procambarus clarkia*: a field study. Hydrobiologia.649:249-254.
- Leng P, Zhiming Z, Guangtang P, Maojun Z, 2011. Applications and development trends in biopesticides. Afr. J. Biotechnol.10(86): 19864-19873.
- Longa C, Savazzini F, Tosi S, Elad Y, Pertot I, 2009. Evaluating the survival and environmental fate of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* SC1 in vineyards in northern Italy. J. Appl. Microbiol. 106(5):1549-1557.
- Marchand P, 2013. Homologation des substances naturelles en protection des cultures. DinaBio 2013. Recueil des résumés et présentations, 65-66.
- McQuilken M, Gemmell J, Hill R, Whipps J. et al., 2003. Production of macrophelide A by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*. FEMS Microbiol. Lett. 2009 :27-31.
- Meissle M, Romeis J, Bigler F, 2011. Bt maize and integrated pest management-a European perspective. Pest Manag. Sci. 67:1049-1058.
- Ongena M, Jacques P, 2008. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends Microbiol. 16(3):115-125.
- Pérez-García A, Romero D, de Vicente A. 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture. Curr. Opin. Biotechnol. 22(2):187-193.
- Popp J, Petö K, Nagy J, 2013. Pesticide productivity and food security. A review. Agronomy for sustainable development. 33:243-255.

Rosas-Garcia N.M, 2009. Biopesticide production from *Bacillus thuringiensis*: an environmentally friendly alternative. *Recent Pat. Biotechnol.* 3(1): 28-36.

Saidemberg D, Ferreira M, Takahashi T, Gomes P, Cesar-Tognoli L, da Silva-Filho L, Tormena C, da Silva G, Palma M, 2009. Monoamine oxidase inhibitory activities of indolylalkaloid toxins from the venom of the colonial spider *Parawixia bistriata*: functional characterization of PwTX-I. *Toxicon.*54(6):717-724.

Schmutterer H, 1990. Properties and potentials of natural pesticides from neem tree. *Annu. Rev. Entomol.*35:271-298.

Shelton A, Zhao J-Z, Roush, 2002. Economic ecological, food safety, and social consequences of the deployment of BT transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.*47:845-881.

Silverio F, de Alvarenga E, Moreno S, Picanco M, 2009. Synthesis and insecticidal activity of new pyrethroids. *Pest Manag. Sci.* 65:900-905.

Srivastava M, Raizada R, 2007. Lack of toxic effect of technical azadirachtin during postnatal development of rats. *Food Chem.Toxicol.* 45(3): 465-471.

Thakore Y.2006. The biopesticide market for global agriculture use. *Ind. Biotechnol.*2:194-208.

Tombolini R, Van Der Gaag D, Cerhardson B, Janssoni J, 1999. Colonization Pattern of the Biocontrol Strain *Pseudomonas chlororaphis* MA 342 on Barley Seeds Visualized by Using Green Fluorescent Protein. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(8):3674-3680.

Wang CJ, Yang W, Wang C, Gu C, Niu D, Liu H, Wang Y, Guo J, 2012. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. *PLoS One.* 7(12): e52565

Washburn J, Trudeau D, Wong J, Volkman L, 2003. Early pathogenesis of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus and *Helicoverpa zea* single nucleopolyhedrovirus in *Heliothis virescens*: a comparison of the 'M' and 'S' strategies for establishing fatal infection. *J. Gen. Virol.* 84:343-351

Weddle P, Welter S, Thomson D, 2009. History of IPM in California pear-50 years of pesticide use and the transition to biologically intensive IPM. *Pest Manag. Sci.* 65(12):1287-1292.

Windley M, Herzig V, Dziemboravicz S, Hardy M, King G, Nicholson G, 2012. Spider-venom peptides as bioinsecticides. *Toxins.* 4:191-227.

Xu X, Jeffries P, Pautasso M, Jeger M, 2011. Combined use of biocontrol agents to manage plant disease in theory and practice. *Phytopathology*. 101(9): 1024-103.

Categorie	Type	Organisme	Commercieel produkt	Doelwit	Cultuur
Bacterie	Fungicide	<i>Bacillus subtilis</i> QST713	Serenade®	<i>Botrytis</i> spp.	Groenten/Fruit
	Fungicide	<i>Bacillus subtilis</i>	HiStick®	<i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Aspergillus</i>	Soja, Arachide
	Fungicide	<i>Bacillus</i> <i>licheniformis</i> SB 3086	EcoGuard®	<i>Sclerotinia</i> spp., anthracnose	Gazon
	Fungicide	<i>Bacillus</i> <i>amyloliquefaciens</i>	Taegro®	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i>	Struiken, Sierplanten
	Fungicide	<i>Pseudomonas</i> <i>chlororaphis</i> MA342	Cerall®	<i>Tilletia caries</i> , <i>Fusarium nivale</i> , <i>Septoria nodorum</i>	Graan
	insecticide	<i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i>	Rona Eco®	Chenille, Larves de lepidoptères	Gazon en tuin
	insecticide	<i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i>	Biobit®DF	Lepidoptères	Wijngaarden, fruitbomen groenteteelt
Virus	insecticide	<i>Cydia pomonella</i> <i>granulosis</i> virus	Carpovirusine®	Carpocapse (<i>Cydia</i> <i>pomonella</i>)	Appel-/Peerbomen
	Larvicide	<i>Helicoverpa zea</i> HzSNPV	Gemstar®	<i>Heliothis</i> et <i>Helicoverpa larvæ</i>	Maïs, groenteteelt, Katoen, Graan...
	Larvicide	<i>Spodoptera exigua</i> <i>nucleopolyhedrosis</i> virus	SpodX®	Larves van <i>Spodoptera exigua</i>	Groenteteelt, aardappelen, tabak, zonnebloem...
Schimmels	Fungicide	<i>Coniothyrium</i> <i>constans</i>	Constans® WG	<i>Sclerotinia</i> spp.	Witloof
	Fungicide	<i>Trichoderma</i> <i>atroviride</i>	Esquive® WG	<i>Eutipa lata</i>	Wijngaarden
	Nematicide	<i>Paecilomyces</i> <i>lilacinus</i>	BioAct® WG	<i>Meloidgyne</i> spp., <i>Rodopholus similis</i> , <i>Heterodera</i> spp., <i>Globodera</i> spp., <i>Protylechus</i> spp.	Groenteteelt, Bananenplant
Plantaardig extract	insecticide	<i>Chrysanthemum</i> <i>cinerariaefolium</i>	Trounce®	Bladluizen, rupsen, aleuroden	Struiken, serreplanten, nurseries
	insecticide	<i>Quassia amara</i>	Quassam®	<i>Hoplocampa</i> <i>testudinea</i>	Appelbomen
	insecticide	<i>Azadirachta</i> <i>indica</i>	TotalCare®	+/- 400 verdelgende insectsoorten	Alle gewassen
	insecticide	<i>Brassica napus</i>	VegOil®	Bladluizen en mijten	Groenteteelt, fruitbomen, sierplanten
Insekten	insecticide	Mijten	Bioline®	Verdelgende insekten	gewassen onder beschutting
	insecticide	lieveheersbeestje	Adaline b®	Bladluizen	gewassen onder beschutting
Semio- chimische afkomstig uit insekten	Strijd door sexuele verwarring	Phéromones naturelles de <i>Cydia</i> <i>pomonella</i>	Ginko®	<i>Cydia pomonella</i>	Appel-, Peer-, Noten boomgaard
Rondwormen	Anti-slak	entomopathogene Rondwormen	Bioslug®	<i>Derocecas</i> <i>reticulatum</i> , <i>Arion distinctus</i>	Groenten, Aardbeien, sierplanten

Tableau 1 : Enkele gecommmercialiseerde biopesticiden - Examples of marketed biopesticiden

	Microbiële Biopesticiden - Microbial biopesticiden
	Plantaardige Biopesticiden - Herbal biopesticiden
	Dierlijke Biopesticiden - Animal biopesticiden

	Goedgekeurde actieve stoffen	Niet-goedgekeurde stoffen
--	------------------------------	---------------------------

Biopesticiden van microbiële oorsprong

Schimmel	<i>Trichoderma asperellum</i> (formeel T. harzianum) stammen ICC012, T25 and TV1 <i>Trichoderma asperellum</i> (souche T34) <i>Trichoderma atroviride</i> souche I-1237 <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> stam Fe9901	<i>Aschersonia aleyrodes</i> <i>Beauveria brongniartii</i>
Bacterien	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> stam MA342 <i>Pseudomonas</i> sp. Stam DSMZ 13134 <i>Bacillus firmus</i> I-1582 <i>Bacillus subtilis</i> stam. QST 713 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki strains ABTS 351, PB 54, SA 11, SA12 and EG 2348	<i>Bacillus subtilis</i> souche IBE 711 <i>Bacillus sphaericus</i> <i>Agrobacterium radiobacter</i> K84
Virus	Zucchini Yellow Mosaik Virus, weak strain Spodoptera littoralis nucleopolyhedrovirus	Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV mild strain) Neodiprion sertifer nuclear polyhedrosis virus

Biopesticiden van plantaardige oorsprong

Oliën	Kruidnagelolie Groene muntolie Colza-olie	Citronelle-olie Kokosnootolie Daphné-olie Eucalyptusolie Gaiachout olie Knoflookolie Maïsolie
Extracten	Azadirachtin Knoflookextract Geraniol	weezinwekkend : essentiële oliën Graanglutien Chlorophylline

Biopesticiden van dierlijke oorsprong

Extracten	Visolie met weezinwekkende geuren	Chitosan Gelatine Lanoline
Semio-chemische	rechte koolstofketting van lepidoptere pheromonen	XX

Tabel 2 : Voorbeelden van actieve stoffen van goedgekeurde en niet-goedgekeurde biologische oorsprong door de Europese Commissie van 21 oktober 2013. De stoffen zijn geannoteerd als niet-goedgekeurd omdat hun gebruik in Europa is verworpen door de Europese Commissie of omdat geen enkele aanvraag voor hun gebruik verworpen werd. – Examples of active substances from biological origins approved and non-approved by the European

Commission, updated by October 21, 2013. The non-approved substances can be substances whose the use has been forbidden by the European Commission or substances whose the use has never been proposed to the EC.

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/?event=activesubstance.selection

	Goedgekeurde stoffen
	Niet-goedgekeurde stoffen